

WOJSKOWY INSTYTUT HIGIENY I EPIDEMIOLOGII
im. gen. Karola Kaczkowskiego
w WARSZAWIE



mgr Ewelina Maculewicz

BADANIA ZMIENNOŚCI GENETYCZNEJ GENÓW *COL1A1*, *COL3A1*,
COL5A1 U PACJENTÓW Z ZERWANYM ŚCIĘGNEM ACHILLESA JAKO
PUNKT WYJŚCIA DO OPRACOWANIA WCZESNYCH METOD
PREWENCJI DLA OSÓB AKTYWNYCH FIZYCZNIE
/ROZPRAWA DOKTORSKA/

POLYMORPHISM OF *COL1A1*, *COL3A1*, *COL5A1* GENES OF SUBJECTS WITH
RUPTURED ACHILLES TENDON AS A TOOL FOR DEVELOPMENT OF EARLY
PREVENTION METHODS FOR PHYSICALLY ACTIVE PEOPLE
/DOCTORAL DISSERTATION/

Praca doktorska wykonana pod
kierunkiem
Dr hab. Pawła Ciężczyka prof. nadzw.
Promotor pomocniczy
Dr n. biol. Anna Borecka

Warszawa 2018

Streszczenie

Wzrost zachorowalności na choroby układu ruchu skłonił WHO do ogłoszenia pierwszej dekady XXI wieku „dekadą chorób narządu ruchu”. Grupą szczególnie narażoną na wystąpienie takich urazów są osoby aktywne fizycznie, a do najczęstszych rozpoznań w tym zakresie zalicza się uszkodzenia tzw. „tkanek miękkich”, szczególnie ścięgien i więzadeł kończyn dolnych. W etiologii tego typu urazów bierze udział wiele czynników ryzyka (tj. płeć, wiek czy uprawiana dyscyplina sportowa), w tym czynniki genetyczne.

Doniesienia o związku pomiędzy informacją genetyczną zapisaną w ludzkich genach oraz występowaniem urazów pojawiły się jeszcze przed erą badań genetycznych. Zaobserwowano, że część zawodników ulegała nieustannie kontuzjom, podczas gdy pozostali, realizujący takie same obciążenia treningowe i charakteryzujący się podobnymi cechami morfo-strukturalnymi nie odnosili kontuzji w ciągu całej kariery zawodniczej. Wraz z rozwojem technik badań molekularnych rozpoczęto analizowanie zmienności genetycznej oraz łączenie jej z właściwościami kodowanych przez te geny białek, a także z właściwościami funkcjonalnymi tkanek.

Zasadne jest zatem badanie zmienności genetycznej w obrębie genów kodujących białka pełniące w organizmie funkcje budulcowe. Najpowszechniejsze wśród nich są białka kolagenowe. W związku z powyższym w niniejszej pracy zdecydowano się na analizę zmienności genetycznej w obrębie genów *COL1A1* (rs1107946), *COL3A1* (rs1800255) i *COL5A1* (rs12722). Wyboru miejsc polimorficznych dokonano na podstawie wcześniejszych doniesień sugerujących ich związek z kluczowymi cechami warunkującymi właściwości funkcjonalno-strukturalnych tkanek.

Głównym celem prezentowanej pracy jest ocena wybranych polimorfizmów genów *COL1A1*, *COL3A1*, *COL5A1*, jako markerów genetycznych mogących mieć kluczowe znaczenie we wczesnej diagnostyce zwiększonego ryzyka uszkodzenia ścięgna Achillesa u osób aktywnych fizycznie.

Materiał biologiczny pobrano w formie wymazów nabłonka z jamy ustnej. W celu detekcji wybranych polimorfizmów genetycznych zastosowano łańcuchową reakcję polimerazy w czasie rzeczywistym (ang. PCR Real-Time). Grupę badaną stanowiło 93 aktywnych fizycznie biegaczy amatorów zakwalifikowanych do chirurgicznego zabiegu podskórnego zszycia pękniętego ścięgna Achillesa. Grupę kontrolną stanowiło 135 biegaczy amatorów realizujących podobne co do intensywności i objętości obciążenia fizyczne,

u których nie doszło jednak do zerwania ścięgna Achillesa.

Analizy statystyczne nie potwierdziły związku badanych polimorfizmów genów *COL1A1* i *COL5A1* ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia zerwania ścięgna Achillesa wśród objętych badaniem biegaczy amatorów. Z kolei związek taki wykryto w przypadku objętego badaniem polimorfizmu genu *COL3A1*, gdzie wykazano, że szansa uszkodzenia ścięgna u heterozygot A/G była 1,92 razy mniejsza w porównaniu do genotypu referencyjnego G/G (OR=0,52, 95% CI 0,29-0,94), podczas gdy u nosicieli obu alleli A szansa uszkodzenia ścięgna była ponad 4 razy większa (OR=4,35, 95% CI 1,12-16,67). W porównaniu do nosicieli allelu G (G/G+A/G, model recesywny) szansa zerwania ścięgna u homozygot AA była ponad 5 razy większa (OR=5,26, 95% CI 1,41-20,0). Z kolei u heterozygot A/G szansa uszkodzenia ścięgna była ponad 2 razy mniejsza w porównaniu do homozygot G/G i A/A (OR=0,47, 95% CI 0,26-0,84). W toku analiz nie potwierdzono wpływu interakcji genów *COL1A1*, *COL3A1*, *COL5A1* na zwiększone ryzyko wystąpienia kontuzji.

Wyniki badań mogą być wykorzystane przez klinicystów, trenerów i rehabilitantów do stworzenia spersonalizowanych planów treningowych zmierzających do obniżenia ryzyka kontuzji i do rozwoju programów opieki i rehabilitacji kontuzjowanych.

Słowa kluczowe: urazy, Achilles, ścięgna, kolagen

Abstract

An increase in the frequency of the musculoskeletal system injuries prompted the World Health Organization to announce the first decade of the 21st century, the „decade of musculoskeletal system injuries“. The group that is particularly prone to injuries are physically active people, and the most frequently injured areas are „soft tissues“, especially tendons and ligaments of the lower limbs notably the Achilles tendon. Many risk factors are responsible in the etiology of this injury namely environmental (sex, age or sports discipline practiced), but also genetic factors. Certain polymorphism of some genes has been proposed as potential factors that may increase the risk of Achilles tendon damage.

The relation between genotype and an increased risk of a certain type of injury has been indicated by basic associative studies. It was observed that some active people were injured more often, while others, performing the same training loads and characterized by similar morpho-structural features, have not been injured. With the development of molecular research techniques, it is possible to study genetic variability, and also the properties of proteins encoded by the genes and their functional properties of tissues encoded by those genes.

Polymorphisms of several genes that encode collagen proteins have been shown to be associated with specific musculoskeletal injuries. Genetic variants within the *COL1A1*, *COL3A1* and *COL5A1* genes have been shown to be associated with chronic Achilles tendinopathy, Achilles rupture, cruciate ligament rupture and shoulder dislocations in Asian and Caucasian populations. In the present study, an attempt was made to estimate the association between the polymorphism of rs12722 of *COL5A1*, rs1800255 of *COL3A1* and rs1107946 of *COL1A1* and an increased risk of Achilles tendon rupture. The selection of polymorphic sites was made based on previous reports suggesting their connection with the functional and structural properties of connective tissues. The main goal of this research was to assess selected polymorphisms of *COL1A1*, *COL3A1* and *COL5A1* genes as possible genetic markers that may be used in the early diagnosis of increased risk of Achilles tendon injury in physically active people.

The test group consisted of 93 recreational long distance runners with Achilles tendon injury, qualified for surgical subcutaneous stitching of a broken tendon (age, 38.3±4.34; height 175.2±7.33 cm; BW, 80.2±4.15 kg, BMI, 26.1±1.16; weekly activity, 8.5±2.60h). The control group consisted of 135 recreational long distance runners who performed similar

physical activity and had healthy Achilles tendon (age, 39.6±6.16; height, 173.3±9.41cm; BW, 79.1±5.69 kg, BMI, 26.3±1.39; weekly activity, 9.1±3.60 h). The biological material was collected in the form of oral epithelial swabs. To detect selected genetic polymorphisms, real-time polymerase chain reaction (Real-Time PCR) was used.

There was no effect of rs1107946 *COL1A1* or rs12722 *COL5A1* gene polymorphisms on the increased risk of Achilles tendon rupture among the recreational long distance runners. However, there was an effect of rs1800255 *COL3A1* gene polymorphism, where it was shown that the odds ratio to injure the tendon in A / G heterozygotes was 1.92 times less likely compared to the reference genotype G / G (OR=0.52, 95% CI 0.29-0.94), whereas in the case of both A alleles, the odds ratio to injure the tendon was more than 4 times greater (OR=4.35, 95% CI 1.12-16.67). Compared to carriers of the G allele (G/G + A/G, recessive model), the odds ratio to injure the tendon in the AA homozygote was more than 5 times greater (OR=5.26, 95% CI 1.41-20.0). In turn, heterozygotes A/G had an odds ratio to injure the tendon more than 2 times smaller than homozygotes G/G and A/A (OR=0.47, 95% CI 0.26-0.84). The effect of *COL1A1*, *COL3A1* and *COL5A1* gene interactions on the increased risk of injury was not significant.

The results of the research can be used by clinicians, trainers and physiotherapists to create personalized training plans aimed at reducing the risk of injury and to develop care and rehabilitation programs for injured people.

Key words: injury, Achilles, tendon, collagen