

VILNIAUS UNIVERSITETO MEDICINOS FAKULTETO
FIZIOLOGIJOS, BIOCHEMIJOS IR
LABORATORINĖS MEDICINOS KATEDRA

MAGISTRO DARBAS

GENETINIŲ VEIKSNIŲ, LEMIANČIŲ ŽMOGAUS FIZINĮ PAJĖGUMĄ, ANALIZĖ

Magistrantas AIDAS PRANCULIS _____

(parašas)

Darbo vadovas

Prof. Habil. Dr. Vaidutis Kučinskas _____

(parašas)

VU MF Fiziologijos, biochemijos ir
laboratorinės medicinos katedros vedėja

Prof. Habil. Dr. Zita Aušrelė Kučinskienė leidžiama ginti _____

(parašas)

Darbo įteikimo data _____

Registracijos Nr. _____

Vilnius, 2010

TURINYS

SANTRUMPOS	4
IVADAS.....	5
1. LITERATŪROS APŽVALGA	6
1.1. Genetinių veiksnių įtaka fiziniam pajėgumui	6
1.2. Fizinio pajėgumo fenotipinių rodiklių apžvalga	12
1.3. Genai kandidatai lemiantys žmogaus fizinį pajėgumą.....	16
1.3.1. Renino-angiotenzino sistemos genai kandidatai.....	16
1.3.1.1 Angiotenziną konvertuojančio fermento genas (<i>ACE</i>).....	18
1.3.1.2 Angiotenzinogeno genas (<i>AGT</i>)	19
1.3.1.3 Angiotenzino II receptorių genai (<i>AGTR1</i> ir <i>AGTR2</i>)	20
1.3.2. Raumenų darbą įtakojantys genai.....	21
1.3.2.1 α -aktinino-3 genas (<i>ACTN3</i>)	22
1.3.2.2 Adenozino monofosfato deaminazės genas (<i>AMPDI</i>).....	24
1.3.2.3 Mioglobino genas (<i>MB</i>)	26
2. TIRIAMOJI MEDŽIAGA IR METODAS	27
2.1. Tyrimo objektas	27
2.2. Tyrimo eiga	28
2.3. Polimerazės grandininės reakcijos metodas ir medžiagos	28
2.3.1. PGR medžiagos ir įranga	28
2.3.2. PGR vykdymo metodas	31
2.4. Restrikcijos endonukleazės reakcija	33
2.5. Elektroforezė	34
2.5.1. Elektroforezės medžiagos ir įranga	34
2.5.2. Elektroforezės 2% agarozės gelyje metodas.....	35
2.5.3. Elektroforezės 8% poliakrilamidiniame gelyje metodas	36

2.6. Elektroforezės rezultatų įvertinimas.....	38
2.7. Statistinis duomenų įvertinimas.....	38
3. REZULTATAI.....	40
3.1. <i>AGTR2</i> geno A/C polimorfizmo analizės rezultatai.....	41
3.2. <i>AGTR1</i> geno A/C polimorfizmo analizės rezultatai.....	41
3.3. <i>AGT</i> geno C/T polimorfizmo analizės rezultatai.....	46
3.4. <i>AMPD1</i> geno C/T polimorfizmo analizės rezultatai.....	50
3.5. <i>MB</i> geno A/G polimorfizmo analizės rezultatai.....	53
3.6. <i>ACTN3</i> geno C/T polimorfizmo analizės rezultatai.....	56
4. REZULTATŲ APTARIMAS.....	59
4.1. <i>AGT C/T</i> polimorfizmo analizės rezultatų aptarimas.....	61
4.2. <i>AGTR1 A/C</i> polimorfizmo analizės rezultatų aptarimas.....	62
4.3. <i>ACTN3 C/T</i> polimorfizmo analizės rezultatų aptarimas.....	63
4.4. <i>AMPD1 C/T</i> polimorfizmo analizės rezultatų aptarimas.....	65
4.5. <i>MB A/G</i> polimorfizmo analizės rezultatų aptarimas.....	66
4.6. Darbų testinumas.....	67
IŠVADOS.....	68
SANTRAUKA.....	69
SUMMARY.....	70
LITERATŪROS SĄRAŠAS.....	72

SANTRUMPOS

- ACE**- angiotenziną konvertuojantis fermentas (angl. angiotensin converting enzyme)
- ACTN3**- α -aktinino-3 genas (angl. actinin, alpha 3)
- ADRB2**- adrenerginis β 2 receptorius (angl. beta-2-adrenergic receptor)
- AGT**- angiotenzinogeno genas (angl. angiotensinogen)
- AGTR1**- angiotenzinogeno pirmo tipo receptoriaus genas (angl. angiotensin II receptor, type 1)
- AGTR2**- angiotenzinogeno antro tipo receptoriaus genas (angl. angiotensin II receptor, type 2)
- AMP**- adozinmonofosfatas (angl. adenosine monophosphate)
- AMPD1**- adozino monofosfato deaminazės 1 genas (angl. adenosine monophosphate deaminase 1)
- BRDRB2**- bradikininio β 2 receptoriaus genas (angl. bradykinin β 2 receptor)
- CKK** – cirkuliuojančio kraujo kiekis
- CNS**- centrinė nervų sistema
- DNR**- deoksiribonukleorūgštis
- dNTP**- deoksiribonukleozidtrifosfatai
- Hb** - kraujo hemoglobinas (angl. hemoglobin)
- IMP**- inozinmonofosfatas (angl. inosine monophosphate)
- kDa**- kilodaltonas
- LRS** – lėtos raumenų skaidulos
- MB**- mioglobino genas (angl. myoglobin)
- MDS**- maksimalus deguonies suvartojimas
- MVC**- raumens izometrinė jėga (angl. maximal voluntary contraction)
- NO**-azoto monoksidas
- nt**- nukleotidai
- PAA**- poliakrilamidas
- PD**- pulso dažnis
- PGR**- polimerizacijos grandininė reakcija
- PV**-plaučių ventiliacija
- RAS**- renino- angiotenzino sistema
- ŠKS**- širdies kraujagyslių sistema
- ŠSD**- širdies susitraukimo dažnis
- ST** – sistolinis kraujo tūris
- Tris** – tris(hidroksimetil)aminometanas
- UV**- ultra violetinė šviesa
- VNP**- vieno nukleotido polimorfizmas
- VO_{2max}**- maksimalus deguonies suvartojimas

IVADAS

Nepaprastai didelė genetinė įvairovė lemia kiekvieno žmogaus unikalų fenotipą, t.y. jo gabumus (matematinus, muzikinius, mokslinius, sportinius ir t.t.), elgseną, fiziologines organizmo reakcijas, morfologiją, ligas, psichikos savybes ir t.t. [28]. Žmogaus genomo tyrimo laimėjimai ir viso žmogaus genomo sekvenavimas suteikė galimybę mokslininkams atidžiau pažvelgti į genetinį žmogaus fenotipinių savybių pagrindą. Daugiaveiksmio paveldėjimo koncepcija remiasi tuo, kad daugumą žmogaus fenotipinių savybių gali priklausyti nuo vieno geno ar poligenų bei aplinkos veiksnių. Taigi ieškant genetinio pagrindo, lemiančio tokį sudėtingą fenotipą kaip fizinis pajėgumas, būtina atsižvelgti į daugybę genų, jų variantų bei pastarųjų sąveiką su aplinkos veiksniais. Kiekvienas su fiziniu pajėgumu siejamas genas tik nedidele dalimi įtakoja sportinį potencialą, taigi mokslininkai šiuo metu stengiasi nustatyti pačius stipriausius genus kandidatus. Siekiant suprasti genetinių veiksnių svarbą bendram žmogaus fenotipui, svarbu įvertinti net mažus tam tikro geno sekos ar raiškos pokyčius, kurie gali turėti didelę reikšmę žmogaus genotipo realizacijai fenotipe [56].

Fizinis pajėgumas priklauso nuo individualių žmogaus fizinių ypatybių, kurios yra įgimtos, bei organizmo funkcinių galimybių, kurios priklauso nuo aplinkos veiksnių (mitybos, fizinio aktyvumo, motyvacijos ir kt.) [56]. Pastaraisiais metais, naudojant pažangius molekulinis genetinius tyrimus, jau yra nustatyti daugiau kaip 200 genų kandidatų, kurių nukleotidų sekos pokyčiai gali būti susiję su žmogaus fizinio pajėgumo fenotipais (ištvėrme, greičiu ir jėga) [48; 49]. Dėl genetinių veiksnių, įtakančių žmogaus fizinį pajėgumą gausos, yra nuolat tęsiami moksliniai tyrimai ieškant pačių stipriausių genų kandidatų. Supratimas, kaip vienas ar kitas genas įtakoja fizinį pajėgumą, būtų be galo svarbus treneriams, ugdantiems jaunuosius talentus bei patiems sportininkams, siekiantiems pasirinkti sau tinkamiausią sporto šaką, kurioje jis potencialiai galėtų pasiekti aukščiausių rezultatų. Sporto šakos pasirinkimas bei sportinių rezultatų kėlimas, yra ne vieninteliai veiksniai, skatinantys žmogaus fizinį pajėgumą lemiančių genų paiešką bei tyrimus. Gebėjimas atlikti fizinį darbą arba adaptuotis prie fizinio krūvio kinta senstant ar patologijos metu (pavyzdžiui sergant viena iš mitochondriopatijų), kurios lemia žmogaus nusilpimą, raumenų skausmą ir kitas su fiziniu darbu susijusias problemas. Taigi pažanga genetinių, fizinį pajėgumą lemiančių, veiksnių tyrime ateityje potencialiai galėtų turėti ir terapinį pritaikymą [44].

Net ir esant dideliame genų kandidatų skaičiui fizinio pajėgumo įtakančių veiksnių paieška yra tęsiama, o įvairiapusiški sportininkų organizmo adaptacijos prie fizinio krūvio tyrimai

nuolat plečia ir išryškina naujus dėsningumus. Molekuliniai genetiniai didelio meistriškumo sportininkų tyrimai formuoja naujas idėjas ir perspektyvias hipotezes.

Darbo tikslas:

Parinkti ir įvertinti *AGTR1*, *AGTR2*, *AGT*, *AMPD1*, *MB*, *ACTN3* genų žymenų įtaką žmogaus fiziniam pajėgumui remiantis Lietuvos didelio meistriškumo sportininkų ir kontrolinės grupės analize.

Uždaviniai:

1. Remiantis literatūros ir bioinformacine duomenų bazių analize parinkti *AGTR1*, *AGTR2*, *AGT*, *AMPD1*, *MB*, *ACTN3* genų DNR sekos pokyčius galinčius įtakoti žmogaus sportinį potencialą.
2. Nustačius pasirinktus sekos pokyčius sportininkų ir bendrosios populiacijos grupėse, įvertinti alelių bei genotipų dažnių pasiskirstymo skirtumus tarp šių grupių.
3. Įvertinti asociaciją tarp tirtų genetinių žymenų genotipų ir kiekybinio fenotipinio rodiklio maksimalaus deguonies suvartojimo, skirtingose sporto grupėse (išstvermės, greičio ir jėgos bei komandinių ir dvikovos sporto grupėse) bei skirtingose kvalifikacijos grupėse (elito, sub-elito ir ne-elito sporto grupėse).
4. Remiantis genotipų dažnių pasiskirstymo bei asociacijos tyrimo rezultatais, parinkti žymenis, kuriais naudojantis būtų galima įvertinti asmens genetiškai nulemtą fizinį potencialą tirtoje populiacijoje.

1. LITERATŪROS APŽVALGA

1.1. Genetinių veiksnių įtaka fiziniam pajėgumui

Fizinis pajėgumas – tai žmogaus gebėjimas kuo veiksmingiau atlikti tam tikrą fizinį darbą. Jį apibūdina žmogaus kraujotakos bei kvėpavimo sistemų galingumas, medžiagų apykaitos ir nervų sistemos ypatumai, judamieji įgūdžiai, raumenų jėga ir išstvermė, kūno sandara [20].

Fizinis pajėgumas yra genetiškai nulemtas ir santykinai pastovus, antra vertus jam taip pat būdingas prisitaikymas, t.y. keitimasis ir lavėjimas. Sportinio fizinio pajėgumo pagrindinis tikslas yra naudojant fizinius krūvius maksimaliai išlavinti konkrečiai sporto šakai svarbius

fizinio pajėgumo komponentus. Fiziniai pratimai yra labai stiprus dirgiklis, veikiantis visą organizmo sandarą. Išvystant tam tikrą fizinį pajėgumą vyksta kompleksinė, sisteminė aktyviųjų raumenų, centrinės nervų sistemos, širdies ir kraujagyslių sistemos bei kvėpavimo sistemos reakcija, kurių viena iš pagrindinių paskirčių yra kuo geriau pritaikyti organizmą prie jį veikiančio fizinio krūvio [9;11;21]. Organizmo prisitaikymas prie fizinių krūvių vyksta dvejais tarpusavyje glaudžiai susijusiais etapais. Krūvio metu, norint išlaikyti organizmo vidinės terpės pastovumą, vyksta greiti prisitaikymo pokyčiai, kai naudojant organizmo rezervus, energija ir medžiagomis yra aprūpinami tie organai ir sistemos, kurioms tenka didžiausias krūvis. Ilgalaikis ir daugkartinis organizmo funkcijos padidėjimas (ilgai ir daug kartų veikiant greitos adaptacijos mechanizmams) sąlygoja struktūrinius ir funkcinius pasikeitimus organizme, kurie sudaro ilgalaikio organizmo prisitaikymo fiziniams krūviams pagrindą [32]. Periodiški, vienodo intensyvumo, adekvatūs fiziniai krūviai sąlygoja natūralų organizmo prisitaikymą prie šių dirgiklių. Tuo tarpu labai intensyvios, neadekvačios treniruotės sukelia patologinius kai kurių organų pokyčius (pvz., patologinę širdies hipertrofiją, lūžius dėl nuovargio, koronarinių arterijų ir galvos smegenų kraujagyslių aterosklerozę ir kt.) [59]. Todėl lavinant konkrečiai sporto šakai svarbius fizinio pajėgumo komponentus yra būtina kuo tiksliau įvertinti esamą organų ir sistemų funkcinę būklę bei nustatyti fizines organizmo galimybes. Sporto fiziologai, sporto medicinos specialistai, vertindami sportininkų organų ir sistemų funkcinę būklę, treniruotumą, nustatydami sportininkų fizinį pajėgumą bei rekomenduodami taikytiną fizinio krūvio dydį, šiuo metu naudoja fizinio krūvio funkcinius mėginius, t.y. kompleksinius tyrimus, kurių metu yra analizuojama organizmo reakcija į vienokį ar kitokį dozuotą krūvį [52]. Tačiau pastaruoju metu vis didesnis dėmesys yra skiriamas molekuliniais mechanizmams, reguliuojantiems organizmo veiklą ir atsaką į aplinkos dirgiklius bei genetiniams veiksniams, nulemiantiems organizmo funkcinę būklę ir fizinį pajėgumą [36]. Ypač aktyviai yra tiriama širdies kraujagyslių sistema (ŠKS) bei jos valdymo mechanizmai. Visų funkcijų, dalyvaujančių sportinėje veikloje, iširti neįmanoma. Sportininkų organizmas specifiškai adaptuojasi treniruojantis ir dalyvaujant varžybose, įvairiose rungtyne. Yra žinoma, kad fizinio pajėgumo - požymių pasireiškimas yra daugybės genų veiklos rezultatas. Tai daugiaveiksniai požymiai, kurie pagal fenotipinę išraišką gali būti nenutrūkstami, arba tolydieji (pvz. ūgis ir k.t.), t.y. tolydžiai kintantys, ir nutrūkstami, arba slenkštiški,- turintys tam tikrą fenotipo pasireiškimo slenkstį. Šių požymių pasireiškimas priklauso nuo veiklių poligenų skaičiaus, veikiančių viena (požymio pasireiškimo) kryptimi [28]. Esant nedideliam aktyvuotų, požymių lemiančių genų skaičiui, jis pasireiškia nepilnai, t.y. organizmas turi tik polinkį pilnam to požymio pasireiškimui. Genų raiškos pokyčiai nulemia genotipo realizaciją fenotipe. Ši

procesą labiausiai įtakoja aplinkos veiksniai, t.y. biologiniai (mityba, grynas oras, higieninės gyvenimo sąlygos, judėjimas ir kt.) bei socialiniai (tradicijos, auklėjimas, žmogaus gyvenimo būdo) veiksniai. Žmogaus organizmo požymių bei savybių visuma priklauso ne tik nuo genotipo, bet ir nuo aplinkos veiksnių, o tiksliau šių dviejų veiksnių sąveikos. Šis genų ir aplinkos sąveikos mechanizmas labai puikiai atsispindi sportininkų fiziniame pajėgume.

Į organizmo prisitaikymą prie fizinio krūvio galima žvelgti dvejopai: adaptacija prie vienkartinio krūvio bei ilgalaikė adaptacija. Analizuojant tiek adaptaciją prie vienkartinio krūvio, tiek ilgalaikę adaptaciją, reikia atsiminti, jog nuo tų pačių žmogaus organizmo adaptacinių sugebėjimų priklauso ne tik fizinis pajėgumas (aerobinis darbingumas, greitis ar jėga) tačiau ir bendra žmogaus sveikata (širdies ir kraujagyslių sistemos ligų rizika, sąnarių lankstumas), bendra gyvenimo kokybė vyresniame amžiuje, o kai kurių tyrėjų duomenimis ir gyvenimo trukmė. Pasaulio mokslininkai analizuoja didelį skaičių įvairių genų polimorfizmą, įtakojančių baltymų struktūros ir funkcijos pokyčius, reguliuojančių įvairias organizmo veiklos sritis ir taip lemiančių atskirą arba integruotą fiziologinę organizmo funkciją. Tiriamų genų produktai reguliuoja įvairias organizmo sistemas, tokias kaip deguonies pernaša ir jo panaudojimas raumenyse, funkcinį pajėgumą, raumenų skaidulų susitraukimo greitį [4;36].

Jau žinoma, jog tik reguliarus fizinis krūvis ir rungtyniavimas varžybose galiausiai tiksliai parodo individo gebėjimus vienoje ar kitoje sporto šakoje ar rungtyje, tačiau ar įmanoma iš anksto parinkti geriausiai žmogui tinkamą sporto šaką, ar rungtį, kurioje jis galėtų geriausiai realizuoti savo gebėjimus ir pasiekti aukščiausių rezultatų? Antropometriniai matavimai, fiziologiniai ar psichologiniai testavimai, fizinio krūvio tolerancijos tikrinimai nėra pakankamai informatyvūs, nes šie testavimo metodai tiesiog parodo sportininko esamą fizinę būklę neatsakydami į klausimą, kokie buvo jo fizinių ypatybių didėjimo tempai ir kokios yra galimybės toliau jas gerinti. Šie klausimai yra aktualūs daugumai sportininkų, trenerių, sporto medikų. Jau įrodyta, kad skirtingų raumenų skaidulų tipų santykis skeleto raumenyse, bei nuo jo tiesiogiai priklausantis maksimalusis deguonies suvartojimas (MDS , VO_{2max}) yra didele dalimi genetiškai nulemti [4].

Visai neseniai pasaulio mokslininkai pradėjo nagrinėti genetinių veiksnių įtaką sportininkų fenotipinėms savybėms ir jau dabar bandoma įdiegti genetinius tyrimus sporto praktikoje. Genetinis testavimas šiuolaikinėje medicinoje naudojamas daugelio ligų diagnostikai, tačiau genetiniai tyrimai dar nėra pakankamai įdiegti į sporto praktiką. Rutininis sportininkų genetinis testavimas padėtų ne tik nustatyti kaip vienas ar kitas sportininko genotipas lemia jo pasiekimus, rezultatų lygį ir stabilumą tam tikroje sporto šakoje ar rungtyje, tačiau ir leistų efektyviau, pigiau ir greičiau pasiekti maksimalių rezultatų, nepakenkiant

sportininko sveikatai. Šiuo metu mokslinėje literatūroje sparčiai daugėja publikacijų ir bendros informacijos kiekis apie tam tikrų genų polimorfizmą ryšį su sportininkų fizinių pajėgumą apibūdinančiais fenotipais. Todėl vis labiau artėjama prie galimybės padėti sportininkui pasirinkti jam tinkamiausią sportinės specializacijos sritį, bei parinkti individualias treniruočių programas. Nustačius asmens genotipą bus įmanoma individualizuoti treniruočių, mitybos ir kitus profesionalaus sportininko gyvenimo aspektus taip padedant jam maksimaliai įmanomai siekti rezultatų kartu neperkraunant ir saugant organizmą.

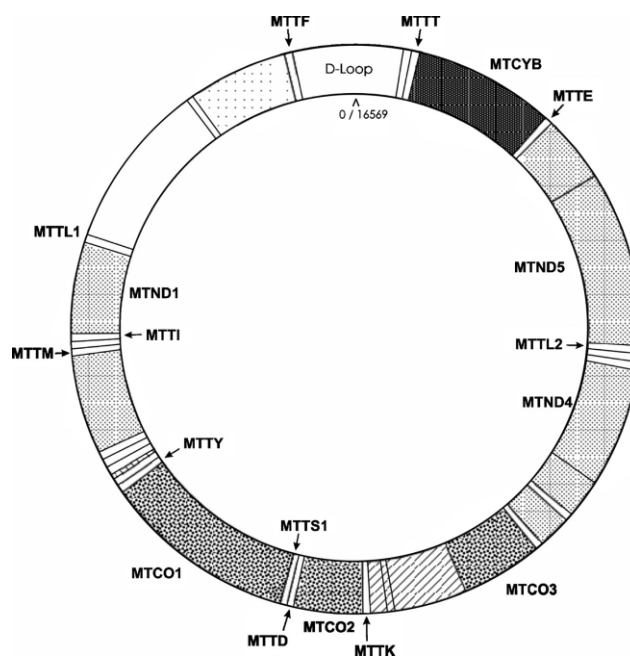
Norint nustatyti genetinių veiksnių įtaką sportininko fiziniam pajėgumui tikslingiausia tirti didelio meistriškumo sportininkus, nes šie sportininkai turi labiausiai išvystytus fizinio pajėgumo rodiklius, kurie įgalina nustatyti jų fizinio pajėgumo fenotipų skirtumus nuo nesportuojančių žmonių.

Genai kandidatai dažnai parenkami atsižvelgiant į fiziniam pajėgumui ypač svarbias organizmo sistemas (raumenų, kraujotakos) ir jas reguliuojančius mechanizmus. Plačiausiai naudojamas metodas geno kandidato patvirtinimui yra asociacijos, dažniausiai atvejo – kontrolės tyrimai. Šie tyrimai yra analitiniai tyrimai, kurių tikslas – nustatyti tam tikrų genų variantų sąsajas su fenotipiniais požymiais lyginant tam tikrą fenotipą turinčius (atvejai) ir to fenotipo neturinčius asmenis (kontrolė). Alelių asociacijos tyrimuose pasirenkama kontrolė tam, kad būtų patikrinta, ar pasirinkta sportininkų grupė skiriasi nuo nesportuojančių asmenų pagal genotipą ir alelių dažnį [14]. Specifinis (polimorfinis) žymuo, dažniausiai gene kandidate, yra tiriamas pagal pratimo atlikimo vidutinio pajėgumo vidurkį grupėse (pavyzdžiui, matuojant MDS) su skirtingais genotipais iš šio polimorfizmo. Kai atrandama statistiškai patikima asociacija, su pajėgumo augimu siejamas alelis gali būti tikras funkcinis variantas arba gali būti nepusiausviroje sankiboje su tikru funkciniu aleliu. Dažnai yra tiriama daug polimorfizmų viename ar keliuose genuose, ar netgi visame genome. Vietoje asociacijos tyrimų su kiekvienu polimorfizmu atskirai, galima analizuoti haplotipus gretimų vieno nukleotido polimorfizmų, kurie yra paveldimi kartu ir tikrinti, ar specifinis haplotipas yra susijęs su padidėjusiu ar sumažėjusiu raumenų galingumu [14].

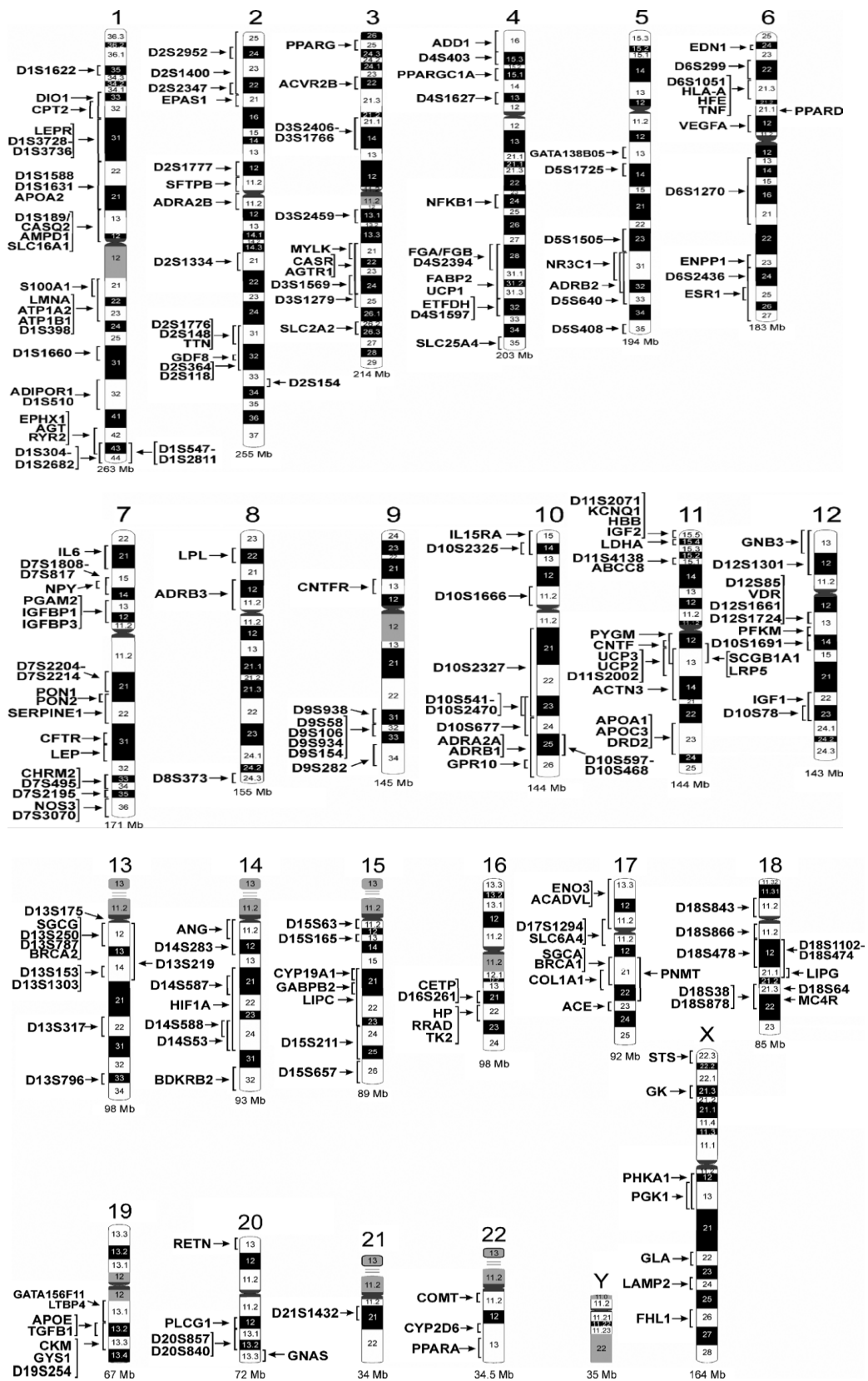
Asociacijos tyrimų metodu galima nustatyti tiriamo geno varianto įtaką dominančiam fenotipiniam rodikliui. Asociacijos tyrimais nustatyta nemažai genų kandidatų, siejamų tiek su gebėjimu greitai atlikti ciklinius fizinius pratimus (sprinto ar įvairiuose šuolių varžybose), tiek ir su sportininko aerobine išsverme (itin reikšminga ilgo nuotolio bėgimo rungtyse, plaukimo ar akademinio irklavimo varžybose). Sparčiai populiarėjant šios krypties tyrimams, nuolat atsiranda informacijos apie naujų genų kandidatų identifikavimą arba jau anksčiau nustatytų genų įtakos fiziniam pajėgumui patvirtinimą. Žinant, kad kiekvienas iš nustatytų genų tik

nedidele dalimi įtakoja sportinį potencialą, intensyviai ieškoma pačių stipriausių genų kandidatų. Iš žmogaus genome esančių maždaug 30 000 genų mažiausiai 240 iš jų buvo bent viename tyrime susieti su kažkuriuo fizinių pajėgumą įtakančiu fenotipu. Žinant žmogaus įvairių organizmo sistemų integralumą bei turint omenyje, kad fizinio pajėgumo fenotipą gali lemti ne vienas genas ar jo variantas, bet ir jų kompleksas, galima manyti, kad netolimoje ateityje bus nustatyta dar daugiau genų, tiek branduolio, tiek mitochondrijų DNR, vienaip ar kitaip įtakančių žmogaus fizinių pajėgumą [49].

Su fiziniu pajėgumu susijusių polimorfinių genų sąrašas yra ganėtinai ilgas, tačiau šiuo metu mokslininkai koncentruojasi ties stipriausiais genais kandidatais: angiotenzinogeno (*AGT*, 1q42-q43), angiotenzino pirmo tipo receptoriaus (*AGTR1*, 3q21-3q25), angiotenziną konvertuojančio fermentu (*ACE*, 17q23), endotelio azoto oksido sintetazės -3 (*NOS3*, 7q36) apolipoproteino E genu (*APOE*, 19q13.2), apolipoproteino A2 geno (*APOA2*, 1q21-q23), lipoproteinlipazės (*LPL*, 8p22), vitamino D receptoriaus (*VDR*, 12.q12-14), interleukino-6 (*IL-6*, 7q21), kreatino kinazės (*CKM*, 19q13.2-q13.3), augimo ir diferenciacijos 8-o veiksnio (*GDF8*, 2q32.2), alfa-aktinino-3 (*ACTN3*, 11q13-q14), citochromoksidazės I subvieneto (*MTCO1*, mtDNR 5904-7445), β citochromo (mtDNR 14747-15887) ir kitais genais (1, 2 pav.) [14;48;49].



1 pav. Mitochondrinės DNR genai, kurių tam tikri aleliniai variantai siejami su žmogaus sveikata ir fizinio pajėgumo fenotipais. [49]



2 pav. Žmogaus fizinio pajėgumo genolapis. [49]

1 ir 2 paveiksluose sužymėti jau nustatyti genai ir jų padėtis branduolio ir mitochondrinėje DNR, kurių tam tikri aleliniai variantai siejami su žmogaus sveikata ir fizinio pajėgumo fenotipais, taip pat pažymėta jų padėtis. Nors šių genų asocijacija su vienu ar kitu fizinio pajėgumo rodikliu buvo patvirtinta mokslininkų tyrimais, tačiau taip pat yra nemažai publikacijų su priešingais duomenimis. Šis platus rezultatų bei nuomonių spektras skatina tęsti minėtų genų tyrimus siekiant patvirtinti ar paneigti jų asociacijas su fenotipiniais, fizinio pajėgumo rodiklių pagalba tiriant skirtingas populiacijas, skirtingų sporto šakų atstovus, skirtingų amžiaus grupių sportininkus, pasirenkant fenotipinius rodiklius bei keičiant kitus tyrimo parametrus ir taip bandant nustatyti tikslų geno kandidato poveikį ar poveikio stiprumą žmogaus fiziniam pajėgumui.

1.2. Fizinio pajėgumo fenotipinių rodiklių apžvalga

Tiriant geno ar to geno polimorfizmo įtaką organizmo fiziniam pajėgumui, yra labai svarbu tinkamai pasirinkti organizmo fenotipinę savybę, kuri apibūdina skirtumus tarp tiriamų organizmo ypatybių. Norint objektyviai apibūdinti žmogaus organizmo fizinį pajėgumą, yra tiriami raumenų sandara ir jų funkcijos (greitai susitraukiančių ir lėtai susitraukiančių raumenų skaidulų santykis, mioglobino kiekis, oksidacinių fermentų kiekis raumenyse ir kt.). Šiuo metu tyrimuose daug dėmesio skiriama deguonies ir energetinių medžiagų pristatymą į dirbančius raumenis apibūdinantiems fenotipiniams rodikliams. Šiuose tyrimuose pasirenkami kvėpavimo apibūdinantys parametrai (maksimalus minutinis palučių tūris) ar kraujotakos parametrai (maksimalus minutinis širdies tūris, kraujagyslių elastingumas, kraujo klampumas ir kt.). Visi aukščiau išvardinti veiksniai labiau ar mažiau įtakoja žmogaus aerobinį pajėgumą, kurį atspindi maksimalus deguonies suvartojimas (MDS) [5]. Lavinant ištvermę ilgo darbo metu svarbus veiksnys yra aerobinis organizmo pajėgumas. Šis procesas susijęs su širdies, kraujotakos ir kvėpavimo sistemų vystymosi dėsniniais.

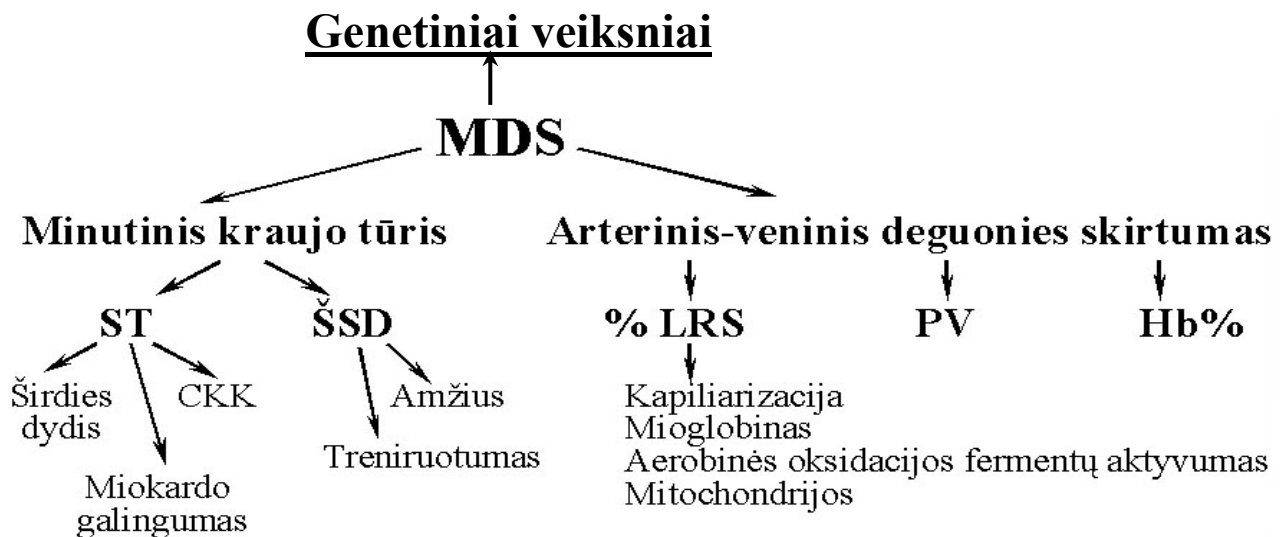
MDS (VO_{2max}) yra vienas iš svarbiausių rodiklių, atspindinčių organizmo aerobinį darbingumą. Šis rodiklis parodo organizmo aerobinių energetinių procesų galingumą ir individo aerobinės energijos eikvojimo maksimalų greitį [5;19]. Jis siejamas su gerais rezultatais ištvermės reikalaujančiose sporto šakose bei atspindi maksimalų organizmo gebėjimą transportuoti ir suvartoti deguonį per tam tikrą laiko tarpą bei gali būti matuojamas litrais per minutę (l/min) arba mililitrais kilogramui kūno svorio per minutę (ml/kg/min). Manoma, kad tokiose rungtyse kaip ilgų nuotolių bėgimas, plento dviračių sportas, akademinis

irklavimas ar kitoks ilgos trukmės fizinis darbas, kur dalyvauja viso kūno raumenys, MDS priklauso nuo greičio, kuriuo deguonis gali būti tiekiamas raumenims, bet ne nuo raumenų gebėjimo įsisavinti deguonį iš kraujo. Aukštos MDS reikšmės, nustatytos tiriant didelio meistriškumo sportininkus, savo ruožtu yra susiję su didelėmis sistolinio kraujo tūrio reikšmėmis, kadangi jų maksimalus širdies susitraukimo dažnis (ŠSD) mažai skiriasi nuo netreniruotų žmonių. Dėl treniruotės poveikio raumenys gali reikalauti mažesnės kraujo apykaitos esant tam pačiam krūvio intensyvumui, kadangi padidėja arterinis-veninis deguonies skirtumas. Dirbant maksimaliu intensyvumu, didesnis minutinis kraujo tūris (dėl padidėjusio kairiojo skilvelio) ir geresnis dirbančių raumenų deguonies pasisavinimas sąlygoja didesnę MDS [12;13].

MDS maksimumą moterys pasiekia 14-18 metų, o vyrai sulaukę 18-20 metų. Brandaus amžiaus ir senėjimo laikotarpiu MDS iš lėto mažėja. Nustatyta, kad tai priklauso nuo žmogaus fizinio aktyvumo: kuo jis didesnis, tuo mažesnis su amžiumi susijęs pokytis [3].

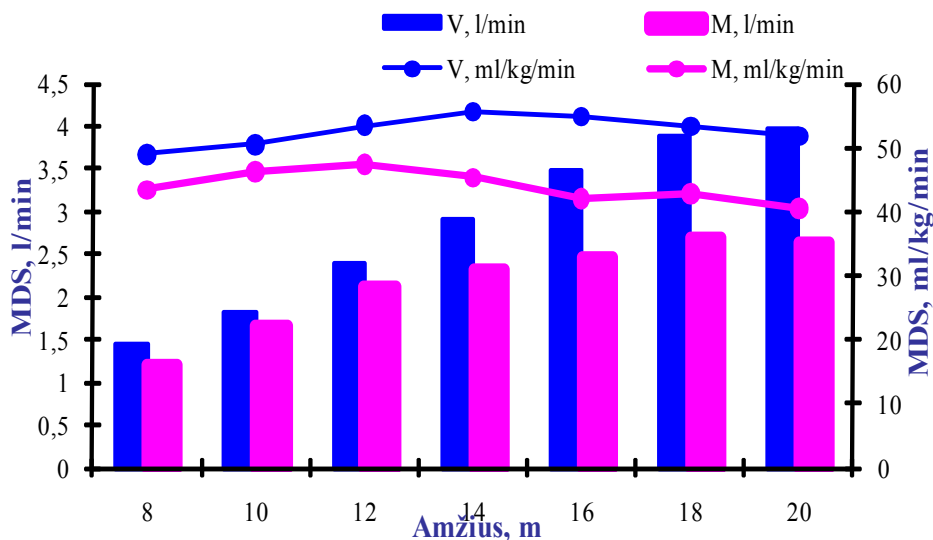
Kiekvieno asmens MDS lygis priklauso nuo jo fizinio išsivystymo, kurį lemia tiek aplinkos, tiek genetiniai veiksniai. Jau pradiniam ištvermę lavinančių jaunų sportininkų atrankos etape reikia ieškoti asmenų, turinčių genetiškai nulemtą kuo didesnę MDS rodiklį. Adaptacija prie fizinio krūvio pagerina raumenų aprūpinimą krauju. Šie pakitimai padeda geriau aprūpinti dirbančius raumenis deguonimi, energetiniais resursais ir pašalinti kenksmingus metabolitus. Kartu adaptacija pagerina kraujo perskirstymą fizinio krūvio metu, todėl raumenų veikla nesumažina kraujotakos vidaus organuose. MDS apsprendžiančius veiksnius iliustruoja žemiau pateikta schema (pav 3).

Pagal Fiko lygtį, deguonies suvartojimas yra lygus minutinio kraujo tūrio ir arterinio veninio deguonies skirtumo sandaugai. Minutinis kraujo tūris (MKT) savo ruožtu priklauso nuo sistolinio kraujo tūrio (ST - širdies išstumiamo kraujo kiekio per vieną sistolę) ir ŠSD. Panašaus amžiaus žmonėms labiausiai MKT nulemia ST, kadangi maksimalusis ŠSD nedaug skiriasi. Dėl ištvermės treniruotės poveikio maksimalusis ŠSD gali šiek tiek sumažėti. Labiausiai maksimalusis ŠSD priklauso nuo amžiaus, t.y. jis su amžiumi mažėja. Arterinis veninis deguonies skirtumas parodo kiek deguonies, esančio arteriniame kraujyje pasiima audiniai, visų pirma, sunkiai dirbantys raumenys. Tai, kiek deguonies perneša arterinis kraujas, lemia plaučių ventiliacija ir deguonies difuzijos į kraują greitis, o taip pat hemoglobino (Hb) kiekis kraujyje. Sveikų žmonių kraujas tiek ramybėje, tiek ir sunkiai dirbant yra maksimaliai prisotintas deguonimi. Esant kvėpavimo sistemos sutrikimams, žemo slėgio sąlygomis, taip pat didelio meistriškumo ištvermės sportininkams sunkaus fizinio krūvio metu, gali sumažėti arterinio kraujo prisotinimas deguonimi, o tuo pačiu ir MDS [66].



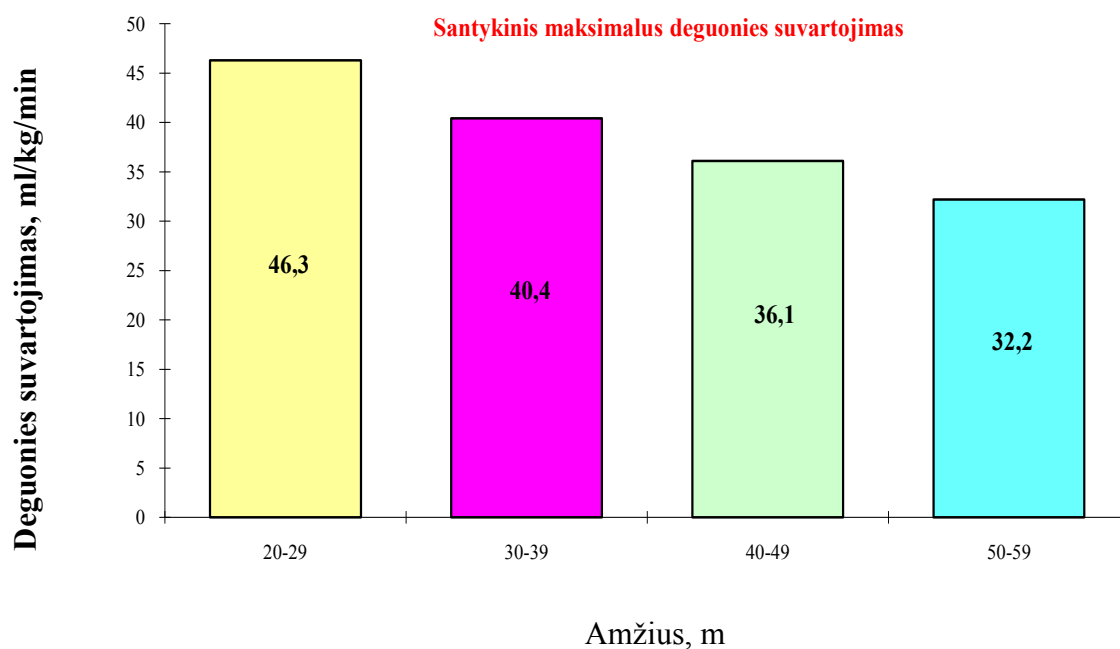
3 pav. Maksimalų deguonies suvartojimą įtakojantys veiksniai. **ŠSD**- širdies susitraukimo dažnis, **ST** – sistolinis kraujo tūris, **%LRS** – lėtųjų raumenų skaidulų procentas, **PV**-plaučių ventiliacija, **Hb** - kraujo hemoglobinas procentas, **CKK**- cirkuliuojančio kraujo kiekis.

Kiek deguonies iš pratekančio kraujo bus suvartota dirbančiuose raumenyse priklauso nuo jų kraujotakos (kapiliarizacijos), o taip pat raumenų kompozicijos, raumenų skaidulose esančio mioglobino, mitochondrijų kiekio ir aerobinės oksidacijos fermentų aktyvumo. Manoma, kad dirbant stambioms raumenų grupėms (bėgant, irkluojant akademine valtimi) MDS tarp to paties amžiaus sportininkų labiausiai priklauso nuo MKT. Pastarąjį, kaip minėta, labiausiai nulemia ST, todėl treniruotų asmenų ŠSD atliekant panašaus galingumo darbą būna mažesnis.



4 pav. Jauno žmogaus MDS kitimas.

MDS rodiklis parodo organizmo aerobinių energetinių procesų galingumą ir yra stipriai genetiškai nulemtas. Jo santykinis dydis (ml/kg/min.) jau 14-16 metų amžiuje pasiekia suaugusių žmonių lygį, todėl gali būti atrankos kriterijumi į aerobinės ištvermės reikalaujančias sporto šakas. Brandaus amžiaus ir senėjimo laikotarpiu MDS iš lėto mažėja. Nustatyta, kad tai priklauso nuo žmogaus fizinio aktyvumo: kuo jis didesnis, tuo mažesnis su amžiumi susijęs pokytis (4;5 pav.).



5 pav. Nesportuojančių asmenų MDS rodiklio kitimas su amžiumi.

MDS paveldėjimas yra daugialypis ir gali būti susijęs su labai skirtingais genais, jų kompleksais ir variantais. Nors daugelio tyrimų duomenys rodo MDS padidėjimą laiko atžvilgiu, optimali treniruotės trukmė ir intensyvumas nėra žinomi, todėl sportininko fizinio potencialo įvertinimas svarbus individualizuotų treniruočių parinkimui [6].

MDS yra labai kintantis dydis ir vyrų nustatomas 40-60% didesnis MDS nei moterų, taigi akivaizdu, kad ir bet kurioje pasirinktoje tiriamųjų grupėje jis bus labai skirtingas ypač dėl lyčių skirtumų. Vidutinis netreniruotų vyrų MDS yra 3,5 l/min. (45ml/kg/min), moterų- 2,0 l/min. (38 ml/kg/min). Dėl ištvermės treniruočių MDS padidėja maždaug 25-50%. Be to, kuo žemesnis treniruotumo pradinis lygis, tuo pastebimas didesnis MDS prieaugis. Viena iš tyrimų nustatyta, kad devynių savaičių ištvermės treniruotė padidino tyrimo dalyvių (sportuojančių, tačiau neprofesionalių sportininkų asmenų grupės) MDS 23%, tačiau didžiausias pokytis (14%) įvyko per pirmas 3 savaites [10]. Daugiamečių treniruočių eigoje

MDS stabilizuojasi, o darbingumas toliau gerėja dėl tokių parametrų kaip darbo ekonomiškas, laktato ir anaerobinio slenksčio pagerėjimas [10]. Pasaulinės klasės išstvermės reikalaujančias šakas kultivuojantiems sportininkams paprastai nustatomas MDS daugiau nei 65 ml/kg/min vyrams (labai retais atvejais virš 85 ml/kg/min) ir daugiau nei 60 ml/kg/min moterims.

2006-2007 metais atliktų asociacijos tyrimų duomenimis, asociacijos buvo rastos tarp *ACE*, *ADBR2*, *AMPD1* ir kitų genų, jų variantų bei MDS [19;47;50]. Asociacijos tyrimų rezultatai rodo šio fenotipinio fizinio pajėgumo rodiklio priklausomybę nuo genetinių veiksnių.

1.3. Genai kandidatai lemiantys žmogaus fizinį pajėgumą

Mutantinių pelių modeliais, dvynių tyrimais, asociacijos bei raiškos tyrimų pagrindu buvo nustatyta daugelis genų kandidatų, kurie yra galimai susiję su žmogaus fiziniu pajėgumu. Genų raiškos analizės požiūriu stipriausi genai kandidatai turėtų būti tie, kurių raiška vyksta griaucių raumenyse. Transgeninių pelių mutančių tyrimai svarbūs identifikuojant genus, kurie reguliuoja dinaminį pokyčius fizinio krūvio metu.

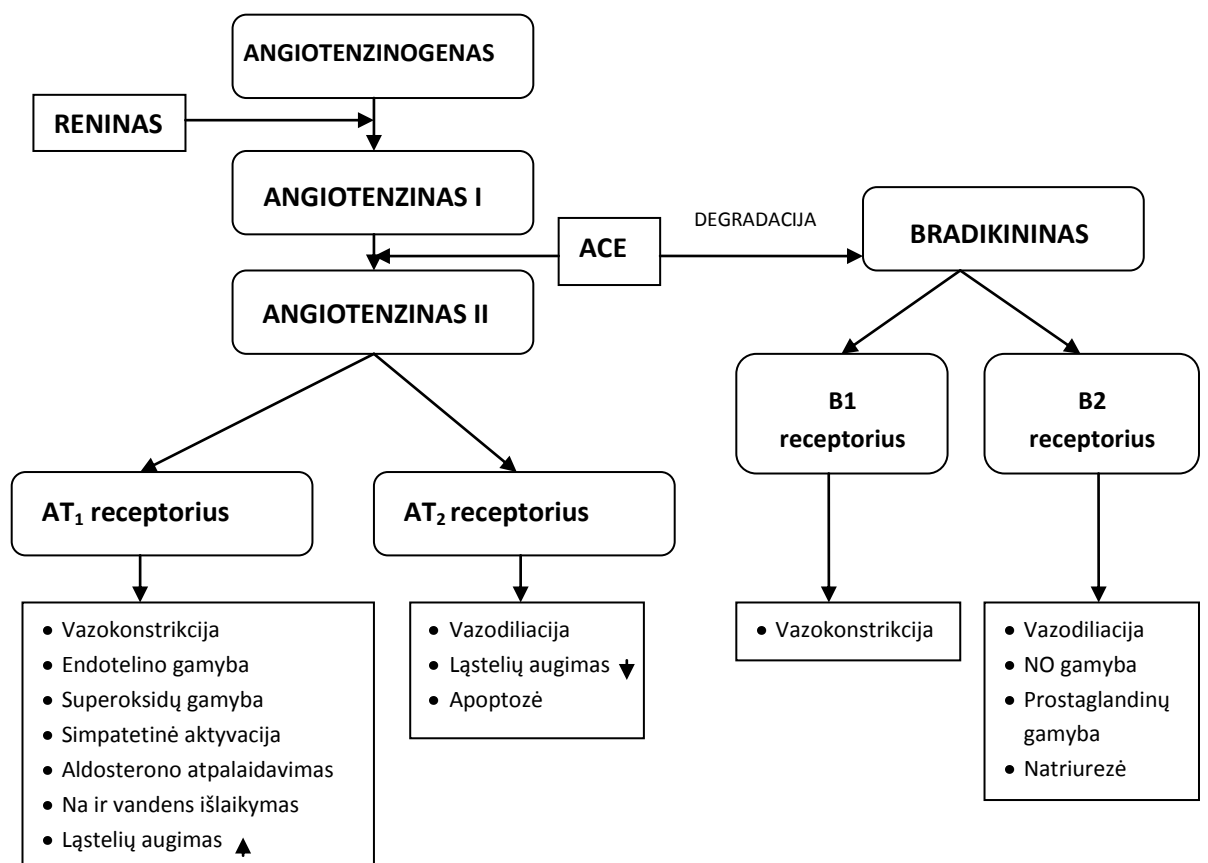
1.3.1. Renino-angiotenzino sistemos genai kandidatai

Svarbiausias vaidmuo kraujo apykaitos reguliacijai organizme tenka renino-angiotenzino sistemai (RAS), kuri reguliuoja kraujo spaudimą, elektrolitų balansą bei viso organizmo energijos pusiausvyrą [23]. RAS įtaka kraujotakai, organizmo aprūpinimui maisto medžiagomis bei deguonimi verčia manyti, kad šios sistemos elementų pokyčiai (dėl juos koduojančių genų polimorfizmų) gali turėti esminės reikšmės organizmo adaptacijai prie fizinio krūvio ir turėti įtakos bendram sportininko fiziniam potencialui. Cirkuliuojanti RAS aktyvuojama kaip kompensacinis ŠKS mechanizmas. Autokrininė RAS dalyvauja homeostazės neurohumoraliniame reguliavime [30]. RAS veikia ŠKS, inkstuose, raumenyse, riebaliniame audinyje, CNS, plaučiuose, lytiniuose organuose.

Tarp RAS genų, koduojančių šios sistemos komponentus, yra angiotenzinogeną koduojantis genas (*AGT*), angiotenzinogeno pirmo tipo receptoriaus genas (*AGTR1*), angiotenzinogeno antro tipo receptoriaus genas (*AGTR2*) bei angiotenziną konvertuojančio fermento genas (*ACE*). Ši sistema taip pat siejasi su bradikinino veikla ir jo $\beta 2$ receptoriaus (*BDKRB2*) geno polimorfizmais (pav. 5). Esant mažam kraujo tūriui inkstai sekretuoja

fermentą reniną, kuris, nutraukdamas peptidinę jungtį tarp leucino ir valino, skaldo kepenų sekretuojamą α -2-globuliną angiotenzinogeną. Nuo angiotenzinogeno (452 amino rūgštys) atskeltas 10 aminorūgščių ilgio fragmentas yra angiotenzinogenas I. Pastarąjį veikia ACE, kuris atskeldamas dar dvi aminorūgštis angiotenziną I verčia angiotenzinu II, kuris veikia kaip autokriniškas, parakriniškas bei intrakriniškas hormonas ir yra svarbiausias veiklusis RAS sistemos vienetas (6 pav.).

Tyrimais nustatyta, kad aukštas kraujo spaudimas ilgai sukelti sukelia kraujagyslių pažeidimą. Šiame tyrėjų naudotame modelyje kraujo spaudimo padidėjimą ir kraujagyslių pažeidimą sukėlė angiotenzinas II – pagrindinis RAS mediatorius. Vėliau mokslininkai atkreipė dėmesį į endotelio ląsteles, jų paburkimą, pažeidimą, proliferaciją, fibrinosankaupą, fibrinoidinę nekrozę ir medijos bei intimos pokyčius, kurie lemia negrįžtamus kraujagyslės pažeidimus [30;68]. Taip pat daug mokslininkų tyrė tiesioginį angiotenzino II poveikį endoteliui. Įrodyta, kad angiotenzinas II didina endotelio pralaidumą, o tai skatina vaskulopatijų vystymąsi. Be to, angiotenzinas II skatina oksidacinį stresą [7].



6 pav. RAS sistemos komponentai, jų sąveika ir funkcijos.

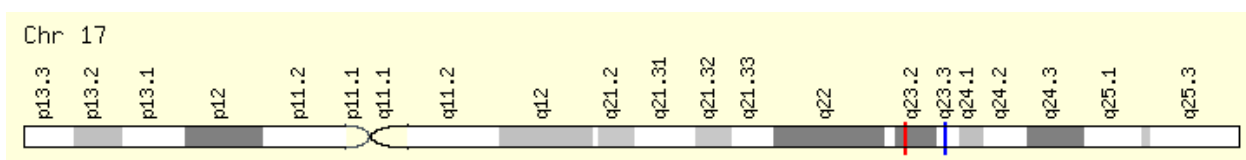
Augimą stimuliuojantį angiotenzino II poveikį nulemia autokrininiai ir parakrininiai veiksniai, tokie kaip trombocitų ir fibroblastų augimo veiksniai, ar net fizinė apkrova (kardiomiocitų atveju). Inkstų ląstelių kultūroje angiotenzinas II stimuliuoja transformuojančio augimo veiksnio raišką. Tačiau in vivo transformuojančio augimo veiksnio raišką taip pat skatina aukštas kraujo spaudimas, nepriklausomai nuo angiotenzino koncentracijos. Angiotenzinas skatina kraujagyslės endotelio augimo faktoriaus ekspresiją širdies endotelio ląstelėse, taip prisidėdamas prie organizmo fizinio tobulėjimo bei gebėjimo adaptuotis prie fizinio streso [25;26].

1.3.1.1 Angiotenziną konvertuojančio fermento genas (*ACE*)

Vienas pirmųjų su fiziniu pajėgumu susietų genų - angiotenziną konvertuojančio fermento genas (*ACE*). Šio geno koduojamas baltymas yra svarbiausias RAS komponentas, atsakingas už stipraus vazokonstriktoriaus angiotenzino II (AngII) susidarymą iš angiotenzino I (pav. 5). *ACE* genas yra 17 chromosomoje (17q22-q24) (pav. 6). *ACE* I/D (angl. insertion/deletion) polimorfizmas priklauso nuo 16-ame introne esančio DNR fragmento, kurio ilgis 287 nukleotidų poros (Alu seka), buvimo arba nebuvimo [15]. *ACE* I/D polimorfizmas jau daugelį metų buvo intensyviai tyrinėjamas medicininėje genetikoje. Tarp *ACE* genotipo ir fermento aktyvumo yra glaudus tarpusavio ryšys. Šis hormonas ne tik reguliuoja hemodinaminę žmogaus būklę, bet veikia ir kaip augimo veiksnys: padidina struktūrinių baltymų sintezę miokardo ląstelėse, taigi padidėjus *ACE* aktyvumui širdies raumuo hipertrofuoja [16]. Atlikus medicininių tyrimų metaanalizę buvo nustatyta, kad D/D genotipas yra susijęs su padidėjusia rizika susirgti širdies - kraujagyslių sistemos ligomis (miokardo infarktu, skilvelio hipertrofija, hipertenzija), lėtine smegenų išemija bei nuo insulino priklausomu ir nepriklausomu cukriniu diabetu [24;39]. Ištyrus *ACE* I/D polimorfizmą sveikų, intensyviai sportuojančių žmonių tarpe bei išnagrinėjus jų organizmo funkcinis bei morfologinius ypatumus, nustatyta šio geno polimorfizmo sąsaja su skirtingu žmonių organizmo prisitaikymu prie ilgalaikių greitumo-jėgos ar ištvermės reikalaujančių fizinių krūvių. Nustatyta, kad *ACE* geno D alelis (D/D genotipas) dažniausiai susijęs su greitumo-jėgos sporto šakoms, o I alelis (I/I genotipas) – dažniausiai su ilgos trukmės darbu [16]. Lietuvos didelio meistriškumo sportininkų tyrimai atskleidė D alelio sąsają su ištverme [15;16]. Atikus keletą tyrimų, didesnis I alelio dažnis buvo pastebėtas didelio meistriškumo ištvermės reikalaujančių sporto šakų atstovuose, tuo tarpu kiti tyrimai parodė ryškia asociaciją tarp *ACE* D alelio ir pasisekimo greičio/jėgos reikalaujančiose sporto šakose [18]. Visgi yra tyrimų

kuriuose nebuvo nustatyta jokios koreliacijos tarp *ACE* I/D polimorfizmo ir fizinio pajėgumo [34].

ACE D alelis nulemia didesnę Ang II kiekį kraujo plazmoje bei įvairiuose audiniuose, išreikštą kraujagyslių vazokonstrikciją, greitesnę raumenų masės augimą. Todėl yra manoma, kad šis alelis yra reikšmingas aktyvuojant fiziologines reakcijas, dalyvaujančias greitame momentinės jėgos išvystyme. Ištyrus I/I genotipo asmenų fiziologinių funkcijų veiklą parodyta, kad šį genotipą turinčių žmonių organizmas pasižymi geresnėmis aerobinėmis galiomis, padidėjusiu riebalų rūgščių kaip energijos šaltinio saugojimu riebaliniame audinyje ir greitesne jų apykaita širdies ir griaučių raumenyse [2]. Tačiau tarp atliktų tyrimų buvo ir tokių, kurie paneigė *ACE* geno sąsajas su sportininkų fiziniu pajėgumu [40]. Taigi nors *ACE* geno I/D polimorfizmo sąsaja su žmogaus fiziniu pajėgumu ir buvo nustatyta, tačiau tikrasis šio geno poveikio mechanizmas vis dar nėra aiškus.

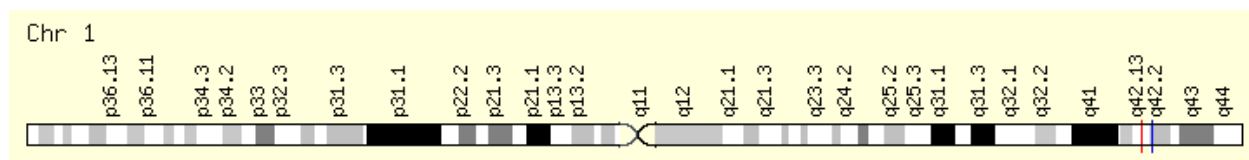


7 pav. *ACE* geno padėtis (17q23.3). (<http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp?gene=ACE>)

1.3.1.2 Angiotenzinogeno genas (*AGT*)

Angiotenzinogenas renino yra verčiamas į angiotenziną I, o pastarasis ACE verčiamas angiotenzinu II, kuris ir atlieka organizmui svarbias funkcijas (5 pav.). *AGT* genas yra 12kb ilgio genas, kurį sudaro penki egzonai ir keturi intronai. *AGT* gene įvykusi c.620C>T (g.9360C>T) pakaitai, įtakoja T207M “missense” polimorfizmą- 207 amino rūgščių pozicijoje esančio triptofano pakeitimą metioninu. Šio geno koduojamas produktas yra 452 amino rūgščių ilgio α -2-globulinas, kurio raiška daugiausiai vyksta kepenyse, iš kur jis atpalaiduojamas į kraujo plazmą. Kraujo plazmoje *AGT* atlieka savo pagrindinę – renino substrato funkciją [23]. Taip pat manoma, jog kraujospūdžio atsistatymas ir organizmo adaptacija prie fizinio krūvio siejasi su *AGT* geno c.803T>C (p.Met268Thr) polimorfizmu [25;50]. Niu ir kt.. (1999) savo tyrime rado sąsają tarp *AGT* M268T ir T207M polimorfizmų ir koronarinės aterosklerozės, taip parodydami *AGT* įtaką kraujospūdžiui ir bendrai asmens sveikatai [42]. 2002 metais L. Kurtland ir kt. tirdami RAS genų polimorfizmus rado stiprų ryšį tarp angiotenzinogeno *AGT* c.620C>T ir c.803T>C polimorfizmų bei *AGTR1* c.*86A>C polimorfizmo ir kairiojo skilvelio

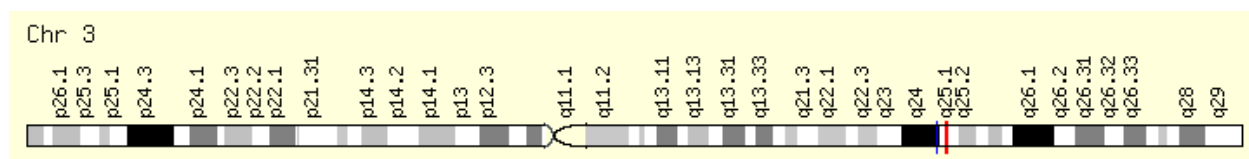
hipertrofijos pokyčio naudojant antihipertenzinius vaistus. *AGT* T207M polimorfizmas yra vienas mažiausiai tirtų RAS sistemos genų polimorfizmų, kurie galėtų būti susiję su fiziniu pajėgumu. Šis genas kandidatas ir C/T polimorfizmas buvo pasirinkti dėl itin mažo tyrimų siejančių šį polimorfizmą su fiziniu pajėgumu kiekio.



8 pav. *AGT* geno padėtis (1q42-q43). (<http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=agt>)

1.3.1.3 Angiotenzino II receptorių genai (*AGTR1* ir *AGTR2*)

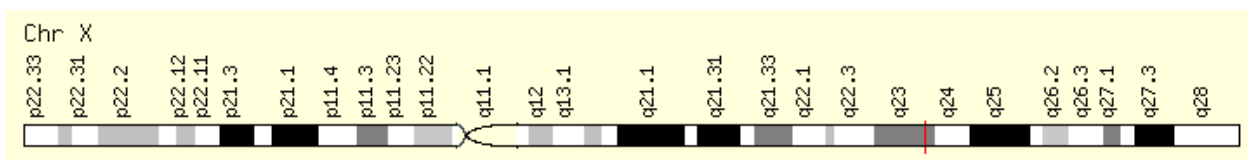
Angiotenzino receptoriai yra su G baltymu susijungę receptoriai, kurių ligandai yra angiotenzinai (daugiausia angiotenzinas II). Dėl dviejų organizme esančių angiotenzino receptorių tipų angiotenzinas II turi labai skirtingas funkcijas priklausomai nuo sąveikos su specifiniu receptoriumi (pav. 5). Angiotenzino II pirmo tipo receptoriaus genas (*AGTR1*) yra 47 kb ilgio, sudarytas iš 5 egzonų. Dėl alternatyvaus *AGTR1* iRNR sukirpimo organizme randamos dvi receptoriaus izoformos. *AGTR1a* formos raiška vyksta kraujagyslėse, smegenyse, inkstuose, plaučiuose. *AGTR1b* daugiausiai randama tam tikrose hipofizės, antinksčių ir inkstų ląstelėse. *AGTR1* geno polimorfizmas c.*86A>C (g.49331A>C) yra 3'NTS – netransliuojamoje srityje, taigi baltymo struktūros nekeičia, tačiau turi įtakos transkripcijai bei iRNR stabilumui [54].



9 pav. *AGTR1* geno padėtis (3q21-q25). (<http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=Agtr1>)

Nustatyta, kad pakitimai 3'NTS gali įtakoti genų raišką per sąveiką su mikro RNR. Vienas tokių tyrimų parodė, kad *AGTR1* A/C polimorfizmo A alelis įtakoja sąveiką su mikro RNR slopindamas geno raišką, tuo tarpu C alelis sąveikos neįtakoja [54]. Taigi *AGTR1* C alelis gali būti siejamas su padidėjusiu kraujospūdžiu bei sumažėjusiu organizmo gebėjimu prisitaikyti prie fizinio krūvio [54]. Dėl šių priežasčių *AGTR1* A/C polimorfizmas yra aktyviai

tyrinėjamas ieškant jo įtakos kraujotakos sistemai bei fiziniam pajėgumui. *AGTR2* genas yra žmogaus X chromosomoje, taigi vyrų organizme yra tik vienas šio geno alelis. *AGTR2* geno c.*501A>C (g.1737458A>C) polimorfizmas, kaip ir tiriamo *AGTR1* geno A/C polimorfizmas, yra 3'NTS – netransliuojamoje srityje, taigi baltymo struktūros nekeičia, tačiau turi įtakos raiškai bei iRNR stabilumui.



10 pav: *AGTR2* geno padėtis (*Xq34*). (<http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=Agtr2>)

Epidemiologiniai duomenys rodo, kad ištvermę lavinantys pratimai mažina susirgimo širdies ir kraujagyslių sistemos ligomis riziką. Delmonico (2005) tyrimo rezultatai parodė – tarp vienodai besitreniravusių tyrimo dalyvių dažnai pastebėti dideli fiziologinio atsako skirtumai. Mokslininkai sutaria, jog šie skirtumai gali būti bent dalinai susiję su genetiniais veiksniais. Šiame tyrime nustatyta, kad kraujospūdis po fizinio krūvio ramybės būsenoje atsistatė greičiau ir labiau sumažėjo *AGT* C ir *AGTR1* C alelius turėjusiuose tyrimo dalyviuose [10]. Yang Huan-Ming ir kt. iš Pekino Genomikos Instituto nustatė reikšmingą ryšį tarp *AGTR1* geno A/C polimorfizmo ir hipoksijos dideliame aukštyje (tirti kalnų gyventojai) atkreipdami dėmesį į RAS sistemos svarbą deguonies panaudojimui organizme [22].

Angiotenzinogeno ir angiotenzino II receptorių poveikis žmogaus organizmui fizinio krūvio metu dar nėra gerai iširtas, tačiau jų sąsajos su kraujagyslių sistemos pokyčiais parodo jų įtaką žmogaus organizmo kraujotakai, o dėl pastarosios svarbos organizmo adaptacijai prie fizinio krūvio, šie genai yra įdomūs tyrimo objektai ieškant jų sąsajos su fiziniu pajėgumu.

1.3.2. Raumenų darbą įtakojuojantys genai

Raumenys yra sudėtingas audinys, atliekantis daug svarbių funkcijų žmogaus organizme. Jie suteikia kūnui formą ir įgalina žmogų judinti kūną erdvėje ar kūno dalis vieną kitos atžvilgiu, raumenys taip pat gamina šilumą bei atlieka apsauginę funkciją. Skiriami skersaruožiai, širdies skersaruožiai bei lygieji raumenys, kurių skirtingos savybės leidžia jiems

atlikti specifines funkcijas. Fizinio darbo metu žmogaus raumenų aparatas yra labiausiai apkraunama organizmo sistema, kurios gera veikla suteikia žmogui galimybę geriau prisitaikyti prie fizinio krūvio keliamo streso ir taip ilgiau, greičiau ir stipriau atlikti fizinį darbą. Raumenys yra pagrindinis žmogaus judėjimo organas leidžiantis atlikti fizinį darbą todėl akivaizdu, jog genai įtakojantys raumenų darbą yra labai stiprūs genai kandidatai ir šių genų variantų veiklos supratimas gali suteikti išvalgos į genetinius veiksnius lemiančius žmogaus fizinį pajėgumą.

1.3.2.1 α -aktinino-3 genas (ACTN3)

Skeleto raumenų skaidulos būna dviejų tipų. Greito tipo (II tipo) skaidulos kaip energijos šaltinį naudoja angliavandenius ir jų veikimui deguonis nereikalingas. Šios skaidulos nevygdo oksidacinio fosforilinimo, todėl jų energijos gamyba visiškai priklausoma nuo glikolitinių fermentų. II tipo skeleto raumenų skaidulose nėra kaupiamas mioglobinas reikalingas deguonies saugojimui. Šios skaidulos veikia kai reikia maksimalios jėgos ir greito veikimo – pavyzdžiui, sprinto rungtyje. Lėtosios skaidulos (I tipo), kuriose vyksta aerobiniai oksidacinio metabolizmo keliai, panaudojamos tuomet, kai reikalinga išvermė – pavyzdžiui, bėgant ilgus nuotolius.

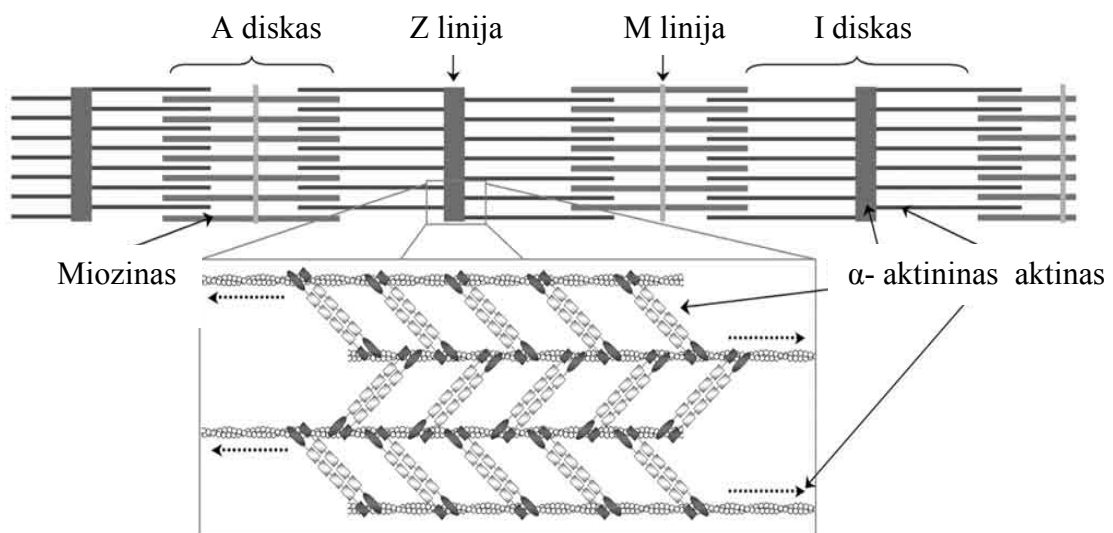
Žinoma, kad griaučių raumenyse egzistuoja dvi baltymo α -aktinino izoformos: α -aktininas-2 (ACTN2) ir α -aktininas-3 (ACTN3). Šios izoformos yra labai homologiškos, tačiau skiriasi jų išsidėstymo vieta raumeninėse skaidulose. Visose raumeninėse skaidulose yra α -aktinino-2, tuo tarpu baltymas α -aktininas-3 aptinkamas tiksliai greitai susitraukiančiose griaučių raumenų skaidulose. Abiejų α -aktininių genų (*ACTN2* ir *ACTN3*) raiška vyksta žmogaus griaučių raumenų ląstelėse. Baltymai ACTN2 ir ACTN3 priklauso pagrindiniams Z linijos komponentams raumenyse, kur jie suriša plonuosius aktino filamentus (11 pav.) [64]. Šie baltymai atlieka statinę funkciją organizuojant plonuosius filamentus ir sąveikaujant tarp sarkomerų citoskeletų ir sarkoplazmos, kartu tvarkingai išdėstant miofibrilių masyvą. α -aktininių izoformos griaučių raumenyse be statinės atlieka ir reguliuojamą funkciją – jos dalyvauja miofibrilių diferenciacijos ir susitraukimo procesuose. α -aktinino-3 deficitas greitai susitraukiančiose griaučių raumeninėse skaidulose gali sumažinti žmogaus darbingumą [38].

Vienas iš daugiausiai tyrinėjamu *ACTN3* geno polimorfizmų siejamų ACTN3 deficitu greitai susitraukiančiose raumenų skaidulose yra *ACTN3* c.1747C>T (p.R577X) pakaita,

kurios metu vietoje arginino atsiradęs baigmės kodonas sutrumpina ACTN3 padarydamas jį neveikliu [41].

Nustatyta, jog labai gerų greitumo jėgos sporto šakų rezultatų pasiekia ACTN3 C/C ir C/T genotipo sportininkai, tuo tarpu T/T genotipo sportininkai, turi ribotas galimybes siekti puikių šių sporto šakų rezultatų. ACTN3 geno genotipų tyrimus jau šiandien galime panaudoti kaip diagnostinį testą ir nustatyti polinkį greitumo ir jėgos reikalaujančiam darbui.

Apie 18 % europiečių šio baltymo apskritai negamina, nes jų alfa-aktinina-3 koduojančio geno ACTN3 abu aleliai yra polimorfiški (T/T genotipo). Nustatyta, kad išstvermės, greičio ir jėgos sportininkams (pavyzdžiui ilgų distancijų bėgikams) šio geno C/C ir C/T genotipai labiau būdingi nei bendrajai populiacijai, o sprinteriams ir kitų sporto šakų atstovams, kuriems reikalinga greita raumenų jėga, geno mutacijos yra retesnės nei nesportuojantiems gyventojams [38].



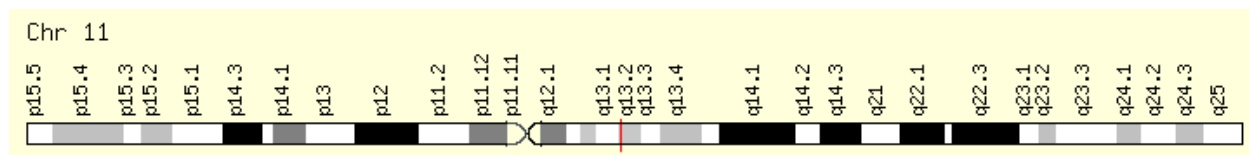
11 pav. Sarkomerinių α -aktininų domenų struktūra ir padėtis [37].

Nan Yang, kartu su raumenų neurologijos tyrimų instituto Sidnėjuje genetikais, atliko tyrimą, kurio tikslas buvo nustatyti ACTN3 įtaką raumenų veiklai. Iš pradžių mokslininkai genetinio modifikavimo būdu sukūrė pelių liniją, kurių raumenyse nebuvo veiklaus ACTN3 geno. Tokių pelių greitosiose skaidulose buvo nustatyta gerokai didesnis kiekis kitų fermentų, susijusių su aerobiniu metabolizmu. Manoma, kad alfa-aktinino-3 trūkumas yra kompensuojamas, t.y. greitosios skaidulos ima veikti panašiai kaip lėtosios. Tokios

transgeninės pelės bėgimo rate galėjo nubėgti maždaug 33% daugiau nei kontrolinės grupės graužikai su aktyviu *ACTN3* genu. Šio tyrimo rezultatai rodo, kad *ACTN3* geno c.1747C>T pakaita siejasi su ištvermės padidėjimu. Minėtoji mokslininkų grupė tirdama vyrus ir moteris dalyvaujančius sprito rungtyse pastebėjo, kad šiose grupėse buvo dažnesnis *ACTN3* C alelis nei kontrolinėje nesportuojančių asmenų grupėje [38]. Nustatyta, kad didelio meistriškumo sportininkės turėjo didesnę nei tikėtasi heterozigotinių genotipų dažnį sprinterių tarpe ir mažesnę nei tikėtasi heterozigotinių genotipų dažnį ištvermės sporto grupėje [22]. Šie tyrėjai taip pat pastebėjo, kad genotipų neretai skyrėsi tarp vyrų ir moterų grupių, bei padarė išvadą, kad *ACTN3* skirtingai įtakoja vyrus ir moteris [8].

Bandant atsekti šio geno evoliucijos istoriją žmonių organizmuose, mokslininkai nustatė 96 žmonių iš Europos, Azijos ir Afrikos DNR segmento, kuriame yra *ACTN3* genas, seką. Buvo nustatyta, kad mutavusio geno dažnumas skirtingose populiacijose skiriasi nuo 10 % afrikiečių iki 50 % europiečių ir azijiečių. K.North ir kiti mokslininkai mano, kad šio geno mutacija šių laikų žmonėms, prieš maždaug 60 tūkst. metų persikėlusiams iš Afrikos į Aziją ir Europą, galėjo teikti evoliucinį pranašumą [22].

Visgi yra tyrimų, kuriuose minėtų sąsajų nenustatyta. Saunders ir kt. (2007), ištyrė 457 „geležinio žmogaus“ triatlono dalyvius, nenustatė jokios sąsajos tarp *ACTN3* genotipų bei ištvermės ar jėgos sportininkų savybių. Tirtų sportininkų genotipavimo pagal „nonsense“ C/T mutaciją rezultatai neparodė statistiškai reikšmingo skirtumo nuo kontrolinės grupės [58].



12 pav. *ACTN3* geno padėtis (11q13.1). (<http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=actn3>)

1.3.2.2. Adenozino monofosfato deaminazės genas (*AMPD1*)

Adenozino monofosfato deaminazė verčia adenozinmonofosfatą (AMP) į inozinmonofosfatą (IMP), atpalaiduodama amoniako molekulę. Ši konversija audiniuose įgalina energijos atsipalaidavimą reikalingą molekuliniais procesams vykti. Skiriamos trys AMPD izoformos, kurios skiriasi savo molekuline mase, imunitinėmis, katalitinėmis bei reguliacinėmis savybėmis ir yra koduojamos skirtingų genų:

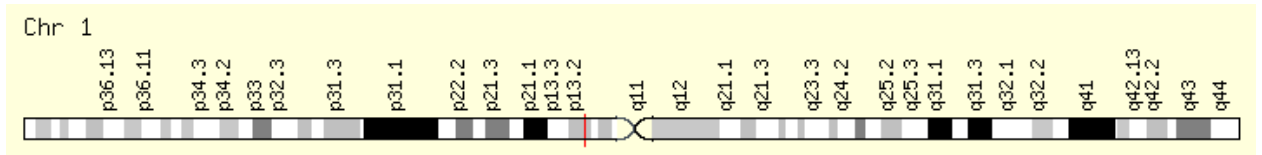
- **M- raumeninė izoforma, koduojantis genas- *AMPD1***
- L- kepeninė izoforma, koduojantis genas- *AMPD2*
- E- eritrocitinė izoforma, koduojantis genas- *AMPD3*

AMPD1 (adenozino monofosfato deaminazės genas) sudarytas iš 16 egzonų, asimetriškai išsidėsčiusių 23 kb žmogaus genomines DNR. Egzonai koduoja adenozino monofosfato deaminazės polipeptido C galo domenų ir sudaro grupes 3' geno galą. *AMPD1* genas yra išsidėstęs 1 chromosomos trumpajame petyje (p13-p21). Keturios labai konservatyvios nukleotidų sekos sritys nustatytos prieš transkripcijos pradžios vietą žmogaus *AMPD* genuose, du iš kurių turi cis-veikainčius elementus, reikalingus skeleto raumenų specifinei raiškai. Vienas elementas (nuo -100 iki -79) veikia kaip stiprintuvas ir turi AT turtingą šerdį, panašiai kaip MEF2 sujungiantis motyvas. Kitas elementas (nuo -60 iki -40) turi skeleto raumenų specifinio promotoriaus elemento savybių. Iš *AMPD1* geno gaminami du 2,5 kb transkriptai dėl alternatyvaus mažo (12 bp) antro egzono sukirpimo. Šis alternatyvus sukirpimas yra nulemiamas 2 einančių viena po kitos reakcijų: egzonų atpažinimo ir nukleocitoplazminio pasidalijimo. Alternatyvus geno sukirpimas turi klinikinę svarbą, kai gaminamas polipeptidas, kuriame sekos pradžia nuo 8 liekanos (-AEEKQ-) pakeista vienintele E ir tai sąlygoja polipeptido ilgio sutrumpėjimą nuo 747 iki 743 aminorūgščių liekanų. Alternatyvios *AMPD1* izoformos rodo skirtingą miozino sujungimo gebą, kuri yra potencialiai svarbi raumenų reguliacinei sąveikai [51].

A. K. Niemi ir kt. (2005) bei A. Lucia ir kt. (2006) tirdami sportininkus nustatė, kad AMPD M izoforma yra aptinkama greitai susitraukiančiose skeleto raumenų skaidulose. Pakaita c.34C>T (g.7120C>T) sukelia nonsense mutaciją, dėl kurios vietoje glutamino atsiranda baigties kodonas (p.Gln12X), kuris stipriai sutrumpina AMPD įtakodamas jo fermentines funkcijas [31]. Retojo alelio dažnis svyruoja nuo 0,10 iki 0,14 skirtingose europiečių populiacijose. *AMPD1* T alelis yra atsakingas už daugelį paveldimų AMPD stokos atvejų. Tyrimai rodo, kad paplitusi metabolinė miopatija yra susijusi su paveldima adenozino monofosfato deaminazės stoka, tačiau tiriant daug didesnę grupę asmenų su panašiu defektu *AMPD1* gene, nebuvo nustatyta daug asmenų, kurie neturėjo simptomų [62].

Kiti tyrimai parodė, kad asmenys su sumažėjusiu AMPD aktyvumu, jaučia silpnumą, greitai nuvargsta, patiria raumenų spazmus net esant mažam arba vidutiniam fiziniam raumenų apkrovimui [49]. AMPD fermento trūkumas skeleto raumenyse yra viena svarbiausių žmogaus fizinio krūvio sukeltų bei metabolinių miopatijų priežasčių. Nustatytos mažiausiai aštuonios yra

asocijuojamas su mažesniu fermento AMPD aktyvumu greitai susitraukiančiose *AMPD1* geno mutacijos sukeliančios adenozino monofosfato deaminazės trukūmą. *AMPD1* T alelis raumenų skaidulose, dėl šios priežasties žmonės fizinio krūvio metu greitai pavargsta, jiems atsiranda raumenų silpnumas ir skausmas, tačiau kiti žmonės, homozigotiniai pagal retąjį *AMPD1* T alelį, nepatiria jokių pokyčių ir neturi pataloginių simptomų.

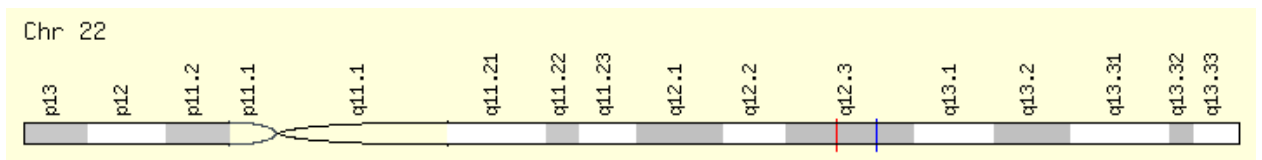


13 pav. *AMPD1* geno padėtis (1p13.2). (<http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=Ampd1>)

1.3.2.3. Mioglobino genas (MB)

Mioglobinas – 16.7 kDa chromoproteinas, sudarytas iš 153 aminorūgščių ilgio polipeptido ir hemo. Mioglobino molekulės viduje yra dvi histidino liekanos, kurios kartu su hemu dalyvauja prijungiant deguonį. Mioglobinas, randamas sarkoplazminiame tinkle ir jo funkcija yra kaupti ir pernešti deguonį skeleto ir širdies raumenyse. Mioglobinas padeda oksihemoglobinui atsipalaiduoti nuo deguonies ir kapiliaruose prisijungęs deguonį neša jį į mitochondrijas ir taip palengvina deguonies įsijungimą į oksidacijos reakcijas [67]. Raumenų darbo metu padidėja deguonies suvartojimas mitochondrijose, tuomet oksihemoglobinas atiduoda pastarosioms savo deguonies atsargas [60]. Mioglobinas chemiškai jautresnis deguoniui už kraujo hemoglobina, o tai garantuoja greitą oksimioglobino susidarymą ir pristatomo su krauju deguonies geresnį panaudojimą audiniuose. Tyrimais nustatytas vieno nukleotido polimorfizmas (VNP) c.174G>A (g.17327G>A) *MB* geno antrame egzone [61,65]. Ši pakaita sukelia sinoniminę mutaciją Ala->Ala, tačiau yra nustatyta, kad ir „tyliosios“ mutacijos dėl kodonų atrankos gali turėti lemiamos įtakos keno sukirpimui bei raiškos kontrolei, dėl atitinkamos tRNR buvimo bei iRNR įgaunamos antrinės struktūros [17;27]. L. G. Moore ir kt. (2002) savo tyrime nustatė kad dideliame aukštyje gyvenantys Tibeto gyventojai palyginus su jūros lygyje gyvenančiais tiriamaisiais turi didesnę *MB* A alelio dažnį. Šie tyrimai rodo mioglobino ir jo c.174G>A polimorfizmo A alelio svarbą organizmo prisitaikymui prie hipoksijos, kuri yra svarbi didelį fizinį krūvį patiriančiam organizmui [37]. Tirdami 106 profesionalius ilgų atstumų bėgikus iš Kinijos Han provincijos bei lygindami jų genotipų

dažnius su bendrosios populiacijos atstovais, J. Wu ir kt. (2005) nenustatė reikšmingų skirtumų tarp sportininkų ir kontrolės grupių, tačiau lygindami etnines grupes nustatė reikšmingus genotipų dažnių skirtumus tarp kinų ir baltaodžių bei juodaodžių populiacijų [69]. Dėl tyrimų baltaodžių populiacijose stokos taip pat dėl galimos šio geno polimorfizmų įtakos raumenų aprūpinimui deguonimi yra svarbu plačiau ištirti geno įtaką sportininkų fiziniam pajėgumui.



14 pav. *MB* geno padėtis (22q11.2-q13). (<http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=MB>)

2. TIRIAMOJI MEDŽIAGA IR METODAS

2.1. Tyrimo objektas

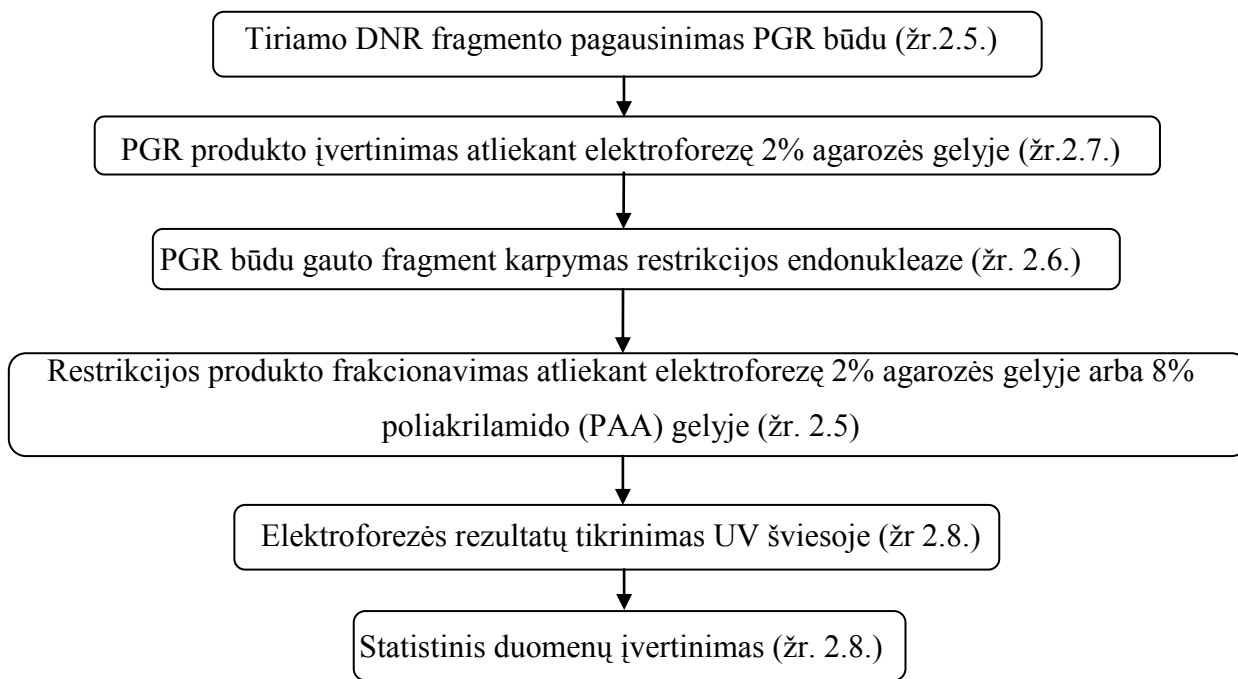
Nuo 2006-ųjų metų Lietuvos olimpinio sporto centro (LOSC) mokslo darbuotojai pradėjo mokslinius sportininkų genetinius ir genomo įvairovės tyrimus. Šie tyrimai atliekami Vilniaus Universiteto Medicinos Fakulteto Žmogaus ir Medicininės Genetikos katedroje (ŽMGK). Šiuo metu DNR mėginių biobazėje surinkti apie 600 sportininkų DNR mėginiai. Iš šios DNR mėginių biobazės buvo atrinkti 149 didelio meistriškumo sportininkų DNR mėginiai ir panaudoti šiame genų asociacijos su fiziniu pajėgumu tyrime. Sportininkai buvo suskirstyti į grupes:

- žaidimų ir dvikovos sporto šakos;
- aerobinės ištvermės bei didelio galingumo reikalaujančios sporto šakos;
- jėgos ir greitumo reikalaujančios sporto šakos.

Sportininkų fenotipiniai tyrimai buvo atliekami Vilniaus sporto medicinos centre bei VPU sporto laboratorijose. Kontrolinę grupę sudarė sveiki, nesportuojantys Lietuvos

populiacijos asmenys (180 vyrų ir 60 moterų). Grupė buvo parinkta iš įvairių Lietuvos etnolingvistinių grupių (DNR mėginiai surinkti VU ŽMGK).

2.2. Tyrimo eiga



15 pav. Tyrimo schema

2.3. Polimerazės grandininės reakcijos metodas ir medžiagos

Polimerizacijos grandininė reakcija yra nukleorūgščių sintezės *in vitro* metodas, kuriuo laboratoriniame mėgintuvėlyje gali būti specifiskai pagausinti (amplifikuoti) atskiri DNR fragmentai. PGR metodas yra labai jautrus, todėl pagausinti pasirinkta DNR atkarpa gali sudaryti netgi vieną milijoninę genominės DNR dalį. Tai reiškia, kad, naudojant PGR, galima amplifikuoti net ir vienintelį pasirinktą geną ar jo fragmentą. Metodas DNR polimerazių aktyvumu didelėje (iki 100°C) temperatūroje.

2.3.1. PGR medžiagos ir įranga

- Laminarinė spinta
- Mėgintuvėlių centrifūga
- Termocikleris „Eppendorf Mastercycler“

- Eppendorf mėgintuvėliai 0,2 μl
- Automatinės pipetės su vienkartiniais antaglais (10 μl, 20μl, 100 μl).
- Vienkartinės pirštinės
- PGR komponentai:
 - Dejonizuotas vanduo
 - Išskirta genomine DNR (100μg/ml)
 - 2 mM kiekvieno dNTP
 - 10×PGR buferis
 - 1,5mM MgCl₂
- Specifiniai PGR pradmenys
- *Taq*-polimerazė

PGR komponentai :

DNR

PGR – labai jautrus metodas, jam pakanka ir 0,1 – 1 μg DNR. Nuo DNR koncentracijos labai priklauso PGR kokybė ir susintetinto produkto išeiga, todėl PGR komponentų kiekiai parenkami pagal turimos DNR koncentraciją. Per didelė DNR koncentracija sąlygoja nespecifinių PGR produktų sintezę. Taigi prieš atliekant PGR reakciją patikrinamas išskirtos DNR švarumas ir koncentracija (100μg/ml) spektrofotometru.

PGR buferis

Standartinio PGR buferio sudėtyje yra KCl, Tris ir MgCl₂. Du pagrindiniai komponentai, sąlygojantys kokybiško PGR produkto gavimą, yra KCl ir MgCl₂ koncentracija. MgCl₂ sudaro tirpius kompleksus su dNTP, kuriuos, kaip substratą, atpažįsta DNR *Taq* polimerazė ir įjungia į sintetinamą DNR grandinę. Per didelė KCl ar MgCl₂ koncentracija inhibuoja *Taq* polimerazės aktyvumą, dėl ko mažėja PGR produkto išeiga ir didėja nespecifinių produktų gavimo tikimybė.

Esant standartinėms PGR sąlygoms, rekomenduojama $MgCl_2$ koncentracija buferyje yra 1.5 mM, kai kiekvieno dNTP koncentracija yra 200 μM ir reakcija vykdoma 25 μl tūryje. Naudojant šiuos dNTP ir buferio komponentų turėtų būti susintetinta apie 6 – 6,5 μg DNR.

Deoksiribonukleozidtrifosfatai (dNTP)

Deoksiribonukleozidtrifosfatai (dNTP) - tai laisvi substratai, kurie, pradedant nuo pradmens laisvojo galo, komplementariu būdu DNR polimerazės jungiami prie DNR grandinės – matricos taip sintetinant naują DNR grandinę. dNTP koncentracija taip pat turi įtakos reakcijos tikslumui. Rekomenduojama kiekvieno iš keturių dNTP (dATP, dCTP, dGTP ir dTTP) koncentracija yra 200 μM , kai $MgCl_2$ koncentracija buferyje yra 1.5 mM ir reakcija vykdoma 25 μl tūryje. Per didelę dNTP koncentracija gali inaktivuoti PGR ir sąlygoti nespecifinio produkto susidarymą.

PGR Pradmenys

Tai trumpi, viengrandžiai, 18-25 nukleotidų ilgio, dirbtinai susintetinti fragmentai. Jų paskirtis yra atpažinti norimo padauginti DNR fragmento pradžios ir pabaigos sekas, bei komplementariai prie jų prisijungti. Pradmenys turi būti nekomplementarūs vienas kitam, negali turėti vidinės antrinės struktūros ir polindrominių sekų. C ir G nukleotidų kiekis pradmenyse turi siekti 40% - 60%. Labai svarbu teisingai parinkti pradmenų prisijungimo prie dauginamo DNR fragmento temperatūrą, kurią apsprendžia nukleotidų lydymosi temperatūra (T_m). Jei pradmenų ilgis yra tarp 12 ir 20 nukleotidų, jų T_m apskaičiuojama pagal Wallace taisyklę:

$T_m = 4(G+C) + 2(A+T)$, kur G, C, A, T yra atitinkami nukleotidų skaičiai pradmenyje.

Pradmenų prisijungimo prie dauginamo DNR fragmento temperatūra turi būti apie 5°C žemesnė nei T_m . Rekomenduojama T_m yra 55°C – 80°C. Be to, būtina atkreipti dėmesį į pradmenų koncentraciją. Pradmens koncentracija svarbi nes per didelę koncentracija gali lemti klaidingą jų prisijungimą ar nespecifinio PGR produkto gavimą. Jei pradmenų koncentracija per maža, mažėja reakcijos produkto išeiga. Šiame darbe buvo apskaičiuojama teorinė T_m ir tuomet gradientinio PGR būdu parenkama tinkamiausia T_m kiekvienai pradmenų porai.

Pradmenys buvo pasirinkti literatūros pagalba arba sukurti pasinaudojant <http://www.ncbi.nlm.nih.gov> „Primer-BLAST“ įrankiu.

DNR Taq polimerazė

DNR *Taq* polimerazė - tai fermentas, atsakingas už naujos DNR grandinės sintezę. Fermentas yra išskirtas iš termofilinių bakterijų (*Thermus aquaticus*), todėl nepraranda aktyvumo aukštesnėje nei 92°C temperatūroje, kuri reikalinga DNR grandinėms vienai nuo kitos atskirti. DNR *Taq* polimerazės optimali veikimo temperatūra – 72°C. Fermentas pasižymi ir dideliu specifiskumu, t.y. nekomplementaraus nukleotido įjungimo tikimybe naujai sintetinamoje DNR grandinėje yra tik 1 iš 9000 nukleotidų. Fermentas yra jautrus pH pokyčiams terpėje. Optimalus pH 8,2-9,0. Keičiantis pH reikšmei į vieną ar į kitą pusę, DNR *Taq* polimerazės aktyvumas mažėja. Rekomenduojama DNR *Taq* polimerazės koncentracija - 2 aktyvumo vienetai, kai reakcijos mišinio tūris yra 25 μl, o kitų reakcijos komponentų koncentracijos yra optimalios. 1 lentelėje nuroditas PGR reakcijos mišinys, kuris buvo ruošiamas darbo metu.

1 lentelė PGR mišinio sudėtis ir kiekiai.

Komponentai	Tūris(μl)
Dejonizuotas vanduo	15
dNTP	2,5
10*PGR buferis	2,5
MgCl ₂	1,5
Pradmuo _A (forwardas)	1
Pradmuo _B (reversas)	1
Taq polimerazė	0,1
Viso	24μl

2.3.2. PGR vykdymo metodas

PGR vykdoma trimis, cikliška besikartojančiais etapais:

1. Denatūracija 94°C – 95°C temperatūroje, kurios metu nutrūksta vandenilinės jungtys tarp azotinių bazių ir DNR grandinės viena nuo kitos atsiskiria;

2. Pradmenų hibridizacija – pradmenų prisijungimas vandenilinėmis jungtimis prie jiems komplementarių dauginamos DNR sričių. Hibridizacija vykdoma 40°C – 60°C temperatūroje, priklausomai nuo amplifikuojamo DNR fragmento ilgio, bazių sudėties ir pradmenų nukleotidų sudėties. Tyrimo metu optimali hibridizacijos temperatūra buvo parenkama praktiškai patikrinus seriją temperatūrų artimų teorinei (apskaičiuotai) hibridizacijos temperatūrai.

3. Naujos DNR grandinės sintezė vyksta 72°C temperatūroje, reakciją katalizuojant fermentui *Taq* DNR polimerazei. Šio proceso metu iš terpės imami laisvi nukleotidai ir komplementariai įjungiami į naujai sintetinamą DNR grandinę.

Optimalus PGR ciklų skaičius yra 25-35 ir priklauso nuo pradinės amplifikuojamos DNR koncentracijos, kai kiti rodikliai yra optimalūs. Šiame darbe daugumai PGR reakcijų buvo naudojama 30 ciklų programa, tik *ACTN3* geno fragmentas buvo gausinamas 35 ciklus (Lentelė 2). Ciklų skaičius yra ribojamas dėl reagentų inaktyvacijos temperatūros poveikyje. Reakcijos pabaigoje iš 50 ng DNR galima gauti 100 ng – 1 mg amplifikuoto specifinio DNR fragmento.

2 lentelė PGR termociklų parametrai.

Ciklas VNP	1		2		3		4		5	
	T (C°)	Laikas (s)	T (C°)	Laikas (s)	T (C°)	Laikas (s)	T (C°)	Laikas (s)	T (C°)	Laikas (s)
<i>AMPD1</i> c.34C>T	95	180	95	30	56	30	72	30	72	420
<i>ACTN3</i> c.1729C>T	95	180	95	30	62	30	72	30	72	420
<i>AGT</i> c.620C>T	95	180	95	30	55	30	72	30	72	420
<i>AGTR2</i> c.*501A>C	95	180	95	30	53	30	72	30	72	420
<i>AGTR1</i> c.*86A>C	95	180	95	30	59	30	72	30	72	420
<i>MB</i> c.174G>A	95	180	95	30	59	30	72	30	72	420

3 lentelė Tiriama polimorfizmai ir pradmenų sekos. (F- forwardas, R- reversas)

Genas	Polimorfizmas	Pradmenys
<i>ACTN3</i>	c.1729C>T	5'-CTGTTGCCTGTGGTAAGTGGG- 3' (F)
		5'-TGGTCACAGTATGCAGGAGGG-3' (R)
<i>AMPD1</i>	c.34C>T	5'-CTTCATACAGCTGAAGAGACA -3' (F)
		5'-GAATCCAGAAAAGCCATGAGC -3' (R)
<i>AGT</i>	c.620C>T	5'- TGGCACCCCTGGCCTCTCTCTATCT-3' (F)
		5'-CAGCCTGCATGAACCTGTCAATCT-3' (R)
<i>AGTR1</i>	c.*86A>C	5'-_AGAAGCCTGCACCATGT TTTGAG-3' (F)
		5'-TAAATCGTTAGAGGAGCAACAGG-3' (R)
<i>AGTR2</i>	c.*501A>C	5'-GGATTCAGATTTCTCTTTGAA-3' (F)
		5'-GCATAGGAGTATGATTTAATC-3' (R)
<i>MB</i>	c.174G>A	5'-TGAAGTCAGAGGACGAGATGAATGC-3' (F)
		5'-GCCCAGGCTCTGCCTCCTACCTCCAG-3' (R)

2.4. Restrikcijos endonukleazės reakcija

Įvertinti DNR polimorfizmo dydį pagal nukleotidus galima keliais būdais: tiesioginiais DNR sekvenavimo metodais nustatant konkrečios genomo dalies nukleotidų sekos įvairovę skirtinguose individuose, ir netiesioginiu pagal DNR restrikcinių fragmentų ilgio polimorfizmą (RFIP).

Išgryninta (ir padauginta) DNR restrikcijos fermentais (dar vadinamomis endonuklezėmis arba DNR restriktazėmis) yra „karpoma“ per fermentų specifiskai atpažįstamas vietas. Parenkamos tokios restriktazės, kurios „kirptų“ vieną geno variantą, tačiau dėl kitokios sekos, nesant tam fermentui reikalingos nukleotidų sekos specifiskumo, „neatpažintų“ ir „nekirptų“ kito geno varianto.

Tokiu būdu gaunamos skirtingo ilgio DNR grandinės yra leidžiamos per elektriniame lauke patalpintą agarozės arba poli akrilamido (PAA) gelį. Skirtingo dydžio DNR fragmentai pasiskirsto tame gelyje pagal savo ilgį (trumpesni fragmentai numirguoja toliau). Tokiu principu įvertinama asmens genotipas to geno polimorfizmo atžvilgiu.

Restrikcijos reakcijos trukmė – 16 valandų, naudojant „Fast“ restriktazes 5 minutės.

4 lentelė Restrikcijos reakcijos komponentai ir jų tūriai.

Komponentas	Tūris (μl)
DNR	5μl
Dejonizuoto vandens	8μl
Buferis	1μl
Restrikcijos endonukleazė	1μl
Viso	15μl

5 lentelėje: Tyrime naudotos restrikcijos endonukleazės, kirpimo vietos bei gaunamų fragmentų dydžiai.

Genas	Polimorfizmas	Restrikcijos fermentas	Kirpimo vieta	Fragmentų dydžiai(bp)	
				Nekirptas	Kirptas
<i>ACTN3</i>	c.1729C>T	DdeI	C↓TNAG	205	108+97
<i>AMPD1</i>	c.34C>T	NspI	CATG↓Y	119	99+20
<i>AGT</i>	c.620C>T	NcoI	C↓CATGG	353	198+155
<i>AGTR1</i>	c.*86A>C	DdeI	C↓TNAG	410	292+118
<i>AGTR2</i>	c.*501A>C	AluI	AG↓CT	323	216+107
<i>MB</i>	c.174G>A	BsaHI	ATGCA↓T	189	163+26

2.5. Elektroforezė

2.5.1. Elektroforezės medžiagos ir įranga

- Horizontalios elektroforezės aparatas
- Mikro bangų krisnelė
- UV transiliuminatorius
- Didelio tikslumo svarstyklės
- Stiklinė kolba (200 ml)
- Mikropipetės (10-100 μl)
- 100ml 2% agarozės gelio:
 - 1xTBE buferis (100ml)
 - Agarozės milteliai (2g)

- Etididžio bromidas (2μl)
- Tikrinamas mišinys:
 - Bromfenolio mėlio ir ksileno cianolio lydymasis dažas (4μl)
 - PGR pagausinta DNR (8μl)
- 100bp arba 50 bp DNR „GeneLader“ standartai

2.5.2. Elektroforezės 2% agarozės gelyje metodas

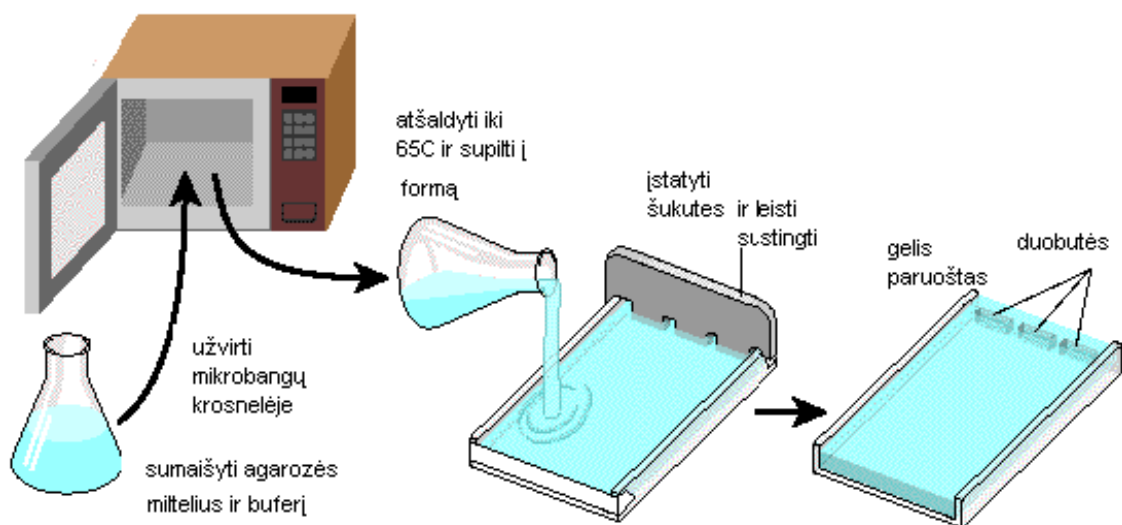
Agarozės gelis yra polisacharidų matriksas, kurį geriausia pasigaminti prieš pat tyrimą. Kuo smulkesni tiriami DNR fragmentai, tuo didesnės koncentracijos gelį kaitindami gaminame ir tuo tankesnę polisacharidų matriksą gauname. Jame dėl elektrinio lauko įtakos link anodo migruojantys DNR fragmentai (DNR fosfato grupės turi stiprų neigiamą krūvį, tad migruoja link anodo) „kliūva“ už polisacharidų molekulių. Fragmentų judėjimo greitis gelyje priklauso nuo jų ilgio: trumpesni fragmentai juda greičiau. Tie DNR fragmentai, kurie nebuvo restriktazių atpažinti dėl unikalios kitokios jų sekos (vieno varianto alelis, vienokia geno forma) ir todėl nebuvo „perkirti“, gelyje link anodo migruos lėčiau ir per nustatytą laiką (paprastai – nuo keliasdešimt minučių iki kelių valandų) nukeliaus trumpesnę atstumą nei DNR fragmentai, kuriuos restriktazės „atpažino“ dėl unikalios jų sekos ir todėl „sukarpė“ (kitoks alelinio geno variantas, kitokia geno forma).

Darbo eiga:

Ruošiamas 2% agarozės gelis:

1. Paruošiama elektrofrezės forma, į vonelę įstatomos šakutės.
2. Pasveriami 2g agarozės gelio ir sudedami į 200ml kolbą.
3. Į kolbą su agarozės milteliais pripilama 100ml 1x TBE buferio.
4. Kolba kaitinama mikrobangų krosnelėje tol, kol tirpalas pasidaro skaidrus ir vientisos konsistencijos. Vėstant, indas su ištirpinta agaroze maišomas atsargiai, kad agarozėje nesusidarytų oro burbulai.
5. Iki 70 – 65°C atvėsintą agarozę pridėti 2μl etidium bromido, kuris yra specifinis DNR dažas ir atsargiai išmaišyti agarozę ir greitai, bet tolygiai supilti į paruoštą elektroforezės vonelę su įstatytais šakutėmis.
6. Gelis paliekamas kambario temperatūroje stingti 30 minučių.

7. Sustingus geliui, atsargiai ištraukti šakutes. Prieš įvedant DNR mėginius į susiformavusius šulinėlius, gelį įstatyti į elektroforezės vonelę, užpildytą 1xTBE buferiu taip, kad šis apsemtų gelį.
8. Į kiekvieną šulinėlį įvedama 12μl PGR produkto ir lydimojo dažo mišinio (8μl DNR mėginio + 4μl dažo).
9. Elektroforezė vykdoma leidžiant elektros srovę per gelį (120V), dėl ko DNR fragmentai juda nuo katodo link teigiamo poliaus - anodo. Fragmentų judėjimo greitis gelyje priklauso nuo jų dydžio: mažesni fragmentai juda greičiau.



16 pav. Agarozės gelio paruošimas

2.5.3. Elektroforezės 8% poliakrilamidiniame gelyje metodas

Darbo eiga:

1. Paruošiama elektroforezės forma (du stačiakampio formos stiklai atskirti 1 mm tarpinėmis). Stiklai įstatomi į stovą ir sandariai išspaudžiami į stovo guminę tarpinę.
2. Ruošiamas 40 ml akrilamido tirpalas 8% poliakrilamidiniam geliui (PAA) gaminti.

6 lentelė Tirpalo sudėtis.

<i>Sudėtis</i>	<i>Kiekiai</i>
Dejonizuotas vanduo	25,28 ml
10x TBE buferis	4 ml
30% akrilamidas	10,56 ml

3. PAA formos užsandarinimui imama 1 ml pagaminto tirpalo, į jį pridedama 5 μ l TEMED ir 10 ml 10% APS (amonio persulfato). Nedelsiant mišinys supipetuojamas ir atsargiai pilamas palei stiklų šonines tarpines. Palaukiama, kol padas susipolimerizuos.
4. Į akrilamido tirpalą įpilama 40 μ l TEMED ir 320 μ l 10% APS.
5. Tirpalas gerai sumaišomas ir atsargiai pilamas į elektroforezės formą.
6. Po keletos minučių įstatomos šukutės takeliams formuoti.
7. Gelis paliekamas polimerizuotis ~ 2 val.
8. Šukutės atsargiai išimamos. Takeliai praplaunami 1x TBE buferiu.
9. Produkto sumaišoma santykiu 5:1 su 3 μ L 6x įvedimo dažo (0,09% bromfenolio mėlio, 0,09% ksileno cianolio FF, 60% glicerolio, 60mM EDTA, "Fermentas") ir įnešami į PAA gelio takelius.
10. Elektroforezės forma su PAA įstatoma į elektroforezės rezervuarą, pripildyta 1x TBE buferiu.

Darbo metu buvo naudojami Mini MP-250 ir УИП-1 maitinimo šaltiniai.



17 pav. omniPAGE maxi elektroforezės vonelė



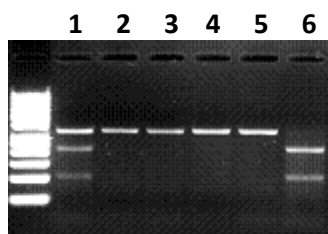
18 pav. Mini MP-250 maitinimo šaltinis

11. Sandariai prispaudžiama viršutinė vonelė ir į ją pripilama 1x TBE buferio.
12. Elektroforezė vykdoma prie 250V įtampos, ~ 1,5 val.
13. Pasibaigus elektroforezei, stiklai atskiriami.
14. PAA gelis atskiriamas nuo stiklo ir dažomas vonelėje su etidžio bromidu tirpalu ~7 min.

2.6. Elektroforezės rezultatų įvertinimas.

Agarozės ar PAA gelyje esantis etidžio bromidas su DNR sudaro UV šviesoje fluorescuojantį kompleksą taigi po DNR fragmentų frakcionavimo agarozės gelyje, gautus rezultatus galime stebėti transiliuminatoriaus pagalba UV šviesoje. 254nm UV spindulius abzorbuoja DNR ir perduoda dažui, 302 ir 366 nm abzorbuoja pats dažas ir išspinduliuoja 590nm ilgio matomo spektro- oranžinės spalvos bagas.

Naudojama speciali kompiuterizuotos UV kamera galinti užfiksuoti fluorescenciją. Jos pagalba yra padaromos UV šviesoje fluorescuojančių DNR fragmentų nuotraukos, kurios saugomos sistemoje.



19 pav. *AGTR2* geno c.*501A>C polimorfizmo galimų genotipų pasiskirstymas agarozės gelyje (po restrikcijos su AluI restrikcijos endonukleaze). *AGTR2* genotipai takeliuose: 1- A/C; 2-5-C/C; 6-A/A.

2.7. Statistinis duomenų įvertinimas

Žymenų pasiskirstymas tiriamojoje populiacijoje nustatomas skaičiuojant alelių dažnius. Iš nustatytų genotipų apskaičiuojamas alelio dažnis. Alelinio geno dažnis (p) tiriamoje grupėje yra lygus dvigubo homozigotų (Hm) pagal šį alelinį geną skaičiaus (homozigota turi du

tuos pačius alelinius genus) ir heterozigotų (Ht) pagal šį alelinį geną skaičiaus sumai, padalintai iš dvigubo asmenų skaičiaus (N).

$$p = 2Hm + Ht / 2N$$

Abiejų alelinių dažnių suma visada lygi 1 ($p+q=1$), todėl: $q = 1-p$

Heterozigotškumą apskaičiuojame pagal: $H = Ht/N$

Genotipų dažniams populiacijoje įvertinti naudojamas Hardžio-Vainbergo dėsnis:

$$p^2 + 2pq + q^2 = 1$$

Teorinis dažnis (kiek imties narių papultų į intervalą, jei imtis idealiai atspindėtų generalinę aibę) gaunamas tikimybę dalinant iš imties tūrio: $p^2/N, 2pq/N, q^2/N$

Nustatytas asmenų, turinčių tam tikrą genotipą, skaičius yra labai artimas teoriškai tikėtinam. Tai įrodyti taikomas χ^2 testas:

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^k (O_i - T_i)^2 / T_i$$

S_i – nustatytas asmenų, turinčių tam tikrą genotipą, skaičius; T_i – teoriškai tikėtinas tokių asmenų skaičius, o k – duomenų grupių (t.y. genotipų) skaičius.

Gautą χ^2 reikšmę vėl reikia įvertinti, t.y. nustatyti jos didumą ir ką ji reiškia. Su šiuo įverčiu yra susijęs dydis, vadinamas laisvės laipsnių skaičius (f): $f = k-1-n$

k – skirtingų duomenų grupių skaičius, n - nepriklausomų parametru, apskaičiuotų iš turimų duomenų, skaičius.

Pagal χ^2 ir laisvės laipsnių skaičių f apskaičiuojamas duomenų statistinio patikimumo matas p .

Lietuvos sportininkų funkcinio pajėgumo MDS rodiklis kiekvienam genotipui buvo lyginamas taikant vienfaktorės dispersinės analizės metodą ANOVA. Skirtumai laikyti statistiškai reikšmingais, kai $p < 0,05$. Tyrimų duomenims apskaičiuoti buvo naudojamas statistinės analizės paketas SPSS 13.0. Vertinant fenotipinį rodiklį (MDS) buvo apskaičiuojamas aritmetinis vidurkis – tam tikro reiškinio vidutinė stebėjimų reikšmė.

Mūsų darbo metu buvo taikoma paprastoji tiesinė regresija, kai du kintamuosius gali sieti tiesinė priklausomybė. Nepriklausomų požymių skaičius gali būti didesnis už vienetą (tirti genotipai). Priklausomo požymio (MDS) vidutinių reikšmių ir nepriklausomų požymių ryšį

nusako regresijos lygtis. Ryšio stiprumą rodo lygties parametrai bei determinacijos koeficientas. Jis taip pat rodo ryšio tarp priklausomo požymio ir visų nepriklausomų požymių, naudojamų regresijos lygtyje, stiprumą. Dažniausiai jis žymimas R^2 - jis kinta nuo nulio iki vienetų: kuo arčiau vienetų, tuo regresijos kreivė geriau atitinka tyrimo duomenis. Pavyzdžiui, jei $R^2 = 0,7$, galima teigti, kad 70 % priklausomo požymio variacijų galima paaiškinti nepriklausomais kintamaisiais.

3. REZULTATAI

Remiantis Ensembl (www.ensembl.org), dbSNP (www.ncbi.nlm.nih.gov), PubMed ir kitomis duomenų bazėmis buvo analizuojama daug genų kandidatų ir pasirinkti penki (7 lentelė). Darbo metu buvo optimizuoti jų tyrimo protokolai. Pasirinkti genai kandidatai ir jų variantai pateikiami 7 lentelėje.

7 lentelė Tiriami genų polimorfizmai.

	Genas	Geno vieta	Geno polimorfizmas	Polimorfizmo kodas	Geno produkto funkcija
RAS sistema	<i>AGTR1</i>	3q21-q25	c.*86A>C	rs5186	Angiotenzino II receptorių: vazokonstrikcija, endotelino gamyba, superoksidų gamyba, aldosterono atpalaidavimas ir k. t.
	<i>AGTR2</i>	Xq34	c.*501A>C	rs11091046	Angiotenzino II receptorių: vazodilacija, ląstelių augimo mažėjimas, apoptozė
	<i>AGT</i>	1q42-q43	c.620C>T	rs4762	Angiotenzino II prekursorius
Raumenų veikla	<i>AMPD1</i>	1p13.2	c.34C>T	rs17602729	AMP deaminimas raumenyse per fizinį krūvį
	<i>MB</i>	22q11.2-q13	c.174G>A	rs7293	Deguonies kaupimas ir transportas raumenyse
	<i>ACTN3</i>	11q13.1	c.1729C>T	rs1815739	Palaiko raumenų skaidulų struktūrą bei dalyvauja miofibrilių diferenciacijos ir susitraukimo procesuose

3.1. *AGTR2* geno A/C polimorfizmo analizės rezultatai

Duomenų bazių bei literatūros šaltinių analizės rezultatai rodo, jog *AGTR2* yra X chromosomos ilgajame petyje, tačiau tiriant Lietuvos didelio meistriškumo sportininkus pagal pasirinktą *AGTR2* geno c.*501A>C polimorfizmą vyrų grupėje apie 30% tiriamų sportininkų elektroforeogramos analizėje parodė neryškų heterozigotinį genotipą. Taip neturėjo būti, nes genui esant X chromosomoje vyrai gali būti tik homozigotiniai. Buvo patikrinta DNR koncentracija ir švarumas, buvo pakartota PGR reakcija su kontrolėmis. Atlikta fragmento analizė agarozės gelyje parodė, kad PGR produkto dydis atitinka dydį fragmento, kurį buvo tikimasi gauti parinkus pradmenis analizuotai sekai. Duomenų bazėse atrasti pseudogenai, tačiau atlikus BLAST analizę homologinės sekos nebuvo rasta. Padaryta išvada, kad netiko restrikcijos endonukleazė, taigi toliau šis polimorfizmas nebuvo nagrinėtas. Artimiausiu metu bus parinkta tinkama restriktažė ir darbas bus tęsiamas.

3.2. *AGTR1* geno A/C polimorfizmo analizės rezultatai

Tyrimė dalyvavo įvairių sporto šakų Lietuvos sportininkai (amžius vidutiniškai – $22,0 \pm 6,3$). Sportininkai buvo suskirstyti į tris grupes pagal fizinio darbo trukmę ir sporto šakos specifiškumą. Darbo metu pagal *AGTR1* polimorfizmą buvo ištirti 149 (112 vyrai ir 37 moterys) Lietuvos sportininkai (sportininkų DNR biobazėje esantys mėginiai) bei 240 (180 vyrai ir 60 moterys) Lietuvos bendrosios populiacijos asmenų (kontrolinė grupė, sudaryta iš populiacinių DNR mėginių). Atlikus sportininkų genotipavimą pagal *AGTR1* A/C polimorfizmą ir suskirsčius juos į grupes pagal sporto šaką bei kvalifikaciją, buvo suskaičiuoti alelių bei genotipų pasiskirstymo dažniai, kurie pateikiami 8 lentelėje (sportininkai pagal sporto grupes) ir 9 lentelėje (sportininkai pagal kvalifikaciją).

Naudojantis Hardžio ir Vainbergo dėsnium, darbe statistiškai įvertinti genotipų dažniai tiriamosiose grupėse. Tyrimo rezultatai rodo, kad genotipų pasiskirstymas tiriamųjų sportininkų grupėje atitiko Hardžio ir Vainbergo (H-V) dėsnį ($p \geq 0,05$).

8 lentelė: *AGTRI* geno alelių ir genotipų dažniai sporto grupėse pagal sporto šakas.

Sporto šakų grupė		N	Alelių dažniai %		<i>AGTRI</i> geno A/C polimorfizmo genotipų dažniai %						χ^2	p vertė
			[A]	[C]	[A][A]		[A][C]		[C][C]			
					E	T	E	T	E	T		
I grupė	Viso	77	70,8	29,2	50,6	50,1	40,3	41,4	9,1	8,5	0,05	0,82
	V	58	70,7	29,3	51,72	49,97	37,93	41,44	10,34	8,59	0,42	0,52
	M	19	71,1	28,9	47,37	50,47	47,37	41,16	5,26	8,37	0,44	0,51
II grupė	Viso	30	66,7	33,3	40,00	44,45	53,33	44,45	6,67	11,10	1,2	0,27
	V	25	64,0	36,0	36,00	40,96	56,00	46,08	8,00	12,96	1,16	0,28
	M	5	80	20	60,00	64,00	40,00	32,00	0,00	4,00	0,31	0,58
III grupė	Viso	42	72,6	27,4	59,52	52,74	26,19	39,76	14,29	7,50	4,9	0,03
	V	29	69,0	31,0	55,17	47,57	27,59	42,81	17,24	9,62	3,67	0,06
	M	13	80,8	19,2	69,23	65,23	23,08	31,08	7,69	3,69	0,86	0,35
Viso sportininkų	Viso	149	70,5	29,5	51,01	49,66	38,93	41,62	10,07	8,72	0,62	0,43
	V	112	68,8	31,2	49,11	47,26	39,29	42,97	11,61	9,77	0,82	0,37
	M	37	75,7	24,3	56,76	57,27	37,84	36,81	5,41	5,92	0,03	0,86
Lietuvių populiacija (kontrolė)	Viso	240	72,3	27,7	55,00	52,26	34,58	40,06	10,42	7,68	4,49	0,03
	V	180	74,2	25,8	56,11	55,01	36,11	38,32	7,78	6,67	0,6	0,44
	M	60	66,7	33,3	51,67	44,44	30,00	44,44	18,33	11,11	6,34	0,01

I grupė – ištvermės sporto šakų atstovai; **II grupė** – jėgos ir greitumo sportininkai; **III grupė** – žaidimų ir dvikovos sportininkai; **E** – eksperimentiniai duomenys; **T** – teoriškai tikėtini duomenys (skaičiuojami, remiantis Hardžio-Vainbergo dėsnium, χ^2 ir **p**), **V**- vyrų grupė, **M**- moterų grupė.

Tačiau pastebėta, kad žaidėjų bei dvikovos sportininkų grupėje *AGTRI* polimorfizmo genotipų pasiskirstymas nukrypsta nuo H-V dėsnio ($p \leq 0,05$). Nustatyta, kad genotipų pasiskirstymas kontrolinėje grupėje taip pat nukrypsta nuo H-V dėsnio ($p \leq 0,05$)

Lyginant alelių pasiskirstymo dažnius nustatyta, kad sportininkų tarpe *AGTRI* A alelis buvo dažnesnis palyginus su C alelio dažniu (A-70,5%, C-29,5%). *AGTRI* A/C polimorfizmo alelių dažnių pasiskirstymas sportininkų grupėje reikšmingai nesiskyrė nuo kontrolinės grupės (A-72,3%, C-27,7%). *AGTRI* C alelio dažnis (33,3%) buvo dažnesnis greičio ir jėgos grupėje palyginus su kitomis sporto grupėmis ir su kontrole ($p \geq 0,05$). Reikšmingų alelių dažnių pasiskirstymo skirtumų nenustatyta nei tarp sporto grupių, nei tarp vyrų ir moterų grupių.

Atlikus *AGTRI* genotipų dažnių pasiskirstymo analizę, buvo nustatyta, kad bendroje sportininkų grupėje dažniausiai nustatomas A/A homozigotinis genotipas 51,01%, A/C genotipas sudarė 38,93%, o C/C genotipas 10,07%. Šie dažniai reikšmingai nesiskyrė nuo bendros populiacijos genotipų dažnių (A/A-55%; A/C-40%, C/C-7,68%). Palyginus genotipų dažnių pasiskirstymus tarp kontrolinės bei greičio ir jėgos grupės, buvo rasti reikšmingi skirtumai ($p=0,04$): sportininkų greičio ir jėgos grupėje A/C genotipas (55,3%) buvo dažnesnis už A/A (40,00%) ir C/C (6,67 %) genotipai. Greičio ir jėgos grupėje taip pat nustatytas reikšmingas *AGTRI* genotipų dažnių skirtumas tarp vyrų ir moterų grupių ($p=0,0002$) (8 lentelė). Lyginant genotipų dažnius tarp vyrų ir moterų kitose sporto grupėse, taip pat bendroje sportininkų grupėje bei kontrolinėje grupėje, reikšmingų skirtumų nepastebėta. Greičio ir jėgos grupės vyrų genotipų dažniai reikšmingai skyrėsi nuo ištvermės grupės vyrų (I grupė) ($p=0,04$), kurioje *AGTRI* C alelis buvo retesnis. Nustatyta, kad *AGTRI* polimorfizmo genotipų dažniai greičio ir jėgos sportininkų vyrų grupėje reikšmingai skyrėsi nuo komandinių ir dvikovų sporto šakų grupės vyrų genotipų dažnių ($p=0,0003$). Palyginus kontrolinės grupės vyrų genotipų dažnių pasiskirstymą su greičio ir jėgos grupės vyrų genotipų dažnių pasiskirstymu, nustatytas reikšmingas skirtumas ($p=0,01$) (8 lentelė).

Sportininkai pagal kvalifikaciją buvo suskirstyti į tris grupes: elito (40 sportininkai), sub-elito (49 sportininku) ir ne-elito (60 sportininkų). Palyginus alelių dažnių pasiskirstymą tarp kvalifikacijos grupių ir kontrolinės grupės, reikšmingų skirtumų nepastebėta (9 lentelė). Atlikus alelių dažnių pasiskirstymo analizę nustatyta, kad reikšmingai skiriasi alelių dažniai tarp sub-elito grupės (A-81,6%, C-18,4%) ir ne-elito grupės (A-64,2%, C- 35,8%) ($p=0,004$). *AGTRI* geno alelių ir genotipų dažniai sporto grupėse pagal sportininkų kvalifikaciją pateikiami 9 lentelėje.

Reikšmingas alelių dažnių skirtumas nustatytas tarp elito ir sub-elito grupių ($p < 0,01$). Tarp elito ir ne-elito grupių reikšmingų alelių pasiskirstymo dažnių skirtumo nenustatyta. Skirtumo tarp lyčių grupėse nepastebėta. Reikšmingas alelių dažnių skirtumas pastebėtas ir tarp sub-elito ir ne-elito grupių ($p=0,0009$) (atitinkamai 81,6% ir 64,2%). Grupių viduje reikšmingų genotipų dažnių pasiskirstymo skirtumų tarp vyrų ir moterų nenustatyta, o

lyginant tarp grupių, dažnių skirtumai tarp vyrų ir moterų buvo artimi bendriems grupių dažnių pasiskirstymo skirtumams. Ir vyrų, ir moterų genotipų dažniai sub-elito grupėje reikšmingai skyrėsi nuo elito ir ne-elito grupių, tačiau pastarųjų genotipų pasiskirstymo dažniai tarpusavyje reikšmingai nesiskyrė (9 lentelė).

Atlikus genotipų dažnių pasiskirstymo analizę, reikšmingų genotipų dažnių pasiskirstymo tarp kvalifikacijos grupių ir kontrolinės grupės nenustatyta, tačiau reikšmingi skirtumai nustatyti tarp kvalifikacijos grupių. Elito grupės genotipų dažnių pasiskirstymas reikšmingai skyrėsi nuo sub-elito grupės ($p=0,004$), nes pastarojoje nustatytas didesnis A alelio dažnis (atitinkamai 66,3% ir 81,6%), taigi ir didesnis nei kitose grupėse ar kontrolinėje grupėje *AGTRI* A/A genotipo dažnis.

9 lentelė *AGTRI* geno alelių ir genotipų dažniai sporto grupėse pagal sportininkų kvalifikaciją.

Sporto šakų grupė	N	Alelių dažniai		<i>AGTRI</i> geno A/C polimorfizmo						χ^2	p vertė	
		%		genotipų dažniai %								
		[A]	[C]	[A][A]		[A][C]		[C][C]				
				E	T	E	T	E	T			
Elitas	Viso	40	66,3	33,7	45,00	43,89	42,50	44,71	12,50	11,40	0,1	0,75
	V	32	76,1	23,9	43,75	43,06	43,75	45,13	12,50	11,81	0,03	0,86
	M	8	68,8	31,3	50,00	47,25	37,50	43,00	12,50	9,75	0,13	0,72
Sub-elitas	Viso	49	81,6	18,4	67,35	66,65	28,57	29,99	4,08	3,37	0,11	0,74
	V	28	82,1	17,9	67,86	67,49	28,57	29,33	3,57	3,18	0,02	0,65
	M	21	81,0	19,0	66,67	65,52	28,57	30,86	4,76	3,62	0,11	0,74
Ne-elitas	Viso	60	64,2	35,8	41,67	41,17	45,00	45,99	13,33	12,84	0,03	0,86
	V	52	63,5	36,5	42,31	40,27	42,31	46,38	15,38	13,35	0,4	0,53
	M	8	68,8	31,2	37,50	47,25	62,50	43,00	0,00	9,75	1,65	0,20

E – eksperimentiniai duomenys; T – teoriškai tikėtini duomenys (skaičiuojami, remiantis Hardžio-Vainbergo dėsniumi, χ^2 ir p), V- vyrų grupė, M- moterų grupė.

Atlikus statistinę ANOVA analizę reikšmingų skirtumų, lyginant MDS rodiklius tarp lyčių bei sporto grupių, reikšmingų skirtumų nepastebėta, tačiau bendroje sportininkų grupėje vyrų MDS buvo didesnis nei moterų (atitinkamai $56,1 \pm 10$ ir $54,1 \pm 11,8$ ml/min/kg). Palyginus MDS rodiklio vertes tarp grupių buvo nustatyta, kad didžiausias MDS buvo I grupėje ($58,8 \pm 10,25$ ml/min/kg), tuo tarpu II ir III grupėse nustatyti MDS vidurkiai buvo atitinkamai $52,3 \pm 10,8$ ir $51,7 \pm 8,7$ ml/min/kg. Didžiausias MDS buvo nustatytas *AGTR1* A/A genotipą turintiems sportininkams ($57,4 \pm 10,4$ ml/min/kg), o A/C ir C/C genotipo sportininkams nustatyti atitinkamai $54 \pm 11,1$ ml/min/kg ir $48,4 \pm 6,8$ ml/min/kg MDS rodikliai (10 lentelė). *AGTR1* A/A genotipo vyrai turėjo aukštesnį MDS nei moterys, tačiau tarp A/C genotipo vyrų ir moterų reikšmingų MDS skirtumų nepastebėta, o *AGTR1* C/C genotipo moterų MDS buvo vidutiniškai 11,9% didesnis nei to paties genotipo vyrų. I grupėje C/C genotipo sportininkų MDS buvo didesnis ($61,4 \pm 8$ ml/min/kg) palyginus su II ir III grupių C/C genotipo sportininkais (II grupė- $41 \pm 2,1$ ml/min/kg; III grupė- $44,1 \pm 2,5$ ml/min/kg).

MDS elito grupėje ($59,5 \pm 10,1$ ml/min/kg) buvo didesnis palyginus su kitomis grupėmis: sub-elito grupės sportininkų MDS buvo $55,3 \pm 10,4$ ml/min/kg, tuo tarpu ne-elito grupės sportininkų $53,3 \pm 10,2$ ml/min/kg.

10 lentelė MDS rodiklio vertės priklausomai nuo *AGTR1* geno genotipų ir sportininkų grupių.

Genas	Genotipas	Sporto grupė	MDS (ml/min/kg)		Sporto grupė	MDS (ml/min/kg)	
			Vidurkis	Standartinis nuokrypis		Vidurkis	Standartinis nuokrypis
<i>AGTR1</i>	A/A	I grupė	57,5	9,8	Elitas	57,5	10,5
		II grupė	56,3	10,5	Sub-elitas	57,6	10,7
		III grupė	57,9	11,7	Ne-elitas	57,1	10,6
	A/C	I grupė	53,6	8,8	Elitas	56,4	10,2
		II grupė	54,3	14,3	Sub-elitas	56,4	12,1
		III grupė	54,7	12,7	Ne-elitas	51,3	10,8
	C/C	I grupė	49,6	7,7	Elitas	45,2	7,5
		II grupė	47,8	6,8	Sub-elitas	51,5	1,6
		III grupė	47,3	6,8	Ne-elitas	49,7	6,9

I grupė- Ištvermės, **II grupė**- greičio ir jėgos, **III grupė**- žaidimų ir dvikovos sportininkai

Nustačius reikšmingus MDS skirtumus tarp genotipų, buvo atlikta pseudokintamųjų regresijos analizė. Buvo rasti reikšmingi skirtumai tarp MDS rodiklių, nustatytų A/A ir C/C genotipo sportininkams ($p=0,003$). Statistiškai įvertinus regresijos patikimumą, buvo gautas

itin aukštas įvertis ($p=0,006$). Įvertinus bendrą *AGTRI* genotipų įtaką tirtam fenotipui, regresijos analizės metu buvo nustatytas aukštas ryšio įvertis ($r^2=0,055$), parodantis didelę *AGTRI* A/C polimorfizmo genotipų įtaką MDS rodikliui. Esant itin reikšmingiems regresijos analizės rezultatams, buvo atlikta daugialypė regresija. Į modelį įtraukus ūgį stovint ir svorį bei *AGT* C/C genotipą, kaip nepriklausomus kintamuosius, buvo nustatyti reikšmingi rezultatai (11 Lentelė), kartu su ūgio ir svorio fenotipiniais rodikliais bei *AGT* C/C genotipu.

11 Lentelė Daugialypės regresijos analizės rezultatai- kintamųjų įtaka MDS.

Kintamasis	Įtakos MDS reikšmingumas (p)
Ūgis stovint	0,01
Svoris	0,03
<i>AGT</i> C/C genotipas	0,08
<i>AGTRI</i> A/C genotipas	0,06
<i>AGTRI</i> C/C genotipas	0,00

3.3. *AGT* geno C/T polimorfizmo analizės rezultatai

Atlikus Lietuvos aukšto meistriško sportininkų ir kontrolinės grupės genotipavimą pagal *AGT* C/T polimorfizmą pastebėta, kad I ir II sporto grupių moterų genotipų dažnių pasiskirstymas, kaip ir III grupės vyrų genotipų dažnių pasiskirstymas, nukrypsta nuo Hardžio ir Vainbergo pusiausvyros ($p<0,05$), tačiau bendroji sportininkų grupė, kaip ir kontrolinė grupė, nenukrypsta nuo Hardžio ir Vainbergo pusiausvyros ($p>0,06$).

Palyginus *AGT* C/T polimorfizmo alelių pasiskirstymą tarp sporto grupių ir kontrolinės grupės, nustatyta, kad C alelis yra reikšmingai dažnesnis tiek tarp sportininkų (C-78%, T-22%) tiek ir kontrolinėje grupėje (C- 81%, T-19%). Reikšmingas alelių pasiskirstymo skirtumas nustatytas tarp I ir III grupių ($p=0,03$), dėl I grupėje esančio 13% didesnio C alelio dažnio. Toks pat reikšmingas skirtumas nustatytas ir tarp I ir III grupių vyrų genotipų dažnių pasiskirstymo, tačiau tarp tų pačių grupių moterų reikšmingų skirtumų nenustatyta. Bendrose sportininkų grupėse reikšmingų skirtumų tarp lyčių nepastebėta.

Atlikus genotipų dažnių pasiskirstymo analizę nustatyta, kad *AGT* C/C genotipas buvo dažniausias tiek kontrolės, tiek ir sporto grupėse. Tarp sportininkų C/C genotipas sudarė 51,1% visų genotipų, tuo tarpu T/T genotipas tesudarė 2% visų genotipų. Vienintelėje III

grupėje C/T genotipas buvo dažniausias, sudarydamas 57,1 % visų genotipų. Atlikus genotipų dažnių pasiskirstymo palyginimą, reikšmingų skirtumų genotipų dažnių pasiskirstymo tarp lyčių nenustatyta. *AGT* C/T polimorfizmo alelių ir genotipų dažniai sporto grupėse pagal sporto šakas pateikiami 12 lentelėje.

Lyginant genotipų dažnių pasiskirstymą tarp sporto grupių ir kontrolinės grupės reikšmingas skirtumas nustatytas tik tarp kontrolinės grupės ir III grupės ($p=0,001$), tuo tarpu reikšmingo skirtumo tarp bendros sportininkų grupės ir kontrolinės grupės nenustatyta. Palyginus sporto grupes tarpusavyje, nustatytas itin reikšmingas skirtumas tarp I ir III grupių ($p=0,0001$). Taip pat reikšmingai skyrėsi II ir III grupių genotipų dažnių pasiskirstymas ($p=0,049$). Reikšmingas genotipų dažnių pasiskirstymo skirtumas nustatytas ir tarp I ir II grupių ($p=0,04$).

AGT T/T genotipo sportininkai pasižymėjo aukščiausiu MDS (62 ± 13 ml/min/kg), tuo tarpu žemiausios MDS reikšmės nustatytos C/C genotipo sportininkams ($54,1\pm 10,9$ ml/min/kg). Analizuojant MDS rodiklio reikšmių priklausomybę nuo *AGT* C/T polimorfizmo genotipų, reikšmingų skirtumų tarp tiek skirtingų genotipo vyrų, tiek tarp skirtingo genotipo moterų nenustatyta. Tiriant MDS priklausomybę nuo genotipų sporto grupėse, reikšmingų skirtumų taip pat nenustatyta.

Suskirsčius sportininkus į grupes pagal kvalifikaciją, nukrypimų nuo Hardžio ir Vainbergo dėsnio nenustatyta. *AGT* C/T polimorfizmo alelių dažnių pasiskirstymo skirtumų tarp kvalifikacijos grupių nustatyta nebuvo. Kvalifikacijos grupių palyginimas su kontroline grupe taip pat neatskleidė reikšmingų alelių dažnių pasiskirstymo skirtumų. Reikšmingų genotipų dažnių pasiskirstymo skirtumų tarp grupių nenustatyta, tačiau didžiausias C/C genotipų dažnis buvo elito grupėje, kurioje jis buvo lygus bendrojoje populiacijoje nustatytam C/C genotipų dažniui (lentelė 11). Mažiausias C/C genotipų dažnis nustatytas sub-elito grupėje, kur jis siekė 55,1%. Didžiausias T/T genotipo dažnis buvo nustatytas kontrolinės grupės vyruosams, kur T/T genotipo dažnis sudarė 3,9% visų genotipų, tuo tarpu elito grupėje nenustatyta nei vieno T/T genotipo sportininko.

12 lentelė AGT geno alelių ir genotipų dažniai sporto grupėse pagal sporto šakas.

Sporto šakų grupė		N	Alelių dažniai		AGT geno C/T polimorfizmo genotipų dažniai %						χ^2	P vertė
			%		[C][C]		[C][T]		[T][T]			
			[C]	[T]	E	T	E	T	E	T		
I grupė	Viso	77	84	16	68,83	70,17	29,87	27,19	1,30	2,64	0,74	0,4
	V	58	86	14	74,14	74,32	24,14	23,78	1,72	1,90	0,01	0,8
	M	19	76	24	52,63	58,23	47,37	36,14	0,00	5,63	1,83	0,2
II grupė	Viso	30	75	25	56,67	56,25	36,67	37,49	6,67	6,26	0,01	0,8
	V	25	72	28	52,00	51,84	40,00	40,32	8,00	7,84	0	1
	M	5	90	10	80,00	40,11	20,00	46,44	0,00	13,46	5,03	0,02
III grupė	Viso	42	71	29	42,86	51,02	57,14	40,81	0,00	8,17	6,72	0,01
	V	29	71	29	41,38	49,97	58,62	41,45	0,00	8,59	4,99	0,03
	M	13	73	27	46,15	53,38	53,85	39,38	0,00	7,23	1,76	0,18
Viso sportininkų	Viso	149	78	22	59,06	61,66	38,93	33,73	2,01	4,61	3,54	0,06
	V	112	79	21	60,71	62,44	36,61	33,16	2,68	4,40	1,21	0,27
	M	37	77	23	54,05	59,34	45,95	35,39	0,00	5,27	3,29	0,07
Lietuvių populiacija (kontrolė)	Viso	240	81	19	65,00	65,34	31,67	30,99	3,33	3,67	0,12	0,72
	V	180	80	20	63,89	64,00	32,22	32,00	3,89	4,00	0,01	0,8
	M	60	83	17	68,33	69,44	30,00	27,78	1,67	2,78	0,38	0,54

I grupė – ištvermės sporto šakų atstovai; II grupė – jėgos ir greitumo sportininkai; III grupė – žaidimų ir dvikovos sportininkai; E – eksperimentiniai duomenys; T – teoriškai tikėtini duomenys (skaičiuojami, remiantis Hardžio-Vainbergo dėsniumi, χ^2 ir p), V- vyrų grupė, M- moterų grupė.

13 lentelė MDS rodiklio vertės priklausomai nuo *AGT* geno genotipų ir sportininkų grupių.

Genas	Genotipas	Sporto grupė	MDS (ml/min/kg)		Sporto grupė	MDS (ml/min/kg)	
			Vidurkis	Standartinis nuokrypis		Vidurkis	Standartinis nuokrypis
<i>AGT</i>	C/C	I grupė	54,8	10,2	Elitas	54,5	10,0
		II grupė	52,7	11,9	Sub-elitas	55,8	12,6
		III grupė	53,5	12,5	Ne-elitas	52,5	10,3
	C/T	I grupė	56,3	8	Elitas	57,3	11,8
		II grupė	55,5	12,6	Sub-elitas	58,9	8,2
		III grupė	57,1	11,3	Ne-elitas	53,8	10,6
	T/T	I grupė	50,6	-	Elitas	.	.
		II grupė	67,8	12	Sub-elitas	50,6	.
		III grupė	-	-	Ne-elitas	67,8	12,0

I grupė- Ištvėrmės, **II grupė**- greičio ir jėgos, **III grupė**- žaidimų ir dvikovos sportininkai

14 lentelė *AGT* geno alelių ir genotipų dažniai sporto grupėse pagal sportininkų kvalifikaciją.

Sporto šakų grupė	N	Alelių dažniai		<i>AGT</i> geno C/T polimorfizmo						χ^2	p vertė	
		%		genotipų dažniai %								
		[C]	[T]	[C][C]		[C][T]		[T][T]				
		E	T	E	T	E	T					
Elitas	viso	40	82,5	17,5	65,00	68,08	35,00	28,88	0,00	3,05	1,8	0,18
	V	32	82,8	17,2	65,63	68,57	34,38	28,46	0,00	2,97	1,38	0,24
	M	8	81,3	18,8	62,50	66,00	37,50	30,50	0,00	3,50	0,43	0,51
Sub-elitas	viso	49	76,5	23,5	55,10	58,57	42,86	35,92	2,04	5,51	1,83	0,18
	V	28	75,0	25,0	53,57	56,25	42,86	37,50	3,57	6,25	0,57	0,45
	M	21	78,6	21,4	57,14	56,25	42,86	37,48	0,00	6,27	0,18	0,67
Ne-Elitas	viso	60	77,5	22,5	58,33	60,06	38,33	34,88	3,33	5,07	0,59	0,44
	V	52	78,8	21,2	61,54	62,16	34,62	33,36	3,85	4,48	0,07	0,79
	M	8	68,8	31,3	37,50	47,25	62,50	43,00	0,00	9,75	1,65	0,20

E – eksperimentiniai duomenys; **T** – teoriškai tikėtini duomenys (skaiciuojami, remiantis Hardžio-Vainbergo dėsniumi, χ^2 ir **p**), **V**- vyrų grupė, **M**- moterų grupė.

Tarp kvalifikacijos grupių reikšmingų MDS skirtumų nepastebėta. Aukščiausią MDS įvertį turėjo ne-elito grupei priklausantys T/T genotipo sportininkai ($67,8 \pm 12$ ml/min/kg). *AGT* C/T polimorfizmo alelių ir genotipų dažniai sporto grupėse pagal sportininkų kvalifikaciją pateikiami 14 lentelėje.

AGT genotipų įtakai MDS rodikliui įvertinti, buvo pritaikytas pseudokintamųjų regresijos modelis. Šis modelis nebuvo patikimas ($p=0,23$), tačiau arčiausiai reikšmingumo ribos buvęs *AGT* C/T polimorfizmo C/C genotipas ($p=0,19$) buvo įtrauktas į daugialypės regresijos modelį kartu su *AGTRI* A/C polimorfizmo genotipais, svoriu bei ūgiu stovint. Daugialypės regresijos analizė parodė, kad prijungtas prie minėtų kintamųjų C/C genotipas neparodė reikšmingos įtakos MDS, tačiau turi didesnę įtakos nei vienas atskirai ($p=0,08$). *AGT* pseudokintamųjų regresijos modelyje atliktas r^2 testas neparodė svarbios *AGT* C/T polimorfizmo genotipų įtakos MDS rodikliui ($r^2=0,007$).

3.4. *AMPD1* geno C/T polimorfizmo analizės rezultatai

Naudojantis Hardžio ir Vainbergo dėsniumi, statistiškai įvertinti *AMPD1* C/T polimorfizmo genotipų dažniai tiriamosiose grupėse. Genotipų pasiskirstymo nukrypimų nuo reikšmių, apskaičiuotų pagal Hardžio ir Vainbergo dėsnį, nei tiriamųjų sportininkų nei kontrolinėje grupėse nebuvo nustatyta ($p>0,05$). Genotipų ir alelių dažniai sportininkų grupėse bei bendroje Lietuvos populiacijoje pateikti 16 lentelėje.

Retėjo *AMPD1* C/T polimorfizmo T alelio dažnis tarp bendrosios Lietuvos populiacijos (15,2 %) ir bendros sportininkų grupės (13,4 %) statistiškai reikšmingai nesiskyrė ($p>0,05$). Tačiau pastebėta, kad tarp žaidėjų ir dvikovos sportininkų, kaip ir tarp išvermę ugdančių moterų bei greitį ir jėgą ugdančių vyrų grupėse nebuvo homozigotinių pagal *AMPD1* C/T polimorfizmo retąjį alelį (T/T genotipo) sportininkų. Nustatyta, kad tiek bendroje sportininkų tiek kontrolinėje grupėse C/C genotipo dažnis yra didesnis (atitinkamai 74,5% ir 72,8%) negu T/T genotipas nustatytas- 1,34% sporto ir 2,3% kontrolinės grupės atstovų. *AMPD1* C/T polimorfizmo C/C genotipo dažnis III grupėje buvo retesnis palyginus su kitomis sporto grupėmis (IIIgr.-69,05%, Igr.-76,6%, IIgr.-76,7%).

Palyginus visų tiriamųjų sportininkų ir kontrolinės grupės asmenų *AMPD1* C/T polimorfizmo genotipų bei alelių dažnių pasiskirstymą reikšmingų skirtumų nenustatyta ($p \geq 0,05$). Taip pat statistiškai reikšmingų genotipų ar alelių dažnių pasiskirstymo skirtumų tarp sporto grupių nenustatyta bei palyginus vyrų ir moterų grupes. Tačiau, palyginus II

grupės moterų alelių bei genotipų dažnių pasiskirstymą su kitų sporto grupių bei kontrolinės grupės moterų dažnių pasiskirstymais visais atvejais buvo nustatyti reikšmingi skirtumai ($p < 0,05$). *AMPDI* C/T polimorfizmo alelių dažnis I ir II sportininkų grupėse skyrėsi reikšmingai ($p = 0,000$): I grupės moterų tarpe C alelio dažnis buvo 94,7%, T alelio 5,25%; II grupės moterų - C alelio dažnis buvo 60,0%, T alelio - 40%. *AMPDI* C/T polimorfizmo C alelio dažnis II grupės vyrų buvo didesnis nei kitų grupių vyrų C alelio dažnis (II gr.-92%, I gr.-85,3%, IIIgr.- 84.5%).

15 lentelė *AMPDI* geno alelių ir genotipų dažniai sporto grupėse pagal sportininkų kvalifikaciją.

Sporto šakų grupė	N	Alelių dažniai		<i>AMPDI</i> geno C/T polimorfizmo						χ^2	p vertė	
		%		genotipų dažniai %								
		[C]	[T]	[C][C]		[C][T]		[T][T]				
				E	T	E	T	E	T			
Elitas	viso	40	88,8	11,2	77,50	78,76	22,50	19,97	0,00	1,27	0,64	0,42
	V	32	89,1	10,9	78,13	79,34	21,88	19,47	0,00	1,19	0,48	0,48
	M	8	87,5	12,5	75,00	76,53	25,00	21,85	0,00	1,62	0,16	0,69
Sub-elitas	viso	49	82,7	17,3	69,39	68,32	26,53	28,68	4,08	3,00	0,27	0,60
	V	28	83,9	16,1	71,43	70,45	25,00	26,97	3,57	2,57	0,15	0,70
	M	21	81,0	19,0	66,67	65,52	28,57	30,86	4,76	3,62	0,11	0,74
Ne-elitas	viso	60	88,3	11,7	76,67	78,02	23,33	20,61	0,00	1,37	1,05	0,31
	V	52	86,5	13,5	73,08	74,88	26,92	23,31	0,00	1,81	1,26	0,26
	M	8	100	0,0	100,00	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-	-

E – eksperimentiniai duomenys; **T** – teoriškai tikėtini duomenys (skaičiuojami, remiantis Hardžio-Vainbergo dėsniais, χ^2 ir **p**), **V**- vyrų grupė, **M**- moterų grupė.

Lyginant *AMPDI* C/T polimorfizmo genotipų dažnių pasiskirstymą tarp grupių pagal kvalifikaciją reikšmingų skirtumų nustatyta nebuvo (15 lentelė). Kvalifikacijos grupes palyginus su kontroline grupe, kaip ir palyginus skirtingų kvalifikacijos grupių vyrus ir moteris

reikšmingų skirtumų nenustatyta, tačiau pastebėta, kad C alelis yra dažnesnis elito grupėje palyginus su kitomis sporto grupėmis bei kontrolės grupe.

16 lentelė *AMPDI* geno alelių ir genotipų dažniai sporto grupėse pagal sporto šakas.

Sporto šakų grupė		N	Alelių dažniai%		<i>AMPDI</i> geno C/T polimorfizmo genotipų dažniai %						χ^2	P vertė
					[C][C]		[C][T]		[T][T]			
			[C]	[T]	E	T	E	T	E	T		
I grupė	Viso	77	87,7	12,3	76,6	76,8	22,1	21,6	1,3	1,5	0,03	0,86
	V	58	85,3	14,7	72,41	72,83	25,86	25,01	1,72	2,15	0,07	0,79
	M	19	94,7	5,3	89,47	89,78	10,53	9,95	0,00	0,26	0,06	0,81
II grupė	Viso	30	86,7	13,3	76,67	75,13	20,00	23,11	3,33	1,77	0,54	0,46
	V	25	92,0	8,0	84,00	84,64	16,00	14,72	0,00	0,64	0,19	0,66
	M	5	60,0	40,0	40,00	36,00	40,00	48,00	20,00	16,00	0,14	0,71
III grupė	Viso	42	84,5	15,5	69,05	71,44	30,95	26,16	0,00	2,40	1,41	0,24
	V	29	84,5	15,5	68,97	70,74	31,03	26,79	0,00	2,47	0,98	0,32
	M	13	84,6	15,4	69,23	71,62	30,77	26,00	0,00	2,38	0,43	0,51
Viso sportininkų	Viso	149	86,6	13,4	74,50	74,96	24,16	23,24	1,34	1,80	0,23	0,63
	V	112	86,6	13,4	74,11	75,01	25,00	23,20	0,89	1,79	0,68	0,41
	M	37	86,5	13,5	75,68	74,79	21,62	23,37	2,70	1,84	0,21	0,65
Lietuvių populiacija (kontrolė)	Viso	240	84,8	15,2	72,08	71,90	25,42	25,79	2,50	2,31	0,05	0,82
	V	180	83,6	16,4	70,56	69,91	26,11	27,41	3,33	2,68	0,4	0,53
	M	60	88,3	11,7	76,67	78,02	23,33	20,61	0,00	1,37	1,05	0,31

I grupė – ištvermės sporto šakų atstovai; **II grupė** – jėgos ir greitumo sportininkai; **III grupė** – žaidimų ir dvikovos sportininkai; **E** – eksperimentiniai duomenys; **T** – teoriškai tikėtini duomenys (skaičiuojami, remiantis Hardžio-Vainbergo dėsniumi, χ^2 ir **p**), **V**- vyrų grupė, **M**- moterų grupė.

Dispersinė analizė (ANOVA) sportininkų grupėse neparodė reikšmingu MDS skirtumu tarp *AMPDI* C/T polimorfizmo genotipų, tačiau pastebėta, kad C/C genotipo sportininkų MDS

buvo didesnis nei kitų genotipų sportininkų (C/C-55,7 ±10,8 ml/min/kg, C/T-53,7 ±53,7 ml/min/kg, T/T-52,5 ±4,9 ml/min/kg) (17 lentelė). Siekiant nustatyti *AMPDI* polimorfizmo įtaką MDS rodikliui buvo atlikta pseudokintamųjų regresijos analizė, tačiau *AMPDI* C/T polimorfizmo genotipų reikšmingo ryšio su MDS rodikliu nebuvo nustatyta ($r^2=0,007$), patikimumo įvertis $p=0,6$.

17 lentelė MDS rodiklio vertės priklausomai nuo *AMPDI* C/T polimorfizmo genotipų ir sportininkų grupių.

Genas	Genotipas	Sporto grupė	MDS (ml/min/kg)		Sporto grupė	MDS (ml/min/kg)	
			Vidurkis	Standartinis nuokrypis		Vidurkis	Standartinis nuokrypis
<i>AMPDI</i>	C/C	I grupė	55,6	9,7	Elitas	55,9	11,1
		II grupė	57	12,3	Sub-elitas	58,8	11,3
		III grupė	54,9	11,8	Ne-elitas	53,3	9,8
	C/T	I grupė	53,7	9,3	Elitas	54,1	9,1
		II grupė	46,8	10,6	Sub-elitas	53,0	9,5
		III grupė	57	12,1	Ne-elitas	54,2	13,5
	T/T	I grupė	56	-	Elitas	.	.
		II grupė	49	-	Sub-elitas	52,5	4,9
		III grupė	-	-	Ne-elitas	.	.

I grupė- Ištermės, **II grupė**- greičio ir jėgos, **III grupė**- žaidimų ir dvikovos sportininkai

3.5. *MB* geno A/G polimorfizmo analizės rezultatai

Ištyrus Lietuvos aukšto maistriškumo sportininkus ir kontrolinę grupę pagal *MB* A/G polimorfizmą pastebėta, kad bendroje sportininkų grupėje genotipų dažnių pasiskirstymas nukrypsta nuo Hardžio ir Vainbergo pusiausvyros ($\chi^2=9,19$, $p=0,002$), taip pat nuokryptai nuo Hardžio ir Vainbergo pusiausvyros pastebėti išanalizavus I ir III grupių vyrų genotipų dažnių pasiskirstymą. *MB* A/G polimorfizmo genotipų ir alelių dažniai sportininkų grupėse bei kontrolinėje grupėje pateikiami 16 lentelėje.

Išanalizavus *MB* A/G polimorfizmo genotipų ir alelių dažnių pasiskirstymą nustatyta, kad bendroje sportininkų grupėje A ir G aleliai turėjo vienodą 50% dažnį. Bendroje Lietuvos populiacijoje šis pasiskirstymas buvo panašus: A alelio dažnis 50,4 %, G alelio - 49,6 % (18 lentelė). Palyginus genotipų dažnių pasiskirstymą tarp kontrolės ir bendros sportininkų grupės nustatytas reikšmingas skirtumas ($p=0,05$) – sportininkų tarpe vyrauja heterozigotinio genotipo. Sportininkų tarpe dažniau nustatomas heterozigotinis A/G genotipas, tuo tarpu

kontrolinėje grupėje nustatomi didesni homozigotinių genotipų dažniai. Reikšmingas rezultatas taip pat nustatytas palyginus kontrolinės ir III grupių genotipų dažnių pasiskirstymus ($p=0,006$). Tarp sporto grupių reikšmingų genotipų dažnių pasiskirstymo skirtumų nenustatyta. Lyginant moterų genotipų dažnių pasiskirstymą tarp grupių buvo nustatyti reikšmingi skirtumai tarp II grupės moterų genotipų dažnių pasiskirstymo ir kitų sporto grupių bei kontrolės grupės genotipų dažnių pasiskirstymo ($p<0,05$). Šis rezultatas gali būti paaiškintas mažu moterų skaičiumi II grupėje, tarp kurių buvo 81,0% G/G genotipo moterų. Šioje grupėje A alelio dažnis buvo žymiai mažesnis nei G alelio (atitinkamai 10% ir 90%). *MB* A/G polimorfizmo A/A genotipas I grupėje buvo dažnesnis nei II ir III grupėse (atitinkamai 22,1%, 16,7% ir 14,3%). Didžiausias G/G genotipo dažnis buvo nustatytas II grupėje (28,5%), rečiau III grupėje (27,4%) bei I grupėje (22,5%) ($p \leq 0,05$).

Išanalizavus *MB* A/G polimorfizmo genotipų dažnių pasiskirstymą tarp sportininkų grupių pagal kvalifikaciją buvo nustatyta, kad elito grupėje *MB* A alelis buvo dažnesnis nei G alelis (atitinkamai 57,5% ir 42,5%). Sub-elito ir ne-elito grupėse dažnesnis buvo G alelis (atitinkamai 51% ir 54,2%) (17 lentelė). Reikšmingi genotipų dažnių pasiskirstymo skirtumai nustatyti tarp elito ir ne-elito sportininkų grupių ($p=0,05$). Reikšmingi skirtumai taip pat pastebėti tarp sub-elito ir ne-elito grupių genotipų dažnių pasiskirstymo ($p=0,01$) (20 lentelė). Tarp vyrų ir moterų grupių reikšmingų genotipų dažnių pasiskirstymo skirtumų nenustatyta.

18 lentelė *MB* geno alelių ir genotipų dažniai sporto grupėse pagal sporto šakas.

Sporto šakų grupė		N	Alelių dažniai %		<i>MB</i> geno A/G polimorfizmo						χ^2	p vertė
					genotipų dažniai %							
			[A]	[G]	[A][A]		[A][G]		[G][G]			
				E	T	E	T	E	T			
I grupė	Viso	77	52,6	47,4	22,1	27,7	61,0	49,9	16,9	22,5	3,87	0,05
	V	58	52,6	47,4	20,69	27,66	63,79	49,86	15,52	22,48	4,52	0,03
	M	19	52,6	47,4	26,32	27,70	52,63	49,87	21,05	22,43	0,06	0,81
II grupė	Viso	30	46,7	53,3	16,67	21,74	60,00	49,72	23,33	28,54	1,27	0,26
	V	25	54,0	46,0	20,00	29,16	68,00	49,68	12,00	21,16	3,4	0,07
	M	5	10	90	0,00	1,00	20,00	18,00	80,00	81,00	0,06	0,81

18 lentelė tęsinys

III grupė	Viso	42	47,6	52,4	14,29	22,67	66,67	49,89	19,05	27,44	4,75	0,03
	V	29	41,4	58,6	6,90	17,13	68,97	48,50	24,14	34,37	5,15	0,02
	M	13	61,5	38,5	30,77	37,88	61,54	47,34	7,69	14,78	1,17	0,28
Viso sportininkų	Viso	149	50	50	18,79	25,00	62,42	50,00	18,79	25,00	9,19	0,002
	V	112	50	50	16,96	25,00	66,07	50,00	16,96	25,00	11,57	0,0006
	M	37	50	50	24,32	25,00	51,35	50,00	24,32	25,00	0,03	0,86
Lietuvių populiacija (kontrolė)	Viso	240	50,4	49,6	27,92	25,42	45,00	50,00	27,08	24,58	2,4	0,12
	V	180	49,4	50,6	26,67	24,45	45,56	49,99	27,78	25,56	1,42	0,23
	M	60	53,3	46,7	31,67	28,46	43,33	49,81	25,00	21,73	1,01	0,31

I grupė – ištvermės sporto šakų atstovai; **II grupė** – jėgos ir greitumo sportininkai; **III grupė** – žaidimų ir dvikovos sportininkai; **E** – eksperimentiniai duomenys; **T** – teoriškai tikėtini duomenys (skaiciuojami, remiantis Hardžio-Vainbergo dėsniumi, χ^2 ir **p**), **V**- vyrų grupė, **M**- moterų grupė.

19 lentelė MDS rodiklio vertės priklausomai nuo *MB* geno genotipų ir sportininkų grupių.

Genas	Genotipas	Sporto grupė	MDS (ml/min/kg)		Sporto grupė	MDS (ml/min/kg)	
			Vidurkis	Standartinis nuokrypis		Vidurkis	Standartinis nuokrypis
MB	A/A	I grupė	54,6	9,3	Elitas	52,4	9,6
		II grupė	50,7	15,4	Sub-elitas	55,1	12,2
		III grupė	53,4	13,3	Ne-elitas	53,1	12,9
	A/G	I grupė	55,6	9,7	Elitas	56,7	11,6
		II grupė	54,5	12,9	Sub-elitas	57,2	11,2
		III grupė	56,8	12,1	Ne-elitas	54,3	10,7
	G/G	I grupė	54,4	9,7	Elitas	56,5	7,8
		II grupė	58,1	9,2	Sub-elitas	58,2	9,4
		III grupė	52,8	10,5	Ne-elitas	50,4	9,6

I grupė- ištvermės, **II grupė**- greičio ir jėgos, **III grupė**- žaidimų ir dvikovos sportininkai

20 lentelė MB geno alelių ir genotipų dažniai sporto grupėse pagal sportininkų kvalifikaciją.

Sporto šakų grupė	N	Alelių dažniai		MB geno A/G polimorfizmo genotipų dažniai %						χ^2	P vertė	
		%		[A][A]		[A][G]		[G][G]				
		[A]	[G]	E	T	E	T	E	T			
Elitas	Viso	40	57,5	42,5	27,50	33,05	60,00	48,88	12,50	18,08	2,07	0,15
	V	32	56,3	43,8	25,00	31,65	62,50	49,20	12,50	19,15	2,33	0,13
	M	8	62,5	37,5	37,50	39,08	50,00	46,82	12,50	14,11	0,04	0,84
Subelitas	Viso	49	49,0	51,0	22,45	24,00	53,06	49,97	24,49	26,04	0,19	0,66
	V	28	44,6	55,4	17,86	19,93	53,57	49,43	28,57	30,64	0,2	0,65
	M	21	54,8	45,2	28,57	30,00	52,38	49,52	19,05	20,48	0,07	0,79
Neelitas	Viso	60	45,8	54,2	10,00	21,00	71,67	49,66	18,33	29,34	11,8	0,0005
	V	52	49,0	51,0	11,54	24,04	75,00	49,99	13,46	25,97	13,0	0,0003
	M	8	25,0	75,0	0,00	6,25	50,00	37,50	50,00	56,25	0,89	0,35

E – eksperimentiniai duomenys; **T** – teoriškai tikėtini duomenys (skaičiuojami, remiantis Hardžio-Vainbergo dėsniumi, χ^2 ir **p**), **V**- vyrų grupė, **M**- moterų grupė.

Dispersinė analizė (ANOVA) sportininkų grupėse neparodė reikšmingu MDS skirtumu tarp sporto grupių, kvalifikacijos grupių ar lyčių. MB A/G polimorfizmo A/G genotipo sportininkams buvo nustatytas didesnis MDS rodiklis nei A/A bei G/G genotipo sportininkams (atitinkamai $55,8 \pm 11$ ml/min/kg, $53,6 \pm 11$ ml/min/kg ir $54,9 \pm 9,7$ ml/min/kg) (19 lentelė). Siekiant nustatyti MB A/G polimorfizmo genotipų įtaką MDS rodikliui buvo atlikta pseudokintamųjų regresijos analizė, kuri neparodė reikšmingos A/G polimorfizmo įtakos MDS rodikliui ($r^2=0,006$), regresijos modelio patikimumo įvertis buvo $p=0,65$.

3.6. ACTN3 geno C/T polimorfizmo analizės rezultatai

ACTN3 C/T polimorfizmo analizei buvo parinkta 250 asmenų grupė iš bendrosios Lietuvos populiacijos (167 vyrai ir 83 moterys). Kaip ir kontrolinė 240 asmenų grupė naudota

kitų genų polimorfizmų analizei, ši grupė buvo sudaryta iš giminiais ryšiais nesusijusių baltaodžių asmenų.

Nustatyta, kad I ir II grupės vyrų sportininkų genotipų dažnių pasiskirstymas nukrypsta nuo Hardžio ir Vainbergo pusiausvyros. Tačiau nukrypimų nuo lauktų dažnių kontrolinėje grupėje nebuvo nustatyti. *ACTN3* C/T polimorfizmo genotipų ir alelių dažniai sportininkų grupėje bei bendroje Lietuvos populiacijoje pristatyti 22 lentelėje.

ACTN3 C alelis buvo dažnesnis nei T alelis ir kontrolinėje ir bendroje sporto grupėje. Sportininkų grupėje nustatytas C alelio dažnis buvo 61%, tuo tarpu T alelis nustatytas 39% sportininkų. Kontrolinėje grupėje šių alelių dažniai buvo C- 64,4%, T-35,6%. Reikšmingų skirtumų tarp genotipų dažnių pasiskirstymo sporto grupėse nebuvo nustatyta. Palyginus vyrų ir moterų genotipų dažnių pasiskirstymą tarp sporto grupių reikšmingų skirtumų taip pat nenustatyta.

21 lentelė *ACTN3* geno alelių ir genotipų dažniai sporto grupėse pagal sportininkų kvalifikaciją.

Sporto šakų grupė	N	Alelių dažniai		<i>ACTN3</i> geno C/T polimorfizmo						χ^2	p vertė	
		%		genotipų dažniai %								
		[C]	[T]	[C][C]		[C][T]		[T][T]				
				E	T	E	T	E	T			
Elitas	viso	40	57,5	42,5	22,50	33,05	70,00	48,88	7,50	18,08	7.47	0.006
	V	32	56,3	43,8	18,75	31,65	75,00	49,20	6,25	19,15	8.78	0.003
	M	8	50,0	50,0	25,00	25,00	50,00	50,00	25,00	25,00	0	1
Sub-elitas	viso	49	64,3	35,7	34,69	41,33	59,18	45,92	6,12	12,76	4.09	0.04
	V	28	62,5	37,5	32,14	39,06	60,71	46,88	7,14	14,07	2.44	0.12
	M	21	66,7	33,3	38,10	44,45	57,14	44,45	4,76	11,10	1.71	0.19
Ne-elitas	viso	60	54,2	45,8	30,00	29,34	48,33	49,66	21,67	21,00	0.04	0.84
	V	52	52,9	47,1	26,92	27,97	51,92	49,84	21,15	22,20	0.09	0.46
	M	8	62,5	37,5	50,00	39,08	25,00	46,82	25,00	14,11	1.74	0.19

E – eksperimentiniai duomenys; **T** – teoriškai tikėtini duomenys (skaičiuojami, remiantis Hardžio-Vainbergo dėsniumi, χ^2 ir **p**), **V**- vyrų grupė, **M**- moterų grupė.

22 lentelė *ACTN3* geno alelių ir genotipų dažniai sporto grupėse pagal sporto šakas.

Sporto šakų grupė	N	Alelių dažniai		<i>ACTN3</i> geno C/T polimorfizmo genotipų dažniai %						χ^2	p vertė	
		%		[C][C]		[C][T]		[T][T]				
		[C]	[T]	E	T	E	T	E	T			
I grupė	viso	77	57,8	42,2	25,97	33,40	63,64	48,78	10,39	17,82	7.14	0.01
	V	58	55,2	44,8	20,69	30,44	68,97	49,46	10,34	20,10	9.01	0.003
	M	19	65,8	34,2	42,11	43,29	47,37	45,02	10,53	11,69	0.05	0.82
II grupė	viso	30	60,0	40,0	36,67	35,96	46,67	47,95	16,67	16,08	0.02	0.89
	V	25	56,0	44,0	32,00	31,36	48,00	49,28	20,00	19,36	0.02	0.89
	M	5	80,0	20,0	60,00	64,00	40,00	32,00	0,00	4,00	0.31	0.58
III grupė	viso	42	58,3	41,7	30,95	34,02	54,76	48,62	14,29	17,36	0.67	0.41
	V	29	58,6	41,4	31,03	34,37	55,17	48,50	13,79	17,13	0.55	0.46
	M	13	57,7	42,3	30,77	33,28	53,85	48,81	15,38	17,91	0.14	0.71
Viso sportininkų	viso	149	61,0	39,0	33,96	37,22	54,09	47,58	11,95	15,21	2.98	0.08
	V	112	56,3	43,8	25,89	31,64	60,71	49,22	13,39	19,14	6.11	0.01
	M	37	64,9	35,1	40,54	42,08	48,65	45,57	10,81	12,35	0.17	0.68
Lietuvių populiacija (kontrolė)	viso	250	64,4	35,6	39,20	41,50	50,40	45,80	10,40	12,70	2,46	0,12
	V	167	66,5	33,5	41,30	44,20	50,30	44,60	8,40	11,20	2,75	0,097
	M	83	60,2	39,8	34,90	36,30	50,60	47,90	14,50	15,80	0,26	0,61

I grupė – ištvermės sporto šakų atstovai; II grupė – jėgos ir greitumo sportininkai; III grupė – žaidimų ir dvikovos sportininkai; E – eksperimentiniai duomenys; T – teoriškai tikėtini duomenys (skaičiuojami, remiantis Hardžio-Vainbergo dėsnium, χ^2 ir p), V- vyrų grupė, M- moterų grupė.

Suskirsčius sportininkus į grupes pagal kvalifikaciją ir atlikus genotipų dažnių pasiskirstymo statistinę analizę, reikšmingi skirtumai buvo nustatyti tarp elito grupės ir kontrolinės grupės genotipų dažnių pasiskirstymo ($p=0,02$). Tarp kitų kvalifikacijos grupių ir kontrolinės grupės reikšmingų genotipų dažnių pasiskirstymo skirumų nenustatyta (21 lentelė).

Palyginus MDS rodiklio dydį tarp *ACTN3* genotipų buvo nustatyta, kad C/T genotipo sportininkų MDS yra didesnis nei C/C bei T/T genotipų sportininkams nustatytas MDS (atitinkamai $55,7\pm 10,1$; $55,6\pm 10,5$ ir $54,3\pm 9,4$ ml/min/kg) (23 lentelė).

23 lentelė MDS rodiklio vertės priklausomai nuo *ACTN3* geno genotipų ir sportininkų grupių.

Genas	Genotipas	Sporto grupė	MDS (ml/min/kg)		Sporto grupė	MDS (ml/min/kg)	
			Vidurkis	Standartinis nuokrypis		Vidurkis	Standartinis nuokrypis
<i>ACTN3</i>	C/C	I grupė	59,8	10,9	Elitas	55,7	11,9
		II grupė	52,8	11,0	Sub-elitas	56,5	11,2
		III grupė	51,6	7,3	Ne-elitas	55,7	9,3
	C/T	I grupė	56,1	9,9	Elitas	60,8	9,8
		II grupė	50,7	12,1	Sub-elitas	54,7	10,3
		III grupė	51,6	9,9	Ne-elitas	53,8	10,6
	T/T	I grupė	54,4	11,3	Elitas	59,0	8,4
		II grupė	56,0	8,3	Sub-elitas	53,6	9,2
		III grupė	52,8	9,1	Ne-elitas	51,8	10,9

I grupė- Ištvermės, **II grupė**- greičio ir jėgos, **III grupė**- žaidimų ir dvikovos sportininkai

4. REZULTATŲ APTARIMAS

Nepaprastai didelė genetinė įvairovė nulemia kiekvieno žmogaus unikalų fenotipą. Fizinis žmogaus pajėgumas priklauso nuo individualių žmogaus fizinių ypatybių, kurios priklauso nuo aplinkos veiksnių bei daugelio genų, tiksliau šių dviejų veiksnių sąveikos. Pastaraisiais metais naudojant pažangius molekulinis genetinius tyrimus jau yra nustatyti daugiau kaip 200 genų kandidatų, kurių nukleotidų sekos pokyčiai gali būti susiję su žmogaus fizinio pajėgumo fenotipais [48;49]. Fiziniai pratimai yra labai stiprus dirgiklis, veikiantis visą organizmo sandarą. Periodiški, vienodo intensyvumo, adekvatūs fiziniai krūviai, sąlygoja natūralų organizmo prisitaikymą prie šių dirgiklių. Tuo tarpu labai intensyvios, neadekvačios treniruotės sukelia patologinius kai kurių organų pokyčius. Todėl lavinant konkrečiai sporto

šakai svarbius fizinio pajėgumo komponentus yra būtina kuo tiksliau įvertinti individualias fizines organizmo galimybes. Yra žinoma, kad skirtingų raumenų skaidulų tipų santykis skeleto raumenyse, bei nuo jo tiesiogiai priklausantis maksimalusis deguonies suvartojimas (MDS) yra didele dalimi genetiškai nulemti [63]. Mūsų darbo metu MDS buvo pagrindinis fenotipis rodiklis, kuris buvo pasirinktas ir išanalizuotas priklausomai nuo sportininkų nustatyto genotipo. Įgimtas atskirų grupių raumeninių skaidulų kiekis iš dalies sąlygoja sportinę sėkmę. Manoma, kad greičio jėgos reikalaujančių sporto šakų sportininkų raumenyse dominuoja greitai susitraukiančios skaidulos, ištvėringųjų skaidulų raumenyse yra mažiau. Didelio galingumo reikalaujančios sporto šakos sportininkų raumenyse vyksta mišri energijos gamyba ir į veiklą įsijungia lėtosios ištvėringosios skaidulos, gebančias daug energijos gaminti aerobinėmis reakcijomis.

Šiame tyrime dalyvavo įvairių sporto šakų didelio meistriškumo Lietuvos sportininkai (n=149). Tyrimo metu buvo parinkta kontrolinė lietuvių populiacijos grupė (n=240) tam, kad būtų patikrinta, ar pasirinkta sportininkų grupė skiriasi nuo nesportuojančių asmenų pagal genotipų ir alelių dažnį. Sportininkai buvo suskirstyti į trys grupės pagal fizinio darbo trukmę ir sporto šakos specifiskumą. Pirmą grupę sudarė į ištvėrmę orientuoti, aerobinio pobūdžio fizinio krūvio sporto šakų sportininkai; antra grupė - anaerobinio pajėgumo (reikalaujanti greičio ir galingumo) sportininkų grupė bei trečia - maišyta, aerobinio ir anaerobinio pajėgumo, sportininkų grupė. Genetinių veiksnių įtaką sportininko fiziniam pajėgumui yra tiksliai tirti didelio meistriškumo sportininkus, nes šie sportininkai turi labiausiai išvystytus fizinio pajėgumo rodiklius. Todėl mūsų tirti Lietuvos sportininkai dar buvo suskirstyti į grupės pagal jų sportinius rezultatus, t.y. Lietuvos olimpinės rinktinės (elito) sportininkai, olimpinio rezervo (sub-elito) ir nacionalinės jaunimo rinktinės (ne-elito) nariai. Lietuvos sportininkų kūno masė vidutiniškai buvo 73.5 ± 14.5 kg, ūgis 178.5 ± 9.4 cm, kraujotakos ir kvėpavimo sistemų funkcinį pajėgumą bei aerobinį darbingumą apibūdinantis MDS rodiklis vidutiniškai buvo $55,5 \pm 10,5$ ml/min/kg.

Darbo metu bioinformacinė analizė įvairiais metodais buvo būtina parenkant potencialiausius genus kandidatus ir jų žymenis Lietuvos sportininkų duomenų analizei. Atlikus duomenų bazių ir mokslo publikacijų analizę, genetiniams tyrimams parinkti potencialiausi genai kandidatai, įtakojantys žmogaus fizinį pajėgumą ir jų žymenis (VNP):

- ❖ Raumenų darbą įtakojantys genai kandidatai ir jų polimorfizmai:
 - *ACTN3* (α -aktinias-3), c.1747C>T (p.R577X, rs1815739);

- *AMPDI* (adenozino monofosfato deaminazės geno raumeninė izoforma), c.34C>T (p.Q12X, rs17602729);
- *MB* (mioglobino genas) c.174G>A (rs7293);
- ❖ Genai kandidatai (RAS komponentai), įtakojantys širdies ir kraujagyslių sistemos funkciją, ir jų polimorfizmai:
 - *AGT* (angiotenzinogeno), c.620C>T (p.T207M, rs4762);
 - *AGTRI* (angiotenzino II pirmo tipo receptoriaus genas), c.1166A>C, (rs5186).

Mūsų tyrimo metu įvertintas bei palygintas genotipų ir alelių dažnių pasiskirstymas sportininkų grupėje bei bendroje Lietuvos populiacijoje. Statistiškai įvertinta genetinio varianto reikšmę sportininkų MDS rodiklio rezultatui. Analizė genotipų atžvilgiu buvo tirta pagal statistinį modelį, kurio metų genotipai buvo tam tikru laipsniu lyginami su sportuojančiu fenotipinių rodiklių - MDS.

4.1. *AGT C/T* polimorfizmo analizės rezultatų aptarimas.

Svarbiausias vaidmuo kraujo apykaitos reguliacijai organizme tenka renino-angiotenzino sistemai (RAS), kuri reguliuoja kraujo spaudimą, elektrolitų balansą bei viso organizmo energijos pusiausvyrą [1]. RAS įtaka kraujotakai, organizmo aprūpinimui maisto medžiagomis bei deguonimi verčia manyti, kad šios sistemos elementų pokyčiai (dėl juos koduojančių genų polimorfizmų) gali turėti esminės reikšmės organizmo adaptacijai prie fizinio krūvio ir turėti įtakos bendram sportininko fiziniam potencialui. Dėl šių priežasčių RAS sistemos genai yra stiprūs genai kandidatai. Daugiausiai tyrimų atlikta su *ACE* geno polimorfizmais, kurių sąsaja su fizinio pajėgumo fenotipiniais rodikliais buvo įrodyta daugeliu asociacijos tyrimų [14;15;16;18].

Pagrindinė *ACE* funkcija yra baltymų hidrolizė. Šis fermentas skaido baltymus pašalindamas jų C-galines aminorūgščių sekas (AngI paverčiant AngII ar degraduojant bradikininą). Kraujo plazmoje *AGT* atlieka savo pagrindinę, renino substrato, funkciją. *AGT* svarbus susidarant angiotenzinui I ir II, kurių trumpalaikis poveikis lemia organizmo homeostazę. Angiotenzinas II yra svarbus RAS sistemos komponentas, kartu atlieka aldosterono sekrecijos reguliuojamą funkciją bei užtikrina ŠKS ir centrinės nervų sistemos funkcionalumą.

Azijos populacijose retojo T alelio dažnis yra apie 4,5%, tuo tarpo europiečių populacijose šio alelio įvairių tyrimų duomenimis nustatyta nuo 7,5-12,5%. Šio tyrimo metu

kontrolinėje grupėje sudarytoje iš bendrosios Lietuvos populiacijos asmenų nustatytas retojo T alelio dažnis buvo 19%, tuo tarpu sporto grupėje nustatytas 22% T alelio dažnis. Šie rezultatai rodo, kad Lietuvos populiacijoje T alelis gali būti siejamas su fiziniu pajėgumu nors Pilbrow ir kt. bei Niu ir kt. savo tyrimais atskleidė T alelio ir T/T genotipo sąsają su ŠKS sistemos ligų rizika. [42]

Tiek bendrojoje sportininkų grupėje tiek kontrolinėje grupėje nebuvo nustatyta nuokrypio nuo Hardžio ir Vainbergo dėsnio ($p > 0,06$). Ištvėrmę lavinančių sportininkų grupėje C/C genotipas buvo dažnesnis nei greičio ir jėgos bei žaidimų ir dvikovos sportininkų grupėse. Itin reikšmingas skirtumas nustatytas tarp ištvėrmės (I grupė) ir žaidimų ir dvikovos sportininkų grupės (III grupė) ($p = 0,0001$). Šie rezultatai rodo, kad C/C genotipas gali būti susijęs su aukštesniu aerobiniu pajėgumu, tačiau atlikta MDS statistinė analizė parodė, kad T/T genotipo sportininkai turėjo aukštesnį MDS nei C/C genotipo. Dispersinė (ANOVA) analizė neparodė reikšmingo skirtumo tarp MDS ir skirtingų *AGT* C/T genotipų. Pseudokintamųjų regresijos neatskleidė reikšmingos C/T polimorfizmo genotipų įtakos MDS.

Grupių pagal sportininkų kvalifikaciją genotipų dažnių pasiskirstymo analizė parodė, kad didesnis C/C genotipo dažnis nustatytas elito grupėje lyginant tiek su kitomis kvalifikacijos grupėmis tiek su *AGT* C/C genotipo dažniu kontrolinėje grupėje (12 lentelė). C alelio dažnių pasiskirstymas rodo, kad šis alelis gali būti susijęs su aukštesniais sportiniais pasiekimais.

4.2. *AGTR1* A/C polimorfizmo analizės rezultatų aptarimas.

Azijos populiacijoje *AGTR1* C alelio dažnis yra 3%, europiečių populiacijoje nustatytas 34,8% retojo C alelio dažnis. Lietuvos populiacijoje nustatytas mažesnis C alelio dažnis (27,7%) nei sportininkų grupėje (29,5%) (8 lentelė). Šie rezultatai atitinka Delmonico ir kt. (2005) atlikta tyrimą kuriame taip pat nustatytas didesnis *AGTR1* C alelio dažnis sportininkų grupėje nei kontrolės grupėje. Šie mokslininkai minėtame tyrime nustatė *AGTR1* C/C genotipo sąsają su atsistatymu po fizinio krūvio taigi ir geresne adaptacija prie fizinio streso. [10]

Genotipų dažnių pasiskirstymo palyginimas tarp kvalifikacijos grupių parodė, kad C alelis ir tuo pačiu C/C genotipas yra reikšmingai ($p < 0,01$) dažnesnis elito nei sub-elito grupėje. Šie rezultatai kaip ir nustatytas didesnis C alelio dažnis sportininkų grupėje palyginus su kontroline grupe leidžia daryti prielaidą, kad C alelis gali būti asocijuotas su fiziniu pajėgumu bei aukštesniais pasiekimais pasirinktoje sporto šakoje. Visgi ne-elito grupėje taip pat nustatytas reikšmingai didesnis C alelio dažnis nei sub-elito grupėje ($p < 0,001$). C alelio ir C/C

genotipo dažnis ne-elito grupėje buvo aukštesnis negu elito sportininkų grupėje ($p \leq 0,05$). Tačiau šis rezultatas neprieštaruoja išvadai apie C alelio asociaciją su fiziniu pajėgumu nes ne-elito grupė daugiausiai sudaryta iš jaunimo rinktinių sportininkų, kurie dar neturėjo galimybės pasiekti aukščiausių rezultatų ir ateityje gali būti perkvalifikuoti į elito grupę.

Atlikus MDS rodiklio palyginimą reikšmingų skirtumų tarp kvalifikacijos grupių nenustatyta, tačiau MDS rodiklio kitimas rodė sąsają su sportininkų kvalifikacija. Buvo nustatyta, kad elito grupė turėjo aukštesnį MDS rodiklio vidurkį nei atitinkamai žemesnės kvalifikacijos sub-elito ir ne-elito grupės. Atlikta dispersinė analizė parodė reikšmingus skirtumus tarp MDS rodiklių lyginant *AGTR1* A/A ir C/C sportininkų grupes ($p=0,003$). Reikšmingi skirtumai tarp A/A ir C/C genotipo sportininkų MDS buvo patvirtinti pseudokintamųjų regresijos analize, kuri atskleidė itin reikšmingą sąsają tarp *AGTR1* ir MDS ($p=0,003$). Daugialypės regresijos analizės būdu patvirtinta analizuojant su kitais kintamaisiais. Regresijos rezultatai leidžia daryti prielaidą, jog veiklus *AGTR1* receptorių veikdamas laštelių augimą bei vandens sulaikymą per aldosterono įtaką Na ir tuo pačiu vandens apykaitai organizme yra itin svarbus organizmo adaptacijai ir prisitaikymui prie fizinio krūvio.

4.3. *ACTN3* C/T polimorfizmo analizės rezultatų aptarimas.

Daugelio įvairių mokslinių tyrimų pagrindu skirtingose populiacijose, *ACTN3* yra vertinamas kaip stiprūs genas kandidatas, lemiantys žmogaus fizinį pajėgumą. Todėl šio tyrimo tikslas buvo – įvertinti *ACTN3* C/T polimorfizmo reikšmę Lietuvos didelio meistriškumo sportininkų fiziniam pajėgumui.

K. North ir kt. mano, kad šio geno mutacija galėjo teikti evoliucinį pranašumą natūraliosios aplinkos atžvilgiu, žmonėms persikėlusius iš Afrikos į Aziją ir Europą prieš maždaug 60 tūkst. Metų [22].

Buvo nustatyta, kad *ACTN3* C/T polimorfizmo homozigotinio genotipo dažnis pagal mutantinį alelį (T/T genotipas) skirtingose populiacijose skiriasi nuo 1% Afrikos populiacijose, apie 18% Europos ir iki 25% Azijos populiacijose. Mūsų tyrimo metu Lietuvos populiacijose T/T genotipo dažnis buvo nustatytas 10,4%, sportininkų tarpe 12%. Pagal tyrimo rezultatus, sportininkų grupėje genotipų pasiskirstymas nukrypsta nuo Hardžio ir Vainbergo pusiausvyros. Tačiau nukrypimų nuo lauktų dažnių kontrolinėje grupėje nebuvo nustatyti. Tai leidžia manyti, kad sporte išlieka stipriausieji asmenys (vyksta tam tikra natūralioji atranka). Buvo nustatyta, kad *ACTN3* T/T genotipo dažnis sportininkų grupėje buvo didesnis lyginat su kontrole. Ypač šis

skirtumas išryškėja elitinių sportininkų grupės genotipų dažnius palyginus su kontrolinės grupės asmenų genotipų dažniais. Galima teigti, kad Lietuvos sportininkams būdingas T alelis pagal C/T polimorfizmą, kuris greičiausiai suteikia tam tikrą privalumą. Mes paneigiame daugelio mokslininkų nuomonės, kad C alelis yra susijęs su sportine veikla. Yang ir kt. pirmieji 2003 paskelbė, kad aukščiausios lygos sprinto sportininkų grupėje T/T genotipas yra retas, šie atradimai buvo pakartoti ir patvirtinti Graikų populiacijoje [38]. Buvo nustatyta, kad greičio jėgos sporto šakų sportininkų labai gerų rezultatų pasiekia *ACTN3* C/C ir C/T genotipo sportininkai.

Mokslininkai MacArthur ir kt. 2008 metais genetinio modifikavimo būdu sukūrė pelių liniją be veiklaus *ACTN3* geno raumenyse. Tokių pelių greitosiose skaidulose buvo nustatytas didesnis kiekis kitų fermentų, susijusių su aerobiniu metabolizmu, o tai verčia manyti, kad α -aktinino-3 trūkumas yra kompensuojamas. Šio tyrimo rezultatai rodo, kad *ACTN3* C/T polimorfizmas susijęs ir su ištvermės padidėjimu. Minėtoji mokslininkų grupė tirdama šio polimorfizmo įtaką žmogaus raumenų veiklai bei fiziniam pajėgumui nustatė, kad sportininkų grupėse tarp sprinterių buvo dažnesnis C alelis nei kontrolinėse nesportuojančių asmenų grupėse. Taip pat buvo nustatyta, kad didelio meistriškumo sportininkės turėjo didesnę nei tikėtasi heterozigotinių genotipų dažnį sprinterių tarpe ir mažesnę nei tikėtasi heterozigotinių genotipų dažnį ištvermės sporto grupėje [22]. Mūsų tirtu sportininkų grupėse šis skirtumas nebuvo pastebėtas, tačiau vyrų grupėje mes gavome atvirkštinę tendenciją – greičio jėgos grupėje heterozigotinio genotipo vyrų buvo mažiau negu ištvermės grupėje. Tačiau kaip ir kiti tyrėjai mes pastebėjome genotipų dažniu skirtumą tarp vyrų ir moterų grupių, todėl galima padaryti išvadą, kad *ACTN3* polimorfizmas skirtingai įtakoja vyrų ir moterų fizinių pajėgumą. Kiekvieno asmens MDS lygis priklauso nuo jo fizinio išsivystymo, kurį lemia tiek aplinkos, tiek genetiniai veiksniai, taigi dėl MDS priklausomybės nuo daugelio veiksnių ir nepakankamai didelės tiriamųjų imties reikšmingų rezultatų nenustatyta.

Šiuo metu jau atsirado užsienio laboratorijų, kuriose pagal *ACTN3* polimorfizmą testuojami jauni žmonės ir vaikai, kad pasirinktu tinkamą sportinę veiklą. Tačiau kiekviena populiacija turi savo ypatumus (tokius ypatumus turi ir Lietuva), todėl atsižvelgiant į mūsų tyrimo rezultatus mes negalime siūlyti taikyti tokio - tik pagal *ACTN3* C/T polimorfizmą testavimo Lietuvos sportininkams – reikia taikyti kombinuotą genetinį tyrimą kartu pasirenkant ir kitų genų kandidatų polimorfizmus.

4.4. *AMPD1* C/T polimorfizmo analizės rezultatų aptarimas.

AMPD M izoforma aptinkama greitai susitraukiančiose griaučių raumenų skaidulose. Ši izoforma koduojama *AMPD1* geno. Dėl *AMPD1* C/T polimorfizmo (c.34C>T, p.Q12X) sutrumpėja AMPD1 peptido seka, o tai turi poveikį jo fermentinėms funkcijoms. *AMPD1* T/T genotipo asmenims būdingas mažas fermento AMPD aktyvumas greitai susitraukiančiose raumeninėse skaidulose. Būtent jis gali riboti greičio ir jėgos sporto šakų sportininkų rezultatų augimą. Baltaodžių populiacijose homozigotinis pagal retąjį T/T genotipas nustatomas iki 2% bendrosios populiacijos asmenų, o C/T heterozigotiniai asmenys sudaro iki 20% populiacijos [43]. Kontrolinėje grupėje nustatytas 2,3% T/T genotipų ir 25,8% C/T genotipų dažnis, kuris yra artimas kitų autoorių nustatytiems dažniams.

AMPD1 C/C genotipas siejamas su sportinių rezultatų augimu. 2005 metais J. C. Rubio su bendraautoriais nustatė, kad ištvėrmės reikalaujančių sporto šakų sportininkų C alelio dažnis (95,5%) buvo didesnis negu kontrolinės grupės asmenų (91,5%) [55]. Mūsų tyrimo rezultatai parodė panašias *AMPD1* C/T polimorfizmo genotipų dažnių pasiskirstymo tendencijas. Palyginus alelių dažnių pasiskirstymą tarp grupių buvo nustatyta, kad ištvėrmės reikalaujančių sporto šakų grupėje nustatytas 87,7% C alelio dažnis buvo didesnis nei kitose sporto grupėse ir kontrollinėje grupėje.

Tačiau kai kurie autoriai nustatė, kad AMPD stoka gali būti naudinga ištvėrmės sportininkų fiziniam pajėgumui [62], bei kad *AMPD1* T/T genotipo asmenys gali ir nepatirti jokių simptomų [55]. Šių tyrimų rezultatai padeda paaiškinti, T/T genotipo asmenų gebėjimą pasiekti aukštų sportinių rezultatų. Mūsų tyrime nustatyta, kad T/T genotipo asmenys sudarė 4,1% sub- elito grupės sportininkų, tuo tarpu elito ir ne-elito grupėse T/T genotipo sportininkų nenustatyta. Nors konkrečių įrodymų dar nerasta, tačiau galima manyti, kad greitai susitraukiančiose raumenų skaidulose egzistuoja kompensaciniai mechanizmai, kurie tam tikrais atvejais nesumažina *AMPD1* T/T genotipo įtaką raumenų darbui.

Palyginus genotipų dažnių pasiskirstymą tarp kvalifikacijos grupių nustatyta, jog elito grupėje buvo didesnis C alelio dažnis nei kitose grupėse. Bendra sportininkų grupė kaip ir elito bei ne-elito kvalifikacijos grupės turėjo didesnę C alelio dažnį nei kontrolinė grupė. Taigi galima prielaida, kad C alelis gali būti siejamas su aukštesniais pasiekimais sporto srityje. Manoma, kad *AMPD1* T/T genotipo asmenims būdingas sumažėjęs aerobinis darbingumas, kuris vertinamas pagal MDS. Pastarasis teiginys iš yra patvirtinamas šio tyrimo rezultatais, kuriuose nustatytos didesnės MDS rodiklio reikšmės C/C genotipo sportininkams palyginus su kitų genotipų sportininkais. C/C genotipas taip pat buvo dažnesnis I grupėje nei kitose sporto

grupėse. Didesnės MDS rodiklio reikšmės ir didesnis C/C genotipo dažnis ištvėrėms sporto grupėje rodo, jog C alelis gali būti siejamas ne tik su pasiekimais sporto srityje, tačiau ir konkrečiai su aukštais rezultatais ištvėrėms reikalaujančiose sporto šakose. Visgi dėl reikšmingų skirtumų stygiaus tarp MDS rodiklio skirtingų *AMPDI* C/T polimorfizmo genotipų sportininkuose, negalima daryti galutinės išvados apie aerobinio darbingumo ryšį su *AMPDI* C/T polimorfizmo genotipais. Šio polimorfizmo genotipų įtaka MDS nebuvo patvirtinta ir pseudokintamųjų regresijos metodu. Šio tyrimo rezultatai patvirtina Rubio ir kt. tyrimo rezultatus, kuriuose, kaip ir šiame tyrime, nustatyta, kad nors tarp sportininkų T alelis yra retesnis ir reikšmingai neįtakoja fizinio sportininkų pajėgumo. [55]

4.5. *MB* A/G polimorfizmo analizės rezultatų aptarimas.

Mioglobinas yra svarbus baltymas deguonies apykaitai tarp kraujo ir raumeninio audinio, kurio raiška padidėja hipoksijos sąlygomis. Tibeto aukštikalnių gyventojams buvo nustatytas reikšmingai didesnis *MB* A/G polimorfizmo A alelio dažnis palyginus su jūros lygyje gyvenančiais asmenimis [37]. Nors šio tyrimo duomenimis populiacijoje *MB* A/G polimorfizmo pasiskirstymo dažniai nenukrypo nuo Hardžio Veinbergo pusiausvyros, sportininkų grupėje nustatytas itin ryškus nuokrypis. Tiek kontrolinėje grupėje tiek bendrojoje sporto grupėje nustatyti *MB* A/G polimorfizmo alelių dažniai buvo labai panašūs (16 lentelė). Nors alelių dažnių pasiskirstymas neatskleidė skirtumų tarp sportininkų ir kontrolės grupių, analizuojant genotipų dažnių pasiskirstymą buvo nustatyti reikšmingi skirtumai ($p=0,05$), dėl sporto grupėje esančio didesnio heterozigotinių genotipų dažnio, tuo tarpu kontrolinėje grupėje dažniau buvo nustatomi homozigotiniai A/A ir G/G genotipai.

Reikšmingi skirtumai pastebėti tarp III grupės ir populiacijos ($p=0,006$) dėl III grupėje esančio didesnio G alelio dažnio (III grupė- 52,4%, kontrolė 49.6%). G alelio ryšį su sportiniais pasiekimais rodo jo didesnis dažnis bendrojoje sporto grupėje nei kontrolės grupėje bei didesnis G alelio dažnis elito grupėje palyginus su sub-elito ir ne-elito grupėmis (17 lentelė). Ne-elito grupės genotipų dažnių pasiskirstymas reikšmingai skyrėsi nuo elito ir sub-elito grupių ($p>0,05$), tačiau šiam skirtumui įtaką darė tai, kad ne-elito moterų grupėje nebuvo nustatyta A/A genotipo moterų, greičiausiai dėl mažo bendro sportininkų skaičiaus šioje grupėje. Šie rezultatai sutampa su Moore ir kt. gautais rezultatais, jog jūros lygyje gyvenančių baltaodžių A alelio dažnis nėra reikšmingai didesnis nei G alelio dažnis. Visgi didesnis G alelio dažnis sportininkų grupėje nei kontrolės grupėje, bei didesnis minėtojo alelio dažnis elito grupėje nei

kitos kvalifikacijos grupėse rodo, jog G alelis gali būti svarbus sportininkų fiziniam pajėgumui, ir kad G alelio atsiradimas alaniną koduojančiame triplete įtakoja DNR raišką arba kažkurį iš vėlesnių su iRNR susijusių procesų skatindamas padidėjusią mioglobino sintezę raumenyse.

Reikšmingų MDS rodiklio skirtumų tarp grupių nebuvo pastebėta. Didžiausia vidutinė MDS vertė buvo nustatyta A/G genotipo sportininkams, taigi šio tyrimo rezultatai sutapo su Wu ir kt. (2005) tyrimo rezultatais, kur nebuvo rasta sąsaja tarp elitinių ilgų nuotolių bėgikų ir *MB* A/G polimorfizmo [69]. Šio tyrimo rezultatai taip pat neparodė *MB* A/G polimorfizmų reikšmingos asociacijos su aerobiniu darbingumu ar sportiniais pasiekimais.

4.6. Darbų tęstinumas

Darbo tęstinumas turėtų būti užtikrintas papildant jau ištirtą sportininkų grupę naujais aukšto meistriškumo Lietuvos sportininkais. Norint gauti patikimus rezultatus būtų tikslinga padvigubinti tiek sportininkų tiek kontrolinę grupes. Gauti aiškesnius ir informatyvesnius rezultatus padėtų geresnis sportininkų paskirstymas grupėse, siekiant kad tiek ištvėmės tiek greičio ir jėgos bei komandinių ir dvikovos sporto grupes sudarytų vienodas skaičius asmenų. Idealiu tyrimui atveju kiekvieną sporto grupę turėtų būti įmanoma padalinti į tris lygias dalis pagal kvalifikaciją taip užtikrinant, kad vienos iš kvalifikacijos grupių rodikliams nebus padaryta reikšminga įtaka dėl joje esančios neproporcingai didelės kaž kurios sporto grupės asmenų dalies.

Ištyrus *AGTR1* geno c.1166A>C ir nustatčius itin reikšmingą šio polimorfizmo genotipų įtaką MDS, bei genotipų asociacija su tam tikromis sportininkų grupėmis galima daryti išvadą apie bendrą RAS sistemos įtaką fiziniam pajėgumui. Tęsiant tyrimus šia kryptimi turėtų būti papildomai įtraukiami kiti su RAS sistema susiję genai bei jų variantai. Tarp tokių genų turėtų būti angiotenzino II antro tipo receptoriaus *AGTR2* ir jo c.*501A>C polimorfizmas, bradikinino antro tipo receptoriaus (*BDKRB2*) BE1 polimorfizmas (9bp intarpas arba iškrita), angiotenziną konvertuojančio fermento genas (*ACE*) ir jo variantai.

Taip pat vertėtų į analizę įtraukti daugiau sportininkų pajėgumą apibūdinančių fenotipinių rodiklių siejamų su skirtingomis organizmo adaptacijos prie fizinio krūvio mechanizmais, taip dedaliau išsiaiškinant kiekvieno geno įtaką bendram žmogaus fiziniam pajėgumui.

IŠVADOS

1. Atlikus duomenų bazių ir mokslo publikacijų analizę, genetiniams tyrimams parinkti genų kandidatų polimorfizma, potencialiai įtakojantys žmogaus fizinių pajėgumą:
 - *ACTN3* (α -aktinino-3 genas), c.1747C>T (p.R577X, rs1815739),
 - *AMPD1* (adenozino monofosfato deaminazės raumeninės izoformos genas), c.34C>T (p.Q12X, rs17602729),
 - *MB* (mioglobino genas) c.174G>A (rs7293),
 - *AGT* (angiotenzinogeno genas), c.620C>T (p.T207M, rs4762),
 - *AGTR1* (angiotenzino II pirmo tipo receptoriaus genas), c.1166A>C, (rs5186).
2. Įvertintus genotipų ir alelių dažnių pasiskirstymas tiriamosiose Lietuvos bendrosios populiacijos ir sportininkų grupėse nustatyta:
 - *ACTN3* c.1747C>T polimorfizmo T/T genotipas yra būdingas išsvermę lavinantiems sportininkams.
 - *AMPD1* c.34C>T polimorfizmo C/C genotipas Lietuvos sportininkų grupėje yra susijęs su išsverme.
 - *MB* c.174G>A A/A genotipo Lietuvos sportininkai susiję su sportinių rezultatų augimu bet kurioje sporto šakoje.
 - *AGT* c.620C>T polimorfizmo C/C genotipo Lietuvos sportininkai susiję su išsverme.
 - *AGTR1* c.1166A>C polimorfizmo C/C genotipo sportininkams būdinga greičio ir jėgos savybė.
3. Tirtų genų polimorfizmų genotipų ir MDS asociacijos tyrimai parodė, *AGTR1* c.1166A>C polimorfizmo A/A genotipo statistiškai patikimą asociaciją su didesniu maksimalaus deguonies suvartojimo rodikliu (MDS). Kitų tirtų genų variantų asociacija su MDS rodikliu nenustatyta.
4. Statistiškai patikimas *AGTR1* A/C polimorfizmo genotipų ryšys su MDS rodiklio vertėmis rodo, kad sportininkų genotipo tyrimas pagal šio geno A/C polimorfizmą ankstyvame amžiuje gali būti naudojamas kaip atrankinis jaunų sportininkų tyrimas, sudarantis prielaidas specifinės sporto šakos rekomendavimui. Nustačius A/A genotipą galima rekomenduoti išsvermės reikalaujančias sporto šakas. C/C genotipo sportininkams

patariama rinktis greičio ir jėgos reikalaujančias sporto šakas. Kitų tirtų genų polimorfizmų genotipų naudingumas prognozuojant žmogaus sportinį potencialą nenustatytas.

SANTRAUKA

Genetinių veiksnių, lemiančių žmogaus fizinį pajėgumą, analizė

Tapimas didelio meistriškumo sportininku yra sudėtingas procesas, kuriam įtakos turi ne tik aplinkos ar psichologiniai veiksniai, tačiau ir genetiškai nulemtos fizinio pajėgumo savybės. Fizinis pajėgumas- sudėtinė kiekybinė paveldima savybė, kurios fenotipus įtakoja daug genų bei aplinkos veiksnių. Daugeliu atvejų morfologinės ir funkcinės sportininko savybės yra siejamos su vieno nukleotido polimorfizmais tam tikrame gene. Skirtingi to paties geno aleliai gali turėti skirtingą poveikį asmens fiziniam vystymuisi ir darbingumui.

Maksimalus deguonies suvartojimas (MDS) apibūdina žmogaus fizinį pajėgumą tai yra didžiausią žmogaus kūno gebėjimą transportuoti ir panaudoti deguonį didėjant krūviui treniruočių metu. MDS yra lemiamas daugelio fiziologinių veiksnių vieni svarbiausių iš jų yra širdies ir kraujagyslių, kvėpavimo sistemų veikla bei ją įtakojantys genetiniai veiksniai.

Šio darbo tikslas- parinkti ir įvertinti *AGTR1*, *AGTR2*, *AGT*, *AMPD1*, *MB*, *ACTN3* genų žymenų įtaką žmogaus fiziniam pajėgumui remiantis Lietuvos didelio meistriškumo sportininkų ir kontrolinės grupės analize. Buvo pasirinkti *AGTR1* c.1166A>C, *AGTR2* c.*501A>C, *AGT* c.620C>T, *AMPD1* c.34C>T, *MB* c.174G>A, *ACTN3* c.1747C>T polimorfizmai.

Darbe iširta kontrolinė grupė, sudaryta iš 250 giminiais ryšiais nesusijusių asmenų bei didelio meistriškumo Lietuvos sportininkų grupės (149 sportininkai) sudarytos pagal sportininkų kvalifikaciją ir jų propaguojamą sporto šaką. Sportininkai suskirstyti į tris grupes pagal fizinio darbo trukmę ir sporto šakos specifiškumą: I grupė – ištvermę ugdantys sportininkai, II grupė – greitį ir jėgą ugdantys, III grupė – žaidimų ir dvikovos sporto šakų atstovai. Pagal kvalifikaciją sportininkai suskirstyti į „elito“ – Lietuvos olimpinės rinktinės sportininkai, „sub-elito“ – olimpinio rezervo ir „ne-elito“ grupė – nacionalinės jaunimo rinktinės nariai.

Genotipavimas buvo atliekamas restrikcijos fragmentų ilgio polimorfizmų analizės metodu. Sportininkų aerobinis darbingumas buvo vertinamas MDS rodiklio pagalba.

Tyrimo rezultatai parodė, kad *ACTN3* c.1747C>T polimorfizmo T/T genotipas yra būdingas ištvermę lavinantiems sportininkams. *AMPD1* c.34C>T polimorfizmo C/C genotipas Lietuvos

sportininkų grupėje yra susijęs su išverme. *MB* c.174G>A A/A genotipo Lietuvos sportininkai susiję su sportinių rezultatų augimu bet kurioje sporto šakoje. *AGT* c.620C>T polimorfizmo C/C genotipo Lietuvos sportininkai susiję su išverme. *AGTRI* c.1166A>C polimorfizmo C/C genotipo sportininkams būdinga greičio ir jėgos savybė.

Tirtų genų polimorfizmų genotipų ir MDS asociacijos tyrimai parodė, *AGTRI* c.1166A>C polimorfizmo A/A genotipo statistiškai patikimą asociaciją su didesniu maksimalaus deguonies suvartojimo rodikliu (MDS). Kitų tirtų genų variantų asociacija su MDS rodikliu nenustatyta. Statistiškai patikimas *AGTRI* A/C polimorfizmo genotipų ryšys su MDS rodiklio vertėmis rodo, kad sportininkų genotipo tyrimas pagal šio geno A/C polimorfizmą ankstyvame amžiuje gali būti naudojamas kaip atrankinis jaunų sportininkų tyrimas, sudarantis prielaidas specifinės sporto šakos rekomendavimui. Nustačius A/A genotipą galima rekomenduoti išvermės reikalaujančias sporto šakas. C/C genotipo sportininkams patariama rinktis greičio ir jėgos reikalaujančias sporto šakas. Kitų tirtų genų polimorfizmų genotipų patikimas naudingumas prognozuojant žmogaus sportinį potencialą nenustatytas.

SUMMARY

The analysis of the genetic factors that influence human physical capacity

Although the making of an elite athlete is complex and includes a range of environmental and behavioral factors, genetic predisposition to athleticism is also important. Physical capacity is a typical quantitative complex inheritable, the phenotypes of which are influenced by multiple genes as well as environmental factors. In most of the cases the morphological and functional parameters of an athlete are associated with single nucleotide polymorphisms of a particular gene. Different alleles of the same gene can have distinct effect on a person's physical development and working capacity.

VO₂ max (also maximal oxygen consumption, aerobic capacity) is the maximum capacity of an individual's body to transport and utilize oxygen during incremental exercise, which reflects the physical fitness of the individual. There are many physiological factors that combine to determine VO₂max among the most important of which are the functions of the cardiovascular, pulmonary systems and the underlying genetic factors.

The aim of this study was to choose and assess the influence of the *AGT*, *AGTR1*, *AGTR2*, *AMPD* and *ACTN3* genetic variants on human physical performance by the analysis of Lithuanian elite athletes and the control group. The *AGTR1* c.1166A>C, *AGTR2* c.*501A>C, *AGT* c.620C>T, *AMPD1* c.34C>T, *MB* c.174G>A, *ACTN3* c.1747C>T polymorphisms were chosen for the research.

The study involved the analysis of the elite Lithuanian athlete groups (compiled according to the athlete qualification and their sport orientation (N-149)) and controls (unrelated individuals (N-250)). Genotyping was performed by restriction fragment length polymorphism method (RFLP). The aerobic capacity of athletes was evaluated by using VO₂max.

The results of this research showed that in Lithuanian athlete population the T/T genotype of the *ACTN3* c.1747C>T polymorphism is more characteristic to endurance athletes. The C/C genotype of the *AMPD1* c.34C>T polymorphism is also associated with higher endurance. The A/A genotype of the *MB* c.174G>A polymorphism is associated with higher athletic achievements in any sporting discipline. The C/C genotype of the *AGT* c.620C>T polymorphism is associated with endurance while the *AGTR1* c.1166A>C polymorphism C/C genotyped athletes have characteristic speed and strength.

The association study of the genotypes of the analyzed polymorphisms revealed that the A/A genotype of the *AGTR1* c.1166A>C polymorphism has a statistically significant association with a high VO₂max index. No association of the other researched polymorphisms with the VO₂max index was determined. A statistically significant association of the *AGTR1* c.1166A>C polymorphism with the VO₂max index shows that the genotyping of young athletes according to the *AGTR1* c.1166A>C polymorphism could be used as a recommendatory index to suggest a specific type of sport to a young athlete. A/A genotype athletes would be suggested to choose endurance sports while the C/C genotyped athletes would be recommended to choose speed and strength requiring sports. A lack of significant association of other polymorphism genotypes with VO₂max does not suggest that they could be used to predict physical potential of an athlete help predict the optimal sport for a young athlete.

LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. Alvarez R, Terrados N, Ortolano R et al. Genetic variation in the renin-angiotensin system and athletic performance. *Eur J Appl Physiol* 2000; 82: 117–120.
2. Amir O, Amir R, Yamin C, Attias E, Eynon N, Sagiv M, et al. The *ACE* deletion allele is associated with Israeli elite endurance athletes *Experimental Physiology* 2007; 92.5: 881-886.
3. Bassett DR Jr., Howley ET (2000). Limiting factors for maximum oxygen uptake and determinants of endurance performance. *Medicine & Science in Sports & Exercise* 32, 70-84
4. Beunen G, Thomis M Gene driven power athletes? Genetic variation in muscular strength and power. *British Journal of Sports Medicine* 2006; 40: 822–3.
5. Billat VL, Flechet B, Petit B, et al. Interval training at VO₂max effects on aerobic performance and overtraining markers. *Med Sci Sports Exerc* 1999; 31, 156 – 63
6. Bouchard, C., F. T. Dionne, J. Simoneau, and M. R. Boulay. Genetics of aerobic and anaerobic performances. In: *Exercise and Sport Sciences Reviews*, edited by John O. Holloszy. Baltimore, MD: Williams & Wilkins, 1992, p. 27-58.
7. Cassis L, Helton M, English V, Burke G. Angiotensin II regulates oxygen consumption. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2002; 282: 445–453.
8. Clarkson PM, Devaney JM, Gordish-Dressman H, Thompson PD, Hubal MJ., Price TB, et al. ACTN3 genotype is associated with increases in muscle strength in response to resistance training in women. *J Appl Physiol* 2005; 99: 154–163.
9. Convertino V. Blood Volume; its adaption to endurance training. *Med Sci Sports Exerc* 1991; 23, 1338 – 48
10. Delmonico MJ, Ferrell RE, Meerasahib A, Martel GF, Roth SM, Kostek MC, Hurley BF. Blood pressure response to strength training may be influenced by angiotensinogen A-20C and angiotensin II type I receptor A1166C genotypes in older men and women *J Am Geriatr Soc.* 2005 Feb;53(2):204-10
11. Deng L, Bosse Y, Brown N, Chin LY, Connolly SC, Fairbank NJ, King GG, Maksym GN, Paré PD, Seow CY, Stephen NL. Stress and strain in the contractile and cytoskeletal filaments of airway smooth muscle. *Pulm Pharmacol Ther.* 2009 May 3.

12. D'ioie FT, Turcotte L, Thilbault MC, Boulay MR, Skinner JS, Bouchard C. Mitochondrial DNA sequence polymorphism, VO₂max, and response to endurance training. *Med. Sci. Sports Exerc.* 23:177–185, 1991.
13. Foster C. VO₂ max and training indices as determinants of competitive running performance. *Journal of Sports Sciences*, Volume 1, Issue 1 Spring 1983 , pages 13 - 22
14. Ginevičienė V, Kučinskas V, Kasnauskienė J. Genai, susiję su sportuojančio asmens fiziniu pajėgumu: literatūros apžvalga. *Laboratorinė medicina* 2008, t. 10, Nr. 1(37), p. 33–39.
15. Ginevičienė V, Kučinskas V, Kasnauskienė J. The angiotensin converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism in Lithuanian professional athletes. *Acta Medica Lithuanica*. 2009, 16 (1), 11-16.
16. Ginevičienė V, Kučinskas V, Kasnauskienė J, Pranckevičienė E, Milašius K. Lietuvos didelio meistriškumo sportininkų *ACE* ir *PGC1A* genetinių variantų reikšmė fiziniam pajėgumui. *Sporto mokslas*. 2009; 3(57), 6-13.
17. Goymer P, Synonymous mutations break their silence. *Nature Reviews Genetics* 8, 92 (February 2007)
18. Gordon S, Davis B, Carlson C, Both F. Ang II is required for optimal overload-induced skeletal muscle hypertrophy. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2001; 280: 150–159.
19. Hagberg JM, Moore GE, Ferrell RE (2001). Specific genetic markers of endurance performance and VO₂max. *Exercise and Sport Science Reviews* 29(1), 15-19
20. Hartwell H. Physical activity-you say jump and I will ask how high. *Perspect Public Health*. 2009 May;129(3):98
21. Hickson RC, Kanakis Jr C, Davis JR, Moore AM, Rich S. Reduced training duration effects on aerobic power, endurance, and cardiac growth. *Journal of Applied Physiology*, Vol 53, Issue 1 225-229, 1982
22. Yang N, MacArthur DG, Gulbin JP, Hahn AG, Beggs AH, Eastal S, North K. *ACTN3* genotype is associated with human elite athletic performance. *Am J Hum Genet* 2003; 73: 627-631.
23. Jones A, Woods D. Skeletal muscle RAS and exercise performance. *Int J Biochem Cell Biol* 2003; 35: 855–866.
24. Jones A, Montgomery HE, Woods DR. Human performance: a role for the ACE genotype? *Exerc Sport Sci Rev* 2002; 30: 184–90.

25. Karjalainen J, Kujala UM, Stolt A et al. Angiotensinogen Gene M235T polymorphism predicts left ventricular hypertrophy in endurance athletes. *J Am Coll Cardiol* 1999; 34: 494–499.
26. Kasikcioglu E, Kayserilioglu A, Ciloglu F, et al. Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism, left ventricular remodeling, and exercise capacity in strength-trained athletes. *Heart Vessels*. 2004;19:287–93.
27. Komar AA. SNPs, Silent But Not Invisible. *Science* 26 January 2007: Vol. 315. no. 5811, pp. 466 – 467
28. Kučinskis V. Genetika. Šviesa, Kaunas, 2001.
29. Kuklys V, Blauzdys V. Kūno kultūros teorijos ir metodikos terminai bei sąvokos. Mokymo priemonė kūno kultūros specialybės studentams. Vilnius 2000: 4-88.
30. Lees KR, MacFadyen RJ, Doig JK, Reid JL "Role of angiotensin in the extravascular system". *Journal of human hypertension*; 1993
31. Lucia A, Martin MA, Esteve-Lanao J, San Juan AF, Rubio JC, Oliván J, Arenas J. C.34C>T mutation of the *AMPDI* gene in an elite white runner. *British Journal of Sports Medicine* 2006; 40: 7–10.
32. Maeda S, Murakami H, Kuno S, Matsuda M, Murakami K. Individual variations in exercise training-induced physiological effects and genetic factors. *International Journal of Sport and Health Science* 2006; 4: 339–47.
33. McCole SD, Brown MD, Moore GE, Ferrell RE, Wilund KR, Huberty A, et al. Angiotensinogen M235T polymorphism associates with exercise hemodynamics in postmenopausal women. *Physiol. Genomics* 2002. 10: 63-69
34. Myerson S, Hemingway H, Budget R, et al: Human angiotensin I-converting enzyme gene and endurance performance. *J Appl Physiol* 1999;87:1313–1316.
35. Montgomery HE, Marshall RM, Hemingway H, et al. Human gene for physical performance. *Nature* 1998; 393: 221–222.
36. Mooren FC, Völker K. Molecular and Cellular Exercise Physiology. In: *Human kinetics*, 2005. p. 45–54.
37. Moore LG, Zamudio S, Zhuang J, Droma T, Shohet RV. Analysis of the myoglobin gene in Tibetans living at high altitude. *High Alt Med Biol*. 2002 Spring;3(1):39-47.
38. Moran CN, Yang N, Bailey MS, Tsiokanos A, Jamurtas A, MacArthur DG, North K, Pitsiladis YP, Wilson RH. Association analysis of the *ACTN3* R577X polymorphism and complex quantitative body composition and performance phenotypes in adolescent Greeks *European Journal of Human Genetics* 2007; 15: 88–93.

39. Christoph K. Naber; Johannes Hüsing; Ulrich Wolfhard; Raimund Erbel; Winfried Siffert . Interaction of the *ACE D* Allele and the *GNB3 825T* Allele in Myocardial Infarction *Hypertension*. 2000;36:986
40. Nazarov IB, Woods DR, Montgomery HE, et al: The angiotensin converting enzyme I/D polymorphism in Russian athletes. *Eur J Hum Genet* 2001;9:797–801.
41. Niemi AK, Majamaa K. Mitochondrial DNA and ACTN3 genotypes in Finnish elite endurance and sprint athletes. *European Journal of Human Genetics* 2005; 13: 965–969
42. Niu T, Chen C, Yang J, Wang B, Wang Z, Schork N, Fang Z, Xu X. Blood pressure and the T207M and M235T polymorphisms of the angiotensinogen gene. *Ann Epidemiol*. 1999 May;9(4):245-53.
43. Norman B, Glenmark B, Jansson E. Muscle AMP deaminase deficiency in 2% of healthy population. *Muscle Nerve* 1995;18:239–41.
44. Okuda E, Horii D, Kanou T. Genetic and environmental effects on physical fitness and motor performance. *International Journal of Sport and Health Science* 2005; 3: 1–9.
45. Payne J, Montgomery H. The renin–angiotensin system and physical performance. *Biochemical Society Transactions* 2003; 31; 6: 1286- 1289.
46. Poderys J, Visagurskienė K. Sporto mokslo formavimosi ypatumai pagal modelį „Praeitis – dabartis - ateitis“ *Sporto mokslas* 2006.
47. Poderys J, Seibutienė A, Vainoras A, Tutkus E. *Kineziologijos pagrindai*. KMU leidykla. Kaunas 2004.
48. Rankinen T, Pérusse L, Rauramaa R, Rivera MA, Wolfarth B, Bouchard C. The human gene map for performance and health-related fitness phenotypes: the 2001 update. *Special Report Medicine & Science in Sports & Exercise* 2002; 34(8): 1219–33.
49. Rankinen T, Bray M, Hagberg JM, Perusse L, Roth SM, Wolfarth B, Bouchard C. The Human Gene Map for Performance and Health-Related Fitness Phenotypes: The 2005 Update. *Med Sci Sports Exerc* 2006; 38(11): 1863–88.
50. Rankinen T, Gagnon J, Pérusse L, Rice T, Leon AS, Skinner JS, Wilmore JH, Rao DC, Bouchard C. Body fat, resting and exercise blood pressure and the angiotensinogen M235T polymorphism: the heritage family study *Obes Res*. 1999 Sep;7(5):423-30.
51. Rico-Sanz J, Rankinen T, Joanisse DR, et al. Associations between cardiorespiratory responses to exercise and the C.34C>T AMPD1 gene polymorphism in the HERITAGE Family Study. *Physiol Genomics*. 2003;14:161–6.
52. Roth SM. *Genetics Primer for Exercise Science and Health*. Primers in Exercise Science Series. In: *Human kinetics*, 2007; 113–27.

53. Rubio JC, Martin MA, Rabadan M, et al. Frequency of the C34T mutation of the *AMPD1* gene in World-class endurance athletes: does this mutation impair performance? *J Appl Physiol* 2005;98:2108–12
54. Sethupathy P, Borel C, Gagnebin M, Grant GR, Deutsch S, Elton TS, et al. Human microRNA-155 on Chromosome 21 Differentially Interacts with Its Polymorphic Target in the AGTR1 3' Untranslated Region: A Mechanism for Functional Single-Nucleotide Polymorphisms Related to Phenotypes *The American Journal of Human Genetics*, Volume 81, Issue 2, 405-413, 1 August 2007
55. Skernevičius J, Raslanas A, Dadelienė R. *Sporto mokslo tyrimų metodologija*. Vilnius 2004: 211-214.
56. Skinner JS. Do genes determine champions? *Sports Science Exchange* vol. 14 (2001) Nr. 4. 83
57. Read A, Strachan T. 3rd edition. *Human molecular genetics*, 2003
58. Saunders CJ, September AV, Xenophontos SL, Cariolou MA, Anastassiades LC, Noakes TD, Collins M. No Association of the ACTN3 Gene R577X Polymorphism with Endurance Performance in Ironman Triathlons. *Ann Hum Genet.* 2007 Nov; 71 (Pt 6): 777-81. Epub 2007 Jul 12.
59. Scriver C, Beaudet AL, Valle D, Sly WS, Vogelstein, B, Childs, B, et al. “Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease”. Chapter 110, Pt11: 2627-2635. 2007
60. Tabata I, Irisimana K, Kouzaki M, et al. Metabolic profile of high intensity intermittent exercises. *Med Sci Sports Exerc* 1997; 29, 390 –5
61. Takata T, Miyashi S, Yamamoto Y, Inagaki S, Yoshitome K, Ishikawa T, Ishizu H. Allele Frequencies of single nucleotide polymorphisms in the second exon of the myoglobin gene among the Japanese. *Hum Biol.* 2002 Apr; 74(2):317-20.
62. Tarnopolsky MA, Parise G, Gibala MJ, Graham TE, Rush JW. Myoadenylate deaminase deficiency does not affect muscle anaplerosis during exhaustive exercise in humans. *Journal of Physiology* 2001; 533.3; 881–889.
63. Thompson WR, Binder-Macleod SA. Association of genetic factors with selected measures of physical performance. *Phys Ther* 2006; 86: 585–91.
64. Vincent B, De Bock K, Ramaekers M, Van den Eede E, Van Leemputte M, Hespel PJ, Thomis M. The ACTN3 (R577X) genotype is associated with fiber type distribution. *Physiol Genomics* 2007; 11
65. Weller P, Jeffreys AJ, Wilson V, Blanchetot A. Organization of the human myoglobin gene. *The EMBO Journal* vol.3 no.2 pp.439-446, 1984

66. Whipp BJ, Ward SA, Lamarra N, et al. Parameters of ventilatory and gas exchange dynamics during exercise. *J Appl Physiol* 1982; 52, 1506 – 13
67. Wittenberg BA, Wittenberg JB, Caldwell PR. Role of myoglobin in the oxygen supply to red skeletal muscle. December 10, 1975 *The Journal of Biological Chemistry*, 250, 9038-9043.
68. Wolf G; Wenzel U O. Angiotensin II and Cell Cycle Regulation, *Hypertension*. 2004;43:693-698
69. J Wu, Y Hu, G Liu, and D Zhou SNP A79G in the second exon of the myoglobin gene in elite long distance runners *Br J Sports Med*. 2005 October; 39(10): 781–782.