

TARTU ÜLIKOOL
LOODUS- JA TÄPPISTEADUSTE VALDKOND
MOLEKULAAR- JA RAKUBIOLOOGIA INSTITUUT
TARTU ÜLIKOOLI KLIINIKUM

Birgit Saare

Kehalise võimekusega seotud *ACE* ja *ACTN3* geenide polümorfismid ja nende variatsioonide sagedusnäitajad Eesti tippportlastel

Bioloogia õppekava

Bakalaureusetöö (12 EAP)

Juhendaja Agnes Mägi, MD

Kaasjuhendaja prof. Ants Kurg

TARTU 2016

Infoleht

Bakalaureusetöö „Kehalise võimekusega seotud *ACE* ja *ACTN3* geenide polümorfismid ja nende variatsioonide sagedusnäitajad Eesti tippportlastel“ kirjanduse ülevaates uuriti ülevaatlikult spordialade klassifitseerimist, vastupidavus- ja jõu-kiirusalade erisusi, *ACE* ja *ACTN3* geene ja nende polümorfisme. Eksperimentaalosa eesmärgiks oli analüüsida *ACE I/D* ja *ACTN3 R577X* polümorfismide genotüüpide jaotuvust Eesti rahvuskoondistesse kuuluvatel sportlastel ning võrrelda geenivariatsioonide sagedusnäitajaid valdavalt vastupidavusele ja jõule-kiirusele orienteeritud spordialade rühmade ja kontrollrühma vahel. Meie uuringust selgus, et vastupidavus- ja kiirus-jõualade omavahelises võrdluses esines ainult *ACTN3 RR* genotüüpi sagedamini, mis jäi siiski statistiliselt ebaoluliseks.

Märksõnad: *ACE*, *ACTN3*, polümorfism, vastupidavusalad, kiirus-jõualad.

CERCS kood: T490 Biotehnoloogia

Abstract

In the Bachelor's thesis „The polymorphisms and the variational frequencies of genes related to physical capability, *ACE* and *ACTN3*, in Estonia's professional athletes“ literary review the classification of sport categories, the differences between endurance and strength and speed sports, *ACE* and *ACTN3* genes and their polymorphisms were thoroughly researched. The aim of the experimental section was to analyse the genotypic allocation of *ACE I/D* and *ACTN3 R577X* polymorphisms in the athletes of the Estonia's national teams and to compare the frequency indicators of genetic variations between mainly endurance and strength-speed orientated sports groups and a control group. The result of our research revealed that in the comparison between endurance and strength-speed sports athletes only the *ACTN3 RR* genotype appeared at a higher frequency, yet it was still a statistically irrelevant difference.

Keywords: *ACE*, *ACTN3*, polymorphism, endurance sports, speed and strength sports.

CERCS code: T490 Biotechnology

Sisukord

Infoleht	2
Kasutatud lühendid	4
Sissejuhatus	5
1 Kirjanduse ülevaade	6
1.1 Spordialade klassifitseerimine	6
1.1.1 Spordialade klassifitseerimine staatilise ja dünaamilise komponendi osakaalu alusel	6
1.1.2 Vastupidavusalade füsioloogilised eripärad	8
1.1.3 Kiirus- ja jõutreeningu füsioloogiline eripära	10
1.2 ACE geen ja RAS	11
1.2.1 ACE geen ja I/D polümorfism	12
1.2.2 ACE mõju tervisele ja seos haigustega	13
1.3 ACTN3 geen	14
1.3.1 ACTN3 R577X polümorfism	15
2 EKSPERIMENTAALNE OSA	17
2.1 Töö eesmärk	17
2.2 Materjal ja meetodika	17
2.2.1 Valim	17
2.2.2 DNA eraldamine	18
2.2.3 Genotüüpide määramine	18
2.2.4 Statistiline analüüs	20
2.3 Tulemused	21
2.4 Arutelu	23
Kokkuvõte	25
Summary	26
Tänuavaldused	27
Kasutatud kirjandus	28
Lisa 1	31
Lihtlitsents	32

Kasutatud lühendid

ACE	(<i>angiotensin converting enzyme</i>) angiotensiini konverteeriva ensüümi geen
ACTN2	<i>alpha-actinin skeletal muscle isoform 2</i> ; alfa-aktiniin-2
ACTN3	(<i>alpha-actinin skeletal muscle isoform 3</i>) alfa-aktiniin-3
AKE	angiotensiini konverteeriv ensüüm
DD	angiotensiin konverteeriva ensüümi geeni <i>deletion</i> homosügootne genotüüp
ID	angiotensiin konverteeriva ensüümi geeni heterosügootne genotüüp
II	angiotensiin konverteeriva ensüümi geeni <i>insertion</i> homosügootne genotüüp
Max	(<i>maximum</i>) maksimum, maksimaalne
MGB	(<i>minor groove binder</i>) väikese vao siduja, TaqMan-i alleelspetsiifiline oligonukleotiid
MVC	(<i>maximum voluntary contraction</i>) maksimaalne tahtlik lihaskontraktsioon
NFQ	(<i>nonfluorescent quencher</i>) mittefluorestseeruv vaigistaja
PCR	<i>polymerase chain reaction</i> ; polümeraasi ahelreaktsioon
RAS	(<i>renin-angiotensin system</i>) reniin-angiotensiin süsteem
RR	alfa-aktiniin-3 geeni funktsionaalne homosügootne genotüüp
RX	alfa-aktiniin-3 geeni funktsionaalne heterosügootne genotüüp
SD	standardhälve
Tm	sulamistemperatuur, temperatuur, mille juures pooled DNA ahelad on üheaheelalised ja pooled kaheaheelalised
VO ₂ max	(<i>maximal oxygen consumption, aerobic capacity</i>) maksimaalne hapnikutarbimine, aeroobne võimekus
XX	alfa-aktiniin-3 geeni stopkoodoniga homosügootne genotüüp

Sissejuhatus

Kontseptsioon, mis ütleb, et kehaline võimekus ja geneetika on selgelt omavahel seotud, on viimasel aastakümnel leidnud aina enam toetust ja kinnitust. Uuringud on näidanud, et pärilikkuse osakaal sportliku saavutusvõime arenemisel võib ulatuda 58% kuni 66%-ni (De Moor jt., 2007; Fagard jt., 1991). See tähendab, et kehaliselt aktiivsetel inimestel, kellel on parem geneetiline eelsoodumus, saavad sarnastel koormustel treenimisel enam kasu kui need, kellel eelsoodumust ei ole. Lisaks pärilikkusele on kehalised võimed mõjutatud mitme geeni koosmõjust, keskkondlikest teguritest ja ka elustiilist (Ma jt., 2003). Viimastel aastatel on leitud üle 150 geeni ja nende polümorfismi, millega on seostatud kehalise võimekuse erinevaid näitajaid (fenotüüpe). Ühed kõige laialdasemalt uuritud on *ACE* (*angiotensin converting enzyme* - angiotensiini konverteeriv ensüüm) I/D ja *ACTN3* (*alpha-actinin skeletal muscle isoform 3*- alfa-aktiniin-3) R577X polümorfismid (Bouchard jt., 1998).

Kehaline võimekus on üks paljudest inimest iseloomustavatest bioloogiliste (eelkõige füsioloogiliste) tunnuste kogumitest, mida võib võrrelda ka pikkuse, arukuse ja iseloomuga. Inimese kehalise võimekuse arengus on ühtviisi olulised nii geneetiline eelsoodumus kui ka erinevad keskkondlikud mõjurid. Viimase all mõeldakse näiteks *in utero* mõjutusi, majanduslikke võimalusi, vanemate toetust, sotsiaalkultuuri, toitumist ja üldist heaolu. Lisaks eelnevale on olulised veel treeneri edukas juhendamine, treeningute järjepidevus ning piisav maht ja mingil määral ka õnn oma talendi otsinguil ja realiseerimisel. Kokkuvõtvalt edu saavutamiseks spordis on vajalikud soodne keskkond, motivatsioon, edu tajumine ja geneetiline eelsoodumus (Yu, B ja Trent, R. J., 2010).

Käesolev uurimistöö on koostatud Tartu Ülikooli Kliinikumi Spordimeditsiini ja taastusravi kliinikus, laboratoorne töö on tehtud Tartu Ülikooli bio-ja siirdemeditsiini instituudis patofüsioloogia osakonnas.

1 Kirjanduse ülevaade

1.1 Spordialade klassifitseerimine

Tänapäeval eristatakse väga suurt hulka erinevaid spordialasid, mida diferentseeritakse näiteks tehnika, vahendite ja taktika poolest. Suuremad spordialade grupid on (1) rahvusvahelised alad, mida harrastatakse üle maailma (sportmängud, ujumine, maadlus jt.), (2) regionaalsed alad, mida harrastatakse vaid mõnel maal (jäähoki, maahoki jt.) ja (3) rahvuslikud, mida harrastavad eri rahvused (erinevad maadlusliigid, võitluskunstid jt.) (https://www.tlu.ee/opmat/tp/sporditund/tund1/spordialade_klassifikatsioon.html¹).

Spordialade liigitamine kontaktuse ehk füüsilise kokkupuute alusel on oluline just terviseriskide hindamisel. Kontaktsed ja/või suure kukkumisohuga ning ägedate vigastuste riskiga spordialad on näiteks korvpall, poks, jalgpall, võitluskunstid ja need on seotud kõrge ägedate vigastuste riskiga. Seevastu näiteks vibusport, jooksualad, ujumine kuuluvad kontaktivabade spordialade hulka ning ägedate vigastuste tekkerisk on oluliselt madalam (Mitchell jt., 2005).

Praktikas kasutatakse sagedamini spordialade klassifitseerimist staatilise ja dünaamilise komponendi osakaalu alusel, mis saavutatakse maksimaalsel pingutusel võistlustingimustes. Teine enim praktiseeritav spordialade jaotamine on kehalise koormuse tüübi alusel: vastupidavusalad, kiirus- ja jõualad.



1.1.1 Spordialade klassifitseerimine staatilise ja dünaamilise komponendi osakaalu alusel

Praktikas ühe enim kasutatud spordialade klassifitseerimise aluseks on konkreetsel spordialal sooritatava kehalise koormuse liigitamine võistlustingimustes selle tüübi ja intensiivsuse järgi. Eristatakse kahte tüüpi kehalist koormust: dünaamiline (isotooniline) ja staatiline (isomeetriline). Dünaamilise komponendi osakaalu hinnatakse protsendi abil maksimaalsest hapnikutarbimise võimest, mis on vajalik pingutusel konkreetsel spordialal ($\%VO_{2max}$). Seevastu staatilise pingutuse osakaalu hinnatakse tahtliku lihaskontraktsiooni ulatuse abil maksimaalsest ($\%MVC$) (Mitchell jt., 2005).

Dünaamiline ehk isotooniline treening hõlmab lihaste pikkuse muutust ja liigeste liikuvust koos rütmiliste lihaste kokkutõmmetega, mille puhul tekib suhteliselt väike lihassisene jõud. Staatilisel treeningul areneb tugev lihasesisene jõud, samal ajal aga ei muutu lihase pikkus ja liigestes ei toimu liikumist. Lisaks kutsub suur staatiline pingutus esile kiire väsimise. Enamikus füüsilistes tegevustes on olemas nii dünaamiline kui ka staatiline komponent.

Näiteks pikamaajooks on seotud kõrge dünaamilise ja madala staatilise komponendiga. Veesusatamine vastupidi nõuab aga suuremat staatilise ja madalama dünaamilise komponendiga pingutust. Sõudmisel seevastu on võrdselt olulised nii staatiline kui ka dünaamiline komponent (Mitchell jt., 2005; Weineck, J. ja Jalakas R., 2008).

Spordialade klassifikatsioon on esitatud joonisel 1, kus on ära toodud individuaalsed ja võistkondlikud spordialad. Iga spordiala on jagatud omakorda dünaamilise või staatilise komponendi osakaalu alusel kolme rühma (madal, keskmine, kõrge). Sellel klassifikatsioonil on ka omad piirangud. Näiteks ei võeta arvesse emotsionaalset stressi, mida sportlane võistlusel tunneb, keskkonnamõjusid, elektrolüütide hälbeid ega ka sportlase spetsiifilist treeningrežiimi. Võistkondlikel spordialade puhul (sportmängud) on võetud arvesse suurimat kardiovaskulaarset nõudlust pingutusel, kuid ei ole arvestatud erinevate positsioonide kardiovaskulaarsete vajaduste erisusi sportmängude puhul (Mitchell jt., 2005).

 Tõusev staatiline komponent	3. Kõrge (>50% MVC)	Bobisõit, gümnastika, võitlusspordid, purjetamine, ronimine, vesisusastamine, tõstmine, surfamine	Kulturism, mäesuusastamine, rulasõit, lumelauasõit, maadlemine	Poksimine, kanusõit, rattasport, kümnevõistlus, sõudmine, kiiruisutamine, triathlon
	2. Keskmine (20-50% MVC)	Vibusport, autosport, sukeldumine, motosport	Ameerika jalgpall, hüppamine, viguruisutamine, rodeo, ragbi, sprint, jooksmine, surfamine, sünkroonujumine	Korvpall, hoki, murdmaa suusastamine (uisu stiilis), lakross, keskmaa jooks, ujumine, käsipall
	3. Madal (<20% MVC)	Piljard, keegel, kriket, kurling, golf, laskesport	Pesapall, vehklemine, lauatennis, võrkpall	Sulgpall, murdmaa suustamine (klassika stiilis), maahoki, orienteerumine, käimine, scuash, pikamaa jooks, jalgpall, tennis
		A.Madal (<40% VO _{2max})	B.Keskmine (40-70% VO _{2max})	C.Kõrge (>70% VO _{2max})
		 Tõusev dünaamiline komponent		

Joonis 1 Spordialade klassifikatsioon staatilise ja dünaamilise komponendi alusel (saavutatud max pingutusel võistlustingimustes) (Mitchell jt, 2005).

1.1.2 Vastupidavusalade füsioloogilised eripärad

Vastupidavusalade sportlastele on iseloomulik kõrge maksimaalse hapnikutarbimise võime, mis sõltub nii hingamissüsteemi kui ka südame ja vereringe süsteemi talitlusest ning samuti lihaste võimest omastada hapnikku (Ööpik, V., 2015).

Inimese lihased sisaldavad erinevat tüüpi lihaskiudusid. Esineb kolme tüüpi lihaskiude, I tüüpi ehk aeglased oksüdatiivsed lihaskiud ja II tüüpi ehk oksüdatiiv-glükolüütilised (IIa) ja kiired glükolüütilised (IIx) lihaskiud (Ööpik, V., 2015). Erinevat tüüpi kiudude osakaal võib varieeruda indiviiditi suures ulatuses. Kuna vastupidavustalentidel on täheldatud enam I tüüpi lihaskiude ja kiirusalade sportlastel enam kiireid II tüüpi lihaskiude, siis kasutataksegi väljendeid „vastupidavustüüp“ ja „kiirustüüp“ (Weineck, J. ja Jalakas, R., 2008).

Aeglaste (tüüp I) lihaskiudude kontraktsiooni kiirus on viis kuni kuus korda aeglasem, kui see on kiirete (tüübid IIa, IIx) lihaskiudude puhul. Lihaskiudude kokkutõmbe jõu võimsus on aeglast tüüpi lihaskiududel samuti viis kuni kuus korda väiksem, kui see on kiirete tüüpi lihaskiududel. Lõõgastumise kiirus on I tüüpi lihaskiududel aeglane võrreldes II tüüpi lihaskiududega, kuid seevastu vastupidavusvõime väsimusele suur (Ööpik, V., 2015). Aeglaste lihaskiudude rakkudes toimub aeroobne energiatootmine süsivesikute ja rasvhapete oksüdeerimisel, kuna kapillaaride ja mitokondrite tihedus ja müoglobiini sisaldus on neis suur. Seetõttu on aeglased lihaskiud võimelised töötama mõõdukal kehalisel intensiivsusel pikka aega (Deuster, P. ja Attipoe, S., 2013).

Vastupidavus on võime teha tööd pika aja vältel ja millega kaasneb organismi kõrgem vastupanuvõime väsimusele (Weineck, J. ja Jalakas, R., 2008). Vastupidavusalade sportlased saavad oma tulemusi ja töövõimet treeningutega parandada põhiliselt hapnikutarbimise võime ja anaeroobse läve intensiivsuse tõstmise ning liikumise ökonoomsuse täiustamise läbi (Ööpik, V., 2015).

Koormatud lihastest lähtudes eristatakse lokaalset ja üldist vastupidavust, vastavalt energia tootmisele liigitatakse vastupidavus anaeroobseks ja aeroobseks, lähtuvalt spordialast aga eristatakse üldist ja erialast vastupidavust (Weineck, J. ja Jalakas, R., 2008).

Mõningad põhilised kohanemisreaktsioonid skeetilihastes vastupidavustreeningu tulemusena:

- Mitokondrite mõõtmete ja arvu suurenemine
- Mitokondriaalsete ensüümide hulga ja aktiivsuse suurenemine

- Kapillaaride arvu suurenemine
- Energiavahetuses lipiidide kasutamise suurenemine

Pikaajalise vastupidavustreeningu tagajärjel südamelihase hüpertrofeerub ehk südame (eriti vasaku vatsakese) mass ja mõõtmed suurenevad. Arvestades, et füüsiliselt mitteaktiivse mehe südame keskmine maht on umbes 800ml, siis pikaajaliselt treeninud vastupidavussportlase näitaja on sellest 25% suurem. Pikema aja jooksul tekkiv mõõdukas südamelihase hüpertrofia ehk südame remodelleerumine on pideva vastupidavustreeningu puhul normaalne kohanemisprotsess ning sellega kaasneb suurem südame funktsionaalne jõudlus. Patoloogilise hüpertrofia puhul aga jõudlus väheneb ja südame talitlus on suuremal või vähemal määral häirunud. Treenitud südame löögimaht on suurem, mis tähendab, et läheb vaja väiksemat löögisagedust, et kudede hapnikuvajadust rahuldada (Ööpik, V., 2015).

Vastupidavustreeningul väheneb süsivesikute ja suureneb lipiidide osakaal lihaste energiavarustuses. Kuna süsivesikute varud jäävad väiksemaks, tuleb neid ka ökonoomsemalt kasutada. Taolist muutust lihaste energiavahetuses võib märgata juba pärast ühe-kahe nädalast treenimist, kui koormuse maht on piisavalt suur. Lipiidide kasutamise intensiivistumine ATP taastootmiseks mitokondrites on seotud mitokondrite arvu ja suuruse kasvuga, mille tagajärjeks on oksüdatiivse potentsiaali paranemine. Samal ajal glükoosi transport verest raku väheneb (Ööpik, V., 2015), see aga ei tähenda, et glükoosi ja suhkrute tähtsus lihaste metabolismis väheneks. Intensiivsel vastupidavustreeningul energiadepood tühjenevad. Kõige suurem osa glükogeeni varudest kasutatakse ära treeningu esimesel 20 minutil, järgneval 40-60 minuti jooksul hakatakse lisaks rasvu energiaks kasutama ja glükoosi osakaal väheneb. Mida suuremad on meie glükogeenivarud, seda pikemalt ja intensiivsemalt suudame treenida. Süsivesikuterikas toitumine on vastupidavustreeningu juures väga oluline, kuna mõjutab otseselt ka kesknärvisüsteemi ning süsivesikuvaeguse tulemuseks on lisaks töövõime langusele tähelepanu, reageerimiskiiruse ja tundlikkuse häired (Weineck, J. ja Jalakas, R., 2008).

Oluline on vastupidavusspordi puhul ära märkida ka liikumise ökonoomsus, mida iseloomustab organismi hapnikutarbimine töö kindlal submaksimaalsel intensiivsusel. Mida vähem tarbitakse submaksimaalsel pingutusel hapnikku, seda vähem kulub ka energiat ja energeetiliselt ökonoomsem on liikumine. Väga suurel hulgal mõjutavad liikumise ökonoomsust biomehaanilised tegurid, nagu näiteks jooksmise puhul jooksusammu pikkus, sagedus. Kui paraneb liigutustel tehniline pool, paranevad ka biomehaanilised ökonoomsuse näitajad. Oluline on ka veel sportlase vanus, sest lapsed vajavad täiskasvanutest samal kiirusel

joostes ligikaudu 20-30% rohkem hapnikku. Vanuse kasvades aga paraneb liikumise ökonoomsus ja seda olenemata spordialast. Kaudsemalt mõjutab liikumise ökonoomsust ka näiteks südametöö ökonoomsus, treenitud süda suudab madalama löögisagedusega viia verega kehasse laiali suurema koguse hapnikku (Ööpik, V., 2015).

1.1.3 Kiirus- ja jõutreeningu füsioloogiline eripära

Kiirus on kompleksne kehaline võime, mille puhul ei piisa vaid kiiruslikest eeldustest vaid vaja läheb ka tugevat psüühikat, koordinatsiooni, lihastugevust, tehnilist korrektsust jms (Weineck, J. ja Jalakas, R., 2008). Kehalises tegevuses mõeldakse kiiruse all liigutuse sooritamise kiirust. Füüsilises mõttes on see mingi objekti asukoha muutus ajas (näiteks m/s- meetrit sekundis) (Port K., 2015).

Kiirus- ja jõualadega tegelemisel annavad eelise kiirete, Iia ja Iix tüüpi lihaskiudude suurem osakaal inimese lihaskoes, kuna neis prevaleerub anaeroobne energiatootmise viis ja võime toota kiiresti ATP-d. Seetõttu on kontraktsiooni kiirus ja kokkutõmbe jõu võimsus paremad kui I tüüpi lihaskiudude puhul (Deuster, P. ja Attipoe, S., 2013). Anaeroobne energiatootmise võimekus Iia tüüpi lihaskiududel on ligikaudu sama kui Iix tüüpi lihaskiududel. Samas oksüdatiiv-glükolüütilistel (Iia tüüp) lihaskiududel on aeroobne võimekus madalam kui oksüdatiivsetel (I tüüp), kuid kõrgem kui glükolüütilistel lihaskiududel (Iix tüüp) (Ööpik, V., 2015). Ehituselt on kiirete lihaskiudude diameeter ja glükogeeni sisaldus rakus suurem ja kapillaaride ja mitokondrite tihedus aga väiksem kui aeglaste lihaskiudude puhul (Deuster, P. ja Attipoe, S., 2013).

Edukas kiirusala sportlane suudab kõrgel intensiivsusel teha lühikese ajaga kiireid liigutusi. Kiirus võimaldab näiteks stardipaugu järel maksimaalselt kiirelt liikuma hakata ja üksikliigutusi sooritada maksimaalselt kiiresti. Samuti on kiirusaladel väga tähtis roll kesknärvisüsteemil, mis peab väga kiirelt reageerima ja pinge ning stressiga tegelema (Weineck, J. ja Jalakas, R., 2008).

Mõnedel kiirusaladel on oluline just stardikiirendus, teiste puhul on tähtis hoida võimalikult suurt kiirust konstantselt. Mõne ala puhul tuleb sooritada (kiirelt) ka pettemanöövrid, läbida kurve või takistusi jms. 100 meetri jooksus on vähe kõrvaltegureid, aga näiteks pallimängudes jms on kõrvaltegurid (näiteks pealevisked, pettemanöövrid) väga olulisteks komponentideks (Port, K., 2015). Kiirust mõjutavaid faktoreid on samuti palju. Vanus, sugu, kehamõõtmed, motivatsioon, tähelepanuvõime, kogemused, kesknärvisüsteemi erutus- ja pidurdusvõime,

lihaskiudude jaotus on vaid mõned tähtsamad faktorid (Port, K., 2015, Weineck, J. ja Jalakas, R., 2008).

Lisaks kiirusele on kõikide kehaliste liigutuste sooritamiseks vaja ka jõudu. Hoolika ja järjepideva treeninguga saab lihasjõudu edukalt suurendada, seega võib öelda, et tugevaks ei sünnita vaid saadakse. Lisaks saavutusvõimele tuleb jõualadel väga suurt tähelepanu pöörata ka vigastuste ja rühihäirete ennetamisele, korrektsele tehnikale-taktikale. Kuna jõualadel, mis on väga alaspetsiifilised, treenitakse väga intensiivselt tihti üht lihasrühma rohkem kui teist, siis on sagedaks probleemiks ka lihaste ebatasakaal. Jõutreening nõuab püsivust, ja seda aastaringelt. Vajalik on ka suur korduste ja seeriade arv harjutuste tegemisel. Olulised jõuvõimete vormid on

- maksimaalne jõud (tõstmine, kuulitõuge jt.)
- kiiruslik jõud (jalgpall, korvpall jt.)
- reaktiivjõud (100 meetri jooksu start, hüpped korv- ja võrkpallis jt.)
- jõuvastupidavus (jalgrattasport, sõudmine jt.) (Weineck, J. ja Jalakas, R., 2008).

Jõud ja kiirus on väga alaspetsiifilised. Korvpallur ei saa oma pettemanöövreid ja pealeviskeid kuidagi kangi tõstes paremaks muuta. Jõu ja kiiruse arendamine eeldab korralikku liigutustehnikat, et saaks arenenda koordinaatsiooni ja liigutusmälu jms, tuleb tugevdada suutlikkust, arendada komponentide kiirust ja võimsust, kohaneda võistlusolukorraga (Port, K., 2015).

1.2 ACE geen ja RAS

ACE (angiotensin converting enzyme) geen asub 17. kromosoomi pikas, q õlas, positsioonis 23,3 (17q23.3) ja kodeerib angiotensiini konverteerivat ensüümi (AKE). AKE on otseselt seotud ka reniin-angiotensiin süsteemiga (RAS), mis reguleerib vererõhku ja kontrollib vedelike ja soolade tasakaalu kehas. Endokriinne reniin-angiotensiin süsteem (RAS) arvatakse olevat tsirkulaarse homeostaasi põhiregulaator. Reniin lõhustab maksas saadud angiotensinogeenid, et moodustada dekapeptiid angiotensiin I. Lõigates angiotensiin I spetsiaalsest kohast, siis AKE konverteerib selle oktapeptiid angiotensiin II-ks. Angiotensiin II agonistitegevus angiotensiini 1. tüüpi retseptoris (AT₁R) ahendab veresooni, mis omakorda põhjustab vererõhu tõusu. See proteiin stimuleerib ka aldosterooni produktsiooni, mis

soodustab neerudes vee ja soolade retensiooni ning viib vererõhu tõusuni (Bae jt., 2007; Puthuchearly jt., 2011).

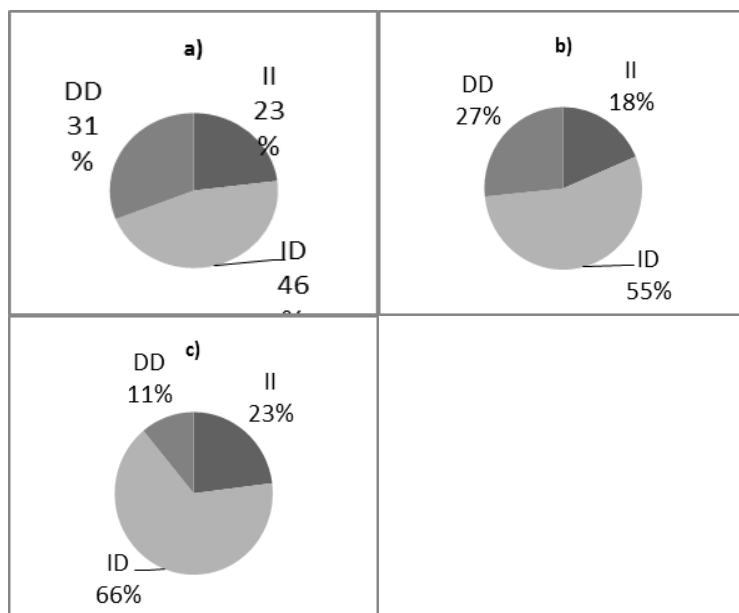
AKE lõhustab ka bradükiniini, mis on üheksast aminohappest koosnev peptiid ja kuulub kiniin-kallikreiin süsteemi, on tugev vasodilaator. Bradükiniin toimib põhiliselt kahel retseptoril, bradükiniini 1. tüüpi retseptor (BK_1R) ja teist tüüpi, BK_2R . Bradükiniini tase on seega vastupidises seoses AKE aktiivsusega (Puthuchearly jt., 2011).

1.2.1 ACE geen ja I/D polümorfism

ACE geeni funktsionaalset polümorfismi defineeritakse 287-st aminohappest koosneva aluspaari Alu kordusjärjestuse olemasoluga (insertsiooni ehk I alleel) või puudumisega (deletsiooni ehk D alleel) *ACE* geenis (McCauley jt., 2008). Polümorfismi tulemuseks on II, ID ja DD genotüübid, esinemissagedusega vastavalt 25, 50 ja 25% euroopa päritolu täiskasvanud valgenahaliste seas.

Võrreldes vastupidavusalade sportlaste ja kontrollgruppidega esineb DD genotüüpi sagedamini sprindialade sportlastel, mis annab alust arvata, et DD genotüüp on seotud kiirete skeletilihaste tööga (McCauley jt., 2008).

ACE genotüüpide sagedus oleneb ka etnilisest kuuluvusest. Kui kaukasoidsetel esindajatel on I ja D alleelide osakaal ca 50% ja 50% siis mustanahalistel alleelide vahekord on vastavalt 41% ja 59%. Brasiilias, kus on eurooplaste, aafriklaste ja põlisameeriklaste genoomide segu, on alamgrupe keerulisem määratleda. Sealne genotüüpide sagedus on välja toodud joonisel 2b). Kaukasoidide ja korealaste *ACE* geeni polümorfismide jaotuvus on vastavalt välja toodud joonisel 2a) ja 2c) (Gentil jt., 2008; Ma jt., 2013).



Joonis 2 ACE geeni polümorfismide jaotuvus a) kaukasoididel (Gentil jt., 2012); b) brasiillastel (Gentil jt., 2012); c) korealastel (Ma jt., 2013).

Kui jaapanlastel DD genotüüpi saab seostada kiiret tüüpi lihastega ja seega jõualadega, siis näiteks venelaste puhul on levinud DD genotüübiga hoopis aeglaselt kontraheeruvad lihased (I tüüpi lihaskiud) ja seotud vastupidavusaladega (McCauley jt., 2008). Ka iisraeli maratonijooksjate seas on levinum DD genotüüp, mis näitab, et mõnes etnilises grupis võib DD genotüüpi pigem vastupidavusspordiga seostada (Ma jt., 2013; McCauley jt., 2008).

ACE geeni I alleeli seostatakse paremate eeldustega vastupidavuslikel spordialadel ja D alleeli paremate eeldustega jõu- ja kiirusaladel (Alvarez jt., 2000). D alleeli seostatakse kõrgema AKE aktiivsusega võrreldes I alleeli kandjatega. On leitud ka tugev seos AKE plasmaatilise aktiivsuse ja ACE I/D polümorfismi vahel. Võrreldes omavahel DD ja II homosügootide, oli ACE II genotüübi kandjate AKE tase 3-4 korda madalam (Alvarez jt., 2000).

1.2.2 ACE mõju tervisele ja seos haigustega

Reniin-angiotensiin süsteem reguleerib kardiovaskulaarset tööd ja vastutab akuutse vastuse eest füüsilise stressi tingimustes. Angiotensiin II on efektiivne veresoonte ahendaja ja sellel on troofiline mõju südame- ja silelihaskudedele. Angiotensiini konverteerival ensüümil on selles süsteemis võtmeroll ja see vahendab angiotensiin I konverteerimist angiotensiin II-ks. ACE geeni I/D polümorfism mõjutab AKE aktiivsust kudedes ja plasmas. D alleeli homosügootidel on AKE aktiivsus nii kudedes ja plasmas kõige suurem, seda ka südamelihases. Nimelt on DD genotüübi kandjatel AKE aktiivsus kudedes ja plasmas 25%-200% kõrgem kui II genotüübi kandjatel. See tähendab DD alleeli kandjatele suuremat riski

vasaku vatsakese hüpertroofia tekkeks, võrreldes II või ID genotüübiga. Müokardiinfarkti risk on DD genotüübiga indiviididel 26% kõrgem kui ID ja II genotüüpidega isikutel. Südamerikkega DD genotüübiga patsientidel, keda pole ravitud beetablokaatoritega, on halvem prognoos paranemiseks kui ID ja II genotüübiga patsientidel (Thompson jt., 2006; Hernández jt., 2003).

1.3 *ACTN3* geen

Alfa-aktiniinid kuuluvad aktiniine siduvate valkude perekonda ja mängivad olulist rolli tsütoskeleti säilitamises ja reguleerimises. Alfa-aktiniinil on homolooge limas, hallituses, seentes ja hulkraksetes, aga üllataval kombel pole neid taimedes. Selgroogsetel on neli alfa-aktiniini geeni (*ACTN 1-4*), mis kõik arvatavalt on tekkinud ühest selgrootu eellasgeenist. Kõigil alfa-aktiniini perekonna liikmetel on selge domeeni topoloogia, mis koosneb aktiini siduvast domeenist, keskmisest „rod“ domeenist ja C terminali EF abidomeenist (Lek jt., 2009).

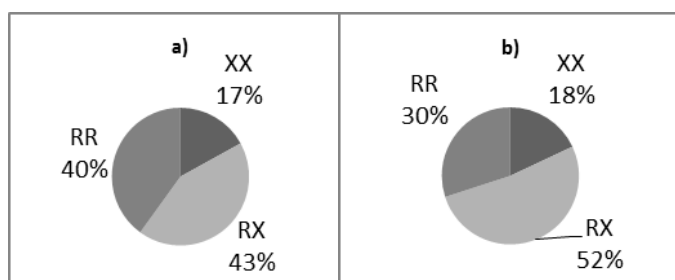
ACTN3 geen asub 11. kromosoomi pikas õlas (11q13.1) ja *ACTN3* valk ise on 901 aminohappe pikkune (103241 Da) (North jt., 1999). Selle valgu toime avaldub skeletilihaskiududes ja teda leidub ainult kiiretes II tüüpi lihaskiudude sarkomeerides, mida iseloomustab kiirem kontraktsioonikiirus ja –jõud võrreldes I tüüpi aeglaste lihaskiududega (Grealy jt., 2013). *ACTN2* ja *ACTN3* on müofibrillaarsed proteiinid, mis asuvad Z-diskis, kus nad moodustavad võrestruktuuri, mis kinnitab kokku aktiini sisaldavad õhukesed filamendid ja stabiliseerib kontraktiooni aparati. *ACTN3* üks funktsioonidest on ka müofibrillaarse korra ja reastuse säilitamine (McCauley jt., 2009; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?Db=gene&Cmd=ShowDetailView&TermToSearch=892>).

ACTN2 on võimeline II tüüpi lihaskiududes *ACTN3* funktsioone asendama, ehkki *ACTN2* tase *ACTN3* puudusel ei tõuse. Alfa-aktiniin-3 on säilinud genoomis alfa-aktiniin-2-st eraldiseisvate funktsioonide tõttu. *ACTN3* sagedus on jäänud sarnaseks alates *ACTN2*-st lahknemisest 300 miljonit aastat tagasi. *ACTN3* ja *ACTN2* on embrüonaalse arengu käigus erinevalt ekspresseeritud, seda nii ruumiliselt kui ka ajaliselt ja *ACTN2* ekspressioon sünnijärgse hiire skeletilihastes ei kata täielikult *ACTN3* geeni (Yang jt., 2003). Alfa-aktiniin-2 on laiemalt ekspresseeritud ja seda leidub kõigis inimese skeletilihaste ja südamelihaste kiududes ja ka ajus. *ACTN3* on selle lähedane isovorm, aga tal on spetsiifilisem ekspressioon.

ACTN3 ekspresseerub ainult kiiretes glükolüütilistes skeletilihastes, ajus ekspresseerub ta väga vähesel määral. Aminohapete tasemel on alfa-aktiniin-1 ja alfa-aktiniin-2 80% identsed ja 90% sarnased (Lek jt., 2009).

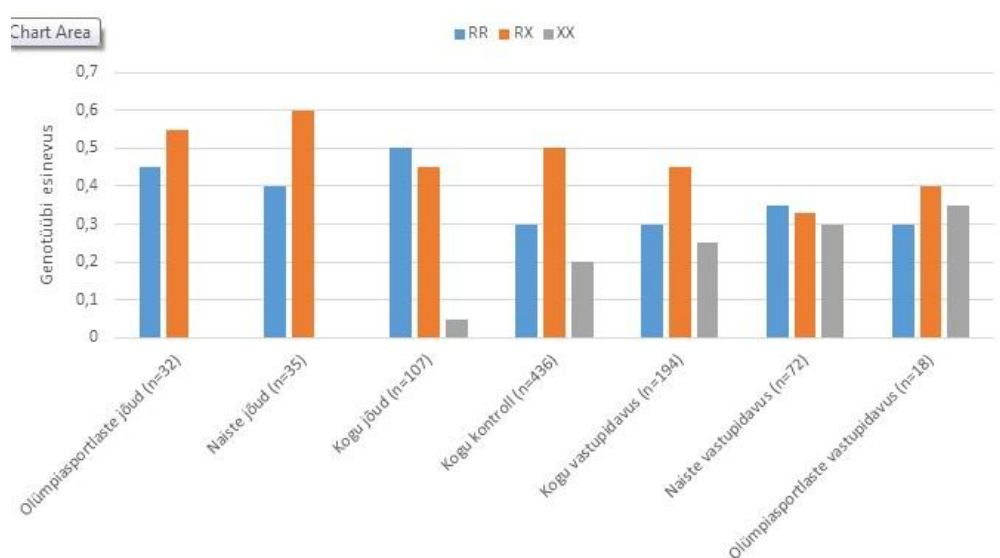
1.3.1 *ACTN3* R577X polümorfism

Kui arginiin R vahetatakse aminohappes 577 stoppkoodoni vastu X, tekib *ACTN3* geenis kaks erinevat alleeli ja mõlemad on inimpopulatsioonis levinud (Ma jt., 2013). R alleel funktsioneerib korrektselt, X alleelil on aga järjekorra muutus, mis takistab funktsionaalse *ACTN3* proteiini tootmist. Taolise polümorfismi tulemus on kolm genotüüpi: XX, RX ja RR (Ma jt., 2013; McCauley jt., 2009). *ACTN3* geeni stoppkoodoni polümorfismi homosügootsuse tõttu 18% tervetel valgenahalistel indiviididel alfa-aktiniini valk puudub. Yangi ja kolleegide poolt läbi viidud uuringust selgus, et Aasialaste vastav protsent on 25% ja Aafrika Bantu populatsioonis on alla 1%. Nagu oli *ACE* geeni puhul nii erinevad ka *ACTN3* geeni polümorfismide sagedused erinevates etnilistes gruppides. Hiinlaste ja austraallaste *ACTN3* geeni polümorfismiline jaotuvus on välja toodud joonisel 3a) ja 3b) (Shang jt., 2012; Yang jt., 2003).



Joonis 3 *ACTN3* genotüüpide jagunemine a) hiinlastel (Shang jt., 2012); b) valgenahalistel austraallastel (Yang jt., 2003).

On võimalik, et *ACTN3* genotüüp aitab teatud keskkonnatingimustes kaasa inimeste kehalise võimekuse erisuste kujunemisele (Yang jt., 2003). On leitud, et R alleel annab eelise sprindi- ja jõualadega tegelemisel. Seega, *ACTN3* funktsionaalse, R alleeli olemasolu võib skeletilihaste funktsionaalsusele kasuks tulla ja aitab tekitada tugevaid kiireid lihaskontraktsioone (Ma jt., 2013). Naissoost sprindi- ja vastupidavusalade sportlastel esineb genotüübiline efekt, kus RX heterosügootidel on oodatust paremad tulemused sprindialadel kui vastupidavusaladel. Meestel taolist efekti pole leitud, seega võib eeldada, et *ACTN3* geeni mõju on nais- ja meessportlastele mõneti erinev (Yang jt., 2003). Joonis 4 näitab erinevusi mees- ja naissportlaste genotüüpide jagunemises Yangi uuringus.



Joonis 4 Mees- ja naissportlaste *ACTN3* R577X genotüüpide jagunemine (Yang jt., 2003).

***ACTN3* mõju tervisele ja seos haigustega**

Haiguslikku fenotüüpi antud geeniga teadaolevalt ei kaasne. Stoppkoodoniga homosügootse genotüübi ehk XX genotüübi korral võtab *ACTN3* ülesanded üle *ACTN2* (Yang jt., 2003).

2 EKSPERIMENTAALNE OSA

2.1 Töö eesmärk

Käesoleva töö eesmärgiks oli analüüsida *ACE I/D* ja *ACTN3 R577X* polümorfismide genotüüpide jaotuvust Eesti rahvuskoondistesse kuuluvatel sportlastel ning võrrelda geenivariatsioonide sagedusnäitajaid valdavalt vastupidavusele ja jõule-kiirusele orienteeritud spordialade rühmade ja kontrollrühma vahel.

2.2 Materjal ja meetodika

2.2.1 Valim

Andmete kogumine toimus TÜ Kliinikumi Spordimediitsiini ja taastusravi kliinikus ja Spordimediitsiini Sihtasutuses.

Valim koosnes endistest ja praegustest Eesti rahvuskoondistesse kuuluvatest sportlastest. Uuringus osales 105 sportlast (23 naist ja 82 meest). Keskmine vanus sportlastel oli $28 \pm 7,6$ aastat. Valimisse kuulunud sportlased olid esindatud 17 erineva spordialaga, kusjuures kergejõustik kui spordiala oli esindatud kuue erineva erialaga. Kaheksa spordiala kuulusid jõu- ja kiirusalade hulka (sealhulgas kergejõustikus viis erinevat eriala) ja üheksa spordiala vastupidavusalade hulka (lisaks kergejõustikus pikamaajooks). 105 sportlasest 28 on medalistid, kes on saanud medaleid olümpiamängudelt, euroopa- ja maailmameistrivõistlustelt või on jõudnud tiitlivõistlustel vähemalt finaali. Ülejäänud 77 on rahvuskoondise tasemel võistlevad sportlased. Uuringus osalenud sportlaste keskmine kehapikkus on $181,5 \pm 10,3$ cm, keskmine kehamass aga $78,1 \pm 16,9$ kg.

Kontrollrühm koosnes 321 tervest väheliikuva eluviisiga isikust, kellest 145 olid mehed ja 177 naised. Meeste keskmine iga oli $33,9 \pm 13,2$ aastat, naiste kontrollrühma keskmine vanus oli $37,1 \pm 13,6$ aastat. Meeste keskmine pikkus oli $181,0 \pm 6,9$ cm ja keskmiseks kehamassiks mõõdeti $80,0 \pm 13$ kg. Naiste keskmine pikkus kontrollrühmas oli $166,6 \pm 5,7$ cm ja mass $65,2 \pm 11,0$ kg. Kõik osalejad olid valgenahalised.

Käesolevas uuringus on spordialad jaotatud kaheks: jõule-ja kiirusele suunatud spordialad ja vastupidavusalad. 28 sportlast 105-st oli jõu-ja kiirusalade sportlased (6 naist, 22 meest), 77 sportlast tegeles vastupidavusalaga.

Vastupidavusalade hulka arvatud spordialad antud uuringus olid: jalgrattasport, laskesuusatamine, murdmaasuusatamine, sõudmine, triatlon, kahevõistlus, kiiruisutamine ujumine ja aerutamine, lisaks kergejõustiku alalt pikamaajooks.

Jõu- ja kiirusalade hulka arvatud spordialad antud uuringus olid: judo, maadlus, poks, iluuisutamine, vehklemine, purjetamine, tõstmine ja kergejõustik, mille alla kuulusid odavise, kettaheide, mitmevõistlus, 400m jooks, 400m tõkkejooks.

2.2.2 DNA eraldamine

Uuringus osalevatelt sportlastelt võeti (ühelikult) DNA eraldamiseks ja seejärel *ACE* ja *ACTN3* genotüpeerimiseks 8ml veeniverd. Võetud proove säilitati kuni DNA eraldamiseni anonüümselt (kodeeritult) -20°C juures. Enne eraldamist veri sulatati. Täisverest eraldati väljasoolamise meetodil genoomne DNA (gDNA). Väljasoolamise meetod tähendab, et naatriumkloriidi lahusega rakud dehüdreeritakse ja soolatakse valgud rakkudest välja (Miller jt., 1988).

Väljasoolamisel kasutatud lahused:

- Lüüsi puhver A (pH 7,3-7,4) ühe liitri kohta - 8.3g NH₄Cl, 1.0g KHCO₃, 2.0ml 0.5M EDTA ja destilleeritud vesi.
- TKM1 puhver ühe liitri kohta – 10ml 1M Tris, 10ml 1M KCl, 5ml 2M MgCl₂, 4ml 0.5M EDTA ja destilleeritud vesi.
- TKM2 puhver 200ml kohta – 25ml 5M NaCl, 175ml TKM1 lahus.

Täisverest väljasoolamise meetodil eraldatud puhta genoomse DNA kontsentratsioon mõõdeti NanoDrop ND-1000 spektrofotomeetriga ja mille järel viidi proovide kontsentratsioon viie nanogrammini mikrolitris. DNA proovide lahjendamiseks kasutati TE (Tris-EDTA) puhvrit.

2.2.3 Genotüüpide määramine

Geenianalüüs teostati TÜ Bio- ja siirdemeditsiini instituudi patofüsioloogia osakonnas. Uuringus kasutatud geenide *ACE* I/D ja *ACTN3* R577X polümorfismide määramiseks uuritavates gruppides kasutati reaalaaja termotsüklerit ViiA7 (Applied Biosystems, Foster City, USA) ning TaqMan kemikaale. Tsükliid on välja toodud tabelis 1.

Tabel 1 PCR tsüklid

60°C	30 sekundit – nn. <i>pre-reading stage</i>
95°C	10 sekundit – nn. <i>hold stage</i>
95°C	15 sekundit
60°C	1 minut

Kokku tehti 40 tsüklit. Pärast PCR tsükleid tehti kolmeks sekundiks 60°C juures nn. *post-read stage*.

PCR viidi läbi lõppmahus 5µl proovi kohta.

Reaktsioonisegu sisaldas:

- 2µl genoomset DNA-d
- 1,125µl reaktsioonipuhvrit Applied Biosystems Genotyping Buffer
- 0,125µl alleelspetsiifiliste oligonukleotiid praimerite segu
- 1,75µl destilleeritud vett

TaqMan keemiast

TaqMan MGB (*minor groove binder*) järjestused aitavad teha kahel uuritava geeni alleelil vahet ja MGB alleelspetsiifiliste oligonukleotiididega segu sisaldab:

- Reportervärve VIC[®] ja FAM[™], millest üks asetseb üht alleeli määrava järjestuse 5' otsas ja teine asetseb teist alleeli määrava järjestuse 5' otsas.
- MGB järjestust iga alleeli 3' otsas, mis tõstab T_m-i antud järjestuse pikkuses ja see lubab sünteesida lühemaid oligonukleotide, mis kokkuvõttes aitab ära hoida robustsete alleelide teket ja fluorestsentsignaali vaigistamist.
- Oligonukleotiidide 3' otsas on NFQ (*nonfluorescent quencher*), mis eemaldab taustafluoretsentsi, mis on seotud klassikaliste summutajatega ja taoliselt saavutatakse tugevam signaal.
- dNTP-d
- Inertne referentsvärv ROX (Lisa 1 joonis 1).

PCR-i tööpõhimõte

- (1) MGB seondub spetsiifiliselt komplemenaatsese järjestusele *forward* ja *reverse* praimeri peal. (2) Kui oligonukleotiid on terve (intaktne), siis fluorestsents surutakse maha reportervärvi ja vaigistajavärvi kauguse tõttu. (3) *AmpliTaq Gold*® DNA polümeraas pikendab sihtmärk DNA küljes olevaid praimereid. (4) *AmpliTaq Gold* DNA polümeraas kinnitub ainult neile järjestustele, mis on sihtmärgiga hübridiseerunud. (5) Eelnev protsess eraldab kaks värvi (reporter ja vaigistaja) teineteisest, mis põhjustab reportervärvi kõrgema fluorestseerumise. (6) Fluorestsentsi tõus ilmneb siis, kui järjestused on hübridiseerunud komplementaarsele osale sihtmärgil. Fluorestsents signaal näitab, milline alleel on proovis olemas (Sild, K., 2013).

2.2.4 Statistiline analüüs

Andmete analüüsiks kasutati andmetöötlusprogrammi IBM SPSS Statistics 22. Valimi kirjeldamisel kasutati kirjeldavat statistikat (n, SD, %) ja rühmadevaheliseks võrdluseks χ^2 -testi. Statistilise usalduse nivooks võeti $p=0,05$.

Uuringus osalemine oli vabatahtlik ning igalt uuringus osalejalt võeti selleks kirjalik nõusolek. Uuringu läbiviimiseks on olemas vastav eetikakomitee luba.

2.3 Tulemused

ACE ja *ACTN3* genotüpeerimisel saadi tulemused kõigil vastupidavus- ja kiirus-jõualade sportlastel. Kontrollrühmas *ACE* genotüpeerimine õnnestus kõigil 321 isikul, kuid *ACTN3* puhul kolmel isikul genotüpeerimine ebaõnnestus.

Tabelis 2 on esitatud genotüüpide jagunemine vastavalt spordialade iseloomule (vastupidavusele või kiirusele ja jõule orienteeritud) ning rühmadevahelise võrdluse (χ^2 -test) tulemused.

Tabel 2 *ACE* ID ja *ACTN3* R577X genotüüpide jagunemine vastavalt spordialade tüübile ja rühmadevaheline võrdlus (χ^2 -test)

Geen/genotüüp	Vastupidavus n =77	Kiirus-jõud n=28	P väärtus (χ^2 -test)
<i>ACE</i>			
II	17 (22%)	3 (11%)	0,264
ID	36 (47%)	16 (57%)	0,384
DD	24 (31%)	9 (32%)	1,000
<i>ACTN3</i>			
RR	26 (34%)	4 (14%)	0,055
RX	34 (44%)	15 (54%)	0,508
XX	17 (22%)	9 (32%)	0,314

Tabelist selgub, et Eesti rahvuskoondiste vastupidavussportlaste seas *ACTN3* RR genotüüpi esines sagedamini kui kiiruse- ja jõualade sportlaste hulgas, kuid jäi siiski statistiliselt ebaoluliseks ($p=0,055$). Teiste genotüüpide jaotumisel statistiliselt olulisi erinevusi ei leitud.

Tabel 3 *ACE* I/D ja *ACTN3* R577X genotüüpide jagunemine vastavalt spordialade tüübile ja kontrollrühma võrdlus (χ^2 -test)

Geen/genotüüp	Vastupidavus n=77	Kontrollrühm	P väärtus (χ^2 -test)
<i>ACE</i>		n=321	
II	17 (22%)	80 (25%)	0,660
ID	36 (47%)	156 (49%)	0,801
DD	24 (31%)	85 (26%)	0,398
<i>ACTN3</i>		n=318	
RR	26 (34%)	53 (17%)	0,001
RX	34 (44%)	238 (75%)	<0,001
XX	17 (22%)	27 (8%)	0,002
	Kiirus-jõud n=28	Kontrollrühm	P väärtus (χ^2-test)
<i>ACE</i>		n=321	
II	3 (11%)	80 (25%)	0,107
ID	16 (57%)	156 (49%)	0,434
DD	9 (32%)	85 (26%)	0,511
<i>ACTN3</i>		n=318	
RR	4 (14%)	53 (17%)	1,000
RX	15 (54%)	238 (75%)	0,024
XX	9 (32%)	27 (8%)	0,001

Vastupidavusalade sportlaste rühma ja kontrollrühma omavahelisel võrdlusel *ACE* genotüüpide jaotumisel olulisi erinevusi ei esinenud. Samas *ACTN3* geenivariatsioonide jagunemisel esines oluliselt sagedamini RX genotüüp kontrollrühmal ($p < 0,001$) ja RR ja XX genotüüp vastupidavusalade sportlastel, vastavalt $p = 0,001$ ja $p = 0,002$ (Tabel 3).

Kiirus-jõualade sportlaste ja kontrollrühma *ACE* I/D genotüüpide sagedusnäitajate omavahelises võrdluses ei esinenud samuti statistiliselt olulisi erinevusi, kuid *ACTN3* R577X polümorfismi puhul esines RX genotüüpi kontrollrühmas oluliselt rohkem kui kiirus-jõualade sportlastel ($p = 0,024$). Sarnaselt vastupidavusalade sportlastega, esines ka kiirus-jõualadel

oluliselt sagedamini XX genotüüpi kui kontrollrühmal ($p=0,001$), samas RR genotüübi puhul rühmade vahel erinevusi ei esinenud (Tabel 3).

2.4 Arutelu

Läbi viidud uuringust selgus, et vastupidavus- ja kiirus-jõualade omavahelises võrdluses esines ainult *ACTN3* RR genotüüpi sagedamini, mis jäi siiski statistiliselt ebaoluliseks. Muus osas olulisi erinevusi kahe rühma vahelises võrdluses ei esinenud.

Samas Leedu teadlaste poolt läbiviidud uuringus leiti, et vastupidavussportlaste seas on DD genotüüp levinum kui II genotüüp, vastavalt 31,2% ja 19,6%. Nad järeldasid, et ID ja II genotüübi puhul on suuremad eeldused jõu- ja kiirusaladega tegelemisel. Samasugused vastukäivad tulemused võrreldes enamuse teiste uuringutega leidsid nad ka *ACTN3* geeni puhul, kus RX ja XX genotüübid esinesid statistiliselt oluliselt sagedamini jõu- ja kiirusaladel (Ginevičienė jt., 2011). Need tulemused ühtivad uuringuga Venemaa vastupidavusalade sportlastel (Ahmetov jt., 2010). Nad (Ahmetov jt., 2010) järeldasid oma töös, et alfa-aktiniin-3 defitsiit (XX genotüüp) ei anna eelist vastupidavusaladega tegelemisel, kuna sportliku edu tagamiseks on lisaks aeroobsele võimekusele olulised samuti kiirus- ja jõunäitajad.

Teadlased Ma jt. leidsid oma metaanalüüsis tugeva seose *ACE* geeni II genotüübi ja vastupidavusalade vahel ning *ACTN3* R alleeli ja jõu-kiiruse alade vahel. Ka Yang koos kolleegidega seostas R alleeli paremate tulemustega jõu- ja kiirusaladel. Meie oma uuringus leidsime aga vastupidiselt, et RR genotüübi suurem esinemissageduse trend esineb vastupidavusalade sportlaste seas. Shangi ja kolleegide uuring noortel Hiina sõduritel ei näidanud tugevat seost *ACTN3* R755X polümorfimi ja vastupidavus- ega ka kiirus-jõualade vahel (Shang jt., 2012).

Folland kaasautoritega seostas oma töös suuremat lihasjõudluse ja -hüpertroofia kasvu pärast jõutreeningute tsükli *ACE* D alleeli kandjatega (Folland jt., 2000; Yang jt., 2003). Kuna lihasjõudlus on oluline kiirus- ja jõualadega tegelemisel, siis *ACE* DD genotüüp võiks anda eelise nendel aladel edu saavutamiseks. Meie töös olulist seost *ACE* geenivariatsioonide ja vastupidavus- ja kiirus-jõualade vahel ei leidnud. Meie töö tulemuste interpreteerimisel oli üheks limiteerivaks faktoriks suhteliselt väike uuringurühm, eriti kiirusele ja jõule orienteeritud sportlaste rühm. Eraldi ei uurinud me ka nais- ja meessportlasi, sest sel juhul oleks rühmad olnud veelgi väiksemad ja uuringuvõimsus madal.

Ahmetov kaasautoritega (2010) võrdles oma töös vastupidavus- ja jõu-kiirusalade sportlasi kontrollrühmaga, mis koosnes väheliikva eluviisiga isikutest ja leidis, et *ACTN3* XX genotüüpi esines sportlastel oluliselt sagedamini kui mittesportlastel, mida näitasid ka meie uuringu tulemused.

Yangi ja kolleegide uuring püüdis *ACTN3* XX genotüübi sagedast esinemist mitmetest uuringutes seletada evolutsiooniga. Nimelt, ehkki *ACTN3* RR genotüüpi peetakse heaks eelduseks jõu- ja kiirusaladel, siis on see oluline vaid ekstreemsetes treeningtingimustes ja seega ei ole tavainimesele ja evolutsioonis märkimisväärselt oluline (Yang jt., 2003).

McCauley koos kolleegidega ei leidnud *ACE* ja *ACTN3* polümorfismidel seost paremate sporditulemustega ja pidas tõenäolisemaks, et head tulemused spordis on seotud mitme geeni koosmõjul (McCauley jt., 2008).

Kokkuvõte

Käesoleva töö peamiseks tulemuseks oli *ACTN3* geeni R577X polümorfismi RR genotüübi oluliselt kõrgem esinemissagedus vastupidavusalade sportlastel võrreldes kontrollrühmaga ja märgatavalt kõrgem esinemissageduse trend võrreldes kiirus-jõualade sportlastega. Selline leid võiks anda eelise vastupidavusalade sportlastel plahvatusliku kiiruse ja jõu arendamisel kestval kehalisel sooritusel. *ACE* geeni I/D polümorfismi genotüüpide jagunemine sportlastel ei erinenud oluliselt kontrollrühma omast, samuti spordialade rühmade (vastupidavus- ja kiirus-jõualade) omavahelises võrdluses. *ACTN3* geeni R577X polümorfismi RX genotüüpi esines kontrollrühmas oluliselt sagedamini kui vastupidavussportlaste või kiirus-jõualade sportlaste seas, samas XX genotüüpi esines kontrollrühmas oluliselt vähem.

Kirjanduse ülevaates selgus, et genotüübilised erinevused *ACE* I/D ja *ACTN3* R577X genotüüpide jagunemisel tulenevad sportlase päritolust ja rassist.

Kuna arvukad geenide variantide kombinatsioonid ja nende omavaheline koosmõju mõjutavad kehalist võimekust, siis ainult *ACE* I/D ja *ACTN3* R577X genotüüpide variatsioonide alusel ei saa eeldada sportlikku edu. Geneetiline profiil on edukaks sportlaseks kujunemisel küll oluline, aga suurt tähtsust omavad kahtlemata veel ka keskkondlikud tegurid (treeningute metoodika, psühholoogiline ettevalmistus, toitumine jne.), isikuomadused jt. mõjurid.

Seega, geneetilise tausta roll on vaid osa sportlikust edust.

The polymorphisms and the variational frequencies of genes related to physical capability, ACE and ACTN3, in Estonia's professional athletes

Birgit Saare

Summary

The primary result of the study was that the appearance rate of *ACTN3* gene R577X polymorphism genotype was significantly higher among endurance athletes compared to the control group and noticeably higher appearance rate trend compared to speed-strength athletes. A find such as this one could give an advantage to endurance athletes at explosive speed and strength developing lasting physical performance. The allocation of *ACE* gene I/D polymorphism genotypes in athletes did not differ significantly from the control group's nor did it in the comparison between the two sports groups (endurance and speed-strength). *ACTN3* gene R577X polymorphism RX genotype was present in the control group at a significantly higher rate compared to endurance athletes or speed-strength sports athletes, while the XX genotype was found at a much smaller rate in the control group.

In the literary review it became apparent that the genotypical differences between *ACE* I/D and *ACTN3* R577X genotype's allocation are the result of the athletes origins and race.

Because numerous gene variation combinations and their complimentary effect affect physical capability then basing on just *ACE* I/D and *ACTN3* R577X genotypes one cannot expect athletic success. Although the genetic profile is important in developing into a successful athlete undoubtedly so are environmental factors (training methods, psychological preparation, nutrition etc.) personality and other factors.

Therefore the role of a genetic background is only a part of the athletic success.

Tänuavaldused

Sooviksin tänada oma juhendajaid Agnes Mägi ja Ants Kurge suurepärase juhendamise, toe, vastutulelikkuse ja abi eest. Lisaks tänan ka esialgset kaasjuhendajat Ele Pransi laboratoorse töö juhendamise eest.

Kasutatud kirjandus

Ahmetov II, Druzhevskaya AM, Astratenkova IV, Popov DV, Vinogradova OL, Rogozkin VA. (2010) The ACTN3 R577X polymorphism in Russian endurance athletes. *Br. J. Sports Med.*, 44:649-652.

Alvarez R, Terrados N, Ortolano R, Iglesias-Cubero G, Reguero JR, Batalla A, Cortina A, Fernández-García B, Rodríguez C, Braga S, Alvarez V, Coto E. (2000) Genetic variation in the renin-angiotensin system and athletic performance. *European Journal of Applied Physiology* 82:117-120.

Bae JS, Kang BY, Lee O, Lee S-T. (2007) Genetic Variation in the Renin-Angiotensin System and Response to Endurance Training. *Med Princ Pract.* 16:142–146

Bouchard C, Daw EW, Rice T jt. (1998) Familial resemblance for VO₂max in the sedentary state: the HERITAGE family study. *Med Sci Sports Exerc.* 30:252-258.

De Moor MH, Spector TD, Cherkas LF, Falchi M, Hottenga JJ, Boomsma DI, De Geus EJ. (2007) Genome-wide linkage scan for athlete status in 700 British female DZ twin pairs. *Twin Res Hum Genet* 10:812-820.

Deuster, P. ja Attipoe, S. (2013) Basics in exercise physiology. Lk. 21-30. ACSM's Sports medicine: a comprehensive review. O'Connor, F.G. Lippincott Williams & Wilkins.

Fagard R, Bielen E, Amery A. (1991) Heritability of aerobic power and anaerobic energy generation during exercise. *J Appl Physiol* 70:357-362.

Gentil P, Lima RM, Pereira RW, Mourot J, Leite TK, Bottaro M. (2012) Lack of association of the ACE genotype with the muscle strength response to resistance training. *European Journal of Sport Science* 12(4): 331-337.

Ginevičienė V, Pranculis A, Jakaitienė A, Milašius K, Kučinskas V. (2011) Genetic Variation of the Human ACE and ACTN3 Genes and Their Association With Functional Muscle Properties in Lithuanian Elite Athletes. *Medicina (Kaunas)* 47(5):284-90.

Grealy R, Smith CLE, Chen T jt. 2013 The genetics of endurance: Frequency of the ACTN3 R577X variant in Ironman World Championship athletes. *J Sci Med Sport*, 16: 365-371

- Hernández D, Rosa A, Barragán A, Barrios Y, Salido E, Torres A, Martín B, Laynez I, Duque A, Vera A, Lorenzo V, González A. (2003) The ACE/DD Genotype Is Associated With the Extent of Exercise-Induced Left Ventricular Growth in Endurance Athletes. *Journal of the American College of Cardiology* Vol. 42, No. 3:527–32.
- Lek M, Quinlan KGR, North KN. (2009) The evolution of skeletal muscle performance: gene duplication and divergence of human sarcomeric α -actinins. *BioEssays* 32: 17–25.
- Ma F, Yang Y, Li X, Zhou F, Gao C, Li M, Gao L. (2013). The Association of Sport Performance with ACE and ACTN3 Genetic Polymorphisms: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Plos one* vol.8 issue 1: 1-10.
- McCauley T, Mastana SS, Hossack J, MacDonald M, Folland JP. (2008) Human angiotensin-converting enzyme I/D and α -actinin3 R577X genotypes and muscle functional and contractile properties. *Exp Physiol* 94.1: 81–89.
- Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. (1988) A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research* 16, 1215.
- Mitchell JH, Haskell W, Snell P, Van Camp SP. (2005) Task Force 8: Classification of sports. *JACC Journals* Volume 45, Issue 8.
- North KN, Yang N, Wattanasirichaigoon D, Mills M, Eastal S, Beggs AH. (1999) A common nonsense mutation results in alpha-actinin-3 deficiency in the general population. *Nature Genetics* 21, 353-354.
- Port, K. (2015) Kiirus- ja jõutreeningu füsioloogiline eripära. Lk. 57-65. *Treenerite tasemekoolitus. Spordi üldained. Treener tase 5. Sunprint Invest. Tallinn.*
- Puthuchery Z, Skipworth JRA, Rawal J, Loosemore M, Someren KV, Montgomery HE. (2011). The ACE Gene and Human Performance. *12 Years On. Sports Med* 41 (6): 433-448.
- Shang X, Zhang F, Zhang L, Huang C. (2012) ACTN3 R577X polymorphism and performance phenotypes in young Chinese male soldiers. *Journal of Sports Sciences* 30(3): 255–260.
- Sild K. (2013). *AGT, ACE, ACTN3, IL6* geneetiliste polümorfismide seostamine sportlaste füsioloogiliste näitajatega. Lk.24.

Thompson PD, Tsongalis GJ, Ordovas JM, Seip RL, Bilbie C, Miles M, Zoeller R, Visich P, Gordon P, Angelopoulos TJ, Pescatello L, Moyna N. (2006) Angiotensin-Converting Enzyme Genotype and Adherence to Aerobic Exercise Training. *Preventive cardiology* winter: 21-24.

Weineck J, Jalakas R. (2008) Kehalised võimed ja organism. p.7-8, 10, 41,44-46, 93-103. Sunprint Invest. Tallinn.

Õöpik, V. (2015) Vastupidavus- ja ultravastupidavustreeningu füsioloogiline eripära. Lk. 41-48. Treenerite tasemekoolitus. Spordi üldained. Treener tase 5. Sunprint Invest. Tallinn.

Yang N, MacArthur DG, Gulbin JP, Hahn AG, Beggs AH, Eastal S, North K. (2003) ACTN3 genotype is associated with human elite athletic performance. *Am J Hum Genet* 73: 627-631.

Yu B, Trent RJ. 2010 Genetics of Athletic Performance. eLS.

Kasutatud veebiaadressid

¹ Spordialade klassifikatsioon. Kasutatud 06.05.2016.

<https://www.tlu.ee/opmat/tp/sporditund/tund1/spordialadeklassifikatsioon.htm>

²ACTN3 actinin alpha 3 (gene/pseudogene) [Homo sapiens (human)]. Kasutatud 11.05.16.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?Db=gene&Cmd=ShowDetailView&TermToSearch=89>

Lisa 1

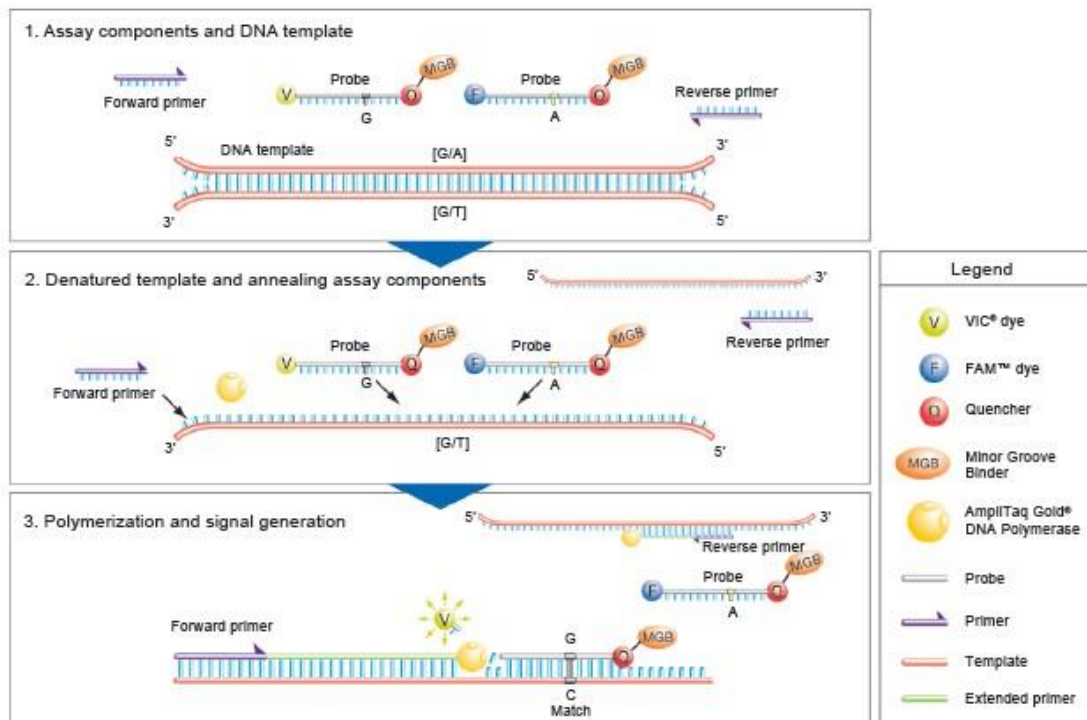


Figure 1. Allelic discrimination is achieved by the selective annealing of TaqMan® MGB probes.

Joonis 1 TaqMan keemia sisaldus ja tööpõhimõtte ülevaatlik skeem.

Lihlitsents

Lihlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

Mina, Birgit Saare (02.02.1994)

annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihlitsentsi) enda loodud teose

Kehalise võimekusega seotud *ACE* ja *ACTN3* geenide polümorfismid ja nende variatsioonide sagedusnäitajad Eesti tippspordlastel(,)

mille juhendajad on Ants Kurg ja Agnes Mägi,

- 1.1.reprodutseerimiseks säilitamise ja üldsusele kättesaadavaks tegemise eesmärgil, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace-is lisamise eesmärgil kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;
- 1.2.üldsusele kättesaadavaks tegemiseks Tartu Ülikooli veebikeskkonna kaudu, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace'i kaudu kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni.
2. olen teadlik, et punktis 1 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.
3. kinnitan, et lihlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest tulenevaid õigusi.

Tartus, 18.05.2016