

## بررسی پلی مورفیسم ژن ACTN-3 در ورزشکاران برتر ایرانی

منصور صالحی<sup>۱</sup>، علی احمد علی پور<sup>۲</sup>، سیدمجتبی محدث<sup>۳</sup>

تاریخ دریافت مقاله: ۹۰/۴/۱۴ تاریخ پذیرش مقاله: ۹۰/۹/۲۰

پژوهشگاه تربیت بدنی وزارت علوم تحقیقات و فناوری

### چکیده

عملکرد ورزشی ویژگی پیچیده‌ای است که از ژنتیک افراد و عواملی مانند تغذیه و تمرین متأثر می‌شود. عوامل ژنتیکی دامنه گسترده‌ای از تنوع ویژگی‌های مناسب برای ورزش را تعیین می‌کنند. ژن ACTN-3، پروتئین آلفا آکتینین-3 را کد می‌کند. این پروتئین قسمتی از دستگاه انقباضی را در فیبرهای عضلانی تشکیل می‌دهد. هدف از این تحقیق، بررسی پلی مورفیسم ژن ACTN-3 در ورزشکاران نخبه ایرانی و مقایسه آن با گروه کنترل بود. ۱۴۸ ورزشکار عضو تیم ملی و ۱۷۵ غیرورزشکار به‌عنوان گروه کنترل مقایسه شدند. روش‌های به‌کاررفته در این پژوهش شامل نمونه‌گیری خونی، استخراج DNA نمونه‌های خونی و روش‌های PCR, RFLP برای تعیین پلی مورفیسم ژن یادشده بود. آزمون آماری کای مربع برای مقایسه سه نوع ژنوتیپ RR, RX, XX در گروه‌های تحقیق استفاده شد. اختلاف معنی‌داری در نوع ژنوتیپ گروه کنترل و ورزشکاران مشاهده نشد ( $P=0.61$ ). اختلاف نوع ژنوتیپ ورزشکاران رشته‌های مختلف نیز معنی‌دار نبود ( $P=0.77$ ). نتایج این تحقیق در مجموع نشان داد که تفاوت معنی‌داری در وضعیت ژنوتیپ ژن ACTN3 بین دو گروه ورزشکار و کنترل وجود ندارد، بنابراین پلی مورفیسم این ژن را نمی‌توان عامل تعیین‌کننده‌ای در عملکرد ورزشکاران ایرانی دانست.

**کلیدواژه‌های فارسی:** ACTN3، پلی مورفیسم، ورزشکار.

Email: m\_salehi@med.mui.ac.ir

۱. دانشیار گروه ژنتیک دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

Email: ali.ahmadalipour1@gmail.com

۲. دانشجوی دکتری فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی سمنان

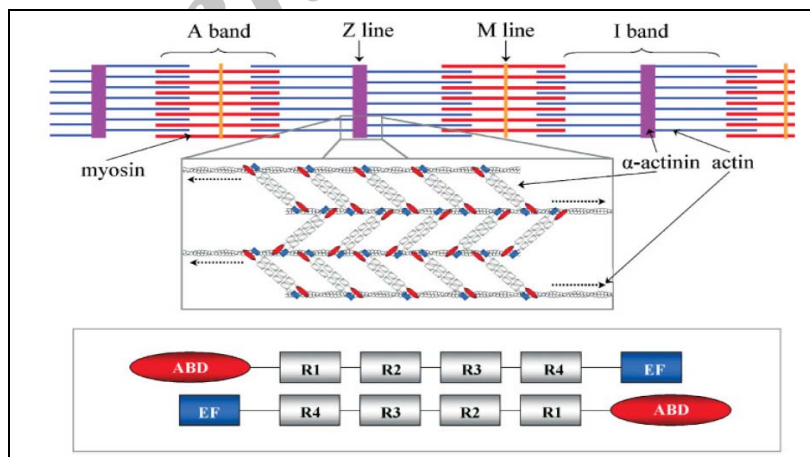
Email: mohamaddesmo@yahoo.com

۳. دانشیار گروه ژنتیک دانشگاه علوم پزشکی تبریز

### مقدمه

عملکرد ورزشی در ورزشکاران حرفه‌ای، از شاخص‌های محیطی مثل تغذیه، تمرین و عوامل ارثی یا همان ساختار ژنتیکی افراد تاثیر می‌پذیرد (۱). عوامل ژنتیکی ۲۰ تا ۸۰ درصد تنوع ویژگی‌های مناسب برای ورزش مثل قابلیت اکسیژن‌گیری، برون‌ده قلبی و مقدار نسبی فیبرهای تند یا کند انقباض در بافت عضلانی را تعیین می‌کنند (۴-۲). یکی از ژن‌های مهم در زمینه عملکرد ورزشی (عضلانی)، ژن ACTN-3 است (۵، ۶). ژن ACTN-3 پروتئین آلفا آکتینین ۳ را کد می‌کند که این پروتئین قسمتی از دستگاه انقباضی را در فیبرهای تند انقباض ماهیچه عضلانی تشکیل می‌دهد. این فیبرها مسئول انقباض سریع و نیرومند (مثل پریدن و برداشتن وزنه) هستند. پلی‌مورفیسم ژن ACTN-3 موجب بیان متفاوت پروتئین‌ها و عملکرد آن در افراد مختلف می‌شود (۷).

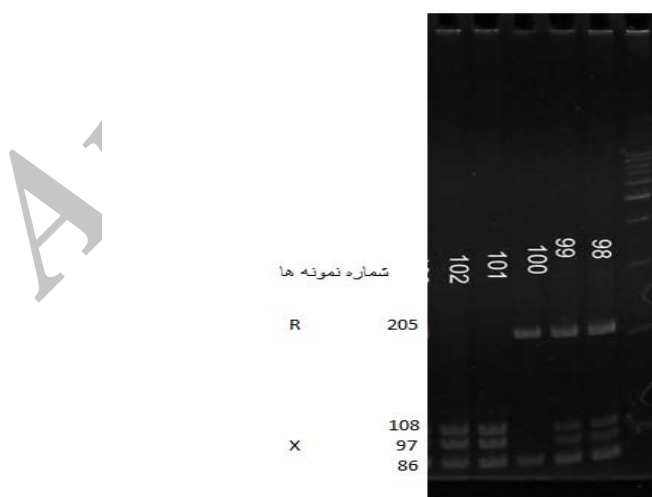
دو ایزوفرم آلفا آکتینین ۲ و ۳ تحت تاثیر دو ژن متفاوت به نام ACTN2 و ACTN3 کد می‌شوند (۸). در عضلات اسکلتی، این آلفا آکتینین‌ها، پروتئین‌های غالب در صفحه‌های Z سارکومری را تشکیل می‌دهند. جایی که آنها رشته‌های آکتین را به هم متصل می‌کنند که سبب استقرار دستگاه انقباضی عضله می‌شود (۹، ۱۰). (شکل ۱). الگوی بیان این دو آلفا آکتینین سارکومری طی تکامل باعث شده است که هر کدام از اینها در جای خاصی غالب باشند، به طوری که آلفا آکتینین ۲ ایزوفرم غالب در قلب و فیبرهای اکسیداتیو عضله اسکلتی است، در حالی که بیان آلفا آکتینین ۳ به‌طور وسیعی به فیبرهای سریع گلیکولیتیک عضلات اسکلتی محدود شده است (۹).



شکل ۱. ساختمان آلفا آکتینین ۳ در محل صفحات Z عضلانی

به تازگی نشان داده شده است که یک نسبت از جمعیت انسانی در گروه‌های قومی مختلف، برای یک پلی مورفیسم معمول (R577X) در ژن ACTN3 هموزیگوس هستند که به یک کدن خاتمه نارس و ایجاد یک الی خنثی منجر می‌شود (۱۱). نقص کامل آلفا آکتینین ۳ در هموزیگوس 577XX سبب فنوتیپ بیماری‌زایی نمی‌شود که پیشنهاد می‌کند پروتئین هم‌خانواده آن یعنی آلفا آکتینین ۲ می‌تواند کمبود و نقص آن را جبران کند (۹). با توجه به اینکه پروتئین آلفا آکتینین ۳ نقش پاتولوژیکی در عضلات ندارد، ممکن است در عملکرد فیبرهای عضلانی و به‌ویژه فیبرهایی که بیان و ساخته می‌شود (فیبرهای عضلانی تندانقباض) نقش فیزیولوژیک داشته باشد.

برخی تحقیقات نشان می‌دهند که فراوانی ژنوتپ XX (که به ساخته نشدن آلفا آکتینین ۳ منجر می‌شود)، در ورزشکاران رشته‌های سرعتی - قدرتی کمتر از ورزشکاران دیگر رشته‌هاست و وجود آلفا آکتینین ۳ (عدم داشتن ژنوتپ XX) برای ورزش‌های سرعتی - قدرتی ضروری است. تحقیقات متعددی در زمینه ارتباط پلی مورفیسم ژن ACTN (وجود یکی از ژنوتپ‌های RR، RX، XX) و عملکرد ورزشی در ورزشکاران و همچنین ارتباط بین این پلی مورفیسم و فیزیولوژی عضلات انجام گرفته است. نتیجه‌ای که در این پژوهش‌ها یافت شده، در برخی موارد حاکی از ارتباط نزدیک بین نوع ژنتیک افراد در مورد این ژن و عملکرد ورزشی یا توان عضلانی آنهاست، در برخی موارد و تحقیقات دیگر هم، نتیجه عکس حاصل شده است (۱۴-۱۲) هدف از تحقیق حاضر، بررسی پلی مورفیسم ژن ACTN-3 در ورزشکاران نخبه ایرانی و مقایسه آن با گروه کنترل بود.



شکل ۲. تعیین ژنوتیپ ACTN R577X بر روی ژل آگارز

### روش‌شناسی پژوهش

جامعه آماری در این پژوهش ملی‌پوشان انواع ورزش‌ها و نمونه پژوهش شامل ۱۴۸ ملی‌پوش در ورزش‌های وزنه‌برداری (۷۲ نفر) دو و میدانی (پرش طول و ارتفاع) (۶ نفر)، بسکتبال (۲۸ نفر)، والیبال (۳ نفر)، دوچرخه‌سواری (۳۸ نفر) و تکواندو (۱ نفر) بود. تعداد ورزشکاران هر رشته با توجه به ورزشکاران در دسترس و همکاری فدراسیون‌ها، تعیین شد. شرط لازم برای شرکت در این تحقیق عضویت در تیم‌های ملی بود. نمونه خونی از ۱۷۵ فرد غیرورزشکار با میانگین سنی ۴۰-۱۸ سال، به‌عنوان گروه کنترل، جمع‌آوری شد. با توجه به تحقیقات قبلی (۱۶، ۱۲، ۳)، گروه‌های ورزشی شامل رشته‌های مختلف ورزشی بودند.

کارشناس آزمایشگاه نمونه‌های خون (۵-۳ میلی‌لیتر) را از وریدهای cephalic و median cubital بازو گرفت. سپس نمونه‌ها در لوله‌های حاوی ماده ضد انعقاد EDTA به آزمایشگاه ژنتیک منتقل شدند. DNA ژنومی از نمونه‌ها در آزمایشگاه ژنتیک مولکولی استخراج شد.

استخراج ژنوم (DNA): از نمونه‌های خون شرکت‌کنندگان DNA ژنومیک به روش فنول-کلروفرم استخراج شد. سپس مقدار جذب نوری نمونه‌های DNA در طول موج‌های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر قرائت شد. نمونه‌هایی که نسبت ۲۶۰ به ۲۸۰ آنها در حدود ۱/۸ تا ۲ بود، برای PCR مورد استفاده قرار گرفتند. به‌علاوه کیفیت مناسب نمونه‌های DNA با راندن ۳μl -۲ از هر DNA بر روی ژل آگاروز ۱ درصد تأیید شد.

PCR: برای اجرای PCR از پرایمرهای زیر استفاده شد (۱۳، ۱۲):

پرایمر رفت ACTN3-F 5-CTG TTG CCT GTG GTA AGT GGG

پرایمر برگشت ACTN3-R 5-TGG TCA CAG TAT GCA GGA GGG

با برنامه‌ریزی دستگاه PCR برای چرخه‌های حرارتی، مراحل این فرایند به‌ترتیب زیر انجام گرفت:

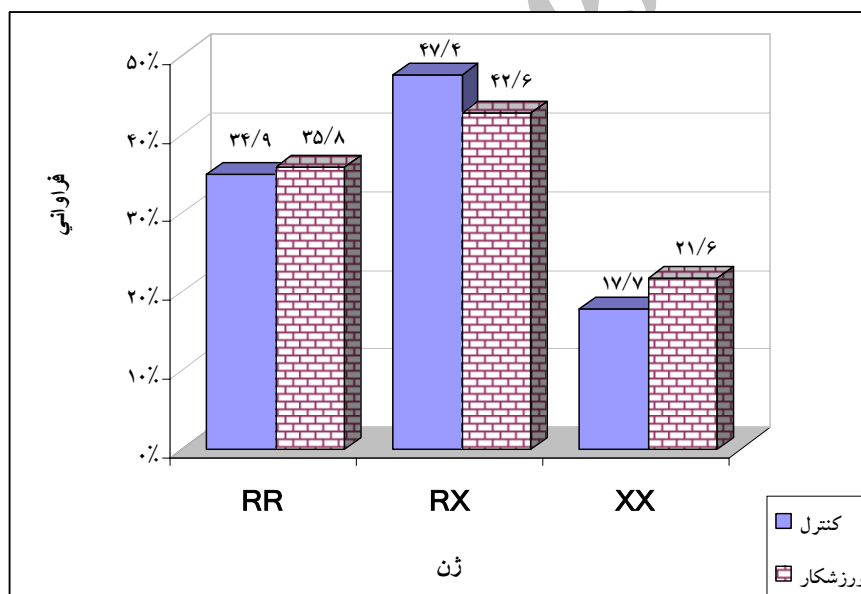
دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد برای جدا شدن DNA به مدت ۴۵ ثانیه، دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد برای اتصال آغازگرها به مدت ۱ دقیقه و دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای ساخت و گسترش به مدت ۱ دقیقه. محصول PCR با قرار دادن ۱۰ میکرولیتر از آن در هر یک از چاهک‌های ژل آگارز ۳ درصد و الکتروفورز به مدت یک ساعت در ۱۰۰ ولت آنالیز شد.

برای تعیین پلی‌مورفیسم ACTN3 از آنزیم محدودکننده Dde I که جایگاه شناسای خاصی از DNA در قسمت مربوط به ژن ACTN3 دارد، استفاده شد (۱۲). آنزیم Dde I محصول PCR را هضم می‌کند. آن‌گاه فراورده این هضم آنزیمی، بر روی ژل آگارز ۲ درصد محتوی اتیوم بروماید الکتروفورز شد تا باندها بر روی آن مشخص شوند. ال X از ژن ACTN3 بعد از هضم آنزیمی

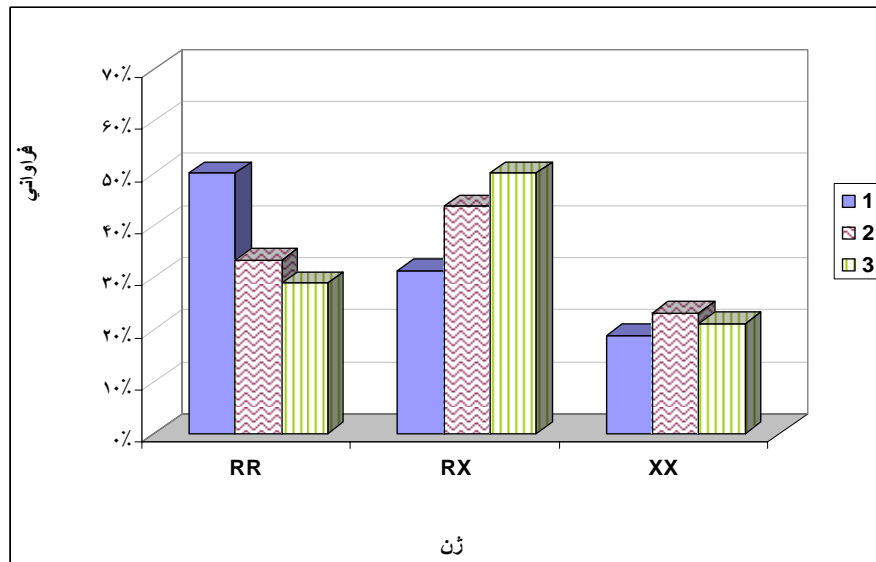
تحت تأثیر Dde I سه قطعه ۱۰۸، ۹۷ و ۸۶ bp می‌دهد. محصول هضم آنزیمی Dde I بر روی آلل R از ژن ACTN3 قطعاتی با طول ۲۰۵ و ۸۶ bp می‌دهد (شکل ۲).  
آزمون آماری کای مربع و نرم‌افزار SPSS18 برای مقایسه فراوانی سه نوع ژنوتیپ RR, RX, XX در گروه‌های تحقیق استفاده شد.

### یافته‌های پژوهش

نتایج این تحقیق در شکل‌های ۳ و ۴ ارائه شده است. این نتایج نشان داد که بین پلی مورفیسم ژن ACTN3 در ورزشکاران و جمعیت کنترل ایرانی تفاوت معنی‌داری وجود ندارد. کای مربع نشان می‌دهد که اختلاف معنی‌داری در سه نوع ژنوتیپ RR, RX, XX در گروه کنترل و ورزشکار وجود ندارد ( $P=0.61$ ). شکل ۳ نشان‌دهنده وضعیت سه مورف XX و RX و RR از ژن ACTN3 در جمعیت ورزشکار و گروه کنترل ایرانی است. همان‌طور که در شکل مشاهده می‌شود، تفاوت معنی‌داری بین دو گروه وجود ندارد.



شکل ۳. مقایسه فراوانی سه نوع ژنوتیپ RR, RX, XX در گروه کنترل و ورزشکار



شکل ۴. مقایسه فراوانی سه نوع ژنوتیپ RR, RX, XX در ورزشکاران رشته‌های مختلف ورزشی: ۱- بسکتبال؛ ۲- وزنه‌برداری؛ ۳- دوچرخه‌سواری

ورزش‌های مورد توجه این پژوهش عبارت بودند از: تکواندو، بسکتبال، والیبال، وزنه‌برداری، دو و میدانی (پرش‌ها) و دوچرخه‌سواری استقامتی. در ورزشکاران هیچ‌یک از این ورزش‌ها اختلاف معنی‌داری در سه نوع ژنوتیپ RR, RX, XX وجود نداشت ( $P=0.77$ ) (شکل ۴).

### بحث و نتیجه‌گیری

در این تحقیق پلی مورفیسم ژن ACTN3 در ورزشکاران تیم‌های ملی در مقایسه با گروه کنترل با استفاده از روش‌های PCR و RFLP بررسی شد. در نمونه‌های این تحقیق ارتباط معنی‌داری در این زمینه یافت نشد. به نظر می‌رسد تأثیر انفرادی این ژن بر عملکرد ورزشی در ورزشکاران ایرانی، چشمگیر نبوده و عملکرد ورزشکاران ایرانی ناشی از همپوشانی تأثیرات ژن‌های متعدد دیگر و همچنین عوامل دیگری مانند امکانات تمرینی، تغذیه، سطح مربیان و تمرینات، آب و هوا، اقلیم و ارتفاع مناطق مختلف از سطح دریا، درجه حرارت محیط و مواردی از این دست باشد. یکی از مواردی که به‌عنوان نمونه می‌توان از آن یاد کرد، موفقیت ورزشکاران مناطق گوناگون در ورزش‌های مختلف است. برای مثال در ورزش دوچرخه‌سواری، دوچرخه‌سواران مناطق کوهستانی موفقیت‌های بیشتری به‌دست می‌آورند. این قضیه حتی در سطح تیم ملی و

رقابت‌های بین‌المللی نیز به چشم می‌خورد. امکان نتایج بهتر ورزشکاران مناطق کوهستانی در مسابقات ورزشی در سطح بالا، علی‌رغم نوع پلی مورفیسم ژن ACTN3 وجود دارد (۱۵). به‌جز این تحقیق، به‌تازگی تحقیقات مشابهی در ایالات متحده، آلمان و آفریقا نیز انجام گرفته است که در مواردی مشابه تحقیق حاضر است و ارتباط معنی‌دار مورد انتظار در آنها مشاهده نشده است (۱۳-۱۵).

عوامل متعددی در عملکرد ورزشی دخیلند. عوامل ارثی یا همان ساختار ژنتیکی افراد، عوامل محیطی و شاخص‌هایی مثل تغذیه، تمرین و غیره تأثیر گذارند. به‌نظر می‌رسد رسیدن افراد به سطح ورزشکار نخبه از عامل‌های دیگری مثل ارتفاع محیط زندگی از سطح دریا، نوع تمرینات ورزشکار، امکانات در دسترس ورزشکار و ... نیز به اندازه ژنتیک فردی و شاید بیشتر متأثر می‌شود. این ادعا از نتایج تحقیق حاضر و دیگر پژوهش‌هایی که نتوانستند ارتباط معنی‌داری بین ژنتیک یک یا چند ژن خاص و ورزشکار شدن افراد پیدا کنند، دریافت می‌شود. چه بسا که اگر بنا باشد یک یا دو ژن به‌تنهایی بتوانند یک فرد را ورزشکار کنند، باید همه تحقیقات صورت گرفته، ارتباط معنی‌داری بین ورزشکار شدن و نوع ژنتیک فرد بیابند که در عمل چنین اتفاقی نیفتاده است (۱۴، ۱۵).

به‌طور کلی نتایج این تحقیق نشان داد که این پلی مورفیسم که در سال‌های اخیر مورد توجه بسیاری قرار گرفته و گاه به این صورت مطرح شده که با مطالعه آن می‌توان درباره عملکرد ورزشی افراد اظهار نظر کرد، در مورد جمعیت ایرانی از این توانایی برخوردار نبوده و به عبارت دیگر بین ژنوتیپ به‌ارث‌رسیده به یک نفر از این ژن و عملکرد ورزشی وی ارتباطی وجود ندارد. این نتیجه دور از انتظار نیست، تحقیقات نشان داده‌اند که ارتباط بین پلی مورفیسم ژن‌های مختلف در ورزشکاران با گروه کنترل در جوامع و احتمالاً نژادهای مختلف دارای اختلاف‌هایی است. به‌عبارت دیگر در برخی نژادها و در ژنوتیپ برخی ژن‌ها تفاوت معنی‌داری بین گروه ورزشکار و گروه کنترل وجود دارد، در حالی که در کشورها و نژادهای دیگر و در مورد همان ژن‌ها، چنین تفاوتی یافت نشده است و ما هم باید به‌دنبال یافتن ژن‌هایی باشیم که پلی مورفیسم در آنها با عملکرد ورزشی در جمعیت ایرانی ارتباط داشته باشد.

### منابع:

1. Lucía A, Morán M, Zihong H, Ruiz JR. (2010). Elite athletes: are the genes the champions? *Int J Sports Physiol Perform.* 5(1):98-102.
2. Tsianos GI, Evangelou E, Boot A, Zillikens MC, van Meurs JB, Uitterlinden AG, Ioannidis JP, (2010). " Associations of polymorphisms of eight muscle- or

- metabolism-related genes with performance in Mount Olympus marathon runners" *J Appl Physiol.*;108(3):567-74. Epub 2009 Dec 31.
3. Ruiz JR, Arteta D, Buxens A, Artieda M, Gómez-Gallego F, Santiago C, Yvert T, Morán M, Lucia A. (2010). "Can we identify a power-oriented polygenic profile?" *J Appl Physiol. Mar*;108(3):561-6
  4. Eynon N, Alves AJ, Meckel Y, Yamin C, Ayalon M, Sagiv M, Sagiv M. (2009). Is the interaction between HIF1A P582S and ACTN3 R577X determinant for power/sprint performance? *Metabolism.* 548-552
  5. Eynon N, Alves AJ, Yamin C, Sagiv M, Duarte JA, Oliveira J, Ayalon M, Goldhammer E, Sagiv M, Meckel Y. (2009). Is there an ACE ID - ACTN3 R577X polymorphisms interaction that influences sprint performance? *Int J Sports Med.* Dec;30(12):888-91.
  6. Zempo H, Tanabe K, Murakami H, Iemitsu M, Maeda S, Kuno S. (2010). ACTN3 polymorphism affects thigh muscle area. *Int J Sports Med.* Feb;31(2):138-42.
  7. Bustamante-Ara N, Santiago C, Verde Z, Yvert T, Gómez-Gallego F, Rodríguez-Romo G, González-Gil P, Serra-Rexach JA, Ruiz JR, Lucia A, (2010). ACE and ACTN3 Genes and Muscle Phenotypes in Nonagenarians. *Int J Sports Med.* Feb 10.248-253
  8. Beggs AH, Byers TJ, Knoll JH, Boyce FM, Bruns GA, et al, (1992). Cloning and characterization of two human skeletal muscle  $\alpha$ -actinin genes located on chromosomes 1 and 11. *J Biol Chem*; 267:9281–9288.
  9. Mills M, Yang N, Weinberger R, Vander Woude DL et al. (2001). Differential expression of the actin-binding proteins,  $\alpha$ -actinin-2 and -3, in different species: implications for the evolution of functional redundancy. *Hum Mol Gen*; 10:1335–1346.
  10. Squire JM. (1997). Architecture and function in the muscle sarcomere. *Curr Opin Struct Biol.* 7:247–257.
  11. North KN, Yang N, Wattanasirichaigoon D, Mills M, et al, (1999). A common nonsense mutation results in  $\alpha$ -actinin-3 deficiency in the general population. *Nature Genet* 21:353–354.
  12. Yang N, MacArthur DG, Gulbin JP, Hahn AG, Beggs AH et al. (2003). ACTN3 genotype is associated with human elite athletic performance. *Am J Hum Genet* 73:627–631.
  13. Hanson ED, Ludlow AT, Sheaff AK, Park J, Roth SM. (2010). ACTN3 Genotype Does not Influence Muscle Power *Int J Sports Med.* Sep9.658-661
  14. Doring FE, Onur S, Geisen U, Boulay MR, Perusse L, Rankinen T, Rauramaa R, Wolfahrt B, Bouchard C. (2010). ACTN3 R577X and other polymorphisms are



- not associated with elite endurance athlete status in the Genathlete study. J Sports Sci. Sep 14:115-118
15. Nan Yang , Daniel Macarthur et al. (2007). The ACTN3 R577X Polymorphism in East and West African Athletes. Medicine & Science in Sports & Exercise. 154-159
16. Druzhevskaya AM, Ahmetov II, Astratenkova IV, Rogozkin VA. (2008). Association of the ACTN3 R577X polymorphism with power athlete status in Russians. Eur J Appl Physiol. 631-4

Archive of SID