

MALCOLM COLLINS<sup>1</sup>  
KEVIN O'CONNELL<sup>2</sup>  
MARTA STĘPIEŃ-SŁODKOWSKA<sup>3</sup>  
MACIEJ BURYTA<sup>4</sup>

**ZWIĄZEK POLIMORFIZMU +1245G/T W OBRĘBIE GENU COL1A1  
Z RYZYKIEM POWSTANIA URAZÓW ACL U NARCIARZY  
I SNOWBOARDZISTÓW**  
**Polymorphism +1245G/T within the COL1A1 gene with the risk  
of ACL injuries in skier and snowboarders**

*Słowa kluczowe:* więzadło krzyżowe przednie, urazy, genotyp, kolagen  
*Key words:* Anterior Cruciate Ligament, ruptures, genotype, collagen

## 1. Wstęp

Narciarstwo alpejskie oraz snowbording są bardzo popularnymi formami aktywności ruchowej podejmowanymi w sezonie zimowym przez ludzi w różnym wieku i o różnym poziomie umiejętności [1, 4, 14]. Wraz z popularnością tych sportów wzrasta jednak liczba doznawanych urazów [11, 21]. Uszkodzenia tkanek miękkich, jak ścięgna czy więzadła, są powszechne zarówno w rekreacji ruchowej, jak i w sporcie wyczynowym [2].

---

<sup>1</sup> Department of Human Biology, University of Cape Town, RPA.

<sup>2</sup> Department of Human Biology, University of Cape Town, RPA.

<sup>3</sup> Uniwersytet Szczeciński, Wydział Kultury Fizycznej i Promocji Zdrowia.

<sup>4</sup> Uniwersytet Szczeciński, Wydział Kultury Fizycznej i Promocji Zdrowia.

Kolano jest najbardziej narażoną na urazy częścią ciała [6]. Davidson i wsp., prowadząc badania retrospektywne wśród narciarzy, wykazali, że stanowią one 35% wszystkich urazów odnoszonych w tej dyscyplinie [5]. Najwięcej przypadków urazów dotyczy więzadła krzyżowego przedniego (anterior cruciate ligament – ACL) [9, 12]. Więzadła są zbudowane z gęsto ułożonych pasm włókien kolagenowych przymocowanych z obu stron do kości. Niewielką ich objętość stanowią komórki zwane fibroblastami, które są odpowiedzialne za syntezę otaczającej je macierzy zewnątrzkomórkowej [23].

Kolagen jest głównym składnikiem więzadła, stanowi 75% jego suchej masy. Najwięcej jest kolagenu typu I – 85% wszystkich białek kolagenowych. Resztę stanowią kolageny typu III, VI, V, XI i XIV. Na poziomie molekularnym kolagen jest syntetyzowany jako cząsteczki prokolagenu i wydzielany do przestrzeni zewnątrzkomórkowej [7]. Kolagen typu I zbudowany jest z dwóch łańcuchów  $\alpha 1$  i jednego łańcucha  $\alpha 2$ , które kodowane są odpowiednio przez geny COL1A1 i Col1A2 [16]. Gen COL1A1, składający się z 51 eksonów, zlokalizowany jest na chromosomie 17q21 [24]. Badania wykazały związek polimorfizmu pojedynczych nukleotydów w obrębie tego genu z występowaniem różnorodnych schorzeń tkanki łącznej [20].

## **2. Cel badań**

Celem niniejszych badań było wykazanie związku polimorfizmu +1245G/T w obrębie genu COL1A1 u badanych polskich narciarzy i snowboardzistów podejmujących aktywność rekreacyjnie.

## **3. Materiał i metody**

Materiał do badań uzyskano od 112 polskich mężczyzn w wieku  $27 \pm 2$ ; narciarzy i snowboardzistów podejmujących rekreacyjnie aktywność ruchową. Osoby te zostały poddane ocenie chirurgicznej, w wyniku której zdiagnozowano u nich urazy ACL i następnie zakwalifikowano do rekonstrukcji więzadła. Grupę kontrolną stanowiło 190 zdrowych mężczyzn; narciarzy i snowboardzistów w wieku  $26 \pm 3$ . Osoby te charakteryzowały się podobnym narażeniem na urazy ACL w wyniku podejmowanej aktywności ruchowej, jak grupa badana. W przeszłości osoby te nie doznały urazu więzadeł. Wszyscy

badani należeli do rasy białej, co pozwoliło wyeliminować różnice związane z częstością występowania określonych form genów u poszczególnych ras ludzkich.

Materiał do badań stanowiły komórki nabłonka jamy ustnej pobrane przy użyciu sterylnych szpatulek (Puritan, USA). DNA izolowano przy użyciu komercyjnego zestawu odczynników GenElute Mammalian Genomic DNA Mini-prep Kit (Sigma, Niemcy) zgodnie z procedurą zalecaną przez producenta. W celu określenia występowania polimorfizmu w obrębie badanej sekwencji genu COL1A1: +1245G/T (rs1800012) użyto zestawu TaqMan Pre-Designed SNP Genotyping Assays (Applied Biosystems, USA) zawierającego startery i fluorescencyjne sondy. Wszystkie badane próby były genotypowane przy użyciu termocyklera Rotor-Gene (Corbett, Australia) przy zastosowaniu metody real-time polymerase chain reaction (real-time PCR). Wykorzystując techniki fluorescencyjne, pozwala ona na monitorowanie ilości produktu w każdym cyklu prowadzonej reakcji PCR. Profil temperaturowo-czasowy był następujący: wstępna denaturacja – 95°C przez 5 min, następnie 45 cykli (denaturacja) – 94°C przez 15 s, przyłączenie starterów i elongacja – 60°C przez 1 min [10]. Wszystkie procedury wykorzystane w niniejszej pracy uzyskały aprobatę Komisji Bioetycznej Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego.

Otrzymane wyniki zostały poddane analizie statystycznej. Do oceny różnic w częstości występowania genotypów i częstości występowania alleli u badanych osób i w grupie kontrolnej wykorzystano test Chi-kwadrat ( $\chi^2$ ). Obliczenia prowadzono przy założonym poziomie istotności  $p < 0,05$ .

#### 4. Wyniki

Częstość występowania genotypów i alleli w populacji badanej i kontrolnej przedstawiono w tabeli 1. Nie wykazano różnicy istotnej statystycznie w rozkładzie genotypów pomiędzy grupą badaną a kontrolną ( $p = 0,637$ , test  $\chi^2$ ). Analiza statystyczna nie wykazała także różnicy pod względem częstości występowania alleli pomiędzy badanymi grupami ( $p = 0,691$ , test  $\chi^2$ ).

Tabela 1

Rozkład częstości genotypów i alleli w populacji badanej i kontrolnej

Group	n	COL1A1 genotype			P	COL1A1 allele		P
		GG	GT	TT		G	T	
Cases	112	86	23	3	0,864	195	29	0,600
Control	190	142	41	7		325	55	

## 5. Dyskusja

Pomimo systematycznej poprawy jakości sprzętu sportowego i udogodnień na stoku statystyki przedstawiające liczbę urazów ACL w narciarstwie i snowboardingu są nadal niepokojące [13]. W celu uniknięcia obrażeń niezbędne jest określenie czynników ryzyka dla tego typu urazów. W literaturze przedmiotu podaje się wiele czynników wewnętrznych: mniejsze doświadczenie osób młodszych, wcześniejsze urazy, płeć żeńską i związane z tym podłoże – anatomiczne, nerwowo-mięśniowe, biomechaniczne, a także podłoże hormonalne, gdyż zwiększona ilość estrogenu w organizmie może przyczynić się do rozluźnienia aparatu więzadłowego [8, 22]. Do czynników zewnętrznych możemy zaliczyć uraz mechaniczny, uwarunkowany przez różne zaistniałe okoliczności [15]. Przednie więzadło krzyżowe, jako pierwotny stabilizator stawu kolanowego, przejmuje 86% obciążenia, głównie podczas nadmiernego wysunięcia się goleni ku przodowi. Więzadło to może być potencjalnie poddane trójpłaszczyznowemu działaniu sił oddziałujących na staw kolanowy podczas zeskoku i ruchów rotacyjnych, jeśli stabilizatory mięśniowe stawu nie mają wystarczającej kontroli nad momentem obrotowym i działającymi siłami. Mimo obecnej wiedzy dokładna etiologia urazów nie jest jeszcze poznana.

Udokumentowana w badaniach rodzinna skłonność do kontuzji stawu kolanowego, ścięgna Achillesa i innych tkanek miękkich sugeruje, że wszystkie podawane czynniki ryzyka powstania urazu w mniejszym lub większym stopniu są uwarunkowane genetycznie [3]. Dlatego rola genetyki w badaniach zwiększa się z każdym rokiem, a znajomość funkcji poszczególnych genów odgrywających rolę w organizmie może być wykorzystana w zapobieganiu powstawania urazów [18]. W niniejszych badaniach poszukiwano związku pomiędzy polimorfizmem +1245G/T w obrębie genu COL1A1 a wystąpieniem urazu ACL u narciarzy i snowboardzistów. W tym celu określono częstość występowania

poszczególnych genotypów i alleli w grupie badanej i kontrolnej. Analiza statystyczna nie wykazała istotnej różnicy w rozkładzie genotypów i alleli pomiędzy badanymi populacjami. Badania Collinsa i wsp. wykazały natomiast zależność rozkładu genotypów od rodzaju badanej populacji [2]. Niska częstość występowania badanego genotypu TT w grupie osób z urazami więzadeł, pęknięciem ścięgna Achillesa i zwicnięcia barku wskazuje, że może on mieć znaczenie ochronne przed urazami tkanek miękkich i powinien być włączony do wieloczynnikowego modelu determinującego ryzyko urazów tkanek miękkich. Podobne badania przeprowadzone przez Posthumusa i wsp. dotyczyły populacji południowoafrykańskich mężczyzn z udokumentowanymi urazami ACL [17]. Stwierdzono różnice istotne statystycznie pomiędzy badaną grupą osób z urazami ACL a grupą kontrolną. Badany genotyp TT występował częściej u osób zdrowych.

Naszymi badaniami objęto grupę mężczyzn. Jednorodność badanej grupy jest zaletą badań, jednakże doniesienia sugerują, że kobiety uczestniczące w różnorodnych formach aktywności ruchowej są częściej niż mężczyźni narażone na urazy ACL [19].

## 6. Wnioski

Badania nie wykazały jednoznacznie związku wybranego polimorfizmu z ryzykiem powstania urazu ACL. Nie wykazano różnicy istotnej statystycznie w rozkładzie genotypów i alleli pomiędzy populacją osób z urazami a grupą kontrolną. Mając na uwadze fakt, iż dostępna literatura przedmiotu nie przedstawia jednorodnych wyników w tym zakresie, niezbędne są dalsze badania w celu większego zrozumienia czynników ryzyka wystąpienia urazów ACL.

## BIBLIOGRAFIA

- [1] Ackery A., Hagel B.E., Provvidenza C., Tator C.H., 2007: *An international review of head and spinal cord injuries in alpine skiing and snowboarding*. „Inj Prev”, 13, s. 368–375.
- [2] Collins M., Posthumus M., Schweltnus M., 2010: *The COL1A1 gene and acute soft tissue ruptures*. „Br J Sports Med”, 44, s. 1063–1064.

- 
- [3] Collins M., Raleigh S., 2009: *Genetics Risk Factors for Musculoskeletal Soft Tissue Injuries*. „Med Sport sci.”, 54, s. 136–149.
- [4] Corra S., Girardi P., de Giorgi F., Braggion M., 2012: *Severe and polytraumatic injuries among recreational skiers and snowboarders: incidence, demographics and injury patterns in South Tyrol*. „Eur J Emerg Med.”, 19, s. 69–72.
- [5] Davidson T.M., Laliotis A.T., 1996: *Alpine skiing injuries. A nine-year study*. „West J Med.”, 164, s. 310–314.
- [6] Flørenes T.W., Heir S., Nordsletten L., Bahr R., 2010: *Injuries among World Cup freestyle skiers*. „Br J Sport Med.”, 44, s. 803–808.
- [7] Frank C.B., 2004: *Ligament structure, physiology and function*. „J Musculoskeletal Neuronal Interact”, 4, s. 199–201.
- [8] Hagel B., 2005: *Skiing and snowboarding injuries*. „Med Sport Sci.”, 48, s. 74–119.
- [9] Hagner-Derengowska M., Trela E., Kochański B., i wsp., 2013: *Prevention of ACL injuries in skiing*. „J. Health Sci.”, 3, 2, s. 130–141.
- [10] Higuchi R., Rockler C., Dollinger G., Watson R., 1993: *Kinetic PCR analysis: real-time monitoring of DNA amplification reactions*. „Biotechnology”, 11, s. 1026–1030.
- [11] Hubbard M.E., Jewell R.P., Dumont T.M., Rughani A.I., 2011: *Spinal injury patterns among skiers and snowboarders*. „Neurosurg Focus”, 31 (5), s. 8.
- [12] Kim S., Endres N.K., Johnson R.J. i wsp., 2012: *Snowboarding injuries: trends over time and comparisons with alpine skiing injuries*. „Am J Sports Med.”, 40, s. 770–776.
- [13] Malila S., Yuktanandana P., Saowaprut S. i wsp., 2011: *Association between matrix metalloproteinase-3 polymorphism and anterior cruciate ligament ruptures*. „Genet. Mol. Res.”, 10, s. 4158–4165.
- [14] McBeth P.B., Ball C.G., Mulloy R.H., Kirkpatrick A.W., 2009: *Alpine ski and snowboarding traumatic injuries: incidence, injury patterns, and risk factors for 10 years*. „Am J Surg.”, 197, s. 560–563.
- [15] Parys M., Witoński D., 2007: *Przyczyny i mechanizm uszkodzenia przedniego więzadła krzyżowego u kobiet*. „Balneologia Polska”, 1–4.
- [16] Posthumps M., September A.V., Keegan M. i wsp., 2009: *Genetic risk factors for anterior cruciate ligament ruptures: COL1A1 gene variant*. „Br J Sports Med.”, 43, s. 352–356.
- [17] Posthumus M., September A.V., O’cuinneagain D. i wsp., 2009: *The COL5A1 gene is associated with increased risk of anterior cruciate ligament ruptures in females*. „Am J Sports Med.”, 37, s. 2234–2240.
- [18] Sawczuk M., Maciejewska A., Ciężczyk P., Eider J., 2011: *The Role of genetic research in sport*. „Science&Sports”, 26, s. 251–258.

- [19] Shin C.S., Chaudhari A.M., Andriacchi T.P., 2009: *The effect of isolated valgus moments on ACL strain during single-leg landing.* „J Biomech.”, 9, 42, s. 280–285.
- [20] Speer G., Szenthe P., Kosa J.P. i wsp., 2006: *Myocardial inarction is associated with Spl binding site; polymorphism of collagen type 1A1 gene.* „Acta Cardiol”, 61, s. 321–325.
- [21] Sulheim S., Holme I., Rødven A. i wsp., 2011: *Risk factors for injuries in alpine skiing, telemark skiing and snowboarding-case-control study.* „Br J Sports Med.”, 45, s. 1303–1309.
- [22] Thimoty E., Hewett T.E., 2009: *Prevention of non-contact ACL injuries in Women: Use of the core of evidence to clip the wings of a „Black Swan”.* „Curr Sports Med Rep.”, 8, s. 219–221.
- [23] Trulsson A., Roos E.M., Ageberg E., Garwicz M., 2010: *Relationships between postural orientation and self reported function, hop performance and muscle power in subjects with anterior cruciate ligament injury.* „BMC Musculoskelet Disord.”, 11, s. 143.
- [24] Zhang D., Shi Y., Gong B. i wsp., 2011: *An association study of the COL1A1 gene and high myopia in a Han Chinese population.* 17, s. 3379–83.

#### **POLYMORPHISMS +1245G/T WITHIN THE COL1A1 GENE WITH THE RISK OF ACL INJURIES IN SKIER AND SNOWBOARDERS**

##### **Summary**

The aim of this study was to examine the association of +1245G/T polymorphisms in the COL1A1 gene with ACL ruptures in Polish male recreational skiers and snowboarders in case-control study. A total of 112 male recreational skiers and snowboarders ( $27 \pm 2$ ) with surgically diagnosed primary ACL ruptures who qualified for ligament reconstruction were recruited for this study. The control group was comprised of 190 apparently healthy male skiers and snowboarders ( $26 \pm 3$ ) with comparable level of exposure to ACL injury, who were without any self-reported history of ligament or tendon injury. DNA samples extracted from the oral epithelial cells were genotyped for the 1245G/T polymorphisms using real-time PCR method. There was not a significant difference in the genotype and allele distribution between cases and controls ( $p = 0.864$  and  $p = 0,600$  respectively; Chi-square test).

*Translation: Marta Stepień-Słodkowska*