

*На правах рукописи*

**КУЛИКОВА МАРИЯ АНДРЕЕВНА**

**ПОЛИМОРФИЗМЫ ГЕНОВ ДОФАМИНЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ –  
МАРКЕРЫ ПРОЯВЛЕНИЯ ТРЕВОЖНОСТИ У СПОРТСМЕНОВ**

**14.00.51. - Восстановительная медицина, лечебная физкультура и спортивная  
медицина, курортология и физиотерапия**

**А В Т О Р Е Ф Е Р А Т**

**диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук**

Москва – 2009

Работа выполнена в лаборатории молекулярной физиологии Федерального Государственного Учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт физической культуры и спорта» (ФГУ ВНИИФК)

**Научный руководитель:** кандидат биологических наук, доцент  
МАЛЮЧЕНКО Наталия Валериевна

**Официальные оппоненты:** доктор биологических наук, профессор  
АБРАМОВА Тамара Федоровна

доктор биологических наук, профессор  
КАПЛАН Александр Яковлевич

**Ведущая организация:** Институт Высшей Нервной Деятельности РАН

Защита диссертации состоится «30» апреля 2009 года в 15.00 часов на заседании диссертационного совета Д.311.002.01 во Всероссийском научно-исследовательском институте физической культуры и спорта по адресу: 105005, Москва, Елизаветинский переулок, 10

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Всероссийского научно-исследовательского института физической культуры и спорта

Автореферат разослан «27» марта 2009 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета



Пономарева А.Г.

2009А

3



7722

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ:

**Актуальность исследования.** Важнейшими составляющими спортивной успешности, помимо физической подготовленности, является психологическая адаптация спортсменов к стрессовым условиям и сохранение мотивации в стремлении к успеху на всех этапах спортивной деятельности. Тревожность является одним из центральных понятий спортивной психологии и одной из существенных черт, определяющей как эмоциональную устойчивость спортсмена, так мотивацию и нацеленность на успех. Людям, от рождения унаследовавшим повышенную возбудимость нервных процессов, намного сложнее справиться со своими эмоциями в стрессовых условиях соревнований. Индивиды с высоким уровнем общей тревожности, если тренер не уделяет им особого внимания, обычно не добиваются высоких спортивных результатов (Кретти Б.Дж., 1978). Современный подход к тренировкам элитных атлетов подразумевает учет не только психологических особенностей личности, но и наследственной предрасположенности. Индивидуальный прогноз на генетическом уровне требует ответа на вопрос о том, какие гены вовлечены в формирование и проявление конкретной психологической черты.

Согласно результатам психогенетических исследований, показатели наследуемости для черт темперамента составляют 30–60 % (Stein M.B. et al., 1999), причем особенности темперамента, так же как и другие психологические свойства, зависят от суммарного влияния или взаимодействия многих генов. Близнецовые исследования выявили, что наследуемость такой черты как тревожность составляет около 45% (Stein et al., 2002), что создает предпосылки к поиску молекулярно-генетических маркеров предрасположенности к повышенной (или пониженной) тревожности.

Предполагают, что уровень тревожности отражает уровень фоновой активности и возбудимость корковых нейронов. Существует теория о том, что тревожность определяется функциональной активностью симпато-адреналовой системы и типом нервной системы (Фрайман Е.А., 2000). Известно, что дофаминергическая система вносит значительный вклад в патофизиологию синдрома социального беспокойства (van der Wee N.J., 2008). Относительно недавно было обнаружено, что вариации в генах дофаминергической системы влияют на проявление тревожности (Reuters M., 2005; Robinson H.M., 2006).

К сожалению, в настоящее время, подавляющее большинство работ по поиску ассоциаций генетических полиморфизмов с личностными характеристиками

проводится на людях, страдающих различными психическими расстройствами в целях поиска генетических основ заболеваний. Таких исследований явно недостаточно для формирования полноценного представления о наследуемости такой психологической характеристики, как тревожность. Поэтому работа по поиску генетических маркеров тревожности среди полиморфизмов генов дофаминергической системы у высококвалифицированных атлетов является перспективной в области решения крайне актуальной задачи отбора и подготовки высокопрофессиональных спортсменов.

**Цель исследования:** выявление информативных молекулярно-генетических маркеров и их сочетаний, определяющих предрасположенность к повышенной тревожности у высококвалифицированных спортсменов для оценки их адаптационных возможностей в условиях высокого эмоционального напряжения.

**Задачи исследования:**

1. Выявить наиболее значимые молекулярно-генетические маркеры, ассоциированные с повышенной тревожностью, среди ключевых полиморфизмов генов дофаминергической системы: COMT, DAT, DRD1, DRD2, DRD3, TH1, MAOB, DBH.
2. Выявить взаимосвязь между выбранными информативными молекулярно-генетическими маркерами и психофизиологическими показателями у высококвалифицированных спортсменов.
3. Сопоставить частотные распределения информативных молекулярно-генетических маркеров дофаминергической системы в группах высококвалифицированных спортсменов и контрольной выборки.
4. Разработать биологическую модель влияния полиморфизмов генов дофаминергической системы на различия в проявлении тревожности у человека.

**Объект исследования:** Биологические закономерности проявления генно-фенотипических взаимосвязей организма человека в условиях высокой психофизиологической нагрузки.

**Предмет исследования:** Изменчивость психологических и психофизиологических особенностей человека в соответствии с вариациями в молекулярно-генетических маркерах дофаминергической системы.

**Гипотеза:** Предполагается, что комплексное исследование взаимосвязи генетических маркеров с психологическими и психофизиологическими показателями позволит выявить ключевые молекулярно-генетические маркеры, ассоциированные с проявлением тревожности. Установление закономерностей проявления межсистемных

связей позволит разработать способ прогностической оценки психоэмоциональной адаптации спортсменов в условиях профессиональной деятельности.

#### **Научная новизна исследования:**

Впервые был проведен комплексный генетический анализ 8 полиморфизмов дофаминергической системы на выборке из 290 человек и была определена частотность распределения аллелей полиморфизмов в общепопуляционной выборке и спортивной субпопуляции с учетом специализации. Впервые было показано совместное влияние генов DRD2 и DAT дофаминергической системы на характеристики, ассоциированные с тревожностью. Впервые была создана и научно обоснована модель механизмов влияния генетических вариантов DRD2 и DAT на концентрацию внеклеточного дофамина.

Теоретическая значимость исследования заключается в дополнении принятых положений о влиянии генетических вариаций дофаминергической системы мозга на изменчивость психологических характеристик человека. Изучение информативных молекулярно-генетических маркеров дофаминергической системы, ассоциированных с уровнем тревожности человека, расширяет представления о вкладе генетически обусловленной компоненты в основы поведения человека. Впервые разработана теоретическая модель, описывающая основы наследственных различий в проявлении тревожности у человека на уровне концентрации внеклеточного дофамина в мозге.

#### **Практическая значимость исследования:**

Установленные молекулярно-генетические маркеры тревожности человека и специфика их распределения у высококвалифицированных спортсменов различных специализаций позволяют предположить, что в дальнейшем, результаты генетического анализа ключевых полиморфизмов дофаминергической системы могут быть применимы в области профессионального отбора в спорт и выбора стратегии тренировочного процесса спортсмена с учетом его наследственной предрасположенности к определенному уровню тревожности. Материалы работы внедрены в научно-методическое обеспечение тренировочного процесса на кафедре физического воспитания и спорта МГУ имени М.В. Ломоносова, а также в лекционный материал преподавателей кафедры физиологии РГУФКСиТ.

#### **Основные положения, выносимые на защиту:**

1. Сочетания генетических вариаций в ключевых генах дофаминергической системы DRD2, DAT и COMT являются объективными генетическими маркерами проявления тревожности. Генотип VA1+9+ ассоциирован с повышенной тревожностью носителей.

2. Генотип A1+9+ маркирует предрасположенность к повышенному объему внимания носителей данного сочетания аллелей, а генотип A1-9+ ассоциирован с высокой силой нервной системы.

3. Влияние различных генотипов на уровень тревожности человека, как одной из составляющих общего уровня возбудимости нервной системы, может выступать в роли дополнительного фактора, определяющего предрасположенность человека к видовой специализации в спорте. Частотные распределения генотипов DRD2 и DAT различаются между контрольной выборкой и группами высококвалифицированных спортсменов. У спортсменов циклических видов спорта частота встречаемости генотипа A1+9+, сопряженного с повышенной тревожностью, ниже по сравнению с контрольной группой и группой спортивных единоборств, а частота встречаемости генотипа A1-9+, ассоциированного с повышенной силой нервной системы, выше по сравнению с другими группами.

4. Модель влияния генетических вариаций DAT и DRD2 на уровень висерального дофамина отражает гипотезу формирования наследственных различий в проявлении тревожности у человека.

#### **Структура и объем:**

Диссертационная работа изложена на 120 страницах текста компьютерной верстки и состоит из введения, литературного обзора, методов исследования, 4 глав описания результатов, заключения, выводов и списка цитированной литературы из 140 наименований, из них 110 работ иностранных авторов. В работе приведено 23 рисунка и 12 таблиц.

#### **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ:**

##### **Материалы и методы исследования:**

Обследовано 290 человек. В контрольную группу вошли 158 человек, преимущественно студенты Московского Государственного Университета им. М.В. Ломоносова (76 мужчин, 82 женщины, от 17 до 30 лет, средний возраст =  $20 \pm 4$  лет). В группу высококвалифицированных спортсменов вошли 132 мужчин, с квалификацией от кандидата в мастера спорта до мастера спорта международного класса (от 16 до 29 лет, средний возраст =  $21 \pm 3$  лет). Выборку спортсменов разделили на 2 подгруппы по принципу классификации видов спорта (Платонов В.Н., 2004): спортивные единоборства (индивидуальная высокоактивная, сложнокоординационная двигательная деятельность) и циклические виды спорта (циклическое повторение движений для перемещения собственного тела в пространстве). В группу спортивных единоборств (68 человек) входили такие виды спорта, как дзюдо, вольная борьба, самбо, бокс, сабля,

пшага; в группу циклических видов спорта (64 человека) входили такие виды спорта, как академическая гребля, лыжи, шорт-трек. Все участники эксперимента дали информированное согласие на использование их ДНК и результатов психологических тестов для исследований. Все генетические и психологические исследования одобрены этическим комитетом ФГУ ВНИИФК.

Для исследования использовали образцы венозной крови. ДНК выделяли из крови двумя способами. Для части образцов, в основном контрольной группы, ДНК выделяли из 200 мкл цельной крови с помощью наборов «ДНК-сорб Б» производства ЦНИИ Эпидемиологии (Россия). Также ДНК выделяли фенол-хлороформным методом. Анализ полиморфных локусов COMT, DAT, DRD1, DRD2, DRD3, TH1, MAOB, DBH проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) синтеза ДНК. ПЦР проводили на амплификаторе «Биорад» с использованием реагентов фирмы «ИнтерЛабСервис». Названия исследованных полиморфизмов вместе с литературными источниками методик генотипирования приведены ниже (табл. 1).

Таблица 1

Методики генотипирования ключевых молекулярно-генетических маркеров дофаминергической системы, использованных в работе.

№	Название белка	Название гена	Название полиморфизма	Литературный источник
1	Транспортер дофамина (обратный захват дофамина)	DAT	VNTR 40 п.н.	(Sano et al., 1993)
2	Катехол-О-метилтрансфераза (катаболизирует дофамин)	COMT	SNP Val158Met 4-ый экзон	(Hong et al., 2003)
3	Моноаминоксидаза А (катаболизирует дофамин)	MAOB	SNP A644G 13-ый интрон	(Wu RM et al., 2002)
4	Рецептор дофамина D1 (экспрессирован на постсинаптической мембране)	DRD1	SNP A-48G 5'-нетранслируемая область	(Sato et al., 2000)
5	Рецептор дофамина D2 (ауторецептор, экспрессирован на пресинаптической мембране)	DRD2	SNP TaqIA	(Noble et al., 1994)
6	Рецептор дофамина D3	DRD3	SNP Ser9Gly	(Basile et al., 1999)
7	Тирозингидроксилаза 1 (синтез дофамина)	TH1	SNP Val81Met	(Sharma et al., 1998)
8	Дофамин-β-гидроксилаза	DBH	SNP TaqI	(Daly G., 1999)

В соответствии со сформированными подходами (Jacobsen LK, 2000), (Martinez D, 2001) всех носителей аллеля с 9 повторами объединили в группу DAT 9 носителей (9+) и сравнивали с носителями гомозигот 10/10 (9-). Также на основании литературных данных (Klein TA, 2007) генотипы A1A1 и A1A2 объединили в группу носителей A1+, которую сравнивали с группой A2A2 (A1-).

Диагностику тревожности проводили с помощью пяти различных методик. Для определения личностных характеристик использован теста Кеттелла с выделением 16 шкал-факторов, одним из которых является фактор «О», оценивающий уровень чувствительности испытуемого, склонности к депрессии. Для определения эмоциональной восприимчивости и раздражимость применяли личностный опросник Г. Айзенка, включающий шкалу «Нейротизм» (Альманах психологических тестов - М., 1995). Также были использованы методики «Личностная шкала проявлений тревоги Дж. Тейлора» в адаптации Т.А. Немчинова (Дерманова И.Б. - СПб., 2002) и опросник «Исследование тревожности» Ч.Д. Спилбергера в адаптации Ю.Л. Хашина (Дерманова И.Б. - СПб., 2002). Для диагностики типа акцентуации личности был применен опросник Г. Шмишека (Шмишек Г., 1970).

В комплексе оценки психологического портрета (личностных характеристик) испытуемого входили следующие общепринятые, широкоизвестные методики: опросник Басс-Дарки в адаптации А.К. Осницкого для диагностики агрессивности; 16-ти факторный тест Кеттелла и опросник Г. Шмишека, описанные выше; методика определения уравновешенности НС.

Психофизиологическое тестирование проводили с помощью аппаратно-программного комплекса Нейрософт-Психотест (Иваново, Россия). Спортсмены проходили 15-ти минутное обследование 2 раза – до и после физической нагрузки, которая состояла в работе со ступенчато-повышающейся мощностью на беговом треке Cosmos HP (Германия). В психофизиологическое тестирование входили следующие методики: методика «Красно-черные таблицы Шульте - Платонова», предназначенная для измерения объема внимания (далее тест Шульте), которая заключается в максимально быстром поиске цифр в возрастающем порядке, произвольно разбросанных по таблице с красными и черными ячейками; методика «Простая зрительно-моторная реакция» (далее ПЗМР); методика «Тэппинг-тест», направленная на измерение силы нервных процессов (тест проводили правой рукой с максимальным и удобным темпами нажатий). Все данные по психологическим и психофизиологическим методикам были получены в одинаковых условиях (время,



место проведения) в течение 2-х учебных семестров, за исключением сессионных периодов.

Статистическая обработка данных была проведена в программе Statistica 6.0 методами многомерного анализа. Определение нормальности распределения количественных признаков определяли с помощью теста Шапиро-Уилка. Соблюдение закона Харди-Вайяберга было проверено тестом  $\chi^2$ . Связь между генотипом и количественными показателями (баллами по отдельным шкалам и их совокупностями) была исследована с помощью дисперсионного анализа методом ANOVA, в котором генотипы выступали как категориальные независимые факторы. Далее применяли метод множественного парного сравнения с помощью критерия Фишера для выявления фактора, лежащего в основе выявленных различий.

#### Результаты исследования:

#### 1. Особенности проявления тревожности у испытуемых экспериментальной и контрольной групп.

Сравнение среднего уровня тревожности в двух исследуемых группах, контрольной группе (158 человек) и группе спортсменов (72 человека) по двум показателям, полученным в результате использования опросников Ч.Д. Спилбергера и Г. Шмишека, показало, что группа спортсменов обладает тенденцией к пониженному, по сравнению с контрольной группой, уровню тревожности по обоим шкалам (табл. 2).

Таблица 2

Сравнение средних значений результатов психологических тестов между группой спортсменов и контрольной выборкой критерием Фишера.

	Опросник Ч.Д. Спилбергера	Опросник Г. Шмишека
Контроль	42,1 ± 9,6	10,3 ± 5,8
Спортсмены	36,9 ± 8,3	8,5 ± 5,3
Значение p (критерий Фишера)	0,146	0,418

Данный результат согласуется с общепринятым мнением о том, что повышенная тревожность оказывает негативное воздействие на эффективность спортивной деятельности (ухудшение координации движений, чувства времени) в условиях ответственных соревнований (Кретти Б.Дж., 1978). Однако стоит отметить, что для разных видов спорта характерен разный оптимальный уровень тревожности (Родионов А.В., 2004). Поэтому в дальнейшей работе мы разделили группу спортсменов в соответствии с классификацией по видам спорта.

## 2. Взаимосвязь информативных молекулярно-генетических маркеров дофаминергической системы с характеристиками тревожности у представителей контрольной группы.

Для выбора наиболее значимых генетических маркеров, ассоциированных с тревожностью, исследовали ключевые полиморфизмы дофаминергической системы. Функциональное разнообразие работы дофаминергической системы во многом определяется наследственными различиями в строении и регуляции экспрессии белков DAT, COMT, DRD1, DRD2, DRD3, TH1, DBH, MAOB. В связи с этим изменчивость этих белков, и соответственно, вариабельность их функциональных свойств в основном определяются полиморфизмами генов этих белков, а чаще всего точечными мутациями (SNP). На первом этапе работы для выявления наиболее перспективных полиморфизмов дофаминергической системы исследовали контрольную выборку из 158 человек, включающую 74 мужчины и 82 женщины, средний возраст = 20±5 лет. Был проведен генетический анализ ДНК испытуемых методом ПЦР с последующим рестриктным анализом (кроме полиморфизма гена DAT) по 8 функциональным полиморфизмам ключевых генов дофаминергической системы: SNP Val158Met COMT, 40 п.о. VNTR полиморфизм DAT, SNP A-48G DRD1, SNP TaqIA DRD2, SNP Ser9Gly DRD3, SNP Val81Met TH1, SNP MAOB, SNP TaqI DBH (табл. 1). Частотные распределения генотипов испытуемых соответствуют закону Харди-Вайнберга: DRD2 ( $\chi^2 = ,0204$ ;  $df = 2$ ;  $p < ,9898$ ), DAT ( $\chi^2 = ,0089$   $df = 2$   $p < ,9955$ ).

Статистический анализ взаимосвязи рассмотренных генотипов и результатов психологического тестирования по шкалам, ассоциированным с тревожностью (фактор «О» опросника Кеттела, опросник Г. Шмишека, шкала «Личностная тревожность» Ч.Д. Спилбергера в адаптации Ю.Л. Ханина, шкала «Проявление тревоги Дж. Тейлора», шкала «Нейротизм» опросника EPI) не выявил достоверных статистических связей. Поэтому для оценки совместного влияния полиморфизмов попарно группировали генотипы по двум исследуемым маркерам. Методом ANOVA оценивали ассоциации различных генотипов с результатами психологического тестирования. Принципом для объединения полиморфизмов исследуемых генов была колокализация белков, кодируемых этими генами. Вероятность взаимодействия белков с анатомически схожей локализацией в мозге, и их совместного влияния на уровень дофамина во внесинаптическом пространстве, значительно выше, чем у белков, локализованных в разных отделах мозга. В первую очередь, была исследована пара DAT и DRD2, так как известно, что белки экспрессируются в основном в базальных ганглиях (стриатуме). На

сочетании исследуемых полиморфизмов генов DAT и DRD2 были выявлены максимально значимые эффекты.

Анализ соотношения уровня тревожности с носительством генотипов DAT и DRD2 позволил выявить:

- значительную тенденцию к повышенному, по отношению к остальным, уровню тревожности (опросник Дж. Тейлора) у носителей генотипа 9+A1+ (рис. 1). Статистически значимых различий в уровне тревожности у носителей различных генотипов выявлено не было.
- значительную тенденцию к повышенному, по отношению к остальным, уровню тревожности (фактор «О» теста Кеттелла) у носителей генотипа 9+A1+ (рис. 2). Средний показатель тревожности у носителей генотипа 9+A1+ статистически значимо отличается от среднего уровня у носителей генотипов 9+A1- и 9-A1- ( $p=0,03$  и  $0,04$  соответственно).
- аналогичная тенденция выделения генотипа 9+A1+ обнаружена и для шкалы «Нейротизм» личностного опросника Айзенка.

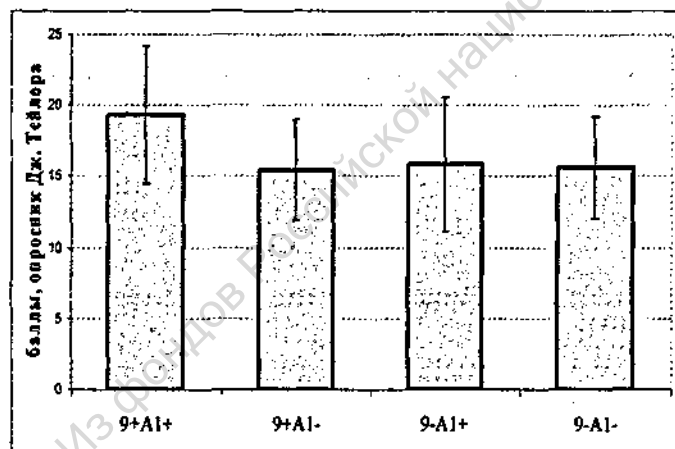


Рис. 1 Распределение балльных оценок шкалы тревожности Дж.Тейлора по генотипам 9-A1+, 9-A1-, 9+A1- и 9+A1+ у контрольной группы.

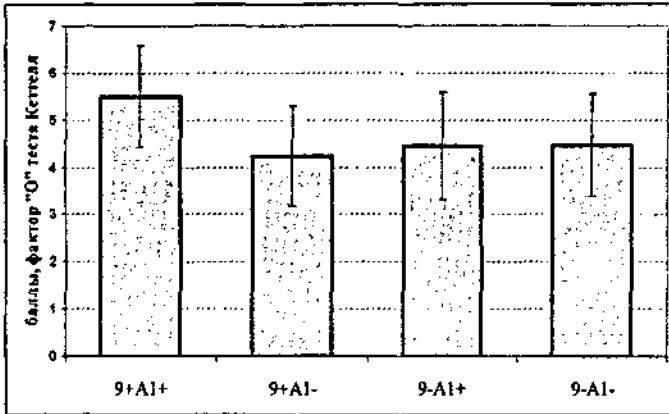


Рис.2 Распределение балльных оценок фактора «О» теста Кеттела по генотипам 9-A1+, 9-A1-, 9+A1- и 9+A1+ у контрольной группы.

Анализ сочетания двух полиморфизмов 40 bp VNTR DAT и TaqIA DRD2 с результатами психологических опросников выявил тенденцию к выделению генотипа 9+A1+, но статистически достоверных отличий между группами не было обнаружено. Для изучения влияния трех молекулярно-генетических маркеров на уровень тревожности в статистический анализ были включены аллельные варианты полиморфизма Val158Met гена COMT (отвечает за катаболизм дофамина в префронтальной коре). Из исследуемой выборки были исключены носители гомозигот MM (мутантный тип), поскольку ассоциированная с этим генотипом повышенная активность дофаминовых нейронов, вероятно, приводит к снижению чувствительности к сигналам, идущим из стриатума, и, следовательно, к снижению влияния DAT и DRD2 на базальный уровень дофамина (Yasubian J., 2007). Поэтому в статистический анализ были включены только носители генотипов VM и VV, которые далее обозначены, как носители V аллеля.

Анализ результатов генетического и психологического исследований методом ANOVA выявил статистически значимое отличие генотипа V9+A1+ от других генотипов по показателям ряда шкал, определяющих уровень тревожности (рис. 3).

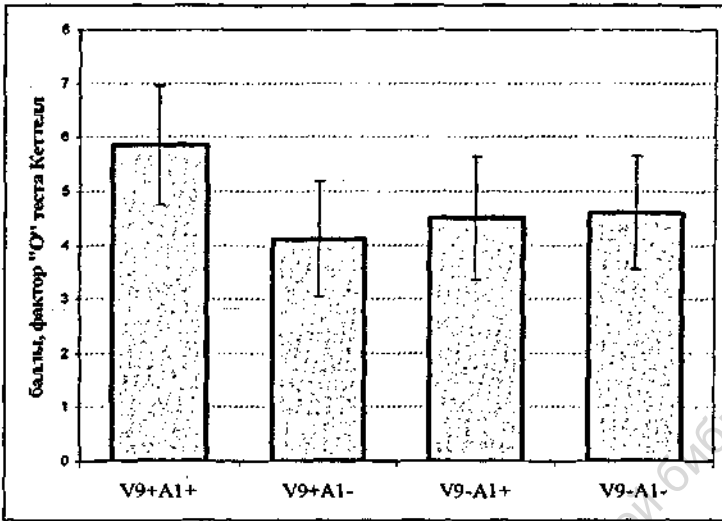


Рис. 3 Распределение балльных оценок фактора «О» теста Кеттелла по генотипам V9-A1+, V9-A1-, V9+A1- и V9+A1+ у контрольной группы.

Наибольшее среднее значение по фактору «О» теста Кеттелла принадлежит группе носителей генотипа V9+A1+. Данное значение лежит в пределах интервала, характеризующегося средним уровнем тревожности, но в значительной степени приближено к границе интервала повышенной тревожности. Схожие тенденции наблюдаются и по другим исследованным шкалам оценки.

Так, были обнаружены статистически значимые отличия (табл. 3) по проявлению тревожности, оцененной в широком спектре, между группами носителей различных генотипов: V9+A1+, V9-A1+, V9+A1- и V9-A1-. Носители V9+A1+ обладают повышенным уровнем тревожности по сравнению с остальными группами.

Таблица 3

Различия между группой носителей генотипа V9+A1+ и остальными группами - V9-A1+, V9-A1-, V9+A1- по шкалам, ассоциированным с тревожностью, на контрольной выборке (критерий Фишера).

Сравниваемые группы		Тест Кеттелла, фактор «О»	Шкала проявлений тревоги Тейлора	Шкала «Нейротизм» Айзенка
V9-A1+	V9+A1+	0,05*	0,027*	0,05*
V9+A1-		0,009*	0,05*	0,05*
V9-A1-		0,04*	0,065	0,07

\* - отмечены значения  $p \leq 0,05$ , при которых группы статистически значимо отличаются друг от друга.

Таким образом, в результате изучения взаимосвязи психологических особенностей и полиморфизмов генов дофаминергической системы в качестве информационных маркеров были выявлены 40 п.о. VNTR DAT, TaqIA DRD2 и Val158Met COMT. Сочетание V9+A1+ достоверно ассоциировано с повышенным, по сравнению с остальными группами, уровнем тревожности.

### 3. Ассоциации молекулярно-генетических маркеров DAT, DRD2, COMT с психофизиологическими показателями у мужчин-спортсменов.

В соответствии с вышеописанными данными для исследования группы спортсменов были выбраны три наиболее значимых полиморфизма генов DAT, DRD2, COMT дофаминергической системы, ассоциированных с проявлением тревожности, чтобы далее более детально исследовать взаимосвязь аллельных сочетаний по данным полиморфизмам с психофизиологическими показателями в группе высококвалифицированных спортсменов.

Обследована выборка из 132 мужчин-спортсменов с квалификацией не ниже кандидата в мастера спорта (средний возраст =  $20 \pm 5$  лет), специализирующихся в разных видах спортивной борьбы и циклических видах спорта.

Часть испытуемых спортсменов (72 человека) прошла психофизиологическое тестирование. На рис. 4 представлены результаты по оценке «объема внимания» в условиях краткосрочного теста по активному выбору полезной информации (тесту Шульце). Значения по характеристике «объем внимания» менее 37 секунд свидетельствуют о результате выше среднего, в интервале от 38 до 50 – указывают на средний уровень. Показано, что носители генотипа V9+A1+ тратили на выполнение задания минимальное количество времени как до (33 сек), так и после физической нагрузки (34 сек), то есть имели наибольшие значения величины «объем внимания».

Показано, что до нагрузки группа носителей генотипа V9+A1+ обладает уровнем внимания выше среднего (33 сек), носители V9-A1- и V9+A1- генотипов, то есть все носители A1- аллеля, обладают средним уровнем внимания (39-46 сек), а носители генотипа V9-A1+ обладают уровнем внимания ниже среднего (57 сек). Статистически достоверные различия отражены в табл.4. По результатам данного эксперимента можно также судить и об устойчивости внимания после физической нагрузки: у носителей генотипов V9+A1+ и V9-A1- «объем внимания» практически не изменился до и после нагрузки, в то время как, у носителей генотипа V9+A1- и особенно V9-A1+ «объем внимания» существенно уменьшился после нагрузки ( $p < 0,1$ ).

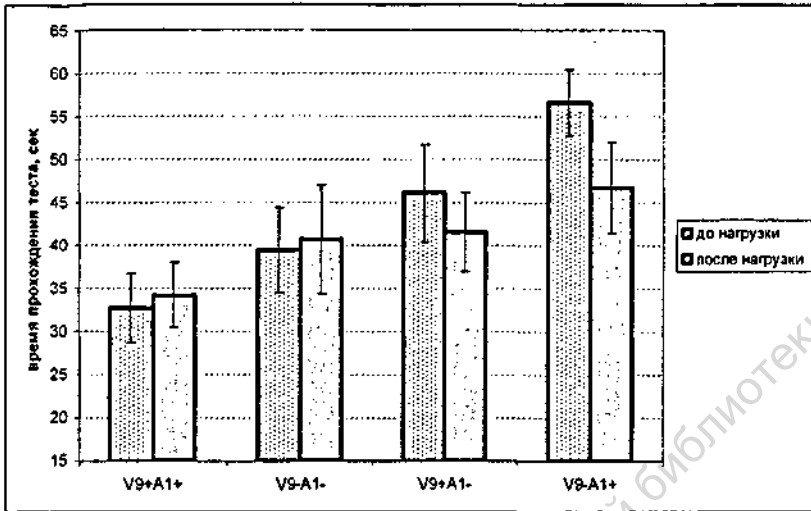


Рис. 4 Распределение результатов общего времени прохождения теста Шульте (объема внимания) по генотипам V9-A1+, V9-A1-, V9+A1- и V9+A1+ на выборке спортсменов.

Тест Шульте характеризует внимание человека и его умение сконцентрироваться. Поэтому можно сделать вывод о том, что спортсмены-носители генотипа V9+A1+ обладают тенденцией к повышенной концентрации внимания и умению максимально сосредоточиться (применимо к отрезку времени порядка 1 минуты), в то время как носители генотипа V9-A1+ обладают более рассеянным вниманием.

Таблица 4

Различия между группой носителей генотипа V9+A1+ и остальными группами - V9-A1+, V9-A1-, V9+A1- по характеристике «объем внимания» (тест Шульте) до нагрузки на выборке спортсменов (критерий Фишера).

Сравниваемые группы	Объем внимания до нагрузки	Объем внимания после нагрузки
V9-A1+ / V9+A1+	0,002*	0,04*
V9+A1- / V9+A1+	0,012*	0,16
V9-A1- / V9+A1+	0,23	0,25

\* - отмечены значения  $p < 0,05$ , при которых группы статистически значимо отличаются друг от друга.

Оценка психологического портрета носителей различных сочетаний генотипов DAT и DRD2 на контрольной выборке мужчин (68 человек) подтвердила и дополнила результаты, полученные на выборке высококвалифицированных спортсменов. У

носителей генотипа 9+A1+ наибольший средний балл был получен по шкале «Возбужденный тип» опросника Шмишека и наименьший средний балл по шкале «уровненность нервной системы», по сравнению с остальными генотипами. Следовательно, можно сделать вывод, что носители генотипа 9+A1+ и особенно V9+A1+ с одной стороны, имеют предрасположенность к повышенной тревожности и, с другой стороны, к повышенной внимательности при выполнении краткосрочных задач.

Проанализированы различия между максимальным и удобным темпом движения кисти, полученные по методике «Теппинг-тест» до и после физической нагрузки (рис. 5). Как видно, максимальное число нажатий практически не различается у носителей разных генотипов, с небольшой тенденцией к снижению у носителей генотипа 9+A1-. В тоже время, разница между максимальным и удобным темпами минимальна у носителей генотипа 9+A1- по сравнению с носителями других рассматриваемых генотипов ( $p \leq 0.1$ ), что еще больше проявляется после нагрузки ( $p \leq 0.01$ ).

Таким образом, максимальная скорость движений кисти, определяемая методикой Теппинг-тест, не маркируется рассматриваемыми генотипами. В тоже время, анализ результатов тестирования в комфортном темпе, который отражает индивидуальные особенности нервной системы испытуемого, выделял генотип 9+A1-. Разница между средним количеством нажатий в максимальном и удобном темпах у носителей генотипа 9+A1- достоверно меньше, чем у носителей других генотипов ( $p < 0.05$ ). Данные результаты свидетельствуют о том, что носители генотипа 9+A1- характеризуются высокой «сплой» нервных процессов.



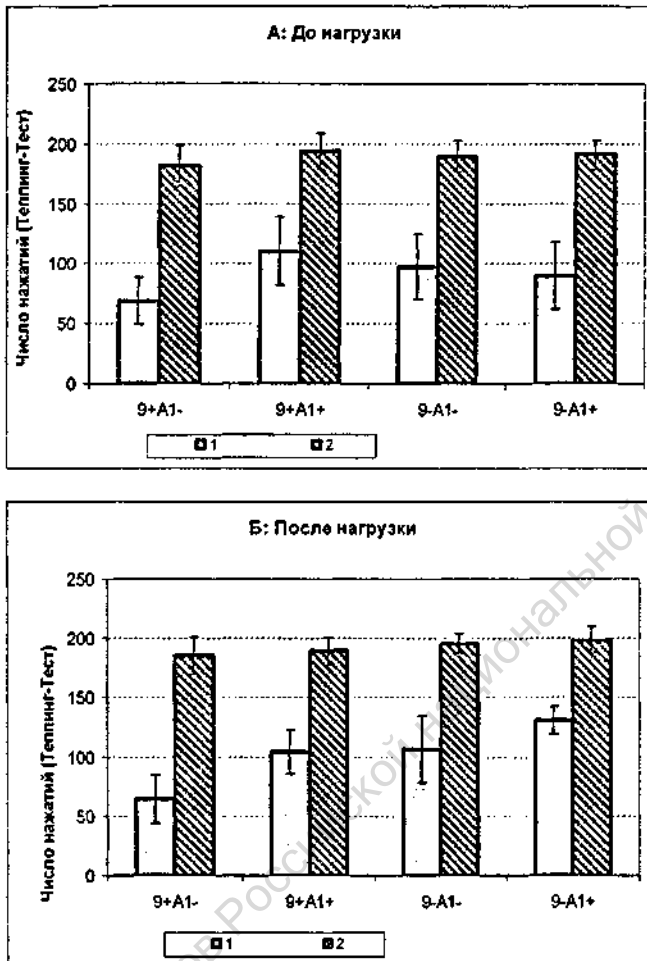


Рис.5 Распределение результатов методики «Теплинг-тест» до нагрузки (5А) и после нагрузки (5Б) по генотипам 9+A1+, 9-A1-, 9+A1- и 9+A1+ на выборке высококвалифицированных спортсменов.

1 – разница между количествами нажатий в максимальном и удобном темпах, соответственно; 2 – количество нажатий при максимальном темпе;

Анализ вербальной агрессии дополняет спектр психофизиологической данных и подтверждает полученные выше результаты. На контрольной группе мужчин было показано, что у носителей генотипа 9+A1- уровень вербальной агрессии, оцененный по опроснику Басс-Дарки, ниже ( $p < 0,1$ ), по сравнению с носителями других генотипов. В совокупности с вышеописанными результатами это свидетельствует о предрасположенности носителей генотипа 9+A1- к уравновешенному типу поведения.

Таким образом, представленные данные свидетельствуют о том, что носительство генотипа V9+A1+ является условием предрасположенности к повышенной тревожности и большому объему внимания при выполнении краткосрочных задач, что в общем можно характеризовать как повышенную возбудимость, гиперреактивность. Носительство генотипа 9+A1- является фактором предрасположенности к высокой «силе» нервной системы.

#### 4. Частотное распределение молекулярно-генетических маркеров дофаминергической системы у высококвалифицированных спортсменов.

Выше было отмечено, что средние значения по различным шкалам тревожности ниже у группы спортсменов по сравнению с контрольной выборкой. Гипотетически можно предположить, что частота встречаемости генотипа 9+A1+ у спортсменов будет понижена по сравнению с контрольной выборкой.

Были исследованы частотные распределения генотипов по полиморфизмам 40 п.о. VNTR DAT и SNP TaqIA DRD2 у спортсменов и контрольной выборки. Сравнение частного распределения генотипов DAT и DRD2 контрольной группы и групп различных видов спорта способствует выявлению молекулярно-генетических маркеров, влияющих на эффективность деятельности спортсмена.

Исследование проводили на выборке из 132 высококвалифицированных мужчин-спортсменов, распределенных по группам в соответствии с классификацией по видам спорта: спортивные единоборства (68 человек) и циклические виды спорта (64 человек). Сопоставляли результаты с контрольной выборкой из 76 мужчин.

Доля носителей генотипа 9+A1+ в группе циклических видов спорта (13%) оказалась существенно меньше, чем в контрольной выборке (20%) (рис. 6). Напротив, между группой спортивных единоборств (22%) и контрольной выборкой не было обнаружено значительных отличий. Вероятно, предрасположенность к повышенной тревожности и расширенному объему внимания носителей 9+A1+ не только не мешает, а скорее способствует эффективности спортсменов спортивных единоборств. Для спортсменов, занимающихся циклическими видами спорта, для которых характерно устойчивое повторение движений при перемещении собственного тела в пространстве, носительство генотипа 9+A1+, напротив, является негативным фактором и, вероятно, снижает эффективность их деятельности, так как повышенная тревожность и лабильность нервной системы могут препятствовать достижениям высоких результатов при циклических нагрузках, требующих длительной и дозированной реализации мощностного потенциала.

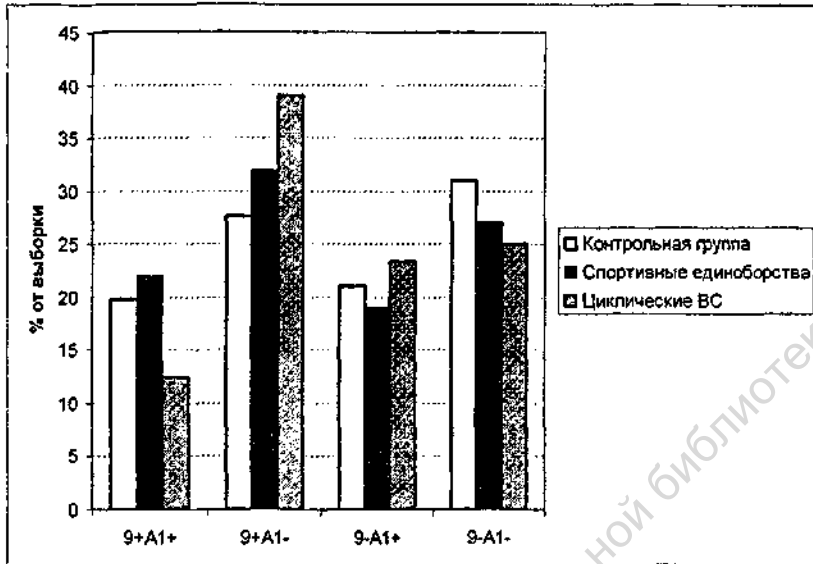


Рис.6 Распределение частот встречаемости генотипов 9-A1+, 9-A1-, 9+A1- и 9+A1+ у контрольной выборки, группы спортивных единоборств и циклических видов спорта.

Из данных о распределении процентных долей генотипов DAT и DRD2 также следует, что среди исследуемых групп направленные отличия были получены для генотипа 9+A1-. У представителей контрольной выборки доля генотипа 9+A1- составляла 28%, в то время как в группе спортивных единоборств - 32%, в группе циклических видов спорта - 39% (отличие от контрольной группы более 10%). Следовательно, частота встречаемости генотипа 9+A1- среди спортсменов выше (особенно среди спортсменов циклических видов спорта), чем среди носителей контрольной выборки. Данный результат подтверждает ассоциацию носителей генотипа 9+A1- с высокой силой нервной системы, что, вероятно, позволяет спортсменам циклических видов спорта более эффективно справляться с профессиональными нагрузками.

Частотные распределения генотипов DAT и DRD2 значительно отличаются среди групп разных видов спорта с максимальной манифестацией в циклических видах спорта (частота встречаемости генотипа 9+A1+ значительно понижена, а генотипа 9+A1- - повышена по сравнению с остальными исследованными группами). В дальнейшем, определение молекулярно-генетических маркеров нейромедиаторных систем совместно с маркерами физического состояния спортсменов, может быть применимо в сфере спортивной медицины в качестве прогностической методики

оценки предрасположенности человека к занятиям определенными видами спортивной деятельности.

#### 5. Модель влияния вариаций в генах DAT и DRD2 на уровень внеклеточного дофамина.

Целью создания данной модели является схематичное отражение гипотезы влияния вариаций в генах DAT и DRD2 на уровень внеклеточного дофамина, которая обосновывает выявленную в исследовании взаимосвязь между носительством генотипа 9+ A1+ и повышенной тревожностью. В основе модели лежит влияние различий в плотностях белков DAT и DRD2 в зависимости от вариаций в их генах на тонический (фоновый) выброс одного дофаминового нейрона. Плотность DAT определяет дальность распространения и продолжительность существования дофамина во внеклеточном пространстве. Действие ауторецептора DRD2 на дофаминергическую систему многопланово. Стимуляция DRD2 ведет к снижению частоты тонических сокращений. Согласно литературным данным, активация DRD2 рецепторов увеличивает производительность обратного захвата (Beniot-Marand M., 2001).

Таким образом, DRD2 служит обратной связью, позволяющей нейронам поддерживать базальную концентрацию дофамина, которая складывается из отдельных тонических выбросов. На ауторецепторы действует дофамин нейрона, на котором непосредственно расположен ауторецептор, а также медиатор близлежащих нейронов.

На рис. 7 схематично показаны четыре сочетания генотипов полиморфизмов DRD2 и DAT. Аллель 9+ (а, б) отличается от 9- (в, г) пониженной экспрессией DAT, следовательно, область распространения и время нахождения дофамина во внесинаптическом пространстве у 9+ больше. У аллеля A1- (а, в) экспрессируется большее количество ауторецептора D2, чем у аллеля A1+ (б, г), что, во-первых, должно приводить к более активной работе DAT, сужая сферу распространения дофамина, во-вторых, к более низкой частоте тонических выбросов.

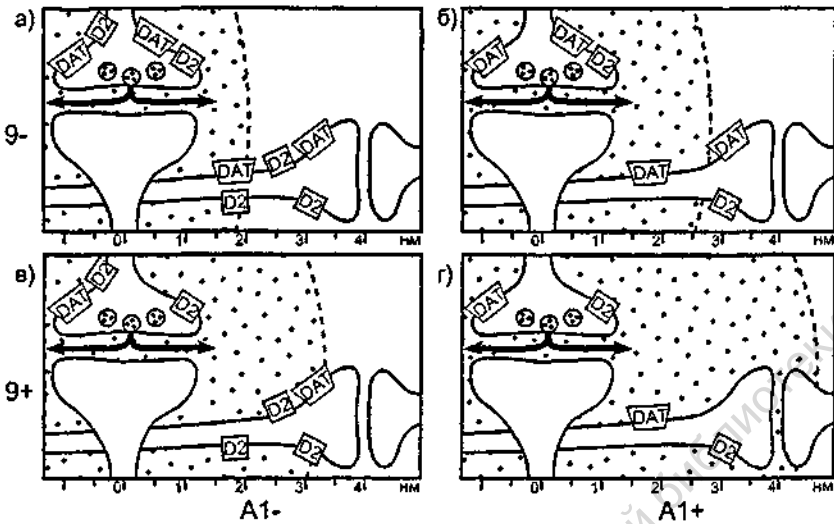


Рис. 7. Схема диффузии дофамина в межклеточном пространстве стриатума у генотипов 9-A1- (а), 9-A1+ (б), 9+A1- (в), 9+A1+ (г).

Таким образом, было показано, что генотип 9+A1+ обладает наиболее высокой базальной концентрацией дофамина в стриатуме, что, вероятно, влияет на активацию дофаминергических проеций в префронтальную кору и может обуславливать повышенную тревожность его носителей.

На рис. 8 представлена зависимость числа активированных рецепторов D2 от времени с момента выделения кванта ( $Q=3000$  молекул) (Cragg S.J., 2004) дофамина в синаптическую щель. Кривые получены численным интегрированием с различными комбинациями значений констант  $V_{max}$  и  $[D2]$ , соответствующим различным концентрациям дофаминового транспортера и рецептора соответственно. Молярная весовая концентрация рецептора у генотипа A1+ составляет в среднем 22 фмоль/мг, в то время как у A1- — 34 фмоль/мг (Thompson J., 1997). Константа  $V_{max}$  равна 4,1мкМ/с и 3,1мкМ/с у 9- и 9+ соответственно.

Согласно рис. 8, у носителей A1+ число рецепторов, связавшихся с дофамином существенно ниже, чем у A1-, следовательно, последующий тонический выброс в рассматриваемой области у A1+ произойдет раньше.

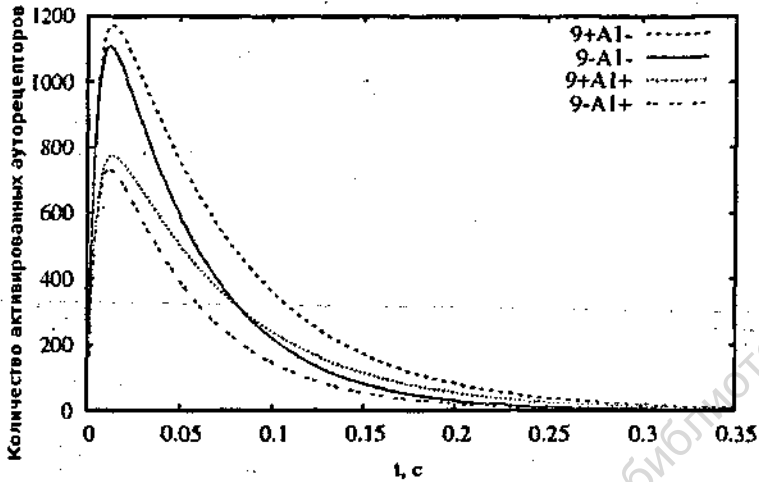


Рис. 8. Зависимость количества активированных ауторецепторов DRD2 от времени у носителей различных генотипов.

Исходя из масштабов различий в количестве активированных рецепторов у A1+ и A1-, можно сделать предположение о том, что различия в количестве активированных рецепторов у носителей 9+ и 9- не должны оказывать существенного влияния на частоту тонических выбросов дофамина. При этом, время нахождения во внеклеточном пространстве и область распространения дофамина (рис. 7) у 9+A1+ больше, чем у 9-A1+, что подтверждает гипотезу о повышенном уровне тонического дофамина у генотипа 9+A1+.

Разработанная модель механизмов влияния генотипической изменчивости дофаминергической системы на уровень внеклеточного дофамина в мозге подтверждает и дополняет выявленную в исследовании ассоциацию между генотипом 9+A1+ и повышенной тревожностью, что является основой для поиска других молекулярно-генетических маркеров, применимых для оценки предрасположенности человека к адаптации при высоких психофизических нагрузках.

**Выводы:**

1. Выявлены ключевые генетические полиморфизмы дофаминергической системы – DAT 40 bp VNTR, DRD2 Taq1A и COMT Val158Met, влияющие на уровень тревожности человека. Носители генотипа V9+A1+ обладают повышенной тревожностью по сравнению с носителями других генотипов.
2. На выборке высококвалифицированных спортсменов было показано, что носители генотипа V9+A1+, маркирующего повышенную тревожность, обладают высоким и устойчивым объемом внимания, а генотип 9+A1- ассоциирован с большей силой нервной системы.
3. Частотные распределения генотипов DAT и DRD2 значительно отличаются среди групп разных видов спорта, наибольшие различия были получены между контрольной группой и группой циклических видов спорта. У спортсменов циклических видов спорта понижена частота встречаемости генотипа 9+A1+, ассоциированного с повышенной тревожностью, и повышена частота встречаемости генотипа 9+A1-, ассоциированного с повышенной силой нервной системы.
4. Результаты работы объяснены с помощью разработанной модели влияния генетических вариаций DAT и DRD2 на уровень внеклеточного дофамина. Модель схематично демонстрирует гипотезу взаимосвязи уровня внеклеточного дофамина с проявлением тревожности у носителей генотипа 9+A1+.
5. Информативные полиморфизмы DAT 40 bp VNTR, DRD2 Taq1A и COMT Val158Met являются косвенными маркерами предрасположенности к психоэмоциональной адаптации в специфических условиях спортивной деятельности.

**ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

Гены дофаминергической системы DAT, DRD2 и COMT с большой вероятностью влияют на эмоциональные и психофизиологические личностные характеристики человека и открывает перспективу для дальнейшего использования полиморфизмов в роли молекулярно-генетических маркеров возбудимости нервной системы, которые, в свою очередь, являются факторами потенциальной (генетической) предрасположенности человека к различным видам спортивной деятельности. Используя результаты генетического анализа, в дальнейшем, специалисты спортивной медицины смогут выявлять потенциально перспективных кандидатов для определенных видов спорта на этапах отбора в профессиональный спорт, а также

оптимизировать тренировочный цикл спортсменов с учетом их индивидуальной предрасположенности.

### СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Kulikova M., Maluchenko N., Tonevitsky A. Analysis of a functional catechol-O-methyltransferase gene polymorphism in healthy females: association with aggressive behavior // European Human Genetics Conference 2007. - European Journal of Human Genetics. - 2007. - N. 15(2). - P. 243.
2. Куликова М.А., Малюченко Н.В., Тоневитский А.Г. Исследование полиморфизма генов нейромедиаторных систем с помощью ПЦР в реальном времени // Сборник материалов XX съезда Физиологического общества имени И.П. Павлова.- М., 2007. – С.295.
3. Куликова М.А., Малюченко Н.В., Тоневитский А.Г. и др. Значение генетических полиморфизмов нейромедиаторных систем для психологии спорта // Монография «Молекулярный полиморфизм человека» под ред. С.Д. Варфоломеева. - М.:РУДН, 2007. – Т.2. - С. 628-644.
4. Куликова М.А., Тимофеева М.А., Малюченко Н.В. Методические рекомендации по использованию генетического полиморфизма для прогнозирования психо-эмоциональных черт личности // М: Издательство ВНИИФК. – 2006.
5. Куликова М.А., Малюченко Н.В., Тоневитский А.Г. Перспективы изучения полиморфизмов ключевых генов нейромедиаторных систем для спортивной медицины. Часть 1. Дофаминергическая система // Физиология человека. – 2007. – Т. 33. – вып. 6. - С. 752-758.
6. Куликова М.А., Малюченко Н.В., Тоневитский А.Г. и др. Влияние функционального полиморфизма VAL158MET катехол-О-метилтрансферазы на физическую агрессивность // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2008. - Т. 145. – вып. 1. – С. 68-70.
7. Kulikova M.A., Timofeeva M.A., Maluchenko N.V. Effect of polymorphisms in the dopaminergic system on the mental fatigue // European Human Genetics Conference 2008. - European Journal of Human Genetics. - 2008. - N. 16(2). - P. 327.
8. Куликова М.А., Трушкин Е.В., Малюченко Н.В. и др. Генетические маркеры предрасположенности к повышенной тревожности // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2008. – Т. 145 – вып. 11.- С. 674-678.



Из фондов Российской национальной библиотеки

Из фондов Российской национальной библиотеки

Подписано в печать 25.03.2009  
Формат бумаги 60x90/16  
Усл.печ.л. 0,8  
Тираж 100

Сдано в производство 26.04.2009  
Бум.офсетная  
Усл.-изд.л. 0,9  
Заказ № 711

Отпечатано в ООО «Петроруш».  
г.Москва, ул.Палиха-2а, тел.250-92-06  
[www.postator.ru](http://www.postator.ru)

09 - 07722

2009A

7722

Из фондов Российской национальной библиотеки