



VILNIAUS UNIVERSITETO
MEDICINOS FAKULTETO
ŽMOGAUS IR MEDICININĖS GENETIKOS KATEDRA

MAGISTRO DARBAS

GENŲ VARIANTŲ, LEMIANČIŲ ŽMOGAUS RAUMENŲ ADAPTACIJĄ PRIE FIZINIŲ
KRŪVIŲ, ANALIZĖ

Magistrantas

MATAS NORVYDAS

(parašas)

Darbo vadovė

Dr. VALENTINA GINEVIČIENĖ

(parašas)

VU MF Žmogaus ir medicininės
genetikos katedros vedėjas

prof. (HP) dr. ALGIRDAS UTKUS

leidžiama ginti

(parašas)

Darbo įteikimo data _____

Registracijos Nr. _____

2017

TURINYS

SANTRUMPOS.....	4
ĮVADAS	5
1. LITERATŪROS APŽVALGA.....	7
1.1. Fizinis pajėgumas ir jo reikšmė žmogui.....	7
1.2. Genetinių veiksnių reikšmė fizinio pajėgumo komponentams.....	8
1.3. DNR variacijų, svarbių fiziniam pajėgumui, paieškos	11
1.4. Raumenų adaptaciją prie fizinių krūvių lemiančių genetinių variantų apžvalga.....	13
1.4.1. Kreatinkinazės reikšmė raumenų homeostazėje.....	14
1.4.1.1. Kreatinkinazės raumenų subvieneto (CKM) geno ir jo sekos varianto reikšmė fiziniam pajėgumui	15
1.4.2. Raumenims specifinės adenozino monofosfato deaminazė, ją koduojantis genas (<i>AMPDI</i>) ir jo sekos varianto reikšmė fiziniam pajėgumui	16
1.4.3. Mioglobinas, jį koduojantis genas (<i>MB</i>) ir jo sekos varianto reikšmė fiziniam pajėgumui	18
1.4.4. Miostatinas, jį koduojantis genas (<i>MSTN</i>) ir jo sekos varianto reikšmė fiziniam pajėgumui	20
1.4.5. Miozino fosfatazės-Rho sujungiantis baltymas ir jo funkcijos	24
1.4.5.1. Miozino fosfatazės-Rho sujungiantį baltymą koduojantis genas ir jo sekos varianto reikšmė fiziniam pajėgumui	26
2. TYRIMO METODAI IR APIMTIS	26
2.1. Tiriamieji	26
2.2. Įranga ir medžiagos	27
2.3. Metodai.....	29
2.3.1. DNR išskyrimas bei kiekio ir grynumo įvertinimas.....	29
2.3.2. Genetinių žymenų tyrimo metodai	30
2.3.2.1. Restrikcijos fragmentų ilgio polimorfizmo tyrimas.....	30
2.3.2.2. Tikro laiko polimerazės grandininė reakcija	36
2.4. Duomenų statistinė analizė	39
2.4.1. Alelių ir genotipų dažnio skaičiavimas	39
2.4.2. Statistinė analizė.....	41
3. TYRIMO REZULTATAI.....	43
3.1. Genetinių žymenų parinkimas	43
3.2. Fenotipinių rodiklių analizė	43
3.3. <i>CKM</i> geno c.*800A>G (rs8111989) polimorfizmo tyrimo rezultatai.....	45

3.4. <i>AMPD1</i> c.133C>T (rs17602729) polimorfizmo tyrimo rezultatai.....	50
3.5. <i>MB</i> c.174G>A (rs7293) polimorfizmo tyrimo rezultatai	54
3.6. <i>MSTN</i> c.458A>G (rs1805086) polimorfizmo tyrimo rezultatai.....	59
3.7. <i>MPRIP</i> c.219+14693G>A (rs6502557) polimorfizmo tyrimo rezultatai.....	61
4. REZULTATŲ APTARIMAS.....	66
4.1. Lietuvos sportininkų fenotipinių rodiklių analizės rezultatų aptarimas.....	66
4.2. <i>CKM</i> geno c.*800A>G (rs8111989) polimorfizmo tyrimo rezultatų aptarimas.....	67
4.3. <i>AMPD1</i> geno c.133C>T (rs17602729) polimorfizmo tyrimo rezultatų aptarimas	70
4.4. <i>MB</i> geno c.174G>A (rs7293) polimorfizmo tyrimo rezultatų aptarimas.....	73
4.5. <i>MSTN</i> geno c.458A>G (rs1805086) polimorfizmo tyrimo rezultatų aptarimas	75
4.6. <i>MPRIP</i> geno c.219+14693G>A (rs6502557) polimorfizmo tyrimo rezultatų aptarimas ..	77
IŠVADOS	78
SANTRAUKA.....	80
SUMMARY.....	81
LITERATŪROS SĄRAŠAS	83
PRIEDAI.....	93

SANTRUMPOS

- AARG** – anaerobinis alaktatinis raumenų galingumas
- ActRIIB** – 2b tipo aktivino receptorius (*angl. Activin receptor type-2B*)
- ADF** – adenzindifosfatas
- AMF** – adenzino monofosfatas
- AMPD** – adenzino monofosfato deaminazė
- AMPD1** – raumenims specifinės adenzino monofosfato deaminazės genas (*angl. Adenosine monophosphate deaminase 1*)
- AMPD2** – kepenų ląstelėms specifinės adenzino monofosfato deaminazės genas (*angl. Adenosine monophosphate deaminase 2*)
- AMPD3** – eritrocitams specifinės adenzino monofosfato deaminazės genas (*angl. Adenosine monophosphate deaminase 3*)
- ATF** – adenzino trifosfatas
- BMP1** – kaulų morfogenetinis baltymas 1 (*angl. Bone morphogenetic protein 1*)
- Cdks** – nuo ciklinų priklausomos kinazės (*angl. Cyclin-dependent kinases*)
- cGMF** – ciklinis guanozinmonofosfatas
- CK-BB** – kreatinkinazės smegenų izoforma
- CKM** – kreatinkinazės raumenų subvieneto genas (*angl. Creatinkinase muscle subunit*)
- CK-MB** – kreatinkinazės širdies raumens izoforma
- CK-MM** – kreatinkinazės griaučių raumenų izoforma
- DNR** – deoksiribonukleorūgštis
- dNTF** – deoksiribonukleozido 5' trifosfatai
- DPSJ** – dešinės plaštakos suspaudimo jėga
- GDF8** – augimo diferenciacijos veiksnys 8 (*angl. Growth differentiation factor 8*)
- GWAS** – plataus masto genomo asociacijos tyrimai (*angl. Genome-wide association study*)
- H-V** – Hardžio ir Vainbergo pusiausvyra
- IMF** – inozino monofosfatas
- kDa** – kilodaltonas
- KF** – kreatinfosfatas
- KMI** – kūno masės indeksas
- KPSJ** – kairės plaštakos suspaudimo jėga
- MB** – mioglobino genas (*angl. Myoglobin*)
- MBS** – miozino jungimosi subvienetas (*angl. Myosin binding subunit*)
- MDS** – maksimalus deguonies suvartojimas
- MGB** – mažojo DNR griovelio rišiklis (*angl. Minor groove binder*)
- MLC** – reguliacinė miozino lengvoji grandinė (*angl. Myosin regulatory light chain*)

MLCK – miozino lengvųjų grandinių kinazė (*angl. Myosin light chain kinase*)
MLCP – miozino lengvųjų grandinių fosfatazė (*angl. Myosin light chain phosphatase*)
MPRIP – miozino fosfatazės-Rho sujungiančio baltymo genas (*angl. Myosin phosphatase rho interacting protein*)
M-RIP – miozino fosfatazės-Rho sujungiantis baltymas
MSTN – miostatino genas (*angl. Myostatin*)
PAX7 – *angl. Paired box protein 7*
PGR – polimerazės grandininė reakcija (*angl. Polymerase chain reaction*)
PH – plekstrino homologijos domenas
pO₂ – dalinis deguonies slėgis
PP1 – baltymų fosfatazė 1 (*angl. Protein phosphatase-1*)
Rb – retinoblastomos baltymas
RhoA – ras homologo geno šeimos kinazė A (*angl. Ras homolog gene family, member A*)
ROCK – su Rho-asocijuota baltymų kinazė (*angl. Rho-associated protein kinase*)
Scmit-CK – kreatinkinazės sarkomerinė izoforma (*angl. sarcomeric mitochondrial creatine kinase*)
TGF-β – transformuojantis augimo veiksnys β (*angl. Transforming growth factor β*)
TL-PGR – tikro laiko polimerazės grandininė reakcija (*angl. Real-time polymerase chain reaction*)
Umit-CK – paplitusi mitochondrinės kreatinkinazės izoforma (*angl. Ubiquitous mitochondrial creatine kinase*)
VIF – dispersijos mažėjimo daugiklis
VNP – vieno nukleotido polimorfizmas
VRSG – vienkartinis raumenų susitraukimo galingumas
VU MF ŽMGK – Vilniaus universiteto Medicinos fakulteto Žmogaus ir medicininės genetikos katedra

IVADAS

Sportininkai, siekdami užtikrinti, kad visi audiniai, organai ir jų sistemos pasiektų kaip įmanoma didesnę darbo efektyvumą, specializaciją ir tikslumą, treniruojami. Maratono bėgikai treniruoja širdies ir kraujagyslių sistemos pajėgumą, bei raumenų ištvermę. Sprinto rungties bėgikai treniruoja judesių koordinaciją ir raumenų galingumą. Treniruotės yra svarbus veiksnys, nulemiantis sėkmę sporte, tačiau tai tik vienas iš daugelio komponentų, formuojančių elitinio sportininko fizinį pajėgumą. Tarp šių, fizinį pajėgumą sąlygojančių komponentų, dar kiaušialąstės apvaisinimo metu, nulemiama individo genomo sandara išsiskiria kaip vienas svarbiausių, bet mažiausiai suprantamų komponentų. Sportininkai, kurie pasiekė aukštumas sporte, yra pavyzdys,

kaip žmogaus genominiai ir epigenominiai veiksniai sąveikauja su treniruočių režimu, mitybos įpročiais, gyvenimo būdu ir kitais aplinkos nulemtais veiksniais, suformuodami tam tikrai sporto rungčiai palankiausias fenotipines savybes. Galima teigti, kad raumenų adaptacijos procesai, kurie vyksta priklausomai nuo raumenų veiklos ypatybių ir genetinio polinkio, yra geriausias audinio gebėjimo reaguoti į aplinką ir prisitaikyti prie jos pavyzdys [1]. Tai lemia mokslininkų susidomėjimą genetiniais veiksniais, lemiančiais žmogaus raumenų adaptaciją prie fizinių krūvių.

Fizinio parengtumo lavinimas, žinių kaupimas bei jomis paremtų metodikų gausėjimas, lemia vis geresnį sportininkų pasiruošimą varžyboms. Šiais laikais fizinio lavinimo metodikas siekiama papildyti supratimu apie fizinio pajėgumo genetinius pagrindus [2]. Pasiekimai molekulinės biologijos srityje bei technologinis progresas palengvino DNR sričių, kaip manoma, turinčių įtakos fizinio pajėgumo savybėmis, paiešką [3]. Dabar jau žinomi 155 geno sekos variantai, susiję su elitinių sportininkų pajėgumo savybėmis. Iš jų, 93 susiję su ištvėrmės savybėmis, o 62 su greičio ir jėgos savybėmis [4]. Nepaisant šių pasiekimų, genetiniai fizinio pajėgumo tyrimai yra laikoma nauja tyrimų sritimi. Todėl šiuo metu sukauptos žinios yra tik pradinės išvalgos į žmogaus fizinio pajėgumo genetinius pagrindus. Taigi, kiekvienas papildomas tyrimas yra svarbus suteikiant naujų idėjų ir gilesnį supratimą [3]. Manoma, kad išsamiai išanalizavus žmogaus genomo dalį, atsakingą už fizinio pajėgumo fenotipus, bus galima tiksliai įvertinti individualiai įgimus funkcinio pajėgumo skirtumus, įvertinti sportininko organizmo tinkamumą vienai ar kitai sportinei veiklai, prognozuoti jo sportinę raidą. Be to, tai prisidės gerinant sportininkų treniruočių programas ir nulems efektyvesnį fizinio aktyvumo naudojimą lėtinių ligų prevencijai ir gydymui, nes visa tai tiesiogiai susiję su informacija apie žmogaus sveikatą, su bendra gyvenimo kokybe vyresniame amžiuje ir net gyvenimo trukme [5]. Dėl šių priežasčių, sporto genetika nuolat plėtojama, keliamos naujos hipotezės, ieškomi nauji fizinį pajėgumą įtakojantys genai kandidatai.

Darbo tikslas: Ištirti ir įvertinti genų variantų, lemiančių žmogaus raumenų adaptaciją prie fizinių krūvių, įtaką Lietuvos aukšto meistriškumo sportininkų fizinio pajėgumo savybėms.

Darbo uždaviniai:

1. Remiantis literatūros ir bioinformacine duomenų bazių analize, parinkti genus, įtakojančius raumenų adaptaciją prie fizinių krūvių, ir jų kandidatines sritis, kaip manoma, susijusias su žmogaus fiziniu pajėgumu.
2. Darbui parinkti molekulinį genetinį tyrimo metodą ir optimizuoti jo sąlygas bei atlikti DNR genotipavimą pagal pasirinktas kandidatines genų sritis Lietuvos aukšto meistriškumo sportininkų grupėje ir kontrolinėje nesportuojančių asmenų grupėje.

3. Atlikti atvejo-kontrolės ir genotipo-fenotipo asociacijų analizę ir remiantis jos rezultatais įvertinti pasirinktų genų variantų įtaką Lietuvos aukšto meistriškumo sportininkų fizinio pajėgumo savybėms.

1. LITERATŪROS APŽVALGA

1.1. Fizinis pajėgumas ir jo reikšmė žmogui

Fizinis pajėgumas – tai žmogaus gebėjimas kuo veiksmingiau dirbti tam tikrą fizinį darbą [6]. Ši savybė siejama su fiziologine organizmo būseną, kuri lemia gerą savijautą ir leidžia įveikti kiekvieną dieną išskylančias užduotis, arba formuoja sportininko pajėgumo pagrindą [7].

Fizinis pajėgumas svarbus sportininkams įveikti fizinius krūvius, varžytis tarpusavyje, siekti aukštų rezultatų. Fizinį pajėgumą apibūdina gera kraujotakos ir kvėpavimo sistemos veikla, medžiagų apykaitos ir nervų sistemos ypatumai, judėjimo įgūdžiai, raumenų jėga ir ištvermė, kūno sandara [6]. Tai patvirtina fizinio krūvio metu sportininko organizme vykstantys adaptaciniai fiziologiniai pokyčiai. Jų metu pakinta viso kūno temperatūra, sekretuojamas prakaitas, padidėja deguonies, vandens ir maistinių medžiagų įsisavinimas. Ląsteliniame lygmenyje adenosino trifosfato (ATF) hidrolizė tiekia energiją raumeninių ląstelių sarkomeruose esančių aktinino ir miozino molekulių tarpusavio sąveikai. Prisitaikyme prie fizinio krūvio dalyvauja ir daugelis organų. Širdis pradeda intensyviau dirbti ir išstumia didesnę kraujo tūrį, kuris aprūpina raumeninį audinį deguonimi ir anglies substratais, kartu pašalindamas iš jo anglies dioksidą, laktatą ir perteklinę šilumą. Smegenys adaptacijoje dalyvauja reguliuodamos plaučių ventiliaciją, tačiau yra veikiamos padidėjusios laktato koncentracijos ir aukštesnės kraujo temperatūros. Tai lemia medžiagų apykaitos pokyčius nervinėse ląstelėse. Smegenys taip pat kontroliuoja raumenų koordinaciją ir, svarbiausia, nulemia sportininko motyvaciją įdėti milžiniškas pastangas, nepaisant pakilusios temperatūros smegenyse, organizmo terpės parūgštėjimo, išsekimo, o kartais net skausmo. Šis įvairiakomponentis kūno atsakas į fizinį krūvį koordinuojamas hormonų ir nervų sistemos [8]. Atsižvelgiant į tai, kiek skirtingų kūno sistemų sąveikauja, fizinis pajėgumas laikomas viena iš sudėtingiausių žmogaus savybių [9].

Fizinis pajėgumas nėra pastovus. Jam būdingas lavėjimas. Dažno kūno prisitaikymo prie fizinio krūvio sukelti hemodinaminiai pokyčiai bei hormoninis fonas yra stiprūs dirgikliai daugeliui organų sistemų. Todėl, priklausomai nuo fizinės veiklos intensyvumo, dažnumo bei trukmės, ilgalaikis treniruočių režimas geba žmogaus kūne sukelti įvairius funkcinius ir struktūrinius pakitimus. Tai įvairiuose organizmo lygmenyse pasireiškiantis prisitaikymas. Atskirų organų lygmenyje ši adaptacija daugiausiai pasireiškia širdies raumens bei griaučių

raumenų hipertrofija, padidėjusiu kapiliarų tankumu raumeniniame audinyje, kaulų sutvirtėjimu, tačiau, literatūros duomenimis, įvairūs pokyčiai vyksta ir smegenyse, virškinamojo trakto organuose [10]. Lašteliniame lygmenyje treniruočių krūvio sukeltus adaptacinius pokyčius atspindi kontraktilinių baltymų ir jų funkcijos pokyčiai, padidėjęs mitochondrijų funkcionalumas, pakitusi medžiagų apykaitos reguliacija [11]. Kartu visi šie prisitaikymo mechanizmai lemia efektyvesnę organizmo homeostazę fizinės apkrovos metu ir, todėl formuoja profesionalių sportininkų fizinio pajėgumo pagrindą.

Profesionalūs sportininkai, dalyvaujantys nacionalinio ar tarptautinio lygio tam tikros rungties varžybose, vadinami elitiniais sportininkais [12]. Pastaruoju metu, ši unikali žmonių grupė telkia mokslininkų dėmesį dėl savo ilgaamžiškumo ir geros sveikatos savybių. Neseniai Garatachea ir kitų atlikta literatūros metaanalizė atskleidė, kad elitiniai sportininkai gyvena ilgiau nei bendros populiacijos atstovai. Be to, jiems būdinga mažesnė rizika sirgti širdies ir kraujagyslių ligomis bei vėžiniais susirgimais [13]. Pasak kitų tyrėjų, fizinis pajėgumas įvardijamas ir kaip daugelio kitų lėtinių ligų bei su jomis susijusios ankstyvos mirties riziką mažinantis veiksnys [7]. Tai parodo, jog gilesnis supratimas apie organizmo adaptaciją prie fizinio krūvio turi potencialą ne tik gerinant sportininkų rezultatus, bet ir didinant tiek bendros, tiek specifinėmis ligomis sergančių žmonių populiacijos sveikatingumą [9]. Tai lemia didelį mokslininkų bendruomenės susidomėjimą fiziniu pajėgumu ir jį lemiančiais veiksniais.

1.2. Genetinių veiksnių reikšmė fizinio pajėgumo komponentams

Šiuo metu žinoma, kad fizinis pajėgumas yra daugiaveiksnis reiškinys, kuris yra nulemtas daugelio vidinių (pvz., genetika, motorinė funkcija, fiziologinės ir psichologinės savybės), išorinių (pvz., treniruotės, mityba ir bendra sveikatos būklė) veiksnių ir sąveikos tarp jų. Nors neįmanoma nustatyti unikalios formulės, padėsiančios kiekvienam tapti sėkmingu sportininku, vis dėlto priitariama, kad įsipareigojęs ir pasišventęs treniruotėms individas gali pagerinti savo fizinį parengtumą. Taigi, norint tapti aukščiausio lygio sportininku, daugelio metų organizuota ir griežta treniruočių programa yra būtina. Tačiau tai irgi neužtikrina visiškos sėkmės. Tuo tarpu keletas individų atrodo išskirtinai talentingi ir demonstruoja nepaprastai aukštą sportinį pajėgumą dar prieš pradėdant treniruotis, pasižymi geresniu atsaku į fizinį krūvį ar geba pastoviai palaikyti aukštą fizinį pajėgumą per visą sportinę karjerą [3]. Faktas, kad elitiniai sportininkai, pasiekiantys sportinės veiklos aukštumas, dažnai pasižymi panašiomis fizinėmis ir fiziologinėmis savybėmis parodo, kad dalis sportinio potencialo užkoduota genuose. Dažnas daugelio tos pačios šeimos narių dalyvavimas tokio aukšto lygio sportinėse varžybose, kaip olimpinės žaidynės, sustiprina šį įtarimą [14].

Siekiant nustatyti genetinių veiksnių reikšmę sportininkų pajėgumui svarbu suvokti, kad kiekviena sporto šaka turi savitus fizinius reikalavimus. Taigi, norint atrasti sąsają tarp genų ir pajėgumo tam tikroje sporto rungtyje, būtina išmanyti ir tirti fizinio pajėgumo komponentus, turinčius didžiausią įtaką konkrečiame sporte. Pastebimiausias fizinio pajėgumo komponentas yra specifiška kūno morfologija (pvz., ūgis, svoris ir kūno sudėjimas), kuomet sportininkai turi kūnus, natūraliai prisitaikiusius atlikti sudėtingas veiksmų sekas, būdingas tam tikrai sporto šakai. Kitos organizmo savybės, nulemiančios pranašumą specifinėse sporto šakose, yra ištvermė, jėga ir greitis [9]. Ištvermė apibūdina organizmo gebėjimą palaikyti ilgalaikį fizinį darbą, kuomet sportininko judesius veikia nedidelės priešpriešinės jėgos ir yra siejama su pranašumu tokiose sporto šakose, kaip ilgų nuotolių dviračių lenktynės, bėgimas, plaukimas [15]. Šis fizinio pajėgumo komponentas priklauso nuo širdies ir kraujagyslių, bei kvėpavimo sistemų efektyvumo tiekiant deguonį dirbantiems raumenims, o taip pat ir raumeninių ląstelių gebos aerobiškai gaminti ATF [9]. Organizmo ištvermę tiksliausiai apibūdinantis matmuo yra maksimalus deguonies suvartojimas (MDS). Tai objektyvus aerobinio pajėgumo, t.y., kvėpavimo, širdies, kraujagyslių ir medžiagų apykaitos gebėjimo aprūpinti organizmą deguonimi intensyvaus fizinio krūvio metu rodiklis [16]. Jėga laikomas raumenų sugebėjimas susitraukimo metu nugalėti išorės jėgas ar pasipriešinti joms [9]. Tuo tarpu greitis apsaugo žmogaus ypatybę atlikti judesius, veiksmus tam tikromis sąlygomis per trumpiausią laiką ir priklauso nuo raumenų susitraukimo spartos [17]. Esminiai raumens struktūriniai elementai, padedantys raumenims dirbti įvairiomis sąlygomis, yra sarkomerų išsidėstymas bei ilgis, raumenų skaidulų ilgis, raumenų skerspjūvio plotas ir bendra raumenų masė [18]. Raumenų jėgos dydžiui, didžiausią reikšmę turi raumenų masė ir jų skerspjūvio plotas, kurie lavinant jėgą didėja [19]. Abu šie veiksniai priklauso nuo miofibrilių kiekio, raumeninių skaidulų hipertrofijos laipsnio, citoskeleto ir jungiamojo audinio masės, raumeninių skaidulų kiekio. Tuo tarpu greitį apsprendžia sarkoplazminio tinklo apimtis, fermento miozino ATFazės aktyvumas, baltymo parvalbumino kiekis. Tai veiksniai, kurie lemia raumens susitraukimo ir atsipalaidavimo greitį, tačiau neįtakoja raumens susitraukimo jėgos [20]. Vien tik raumenų jėgos įvertinimui, vienas iš paprasčiausių ir patikimiausių įverčių yra plaštakos suspaudimo jėga [21]. Visgi tiek raumenų jėga, tiek ir jų susitraukimo greitis yra svarbūs atliekant galingus judesius, reikalingus tokiose sporto šakose, kaip sunkumų kilnojimas, sprintas, įvairios šuolių rungtys [17]. Skirtingai nei ištvermės sporte, kuomet energijos gamyba raumenų ląstelėse daugiausiai vyksta aerobiškai, atliekant trumpą (5-10 sekundžių trukmės) maksimalaus intensyvumo fizinį darbą, fiziologinių sistemų, aprūpinančių deguonies transportą, vaidmuo yra palyginti nedidelis. Taip yra dėl to, kad šiose sporto rungtyse darbas trunka taip trumpai, kad kraujas nespėja pratekėti didžiuoju kraujo apytakos ratu vieną kartą, todėl raumenų aprūpinimas deguonimi yra nepakankamas. Tokiu atveju, maksimalus dirbančių raumenų energetinis

aprūpinimas daugiausiai priklauso nuo anaerobinio alaktatinio energetinio mechanizmo veiklos, kuomet darbas vyksta energiją gaminant iš raumenyse sukauptų makroenergetinių molekulių – ATF ir kreatinfosfato (KF). Tačiau fiziniam darbui užtrukus ilgiau ir išsekus ATF bei KF atsargoms, gali įsijungti glikolizės mechanizmas. Raumenų anaerobinę galią, kuri atspindi ATF ir KF energetinių sistemų pajėgumą tiekiant energiją raumenų susitraukimui, apibūdina 2 įverčiai – anaerobinis alaktatinis raumenų galingumas (AARG) ir vienkartinis raumenų susitraukimo galingumas (VRSG). AARG (vertinamas laiptų ergometrijos testu) apibūdina raumenų darbo galingumą resintezuojant ATF iš KF ($\text{KF} + \text{adenozino difosfatas (ADF)} \rightleftharpoons \text{kreatinas} + \text{ATF}$), o VRSG (vertinamas vertikalaus šuolio testu) apsaugo raumenų darbo galingumą panaudojant raumenyje sukauptą ATF [22]. Nors fizinio pajėgumo komponentai pasižymi dideliu specifiskumu skirtingoms sporto šakoms, svarbu paminėti, kad yra sporto šakų, kuriose reikalingi keli fizinio pajėgumo komponentai. Iš jų, kovos menai yra sporto šakų grupė, kurioje reikalingi visi paminėti komponentai – kūno kompozicija, ištvermė, jėga ir greitis [23]. Taigi, sprendžiant genetinių veiksnių įtaką skirtingos specializacijos sportininkams, tikslinga tirti minėtus fizinio pajėgumo komponentų rodiklius – MDS, plaštakos suspaudimo jėgą, AARG ir VRSG.

Tvirtas įrodymas, kad genetika turi įtaką fiziniam pajėgumui ir jo lavėjimui buvo gautas iš dvynių ir šeimų tyrimų. Pirmiausiai tai buvo dvynių tyrimai. Jų metu, naudojant paveldimumo įvertį (h^2), buvo nagrinėjami pavieniai fizinio pajėgumo rodikliai. Šis įvertis atspindi požymio variaciją populiacijoje, kuri yra nulemta tik genetinių veiksnių ir gaunamas padalinus požymio variacijos skirtumą tarp dizigotinių ir monozigotinių dvynių iš dizigotinių dvynių variacijos. Daugeliui tyrimuose analizuotų fizinio pajėgumo požymių nustatytas aukštas paveldimumo įvertis [24]. MDS paveldimumas siekė 93,4%, o raumenų jėga ir galingumas įvairiuose tyrimuose pasižymėjo nuo 30% iki 80% varijuojančiu paveldimumo įverčiu [25;26]. Vėliau, pasitelkus patikimesnius statistinės analizės metodus, daug informacijos buvo gauta iš HERITAGE (health, risk, factors, exercise training and genetics) šeimų tyrimo. Tyrime buvo vertinama 130 dviejų kartų šeimų. Atliekant eksperimentą, įvairių fizinio pajėgumo požymių variacija buvo lyginama tiek šeimos viduje, tiek tarp atskirų šeimų. Šeimos buvo vertinamos esant 2 sąlygoms: prieš 20 savaičių trukmės treniruočių programą ir po jos. Paveldimumas daugeliui fizinio pajėgumo požymių varijavo nuo 20% iki 75% [27]. Taip pat ypatingai svarbus buvo De Moor ir kitų mokslininkų atliktas tyrimas. Jo metu, vertinant 4488 moteriškos lyties dvynių porų dalyvavimą sportinėje veikloje bei pasiekimus joje, buvo nustatytas polinkio į aukštus sportinius pasiekimus paveldimumas, kuris siekė apie 66% [24]. Nors šeimų ir dvynių tyrimai neabejotinai parodė didelę genetinių veiksnių įtaką žmogaus fiziniam pajėgumui, šie tyrimai nesuteikė žinių, kokios specifinės genomo vietos yra atsakingos už fizinio pajėgumo savybių variaciją [3]. Taigi, šiuo

metu esminis siekis yra nustatyti, kurie genai ir jų sekų variantai turi įtakos fizinio pajėgumo komponentams bei išaiškinti kokie mechanizmai ir signaliniai keliai įtraukti į šiuos procesus.

1.3. DNR variacijų, svarbių fiziniam pajėgumui, paieškos

Per paskutinius 15 metų pasiekimai biotechnologijų ir molekulinės biologijos srityse leido tiesiogiai tirti genetines variacijas, kurios gali turėti įtakos sportinį pajėgumą lemiančių fenotipų pasireiškimui [3]. Plačiausiai tiriamos genetinės variacijos yra vieno nukleotido polimorfizmai (VNP). Tai vienos deoksiribonukleorūgšties (DNR) bazės pokytis, kurio dažnis populiacijoje viršija 1%. Tačiau kiti genetiniai žymenys, tokie kaip mikrosatelitinės sekos, intarpai/iškritos, įvairaus tandeminių pasikartojimų skaičiaus sekos ir kopijų skaičiaus pasikartojimai, taip pat yra tiriami [28]. Šis technologinis progresas paskatino naujos mokslo disciplinos „Sporto genomikos“ atsiradimą. Šioje disciplinoje pagrindinis dėmesys skiriamas elitinių sportininkų genomų organizacijos ir funkcionavimo analizei. Viliamasi, kad sportininkų genomų tyrimas suteiks pakankamai informacijos, kuri bus naudojama nustatyti įgimtą žmogaus gabumą konkrečiai sporto šakai, leis individualizuoti treniruočių režimą, bus naudinga traumų rehabilitacijos ir prevencijos tikslais bei suteiks priemonių išaiškinti genų dopingo atvejus. Šiuo metu sporto genomikoje dažniausiai pasitelkiami populiaciniai atvejo-kontrolės genetinės asociacijos tyrimai. Šių tyrimų esmė yra ta, kad jais nustatoma ar alelis arba genotipas pagal tam tikrą DNR seką (gali būti genas ar nekoduojanti DNR sritis) yra statistiškai reikšmingai dažnesnis profesionalių sportininkų tarpe nei tarp nesportuojančių kontrolinės grupės asmenų. Išpildžius šią sąlygą, sprendžiama, kad alelis arba genotipas turi teigiamą poveikį fiziniam pajėgumui, t.y., su juo asocijuotas [29]. Dvi pagrindinės šiuo metu naudojamos genetinės asociacijos tyrimo strategijos yra genų kandidatų tyrimai ir plataus masto genomo asociacijos tyrimai (GWAS, *angl. Genome-wide association study*) [30].

Sporto genomikoje genų kandidatų tyrimai vis dar taikomi dažniau nei GWAS. Mokslininkų pasirinkimą iš dalies lemia šio tipo tyrimų analizės galingumas. Šias teigiamas analitinio įrankio charakteristikas sąlygoja tai, kad jį taikant pasitelkiama tiesioginė asociacijų analizė, kuomet tiriamasis genetinis variantas tiesiogiai lemia tiriamo požymio pasireiškimą [31]. Genų kandidatų tyrimo strategija remiasi išankstine hipoteze, jog analizei pasirinkto specifinio geno sekos variantai dalyvauja tiriamo požymio išraiškoje ir todėl yra su juo asocijuoti. Taigi, hipotezė yra būtina geno kandidato pasirinkimo sąlyga [24]. Tai riboja genų kadidatų tyrimo strategiją, nes atrasti su tiriamu požymiu susietą naują genetinę sritį šiuo metodu yra neįmanoma. Šiuo metu hipotezės formulavimui įžvalgos gaunamos iš ortologinių genų analizės modeliniuose organizmuose, kiekybinius požymius įtakojančių genomo regionų kartografavimo, genų raiškos, proteomikos ir

epigenetinių tyrimų rezultatų [32]. Taip pat svarbi sąlyga, kad pasirinktas tyrimui geno kandidato sekos variantas turėtų didelę įtaką geno funkcijai [24]. Atsižvelgiant į tai, logiškiausia, kad funkcionaliausią pokytį sukels nesinoniminiai arba iRNR alternatyvaus sukirpimo atpažinimo sekose esantys VNP. Tokiu atveju įvyks pokytis baltymo aminorūgščių sekoje ir tai lems baltymo funkcijos pokytį [33]. Tačiau, žinant, kad žmogaus fizinis pajėgumas yra daugiaveiksni savybė, tikėtina, kad daugelis priežastinių genų sekos pokyčių išsidėstę baltymų nekoduojančiose sekose (introninėse sekose gali būti reguliatorinių miRNR genų, tačiau nėra baltymų genų). Tokie variantai gali turėti įtakos genų raiškos kontrolei ar alternatyvaus sukirpimo procesui [31]. Šios išvalgos tiesiogiai priklauso nuo moksliniuose šaltiniuose sukauptos informacijos apie pasirinktą geną kandidatą kokybės. Todėl informacijos netikslumai ar trūkumas gali nulemti klaidingos hipotezės formulavimą ir klaidingus tyrimo rezultatus [34].

Kita genetinės asociacijos tyrimo strategija yra GWAS. Taikant GWAS vienu metu gali būti tiriami nuo kelių tūkstančių iki kelių milijonų VNP [35]. Tai netiesiogine asociacija paremtas tyrimas. Netiesioginė asociacija nustatoma tada, kada genetinis variantas nėra tiesiogiai susijęs su specifinio požymio pasireiškimu, bet yra arti požymį lemiančio varianto. Ši asociacijos rūšis įmanoma dėl tam tikro reiškimo – nepusiausviros sankibos. Tai fenomenas, kuomet dėl retos rekombinacijos tarp artimai išsidėsčiusių VNP, jų aleliai neatsitiktinai susitelkia į nepusiausviros sankibos blokus, kuriuose užkonservuojamos tam tikros VNP kombinacijos. Todėl genotipuojant nepusiausviroje sankiboje esančius VNP, nustatant vieną alelį atskleidžiama informacija ir apie kitus nepusiausviros sankibos blokui priklausančius VNP alelius [30]. VNP tyrimui parenkami atsižvelgiant į nepusiausviros sankibos struktūros informaciją, kuri gali būti gauta iš dominančios etninės populiacijos *HapMap* duomenų rinkinio [35]. Didelis GWAS pranašumas, palyginti su geno kandidato tyrimo strategija, yra nepriklausomumas nuo išankstinių hipotezių. Tai suteikia galimybę atrasti naujus įvairių požymių pasireiškimą įtakojančius genus, kurie vėliau gali padėti didinant supratimą apie žmogaus organizmo ypatumus. Tačiau šioje tyrimo strategijoje reikalingas žymiai sudėtingesnis bioinformacinis duomenų apdorojimas nei geno kandidato tyrimo strategijoje. Be to, nė vienas genas ar genetinė sritis nėra išsamiai ištiriami, todėl dalis asociacijų gali būti nenustatomos [30].

Atvejo-kontrolės genetinės asociacijos tyrimai nesuteikia žinių apie priežastinį ryšį tarp tiriamų genetinių variantų ir fizinio pajėgumo savybių, todėl dažniausiai vien tik šiais tyrimais nustatytos asociacijos laikomos nepatikimomis. Tai lemia papildomų tyrimų poreikį. Nustatytų asociacijų patikimumui padidinti dažnai naudojami vienmomentiniai tyrimai [3]. Šiuose tyrimuose analizuojama kaip įvairūs fizinio pajėgumo fenotipiniai rodikliai skiriasi tarp asmenų, turinčių skirtingus genotipus [27].

Apibūdintais tyrimo metodais nustatyta daugybė genų sekų variantų, susijusių su žmogaus fiziniu pajėgumu. Ahmetov ir kitų atlikta straipsnių metaanalizė sporto genetikos tema atskleidė 155 genetinius žymenis (išsidėsčiusius per 82 autosomų genus, mitochondrinę DNR, X ir Y chromosomas), susijusius su elitinio sportininko statusu. Iš jų, 93 susiję su ištvermės savybėmis, o 62 su greičio ir jėgos savybėmis. Tačiau visuotinai priimta, kad genetinis žymuo laikomas patikimai susijusiu su fizinio pajėgumo savybėmis tik tada, kuomet nustatyta asociacija patvirtinama bent viename kitos populiacijos asmenų tyrime. Iš šiuo metu žinomų fizinio pajėgumo genetinių žymenų, 31 patvirtintas bent dviejuose nepriklausomuose tyrimuose (ištvermės genetiniai žymenys: *ACE* I, *ACTN3* 577X, *ADRB2* 16Arg, *AQP1* rs1049305 C, *AMPD1* Gln12, *BDKRB2* -9, *COL5A1* rs12722 T, *GABPB1* rs12594956 A ir rs7181866 G, *HFE* 63Asp, *KCNJ11* Glu23, mtDNA H haplogrupė, mtDNA K haplogrupė (nepalankus), *PPARA* rs4253778 G, *PPARD* rs2016520 C, *PPARGC1A* Gly482, *UCP3* rs1800849 T; greičio ir jėgos genetiniai žymenys: *ACE* D, *ACTN3* Arg577, *AGT* 235Thr, *AMPD1* Gln12, *CKM* rs1803285 G, *CREM* rs1531550 A, *GALNT13* rs10196189 G, *HIF1A* 582Ser, *IL6* rs1800795 G, *MTHFR* rs1801131 C, *NOS3* rs2070744 T, *PPARA* rs4253778 C, *PPARG* 12Ala, *SOD2* Ala16), o 12 patvirtinta 3 ir daugiau tyrimų (ištvermės genetiniai žymenys: *ACE* I, *ACTN3* 577X, *HFE* 63Asp, *PPARA* rs4253778 G, *PPARGC1A* Gly482; greičio ir jėgos genetiniai žymenys: *ACE* D, *ACTN3* Arg577, *AMPD1* Gln12, *HIF1A* 582Ser, *MTHFR* rs1801131 C, *NOS3* rs2070744 T, *PPARG* 12Ala). Tuo tarpu 29 genetiniai žymenys nėra patvirtinti nei viename tyrime. Dauguma šiuo metu žinomų fizinių pajėgumą įtakojančių genetinių žymenų (77%) buvo atrasti per paskutinius 6 metus. Tai parodo sparčiai augantį susidomėjimą sporto genomika [4].

1.4. Raumenų adaptaciją prie fizinių krūvių lemiančių genetinių variantų apžvalga

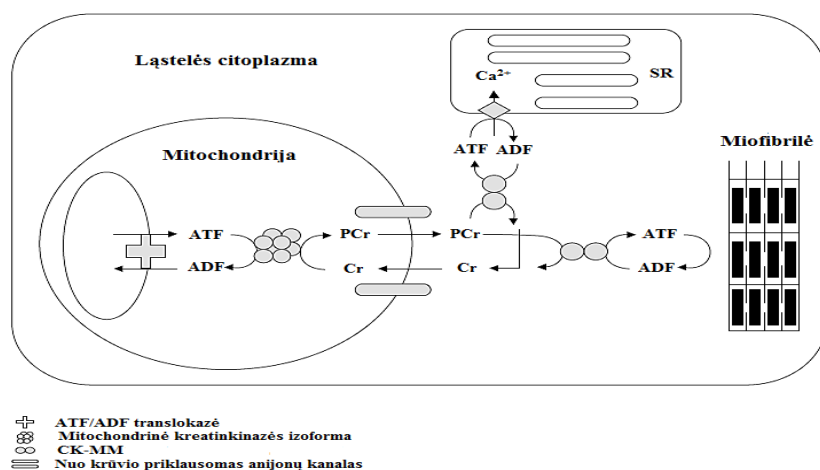
Biocheminiai ir biofizikiniai procesai, kurie vyksta raumenų ląstelėse fizinio krūvio metu, priklauso nuo metaboliniuose keliuose ir struktūriniame remodeliavime dalyvaujančių genų produktų aktyvumo ir gausumo [36]. Dėl to, pokyčiai DNR sekoje gali sutrikdyti arba praturtinti molekulinį foną, reikalingą specifiniams raumenų adaptacijos prie fizinių krūvių procesams. Šiuo atžvilgiu labai svarbią reikšmę turi VNP, esantys genuose, kurių raiška vyksta raumeniniame audinyje. Šiame darbe tiriami 5 raumenų adaptacijai prie fizinių krūvių svarbūs VNP: kreatinkinazės raumenų subvieneto (*CKM* c.*800A>G, rs8111989), raumenims specifinės adenosino monofosfato deaminazės (*AMPD1* c.133C>T, rs17602729), mioglobino (*MB* c.174G>A, rs7293), miostatino (*MSTN* c.458A>G, rs1805086) ir miozino fosfatazės-Rho sujungiančio baltymo (*MPRIP* c.219+14693G>A, rs6502557) polimorfizmai. Toliau pateikiama šių VNP genų ir jų koduojamų baltymų apžvalga, bei pačių VNP funkcinis reikšmingumas.

1.4.1. Kreatinkinazės reikšmė raumenų homeostazėje

Kreatinkinazė atlieka svarbią funkciją ląstelės ATF homeostazėje. Raumenų susitraukimo ar kitų energiją naudojančių procesų metu susiformavęs ADF aktyvina kreatinkinazės mechanizmą, kurio metu įvyksta anaerobinė ATF resintezė [37]. Šios reakcijos metu vyksta KF ir ADF virsmas į kreatiną ir ATF, o poilsio metu KF susidaro vykstant kreatino fosforilinimui ($KF + ADF \rightleftharpoons$ kreatinas + ATF) [38].

Žmogaus organizme žinomos 5 kreatinkinazės izoformos. Tai iš kelių subvienetų sudarytos molekulės. Raumenų M (*angl. Muscle*) ir smegenų B (*angl. Brain*) subvienetai suformuoja homodimerinius fermentus: raumenims specifinę kreatinkinazės izoformą (CK-MM) ir smegenims specifinę kreatinkinazės izoformą (CK-BB); ir heterodimerinį širdies izofermentą (CK-MB). Skirtingų izoformų raiška audiniuose vyksta specifiskai. CK-MM raiška didžiausia raumenų ląstelėse, CK-MB aktyvumas didžiausias širdies raumenyje, o CK-BB dažniausiai nustatomas nerviniame audinyje, bet mažomis koncentracijomis gali būti nustatomas ir raumeniniame audinyje. Šie fermentai savo funkcijas atlieka ląstelės citoplazmoje. Kitos 2 kreatinkinazės izoformos randamos mitochondrijų tarpmembraninėje erdvėje, prisijungusios prie vidinės membranos. Šios izoformos gali sudaryti dimerinę arba oktamerinę struktūrą. Nustatyta, kad oktamerinė struktūra yra aktyvi fermentų forma *in vivo*. Viena iš šių izoformų pagrinde nustatoma raumeninėse ląstelėse, todėl vadinama sarkomerine kreatinkinaze (Scmit-CK), o kita būdinga keliems audiniams (placenta, tinklainė, spermatozoidai), todėl apibūdinama terminu (*angl. Ubiquitous* – liet. Paplitusi kreatinkinazė (Umit-CK)). Genai, koduojantys kreatinkinazės izoformas, yra išsidėstę skirtingose chromosomose: B subvieneto genas (14q32.3), M subvieneto genas (19q13.2), Scmit-CK genas (5q13.3), Umit-CK genas (15q15) [39].

CK-MM yra gausiausia citoplazminė kreatinkinazės izoforma griaučių raumenų ląstelėse, todėl turi didžiausią įtaką energijos homeostazei fizinio krūvio metu. Apie 10% CK-MM yra išsidėstę sarkomerų M juostoje ir kartu su miomesinu dalyvauja sujungiant greta esančius miozino siūlus. Fermentas išsidėsto arti miozino ATFazės ir tiekia naujai susintetintas ATF molekules raumenų susitraukimą vykdančioms miozino galvutėms. Taip pat apie 1% CK-MM randama sarkomerų I juostoje, kurioje yra funkciškai susiję su glikolizės procesais. Papildomai, CK-MM išsidėsto prie sarkoplazminio tinklo Ca^{2+} ATFazės ir reguliuodamas Ca^{2+} srautą įtakoja raumenų susitraukimo galingumą. Dar viena CK-MM funkcija yra susijusi su Scmit-CK. Mitochondrijose Scmit-CK sudaro funkcinį kompleksą su ATF/ADF translokaze ir nuo krūvio priklausomu anijonų kanalu (1 pav.) [39;40].



1 pav. CK-MM vykdomas energijos homeostazės raumenų ląstelėje palaikymo mechanizmas [39]

Tai įgalina Scmit-CK tiesiogiai panaudoti oksidacinio fosforilavimo metu mitochondriose susintetintas ATF molekules kreatinfosfato rezinzezei ir transportuoti kreatinfosfatą pro mitochondrijų membraną į citoplazmą, kurioje CK-MM jį transportuoja ir panaudoja raumenų kontraktiliniams procesams. Taigi, CK-MM atlieka 2 funkcijas – palaiko pastovią ATF koncentraciją raumenų susitraukimą vykdančiose ląstelės struktūrose ir transportuoja ATF į aktino-miozino sąveikos vietą ir sarkoplazminį tinklą [39].

1.4.1.1. Kreatinkinazės raumenų subvieneto (*CKM*) geno ir jo sekos varianto reikšmė fiziniam pajėgumui

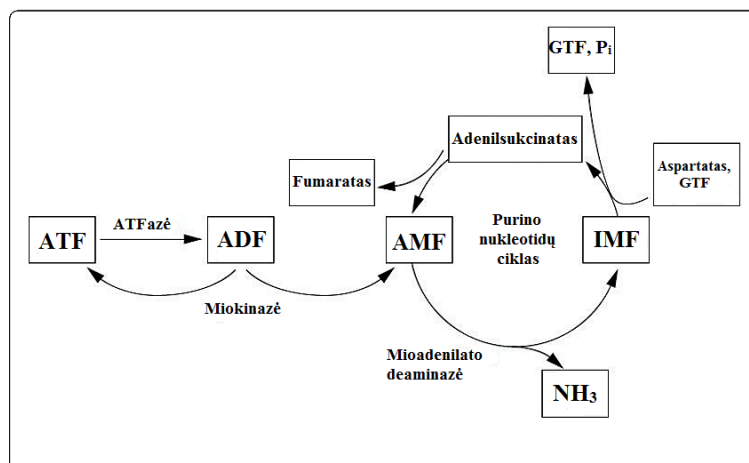
CKM genas yra 16 563 bp ilgio ir yra sudarytas iš 8 egzonų ir 7 intronų. Genas nurašomas į 1657 bp ilgio iRNR, kuri transliuojama į 381 amino rūgščių ilgio baltymą. Užsienio mokslininkų atlikti *CKM* geno tyrimai su modeliniais organizmais atskleidė šio geno potencialą įtakoti fizinio pajėgumo savybes. Panaudojant laboratorines žiurkes buvo ištirta kaip treniruotės veikia kreatinkinazę genetiniame lygmenyje. Northern Blot analizės metu buvo nustatyta, kad dėl ištvėrmės treniruočių dvilypio blauzdos raumens ląstelėse *CKM* iRNR sumažėjo 42%. Panašūs rezultatai buvo gauti ir tyrime, kuriame buvo atliekama šunų plačiausiojo nugaros raumens *in situ* stimuliacija, kuomet buvo stebimas 30% *CKM* iRNR sumažėjimas. Labai svarbių išvalgų suteikė laboratorinių pelių su pašalintu (*angl. Knock-out*) *CKM* genu tyrimas. Jame nustatyta, kad pelės su pašalintu *CKM* genu ir dėl šios priežasties neturinčios CK-MM ir CK-MB izofermentų, negebėjo palaikyti maksimaliai stiprių raumenų susitraukimų, išskyrus pirmąjį. Tačiau pastebėta, kad šios pelės tapo atsparesnės nuovargiui ir po tam tikro laiko galėjo palaikyti stipresnius raumenų susitraukimus nei pelės su funkcionalių *CKM* genu. Šių tyrimų rezultatai, kartu su faktu, kad ištvėrmingosiose I tipo (lėto susitraukimo) raumeninėse skaidulose CK-MM aktyvumas yra

dvigubai mažesnis nei II tipo (greito susitraukimo) raumeninėse skaidulose, leidžia daryti prielaidą, kad mažesnis CK-MM aktyvumas yra naudingesnis išvermės savybėms, o didesnis fermento aktyvumas nulemia geresnes greičio ir jėgos savybes [39].

CKM geno sąsaja su žmogaus fizinėmis savybėmis pirmą kartą buvo nustatyta asociacijos ir genetinės sankibos tyrimuose. Rivera ir kiti 1997 metais publikuotame tyrime atliko vienmomentinį tyrimą pagal *NcoI* restrikcijos endonukleazės suskaidyto *CKM* geno fragmentų genotipus (laukinio tipo alelis buvo kerpamas susidarant 985 bp ir 185 bp ilgio fragmentams, polimorfinis alelis nebuvo kerpamas išsaugant vientisą 1170 bp ilgio fragmentą). Šiuo metu šis polimorfizmas yra žinomas kaip (XM_005258497.1: c.*800A>G, rs8111989). Analizė buvo atliekama HERITAGE šeimų tyrimo metu, kuomet 160 tėvų ir 80 jų vaikų MDS rodiklio vertės buvo lyginamos tarp c.*800A>G genotipų grupių prieš ir po 20 savaitių trukmės išvermės treniruočių programos. Tyrimo metu nustatyta, kad prieš treniruočių programą A/G genotipo asmenys turėjo didesnius MDS įverčius, nei homozigotinius genotipus turintys asmenys, o po treniruočių programos buvo nustatyta, kad A/A ir A/G genotipus turintys asmenys pasižymėjo žymiai geresniu organizmo atsaku į aerobines treniruotes nei G/G genotipo asmenys. Tyrime buvo įvertinta, jog G/G genotipo asmenys buvo 3 kartus dažnesni nei kitų genotipų asmenys tarp mažą organizmo atsaką į išvermės treniruotes turinčių tyrimo dalyvių [41]. Šiuos asociacijos tyrimo rezultatus parėmė HERITAGE šeimų tyrimo metu atlikta sankibos analizė, kurioje ištyrus 277 kaukaziečių kilmės sibsų porų atsaką į 20 savaitių trukmės išvermės treniruočių programą, buvo nustatyta sankiba tarp *CKM* c.*800A>G polimorfizmo ir MDS adaptacijos prie aerobinio krūvio [42]. Nors šis VNP yra 3' netransliuojamoje *CKM* geno srityje ir nepaveikia fermento struktūros, manoma, kad jis gali turėti įtakos iRNR stabilumui ir taip nulemti skirtingą geno raišką. Kadangi iš modelinių gyvūnų tyrimų žinoma, kad CK-MM aktyvumas kontroliuojamas transkripciniame lygmenyje, šis pokytis gali turėti svarbią įtaką CK-MM aktyvumui ir išvermės bei greičio bei jėgos savybėms [40].

1.4.2. Raumenims specifinės adenzino monofosfato deaminazė, ją koduojantis genas (*AMPD1*) ir jo sekos varianto reikšmė fiziniam pajėgumui

Vienas iš svarbiausių energijos apykaitos raumenyse reguliatorių fizinio krūvio metu yra adenzino monofosfato deaminazė (*AMPD*). Šis fermentas pakreipia miokinazės reakcijos pusiausvyrą link ATF gamybos ($2\text{ADF} \leftrightarrow \text{ATF} + \text{adenzino monofosfatas (AMF)}$), kadangi AMF paverčia į inozino monofosfatą (IMF) ir amoniako molekulę. Taip pat *AMPD* vykdo pradinę purino nukleotidų ciklo reakciją (2 pav.) [43].



2 pav. Purino nukleotidų ciklas [44]

Šis ciklas yra svarbus išsaugant adenino nukleotidus ir fumarato sintezėje, kuris panaudojamas Krebso cikle energijos gamybai [44]. Kitos svarbios purino nukleotidų ciklo funkcijos yra aminorūgščių deaminavimo ir glikolitinių reakcijų reguliavimas [43].

Didelę fermento reikšmę žmogaus organizme parodo 3 izoformų egzistavimas: raumenų ląstelėms specifinės izoformos M (koduojantis genas – *AMPD1*), kepenų ląstelėms specifinės izoformos L (koduojantis genas – *AMPD2*), eritrocitams specifinės izoformos E (koduojantis genas – *AMPD3*). Raumenims specifinė izoforma yra gausiausia ir sudaro 95% viso AMPD aktyvumo [45]. M izoforma, dar vadinama mioadenilato deaminaze, vyrauja visose griaučių raumenų skaidulose, bet labiausiai išreiškiama greitai susitraukiančiose (2 tipo) raumenų skaidulose [43].

Mioadenilato deaminazę koduojantis, *AMPD1* genas yra 1 chromosomos trumpajame petyje (1p13-p21) [46]. Morisaki ir kiti 1990 metais publikuotame tyrime teigė, kad dėl labai konservatyvių *AMPD1* ir *AMPD2* nukleotidų sekų intronų/egzonų ribose, tikėtina, kad evoliucijos metu abu šie genai susiformavo dėl pirmąkartinio geno duplikacijos. Mokslininko teigimu tai įvyko daugiau nei prieš 150 milijonų metų [47]. *AMPD1* geno seka sudaryta iš 22 529 bazių porų (bp), apimančių 16 egzonų. Egzonų dydis varijuoja nuo 111 iki 220 bp, išskyrus 2 egzoną, kurį sudaro tik 12 bp. Intronų dydis siekia nuo 159 bp 14 introne iki kelių tūkstančių bazių porų kituose intronuose. Šis genas nurašomas į 2375 bp iRNR, kuri transliuojama į 780 amino rūgščių ilgio baltymą. Alternatyvaus sukirpimo proceso metu iš 0,6-2% *AMPD1* transkriptų pašalinamas 2 egzonas [48].

AMPD1 gene nustatyta VNP, C nukleotido pakaita į T (NM_000036.2:c.133C>T, rs17602729) 2 egzone. Ši VNP 12 baltymo aminorūgščių sekos pozicijoje pakeičia CAA kodoną, koduojantį glutaminą, į pirmalaikį baigmės kodoną TAA (NP_000027.2:p.Gln45Ter). Dėl to per anksti sustoja baltymo sintezė ir organizme gaminama neveiksni mioadenilato deaminazė [43].

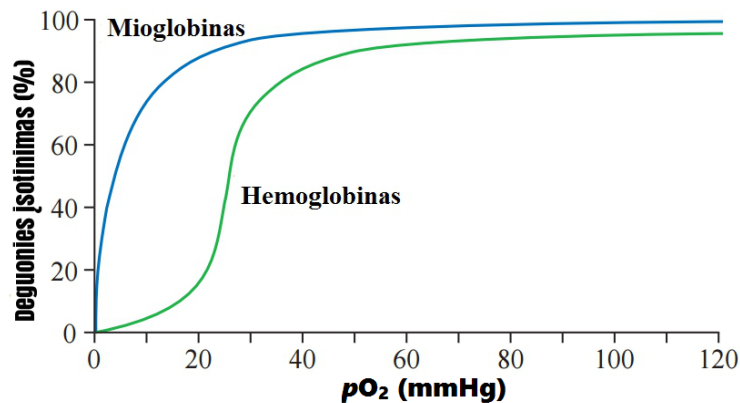
Nustatyta, kad homozigotinių pagal T alelį asmenų organizme mioadenilato deaminazės aktyvumas nesiekia 1% homozigotinių pagal C alelį asmenų fermento aktyvumo [49]. Heterozigotinio genotipo asmenų fermento aktyvumas dažniausiai varijuoja ir siekia apie 16-39% abu laukinio tipo alelius turinčių asmenų fermento aktyvumo [44]. Mioadenilato deaminazės stoka yra laikoma dažniausiu metaboliniu griaučių raumenų sutrikimu, kurį patiria apytiksliai 2% kaukaziečių populiacijos. Nors pirmą kartą nustatyta fermento stoka pasireiškė klinikiniais metabolinės miopatijos simptomais, vėlesni tyrimai parodė įvairialypį fermento stokos pasireiškimą. Dažniausiai fermento stoka nepasireiškia jokiais simptomais, tačiau gali pasireikšti metaboline miopatija ar sumažėjusiu raumenų gebėjimu palaikyti fizinį krūvį. Manoma, kad šis įvairialypis mioadenilato deaminazės stokos pasireiškinys skirtingų tyrimų metu gali būti nulemtas skirtumų tarp tiriamų populiacijų genetinių struktūrų ar subjektyvių veiksnių, tokių kaip eksperimentinių pratimų atlikimo sąlygos, skirtingos tiriamųjų dietos, skirtingas skausmo slenkstis, ar motyvacija [50]. Arba gali būti nulemtas skirtingu alternatyvaus sukirpimo mechanizmų panaudojimu, kuomet iš 0,6-2% iRNR molekulių pašalinamas VNP turintis 2 egzonas. Vis dėlto nustatyta, kad net ir simptomų neturintys T alelio nešiotojai pasižymi prastesniu atsaku į fizinį krūvį [51;52;53]. Atsižvelgiant į didesnę *AMPDI* geno raišką 2 tipo raumenų skaidulose, buvo manoma, kad mioadenilato deaminazės stoka turi neigiamų pasekmių tik trumpam maksimalaus galingumo reikalaujančiam raumenų darbui. Tačiau nustatyta, kad ilgų ištvėmės reikalaujančių sporto rungčių paskutiniuose etapuose, kuomet ląstelėse išsenka energijos šaltiniai ir padidėja ADF kiekis, stimuliuojama miokinazės reakcija ir gausėja AMF. Energijos pusiausvyros raumenų ląstelės palaikymui, šios AMF molekulės privalo būti mioadenilato deaminazės verčiamos į IMF ir amoniako molekules. Taigi, mioadenilato deaminazės stoka gali turėti įtakos tiek greičio ir jėgos, tiek ištvėmės savybėms [38]. Todėl manoma, kad *AMPDI* c.133C>T polimorfizmo C alelis susijęs su fiziniu sportininkų pajėgumu, o T alelis laikomas fizinių pajėgumą ribojančiu veiksniu.

1.4.3. Mioglobinas, jį koduojantis genas (*MB*) ir jo sekos varianto reikšmė fiziniam pajėgumui

Mioglobinas yra 18 kilodaltonų (kDa) masės hemo grupę turintis baltymas, sudarytas iš 154 amino rūgščių. Hemo grupė, t.y., geležies jono ir porfirino žiedo kompleksas, yra apsuptas 8 α -spiralių ir išsidėsto tarp 2 histidino liekanų – His64 ir His93. Geležies jonas sąveikauja su 6 ligandais: pirolių sudėtyje esančiais 4 azoto atomais, His93 šonine grandine, kuri stabilizuoja hemo grupę ir paskutinėje ligando pozicijoje besijungiančia deguonies molekule [54;55]. Hemo grupėje geležies jonas gali įgauti 2 formas: divalentės geležies (Fe^{2+}) arba trivalentės geležies (Fe^{3+}). Tik

Fe^{2+} turinti hemo grupė gali prisijungti deguonį, sudarant oksimioglobina. Taigi, mioglobinas gali būti 2 formų: įsotintas deguonimi – oksimioglobinas, ir neįsotintas deguonimi – deoksioglobinas [56].

Mioglobino raiška didžiausia širdies ir griaučių raumenų ląstelėse [54]. Nepaisant funkcinio panašumo į hemoglobina, mioglobinas turi specifinių savybių. Dėl išskirtinių kinetinių savybių, mioglobinas gali atlikti deguonies kaupimo ir atsargų funkcija raumenų ląstelėse. Tai atspindi hemoglobino ir mioglobino deguonies disociacijos kreivės (3 pav) [55].



3 pav. Hemoglobino ir mioglobino deguonies disociacijos kreivės [55]

Kaip matome iš abiejų kreivių, mioglobinas lengviau prisijungia deguonį ir nėra toks jautrus dalinio deguonies slėgio ($p\text{O}_2$) mažėjimui audiniuose nei hemoglobinas. Taip pat žinoma, kad mioglobinas yra atsparesnis temperatūros ir ląstelės terpės pH pokyčiams. Šie veiksniai lemia patvaresnį deguonies prisijungimą [55]. Taip pat mioglobinas atlieka deguonies transporto į mitochondrijas funkcija. Deguonies judėjimo srautas į ląstelę apsprendžiamas dviejų komplementariai vykstančių procesų: savaiminės ir mioglobino vykdomos deguonies difuzijos [57]. Mioglobino vykdoma deguonies difuzija priklauso nuo viduląstelinio deguonies gradiento. Šis gradientas susiformuoja tiek tarp ląstelės išorės ir mioglobino, tiek tarp mioglobino ir vidinės mitochondrijų membranos [58]. Arti ląstelės membranos esančios mioglobino molekulės prisijungia deguonį ir transportuoja jį per citoplazmą iki mitochondrijų, kur jį atpalaiduoja. Deguonies netekusios mioglobino molekulės keliauja atgal link ląstelės membranos [57]. Dėl šio proceso palaikoma mažesnė deguonies koncentracija prie citoplazminės membranos. Tai nulemia efektyvesnę deguonies difuziją iš kraujo į raumenų ląsteles [59]. Dar kita mioglobino funkcija yra pastovios deguonies koncentracijos palaikymas dirbančioje raumenų ląstelėje. Nustatyta, kad vidutiniškai intensyvaus raumenų darbo metu mioglobino įsotinimas deguonimi sumažėja iki 30-60%, o tuo tarpu deguonies koncentracija ląstelėje išlieka nepakitusi. Be deguonies apykaitos, mioglobinas dalyvauja azoto oksido apykaitoje. Tai svarbu, nes azoto oksidas pasižymi stipriu

kraujagysles plečiančiu poveikiu ir nustatyta, kad šis azoto darinys slopina mitochondrinio kvėpavimo reakcijoms svarbų fermentą – citochromo C oksidazę [55].

Mioglobinas yra deguonį prisijungiančių baltymų globinų šeimos narys. Be mioglobino šioje baltymų šeimoje yra hemoglobinas, neuroglobinas ir citoglobinas. Visi šie baltymai yra kilę iš vieno pirmykščio baltymo. Manoma, kad globinų funkcinis ir struktūrinis evoliucinis išsiskyrimas įvyko daugiau nei prieš 500 milijonų metų ir tai nulėmė pirmykščio globinų geno duplikacijos. [60]. Mioglobina kodojantis genas (*MB*) yra 22 chromosomos ilgajame petyje (22q11.2–q13). Šis genas yra sudarytas iš 3 egzonų ir 2 intronų [61]. Geno dydis yra 31,188 bp.

Tyrimais mioglobino geno 2 egzone nustatyta VNP (NM_005368.2:c.174G>A, rs7293) [61]. Tai sinoniminis polimorfizmas (NP_005359.1:p.Ala58=). Anksčiau buvo manoma, kad sinoniminiai VNP neturi jokio poveikio, kadangi dėl jų nepakinta baltymo aminorūgščių seka. Tačiau išsamūs įvairių sinoniminių VNP tyrimai parodė, kad šios pakaitos gali turėti reikšmingos įtakos iRNR alternatyvaus sukirpimo procesams, iRNR stabilumui, iRNR struktūrai ir baltymų molekulių taisyklingos struktūros įgavimui [62]. Taigi, šis polimorfizmas gali įtakoti mioglobino funkciją. Moore ir kiti 2002 metais publikuotame tyrime lygino *MB* c.174G>A alelių dažnius tarp dideliame aukštyje gyvenančių Tibeto gyventojų ir žmonių, gyvenančių jūros lygyje. Buvo nustatyta, kad Tibeto gyventojai turėjo reikšmingai didesnę A alelio dažnį. Buvo iškelta hipotezė, jog galbūt A alelis lemia geresnį organizmo prisitaikymą prie hipoksinių sąlygų [63]. Didesnis atsparumas hipoksijai yra naudingas ir didelius fizinius krūvius patiriančioms raumenims. Be to, kito tyrimo metu buvo nustatyta, jog A alelis gali būti svarbus veiksnys, saugantis raumenis nuo didelių fizinių krūvių metu patiriamų traumų [64]. Šių tyrimų rezultatai parodo, kad *MB* c.174G>A polimorfizmas turi didelį potencialą įtakoti raumenų adaptaciją prie fizinių krūvių.

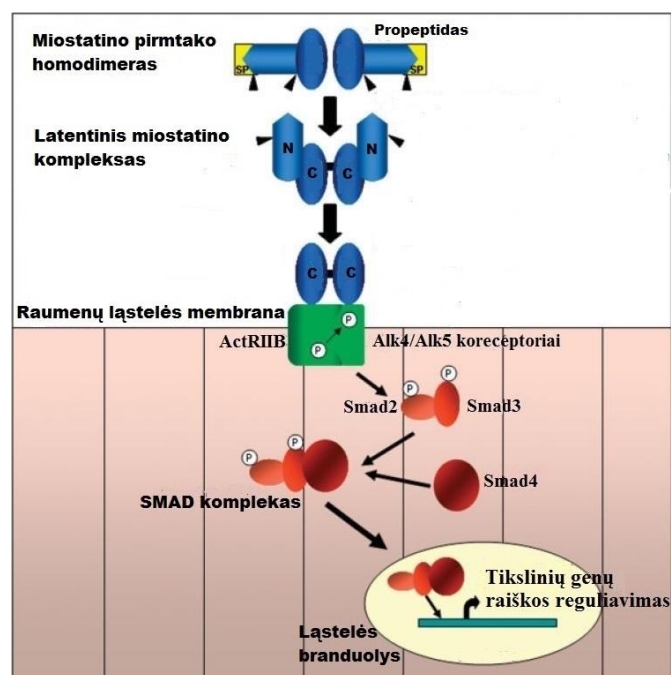
1.4.4. Miostatinas, jį kodojantis genas (*MSTN*) ir jo sekos varianto reikšmė fiziniam pajėgumui

Žmogaus miostatinas arba augimo diferenciacijos veiksnys 8 (GDF8, *angl. Growth differentiation factor 8*) yra neigiamas raumenų augimo reguliatorius. Tai baltymas, kuris reguliuoja mioblastų proliferaciją ir diferenciaciją, bei satelitinių ląstelių aktyvaciją [65].

Miostatinas yra transformuojančių augimo veiksnių β (TGF- β , *angl. Transforming growth factor β*) superšeimos baltymas. Kaip ir visi šios šeimos nariai, miostatinas gaminamas kaip baltymas pirmtakas (375 amino rūgščių ilgio) ir endoplazminiame tinkle suformuoja disulfidiniais tilteliais sujungtą homodimerą. Nuo dimerą sudarančių baltymų pirmtakų proteolitiškai atskeliami 24 amino rūgščių ilgio signaliniai peptidai, suformuojant promiostatina. Furino šeimos konvertazių promiostatinas toliau skaldomas į 2 N-galinius fragmentus ir 110 amino rūgščių ilgio

C-galinį dimerą, kurie nekovalentiškai susijungia suformuodami latentinį miostatino kompleksą. C-galinis dimeras yra biologiškai aktyvi miostatino forma, o N-galiniai fragmentai atlieka dvi funkcijas: užtikrina taisyklingą C-galinio dimero tretinę struktūrą ir atlieka jo slopinimo funkciją. Latentinis kompleksas gali būti išardomas metaloproteinazės – kaulų morfogenetinio baltymo 1 (BMP1, *angl.* Bone morphogenetic protein 1). Tai įgalina aktyvią miostatino formą jungtis su 2b tipo aktivino receptoriais (ActRIIB) ir atlikti savo efektorines funkcijas [66;67].

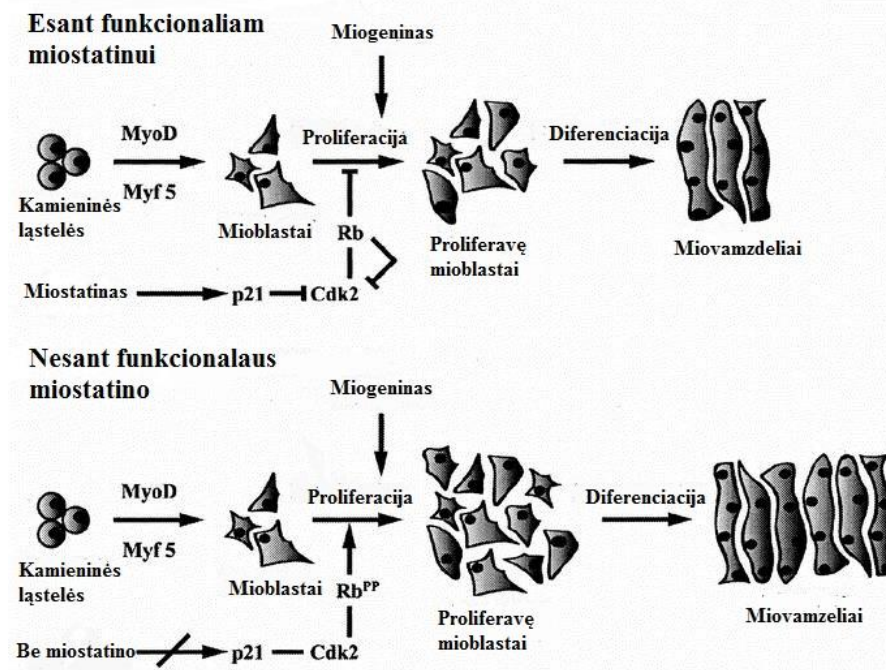
Prisijungęs prie receptoriaus, miostatinas sukelia molekulinį įvykių kaskadą. ActRIIB prisijungia, fosforilina ir aktyvuoja koreceptorius Alk4 ir Alk5. Šie savo ruožtu fosforilina smad2 ir smad3 baltymus. Tuomet, šie baltymai prisijungia smad4 baltymą. Smad baltymų kompleksas yra transportuojamas į branduolį, kur reguliuoja tikslinių genų raišką [68].



4 pav. Miostatino signalinis kelias (adaptuota iš [68])

Miostatino signalinis kelias veikia genų, kurie kontroliuoja mioblastų proliferaciją ir diferenciaciją, raišką [69]. Miogenezės metu mioblastai proliferuoja ir sustabdo ląstelės ciklą tam, kad įvyktų diferenciacija į daugiabranduolius miofibrilių pirmtakus – miovamzdelius. Tai nulemia pastovų raumeninių skaidulų kiekį raumenyse, kuris kiekvienam individui yra specifinis ir genetiškai nulemtas [70]. Taigi, raumens dydis dalinai priklauso nuo mioblastų proliferacijos, kuri įvyksta prieš diferenciacijos etapą, intensyvumo. Nustatyta, kad miostatinas slopina mioblastų proliferaciją. Šis procesas susijęs su ląstelės ciklo valdymu, kurio metu ciklinai ir nuo ciklinų priklausomos kinazės (Cdks, *angl.* Cyclin-dependent kinases) reguliuoja ląstelės ciklo perėjimą tarp skirtingų ląstelės ciklo raidos stadijų. Nustatyta, kad miostatinas padidina cdks slopiklio p21

raišką. Ši molekulė slopina ciklino E ir cdk2 aktyvumą, o tai, savo atžvilgiu, lemia retinoblastomos baltymo (Rb) hipofosforilinimą ir ląstelės ciklo sustabdymą G1 stadijoje. Šis procesas apriboja mioblastų skaičių ir, todėl kontroliuoja miovamzdelių skaičių. Organizme nesant funkcionalaus miostatino, p21 raiška nepadidinama ir Rb išlieka hiperfosforilintoje formoje, todėl mioblastų proliferacija vyksta žymiai intensyviau ir tai nulemia didesnę miovamzdelių skaičių (5 pav.) [71].



5 pav. Miostatino reikšmė mioblastų proliferacijai [71]

Taip pat nustatyta, kad miostatinas slopina mioblastų diferenciaciją į miovamzdelius. Tai susiję su miostatino sukeliama miogeninių diferenciacijos faktorių MyoD, Myf5 ir miogenino raiškos slopinimu [72]. Taigi, miostatinas atlieka svarbią funkciją kontroliuojant raumenų vystymąsi embriogenezės metu.

Suaugusio asmens raumenų ląstelėse miostatinas neigiamai reguliuoja raumenų satelitinės ląstelės. Tai ląstelės, dalyvaujančios raumenų augime arba pažeistų raumenų regeneracijoje. Kaip atsakas į raumeninio audinio pažeidimą ar hipertrofinį stimulą, satelitinės ląstelės aktyvuojamos [72]. Raumens pažeidimo metu, aktyvuotos satelitinės ląstelės proliferuoja ir susilieja, suformuodamos miovamzdelius, kurie subręsta į naujas miofibriles, arba susilieja su pažeistomis raumenų skaidulomis ir jas atstato [73]. Jėgos treniruočių sukeltos hipertrofijos metu, aktyvuotos satelitinės ląstelės atiduoda savo branduolius raumenų skaiduloms ir taip prisideda prie intensyvesnės RNR ir baltymų gamybos, reikalingos raumenų skaidulų augimui [74]. Be šių funkcijų, satelitinės ląstelės proliferuoja tam, kad palaikytų pastovų skaičių, tačiau nustatyta, kad su amžiumi šių ląstelių skaičius mažėja [73]. Satelitinių ląstelių tyrimai pelėse su neveiksniu

miostatiniu, atskleidė padidėjusį satelitinių ląstelių skaičių kiekvienoje miofibrilėje ir didesnę aktyvuotų satelitinių ląstelių dalį, palyginus su funkcionalų miostatina turinčiomis pelėmis. Taip pat miostatino neturinčiose pelėse satelitinės ląstelės greičiau proliferavo ir diferencijavosi. Taigi, miostatinas turi įtakos raumenų dydžiui ir po gimimo. Nustatyta, kad miostatinas neigiamai reguliuoja satelitinių ląstelių funkcijas kontroliuodamas transkripcijos veiksnio PAX7 (*angl. Paired box protein 7*) raišką [72].

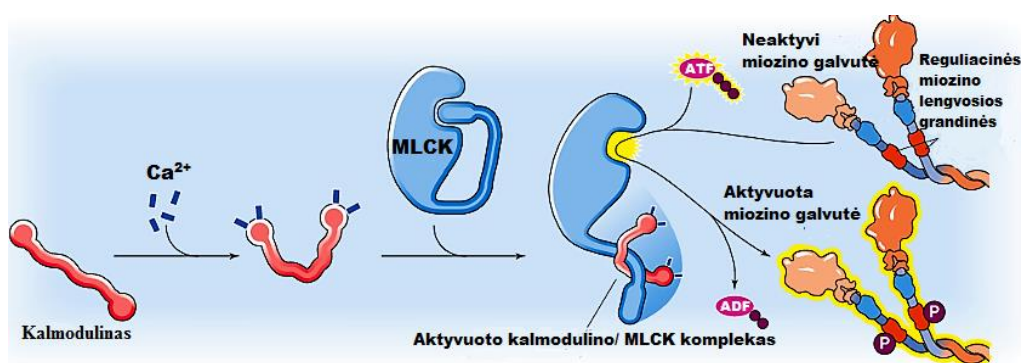
Miostatino raiška vyksta ne tik raumenyse. Preadipocituose miostatinas slopina adipogenezę. Tyrimais nustatyta, kad specifinis miostatino slopinimas raumeniniame audinyje, bet ne riebaliniame audinyje sumažina riebalų masę. Tuo tarpu, specifiskai adipocituose padidinta miostatino raiška pagreitina medžiagų apykaitą ir lemia atsparumą alimentiniam nutukimui. Taip pat miostatinas nustatomas pieno liaukų, Purkinjė pluoštų, blužnies, placentos, gimdos liaukos ląstelėse, kardiomiocituose ir limfocituose. Tai leidžia manyti, kad miostatinas dar turi kitų, neišaiškintų Funkcijų [75].

Miostatina, koduojantis genas (*MSTN*) išsidėstęs 2 chromosomos ilgajame petyje (2q32.2). *MSTN* genas yra 7033 bp ilgio. Genas sudarytas iš 3 egzonų ir 2 intronų. Pirminis *MSTN* transkriptas yra 2822 bp ilgio ir yra transliuojamas į 375 amino rūgščių ilgio ir 26 kDa svorio miostatino pirmtaką [76]. *MSTN* geno seka yra labai konservatyvi tarp daugelio organizmų rūšių [72]. Tai parodo svarbią geno ir jo koduojamo baltymo funkciją.

Literatūros duomenimis, pokyčiai *MSTN* geno sekoje turi įtakos individo fenotipui, t.y. pastebimas raumenų masės padidėjimas. Schuelke ir kiti 2004 metais publikuotame straipsnyje aprašė 4 metų amžiaus vaiką, turintį homozigotinę *MSTN* geno mutaciją (c.373+5G>A), kuri įvyko 1 introno alternatyvaus sukirpimo donorinėje sekoje. Ši mutacija sukūrė pirmalaikį baigmės kodoną ir nulėmė nesubrendusio nefunkcionalaus miostatino gamybą. Dėl šios priežasties, vaikas pasižymėjo nebūdingu jo amžiui raumenų išsivystymu ir jėga [77]. Žmogaus genomo tyrimų metu, miostatino gene buvo nustatyta keletas nesinoniminių vieno nukleotido pakaitų: A55T, K153R, E164K, P198A ir I225T. Dvi iš jų, A55T ir K153R pasirodė esančios polimorfiškos bendroje žmonių populiacijoje. Manoma, kad dažniausias iš išvardintų VNP (K153R) gali turėti funkcinių pasekmių [78]. Šis VNP (NM_005259.2:c.458A>G, rs1805086) nustatomas 2 egzone ir nulemia lizino pokytį į argininą 153 baltymo amino rūgšties pozicijoje. Manoma, kad šis VNP gali įtakoti miostatino pirmtako brendimo procesą ar sumažinti miostatino giminingumą ActRIIB ir taip nulemti intensyvesnę mioblastų proliferaciją ir diferenciaciją. To pasekmė – didesnė raumenų masė [79]. Tačiau Szlama ir kiti 2015 metais publikuotame tyrime nustatė, kad K153R žymiai pagreitina furino konvertazės vykdomą promiostatino skaldymą. Tai palengvina latentinio miostatino komplekso susidarymą ir teoriškai turėtų slopinti raumenų augimą [78]. Taigi, šio VNP funkcijos supratimui reikalingi tolimesni tyrimai.

1.4.5. Miozino fosfatazės-Rho sujungiantis baltymas ir jo funkcijos

Atsižvelgiant į gebėjimą dinamiškai reguliuoti kraujo tėkmę, kuri aprūpina ląsteles maistinėmis medžiagomis ir lemia medžiagų apykaitos produktų pašalinimą, žmogaus griaučių raumenys yra unikalus organas. Šio proceso svarbiausias veiksnys – kraujagyslių tonusas, kuris reguliuojamas lygiųjų raumenų susitraukimo ir atsipalaidavimo [80]. Lygieji raumenys susitraukimo ir atsipalaidavimo mechanizmu skiriasi nuo griaučių raumenų. Šiuose raumenyse Ca^{2+} srautas pradeda biocheminių reakcijų grandinę, kuri padidina miozino ATFazės aktyvumą. Pirmiausia Ca^{2+} jungiasi su baltymu kalmodulinu, tuomet šis molekulinis kompleksas aktyvuoja fermentą miozino lengvųjų grandinių kinazę (MLCK, *angl. Myosin light chain kinase*), kuri fosforilina reguliacinę miozino lengvąją grandinę 19 serino liekanoje (MLC, *angl. Myosin regulatory light chain*). Tai sukelia miozino galvutės konformacinius pokyčius ir padidina miozino ATFazės aktyvumą (6 pav.) [81;82].

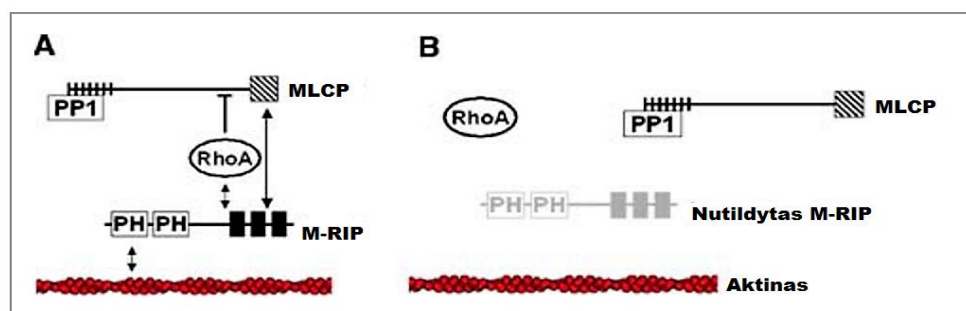


6 pav. Ca^{2+} sukeliama miozino aktyvacija lygiuosiuose raumenyse [81]

Šie procesai įgalina mioziną efektyviai sąveikauti su aktinu ir atlikti molekulinio variklio funkciją. Taigi, skirtingai nei griaučių raumenyse, kuriuose Ca^{2+} nulemiama miozino ir aktino sąveiką yra reguliuojama troponino C, lygiuosiuose raumenyse šią funkciją atlieka kalmodulinas. Be to, griaučių raumenyse miozino ATFazė yra nuolatos aktyvi, o lygiuosiuose raumenyse tik po MLCK įvykdomos aktyvacijos. Todėl lygieji raumenys gali susitraukti tik po MLCK reakcijos. Lygiųjų raumenų susitraukimo būseną palaikoma net tada, kuomet viduląstelinė Ca^{2+} koncentracija grįžta į ramybės būsenai būdingą lygį, todėl raumenų atsipalaidavimui reikalingas papildomas etapas. Šį etapą sudaro miozino lengvųjų grandinių defosforilinimas, kurį įvykdo fermentas – miozino lengvųjų grandinių fosfatazė (MLCP, *angl. Myosin light chain phosphatase*) [81]. MLCP yra heterotrimeras, kurio skirtingi subvienetai turi 130, 20 ir 37 kDa svorį. 37 kDa svorio subvienetas (PP1, *angl. Protein phosphatase-1*) turi katalitinę fosfatazės funkciją, 130 kDa svorio miozino jungimosi subvienetas (MBS, *angl. Myosin-binding subunit*) lemia specifiską

jungimasi prie miozino, o 20 kDa svorio subvieneto funkcija iki šiol neišaiškinta [80]. MBS užtikrina, kad PP1 sąveikautų su MLC ir turi baltymų sąveikos domenų, tokių kaip ankirino pasikartojimai N-gale ir leucino užtrauktuko domenas C-gale [82]. Nustatyta, kad MLCP aktyvumą reguliuoja tiek kraujagyslių išsiplėtimą, tiek kraujagyslių susiaurėjimą skatinantys signaliniai keliai. Žinoma, jog nitrovazodilatoriai, tokie kaip azoto oksidas ir organiniai nitratai, skatindami ciklinio guanozinmonofosfato gamybą (cGMF), aktyvuoja nuo cGMF priklausomą baltymų kinazę, kuri padidina MLCP aktyvumą ir lemia efektyvesnę MLC defosforilinimą. Tuo tarpu kraujagyslių susiaurėjimą skatinantys veiksniai slopina MLCP aktyvumą ir taip padidina MLC fosforilinimą. Vienas iš pagrindinių būdų kaip šie veiksniai slopina MLCP aktyvumą yra monomerinės GTP-azės RhoA (*angl. Ras homolog gene family, member A*) aktyvacija. Aktyvioje būsenoje RhoA jungiasi ir aktyvuoja su Rho-asocijuotą baltymų kinazę (ROCK, *angl. Rho-associated protein kinase*). Aktyvuota ROCK fosforilina MLCP MBS subvienetą 850 treonino liekanoje ir taip nuslopina MLCP aktyvumą. Nepaisant daugelio tyrimų, patvirtinančių RhoA/ROCK reguliacinę funkciją MLCP, mažai žinoma apie mechanizmus, nulemiančius RhoA/ROCK-MLCP sąveiką ir jų nukreipimą į funkcinius aktomiozino komponentus [80].

Praeitame dešimtmetyje mokslininkai identifikavo naują MLCP komplekso baltymą – miozino fosfatazės-Rho sujungiantį baltymą (M-RIP), kuris geba tiesiogiai jungtis prie MBS subvieneto C-gale esančio leucino užtrauktuko. M-RIP N gale esantys du plekstrino homologijos (PH) domenai gali jungtis su aktinu. Tai lemia M-RIP išsidėstymą prie kraujagyslių sienelių lygiųjų raumenų aktino pluoštų [83]. Nustatytos dvi M-RIP funkcijos: MLCP nukreipimas į aktomiozino pluoštus ir MLCP aktyvumo kontrolė per RhoA/ROCK sąveikos su MBS reguliaciją [80]. M-RIP funkcijos grafiškai pavaizduotos 7 paveiksle.



7 pav. Grafinis M-RIP funkcijų pavaizdavimas [80]. **A:** M-RIP N-galiniu domenu jungiasi prie aktino pluoštų ir prisijungdamas RhoA ir MLCP MBS subvienetą sugretina šiuos baltymus ir prijungia juos prie aktino pluoštų. Šis sugretinimas įgalina RhoA/ROCK sąveikauti su MLCP ir reguliuoti jos aktyvumą. **B:** M-RIP raiškos nutildymas lemia MBS ir RhoA atsiskyrimą nuo aktino pluoštų ir RhoA vykdomos MLCP aktyvumo reguliacijos stoką [80]

1.4.5.1. Miozino fosfatazės-Rho sujungiantį baltymą koduojantis genas ir jo sekos varianto reikšmė fiziniam pajėgumui

Miozino fosfatazės-Rho sujungiantį baltymą koduojantis genas (*MPRIP*) yra 17 chromosomos trumpajame petyje (17p11.2). Šis genas yra 175 134 bp ilgio ir gali būti nurašomas į 20 skirtingų transkriptų. Surks ir kiti 2003 metais publikuotame tyrime nustatė žmogaus aortos raumenų ląstelėms būdingo M-RIP amino rūgščių seką. Ją sudaro 1024 amino rūgštys, o baltymo masė yra 116 kDa. Šios M-RIP izoformos amino rūgščių seka yra 90% homologiška pelėse ir žiurkėse nustatytiems M-RIP ortologams [83].

Neseniai atliktas 483 profesionalių Rusijos sportininkų ir 173 nesportuojančių asmenų GWAS tyrimas parodė *MPRIP* introno sekoje esančio VNP (XM_005256563.1:c.219+14693G>A, rs6502557) asociaciją su jėgos ir greičio savybėmis [84]. Nors DNR sekos pokyčiai intronuose neturi poveikio baltymo amino rūgščių sudėčiai, žinoma, kad introninėse sekose gausu alternatyvaus sukirpimo aktyvatorių ir slopiklių, transkripcijos aktyvatorių ir slopiklių, iRNR transportui pro branduolio membraną svarbių veiksmų, nekoduojančių RNR (miRNR, siRNR, su Piwi baltymais sąveikaujančių RNR, lncRNR, snoRNR) genų. Todėl intronuose esantys VNP gali turėti didelę funkcinę reikšmę. Introno sekose esančių VNP funkcinę svarbą patvirtina ir įvairių fenotipinių požymių GWAS tyrimai, kuriuose asociacijos dažniau nustatomos su intronų sekose esančiais VNP, o ne su egzonuose esančiais VNP [85]. Atsižvelgiant į svarbią M-RIP funkciją lygiųjų raumenų susitraukimo ir atsipalaidavimo procesams, galima daryti prielaidą, jog šis VNP gali paveikti baltymo funkciją ir taip įtakoti kraujagyslių tonusą. Manoma, kad tai gali turėti įtakos fizinio pajėgumo savybėms.

2. TYRIMO METODAI IR APIMTIS

2.1. Tiriamieji

Tyrimai buvo atliekami Vilniaus universiteto Medicinos fakulteto Žmogaus ir medicininės genetikos katedros (VU MF ŽMGK) molekulinės genetikos laboratorijoje.

Tyrimui naudota 150 Lietuvos didelio meistriškumo sportininkų ir 257 kontrolinės profesionaliai nesportuojančių negiminingų asmenų DNR mėginiai, kurie buvo parinkti iš VU MF ŽMGK Lietuvių sportininkų DNR mėginių biobazės. Sportininkai (60 moterų ir 90 vyrų, vidutinis amžius 28,6±6,9 metai) pagal sporto šakų specifiką buvo suskirstyti į 3 grupes: 1) aerobinės ištvermės reikalaujančios sporto šakos; 2) anaerobinio pajėgumo reikalaujančios sporto šakos; 3) „mix“ grupė – aerobinio ir anaerobinio pajėgumo sporto šakos. Kontrolinę grupę sudarė Lietuvos

edukologijos universiteto studentai ir kiti Vilniaus miesto gyventojai: 66 moterys ir 191 vyras (vidutinis amžius $32,5 \pm 6,9$ metai). Tiriamųjų DNR buvo išskirta iš veninio kraujo leukocitų VU MF ŽMGK darbuotojų (2011-2015 m. laikotarpyje) pagal laboratorijoje patvirtintą protokolą (fenolio–chloroformo–izoamilo alkoholio metodika) (žr. 1 priedas).

2.2. Įranga ir medžiagos

Laboratorinė įranga ir priemonės:

- Vienkartinės latekso ir nitrilo pirštinės,
- 3 ml. vakuuminis mėgintuvėlis su EDTA (BD Vacutainer),
- Termostatas,
- Spektrofotometras „NanoDrop® ND-1000“ (NanoDrop Thermo Scientific, JAV) su specialia programine įranga „Applied Biosystems“,
- Elektroninės svarstyklės,
- Matavimo cilindras 100 ml,
- Erlenmejerio kolba 250 ml,
- Mikrobangų krosnelė,
- Horizontali gelio elektroforezės sistema „EC Midicell Primo EC-330“ (E-C Apparatus Corp., JAV),
- Laminarinė spinta,
- Mėgintuvėlių stoveliai,
- Šaldantis mėgintuvėlių stovėlis,
- Sterilūs mėgintuvėliai (0,2 ml, 0,5 ml, 1,5 ml, 45 ml),
- Automatinės pipetės „Eppendorf Research“ (0,1-2,5 µl, 0,5-10 µl, 2-20 µl, 10-100 µl, 100-1000 µl),
- Sterilūs vienkartiniai antgaliai (10 µl, 20 µl, 100 µl, 1000 µl),
- Purtyklė „Vortex-T Genie 2“ (Scientific Industries, JAV),
- Mikrocentrifuga „Rotilabo®-mini-centrifuge "Uni-fuge"“ (Carl Roth GmbH + Co.KG, Taivanas),
- Termocikleris „Mastercycler pro vapo protect“ (Eppendorf AG, Vokietija),
- Parafino juostelė „Parafilm Laboratory Film“ (Pechiney Plastic Packaging Inc., JAV),
- Elektroforezės energijos valdymo blokas „GE Healthcare EPS 301“ (GE Healthcare Life Sciences, JAV),
- UV transiluminatorius „UVT-28 ME“ (Herolab GmbH, Vokietija),

- 96 šulinėlių plokštelės „*MicroAmp™ Optical 96-Well Reaction Plate*“ (*Applied Biosystems, Singapūras*),
- Dengiamoji plėvelė 96 šulinėlių plokštelėms „*MicroAmp™ Optical Adhesive Film*“ (*Applied Biosystems, JAV*),
- Terminis kompresas 96 šulinėlių plokštelėms „*MicroAmp™ Optical Film Compression Pad*“ (*Applied Biosystems, JAV*),
- Centrifuga „*Heraeus Multifuge 3L*“,
- Termocikleris „*7900HT Fast Real-Time PCR System*“ (*Applied biosystems™, Life technologies, JAV*).

Reagentai:

- Lizuojantis buferis (0,32 M sacharozės, 5mM MgCl₂, 1 % Triton-X 100, 10 mM Tris-HCl, pH 7,5),
- Branduolių pernešimo buferis (10 mM Tris-HCl, pH 10,5, 1 mM EDTA, 0,15 mM NaCl),
- Natrio dodecilsulfato 10% tirpalas (*AppliChem GmbH, Vokietija*),
- Proteinazės K 2% tirpalas (*Thermo Fisher Scientific, Lietuva*),
- Fenolis (*Carl Roth GmbH + Co.KG, Vokietija*),
- Chloroformas (*Carl Roth GmbH + Co.KG, Vokietija*),
- Chloroformo ir izoamilo mišinys (*Carl Roth GmbH + Co.KG, Vokietija*),
- Natrio acetatas (3 M, pH 5,2) (*AppliChem GmbH, Vokietija*),
- Etanolis 70°, 96°,
- TE buferis (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 8) (*AppliChem GmbH, Vokietija*),
- Dejonizuotas vanduo (ddH₂O),
- Agarozės milteliai „*SeaKem®, LE Agarose*“ (*Lonza Group Ltd, JAV*),
- 1x TBE buferis (0,09 M Tris-borato, 0,002 M EDTA, pH 8,0) (*Carl Roth GmbH + Co.KG, Vokietija*),
- Etidžio bromidas (*Carl Roth GmbH + Co.KG, Vokietija*),
- PGR komponentų mišinys „*PCR Master Mix (2x)*“ (*Thermo Fisher Scientific, Lietuva*),
- Oligonukleotidiniai PGR Pradmenys (*Thermo Fisher Scientific, Lietuva*)
- DNR tirpalas,
- 3x DNR elektroforezės įvedimo dažas (*Thermo Fisher Scientific, Lietuva*),
- Molekulinės DNR masės ir ilgio standartas „*GeneRuler™ 50bp DNA Ladder*“ (*Thermo Fisher Scientific, Lietuva*),
- Greito restrikcijos endonukleazės „*FastDigest XceI*“ (*Thermo Fisher Scientific, Lietuva*),

- Restrikcijos endonukleazių buferis „*FastDigest Green Buffer*“ (Thermo Fisher Scientific, Lietuva),
- TaqMan® PGR mišinys „*TaqMan® Genotyping Master Mix*“, (Thermo Fisher Scientific, Lietuva),
- *TaqMan®* zondų ir pradmenų mišiniai (Applied Biosystems, JAV).

2.3. Metodai

2.3.1. DNR išskyrimas bei kiekio ir grynumo įvertinimas

DNR išskyrimas fenolio–chloroformo–izoamilo metodu – tai vienas plačiausiai taikomų DNR išskyrimo metodų. Jis paremtas nukleorūgščių ir kitų biologinių molekulių (baltymai, lipidai ir t.t) skirtingu poliškumu ir skirtinga vandens ir etanolio dielektrine konstanta. Daugiapakopio proceso metu nukleorūgštys išvalomos nuo priemaišų veikiant organiniais tirpikliais ir centrifuguojant dideliu greičiu. Išgrynintos DNR išskyrimas vyksta išsodinimo iš tirpalo būdu. Veikiant etanoliumi ir vienvalenčiais katijonais (pvz., Na⁺) DNR iškrenta į nuosėdas, kurios surenkamos ir ištirpinamos buferiniame tirpale. Neseniai atliktas DNR išskyrimo metodų palyginimas parodė, kad fenolio–chloroformo panaudojimu paremta metodika pasižymi dideliu DNR išskyrimo našumu ir pakankamai gera išskirtos DNR kokybę net ir palyginus su naujausiais komerciniais DNR išskyrimo rinkiniais [86]. Tačiau šio metodo metu naudojamos toksiškos žmogui medžiagos, todėl dirbant svarbu laikytis saugumo priemonių.

Tiksliai nustatyta DNR koncentracija ir grynumas yra svarbūs veiksniai, apsprendžiantys sėkmę tolimesniuose tyrimo etapuose. Išskirtos DNR kiekybę ir kokybę galima įvertinti spektrofotometriškai. Šiam tikslui buvo naudojamas spektrofotometras „*NanoDrop® ND-1000*“. Prietaisui skirta programinė įranga „*Applied Biosystems*“ DNR koncentracijos skaičiavimams taiko modifikuota Lamberto-Bugerio-Bero dėsnį, kuris susieja pro DNR tirpalą sklindančios šviesos sugerties dydį su DNR koncentracija. Dėsnis teigia:

$$c = (A * e)/b,$$

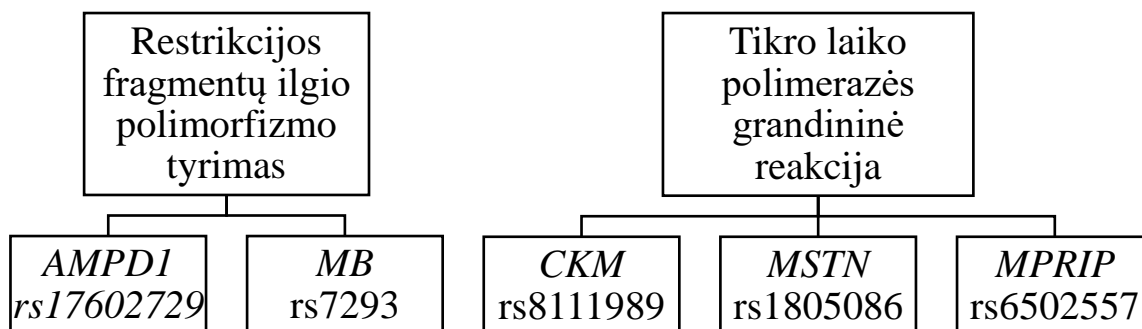
kuomet **c** – nukleorūgščių koncentracija (ng/μl), **A** – šviesos sugertis (AU), **e** – nuo šviesos bangos ilgio priklausantis ekstincijos koeficientas (ng-cm/μl), **b** – šviesos sklidimo atstumas (cm).

DNR sugeria šviesą esant 260 nm (A_{260}) bangos ilgiui, todėl šiame bangos ilgyje atliekami DNR koncentracijos matavimai. Tuo tarpu DNR grynumas įvertinamas atsižvelgiant į šviesos sugerties 260 nm (A_{260}) ir 280 nm (A_{280}) bangos ilgiuose santykį, kadangi baltymai sugeria šviesą 280 nm bangos ilgyje. DNR laikoma geros kokybės, jeigu A_{260}/A_{280} santykis varijuoja 1,7 - 1,9.

Siekiant užtikrinti patikimus rezultatus, „NanoDrop® ND-1000“ programinė įranga „Applied Biosystems“ atlieka normalizacijos etapą: atliekamas papildomas matavimas 340 nm bangos ilgyje, kuriame įprastu atveju nestebima nukleorūgščių ar baltymų šviesos sugertis, ir šio matavimo vertė atimama iš verčių, gautų matuojant 260 nm ir/arba 280 nm bangos ilgyje. Tai leidžia išvengti klaidingų rezultatų dėl pašalinių objektų ir padidina prietaiso signalo/triukšmo santykį.

Remiantis DNR kiekio ir grynumo nustatymo rezultatais buvo atrenkami mėginiai ir atliekamas jų skiedimas dejonizuotu vandeniu iki tolimesniam darbui reikalingos koncentracijos. Po skiedimo mėginiai buvo laikomi -20°C temperatūroje.

2.3.2. Genetinių žymenų tyrimo metodai



8 pav. Bendra genetinių žymenų tyrimo metodų schema

2.3.2.1. Restrikcijos fragmentų ilgio polimorfizmo tyrimas

Polimerazės grandininė reakcija

Polimerazės grandininė reakcija (PGR, angl. *Polymerase chain reaction*) – tai ciklišku temperatūros keitimu paremtas metodas, kuris leidžia greitai ir dideliais kiekiais pagausinti norimą nedidelį DNR fragmentą. Šiuo metodu per kelias valandas vieną DNR fragmentą galima pagausinti iki 10^6 - 10^9 kopijų. Metodo jautrumas įgalina pagausinti pavienius genus ar jų fragmentus. Tai atveria kelią tolimesniems molekuliniais genetiniams tyrimams. Kiekvienai PGR

reakcijai reikalingi šie komponentai: DNR matrica, *Taq* DNR polimerazė, oligonukleotidiniai pradmenys, deoksiribonukleozido 5' trifosfatai (dNTP), reakcijai optimizuotas buferis ir MgCl₂.

DNR matrica tai DNR seka, kurioje yra norimas pagausinti DNR fragmentas. Optimalus DNR matricos kiekis gausinant genominę DNR yra nuo 0,1-1 µg. Didesnis DNR matricos kiekis reakcijos mišinyje padidina nespecifinių PGR produktų gavimo riziką. Mažesnis nei nurodyta DNR matricos kiekis lemia mažesnę amplifikacijos tikslumą. Dėl šių priežasčių tikslus DNR koncentracijos įvertinimas prisideda prie efektyvios PGR. Tyrimui naudoti 100 µg/ml DNR koncentracijos mėginiai.

Oligonukleotidiniai pradmenys – tai dirbtiniu būdu susintetintos viengradės nukleotidų sekos, kurios veikia kaip DNR sintezės pradžios taškai ir apibrėžia sintetinamo DNR fragmento dydį. Optimali pradmenų koncentracija yra 0,1-1 µM.

Šiam tyrimui PGR pradmenys buvo parinkti remiantis literatūros šaltinių analize [43;61]. Parinkti pradmenys daugeliu sąlygų atitiko PGR pradmenų kūrimo rekomendacijas [87]. Pastebėta, kad *MB* polimorfizmui tirti parinktas atvirkštinis pradmuo turėjo didelį G ir C nukleotidų kiekį, kurie sudarė 69,2% visų pradmens nukleotidų, tačiau vykdant tyrimą tai nesudarė problemų. Naudotų pradmenų sekos pateiktos 1 lentelėje.

1 lentelė. PGR naudoti oligonukleotidiniai pradmenys

Genas	Polimorfizmas	Pradmens seka
<i>AMPDI</i>	(NM_000036.2:c.133C>T, rs17602729)	5'-CTTCATACAGCTGAAGAGACA-3' (F)
		5'-GAATCCAGAAAAGCCATGAGC-3' (R)
<i>MB</i>	(NM_005368.2:c.174G>A, rs7293)	5'-TGAAGTCAGAGGACGAGATGAATGC-3' (F)
		5'-GCCCAGGCTCTGCCTCCTACCTCCAG-3' (R)

F – Tiesioginis pradmuo (*angl. Forward*); **R** – Atvirkštinis pradmuo (*angl. Reverse*).

PGR vykdoma termocikleryje „*Eppendorf Mastercycler Pro*“. PGR susideda iš trijų pagrindinių cikliškai kartojamų etapų, tačiau prieš juos pradedant, atliekamas vienkartinis etapas – pradinė denatūracija. Jo paskirtis yra veikiant aukšta temperatūra (95°C) pilnai denatūruoti DNR matricą, kad pirmojo DNR grandinės sintezės ciklinio etapo metu būtų užtikrintas efektyvus DNR matricos panaudojimas. Toliau vyksta temperatūriniai cikliniai etapai: 1) DNR denatūracija aukšta (94-95°C) temperatūra, kurios metu dėl vandenilinių ryšių suardymo atsiskiria DNR grandinės; 2) Pradmenų prilydimo (40-60°C), kuomet oligonukleotidiniai pradmenys vandenilniais ryšiais komplementariai jungiasi prie gausinamo DNR fragmento galuose esančių sričių; 3) DNR sintezės

(72°C), kada *Taq* DNR polimerazė prie pradmens 3' galo prijungia naujus dNTP. Po paskutinio DNR sintezės etapo rekomenduojama mėginius dar palaikyti 72°C temperatūroje, siekiant, kad neliktų polimerazės iki galo nebaigtų sintetinti DNR fragmentų.

Šiame tyrime PGR buvo atliekama naudojant 30 ciklų programas. Tyrime naudotos termociklerio sąlygos nurodytos 2 lentelėje.

2 lentelė. Termociklerio PGR sąlygos

Etapas		<i>AMPDI</i> (c.133C>T)	<i>MB</i> (c.174G>A)	Laikas	
1.	Pradinė denatūracija	95 °C	95 °C	3 min	
2.	Denatūracija	95 °C	95 °C	30 s	30 Ciklų
3.	Pradmenų prilydymo etapas	56 °C	59 °C	30 s	
4.	Grandinės ilginimo etapas	72 °C	72 °C	30 s	
5.	Galutinė sintezė	72 °C	72 °C	7 min	

Darbo eiga:

1. Apskaičiuojamas PGR reakcijos mišiniui reikalingų komponentų kiekis (n+2) mėginių (n – tiriamų mėginių skaičius). Mišinio komponentų kiekiai vienam mėginiui nurodyti žemiau.

3 lentelė. PGR mišinio komponentų kiekiai vienam mėginiui

Reagentas	Tūris vienam mėginiui, µl
ddH ₂ O (dejonizuotas vanduo)	9,5
PGR mišinys „ <i>PCR Master Mix (2X)</i> “	12,5
Tiesioginis pradmuo (F)	1
Atvirkštinis pradmuo (R)	1
Bendras tūris	24

PGR mišinio „*PCR Master Mix (2X)*“ sudėtis:

- *Taq* DNR polimerazė (0.05 U/µL);
- Reakcijos buferis (Tris-HCl, KCl);
- 4 mM MgCl₂;
- 0.4 mM kiekvieno dNTP (dATP, dTTP, dGTP, dCTP)

2. Prieš ruošiant PGR reakcijos mišinį, etanoliu išvaloma ir UV spinduliais apšviečiama laminarinė spinta, kadangi darbui reikalingos sterilios sąlygos.

3. DNR mėginiai išimami iš šaldytuvo, PGR komponentai iš šaldiklio. Atšildomi, supurtomi, nucentrifuguojami ir laikomi šaldančiame stovelyje.
4. PGR reakcijos mišinys ruošiamas steriliame 1,5 ml tūrio mėgintuvėlyje. Mikropipete supilstomi visi reagentai, išskyrus DNR.
5. Reakcijos mišinys išpilstomas į 0,2 ml tūrio sterilius mėgintuvėlius. Į kiekvieną mėgintuvėlį pilama 24 µl reakcijos mišinio.
6. Į mėgintuvėlius su reakcijos mišiniu mikropipete įnešama po 1 µl tiriamųjų mėginių DNR (koncentracija 100 µg/ml) ir lengvai pipetuoiant sumaišoma. Į vieną mėgintuvėlį DNR neįnešama (naudojamas neigiamai kontrolei).
7. Mėgintuvėliai dedami į termociklerį ir paleidžiama PGR programa.

PGR produkto specifiškumas ir kiekis įvertinamas vykdant elektroforezę 2% agarozės gelyje.

DNR elektroforezė 2% agarozės gelyje

Elektroforezė agarozės gelyje – tai analitinis metodas, kuris taikomas siekiant atskirti DNR fragmentus pagal jų dydį. DNR turi neigiamai įkrautas fosforo rūgšties liekanas, todėl elektriniame lauke juda link anodo. Elektroforezė vykdoma agarozės matricoje. Tai linijinis polimeras, kuris veikia kaip molekulinis sietas, leidžiantis atskirti skirtingo ilgio DNR fragmentus. Kuo trumpesnis DNR fragmentas, tuo mažesnis pasipriešinimas kelyje, todėl fragmentas nukeliauja toliau. Šio tyrimo metu buvo naudojamas 2% koncentracijos agarozės gelis, kuris leidžia atskirti 100-3000 bp ilgio DNR fragmentus. Kita svarbi elektroforezės sąlyga yra buferis, kuris palaiko pastovų pH ir apsaugo DNR nuo hidrolizės proceso metu. Naudojant dvigrandę DNR interkaliojantį ir fluorescuojantį dažą – etidžio bromidą, galima stebėti atskirtus DNR fragmentus ultravioletinėje spektro dalyje. Greita vykdomas iš anksto žinomo ilgio DNR fragmento frakcionavimas, leidžia vizualiai įvertinti atskirtų DNR fragmentų ilgį bazių poromis.

Darbo eiga:

1. Sudedama horizontalios elektroforezės vonelė, pritvirtinamos gelio šulinėlius formuojančios šukutės.
2. Ruošiamas 2% agarozės tirpalas: Į 100 ml talpos sugraduota matavimo cilindrą įpilama 100 ml 1X TBE buferio. Svarstyklėmis pasveriamas 2 g agarozės miltelių. Į plokščiadugnę kolbą įpilama šiek tiek 1x TBE buferio, supilami agarozės milteliai ir nuplaunant nuo sienelių agarozės miltelių likučius, supilamas likęs buferio tūris, mišinys sumaišomas. Kolba su agarozės ir buferio mišiniu dedama į mikrobangų krosnelę ir kaitinama kol agarozė ištirpinama

ir skystis tampa skaidrus. Agarozė paliekama atvėsti iki ~60 °C temperatūros, į tirpalą įleidžiama 2 µl etidžio bromido tirpalo.

3. Tirpalas supilamas į suformuotą elektroforezės vonelę ir paliekamas stingti (polimerizuotis) kambario temperatūroje ~30 min.
4. Tirpalui sustingus, atsargiai ištraukiamos šukutės, suformuojant gelyje šulinėlius, ir gelis perkeliamas į elektroforezės sistemą, užpildytą 1xTBE buferiu.
5. Ant specialios plėvelės – parafino juostelės „*Parafilm*“, naudojant mikropipetę 3x žaliasis DNR elektroforezės įvedimo dažasdažas sumaišomas su PGR produktu santykiu 1:2.
6. Į pirmąjį šulinėlį įnešama DNR molekulinės masės ir ilgio standartas, o į paskutinįjį – neigiama PGR kontrolė.
7. Elektroforezės sistema uždaroma, prijungiama prie įtampos šaltinio ir atliekama 20 min. 120 voltų įtampoje.
8. Pasibaigus elektroforezei, gelis analizuojamas transiliumatoriaus pagalba UV šviesoje. Matomi 216 bazių porų ilgio *AMPDI* fragmentai ir 189 bazių porų ilgio *MB* fragmentai. Įvertinus rezultatus, duomenys dokumentuojami. Specialios kompiuterinės vaizdo dokumentavimo sistemos pagalba gelis fotografuojamas ir išsaugomas vidinėje kompiuterio atmintyje.

DNR fragmentų karpymas restrikcijos endonukleazėmis ir jų frakcionavimas 2% agarozės gelyje

Restrikcijos fragmentų ilgio polimorfizmo tyrimo principas remiasi tuo, kad fermentais, restrikcijos endonukleazėmis, yra specifiskai „karpomi“ tiriamą nukleotidų seką turintys DNR fragmentai, pagausinti PGR metodu. Skirtingos restrikcijos endonukleazės dvigrandę DNR seką kerpa skirtingose vietose priklausomai nuo fermentui specifinės nukleotidų sekos. Atlikus fermentinį karpymą, gauti DNR fragmentai atskiriami pagal ilgį elektroforezės agarozės gelyje metu. Jei tiriamų asmenų grupėje yra tiriamo VNP nešiotojas, restrikcijos fragmentai bus skirtingų ilgių. Tokiu principu įvertinamas asmens genotipas VNP atžvilgiu. Pagrindiniai restrikcijos reakcijos komponentai: restrikcijos endonukleazė ir jos veiklai optimalus buferis „*FastDigest Green Buffer*“.

Restrikcijos endonukleazės atpažįsta 6-8 nukleotidų ilgio DNR sekas ir kerpa sekos viduje arba už jos, todėl tyrimui renkantis restrikcijos endonukleazę, itin svarbu užtikrinti, kad pasirinktas fermentas turėtų reikiamą atpažinimo seką. Šio darbo metu, restrikcijos endonukleazių parinkimui buvo naudojama ši internetinė programa – „*NEBcutter v. 2.0*“ (*New England Biolabs*). Internetinė nuoroda: (<http://tools.neb.com/NEBcutter2/index.php>). Darbe naudotos naujos kartos

„*FastDigest*“ restrikcijos endonukleazės, kurios DNR sekos karpymą atlieka per 5-15 minučių. Jų optimaliausia veikimo temperatūra – 37°C. Darbui parinktos restrikcijos endonukleazės pateiktos 4 lentelėje.

4 lentelė. Darbui parinktos restrikcijos endonukleazės ir po restrikcijos reakcijos gaunamų fragmentų dydžiai

Genas	VNP	Restrikcijos endonukleazė	Atpažinimo seka ir kirpimo vieta	Fragmentų dydžiai (bp)	
				kirptas	Nekirptas
<i>AMPD1</i>	(c.133C>T)	NspI	5' RCATG↓Y 3' 3' Y↑GTACR 5'	194 + 22	216
<i>MB</i>	(c.174G>A)	BsaHI	5' GR↓CGYC 3' 3' CYGC↑RG 5'	163 + 26	189

Darbo eiga:

1. Restrikcijos reakcijos mišiniui reikalingų komponentų kiekis apskaičiuojamas (n+2) mėginių (n – PGR metodu pagausintų DNR mėginių kiekis) (5 lentelė).
2. Prieš pradėdant pilstyti restrikcijos reakcijos mišinį, etanoliu išvaloma ir UV spinduliais apšviečiama laminarinė spinta, kadangi darbui reikalingos sterilios sąlygos.
3. PGR produktai išimami iš šaldytuvo, restrikcijos komponentai iš šaldiklio. Atšildomi, supurtomi ir nucentrifuguojami.

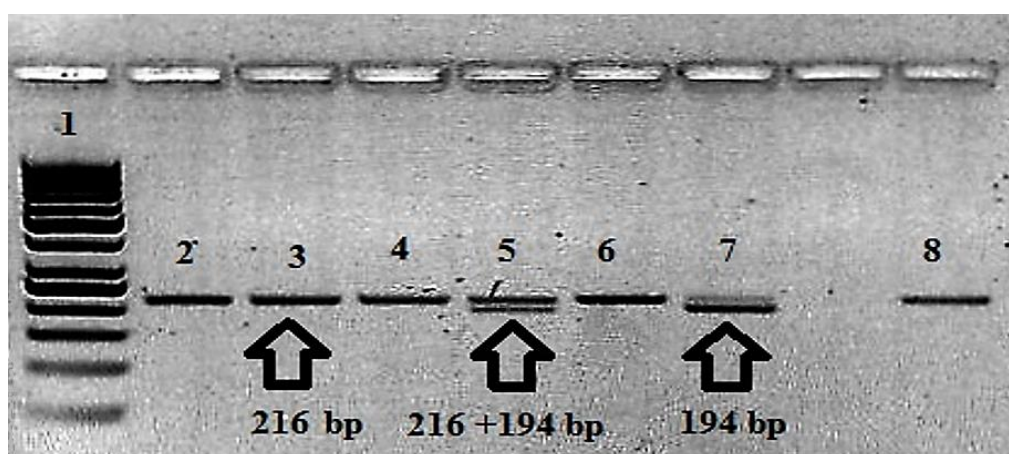
5 lentelė. Restrikcijos reakcijos mišinio komponentų kiekiai vienam mėginiui

Reagentas	Tūris vienam mėginiui, µl
Dejonizuotas vanduo	8,5
Buferis (<i>FastDigest Green Buffer</i>)	1,0
Restrikcijos endonukleazė (NspI/BsaHI <i>FastDigest</i>)	0,5
Bendras tūris	10

Buferis (*FastDigest Green Buffer*) savo sudėtyje jau turi DNR dažą, todėl po inkubacijos termocikleryje reakcijos mišinio nereikia maišyti su DNR elektroforezės įvedimo dažu ir galima iš karto suleisti į agarozės šulinėlius.

4. Restrikcijos reakcijos mišinys ruošiamas steriliame 1,5 ml tūrio mėgintuvėlyje, supilstomi visi reagentai, išskyrus PGR produktą.

5. Restrikcijos reakcijos mišinys mikropipete išpilstomas į 0,2 ml tūrio sterilius mėgintuvėlius. Pilama 10 μl reakcijos mišinio į kiekvieną mėgintuvėlį.
6. Į mėgintuvėlius su restrikcijos reakcijos mišiniu mikropipete įnešama 5 μl PGR produkto ir lengvai pipetuoiant sumaišoma.
7. Mėgintuvėliai dedami į termociklerį ir inkubuojami 7 min 37°C temperatūroje.
8. Po inkubacijos mėginiai iš karto dedami į šaldomąjį stovėlį, siekiant inaktyvuoti restrikcijos endonukleazes.
9. Mišinys suleidžiamas į 2 % agarozės gelį plačiais šulinėliais ir vykdoma elektroforezė 120 V įtampoje 20 min.
10. Elektroforezės rezultatai vertinami UV šviesoje ir pagal DNR sukarpymo profilį nustatomi genotipai (9 pav.).



9 pav. *AMPD1* rs17602729 polimorfizmo genotipų pasiskirstymas 2% agarozės gelyje (po restrikcijos su NspI restrikcijos endonukleaze): 2,3, 4 ir 6 takeliuose – CC genotipas (216 bp), 5 takelyje – CT genotipas (216 ir 194 bp), 7 takelyje – TT genotipas (194 bp). 1 takelyje DNR molekulinio dydžio standartas (*GeneRuler* 50 bp), 8 takelyje – nekarpytas PGR produktas (kontrolinis mėginys)

2.3.2.2. Tikro laiko polimerazės grandininė reakcija

Tikro laiko PGR (TL-PGR, angl. *Real-time polymerase chain reaction*) – tai automatizuota sistema, kai PGR ir pagausinto DNR fragmento kiekio nustatymas vyksta vienu metu. Taikant šį analizės metodą, kiekvieno PGR ciklo metu yra matuojama fluorescencija, kuri yra proporcinga pagausintų DNR molekulių kiekiui.

Darbo metu buvo naudojamas TL-PGR pagrįstas alelių diskriminacijos tyrimas. *CKM* XM_005258497.1:c.*800A>G (rs8111989), *MSTN* NM_005259.2:c.458A>G (rs1805086) ir

MPRIP XM_005256563.1:c.219+14693G>A (rs6502557) genetiniai žymenys buvo tiriami naudojant *TaqMan*[®] technologiją. Ši technologija paremta *Taq* DNR polimerazės 5' → 3' egzozonukleaziniu aktyvumu ir specifinių *TaqMan*[®] MGB zondų naudojimu.

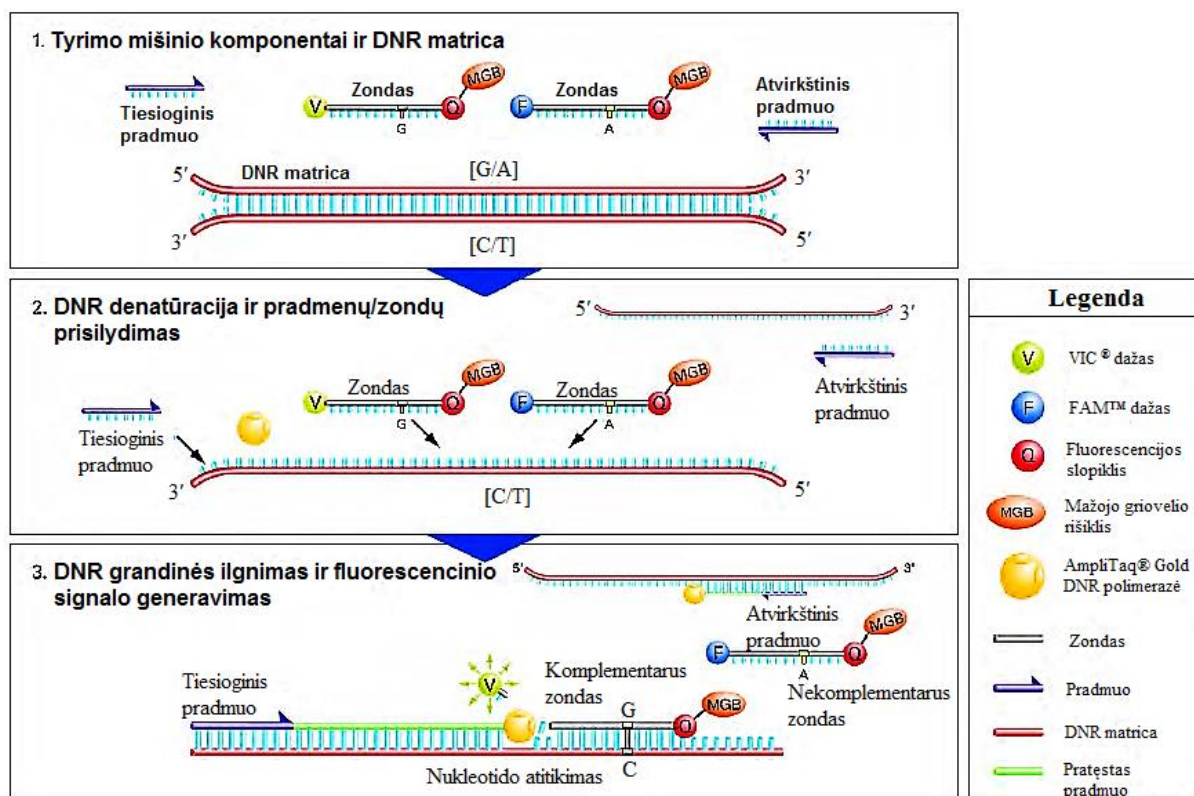
Tyrimė naudoti *TaqMan*[®] zondų ir pradmenų mišiniai ir *TaqMan*[®] PGR komponentų mišinys. Į *TaqMan*[®] zondų ir pradmenų mišinio sudėtį įeina du VNP supančiai sekai specifiniai pradmenys ir du *TaqMan*[®] zondai, kurių vienas skirtas laukinio alelio, o kitas polimorfinio alelio nustatymui. Kiekvieno *TaqMan*[®] zondo 5'- gale yra reporterinis dažas: VIC[®] vienam aleliui nustatyti ir FAM[™] kitam aleliui nustatyti; 3'- gale yra fluorescencijos slopiklis kartu su prijungtu mažojo DNR griovelio rišikliu (MGB, *angl. Minor groove binder*). MGB padidina zondo lydymosi temperatūrą (T_m) ir taip stabilizuoja zondo-DNR sąveiką jo neilginant. Į *TaqMan*[®] PGR komponentų mišinio „*TaqMan*[®] Genotyping Master Mix“ sudėtį įeina didelio specifiskumo terminės aktyvacijos reikalaujanti „*AmpliTaq*[®] Gold“ DNR polimerazė, referentinis ROX[™] dažas (skirtas fluorescencijos signalų normalizacijai), deoksiribonukleotidų mišinys ir reakcijai optimizuoti buferio komponentai. Fluorescencinio signalo normalizacija yra būtina ir skirta pašalinti techninių netikslumų įvedamą fluorescencinio signalo paklaidą. *TaqMan*[®] technologijos principinis veikimas yra toks:

1. Kuomet zondas yra neprisijungęs prie gausinamo produkto, 5'-galo reporterinis dažas yra erdviškai arti 3'-gale esančio fluorescencijos slopiklio, kuris dėl fluorescencijos rezonansinės energijos perdavimo (*angl. Fluorescence resonance energy transfer*) reiškinio, slopina reporterinio dažo fluorescenciją.
2. Kiekvienas zondas (žymėtas VIC[®] arba FAM[™] reporteriniu dažu) jungiasi prie komplementarios sekos.
3. PGR amplifikacijos metu zondo 5'- gale esantis reporterinis dažas yra skeliamas 5' → 3' egzozonukleazinį aktyvumą turinčios „*AmpliTaq*[®] Gold“ DNR polimerazės, todėl atsiskiria ir erdviškai nutolsta nuo fluorescencijos slopiklio. Dėl to suintensyvėja jo skleidžiamas fluorescencinis signalas. Pagal tai, kurio dažo signalas nustatomas, yra įvertinamas genotipas pagal tiriamus alelius (6 lentelė).

6 lentelė. Mėginio genotipo priklausomybė nuo fluorescencinio signalo

Fluorescencinis signalas	Mėginio genotipas
VIC [®] dažo signalas	Homozigotinis pagal laukinį alelį
FAM [™] dažo signalas	Homozigotinis pagal polimorfinį alelį
VIC [®] ir FAM [™] dažo signalas	Heterozigotinis pagal abu alelius

TaqMan® technologijos principas grafiškai pavaizduotas 10 paveiksle.



10 pav. TaqMan® technologijos grafinis pavaizdavimas

Darbo eiga:

1. Apskaičiuojami TL-PGR reakcijos mišiniui reikalingų komponentų kiekiai ($n+5$) mėginių (n – tiriamų mėginių skaičius). Mišinio komponentų kiekiai vienam mėginiui nurodyti žemiau (7 lentelė).

7 lentelė. TL-PGR mišinio komponentai

Reagentas	Tūris vienam mėginiui, μ l
Vanduo be nukleazių (<i>angl. Water, nuclease-free</i>)	4,5
TL-PGR mišinys „TaqMan® Genotyping Master Mix“	6
Pradmenų ir zondų mišinys CKM rs8111989 C_3145002_10 MSTN rs1805086 C_282184_30 MPRIP rs6502557 C_29246367_10	0,5
Bendras tūris	11

2. Prieš darbą užtikrinamos sterilios darbo sąlygos: laminarinės spintos paviršiai kruopščiai išvalomi etanoliu ir apšvitinami UV spinduliais.
3. DNR mėginiai išimami iš šaldytuvo, TL-PGR komponentai iš šaldiklio. Prieš naudojimą atšildomi, supurtomi ir nucentrifuguojami. Ruošiamas TL-PGR reakcijos mišinys.
4. TL-PGR reakcijos mišiniai ruošiami steriliuose 1,5 ml tūrio mėgintuvėliuose. Supilstomi visi reagentai, išskyrus DNR.
5. TL-PGR reakcijos mišinys paskirstomas po 11 µl į 96 TL-PGR reakcijos plokštelės šulinėlius.
6. Į kiekvieną plokštelės šulinėlį įpilama po 1,5 µl DNR (10 µg/ml). Į 96 šulinėlį DNR neįnešama (vykdoma neigiama kontrolė).
7. Plokštelė uždengiama specialia dengiamąja plėvele, kuri apsaugo reakcijos mišinį nuo garavimo.
8. Plokštelė centrifuguojama 2000 aps/min 2 min siekiant pašalinti oro burbulus, kurie gali trukdyti fluorescencinio signalo nustatymui.
9. Plokštelė apdengiama specialiu terminiu kompresu, kuris apsaugo plokštelę nuo išsilydymo, ir dedama į TL-PGR termociklerį. Paleidžiama TL-PGR termociklerio programa (8 lentelė).

8 lentelė. Termociklerio RT-PGR programos sąlygos

Ciklas		Temperatūra	Laikas	
1.	Fermentų aktyvacija	95 °C	10 min	
2.	Denatūracija	95 °C	15 s	40 Ciklų
3.	Pradmenų, zondų prilydimo/grandinės ilginimo etapas	60 °C	1 min	

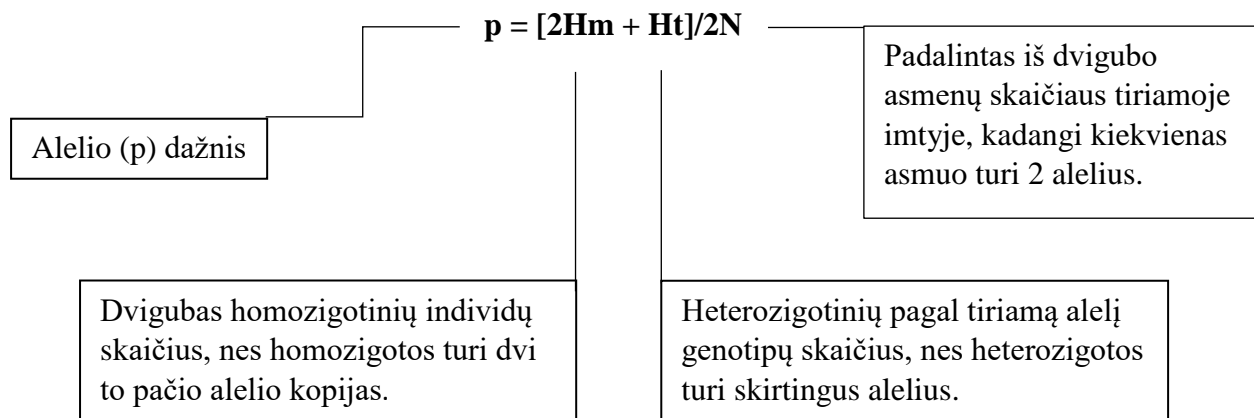
10. Pasibaigus reakcijai, duomenys analizuojami „*SDS 2.3 Applied biosystems™*“ programa. Ši programa pateikia erdvinį genotipų pasiskirstymą. Kiekvienas taškas interpretuojamas kaip asmens genotipas pagal tiriamą VNP. Pagal taškų išsidėstymą ašių atžvilgiu, nustatomi tiriamųjų genotipai.

2.4. Duomenų statistinė analizė

2.4.1. Alelių ir genotipų dažnio skaičiavimas

Atlikus pasirinktų genetinių žymenų genotipavimą, gautų duomenų analizei buvo naudojama genetinės asociacijos tyrimų strategija. Šio tyrimo atveju buvo pasirinktas atvejo-kontrolės tyrimo modelis, kuomet alelių ir genotipų dažniai ypatingų požymių turinčių asmenų grupėje (atvejis –

profesionalus sportininkai) palyginami su jų dažniais šių požymių neturinčių individų grupėje (kontrolė) [88]. Darbo metu iš pradžių buvo skaičiuojami Lietuvos didelio meistrškumo sportininkų ir kontrolinės grupės asmenų genotipų ir alelių dažniai. Alelių dažnio skaičiavimo principą vaizduoja pateikta schema (11 paveikslas).



11 pav. Alelio (p) dažnio skaičiavimo schema

Dviejų alelių dažnių suma visada lygi 1. Remiantis šia savybe, galima lengvai paskaičiuoti kito alelio (q) dažnį:

$$q = 1 - p$$

Genotipų dažnio populiacijoje įvertinimui tiriamose grupėse buvo taikomas Hardžio ir Vainbergo (H-V) pusiausvyros dėsnis. Jeigu genetinio žymens genotipai ir aleliai yra H-V pusiausvyroje, tuomet jie pasiskirsto šiomis proporcijomis:

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

kuomet p^2 – vieno alelio homozigotų dažnis, q^2 – alternatyvaus alelio homozigotų dažnis, $2pq$ – heterozigotų dažnis.

Pagal nukrypimus nuo H-V pusiausvyros galima spręsti apie populiacijos genetinę struktūrą veikiančias jėgas. Tai ypatingai svarbu genetinės asociacijos tyrimų atžvilgiu, nes jei tiriamosios imties genetinio žymens aleliai ir genotipai nėra H-V pusiausvyroje, tai gali būti požymis, liudijantis apie prastą genotipavimo kokybę ar populiacijos stratifikaciją, kurie gali nulemti klaidingai teigiamus analizės rezultatus. Svarbu paminėti ir tai, kad nukrypimai nuo H-V pusiausvyros kartais gali byloti apie esančią asociaciją tarp genetinio žymens ir nagrinėjamo požymio [89].

Naudojantis H-V genotipų proporcijomis, kiekvienam tiriamam žymeniui buvo apskaičiuoti teoriškai tikėtini genotipų nešiotojų skaičiai:

$$p^2 \cdot N / 2pq \cdot N / q^2 \cdot N,$$

kuomet p^2 – vieno alelio homozigotų dažnis, q^2 – alternatyvaus alelio homozigotų dažnis, $2pq$ – heterozigotų dažnis, N – tiriamos imties asmenų skaičius.

Toliau apskaičiuoti dydžiai buvo naudojami vykdant statistinių tikimybių skaičiavimą.

2.4.2. Statistinė analizė

Statistiniai skaičiavimai buvo atliekami naudojant laisvos prieigos statistinės analizės programinį paketą R (versija 3.3.3).

Genotipų dažnių atitikimas H-V proporcijoms buvo nustatomas naudojant R paketo įskiepi (genetics v.1.3.8.1). Kuomet bent vieno genotipo teoriškai tikėtinas nešiotojų skaičius buvo mažesnis už 5, naudojant funkciją – *HWE.exact* buvo taikomas tikslusis testas [90]. Kitais atvejais, naudojant funkciją – *HWE.chisq* buvo taikomas Pirsono χ^2 testas.

Tiriamų genetinių žymenų genotipų ir alelių dažnių palyginimas tarp Lietuvos didelio meistriškumo sportininkų (atvejo) ir profesionaliai nesportuojančių Lietuvos populiacijos asmenų (kontrolė) grupių, buvo atliekamas taikant tikslųjį Fišerio arba Pirsono χ^2 testą. Kuomet bent vieno genotipo teoriškai tikėtinas nešiotojų skaičius buvo mažesnis už 5, buvo naudojamas tikslusis Fišerio testas, kitais atvejais – Pirsono χ^2 testas be Jeitso tolydumo pataisos (*angl. Yates's correction for continuity*).

Tyrimo buvo analizuojami kiekybiniai fenotipinių rodiklių duomenys. Kiekybinių kintamųjų normaliojo skirstinio prielaida buvo tikrinama taikant Šapiro–Vilko testą. Atitikus normalaus skirstinio sąlygą, nepriklausomų grupių kiekybiniais kintamiesiems palyginti, buvo taikomas Stjudento t (*angl. Student's t-test*) testas (2 grupių) ir vienfaktorinė dispersinė analizė (*angl. One-way ANOVA*) ($3 \leq$ grupių). Kiekybinių kintamųjų, kurių skirstiniai nepatenkino normalumo prielaidos, palyginimui tarp nepriklausomų grupių buvo taikomas Mano-Vitnio U testas (2 grupių) ir neparimetrinis ANOVA analogas – Kruskal–Wallis testas ($3 \leq$ grupių). Nustačius reikšmingą ANOVA ar Kruskal–Wallis statistikos rezultatą, buvo taikomi daugkartinio palyginimo tarp grupių kriterijai. ANOVA atveju taikytas Tjukio ganėtinai statistiškai reikšmingo skirtumo (*angl. Tukey HSD*) kriterijus, o Kruskal–Wallis atveju naudotas R paketo įskiepis (Dunn's test v.1.3.3). Naudota

įskiepio funkcija – *dunn.test*. Įskiepis leido Dunn daugybinių palyginimų kriterijų pritaikyti kartu su Bonferroni pataisa.

Darbe kiekybiniai kintamieji duomenims, kurių skirstiniai atitinka normalumo sąlygą, pateikiami vidurkiais ir standartiniai nuokrypiais ($\bar{X} \pm SN$), o duomenims, kurie šios sąlygos netenkina, kiekybiniai kintamieji apibūdinami naudojant medianą ir tarpkvartilinį plotį ($M_d \pm IQR$) (kintamųjų reikšmės pabrauktos). Visiems taikytiems statistiniams kriterijams p reikšmė $<0,05$ laikyta statistiškai reikšminga.

Šio darbo metu buvo taikoma daugialypė tiesinė regresija. Tai tiesines regresijos išplėtimas, siekiant aprėpti atvejus, kai priklausomas kintamasis priklauso daugiau nei nuo vieno nepriklausomo kintamojo. Tarkime, nepriklausomi kintamieji yra x_1, x_2, \dots, x_{ki} , $i = 1, \dots, n$, o priklausomas kintamasis – y , tai daugialypės tiesinės regresijos lygtis:

$$y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \dots + \beta_k x_k + \varepsilon,$$

kuomet ε yra atsitiktinės paklaidos, o β regresijos modelio koeficientai.

Daugialypės tiesinės regresinės analizės modelį galima taikyti, jeigu tenkinamos šios prielaidos:

1. ε normaliai pasiskirstę atsitiktiniai dydžiai;
2. visų ε vidurkiai lygūs nuliui;
3. visų ε dispersijos lygios (homoskedastiškumo prielaida);
4. nepriklausomi kintamieji tarpusavyje nera koreliuoti, tarp jų nera tiesinio ryšio.

Atsitikinių paklaidų normalumo prielaida buvo tikrinama naudojant Šapiro-Vilko testą. Homoskedastiškumo prielaida buvo įvertinta naudojant Breušo-Pagano testą. Nepriklausomų kintamųjų tarpusavio koreliacijos įvertinimui, buvo naudojama dispersijos mažėjimo daugiklių (VIF, *angl. Variance Inflation Factor*) analizė. Visuotinai priimta taisyklė skamba taip: kintamasis yra „per daug multikolinearus“, jeigu jo VIF >4 .

Priklausomo kintamojo ryšio stiprumą su nepriklausomais kintamaisiais nusako lygties parametrai ir determinacijos koeficientas. Daugialypėje tiesinėje regresinėje analizėje naudojamas koreguotas determinacijos koeficientas (\bar{R}^2). Jis parodo, kurią priklausomo kintamojo Y sklaidos dalį apie vidurkį galima paaiškinti Y tiesine regresija nepriklausomų kintamųjų x_1, x_2, \dots, x_k atžvilgiu. Tarkim, jeigu $\bar{R}^2 = 0,8$, galima teigti, kad 80% priklausomo kintamojo variacijų galima paaiškinti regresiniame modelyje naudojamais nepriklausomais kintamaisiais.

3. TYRIMO REZULTATAI

3.1. Genetinių žymenų parinkimas

Darbo pradiniam etape iš įvairių literatūros ir bioinformacinių duomenų bazių buvo kaupiama informacija apie genus kandidatus, siejamus su žmogaus fiziniu pajėgumu. Buvo naudojama *NCBI* (www.ncbi.nlm.nih.gov) duomenų bazė, kurioje yra įvairių įrankių ir nuorodų į kitas duomenų bazes, tokias kaip *OMIM* ar *dbSNP*. Šios duomenų bazės suteikia daug informacijos apie pačius genus kandidatus, jų padėtį genome bei chromosomoje, struktūrą, atliekamas funkcijas. Taip pat buvo pasitelkiama tokiomis duomenų bazėmis kaip *Ensembl* (www.ensembl.org), *GeneCards* (www.genecards.org). Atsižvelgiant į reikšmingumą bei į tyrimų rezultatus, aprašytus mokslinėje literatūroje, tyrimui buvo parinkti penki genetiniai žymenys (9 lentelė). Šių genų funkcija ir jų variantų reikšmė fizinio pajėgumo fenotipams yra aprašyti pirmame skyriuje.

9 lentelė. Tyrimui pasirinkti genetiniai žymenys

Genas	Geno pozicija	VNP identifikacinis kodas	VNP	Geno produkto funkcija
<i>CKM</i> (kreatinkinazės raumenų subvieneto genas)	19q13.32	rs8111989	c.*800A>G	Energijos homeostazė griaučių raumenyse.
<i>AMPD1</i> (raumenims specifinės adenzino monofosfato deaminazės genas)	1p13.2	rs17602729	c.133C>T	AMP deamininimas, miokinazės reakcijos reguliavimas.
<i>MB</i> (mioglobino genas)	22q12.3	rs7293	c.174G>A	Degonies atsargos dirbantiems raumenims, viduląstelinis degonies transportas.
<i>MSTN</i> (miostatino genas)	2q32.2	rs1805086	c.458A>G	Raumenų augimo kontrolė.
<i>MPRIIP</i> (miozino fosfatazės-Rho sujungiančio baltymo genas)	17p11.2	rs6502557	c.219+14693G>A	Lygiųjų raumenų susitraukimo reguliavimas.

3.2. Fenotipinių rodiklių analizė

Tyrimo dalyvavo 150 įvairių sporto šakų Lietuvos didelio meistriškumo sportininkų (90 vyrų ir 60 moterų). Lietuvos edukologijos universitete (LEU) Sporto institute buvo gauti 109

sportininkų (73 vyrų ir 36 moterų) įvairių fenotipinių rodiklių duomenys. Statistinės analizės metodais palyginus fenotipiniais rodikliais įvertintus sportininkus, tarp skirtingų lyčių sportininkų buvo nustatyti fiziologiniai skirtumai. Vyrų ir moterų sportininkų grupės skyrėsi visais, išskyrus riebalų masės ir VRSG įverčiais ($p < 0,05$). Išskyrus riebalų masę, vyrai vidutiniškai pasižymėjo didesnėmis fenotipinių rodiklių vertėmis nei moterys. Fenotipinių rodiklių skirtumai tarp skirtingų lyčių pateikti 10 lentelėje.

10 lentelė. Fenotipinių rodiklių vertės tarp sportininkų grupės vyrų ir moterų

Fenotipinis rodiklis	Vyrai		Moterys	
	\bar{X}/M_d	SN/IQR	\bar{X}/M_d	SN/IQR
Ūgis (cm)	185,0*	10,0	170,0*	9,2
Svoris (kg)	79,0*	11,0	62,0*	6,3
KMI (kg/m ²)	23,3*	2,2	21,2*	2,0
DPSJ (kg)	62,4*	10,4	50,4*	8,5
KPSJ (kg)	62,0*	17,0	49,0*	7,0
Riebalų masė (kg)	7,8	2,7	8,9	3,9
Raumenų masė (kg)	43,1*	8,3	31,4*	5,6
VRSG (W)	2078,5	451,4	1931,8	397,5
AARG (W)	1230,0*	209,0	1097,0*	189,3
MDS (ml/kg/min)	69,2*	4,6	67,2*	4,2

\bar{X} – vidurkis; M_d – mediana; SN – standartinis nuokrypis; IQR – tarpkvartilinis plotis; KMI – kūno masės indeksas; DPSJ – dešinės plaštakos suspaudimo jėga; KPSJ – kairės plaštakos suspaudimo jėga; VRSG – vienkartinis raumenų susitraukimo galingumas; AARG – anaerobinis alaktatinis raumenų galingumas; MDS – maksimalus deguonies suvartojimas; * - statistiškai reikšmingi fenotipinių rodiklių skirtumai tarp vyrų ir moterų grupių, $p < 0,05$.

Palyginus fenotipinių rodiklių vidutines reikšmes tarp sporto šakų grupių, įvertinta, kad iš visų fenotipinių rodiklių, tik ūgio, svorio ir riebalų masės vidutinės reikšmės statistiškai reikšmingai nesiskyrė tarp skirtingų sporto grupių. Visų likusių fenotipinių rodiklių (KMI, KPSJ, DPSJ, raumenų masės, VRSG, AARG ir MDS) vidutinės reikšmės reikšmingai skyrėsi bent tarp dviejų sporto grupių ($p \leq 0,03$). Nustatyta, kad greičio ir jėgos grupės sportininkų KMI, DPSJ, KPSJ, raumenų masės, VRSG, AARG įverčiai buvo reikšmingai didesni nei ištvermės grupės sportininkų ($p < 0,05$). Vertinant MDS rodiklį, nustatyta, kad greičio ir jėgos grupės sportininkai turėjo mažesnes vertes nei ištvermės grupės ($p < 0,001$) ir mix grupės ($p < 0,05$) sportininkai. Taigi, dažniausiai fenotipiniais rodikliais skyrėsi ištvermę lavinantys ir greitį bei jėgą treniruojantys sportininkai. Fenotipinių rodiklių vidutinių verčių skirtumai tarp skirtingų sporto šakų grupių pateikti 11 lentelėje.

11 lentelė. Fenotipinių rodiklių vertės tarp skirtingų sporto šakų grupių

Fenotipinis rodiklis	I		II		III	
	\bar{X}/M_d	SN/IQR	\bar{X}/M_d	SN/IQR	\bar{X}/M_d	SN/IQR
Ūgis (cm)	<u>182,3</u>	<u>14,8</u>	<u>180,5</u>	<u>15,8</u>	<u>175,0</u>	<u>3,8</u>
Svoris (kg)	<u>73,5</u>	<u>14,0</u>	<u>80,0</u>	<u>17,8</u>	<u>70,0</u>	<u>9,1</u>
KMI (kg/m²)	<u>22,3*</u>	<u>2,0</u>	<u>23,3*</u>	<u>3,8</u>	<u>23,4</u>	<u>2,8</u>
DPSJ (kg)	54,8*	9,6	62,5*	12,0	56,0	5,9
KPSJ (kg)	<u>50,0*</u>	<u>14,0</u>	<u>63,0*</u>	<u>18,5</u>	<u>59,0</u>	<u>5,3</u>
Riebalų masė (kg)	<u>8,3</u>	<u>3,4</u>	<u>8,0</u>	<u>3,6</u>	<u>6,5</u>	<u>0,8</u>
Raumenų masė (kg)	<u>38,6*</u>	<u>10,6</u>	<u>45,0*</u>	<u>14,4</u>	<u>35,9</u>	<u>3,9</u>
VRSG (W)	1740,5*	292,6	2335,6*	369,7	2043,5	140,8
AARG (W)	<u>1100,5*</u>	<u>176,3</u>	<u>1239,0*</u>	<u>207,0</u>	<u>1281,0</u>	<u>224,3</u>
MDS (ml/kg/min)	71,2*	3,2	65,5*	4,0	70,8*	3,4

I – ištvermės sporto grupė; II – greičio ir jėgos sporto grupė; III – mix sporto grupė; \bar{X} – vidurkis, M_d – mediana; SN – standartinis nuokrypis; IQR – tarpkvartilinis plotis; KMI – kūno masės indeksas; DPSJ – dešinės plaštakos suspaudimo jėga; KPSJ – kairės plaštakos suspaudimo jėga; VRSG – vienkartinis raumenų susitraukimo galingumas; AARG – anaerobinis alaktatinis raumenų galingumas; MDS – maksimalus deguonies suvartojimas; * – statistiškai reikšmingi fenotipinių rodiklių skirtumai tarp sporto grupių, $p < 0,05$.

Fenotipinių duomenų rezultatų analizė parodė fiziologinius organizmo skirtumus tarp sportuojančių vyrų ir moterų bei jų fenotipo skirtumus tarp sporto grupių. Galima teigti, kad sportininkų specializacija pagal skirtingas sporto grupes bei su tuo susijęs specifinis treniruočių režimas įtakoja fenotipinių rodiklių variaciją. Tačiau žinoma, kad šiai variacijai daug įtakos turi ir genetiniai veiksniai. Tolesniuose tyrimo etapuose buvo atlikta atvejo-kontrolės ir genotipo-fenotipo asociacijos analizė.

3.3. CKM geno c.*800A>G (rs8111989) polimorfizmo tyrimo rezultatai

Darbo metu pagal CKM c.*800A>G polimorfizmą genotipuota 150 Lietuvos didelio meistriškumo sportininkų (90 vyrų ir 60 moterų) ir 149 profesionaliai nesportuojančių Lietuvos populiacijos asmenų (108 vyrų ir 41 moterų) DNR mėginių. Genotipavimo duomenys sportininkų ir kontrolinėje grupėje buvo vertinami atsižvelgiant į sportininkų užsiimamą sporto šaką ir lyties grupes (12 lentelė).

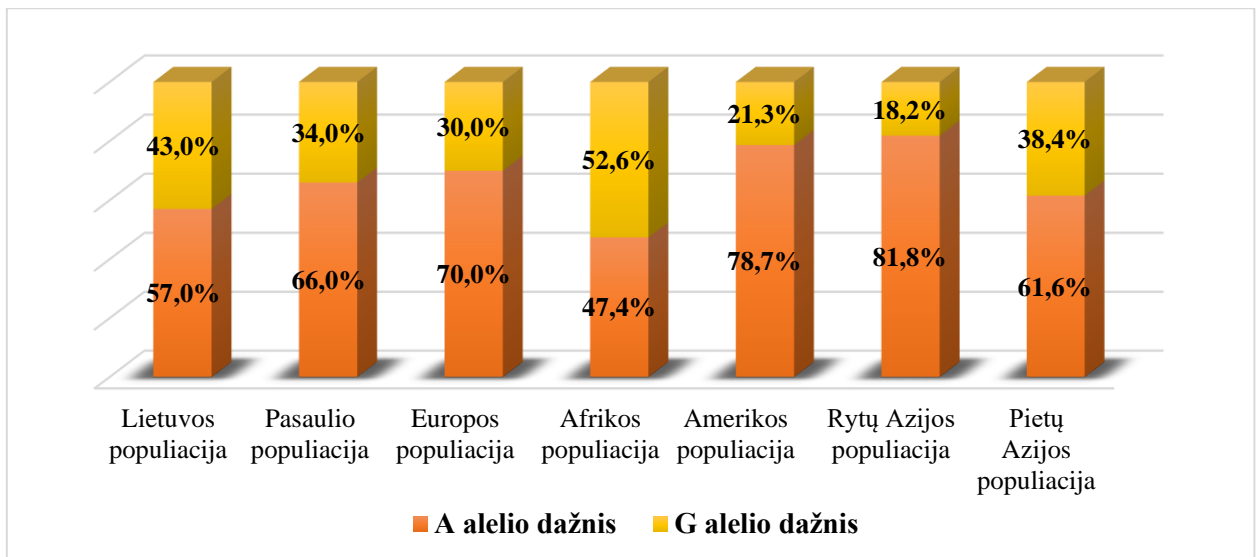
Pasitelkus H-V dėsnį, tiriamose grupėse buvo statistiškai įvertinti genotipų dažniai. Nustatyta, kad sportininkų ir kontrolinėje grupėse genotipų dažniai atitiko H-V dėsnį. Įvertinus grupes, suskirstytas pagal sporto šakos specifiką ir lytį, nustatyta, kad visų grupių, išskyrus greičio ir jėgos sporto moterų grupę, genotipų dažniai atitiko H-V proporcijas ($p > 0,05$).

12 lentelė. CKM c.*800A>G polimorfizmo alelių ir genotipų dažnių tyrimo duomenys

Grupė	N	Alelių dažniai (%)		p-vertė	CKM c.*800A>G genotipų dažniai						p-vertė (H-V)	p-vertė	
		[A]	[G]		[A][A]		[A][G]		[G][G]				
					O _i	E _i	O _i	E _i	O _i	E _i			
I	B	63	62,7	37,3	0,28	25 (39,7)	24,8	29 (46,0)	29,5	9 (14,3)	8,8	0,89	0,41
	V	33	66,7	33,3	0,14	15 (45,5)	14,7	14 (42,4)	14,7	4 (12,1)	3,7	0,71	0,28
	M	30	58,3	41,7	0,98	10 (33,3)	10,2	15 (50,0)	14,6	5 (16,7)	5,2	0,88	0,75
II	B	65	63,8	36,2	0,19	28 (43,1)	26,5	27 (41,5)	30,0	10 (15,4)	8,5	0,42	0,17
	V	37	64,9	35,1	0,21	14 (37,8)	15,6	20 (54,1)	16,9	3 (8,1)	4,6	0,47	0,33
	M	28	62,5	37,5	0,64	14 (50,0)	10,9	7 (25,0)	13,1	7 (25,0)	3,9	0,02	0,02
III	B	22	61,4	38,6	0,59	8 (36,4)	8,3	11 (50,0)	10,4	3 (13,6)	3,3	1,0	0,82
	V	20	60,0	40,0	0,68	7 (35,0)	7,2	10 (50,0)	9,6	3 (15,0)	3,2	1,0	0,95
	M	2	75,0	25,0	0,64	1 (50,0)	1,1	1 (50,0)	0,8	0 (0,0)	0,1	1,0	1,0
S	B	150	63,0	37,0	0,14	61 (40,7)	59,5	67 (44,7)	69,9	22 (14,6)	20,5	0,61	0,16
	V	90	64,4	35,6	0,11	36 (40,0)	37,4	44 (48,9)	41,2	10 (11,1)	11,4	0,53	0,25
	M	60	60,8	39,2	0,74	25 (41,7)	22,2	23 (38,3)	28,6	12 (20,0)	9,2	0,13	0,13
K	B	149	57,0	43,0		45 (30,2)	48,5	80 (53,7)	73,0	24 (16,1)	27,5	0,24	
	V	108	56,5	43,5		33 (30,6)	34,5	56 (51,8)	53,1	19 (17,6)	20,5	0,57	
	M	41	58,5	41,5		12 (29,3)	14,0	24 (58,5)	19,9	5 (12,2)	7,0	0,19	

I – ištvermės sporto grupė; II – greičio ir jėgos sporto grupė; III – mix sporto grupė; S – visų sportininkų grupė; K – kontrolinė grupė; B – bendra grupė (vyrų ir moterų); V – vyrų grupė; M – moterų grupė; O_i – nustatyti genotipų dažniai; E_i – teoriškai tikėtini genotipų dažniai (skaičiuojami remiantis Hardžio-Vainbergo dėsnium).

Pasinaudojant *Ensembl* duomenų bazėje esančiais 1000 genomų projekto duomenimis, pagal CKM c.*800A>G alelių dažnius, Lietuvos populiacija buvo palyginta su didžiosiomis pasaulio populiacijomis (12 pav.).



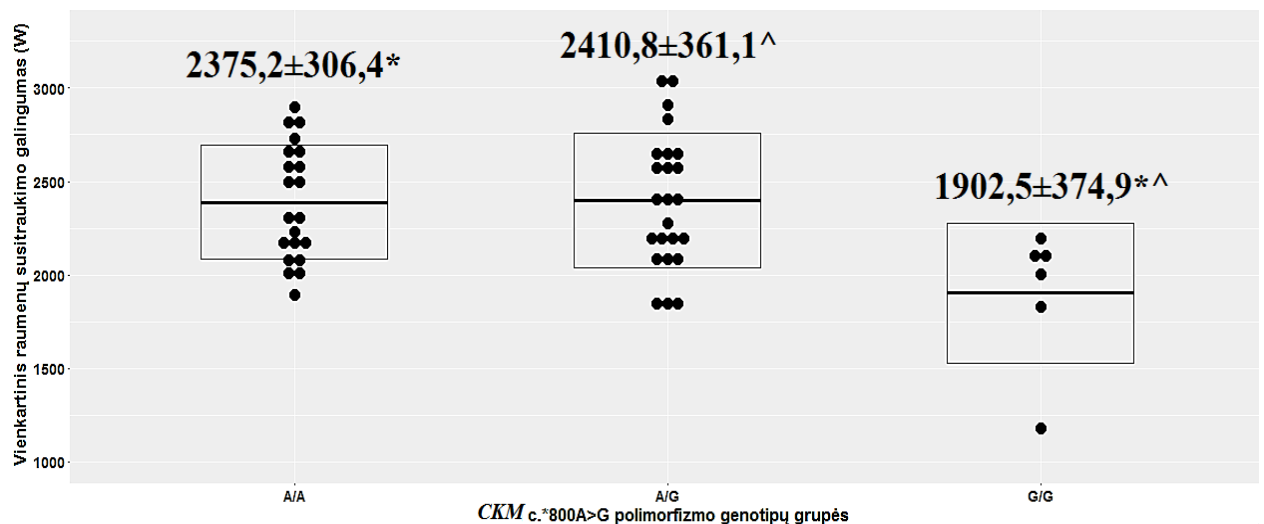
12 pav. Tyrimo kontrolinės grupės CKM c.*800A>G polimorfizmo alelių dažnių palyginimas su didžiosiomis pasaulio populiacijomis (1000 Genomų projekto duomenys)

Darant prielaidą, kad tiriamoji kontrolinė grupė gerai atspindi bendrą Lietuvos populiaciją, buvo nustatyta, kad pagal CKM polimorfizmo alelių dažnių pasiskirstymą Lietuvos populiacija yra panašiausia į Pietų Azijos populiaciją (G alelio dažniai populiacijose, atitinkamai 41,3% ir 38,4%). Palyginus su kitomis pasaulio populiacijomis, nustatyti reikšmingi skirtumai, kuomet Lietuvos populiacija pasižymėjo didesniu G alelio dažniu (43,0%): viso pasaulio populiacija (34,0%, $p=0,025$), Europos populiacija (30,0%, $p=0,001$), Amerikos populiacija (21,3%, $p=1,56 \times 10^{-8}$), Rytų Azijos populiacijos (18,2%, $p=4,98 \times 10^{-11}$). Afrikos populiacija taip pat skyrėsi G alelio dažniu nuo Lietuvos populiacijos, tačiau skirtingai nei kitose populiacijose, Afrikos populiacijoje retojo G alelio dažnis buvo didesnis nei Lietuvos populiacijoje (52,6%, $p=0,01$).

Atlikus genotipų ir alelių dažnių palyginimą tarp bendros sportininkų ir kontrolinės grupės, nebuvo nustatyta reikšmingų skirtumų, tačiau sportininkų grupėje nustatytas didesnis A alelio dažnis nei kontrolinėje grupėje, atitinkamai 63,0% ir 57,0%. Didesnis A alelio dažnis sportininkų grupėje buvo nulemtas didesnio A/A genotipo dažnio, kuris sportininkų grupėje (40,7%) buvo didesnis nei kontrolinėje grupėje (30,2%), mažesnio A/G genotipų dažnio, kuris tarp sportininkų buvo aptinkamas rečiau (44,7%) nei tarp kontrolinės grupės asmenų (53,7%), bei nežymiai mažesnio G/G genotipo dažnio, kuomet šį genotipą turėjo 14,6% sportininkų ir 16,1% kontrolinės grupės asmenų. Palyginus genotipų ir alelių dažnius tarp sporto grupių, suskirstytų pagal sporto šakos specifiką ir lytį, ir kontrolinės grupės, buvo nustatyta, kad greičio ir jėgos grupės moterys žymiai dažniau turėjo homozigotinius genotipus (greičio ir jėgos sporto grupės moterų genotipų dažniai: A/A – 50,0%, A/G – 25,0%, G/G – 25,0%; kontrolinės grupės moterų genotipų dažniai: A/A – 29,3%, A/G – 58,5%, G/G – 12,2%, $p=0,02$). Lyginant genotipų ir alelių dažnius tarp sporto grupių, nebuvo nustatyta reikšmingų skirtumų nei bendrose pagal lytį, nei pagal lytį paskirstytose

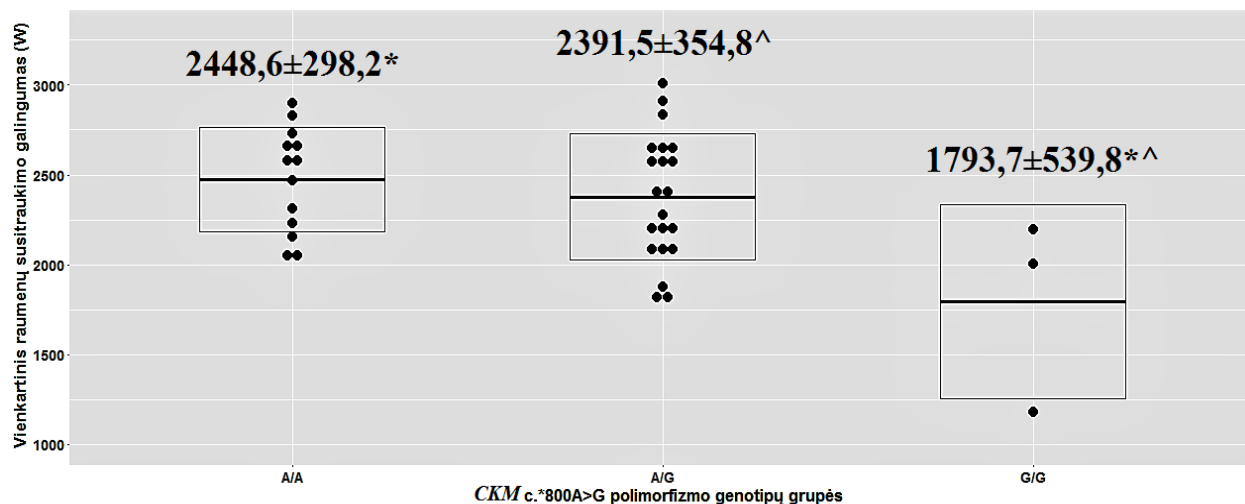
grupėse. Sporto grupėse palyginus genotipų ir alelių dažnius tarp vyrų ir moterų, nustatytas reikšmingas genotipų dažnių skirtumas tarp greičio ir jėgos grupės abiejų lyčių atstovų, kuomet vyrų grupei buvo būdingas žymiai didesnis heterozigotinių genotipų dažnis, o moterų grupei žymiai didesnis homozigotų dažnis (vyrų grupė: A/A – 37,8%, A/G – 54,1%, G/G – 8,1%; moterų grupė: A/A – 50,0%, A/G – 25,0, G/G – 25,0%, $p=0,035$).

Siekiant išsamiau įvertinti *CKM* c.*800A>G polimorfizmo genotipų įtaką sportininkų organizmo adaptacijai prie fizinių krūvių, buvo atlikta genotipo-fenotipo asociacijos analizė. Šiam tikslui vidutinės fenotipinių rodiklių vertės buvo lyginamos pagal genotipų, sporto ir lyties grupes (žr. 2 priedas). Bendroje sportininkų grupėje ir sporto grupėse atskirai nebuvo pastebėta reikšmingų fenotipinių rodiklių skirtumų tarp *CKM* c.*800A>G genotipų grupių. Taip pat atskirai palyginus vyrų ir moterų fenotipinių rodiklių vertes tarp genotipų grupių, nebuvo nustatyta statistiškai reikšmingų skirtumų. Tačiau atlikus analizę pagal lytį ir sporto šakos specifiką suskirstytose sportininkų grupėse, buvo nustatyta, kad DPSJ įvertis reikšmingai skyrėsi tarp mix sporto grupės A/A ir A/G genotipo vyrų, atitinkamai $51,0\pm 1,4$ kg ir $61,0\pm 1,4$ kg, ($p=0,03$). Vis dėlto dėl mažo mix grupės sportininkų, įvertintų fenotipiniais rodikliais, skaičiaus (4 sportininkai), šie rezultatai nebuvo laikomi prasmingais. Taip pat analizuojant greičio ir jėgos reikalaujančių sporto šakų grupę, pastebėtas ryšys tarp VRSG įverčio ir *CKM* genotipų grupių. Išsiaiškinta, jog A/G genotipo sportininkai pasižymėjo didžiausiais VRSG įverčiais, o mažiausiais – G/G genotipo sportininkai (13 pav.).



13 pav. Greitį ir jėgą lavinančių sportininkų VRSG rodiklio vertės tarp *CKM* c.*800A>G genotipų grupių. * – Statistiškai reikšmingi VRSG rodiklio skirtumai tarp A/A ir G/G genotipų sportininkų, $p=0,01$. ^ – Statistiškai reikšmingi VRSG rodiklio skirtumai tarp A/G ir G/G genotipų sportininkų, $p=0,005$

Sporto grupės suskirsčius pagal lytį ir palyginus šių grupių fenotipinius rodiklius tarp *CKM* c.*800A>G genotipų grupių, pastebėta, kad reikšmingai skiriasi greičio ir jėgos grupės vyrų VRSG rodiklio įverčiai. Šiuo atveju nustatyta, kad didžiausiais VRSG rodikliais pasižymėjo A/A genotipo sportininkai, o mažiausius turėjo G/G genotipo sportininkai (14 pav.).



14 pav. Greitį ir jėgą lavinančių sportininkų vyrų VRSG rodiklio vertės tarp *CKM* c.*800A>G genotipų grupių. * – Statistiškai reikšmingi VRSG rodiklio skirtumai tarp A/A ir G/G genotipų sportininkų, $p=0,015$. ^ – Statistiškai reikšmingi VRSG rodiklio skirtumai tarp A/G ir G/G genotipų sportininkų, $p=0,02$

Darbo metu buvo taikyta daugialypė tiesinė regresinė analizė, kuria buvo siekiama nustatyti kaip priklausomus kintamuosius (DPSJ, KPSJ, VRSG, AARG, MDS) įtakoja nepriklausomi kintamieji (ūgis, svoris, raumenų masė, riebalų masė, amžius, lytis, sporto šakos specializacija, *CKM* c.*800A>G genotipai). Patikrinus modelio \bar{R}^2 , atsitiktinių modelio paklaidų normalumo ir homoskedastiškumo prielaidas, buvo nustatyta, kad visus, išskyrus KPSJ, priklausomus kintamuosius prognozuojantys regresijos modeliai buvo tinkami analizei. Taikant regresijos modelį tirti DPSJ priklausomybę nuo nepriklausomų kintamųjų, nenustatyta reikšminga *CKM* c.*800A>G genotipų įtaka, tačiau nustatyti kiti DPSJ įverčiui reikšmingą įtaką turintys veiksniai: didesnė raumenų masė ($p=0,028$), lytis ($p=0,014$) ir sporto šakos specializacija ($p=0,01$). Šis modelis paaiškino 38% DPSJ variacijos ($\bar{R}^2 = 0,38$). VRSG analizei taikytas regresijos modelis atskleidė reikšmingą *CKM* c.*800A>G genotipų įtaką VRSG rodikliui: A/G genotipas ($p=0,004$), A/A genotipas ($p=0,017$). Regresijos modelis parodė, kad VRSG dydžiui didelę reikšmę turi sporto šakos specializacija ($p=6.73 \times 10^{-13}$) ($\bar{R}^2 = 0,49$). AARG analizei skirtas regresijos modelis neparodė reikšmingos *CKM* c.*800A>G genotipų įtakos šiam rodikliui. Nustatyta, kad kuo vyresnio amžiaus yra sportininkai, tuo jų AARG yra didesnis ($p=0,04$). Taip pat nustatyta, kad sporto šakos specializacija daro didelę įtaką AARG rodikliui ($p=2.43 \times 10^{-7}$) ($\bar{R}^2 = 0,39$). MDS

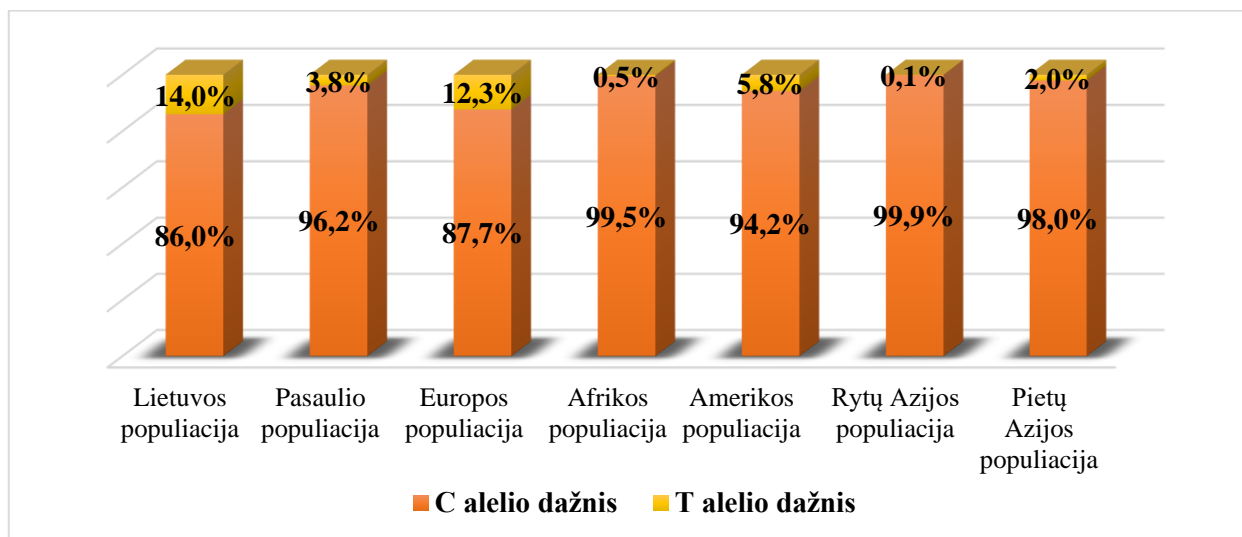
prognozuojantis regresijos modelis neparodė reikšmingos *CKM* c.*800A>G genotipų įtakos MDS rodikliui, tačiau parodė, kad MDS pasižymi reikšminga teigiama priklausomybe nuo sportininkų ūgio ($p=0,03$). Modelis atskleidė, kad priklausymas išvermės sporto grupei ($p=5,95 \times 10^{-12}$) ir mix sporto grupei ($p=0,004$) susijęs su aukštesniu MDS rodikliu ($\bar{R}^2 = 0,48$).

Gauti tyrimo rezultatai parodo, kad *CKM* c.*800A>G A alelis susijęs su greičio ir jėgos savybėmis, o aerobiniam sportininkų pajėgumui, mūsų tyrimo duomenimis, reikšmingos įtakos *CKM* c.*800A>G polimorfizmas neturi.

3.4. *AMPDI* c.133C>T (rs17602729) polimorfizmo tyrimo rezultatai

AMPDI c.133C>T polimorfizmo ištyrimui buvo genotipuota 150 Lietuvos didelio meistriškumo sportininkų (90 vyrų ir 60 moterų) ir 150 profesionaliai nesportuojančių Lietuvos populiacijos asmenų (90 vyrų ir 60 moterų) DNR mėginių. Genotipavimo duomenys buvo vertinami tarp sportininkų ir kontrolinės grupės asmenų, suskirstytas į grupes pagal lytį ir užsiimamos sporto šakos specifiką (13 lentelė).

Nustatyta, kad sportininkų ir kontrolinėje grupėje *AMPDI* c.133C>T polimorfizmo genotipų dažniai atitiko H-V dėsni. Įvertinus grupes, suskirstytas pagal sporto šakos specifiką ir lytį, nustatyta, kad visų grupių genotipų dažniai atitiko H-V proporcijas.



15 pav. *AMPDI* c.133C>T polimorfizmo alelių dažniai bendroje Lietuvos populiacijoje ir didžiosiose pasaulio populiacijose (1000 Genomų projekto duomenys)

Darbo metu, pasinaudojant *Ensembl* duomenų bazėje esančiais 1000 genomų projekto duomenimis, tiriamoje kontrolinėje grupėje nustatyti *AMPDI* c.133C>T alelių dažniai buvo palyginti su didžiausiose pasaulio populiacijose nustatytais alelių dažniais (15 pav.). Mūsų tiriamų duomenų analizė parodė, kad *AMPDI* c.133C>T polimorfizmo alelių dažniu Lietuvos populiacija

yra panašiausia į Europos populiaciją. Lietuvos populiacijoje retojo T alelio dažnis yra 14,0%, o Europos populiacijoje – 12,3%. Kitose pasaulio populiacijose T alelio dažnis yra žymiai retesnis: pasaulio populiacijoje – 3,8% ($p=1,15 \times 10^{-5}$), Amerikos populiacijoje – 5,8% ($p=7,3 \times 10^{-4}$), Pietų Azijos populiacijoje – 2,0% ($p=6,77 \times 10^{-8}$). Afrikos ir Rytų Azijos populiacijose šį alelį turi itin mažas skaičius žmonių. Afrikos populiacijoje šio alelio dažnis tik 0,5% ($p=1,56 \times 10^{-10}$), o Rytų Azijos populiacijoje tik 0,1% ($p=2,93 \times 10^{-11}$).

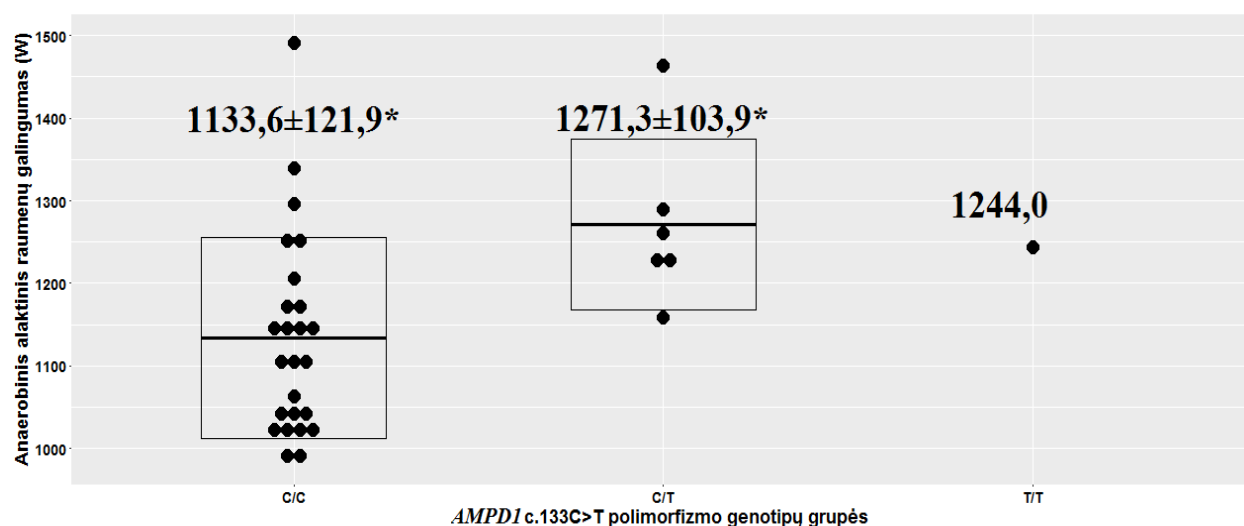
13 lentelė. AMPDI c.133C>T polimorfizmo alelių ir genotipų dažnių tyrimo duomenys

Grupė	N	Alelių dažniai (%)		p-vertė	AMPDI c.133C>T genotipų dažniai						p-vertė (H-V)	p-vertė	
		[C]	[T]		[C][C]		[C][T]		[T][T]				
		O _i	E _i		O _i	E _i	O _i	E _i					
I	B	63	88,1	11,9	0,56	49 (77,8)	48,9	13 (20,6)	13,2	1 (1,6)	0,9	1,0	0,95
	V	33	87,9	12,1	0,49	26 (78,8)	25,5	6 (18,2)	7,0	1 (3,0)	0,5	0,38	0,92
	M	30	88,3	11,7	1,0	23 (76,7)	23,4	7 (23,3)	6,2	0 (0,0)	0,4	1,0	1,0
II	B	65	89,2	10,8	0,36	52 (80,0)	51,8	12 (18,5)	12,5	1 (1,5)	0,8	0,54	0,76
	V	37	90,5	9,5	0,2	30 (81,1)	30,3	7 (18,9)	6,3	0 (0,0)	0,3	1,0	0,49
	M	28	87,5	12,5	0,87	22 (78,6)	21,4	5 (17,9)	6,1	1 (3,5)	0,4	0,35	0,36
III	B	22	88,6	11,4	0,63	18 (81,8)	17,3	3 (13,6)	4,4	1 (4,6)	0,3	0,22	0,48
	V	20	87,5	12,5	0,62	16 (80,0)	15,3	3 (15,0)	4,4	1 (5,0)	0,3	0,25	0,82
	M	2	100,0	0,0	1,0	2 (100,0)	2,0	0 (0,0)	0,0	0 (0,0)	0,0	-	1,0
S	B	150	88,7	11,3	0,33	119 (79,3)	117,9	28 (18,7)	30,1	3 (2,0)	1,9	0,4	0,67
	V	90	88,9	11,1	0,21	72 (80,0)	71,1	16 (17,8)	17,8	2 (2,2)	1,1	0,29	0,49
	M	60	88,3	11,7	1,0	47 (78,3)	46,8	12 (20,0)	12,4	1 (1,7)	0,8	0,58	0,83
K	B	150	86,0	14,0		112 (74,7)	110,9	34 (22,7)	36,1	4 (2,6)	2,9	0,49	
	V	90	84,4	15,6		66 (73,3)	64,2	20 (22,2)	23,6	4 (4,4)	2,2	0,21	
	M	60	88,3	11,7		46 (76,7)	46,8	14 (23,3)	12,4	0 (0,0)	0,8	1,0	

I – ištvermės sporto grupė; II – greičio ir jėgos sporto grupė; III – mix sporto grupė; S – visų sportininkų grupė; K – kontrolinė grupė; B – bendra grupė (vyrai ir moterys); V – vyrų grupė; M – moterų grupė; O_i – nustatyti genotipų dažniai; E_i – teoriškai tikėtini genotipų dažniai (skaičiuojami remiantis Hardžio-Vainbergo dėsnium).

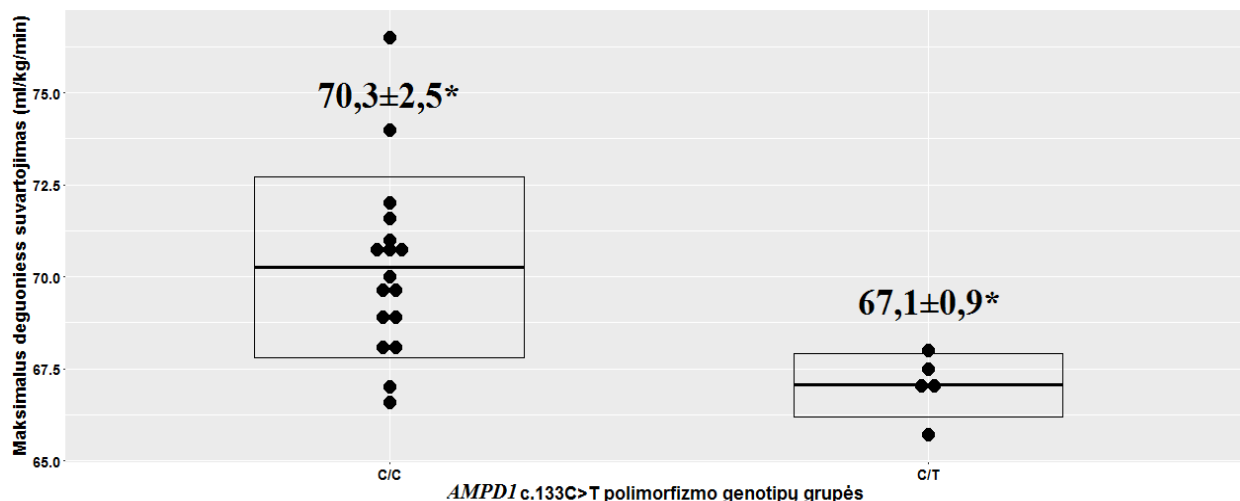
Atlikus *AMPDI* polimorfizmo genotipų ir alelių dažnių palyginimą tarp bendros sportininkų ir kontrolinės grupės, nepastebėta reikšmingų skirtumų. Sportininkų grupėje buvo nustatomas mažesnis retojo T alelio dažnis nei kontrolinėje grupėje, atitinkamai 11,3% ir 14,0%. Pastebėta, kad sportininkų grupėje buvo daugiau homozigotinių pagal laukinio tipo C alelį, mažiau heterozigotinių ir mažiau homozigotinių pagal retąjį T alelį asmenų (sportininkų grupė: C/C – 79,3%, C/T – 18,7%, T/T – 2,0%; kontrolinė grupė: C/C – 74,7%, C/T – 22,7%, T/T – 2,6%). Tolesnė atvejo-kontrolės analizė ir sporto grupių tarpusavio palyginimas taip pat neparodė reikšmingų genotipų ar alelių dažnių skirtumų tarp tiriamųjų grupių (13 lentelė).

Kitame etape buvo atliekama genotipo-fenotipo asociacijos analizė, kurios paskirtis palyginti fenotipinių rodiklių vidutines reikšmes tarp genotipų grupių. Siekiant nustatyti asociaciją tarp *AMPDI* c.133C>T genotipų ir sportininkų fizinio pajėgumo, fenotipinių rodiklių vertės buvo lyginamos atsižvelgiant į genotipų, sporto ir lyties grupes (žr. 3 priedas). Išanalizavus bendrą sportininkų grupę ir skirtingas sporto grupes, nebuvo pastebėta reikšmingų fenotipinių rodiklių skirtumų tarp *AMPDI* c.133C>T genotipų grupių. Taip pat, atskirai palyginus vyrų ir moterų fenotipinių rodiklių vertes tarp genotipų grupių, nebuvo nustatyta statistiškai reikšmingų skirtumų. Fenotipinių rodiklių skirtumai tarp genotipų grupių išryškėjo suskirsčius sporto grupes pagal lytį. Nustatyta, kad ištvermės sporto grupės C/C genotipą turintys vyrai turėjo reikšmingai mažesnę AARG įvertį nei tos pačios grupės C/T genotipo vyrai (16 pav.).



16 pav. Ištvermę lavinančių sportininkų vyrų AARG rodiklio vertės tarp *AMPDI* c.133C>T genotipų grupių. * – Statistiškai reikšmingi AARG rodiklio skirtumai tarp C/C ir C/T genotipų sportininkų, p=0,04

Tolesnė analizė parodė, kad ištvermės sporto grupės C/C genotipo moterys turėjo reikšmingai didesnę MDS įvertį nei tos pačios grupės C/T genotipo sportininkės (17 pav.).



17 pav. Ištvermę lavinančių sportininkų MDS rodiklio vertės tarp *AMPD1* c.133C>T genotipų grupių. * – Statistiškai reikšmingi MDS rodiklio skirtumai tarp C/C ir C/T genotipų sportininkų, $p=0,01$

Ištvermės sporto grupės T/T genotipo sportininkų tyrimo metu nenustatyta, todėl nebuvo galima įvertinti jų MDS rodiklio.

Darbo metu buvo taikoma daugialypė tiesinė regresinė analizė, kuria buvo vertinama fenotipinių rodiklių (DPSJ, KPSJ, VRSG, AARG, MDS) priklausomybė nuo ūgio, svorio, raumenų masės, riebalų masės, amžiaus, lyties, sporto šakos specializacijos, *AMPD1* c.133C>T genotipų. Iš pradžių buvo tikrinamos sudaromų regresijos modelių tinkamumo prielaidos (normalaus atsitiktinių modelio paklaidų pasiskirstymo, homoskedastiškumas, \bar{R}^2 vertė). Buvo nustatyta, kad visas regresijos modelio tinkamumo prielaidas atitiko regresijos modeliai, skirti analizuoti VRSG ir MDS rodiklius. VRSG analizuoti skirtas regresijos modelis neparodė reikšmingos *AMPD1* c.133C>T genotipų įtakos VRSG rodikliui, bet buvo nustatyta reikšminga sporto šakos specializacijos įtaka šiam įverčiui ($p=1,33 \times 10^{-12}$) ($\bar{R}^2=0,46$). Analizuojant regresinį MDS rodiklio analizės modelį, nebuvo nustatyta reikšminga priklausomybė tarp *AMPD1* c.133C>T genotipų ir MDS, tačiau išaiškėjo svarbi ūgio įtaka didesniam MDS rodikliui ($p=0,007$). Taip pat buvo nustatyta, kad ištvermės ($p=2,12 \times 10^{-11}$) ir mix ($p=0,004$) sporto grupių specializacijos kryptys susijusios su didesnėmis MDS vertėmis ($\bar{R}^2=0,48$).

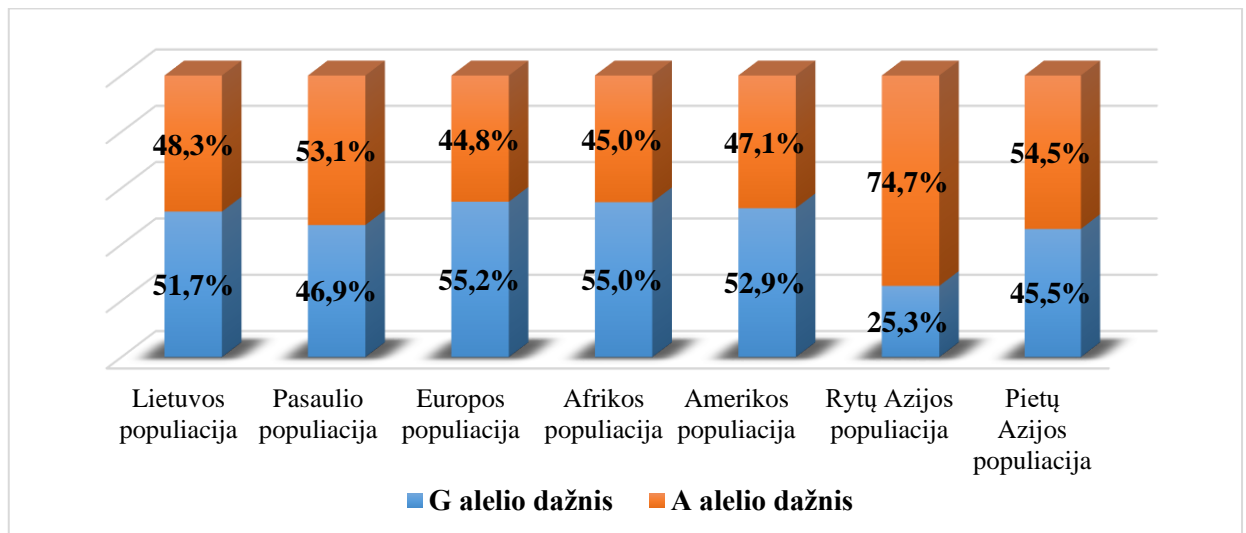
Apibendrinant tyrimo rezultatus galima teigti, jog darbo metu nebuvo nustatyta *AMPD1* polimorfizmo asociacija su Lietuvos sportininkų greičio ir jėgos savybėmis. Moterų ištvermės sporto grupėje C alelis buvo didesnę MDS lemiantis veiksnys, todėl galima teigti jog C alelis didesnę reikšmę turi moterų aerobiniam pajėgumui ir jo lavėjimui nei greičiui ir jėgai.

3.5. *MB* c.174G>A (rs7293) polimorfizmo tyrimo rezultatai

Atliekant tyrimą, pagal *MB* c.174G>A polimorfizmą genotipuota 150 Lietuvos didelio meistriškumo sportininkų (90 vyrų ir 60 moterų) ir 150 profesionaliai nesportuojančių Lietuvos populiacijos asmenų (90 vyrų ir 60 moterų) DNR mėginių. Genotipavimo duomenys buvo vertinami tarp sportininkų ir kontrolinės grupės asmenų bei suskirstytas tiriamųjų grupes pagal lytį ir užsiimamos sporto šakos specifiką.

Pirmame analizės etape buvo įvertintas tiriamose grupėse nustatytų *MB* c.174G>A polimorfizmo genotipų dažnių atitikimas teoriškai tikėtiniems pagal H-V dėsnį. Nustatyta, kad bendroje sportininkų ir kontrolinėje grupėse genotipų dažniai atitiko H-V dėsnio numatytas proporcijas. Suskirstytas grupes pagal sporto šakų specializaciją ir lytį, nustatyti nukrypimai nuo H-V dėsnio bendroje sportininkų vyrų ir greitį bei jėgą lavinančių vyrų grupėse, atitinkamai $p=0,004$ ir $p=0,04$ (14 lentelė).

Naudojant duomenų bazėje *Ensembl* pateiktus 1000 Genomų projekto duomenis, buvo analizuojami *MB* c.174G>A polimorfizmo alelių dažnių skirtumai tarp Lietuvos ir pasaulio populiacijų (18 pav.).



18 pav. *MB* c.174G>A polimorfizmo alelių dažniai bendroje Lietuvos populiacijoje ir didžiosiose pasaulio populiacijose (1000 Genomų projekto duomenys)

Remiantis mūsų tyrimo duomenimis, nustatyta, kad Lietuvos populiacija pagal *MB* c.174G>A polimorfizmo alelių dažnių pasiskirstymą reikšmingai nesiskiria nuo kitų pasaulio populiacijų, išskyrus Rytų Azijos populiaciją ($p=3,2 \times 10^{-11}$). Lietuvos populiacijoje A alelio dažnis yra 48,3%, o Rytų Azijos populiacijoje – 74,7%. Nustatyta, kad Rytų Azijos populiacija A alelio dažniu statistiškai reikšmingai skiriasi ir nuo kitų populiacijų: pasaulio populiacijos (53,1%, $p=3,6 \times 10^{-$

⁸⁾, Europos populiacijos (44,8%, $p=8,7 \times 10^{-14}$), Afrikos populiacijos (45,0%, $p=1,2 \times 10^{-13}$), Amerikos populiacijos (47,1%, $p=4,4 \times 10^{-12}$) ir Pietų Azijos populiacijos (54,5%, $p=2,3 \times 10^{-7}$).

14 lentelė. *MB c.174G>A* polimorfizmo alelių ir genotipų dažnių tyrimo duomenys

Grupė	N	Alelių dažniai (%)		p-vertė	<i>MB c.174G>A</i> genotipų dažniai						p-vertė (H-V)	p-vertė	
		[G]	[A]		[G][G]		[G][A]		[A][A]				
					O _i	E _i	O _i	E _i	O _i	E _i			
I	B	63	48,4	51,6	0,54	11 (17,5)	14,8	39 (61,9)	31,5	13 (20,6)	16,8	0,06	0,04
	V	33	48,5	51,5	0,36	5 (15,2)	7,8	22 (66,7)	16,5	6 (18,2)	8,8	0,05	0,06
	M	30	48,3	51,7	0,83	6 (20,0)	7,0	17 (56,7)	15,0	7 (23,3)	8,0	0,46	0,50
II	B	65	50,0	50,0	0,75	16 (24,6)	16,3	33 (50,8)	32,5	16 (24,6)	16,3	0,90	0,58
	V	37	40,5	59,5	0,04	3 (8,1)	6,1	24 (64,9)	17,8	10 (27,0)	13,1	0,04	0,01
	M	28	62,5	37,5	0,05	13 (46,4)	10,9	9 (32,2)	13,1	6 (21,4)	3,9	0,11	0,13
III	B	22	45,5	54,5	0,44	4 (18,2)	4,5	12 (54,5)	10,9	6 (27,3)	6,5	1,0	0,47
	V	20	50,0	50,0	0,57	4 (20,0)	5,0	12 (60,0)	10,0	4 (20,0)	5,0	0,37	0,41
	M	2	0,0	100,0	0,10	0 (0,0)	0,0	0 (0,0)	0,0	2 (100,0)	2,0	-	0,20
S	B	150	48,7	51,3	0,46	31 (20,7)	35,5	84 (56,0)	74,9	35 (23,3)	39,5	0,14	0,07
	V	90	45,6	54,4	0,07	12 (13,3)	18,7	58 (64,4)	44,6	20 (22,2)	26,7	0,004	0,003
	M	60	53,3	46,7	0,30	19 (31,7)	17,1	26 (43,3)	29,9	15 (25,0)	13,1	0,32	0,63
K	B	150	51,7	48,3		45 (30,0)	40,0	65 (43,3)	74,9	40 (26,7)	35,0	0,11	
	V	90	55,0	45,0		30 (33,3)	27,2	39 (43,3)	44,6	21 (23,4)	18,2	0,24	
	M	60	46,7	53,3		15 (25,0)	13,1	26 (43,3)	29,9	19 (31,7)	17,1	0,32	

I – ištvermės sporto grupė; II – greičio ir jėgos sporto grupė; III – mix sporto grupė; S – visų sportininkų grupė; K – kontrolinė grupė; B – bendra grupė (vyrai ir moterys); V – vyrų grupė; M – moterų grupė; O_i – nustatyti genotipų dažniai; E_i – teoriškai tikėtini genotipų dažniai (skaičiuojami remiantis Hardžio-Vainbergo dėsnium).

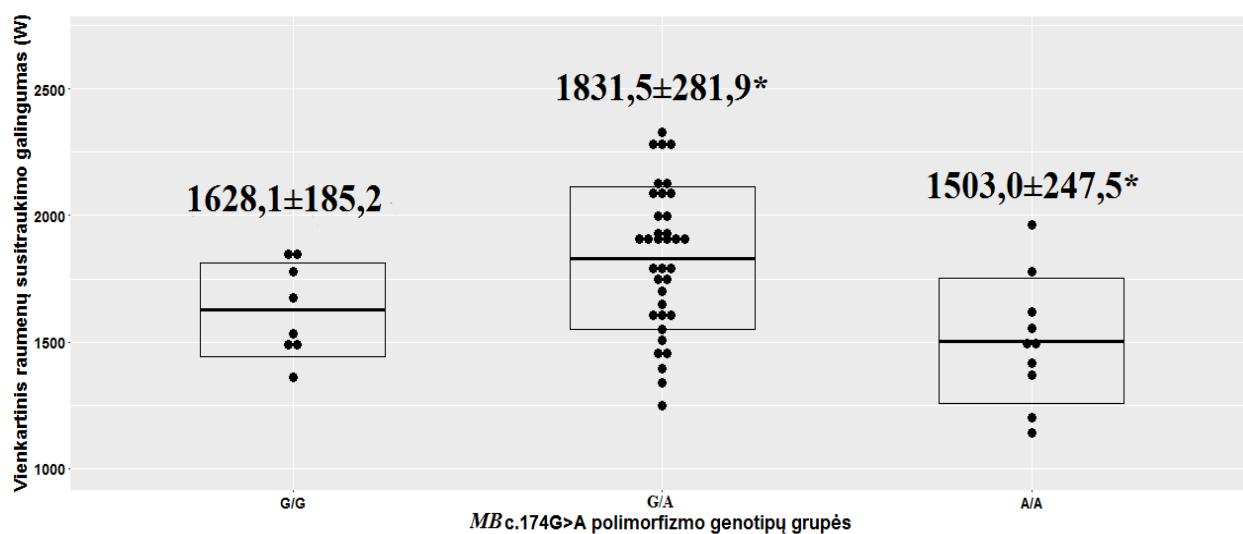
Atlikus *MB c.174G>A* polimorfizmo genotipų ir alelių dažnių palyginimą tarp visų tiriamų sportininkų grupės ir kontrolinės nesportuojančių asmenų grupės, nebuvo nustatyta reikšmingų genotipų ar alelių dažnių skirtumų (14 lentelė). Tačiau nustatyta, kad sportininkų tarpe A alelio dažnis (51,3%) buvo didesnis nei kontrolinėje grupėje (48,3%). Pastebėta įdomi tendencija,

kuomet sportininkų grupėje vyravo heterozigotinis genotipas, o kontrolinėje grupėje buvo dažniau nustatomi homozigotiniai genotipai (sportininkų grupė: G/G – 20,7%, G/A – 56,0%, A/A – 23,3%; kontrolinėje grupėje: G/G – 30,0%, G/A – 43,3%, A/A – 26,7%). Suskirsčius sportininkų ir kontrolinių asmenų grupes pagal lytį ir atlikus analizę, nustatyti reikšmingi genotipų dažnių skirtumai tarp vyrų sportininkų ir kontrolinės grupės vyrų. Vyrų sportininkų tarpe G/G genotipas buvo žymiai retesnis nei tarp kontrolinės grupės vyrų, G/A genotipas buvo žymiai dažnesnis tarp sportininkų, o A/A genotipo dažnis tarp grupių mažai skyrėsi, tačiau buvo mažesnis sportininkų grupėje (vyrų sportininkų grupė: G/G – 13,3%, G/A – 64,4%, A/A – 22,2%; kontrolinės grupės vyrai: G/G – 33,3%, G/A – 43,3%, A/A – 23,4%, $p=0,003$). Reikšmingų alelių dažnių skirtumų tarp šių grupių nebuvo nustatyta, nors sportininkų vyrų grupėje nustatytas stebėtinai didesnis A alelio dažnis (54,4%) nei kontrolinėje vyrų grupėje (45,0%, $p=0,07$).

Palyginus *MB* c.174G>A genotipų ir alelių dažnių pasiskirstymą tarp sporto šakos specializacijos grupių ir kontrolinės grupės, nustatyti statistiškai reikšmingi skirtumai. Genotipų dažniais nuo kontrolinės grupės reikšmingai skyrėsi ištvermės sportininkai. Jų tarpe buvo žymiai dažniau nustatomas heterozigotinis genotipas, o G/G ir A/A genotipai buvo retesni (ištvermę lavinantys sportininkai: G/G – 17,5%, G/A – 61,9%, A/A – 20,6%; kontrolinė grupė: G/G – 30,0%, G/A – 43,3%, A/A – 26,7%, $p=0,04$). Išanalizavus pagal lytį suskirstytas sporto grupes ir kontrolinę grupę, nustatyti reikšmingi genotipų dažnių skirtumai tarp greičio ir jėgos grupės vyrų ir kontrolinės grupės vyrų. Nustatyta, kad tarp greičio ir jėgos grupės vyrų buvo žymiai didesnis heterozigotinio genotipo dažnis ir didesnis A/A genotipo dažnis, o G/G genotipo dažnis buvo žymiai mažesnis (greitį ir jėgą treniruojantys vyrai: G/G – 8,1%, G/A – 64,9%, A/A – 27,0%; kontrolinės grupės vyrai: G/G – 33,3%, G/A – 43,3%, A/A – 23,4%, $p=0,01$). Taip pat tarp šių grupių nustatytas reikšmingas alelių dažnių skirtumas, kuomet A alelis buvo reikšmingai dažnesnis tarp greičio ir jėgos grupės vyrų nei tarp kontrolinės grupės vyrų, atitinkamai 59,5% ir 45,0% ($p=0,04$). Pagal *MB* c.174G>A genotipų ir alelių dažnius tarpusavyje palyginus skirtingas sporto grupes, nebuvo nustatyta reikšmingų skirtumų. Tačiau suskirsčius šias grupes pagal lytį, nustatytas reikšmingas alelių dažnių skirtumas tarp greičio ir jėgos (G – 62,5%, A – 37,5%) ir mix (G – 0,0%, A – 100,0%) sporto grupių moterų ($p=0,03$). Vis dėlto tai nėra patikimi rezultatai dėl mažo mix sporto grupės moterų skaičiaus (2 moterys). Atliktas genotipų ir alelių dažnių palyginimas tarp bendros sportininkų grupės vyrų ir moterų, atskleidė statistiškai reikšmingus genotipų dažnių skirtumus, kuomet vyrų tarpe buvo dažnesnis G/A genotipas, o G/G ir A/A genotipai retesni (vyrai sportininkai: G/G – 13,3%, G/A – 64,4%, A/A – 22,2%; moterys sportininkės: G/G – 31,7%, G/A – 43,3%, A/A – 25,0%, $p=0,01$). Palyginus vyrų ir moterų genotipų ir alelių dažnius atskirose sporto grupėse, nustatyti genotipų ir alelių dažnių skirtumai tarp greičio ir jėgos sporto grupės vyrų ir moterų. Tarp greičio ir jėgos sporto specializacijos vyrų buvo nustatomas žymiai mažesnis G/G

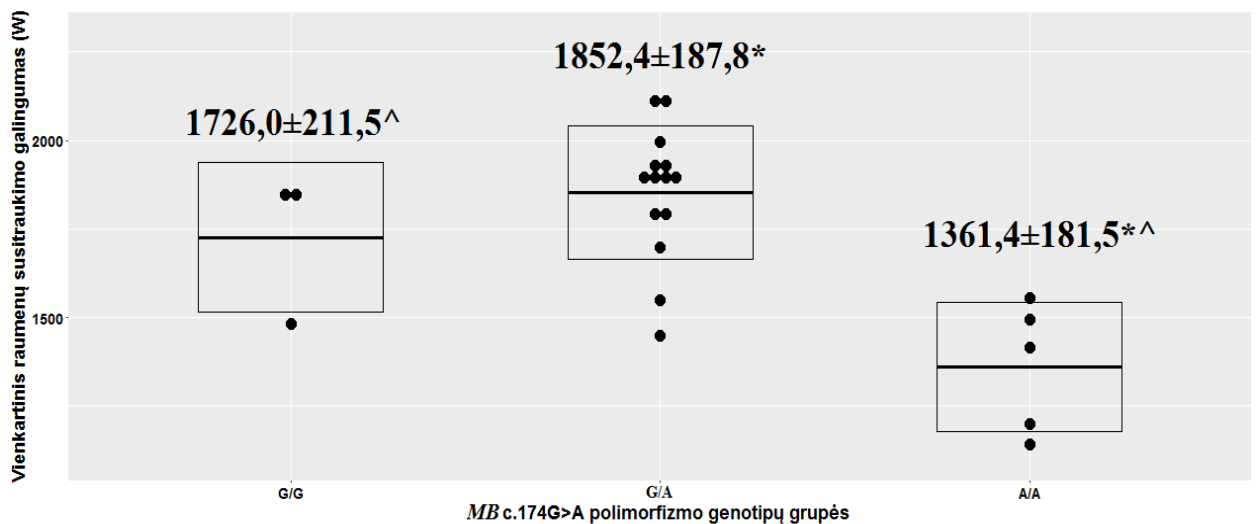
genotipo dažnis, žymiai didesnis G/A genotipo dažnis ir pastebimai didesnis A/A genotipo dažnis (vyrai: G/G – 8,1%, G/A – 64,9%, A/A – 27,0%; moterys: G/G – 46,4%, G/A – 32,2%, A/A – 21,4%, $p=0,001$). Ryškūs genotipų dažnių skirtumai tarp šių grupių sąlygojo ir reikšmingus alelių dažnių skirtumus, kuomet greičio ir jėgos grupės vyrų tarpe buvo aptinkamas žymiai didesnis A alelio dažnis (vyrų grupė – 59,5%; moterų grupė – 37,5%, $p=0,01$) (14 lentelė).

Tolimesniame etape, siekiant įvertinti *MB c.174G>A* genotipų įtaką anaerobinį ir aerobinį pajėgumą apsakantiems fenotipiniams rodikliams, buvo atlikta genotipo-fenotipo asociacijos analizė (žr. 4 priedas). Atliekant genotipo-fenotipo asociacijos analizę, fenotipinių rodiklių vertės tarp genotipų grupių buvo lyginamos atsižvelgiant į sporto ir lyties grupes. Bendroje sportininkų grupėje nebuvo nustatyta reikšmingų fenotipinių rodiklių skirtumų tarp *MB c.174G>A* genotipų grupių. Atskirai įvertinus vyrų ir moterų sportininkų fenotipinių rodiklių skirtumus tarp genotipų grupių, nebuvo nustatyta statistiškai reikšmingai fenotipiniais rodikliais išsiskiriančių grupių. Skirtingose sporto grupėse palyginus fenotipinių rodiklių vertes tarp skirtingus *MB c.174G>A* genotipus turinčių sportininkų, nustatyti reikšmingi VRSG rodiklio skirtumai išvermės sportininkų grupėje. Nustatyta, kad šioje grupėje G/A genotipo sportininkai turėjo didžiausius VRSG įverčius, o A/A genotipo sportininkai – mažiausius (19 pav.).



19 pav. Išvermę lavinančių sportininkų VRSG rodiklio vertės tarp *MB c.174G>A* genotipų grupių. * – Statistiškai reikšmingi VRSG rodiklio skirtumai tarp G/A ir A/A genotipų sportininkų, $p=0,003$

Išanalizavus fenotipinių rodiklių vertes tarp genotipų grupių, atsižvelgiant į sporto ir lyties grupes, nustatyti VRSG skirtumai tarp skirtingus genotipus turinčių išvermės grupės moterų. Didžiausiu VRSG rodikliu pasižymėjo G/A genotipo išvermės sportininkės, o mažiausiu A/A genotipo moterys (20 pav.).



20 pav. Ištvermę lavinančių sportininkų VRSG rodiklio vertės tarp *MB c.174G>A* genotipų grupių. * – Statistiškai reikšmingi VRSG rodiklio skirtumai tarp G/A ir A/A genotipo ištvermės sportininkų, $p=0,001$, ^ – Statistiškai reikšmingi VRSG rodiklio skirtumai tarp G/G ir A/A genotipų ištvermės sportininkų, $p=0,02$

Toliau buvo atliekama daugialypės tiesinės regresijos analizė. Priklausomų kintamųjų (DPSJ, KPSJ, VRSG, AARG, MDS) reikšmėms prognozuoti buvo naudojami nepriklausomi kintamieji (ūgis, svoris, raumenų masė, riebalų masė, lyties grupės, sporto šakos specializacijos grupės, *MB c.174G>A* genotipų grupės). Įvertinus daugialypės regresijos modelių tinkamumo prielaidas (\bar{R}^2 vertę, liekamųjų paklaidų normalumą, homoskedastiškumą), buvo nustatyta, kad galima sudaryti daugialypės regresijos modelius VRSG, AARG ir MDS rodiklių analizei. Regresijos modelis VRSG analizei parodė reikšmingą *MB c.174G>A* heterozigotinio genotipo įtaką, nulemiant aukštesnį VRSG rodiklį ($p=0,049$). Taip pat regresijos modelio analizė parodė sporto grupės specializacijos įtaką didesniai VRSG: mix sporto grupės specializacija ($p=0,038$), greičio ir jėgos sporto specializacija ($p=4,26 \times 10^{-13}$) ($\bar{R}^2=0,48$). AARG analizei naudotas regresijos modelis neparodė *MB c.174G>A* reikšmės šiam rodikliui, bet buvo nustatyta, kad didesnio ūgio sportininkai turėjo didesnius AARG įverčius ($p=0,03$). Taip pat pastebėta sporto specializacijos įtaka nulemiant AARG ($p=1,64 \times 10^{-7}$) ($\bar{R}^2=0,39$). Regresijos modelis, sukurtas analizuoti MDS, neatskleidė *MB c.174G>A* genotipų reikšmingumo prognozuojant didesnę aerobinę pajėgumą (MDS įvertį), tačiau buvo pastebėta, kad didesnio ūgio sportininkai pasižymėjo didesniais rodiklio įverčiais ($p=0,01$). Taip pat pastebėta sporto šakos specializacijos įtaka MDS ($p=1,85 \times 10^{-11}$) ($\bar{R}^2=0,47$).

Apibendrinant *MB c.174G>A* polimorfizmo tyrimo rezultatus, galima teigti, jog A alelis susijęs su vyrų greičio ir jėgos savybėmis. Genotipo-fenotipo analizė ištvermės sportininkų grupėje parodė G/A ir G/G genotipų asociaciją su VRSG rodikliu. Daugialypės regresijos modelio pritaikymas analizuojant anaerobinio pajėgumo rodiklį (VRSG) parodė, kad daugelis

nepriklausomų kintamųjų (ūgis, svoris, raumenų masė, riebalų masė, lytis, sporto šakos specializacija) bendroje sportininkų grupėje užmaskuoja tikrąjį *MB* c.174G>A genotipų poveikį šiam fenotipiniui rodikliui. Kontroliuojant šių papildomų veiksnių įtaką VRSG rodikliui, buvo nustatyta reikšminga G/A genotipo įtaka VRSG. Todėl galima teigti, kad G/A genotipas yra asocijuotas su greičio ir jėgos savybėmis. Genotipų dažnių skirtumai tarp lyčių parodo lyčiai specifinės genotipo raiškos galimybę.

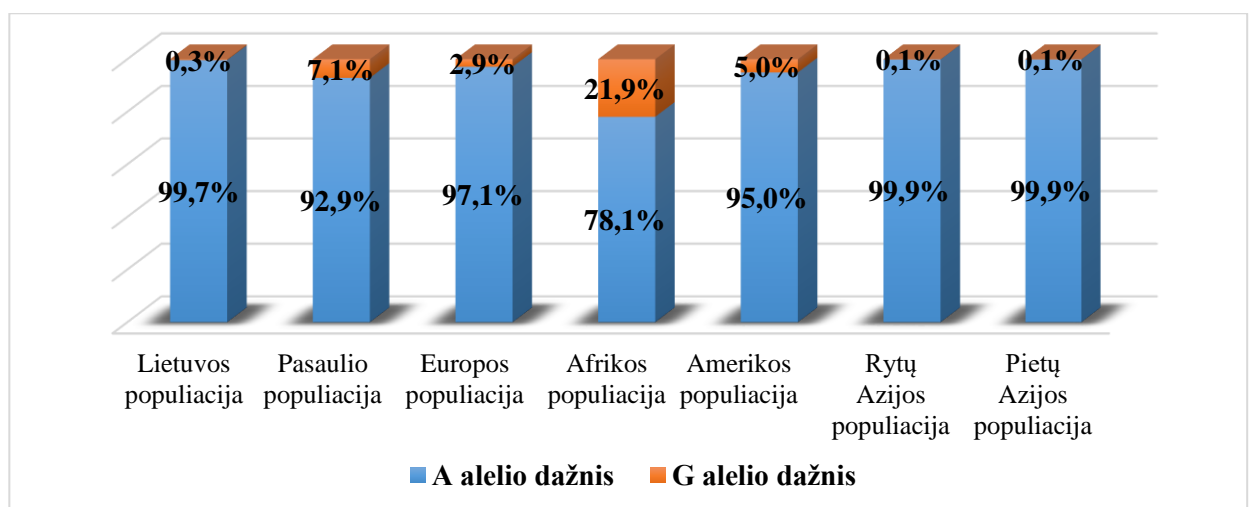
3.6. *MSTN* c.458A>G (rs1805086) polimorfizmo tyrimo rezultatai

Pagal *MSTN* c.458A>G polimorfizmą ištirti 150 (90 vyrų ir 60 moterų) Lietuvos didelio meistriškumo sportininkai bei 149 (108 vyrai ir 41 moteris) profesionaliai nesportuojantys Lietuvos populiacijos asmenys.

Remiantis H-V dėsniu, buvo įvertinti tiriamose grupėse nustatyti *MSTN* c.458A>G genotipų dažniai. Visose sportininkų grupėse genotipų dažniai neatitiko H-V pusiausvyros dėsnio. Bendroje kontrolės grupėje ir vyrų kontrolės grupėje genotipų dažniai atitiko H-V proporcijas, o moterų kontrolinė grupė H-V dėsnio neatitiko (15 lentelė).

Kadangi tik vienas asmuo turėjo *MSTN* c.458A>G polimorfizmo G/G genotipą ir tik du asmenys buvo A/G genotipo, nebuvo galima vertinti genotipų ir alelių dažnių skirtumų tarp grupių. Taip pat nebuvo tikslinga taikyti daugialypę tiesinę regresinę analizę.

Atsižvelgiant į tyrimo metu nustatyta retą G alelio dažnį, buvo nuspręsta palyginti *MSTN* c.458A>G polimorfizmo alelių dažnius tarp Lietuvos populiacijos ir pasaulio populiacijų. Analizei buvo naudojami 1000 Genomų projekto duomenys patalpinti *Ensembl* duomenų bazėje (21 pav.).



21 pav. *MSTN* c.458A>G polimorfizmo alelių dažniai bendroje Lietuvos populiacijoje ir didžiosiose pasaulio populiacijose (1000 Genomų projekto duomenys)

Nustatyta, kad Lietuvos populiacija *MSTN* c.458A>G alelių dažniu buvo panašiausia į Rytų Azijos ir Pietų Azijos populiacijas, kuriose retojo G alelio dažnis yra 0,1% ($p=1,0$). Kitos populiacijos alelių dažniais yra statistiškai reikšmingai skirtingos: pasaulio populiacijoje G alelio dažnis – 7,1% ($p=1,25 \times 10^{-5}$), Europos populiacijoje G alelis nustatomas 2,9% dažniu ($p=0,02$), Amerikos populiacijoje retasis alelis turi dažnį – 5,0% ($p=0,0004$). Afrikos populiacija retojo alelio dažniu (21,9%) ypatingai skiriasi tiek nuo Lietuvos populiacijos ($p=2,2 \times 10^{-16}$), tiek nuo kitų populiacijų ($p<0,05$).

15 lentelė. *MSTN* c.458A>G polimorfizmo alelių ir genotipų dažnių tyrimo duomenys.

Grupė	N	Alelių dažniai (%)		p-vertė	<i>MSTN</i> c.458A>G genotipų dažniai						p-vertė (H-V)	p-vertė	
		[A]	[G]		[A][A]		[A][G]		[G][G]				
		O _i	E _i		O _i	E _i	O _i	E _i					
I	B	63	100,0	0,0	1,0	63 (100,0)	63,0	0 (0,0)	0,0	0 (0,0)	0,0	-	1,0
	V	33	100,0	0,0	1,0	33 (100,0)	33,0	0 (0,0)	0,0	0 (0,0)	0,0	-	1,0
	M	30	100,0	0,0	1,0	30 (100,0)	30,0	0 (0,0)	0,0	0 (0,0)	0,0	-	1,0
II	B	65	96,9	3,1	0,03	62 (95,4)	61,1	2 (3,1)	3,9	1 (1,5)	0,1	0,05	0,08
	V	37	94,6	5,4	0,01	34 (91,9)	33,1	2 (5,4)	3,8	1 (2,7)	0,1	0,08	0,05
	M	28	100,0	0,0	1,0	28 (100,0)	28,0	0 (0,0)	0,0	0 (0,0)	0,0	-	1,0
III	B	22	100,0	0,0	1,0	22 (100,0)	22,0	0 (0,0)	0,0	0 (0,0)	0,0	-	1,0
	V	20	100,0	0,0	1,0	20 (100,0)	20,0	0 (0,0)	0,0	0 (0,0)	0,0	-	1,0
	M	2	100,0	0,0	1,0	2 (100,0)	2,0	0 (0,0)	0,0	0 (0,0)	0,0	-	1,0
S	B	150	98,7	1,3	0,37	147 (98,0)	146,0	2 (1,3)	3,9	1 (0,7)	0,0	0,02	1,0
	V	90	97,8	2,2	0,18	87 (96,7)	86,0	2 (2,2)	3,9	1 (1,1)	0,0	0,03	0,41
	M	60	100,0	0,0	1,0	60 (100,0)	60,0	0 (0,0)	0,0	0 (0,0)	0,0	-	1,0
K	B	149	99,7	0,3		148 (99,3)	148,0	1 (0,7)	1,0	0 (0,0)	0,0	1,00	
	V	108	99,5	0,5		107 (99,1)	107,0	1 (0,9)	1,0	0 (0,0)	0,0	1,00	
	M	41	100,0	0,0		41 (100,0)	41,0	0 (0,0)	0,0	0 (0,0)	0,0	-	

I – ištvermės sporto grupė; II – greičio ir jėgos sporto grupė; III – mix sporto grupė; S – visų sportininkų grupė; K – kontrolinė grupė; B – bendra grupė (vyrai ir moterys); V – vyrų grupė; M – moterų grupė; O_i – nustatyti genotipų dažniai; E_i – teoriškai tikėtini genotipų dažniai (skaičiuojami remiantis Hardžio-Vainbergo dėsnium).

Nors turint tokias mažas A/G ir G/G genotipų grupes netikslinga statistiškai vertinti genotipų ir fenotipinių rodiklių sąsajų, tačiau įdomumo dėlei buvo palygintos fenotipinių rodiklių reikšmės tarp *MSTN* c.458A>G genotipų grupių (žr. 5 priedas).

Kadangi *MSTN* c.458A>G polimorfizmo A/G ir G/G genotipą turintys sportininkai priklausė greičio ir jėgos sporto vyrų grupei, buvo vertinama tik ši grupė. Nustatyta, kad iš visų genotipų, A/G genotipo asmenys turėjo didžiausią DPSJ rodiklį (A/A – 68,5±17,3 kg, A/G – 70,0±2,0 kg, G/G – 68,0 kg) ir didžiausią AARG rodiklį (A/A – 1252,0±259,8 W, A/G – 1474,0±214,0 W, G/G – 1359,0 W), o G/G genotipą turintis sportininkas pasižymėjo itin aukštu MDS įverčiu (A/A – 66,2±3,9 ml/kg/min, A/G – 65,1±1,3 ml/kg/min, G/G – 72,0 ml/kg/min). Tuo tarpu A/A genotipo sportininkai pasižymėjo didesniais KPSJ (A/A – 66,0±14,8 kg, A/G – 65,0±3,0 kg, G/G – 64,0 kg) ir VRSG (A/A – 2377,1±390,6 W, A/G – 2238,0±328,1 W, G/G – 2195,0 W) rodikliais.

Apibendrinant rezultatus, *MSTN* c.458A>G polimorfizmo tyrimo galimybės buvo apribotos. Mažas G alelio dažnis tiek esamoje tyrimo dalyvių imtyje, tiek viso pasaulio mastu, apsunkina šio genetinio žymens tyrimo galimybes, juolab kad aukšto meistriškumo sportininkai nėra gausi žmonių grupė. Tačiau genotipo-fenotipo analizė atskleidė didelį šio genetinio žymens potencialą būti reikšmingu aerobinį ir anaerobinį raumenų darbingumą nulemiančiu veiksniumi. Todėl reikalingi papildomi šio genetinio žymens tyrimai, kurie turėtų būti vykdomi populiacijose, turinčiose didesnę *MSTN* c.458A>G polimorfizmo retojo G alelio dažnį.

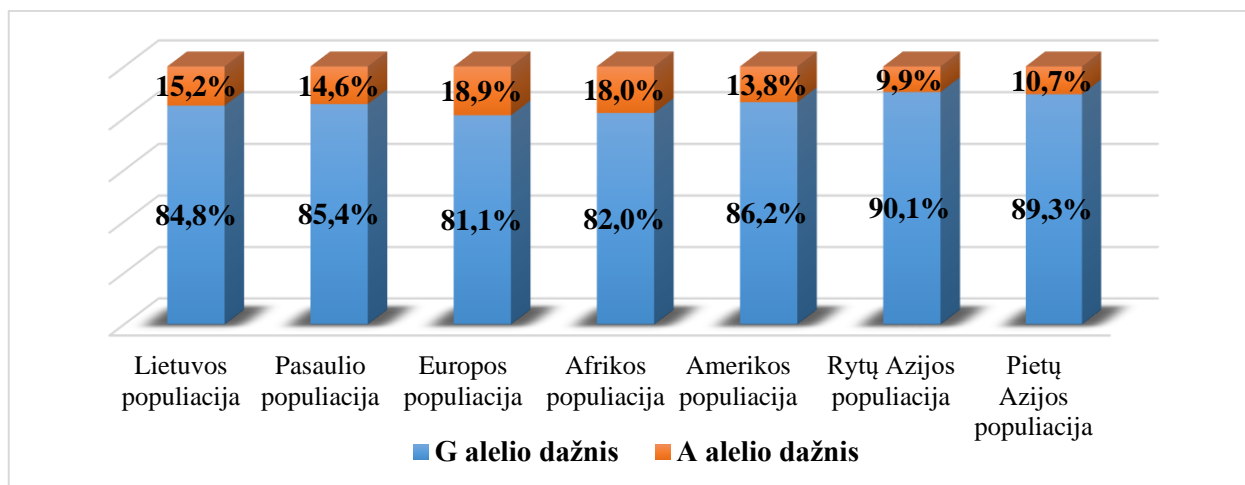
3.7. *MPRIP* c.219+14693G>A (rs6502557) polimorfizmo tyrimo rezultatai

Darbo metu, pagal *MPRIP* c.219+14693G>A polimorfizmą, buvo genotipuota 150 (90 vyrų, 60 moterų) Lietuvos didelio meistriškumo sportininkų ir 257 (191 vyras ir 66 moterys) kontrolinės nesportuojančių Lietuvos populiacijos asmenų DNR mėginių. Genotipavimo duomenys pateikti 16 lentelėje.

Analizei sportininkų grupė buvo suskirstyta pagal sporto šakos specializaciją ir, kartu su kontroline grupe, pagal lytį. Panaudojant H-V dėsnį, tiriamose grupėse buvo statistiškai įvertinti genotipų dažniai. Nustatyta, kad visose grupėse genotipų dažniai atitiko H-V proporcijas.

Darbo metu buvo įvertintas *MPRIP* c.219+14693G>A polimorfizmo alelių dažnių panašumas tarp Lietuvos populiacijos ir didžiųjų pasaulio populiacijų. Tai buvo atliekama naudojantis *Ensembl* duomenų bazėje esančia 1000 genomų projekto informacija (22 pav.). Kaip matome iš diagramos, Lietuvos populiacijoje *MPRIP* c.219+14693G>A retojo A alelio dažnis (15,2%) yra itin artimas pasaulio populiacijai (14,6%) ir Amerikos populiacijai (13,8%). Taip pat A alelio dažniu Lietuvos populiacija panaši į Europos populiaciją (18,9%) ir Afrikos populiaciją (18,0%). Reikšmingai alelių dažniu nuo Lietuvos populiacijos skiriasi Rytų Azijos populiacija ($p=0,01$) ir

Pietų Azijos populiacija ($p=0,03$). A alelio dažnis šiose populiacijose atitinkamai yra 9,9% ir 10,7%.



22 pav. *MPRIP* c.219+14693G>A polimorfizmo alelių dažniai bendroje Lietuvos populiacijoje ir didžiosiose pasaulio populiacijose (1000 Genomų projekto duomenys)

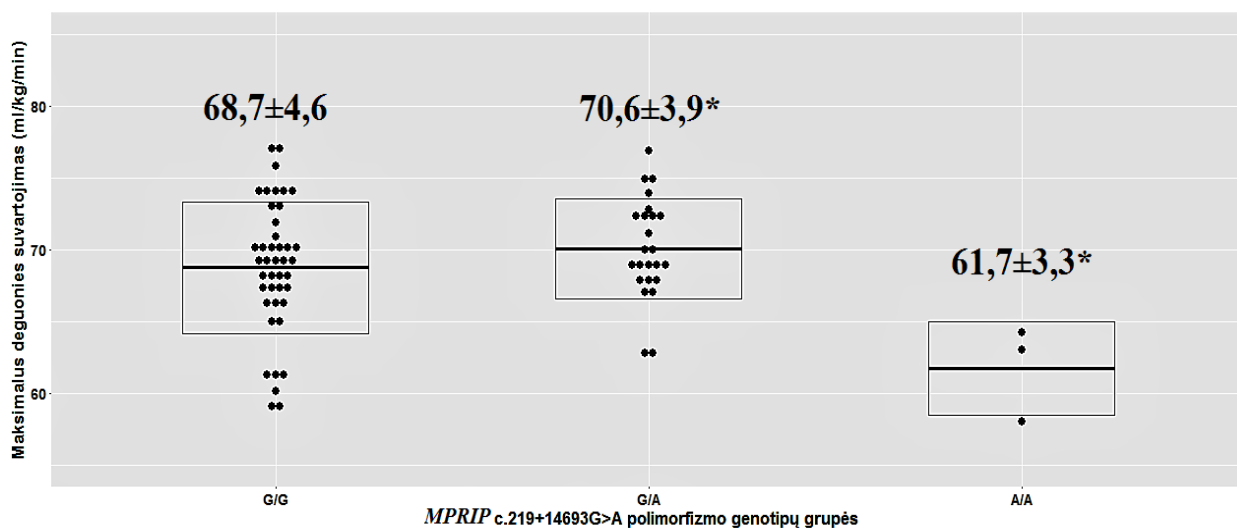
Atvejo-kontrolės analizės metu, lyginant bendros sportininkų grupės ir kontrolinės grupės genotipų ir alelių dažnius, nustatytas reikšmingas *MPRIP* c.219+14693G>A genotipų dažnių skirtumas. Bendroje sportininkų grupėje buvo nustatytas mažesnis G/G genotipo ir didesni G/A ir A/A genotipų dažniai (bendra sportininkų grupė: G/G – 60,0%, G/A – 35,3%, A/A – 4,7%; kontrolinė grupė: G/G – 71,6%, G/A – 26,5%, A/A – 1,9%, $p=0,03$). Palyginus alelių dažnius tarp visų sportininkų grupės ir kontrolinės grupės, nustatyti reikšmingi skirtumai. Sportininkų grupėje buvo nustatomas didesnis A alelio dažnis (bendra sportininkų grupė: G – 77,7%, A – 22,3%; kontrolinė grupė: G – 84,8%, A – 15,2%, $p=0,01$). Atlikus *MPRIP* c.219+14693G>A genotipų ir alelių dažnių analizę atskirose sporto grupėse, buvo nustatytas reikšmingas alelių dažnių skirtumas tarp ištvermės grupės sportininkų ir kontrolinės grupės. Ištvermės grupės sportininkai turėjo didesnę A alelio dažnį (G – 77,0%, A – 23,0%, $p=0,03$) lyginant su kontroline grupe. Išanalizavus sporto grupes atsižvelgiant į sportininkų lytį, buvo nustatyti reikšmingi genotipų ir alelių dažnių skirtumai tarp mix grupės sportininkų ir kontrolinės grupės moterų. Tačiau mix sporto grupėje buvo tik 2 moterys, todėl skirtumai nebuvo laikomi patikimais ir neturėtų būti interpretuojami. Bendroje ir sporto grupėse palyginus *MPRIP* c.219+14693G>A genotipų ir alelių dažnius tarp vyrų ir moterų, nebuvo nustatyta reikšmingų skirtumų (16 lentelė).

16 lentelė. MPRIP c.219+14693G>A polimorfizmo alelių ir genotipų dažnių tyrimo duomenys

Grupė	N	Alelių dažniai (%)		p-vertė	MPRIP c.219+14693G>A genotipų dažniai						p-vertė (H-V)	p-vertė	
		[G]	[A]		[G][G]		[G][A]		[A][A]				
					O _i	E _i	O _i	E _i	O _i	E _i			
I	B	63	77,0	23,0	0,03	36 (57,1)	37,3	25 (39,7)	22,3	2 (3,2)	3,3	0,49	0,07
	V	33	75,8	24,2	0,10	18 (54,5)	18,9	14 (42,5)	12,1	1 (3,0)	1,9	0,64	0,19
	M	30	78,3	21,7	0,12	18 (60,0)	18,4	11 (36,7)	10,2	1 (3,3)	1,4	1,00	0,15
II	B	65	79,2	20,8	0,12	41 (63,1)	40,8	21 (32,3)	21,4	3 (4,6)	2,8	1,00	0,20
	V	37	77,0	23,0	0,14	23 (62,2)	22,0	11 (29,7)	13,1	3 (8,1)	2,0	0,35	0,08
	M	28	82,1	17,9	0,37	18 (64,3)	18,9	10 (35,7)	8,20	0 (0,0)	0,9	0,55	0,19
III	B	22	75,0	25,0	0,09	13 (59,1)	12,4	7 (31,8)	8,30	2 (9,1)	1,4	0,57	0,09
	V	20	80,0	20,0	0,51	13 (65,0)	12,8	6 (30,0)	6,40	1 (5,0)	0,8	1,00	0,40
	M	2	25,0	75,0	0,01	0 (0,0)	0,10	1 (50,0)	0,80	1 (50,0)	1,1	1,00	0,03
S	B	150	77,7	22,3	0,01	90 (60,0)	90,5	53 (35,3)	52,0	7 (4,7)	7,5	0,82	0,03
	V	90	77,2	22,8	0,05	54 (60,0)	53,7	31 (34,4)	31,7	5 (5,6)	4,7	0,77	0,09
	M	60	78,3	21,7	0,06	36 (60,0)	36,8	22 (36,7)	20,4	2 (3,3)	2,8	0,72	0,08
K	B	257	84,8	15,2		184 (71,6)	184,9	68 (26,5)	66,2	5 (1,9)	5,9	0,66	
	V	191	84,0	16,0		133 (69,6)	134,9	55 (28,8)	51,3	3 (1,6)	4,9	0,42	
	M	66	87,1	12,9		51 (77,3)	50,1	13 (19,7)	14,8	2 (3,0)	1,1	0,28	

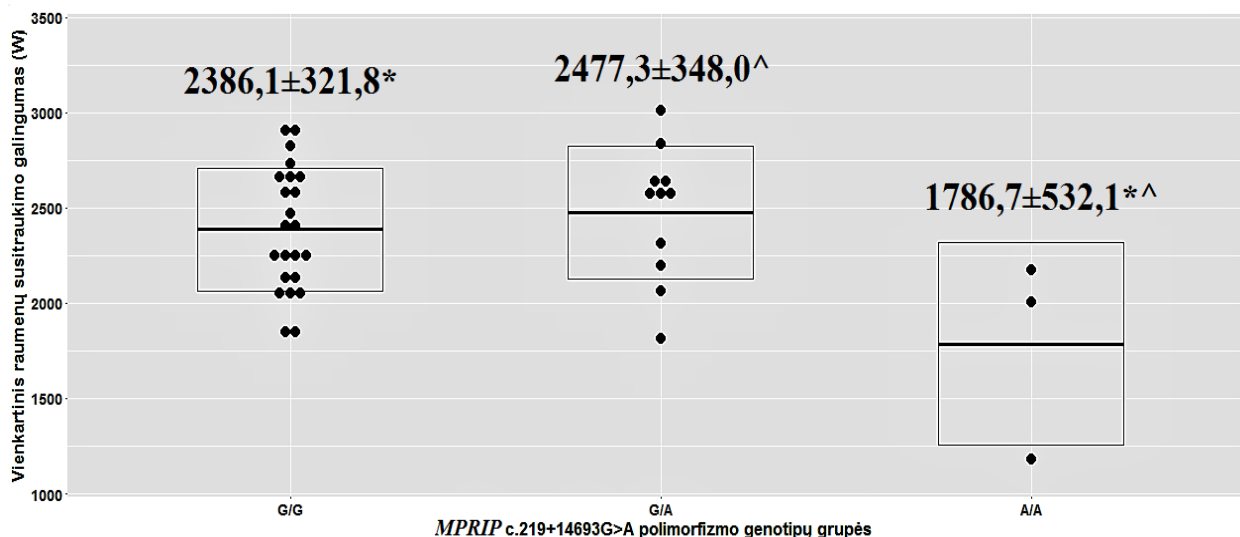
I – ištvermės sporto grupė; II – greičio ir jėgos sporto grupė; III – mix sporto grupė; S – visų sportininkų grupė; K – kontrolinė grupė; B – bendra grupė (vyrai ir moterys); V – vyrų grupė; M – moterų grupė; O_i – nustatyti genotipų dažniai; E_i – teoriškai tikėtini genotipų dažniai (skaičiuojami remiantis Hardžio-Vainbergo dėsnium).

Tolesniame tyrimo etape buvo atlikta genotipo-fenotipo asociacijos analizė. Atliekant genotipo-fenotipo asociacijos analizę, fenotipinių rodiklių vertės tarp genotipų grupių buvo lyginamos atsižvelgiant į sporto ir lyties grupes (žr. 6 priedas). Nustatyta, kad fenotipiniai rodikliai bendroje sportininkų grupėje tarp skirtingų MPRIP polimorfizmo genotipų statistiškai reikšmingai nesiskyrė. Tačiau išanalizavus bendros sporto grupės vyrų ir moterų fenotipinius rodiklius, nustatyti reikšmingi skirtumai vyrų grupėje, kuomet G/A genotipo sportininkai turėjo didžiausią MDS įvertį, o A/A genotipo sportininkai turėjo mažiausią MDS rodiklio vertę (23 pav.).



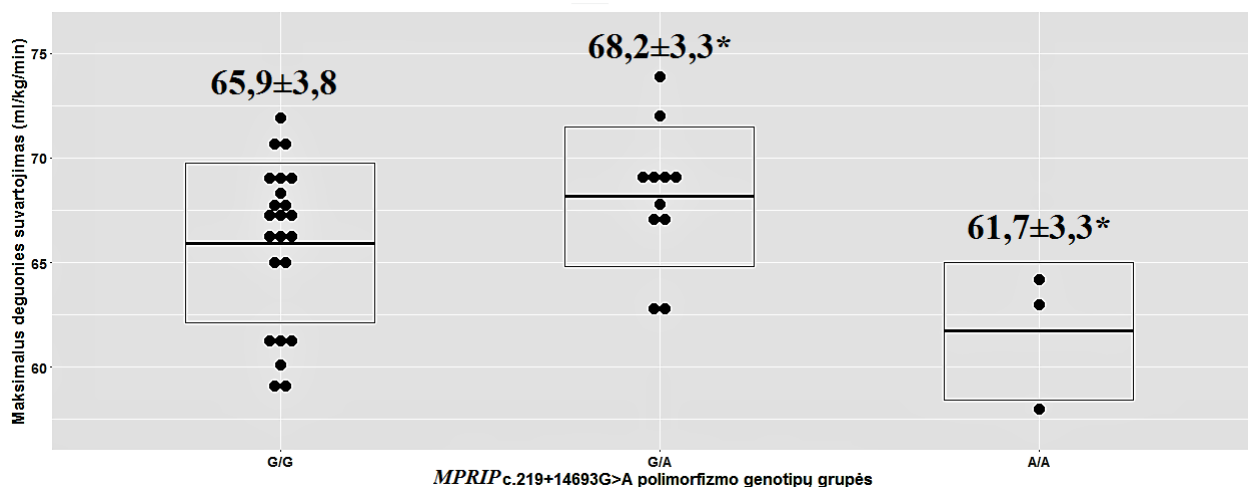
23 pav. Vyrų sportininkų MDS rodiklio vertės tarp *MPRIP* c.219+14693G>A genotipų grupių. * – Statistiškai reikšmingi MDS rodiklio skirtumai tarp G/A ir A/A genotipų sportininkų, $p=0,004$

Palyginus fenotipinius rodiklius tarp *MPRIP* polimorfizmo genotipų pagal sporto šakos specializaciją suskirstytose sportininkų grupėse, nenustatyta reikšmingų skirtumų. Atlikus fenotipinių rodiklių palyginimą tarp *MPRIP* polimorfizmo genotipų pagal lytį išskirstytose sporto šakos specializacijos grupėse, nustatyti reikšmingi VRSG skirtumai tarp greičio ir jėgos sporto šakos grupės vyrų. Didžiausiu VRSG pasižymėjo G/A genotipą turintys sportininkai, o mažiausiu A/A genotipo sportininkai (24 pav.).



24 pav. Greitį ir jėga lavinančių vyrų sportininkų VRSG rodiklio vertės tarp *MPRIP* c.219+14693G>A polimorfizmo genotipų grupių. * – Statistiškai reikšmingi VRSG rodiklio skirtumai tarp G/G ir A/A genotipų sportininkų, $p=0,02$. ^ – Statistiškai reikšmingi VRSG rodiklio skirtumai tarp G/A ir A/A genotipų sportininkų, $p=0,01$

Taip pat nustatyti statistiškai patikimi MDS rodiklio skirtumai tarp greičio ir jėgos sporto šakų grupės vyrų, kuomet G/A genotipo vyrai turėjo žymiai didesnę MDS nei A/A genotipo (25 pav.).



25 pav. Greičio ir jėgos sporto grupės vyrų MDS rodiklio vertės tarp *MPRIP* c.219+14693G>A genotipų grupių. * – Statistiškai reikšmingi MDS rodiklio skirtumai tarp G/A ir A/A genotipų sportininkų, $p=0,03$

Tiriant *MPRIP* c.219+14693G>A polimorfizmą, buvo naudota daugialypė tiesinė regresinė analizė. Priklausomų kintamųjų (DPSJ, KPSJ, VRSG, AARG, MDS) reikšmėms prognozuoti buvo naudojami nepriklausomi kintamieji (ūgis, svoris, raumenų masė, riebalų masė, lyties grupės, sporto šakos specializacijos grupės, *MPRIP* c.219+14693G>A genotipai). Pradiniame regresijos modelių analizės etape buvo įvertintos modelių tinkamumo prielaidos (\bar{R}^2 vertė, liekamųjų paklaidų normalumas, homoskedastiškumas). Nustatyta, kad visas prielaidas atitiko daugialypės regresijos modeliai, skirti VRSG ir MDS rodiklio analizei. VRSG analizei skirtas modelis parodė reikšmingą *MPRIP* c.219+14693G>A genotipų įtaką, kuomet G/A genotipas ($p=0,04$) ir G/G genotipas ($p=0,04$) buvo susiję su didesniu VRSG rodikliu. Taip pat, analizuojant šį regresijos modelį, buvo nustatyta reikšmingai neigiama riebalų masės įtaka VRSG ($p=0,03$) ir sporto specializacijos įtaka ($p=2,41 \times 10^{-13}$) ($\bar{R}^2=0,48$). MDS tyrimui sukurtas regresijos modelis neparodė reikšmingos *MPRIP* polimorfizmo genotipų įtakos šiam rodikliui, tačiau parodė, kad aukštesni sportininkai turėjo didesnę MDS ($p=0,01$) bei parodė sporto specializacijos įtaką ($p=4,8 \times 10^{-12}$) ($\bar{R}^2=0,48$).

Tyrimo rezultatai rodo, kad *MPRIP* c.219+14693G>A polimorfizmo A alelis susijęs su išvermes savybėmis, nes A alelis sutinkamas reikšmingai dažniau išvermės sportininkų grupėje nei kontrolinėje nesportuojančių asmenų grupėje. Tyrimo metu nustatyta, kad G/A ir G/G genotipų sportininkai pasiekia geresnius raumenų pajėgumo rodiklius atliekant anaerobinio pobūdžio fizinį darbą.

4. REZULTATŲ APTARIMAS

Fizinį pajėgumą tam tikroje sporto šakoje nusakančios organizmo savybės gali būti išmatuojamos tradiciniais pajėgumo tyrimais, tokiais kaip MDS, vertikalaus šuolio testai, dinanometriniai matavimai. Taip pat galima nustatyti genus ir jų variantus, kurie, kaip manoma, susiję su žmogaus fizinio pajėgumo savybėmis. Tai įrodo faktas, kad skirtumai tarp žmonių DNR sekų lemia didelę su sportu susijusių fenotipinių požymių variacijos dalį. Šią priklausomybę patvirtina Bouchard ir kitų mosklininkų 1998 ir 1999 metais atlikti tyrimai, kurių metu nustatytas aerobinio pajėgumo rodiklio MDS paveldimumas siekė ~50%, o MDS lavėjimo potencialo paveldimumas įvertintas 47% [91]. Tuo tarpu įvairiems anaerobinės galios fenotipams, paveldimumas varijuoja 14-83% [92]. Supratimas, kad žmogaus fenotipinę įvairovę nulemia ne tik aplinkos, bet ir genetiniai veiksniai, paskatino mokslininkus tirti genus ir jų variantus, kurie turi potencialų poveikį baltymams, fermentams, medžiagų apykaitos keliams ar kitiems ląsteliniams procesams, susijusiems su fizinio pajėgumo fenotipais [39].

Raumenų darbingumas ir prisitaikymas prie įvairaus pobūdžio fizinių krūvių yra vienas iš svarbiausių sportininko fizinį pajėgumą sąlygojančių veiksnių. Raumenų adaptacinės savybės priklauso nuo raumeninių skaidulų savybių, kraujotakos sistemos efektyvumo, energijos gamyboje ir homeostazėje dalyvaujančių fermentų aktyvumo. Atsižvelgiant į tai, darbo metu analizei buvo pasirinkti vieni iš potencialiausių raumenų funkcionalumą įtakančių genetinių žymenų – *CKM* (kreatinkinazės raumenų subvieneto) geno polimorfizmas (c.*800A>G, rs8111989), *AMPD1* (raumenims specifinės adenozino monofosfato deaminazės) geno polimorfizmas (c.133C>T, rs17602729), *MB* (mioglobino) geno polimorfizmas (c.174G>A, rs7293), *MSTN* (miostatino) geno polimorfizmas (c.458A>G, rs1805086) ir *MPRIP* (miozino fosfatazės–Rho sujungiančio baltymo) geno polimorfizmas (c.219+14693G>A, rs6502557).

4.1. Lietuvos sportininkų fenotipinių rodiklių analizės rezultatų aptarimas

Savita įvairių sporto šakų varžybinė veikla reikalauja iš sportininko tam tikrų specifinių ypatybių, kurios gali būti genetiškai nulemtos arba išugdytos treniruočių metu. Pasaulio mokslininkai plačiai tyrinėja įvairių gebėjimų lygmenį, kraujotakos ir kvėpavimo sistemų pajėgumą, psichinius procesus. Išryškinamos sportininkų savitos ypatybės, kurios yra labai reikalingos siekiant puikių konkrečios sporto šakos ar rungties sportinių rezultatų [93]. Šiame tyrime pateikiami Lietuvos aukšto meistriškumo sportininkų fizinio pajėgumo tyrimų rodikliai (VRSG, AARG, abiejų plaštakų suspaudimo jėga, MDS) bei antropometriniai išmatavimai. VRSG ir AARG yra anaerobinio pajėgumo rodikliai, atspindintys raumenų sprogstamąją galią, kuomet

didelės energijos molekulės, tokios kaip ATF ir kreatinfosfatas, panaudojamos trumpam maksimalaus galingumo darbui. Plaštakų suspaudimo jėga yra kitas anaerobinės galios įvertinimo rodiklis, kuris apibūdina viršutinės kūno dalies raumenų stiprumą [94]. Tuo tarpu MDS naudojamas kaip sportininkų aerobinio pajėgumo matas [16]. Manoma, kad žmogaus fizinio pajėgumo fenotipai pasireiškia antagonistiškai, t.y., specializuojantis kokioje nors veikloje, nukenčia gebėjimai kitose veiklose [95].

Mūsų tyrimo metu pastebėta, kad KMI, DPSJ, KPSJ, raumenų masės, VRSG, AARG vertės buvo statistiškai reikšmingai didesnės tarp greitį ir jėgą lavinančių sportininkų, nei tarp ištvermės sporto atstovų, kurių MDS vertės buvo didesnės. Fenotipinių rodiklių skirtumai tarp šių sportininkų grupių atspindi Van Damme ir kitų 2002 metais publikuoto tyrimo rezultatus, kuriais buvo parodyta, kad sprogstamoji raumenų jėga, reikalinga trumpo ir intensyvaus darbo metu, neigiamai koreliuoja su ištvermės savybėmis [96]. Tuo tarpu, kaip ir tikėtasi, mix grupės sportininkai pagal fenotipinių rodiklių vertes užėmė tarpinę padėtį, kadangi jiems būdingos ir anaerobinio, ir aerobinio pajėgumo savybės. Taip pat žinoma, kad egzistuoja fenotipinių rodiklių skirtumai tarp lyčių [97]. Tai buvo patvirtinta ir mūsų tyrime, kuomet vyrai pasižymėjo reikšmingai didesniu ūgiu, svoriu, KMI, abiejų plaštakų suspaudimo jėga, raumenų mase, AARG ir MDS. Sporto genetikai mano, kad raumenų galingumui genetiniai veiksniai turi daugiau įtakos nei ištvermės savybėms. Taip pat, nors nėra aišku kodėl, bet vyriškos lyties asmenų raumenų jėgai genai turi didesnę įtaką nei moterų atveju [92].

4.2. *CKM* geno c.*800A>G (rs8111989) polimorfizmo tyrimo rezultatų aptarimas

Didelio intensyvumo fizinio krūvio metu raumenyse ATF poreikis gali išaugti 1000 kartų. Tam, kad raumenų darbingumas būtų palaikomas, ATF regeneracijos greitis turi padidėti ir kompensuoti šį energijos poreikį. Šiam tikslui organizme naudojamos trys energetinės sistemos: fosfageno, glikolitinė ir oksidacinio fosforilinimo. Šios sistemos skiriasi naudojamais substratais, produktais, ATF regeneracijos greičiu ir ypatumais. Fosfageno sistema susideda iš trijų cheminių reakcijų: kreatinkinazės, adenilato kinazės ir AMF deaminazės fermentų vykdomų reakcijų [98]. Nustatyta, kad didelio intensyvumo fizinėje veikloje svarbiausias vaidmuo ATF resintezėje tenka kreatinkinazei, kuri atstato energijos atsargas skaldydama didelės energijos junginį kreatinfosfatą [99]. Dėl svarbaus vaidmens užtikrinant energetinį balansą raumenų ląstelėse, raumenims specifinė kreatinkinazės izoforma tapo fizinio pajėgumo tyrimų taikiniu. Išsamūs pelių modelių tyrimai parodė, kad už raumenų kreatinkinazės izoformos gamybą atsakingo geno *CKM* raiškos dydis reikšmingai įtakoja raumenų savybes [39]. Todėl visi veiksniai, galintys paveikti šio geno raišką, gali turėti svarbią įtaką sportininko fenotipinėms savybėms. Vienas iš tokių veiksnių yra

vieno nukleotido pakaita *CKM* geno 3' netransliuojamoje srityje (c.*800A>G, rs8111989). Manoma, kad ji gali lemti iRNR nestabilumą, keisti *CKM* raiškos lygį ir dėl to turėti įtaką žmogaus fizinio pajėgumo fenotipui.

Visuotinai pritariama, kad tikslingiausia genetinius žymenis tirti aukšto meistriškumo sportininkų grupėse, kadangi šie individai turi labiausiai išreikštas fizinio pajėgumo savybes, kurios taikliai atsispindi jų genetinėje struktūroje. Šiuo atžvilgiu mūsų tyrimas turi didelę svarbą, kadangi jame buvo tiriami Lietuvos įvairių sporto šakų didelio meistriškumo sportininkai. Tyrimo metu *CKM* c.*800A>G polimorfizmo atžvilgiu ištirta 150 Lietuvos didelio meistriškumo sportininkų ir 149 profesionaliai nesportuojantys Lietuvos populiacijos asmenys. Tyrimo duomenimis, tiek sportininkų, tiek kontrolinėje grupėse, *CKM* c.*800A>G polimorfizmo genotipų dažniai buvo pasiskirstę pagal H–V dėsnį. Išskyrus greičio ir jėgos sporto moterų grupę ($p=0,02$), kurioje buvo ypatingai paplitęs A/A genotipas. Manome, jog nukrypimas nuo H-V pusiausvyros šioje grupėje yra sąlygotas sunkaus didelio meistriškumo sportininkų treniruočių ir varžybų režimo, kuomet sporte išlieka ir aukštą meistriškumą pasiekia tik geriausias fizines savybes turintys asmenys. Tyrime nustatyta, kad bendroje sportininkų ir kontrolinėje grupėse genotipų ir alelių dažniai reikšmingai nesiskyrė, nors tarp sportininkų buvo dažnesnis A alelis, atitinkamai 63,0% ir 57,0%. Tai nulėmė didesnis A/A ir mažesnis A/G bei G/G genotipų dažnis sportininkų tarpe (sportininkų grupė: A/A – 40,7%, A/G – 44,7%, G/G – 14,6%; kontrolinė grupė: A/A – 30,2%, A/G – 53,7%, G/G – 16,1%). Šie rezultatai sutampa su Kang ir kitų 2003 metais publikuoto tyrimo rezultatais, kuriame c.*800A>G polimorfizmo genotipų ir alelių dažniai reikšmingai nesiskyrė tarp elitinių sportininkų grupės ir nesportuojančių asmenų grupės [100]. Tiriant sportininkus pagal lyties grupes ir sporto šakos specifiką, reikšmingi skirtumai tarp sportininkų ir kontrolinės grupės buvo pastebėti tik greičio ir jėgos moterų grupėje. Šiai grupei buvo būdingas žymiai didesnis A/A genotipo ir žymiai mažesni A/G ir G/G genotipų dažniai nei kontrolinei moterų grupei (greičio ir jėgos grupės sportininkės: A/A – 50,0%, A/G – 25,0%, G/G – 25,0%; kontrolinės grupės moterys: A/A – 29,3%, A/G – 58,5%, G/G – 12,2%, $p=0,02$). Kadangi tarp ištvermės sportininkų ir kontrolinės grupės asmenų nebuvo nustatyta reikšmingų genotipų ar alelių dažnių skirtumų, mūsų tyrimo rezultatai yra panašūs į Rivera ir kitų (1997) [101], Lucia ir kitų (2005) [102], Martinez ir kitų (2009) [103], Eider ir kitų (2015) [104] atliktų tyrimų rezultatus, kurie taip pat neparodė genotipų ar alelių dažnių skirtumų tarp profesionalių ištvermės sporto atstovų ir kontrolinės grupės asmenų. Tačiau skiriasi nuo Fedotovskaya ir kitų 2012 metais publikuoto tyrimo rezultatu, kuriuose A/A genotipas ir A alelis buvo žymiai dažnesni ištvermę treniruojančių sportininkų grupėje nei kontrolinėje grupėje. Tame pačiame tyrime mokslininkė nustatė, kad G alelis buvo žymiai dažnesnis sunkiaatlečių tarpe nei kontrolinėje grupėje [40]. Fedotovskaya ir kiti 2013 metais publikuotame tyrime nustatė, kad mišrių (aerobinių ir

anaerobinių) savybių reikalaujančio sporto atstovų grupėje G alelis buvo reikšmingai dažnesnis nei kontrolinėje grupėje [105]. Mūsų tyrimo metu nustatytas didesnis A alelio dažnis tarp greičio ir jėgos grupės sportininkų nei kontrolinės grupės moterų, prieštarauja šių tyrimų rezultatams. Taip pat mūsų tyrimo metu nustatyti dideli genotipų dažnių skirtumai tarp greičio ir jėgos sporto grupės vyrų ir moterų (greičio ir jėgos vyrų grupė: A/A – 37,8%, A/G – 54,1%, G/G – 8,1%; greičio ir jėgos moterų grupė: A/A – 50,0%, A/G – 25,0, G/G – 25,0%, $p=0,035$). Tai parodo galimą skirtingą CKM c.*800A>G polimorfizmo genotipų įtaką vyrų ir moterų greičio ir jėgos savybėms.

Genotipo-fenotipo asociacijos analizės metu buvo nustatytas reikšmingas greitį ir jėgą lavinančių sportininkų VRSG rodiklio skirtumas tarp CKM c.*800A>G genotipų grupių, kuomet bent vieno A alelio turėjimas genotipe buvo susijęs su žymiai didesniu rodiklio įverčiu. Rezultatai atskleidė, kad bendroje vyrų ir moterų greičio ir jėgos sportininkų grupėje didžiausią VRSG nulėmė A/G genotipas, o vyrų greičio ir jėgos sportininkų grupėje didžiausią VRSG turėjo A/A genotipo vyrai. Šie rezultatai panašūs į Sprouse ir kitų 2015 metais publikuoto tyrimo rezultatus, kuriuose A/A genotipo jūrų pėstininkai fizinio parengtumo pratybų metu pasižymėjo didesniais jėgos įverčiais nei kitus genotipus turintys kareiviai [106]. Mūsų tyrimo metu nebuvo nustatyta aerobinio pajėgumo rodiklio MDS priklausomybė nuo CKM c.*800A>G genotipų grupių. Tai prieštarauja Fedotovskaya ir kitų 2012 metais publikuoto tyrimo rezultatams, kuriuose aprašoma, kad A/A genotipo ištvermės sportininkai pasižymėjo reikšmingai didesniais MDS įverčiais nei A/G ir G/G genotipo sportininkai [40]. Taip pat mūsų tyrimo rezultatai prieštarauja Rivera ir kitų atliktų tyrimų rezultatams, kuriuose buvo nustatyta, kad A alelis turi svarbią įtaką MDS rodikliui [41]. Tyrime, pritaikius daugialypę tiesinę regresinę analizę, buvo nustatyta, kad VRSG įverčiui teigiamos įtakos turi A/G ($p=0,004$) ir A/A ($p=0,017$) genotipai. Taip pat nustatyta svarbi sporto specializacijos įtaka ($\bar{R}^2 = 0,49$). Paaiškėjo, kad kuo didesnė sportininko raumenų masė, tuo didesnis DPSJ rodiklis ($p=0,028$) bei nustatyta reikšminga lyties ($p=0,014$) ir sporto šakos specializacijos įtaka šiam rodikliui ($p=0,01$) ($\bar{R}^2 = 0,38$). Analizė parodė, kad kuo vyresnio amžiaus sportininkas, tuo didesnis jo AARG rodiklis ($p=0,04$). Taip pat nustatyta, kad sporto šakos specializacija daro didelę įtaką AARG rodikliui ($p=2,43 \times 10^{-7}$) ($\bar{R}^2 = 0,39$). MDS regresijos modelis parodė, kad didesnis sportininko ūgis lemia didesnę MDS rodiklio įvertį ($p=0,03$) ir, kad priklausymas ištvermės sporto grupei ($p=5,95 \times 10^{-12}$) ir mix sporto grupei ($p=0,004$) susijęs su aukštesniu MDS rodikliu ($\bar{R}^2 = 0,48$).

Remiantis didesniu A alelio dažniu sportininkų (ypatingai greičio ir jėgos sporto atstovų) grupėje bei genotipo-fenotipo asociacijos tyrimo ir daugialypės tiesinės regresinės analizės rezultatais galime teigti, kad A alelis Lietuvos aukšto meistriškumo sportininkų tarpe yra asocijuotas su greičio ir jėgos savybėmis, o aerobiniam pajėgumui įtakos neturi. Literatūros

šaltiniuose yra daug prieštarigus rezultatus pateikiančių tyrimų. Tai gali būti dėl to, kad c.*800A>G VNP yra įvykęs 3' netransliuojamoje *CKM* geno srityje. Manoma, kad šis polimorfizmas gali lemti iRNR ląstelinio signalo pokyčius. Dėl nestabilios iRNR gali pakisti *CKM* raiškos lygis. Tačiau šis procesas nėra iki galo ištyrinėtas ir neatmetama galimybė, kad skirtingose pasaulio populiacijose, dėl skirtingų populiacijų haplotipinių struktūrų, procesas gali pasireikšti skirtingai ir turėti skirtingą poveikį skirtingų populiacijų sportininkams.

Mūsų tyrimo duomenimis, Lietuvos populiacijoje retojo G alelio dažnis (41,3%) yra panašus į Pietų Azijos populiacijoje nustatytą G alelio dažnį – 38,4%. Tuo tarpu kitos pasaulio populiacijos G alelio dažniu yra ganėtinai skirtingos: viso pasaulio populiacija (34,0%), Europos populiacija (30,0%), Amerikos populiacija (21,3%), Rytų Azijos populiacija (18,2%), Afrikos populiacija (52,6%). Tikėtina, kad polimorfizmų alelių dažnių skirtumai tarp populiacijų yra nulemti kryptingos atrankos, kuomet įvairūs demografiniai ir gamtos nulemti veiksniai suformuoja geriausiai gyvenamoje aplinkoje prisitaikiusius individus. Populiacijos reprodukcijos lygis, jos genetinė įvairovė ir fiziniai aplinkos veiksniai formuoja šio kitimo pagrindą. Viena iš kitimo priežasčių gali būti specifinis kūno raumenų poreikis prisitaikyti prie aplinkos sąlygų, sustiprėti ar išlavinti naujus funkcinis gebėjimus. Tokiu atveju populiacijos genų fonde išgryninami tie genetiniai variantai, kurie padeda raumenims efektyviau dirbti. Šiuo atveju galime teigti, jog didelis *CKM* c.*800A>G laukinio tipo A alelio dažnis Amerikos ir Rytų Azijos populiacijose turi didelę įtaką šių populiacijų atstovų raumenų darbingumui ir gali padėti paaiškinti šių populiacijų sportininkų pasiekiamus rezultatus. Tačiau vertinant sportininkų genetinį potencialą, reikia neužmiršti, kad fizinis pajėgumas yra daugiaveiksnė savybė, apsprendžiama aplinkos veiksnių ir daugelio genų, bei jų tarpusavio sąveikos. Todėl norint išsamiai įvertinti genetinį polinkį aukštų sportinių rezultatų siekimui, reikia ištirti ir įvertinti daugelio genetinių žymenų suminį poveikį.

4.3. *AMPDI* geno c.133C>T (rs17602729) polimorfizmo tyrimo rezultatų aptarimas

AMPDI genas koduoja fermentą mioadenilato deaminazę, kuri yra svarbus energijos pusiausvyros raumenyse reguliatorius. Mioadenilato deaminazė intensyvaus fizinio darbo metu susidariusį AMF verčia į IMF ir amoniako molekulę. Dėl šio virsmo miokinazės reakcija pakreipiama ATF gamybos link. Žinoma, jog VNP (rs17602729, c.133C>T, p.Gln45Ter) *AMPDI* gene sukuria priešlaikinį baigmės kodoną ir lemia nefunkcionalaus sutrumpėjusio baltymo sintezę. Homozigotinio, pagal šio polimorfizmo T alelį, genotipo asmenys turi mioadenilato deaminazės stoką, o heterozigotinio genotipo – tarpinį fermento aktyvumą [45]. Mioadenilato deaminazės stoka yra dažna fizinio krūvio sukeliama raumenų silpnumo ir dažniausia metabolinės miopatijos priežastis [37]. Mioadenilato deaminazė vyrauja visose griaučių raumenų skaidulose, bet labiausiai

išreiškiamą greitai susitraukiančiose (2 tipo) raumenų skaidulose. Todėl labiausiai tikėtina, kad fermento stoka pagrįdė paveikia trumpą, maksimalios galios reikalaujantį fizinį darbą. Tačiau nustatyta, kad ilgalaikio išvermės reikalavimų darbo vėlesniuose etapuose, išvermės sportininkų raumenyse senkant pagrindiniams energijos šaltiniams (angliavandeniams ir tt.), ląstelėse padidėja ADF koncentracija ir stimuliuojama miokinazės reakcija. Todėl susikaupia AMF, kuris turi būti deamininamas mioadenilato deaminazės [46]. Taigi, *AMPDI* c.133C>T polimorfizmas turi potencialą įtakoti ir išvermės, ir jėgos bei greičio savybes.

Mūsų tyrimo metu pagal *AMPDI* c.133C>T polimorfizmą ištirta 150 Lietuvos didelio meistriškumo sportininkų ir 150 profesionaliai nesportuojančių Lietuvos populiacijos asmenų. Buvo nustatyta, kad visose tirtose grupėse polimorfizmo genotipų dažniai buvo pasiskirstę pagal H-V pusiausvyrą. Bendra sportininkų grupė genotipų ir alelių dažniais reikšmingai nesiskyrė nuo kontrolinės grupės. Bendroje sportininkų populiacijoje buvo nustatomas mažesnis retojo T alelio dažnis nei kontrolinėje grupėje, atitinkamai 11,3% ir 14,0%. Pastebėta, kad sportininkų grupėje buvo daugiau homozigotinių pagal laukinio tipo C alelį, mažiau heterozigotinių ir mažiau homozigotinių pagal retąjį T alelį asmenų (sportininkų grupė: C/C – 79,3%, C/T – 18,7%, T/T – 2,0%; kontrolinė grupė: C/C – 74,7%, C/T – 22,7%, T/T – 2,6%). Tolesnė atvejo-kontrolės analizė ir sporto grupių tarpusavio palyginimas irgi neparodė reikšmingų genotipų ar alelių dažnių skirtumų tarp tiriamųjų grupių. Meckel ir kiti 2012 metais publikuotame tyrime taip pat nenustatė reikšmingų *AMPDI* c.133C>T polimorfizmo genotipų ir alelių dažnių skirtumų tarp elitinių sportininkų ir kontrolinės grupės asmenų [107]. Tuo tarpu Rubio ir kiti 2005 metais publikuotame tyrime nustatė dvigubai mažesnę T alelio dažnį išvermę treniruojančių sportininkų grupėje nei kontrolinėje grupėje [46]. Išanalizuotuose straipsniuose, išvermės sportininkų tyrimai parodė ir priešingų rezultatų, kuomet T alelis buvo žymiai dažnesnis ilgų nuotolių bėgikų tarpe nei kontrolinėje grupėje [108]. Tyrimai, kuriuose *AMPDI* c.133C>T polimorfizmo genotipų ir alelių dažniai buvo lyginami tarp greičio ir jėgos sportininkų ir kontrolinės grupės asmenų, rezultatai buvo panašesni. Fedotovskaya ir kiti 2013 metais publikuotame tyrime nustatė, kad tarp greičio ir jėgos sportininkų T alelio ir, ypač, T/T genotipo dažnis buvo žymiai mažesnis nei kontrolinėje grupėje [109]. Cieszczyk ir kiti (2012), taip pat Ginevičienė ir kiti (2014) atliktuose tyrimuose nepriklausomai nustatė, kad greičio ir jėgos sportininkų grupė pasižymėjo žymiai retesniu nei kontrolinė grupė T aleliu, o T/T genotipų tarp sportininkų nenustatė [110;46].

Atsižvelgiant į tai, kad *AMPDI* polimorfizmo T/T genotipas sukelia mioadenilato deaminazės stoką, kuri sukelia miopatiją, mūsų tyrimo metu nustatytas šio genotipo sportininkų dažnis (2,0%) yra didelis. Galimas to paaiškinimas gali būti tai, kad šie individai nepatiria fermento stokos simptomų. Tai tikėtina, kadangi daugelyje literatūros šaltinių aprašomi atvejai, kuomet *AMPDI* c.133C>T polimorfizmo T/T genotipas tiriamiems asmenims pasireiškia įvairiomis formomis: be

simptomų, metaboline miopatija, sutrikusia raumenų funkcija fizinio krūvio metu [50]. Tačiau literatūros duomenimis, net ir miopatijos simptomų neturintys T/T genotipo asmenys pasižymi prastesniu organizmo atsaku į fizinį krūvį [51;52;53]. Mūsų tyrimo metu atlikta genotipo-fenotipo analizė parodė, kad ištvermės sporto grupės C/C genotipą turintys vyrai turėjo mažesnę AARG įvertį nei tos pačios grupės C/T genotipo vyrai ($p=0,04$). Šioje grupėje buvo tik vienas T/T genotipo asmuo ir jo AARG rodiklis nebuvo reikšmingai mažesnis už C/T genotipo sportininkų AARG rodiklį. Šie rezultatai skiriasi nuo Sanz ir kitų (2003), Fischer ir kitų (2007), ir Norman ir kitų (2008) publikuotų tyrimų, kuriuose T/T genotipo asmenys pasižymėjo reikšmingai mažesniu anaerobiniu pajėgumu nei C/T ir C/C genotipo tyrimo dalyviai [52;61;111]. Taip pat mūsų tyrime nustatyta, kad ištvermės sporto grupės C/C genotipo moterys turėjo reikšmingai didesnę MDS įvertį nei tos pačios grupės C/T genotipo sportininkės ($p=0,01$). Ištvermės sporto grupės T/T genotipo sportininkų tyrimo metu nenustatyta, todėl nebuvo galima įvertinti jų MDS rodiklio. Šie rezultatai skiriasi nuo Ginevičienės ir kitų 2014 metais publikuoto tyrimo, kuriame nebuvo nustatytas reikšmingas MDS skirtumas elitinių Lietuvos sportininkų grupėje tarp *AMPDI* c.133C>T polimorfizmo genotipų grupių [46]. Daugialypė tiesinė regresinė analizė neparodė reikšmingos *AMPDI* c.133C>T genotipų įtakos fenotipiniams rodikliams. Tačiau buvo nustatyta sporto šakos specializacijos įtaka VRSG rodikliui ($p=1,33 \times 10^{-12}$) ($\bar{R}^2=0,46$). MDS rodiklio regresinė analizė parodė, kad kuo didesnio ūgio sportininkas tuo aukštesnis MDS rodiklis. Taip pat nustatyta, kad ištvermės ($p=2,12 \times 10^{-11}$) ir mix ($p=0,004$) sporto grupių specializacijos kryptys susijusios su didesnėmis MDS vertėmis ($\bar{R}^2=0,48$).

Mūsų tiriamų duomenų analizė parodė, kad *AMPDI* c.133C>T polimorfizmo alelių dažniu Lietuvos populiacija yra panaši į Europos populiaciją. Lietuvos populiacijoje retojo T alelio dažnis yra 14,0%, o Europos populiacijoje – 12,3%. Kitose pasaulio populiacijose T alelio dažnis yra žymiai retesnis: pasaulio populiacijoje (3,8%), Amerikos populiacijoje (5,8%), Pietų Azijos populiacijoje (2,0%), Afrikos populiacijoje (0,5%), Rytų Azijos populiacijoje (0,1%). Nors skirtingose populiacijose nustatyta daug retų *AMPDI* geno mutacijų, kurios lemia sumažėjusį mioadenilato deaminazės aktyvumą ar jo stoką, c.133C>T VNP turi didžiausią svarbą nulemiant fermento funkcionalumą. Polimorfizmo alelių dažnių skirtumai tarp populiacijų paaiškina, kodėl šio fermento stoka dažniausia tarp europiečių, rečiau pasitaiko tarp afroamerikiečių, o rečiausiai nustatoma azijiečių populiacijoje [48].

Apibendrinant tyrimo rezultatus, galima teigti, jog darbo metu nebuvo nustatyta *AMPDI* c.133C>T polimorfizmo asociacija su fizinio pajėgumo savybėmis Lietuvos aukšto meistriško sportininkų grupėje. Tačiau moterų ištvermės sporto grupėje C alelis buvo didesnę MDS lemiantis veiksnys, todėl galima teigti jog C alelis turi didesnę reikšmę moterų aerobiniam pajėgumui ir jo

lavėjimui nei greičiui ir jėgai. Išsamiam genetinio žymens išanalizavimui reikalingi papildomi tyrimai, papildant sportininkų grupę naujais tiriamaisiais.

4.4. *MB* geno c.174G>A (rs7293) polimorfizmo tyrimo rezultatų aptarimas

Deguonis raumenų ląstelėse yra pagrindinė energijos gamybos oksidacinio fosforilinimo būdu sąlyga. Šią svarbią sąlygą užtikrina raumenų ląstelėse esantis chromoproteinas – mioglobinas. Mioglobinas raumenų ląstelėse funkcionuoja kaip deguonies pernašos baltymas, kuris deguonį transportuoja nuo kapiliarų iki mitochondrijų [61]. Dėl atsparumo pH pokyčiams ir stipraus jungimosi su deguonimi, šis baltymas fizinių krūvi patiriančiuose raumenyse formuoja deguonies atsargas. Nors mioglobina koduojančio *MB* geno sekoje nustatytas VNP (c.174G>A, rs7293) jau seniai žinomas mokslininkų bendruomenei ir siejamas su fiziniu pajėgumu, tačiau nėra išsamiai ištirtas elitinių sportininkų grupėse.

Mūsų tyrimo metu, analizuojant *MB* c.174G>A polimorfizmą, genotipuota 150 Lietuvos didelio meistriškumo sportininkų ir 150 profesionaliai nesportuojančių Lietuvos populiacijos asmenų. Buvo nustatyta, kad visose tiriamųjų grupėse, išskyrus bendrą sportininkų vyrų ($p=0,004$) ir greičio bei jėgos sportininkų vyrų ($p=0,04$) grupes, genotipų dažniai atitiko teoriškai tikėtinus pagal H-V dėsnį. Abiejose grupėse buvo nustatytas didelis G/A genotipų dažnis ir mažas G/G genotipų dažnis. Bendra sportininkų grupė genotipų ir alelių dažniais reikšmingai nesiskyrė nuo kontrolinės grupės. Tačiau nustatyta, kad sportininkų tarpe A alelio dažnis (51,3%) buvo didesnis nei kontrolinėje grupėje (48,3%). Pastebėta įdomi tendencija, kuomet sportininkų grupėje vyravo heterozigotinis genotipas, o kontrolinėje grupėje buvo dažniau nustatomi homozigotiniai genotipai (sportininkų grupė: G/G – 20,7%, G/A – 56,0%, A/A – 23,3%; kontrolinėje grupėje: G/G – 30,0%, G/A – 43,3%, A/A – 26,7%). Šie rezultatai sutampa su Ginevičienės ir kitų 2013 metais mokslinėje konferencijoje pristatyto tyrimo rezultatais, kuomet nustatytas didesnis heterozigotinių genotipų dažnis sportininkų grupėje [112]. Ši tendencija buvo būdinga ir tiriant atskiras sporto grupes. Nepaisant reikšmingų genotipų dažnių skirtumų tarp išvermės sportininkų grupės ir kontrolinės grupės, nebuvo nustatyta reikšmingų alelių dažnių skirtumų tarp šių grupių. Šie rezultatai sutampa su Wu ir kitų 2005 metais publikuoto tyrimo rezultatais, kuomet nebuvo nustatyta reikšmingų *MB* c.174G>A polimorfizmo alelių dažnių skirtumų tarp ilgų nuotolių bėgikų ir bendros populiacijos asmenų [61]. Tačiau skiriasi nuo Ginevičienės ir kitų 2013 metais mokslinėje konferencijoje pristatyto tyrimo rezultatų, kuomet išvermės sportininkų grupė pasižymėjo didesniu A alelio dažniu nei kontrolinė grupė [112]. Sporto grupėse buvo nustatyti reikšmingi genotipų dažnių skirtumai tarp vyrų ir moterų sportininkų. Ryškiausias skirtumas buvo nustatytas tarp greičio ir jėgos grupės vyrų ir moterų (vyrų: G/G – 8,1%, G/A – 64,9%, A/A – 27,0%; moterų: G/G –

46,4%, G/A – 32,2%, A/A – 21,4%, $p=0,001$). Šie genotipų dažnių skirtumai parodo nevienodą genotipų įtaką vyrų ir moterų fizinio pajėgumo savybėms.

Genotipo-fenotipo analizės metu nustatyta, kad ištvermės sporto grupėje G/A genotipą turintys sportininkai pasižymėjo didžiausiais VRSG rodiklio įverčiais, o A/A genotipo sportininkai turėjo mažiausią VRSG. Šie rezultatai sutampa su Ginevičienės ir kitų 2013 metais mokslinėje konferencijoje pristatyto tyrimo rezultatais, kuriuose nustatyta, kad G/G ir G/A genotipą turintys greičio ir jėgos grupės sportininkai pasižymėjo didesniais anaerobinio pajėgumo rodiklio įverčiais nei A/A genotipo greitį ir jėgą lavinantys sportininkai [112]. Atlikta daugialypė tiesinė regresinė analizė parodė, kad didelę įtaką VRSG rodikliui turi G/A genotipas ($p=0,049$), mix sporto grupės specializacija ($p=0,038$), greičio ir jėgos sporto specializacija ($p=4,26 \times 10^{-13}$) ($\bar{R}^2=0,48$). AARG analizuoti naudotas regresijos modelis parodė, kad kuo didesnio ūgio sportininkai, tuo didesnis jų AARG. Taip pat nustatyta sporto specializacijos įtaka nulemiant AARG ($p=1,64 \times 10^{-7}$) ($\bar{R}^2=0,39$). Regresijos modelis, sukurtas analizuoti MDS, neatskleidė *MB c.174G>A* genotipų reikšmingumo prognozuojant didesnę aerobinę pajėgumą (MDS įvertį), tačiau buvo pastebėta, kad didesnio ūgio sportininkai pasižymėjo didesniais rodiklio įverčiais ($p=0,01$). Taip pat pastebėta sporto šakos specializacijos įtaka MDS ($p=1,85 \times 10^{-11}$) ($\bar{R}^2=0,47$).

Remiantis mūsų tyrimo duomenimis, nustatyta, kad Lietuvos populiacija pagal *MB c.174G>A* polimorfizmo alelių dažnių pasiskirstymą reikšmingai nesiskiria nuo kitų pasaulio populiacijų, išskyrus Rytų Azijos populiaciją. Lietuvos populiacijoje A alelio dažnis yra 48,3%, o Rytų Azijos populiacijoje – 74,7%. Nustatyta, kad Rytų Azijos populiacija A alelio dažniu reikšmingai skiriasi ir nuo kitų populiacijų: pasaulio populiacijos (53,1%), Europos populiacijos (44,8%), Afrikos populiacijos (45,0%), Amerikos populiacijos (47,1%) ir Pietų Azijos populiacijos (54,5%). Šie rezultatai paremia Wu ir kitų atlikto tyrimo rezultatus, kuriame nustatyta, kad *MB c.174G>A* polimorfizmo A alelis Kinijos Han provincijos gyventojų tarpe yra žymiai dažnesnis nei baltaodžių, juodaodžių ar Ispanų kilmės etninėse grupėse, ir parodo Rytų Azijos populiacijos unikalumą *MB c.174G>A* polimorfizmo atžvilgiu [61].

Apibendrinant *MB c.174G>A* tyrimo rezultatus, galima teigti, jog G/A genotipas yra asocijuotas su greičio ir jėgos savybėmis, o šio polimorfizmo asociacija su ištvermės savybėmis tyrimo metu nenustatyta. Skirtingi genotipų dažniai tarp greičio ir jėgos vyrų ir moterų grupių parodo, kad *MB c.174G>A* polimorfizmo genotipai turi skirtingą poveikį abiejų lyčių greičio ir jėgos sportininkams.

4.5. *MSTN* geno c.458A>G (rs1805086) polimorfizmo tyrimo rezultatų aptarimas

MSTN yra stiprus genas kandidatas, turintis didelį potencialą suteikti informacijos apie žmogaus raumenų fenotipinę įvairovę. Šis genas koduoja miostatina, kuris yra raumenims specifinis baltymas, kontroliuojantis raumenų augimą. Keletas polimorfizmų ir mutacijų, sukeliančių įvairius funkcinis padarinius, buvo nustatyta *MSTN* geno sekoje. Vienas iš polimorfizmų yra c.458A>G (rs1805086), kuris yra nustatytas 2 *MSTN* geno egzone ir lemia lizino pokytį į arginą 153 amino rūgščių pozicijoje [113]. Dėl svarbios funkcijos įtakojant miostatino aktyvumą, šis polimorfizmas buvo pasirinktas ištyrimui.

Pagal *MSTN* c.458A>G polimorfizmą iširti 150 Lietuvos didelio meistriškumo sportininkai bei 149 profesionaliai nesportuojantys Lietuvos populiacijos asmenys. Kadangi tai retas polimorfizmas ir mažai tyrimo dalyvių turėjo polimorfinius alelius, daugelyje grupių genotipų dažnių nebuvo galima įvertinti pagal H-V dėsnį. Tyrime tik vienas sportininkas turėjo homozigotinį pagal polimorfinį alelį G/G genotipą ir tik du sportininkai turėjo heterozigotinį A/G genotipą, todėl nebuvo galima vertinti genotipų ir alelių dažnių skirtumų tarp sportininkų ir kontrolės grupių. Taip pat, dėl tos pačios priežasties, nebuvo galima atlikti daugialypės tiesinės regresinės analizės.

Mūsų tyrimo metu nustatyta, kad didžiausią DPSJ ir AARG rodiklį turi A/G genotipo sportininkai, didžiausią MDS turi G/G genotipo sportininkas, o didesniais KPSJ ir VRSG rodikliais pasižymi A/A genotipo sportininkai. Literatūros šaltinių analizė parodė, kad nėra atlikta tyrimų, kuriuose būtų analizuota fenotipinių rodiklių priklausomybė nuo *MSTN* c.458A>G polimorfizmo genotipų elitinių sportininkų grupėse. Tačiau yra atlikta tokio pobūdžio tyrimų nesportuojančių asmenų grupėse. Mūsų tyrimo metu gauti rezultatai yra panašūs į Santiago ir kitų atlikto tyrimo rezultatus, kuriuose jauni nesportuojantys ispanų tautybės A/G genotipą turintys vyrai, vertikalaus šuolio teste (kuris naudojamas įvertinti VRSG rodiklį) parodė prastesnius rezultatus nei A/A genotipo vyrai, o sprinto rungtyje skirtumų tarp genotipų grupių nebuvo nustatyta. Autoriai padarė prielaidą, kad mažesnis A/G genotipo sportininkų šoklumas yra nulemtas didesnio sausgyslių standumo, kadangi iš pelių modelių tyrimų žinoma, kad miostatino stokojančiose pelėse sausgyslių standumas yra 14 kartų didesnis nei turinčiose funkcionalų miostatina [79]. Li ir kiti 2014 metais publikuotame tyrime nesportuojančių asmenų grupėje ištyrė, kaip jėgos treniruotės daro įtaką raumenų hipertrofijai skirtingo *MSTN* c.458A>G polimorfizmo genotipo asmenims. Tyrimo metu išaiškėjo, jog A/G genotipo asmenys treniruočių metu daugiau padidino raumenų masę nei A/A genotipo asmenys [114]. Tai patvirtina mūsų tyrimo rezultatus, nes nustatyta, kad didžiausią raumenų masę turėjo A/G genotipo sportininkai, o mažiausią A/A genotipo sportininkai. Taip pat Kostek ir kiti 2009 metais publikuotame tyrime nustatė didesnę

MSTN c.458A>G polimorfizmo įtaką afroamerikiečiams nei kitų etninių grupių atstovams. Tyrimo metu autoriai nustatė, kad G/G ir A/G genotipo afroamerikiečiai turėjo didesnius raumenų jėgos rodiklius nei A/A genotipo afroamerikiečiai [115].

MSTN c.458A>G polimorfizmo tyrimai neapsiriboja fenotipinėmis pasėkmėmis raumenims. Garatachea ir kiti 2013 metais publikuotame tyrime nustatė, kad G alelis buvo žymiai dažnesnis šimtamečių ispanų grupėje (7,1%) nei kontrolinėje asmenų grupėje, kurių amžius buvo iki 50 metų (2,7%). Šie tyrimo rezultatai buvo nepriklausomai atkartoti ilgaamžių italų grupėje, kurioje G alelio dažnis (7,6%) buvo daugiau nei dvigubai didesnis nei kontrolinėje grupėje (3,0%). Šie tyrimo rezultatai parodo, kad *MSTN* c.458A>G polimorfizmas gali būti svarbus žmonių ilgaamžiškumui [65]. Tačiau Fuku ir kiti 2016 metais publikuotame tyrime nenustatė asociacijos tarp *MSTN* c.458A>G polimorfizmo ir ilgaamžiškumo japonų populiacijoje [116]. Tai parodo, jog galbūt *MSTN* c.458A>G polimorfizmas turi skirtingą poveikį skirtingų populiacijų atstovams. Taip pat nustatyta *MSTN* c.458A>G polimorfizmo asociacija su didesne sveikatos problemų rizika. Bhatt ir kiti 2012 publikuotame tyrime nustatė asociaciją tarp *MSTN* c.458A>G polimorfizmo G/G genotipo ir didesnės nutukimo rizikos [117]. Saunders ir kiti nustatė, jog *MSTN* c.458A>G polimorfizmas atsirado maždaug prieš 10 000 metų ir padarė prielaidą, kad polimorfizmas nebuvo pašalintas evoliucinių procesų dėl adaptacinio poveikio, kuris pasireiškė apsauginiu poveikiu raumenims nuo bado sukeltos žalos [118]. Atsižvelgiant į Afrikos žemyno sausringumą, tikėtina, kad *MSTN* c.458A>G polimorfizmo kilmė slypi Afrikos populiacijose. Šį teiginį paremia 1000 genomų projekto duomenų analizė, kurios metu nustatyta, kad Afrikos populiacijoje retojo G alelio dažnis (21,9%) yra reikšmingai dažnesnis nei kitose pasaulio populiacijose. Mūsų tyrimo duomenimis, Lietuvos populiacijoje G alelio dažnis (0,3%) yra panašiausias į Rytų ir Pietų Azijos populiacijų šio alelio dažnį (0,1%). Kitose populiacijose nustatytas skirtingas G alelio dažnis: pasaulio populiacijoje (7,1%), Europos populiacijoje (2,9%), Amerikos populiacijoje (5,0%).

MSTN c.458A>G polimorfizmo tyrimo galimybės buvo apribotos retu G alelio dažniu tiriamųjų grupėje. Nepaisant to, buvo pastebėta, kad *MSTN* c.458A>G polimorfizmo G alelis turi didelį potencialą nulemti didesnę raumenų masę ir jėgą. Literatūros šaltinių analizė parodė, kad šis polimorfizmas gali būti svarbus veiksnys ne tik sportininkų pajėgumui, bet ir bendros populiacijos sveikatai ir ilgaamžiškumui. Tai lemia didelę šio polimorfizmo tyrimų svarbą, tačiau siekiant plačiau ištirti šį genetinį žymenį, reikėtų didesnės tiriamųjų grupės nei, kad buvo naudojama šiame tyrime. Atsižvelgiant į mažą *MSTN* c.458A>G polimorfizmo G alelio dažnį Lietuvos populiacijoje ir tai, kad tarp elitinių Lietuvos sportininkų tik vienas asmuo turi G/G genotipą, išsamiai ištirti šio polimorfizmo įtaką Lietuvos didelio meistriškumo sportininkams yra itin sudėtinga.

4.6. *MPRIP* geno c.219+14693G>A (rs6502557) polimorfizmo tyrimo rezultatų aptarimas

MPRIP genas koduoja miozino fosfatazės–Rho sujungiantį baltymą, kuris yra svarbus lygiųjų raumenų susitraukimui. Vienas iš būdų kaip lygieji raumenys gali daryti įtaką sportininkų fiziniui pajėgumui yra dinamiškas kraujotakos reguliavimas, aprūpinant raumenis reikalingais substratais ir pašalinant iš jų pašalinius medžiagų apykaitos produktus. Egorova ir kiti, 2015 metais atlikę plataus masto genomo asociacijos analizę, nustatė *MPRIP* geno introne esančio VNP (c.219+14693G>A, rs6502557) A alelio asociaciją su greičio ir jėgos savybėmis [84]. Mūsų tyrimo tikslas buvo patikrinti šią asociaciją Lietuvos didelio meistriškumo sportininkų grupėje.

MPRIP c.219+14693G>A polimorfizmo analizei buvo genotipuota 150 Lietuvos didelio meistriškumo sportininkų ir 257 kontrolinės nesportuojančių Lietuvos populiacijos asmenų DNR mėginių. Nustatyta, kad visose tiriamose grupėse genotipų dažniai statistiškai reikšmingai nesiskyrė nuo numatytų pagal H-V dėsnį. Atlikus atvejo-kontrolės analizę, nustatyti reikšmingi skirtumai tarp bendros sportininkų grupės ir kontrolinės grupės. Sportininkų grupėje buvo nustatytas mažesnis G/G genotipo dažnis ir didesni G/A ir A/A genotipų dažniai (bendra sportininkų grupė: G/G – 60,0%, G/A – 35,3%, A/A – 4,7%; kontrolinė grupė: G/G – 71,6%, G/A – 26,5%, A/A – 1,9%, $p=0,03$). Taip pat nustatyti alelių dažnių skirtumai tarp sportininkų ir kontrolinės grupių, kuomet bendroje sportininkų grupėje buvo dažnesnis A alelis (bendra sportininkų grupė: G – 77,7%, A – 22,3%; kontrolinė grupė: G – 84,8%, A – 15,2%, $p=0,01$). Išanalizavus sporto grupes, buvo nustatytas reikšmingas alelių dažnių skirtumas tarp ištvermės grupės sportininkų ir kontrolinės grupės asmenų, kuomet ištvermės sportininkai dažniau turėjo A alelį (ištvermės grupės sportininkai: G – 77,0%, A – 23,0%; kontrolinės grupės asmenys: G – 84,8%, A – 15,2%, $p=0,03$).

Atlikus genotipo-fenotipo asociacijos analizę, nustatyti reikšmingi MDS rodiklio skirtumai bendroje sportininkų vyrų grupėje, kuomet didžiausią MDS turėjo G/A genotipo sportininkai, o mažiausią A/A genotipo sportininkai. Išanalizavus sporto grupes, suskirstytas pagal lytį, buvo nustatytas greičio ir jėgos sportininkų vyrų VRSG rodiklio skirtumas tarp genotipų grupių, kuomet G/A genotipo sportininkai vyrai turėjo didžiausius VRSG rodiklius, o A/A genotipo sportininkai turėjo mažiausius VRSG rodiklio vertes. Buvo nustatyti MDS rodiklio skirtumai greičio ir jėgos vyrų grupėje, kuomet didžiausius MDS rodiklius turėjo G/A genotipo sportininkai, o mažiausius A/A genotipo sportininkai. Tyrimo metu atlikta daugialypė tiesinė regresinė analizė parodė, kad VRSG rodikliui didelę įtaką turi G/A ($p=0,04$) ir G/G ($p=0,04$) genotipai. Taip pat nustatyta neigiama riebalų masės įtaka VRSG rodikliui ($p=0,03$) ir sporto specializacijos įtaka ($p=2,41 \times 10^{-13}$) ($\bar{R}^2=0,48$). Tuo tarpu MDS analizuoti sudarytas regresijos modelis neparodė reikšmingos *MPRIP* c.219+14693G>A polimorfizmo genotipų įtakos MDS, tačiau parodė, kad aukštesni

sportininkai turėjo didesnę MDS ($p=0,01$) ir parodė sporto specializacijos įtaką ($p=4,8 \times 10^{-12}$) ($\bar{R}^2=0,48$).

Darbo metu buvo nustatyta, kad Lietuvos populiacijoje *MPRIP* c.219+14693G>A retojo A alelio dažnis (15,2%) yra itin artimas pasaulio populiacijai (14,6%) ir Amerikos populiacijai (13,8%). Taip pat A alelio dažniu Lietuvos populiaciją panaši į Europos populiaciją (18,9%) ir Afrikos populiaciją (18,0%). Reikšmingai alelių dažniu nuo Lietuvos populiacijos skiriasi Rytų Azijos populiacija (9,9%) ir Pietų Azijos populiacija (10,7%).

Atsižvelgiant į tyrimo rezultatus, galime teigti, jog Egorovos ir kitų 2015 metais publikuoto tyrimo metu nustatyta asociacija tarp *MPRIP* c.219+14693G>A polimorfizmo A alelio ir greičio ir jėgos savybių, šio tyrimo metu nebuvo atkartota [84]. Daugiau tyrimų, kuriuose būtų analizuojamas *MPRIP* c.219+14693G>A polimorfizmas nėra atlikta, todėl neįmanoma palyginti šiame darbe gautų rezultatų su kitų autorių atliktais tyrimais. Tyrimo metu atvejo-kontrolės analizės ir genotipo-fenotipo analizės rezultatai buvo prieštaringi. Atvejo-kontrolės analizės metu, tarp sportininkų A alelis buvo nustatomas dažniau nei kontrolinėje grupėje. Tai leidžia daryti prielaidą, kad Lietuvos didelio meistriškumo sportininkų grupėje A alelis susijęs su fiziniu pajėgumu (ypatingai su išverme). Tačiau gauti genotipo-fenotipo ir daugialypės tiesinės regresinės analizės rezultatai parodė, kad A alelis buvo susijęs su mažesnėmis fenotipinių rodiklių vertėmis. Mūsų tyrimo metu nustatyta *MPRIP* c.219+14693G>A polimorfizmo G/A ir G/G genotipų asociacija su geresniais raumenų pajėgumo rodikliais dirbant anaerobinio pobūdžio fizinį darbą.

Apibendrinus darbo rezultatus, galima teigti, kad fizinis pajėgumas yra daugiaveiksni savybė, apsprendžiama aplinkos veiksnių ir daugelio genų, bei jų tarpusavio sąveikos. Mūsų tyrimo rezultatai patvirtina faktą, kad genetiniai veiksniai daugiau įtakos turi sportininkų greičio ir jėgos savybėms nei išvermės savybėms, tačiau išsamiam genetinių veiksnių įtakos sportininkų fenotipui ištyrimui reikalingi tolesni tyrimai. Genetiniai, su fiziniu pajėgumu susijusių genų, asociacijos tyrimai svarbūs, nes žinios apie žmogaus genomą ir vis didėjantis genų, susijusių su fiziniu pajėgumo fenotipais, repertuaras leis sukauptas žinias panaudoti ne tik sporto, bet ir visuomenės sveikatinimo tikslais, ar net ieškant naujų terapinių galimybių.

IŠVADOS

1. Atlikus mokslinių publikacijų ir duomenų bazių analizę, tyrimui parinkti genų, įtakojančių raumenų adaptaciją prie fizinių krūvių, VNP:
 - *CKM* (kreatinkinazės raumenų subvieneto genas), XM_005258497.1:c.*800A>G (rs8111989),

- *AMPDI* (raumenims specifinės adenoizino monofosfato deaminazės genas), NM_000036.2:c.34C>T (NP_000027.2:p.Gln45Ter, rs17602729),
 - *MB* (mioglobino genas), NM_005368.2:c.174G>A (NP_005359.1:p.Ala58=, rs7293),
 - *MSTN* (miostatino genas), NM_005259.2:c.458A>G (NP_005250.1:p.Lys153Arg, rs1805086),
 - *MPRIP* (miozino fosfatazės-Rho sujungiančio baltymo genas), XM_005256563.1:c.219+14693G>A, (rs6502557).
2. Darbo metu parinkti molekuliniai genetiniai tyrimo metodai ir optimizuotos jų sąlygos:
- Restrikcijos fragmentų ilgio polimorfizmo tyrimas *AMPDI* (c.34C>T, rs17602729) ir *MB* (c.174G>A, rs7293) polimorfizmams,
 - Tikro laiko polimerazės grandininė reakcija *CKM* (c.*800A>G, rs8111989), *MSTN* (c.458A>G, rs1805086) ir *MPRIP* (c.219+14693G>A, rs6502557) polimorfizmų tyrimui.
3. Atlikus pasirinktų genų variantų genotipavimą ir gautų duomenų tyrimui pritaikius atvejo-kontrolės ir genotipo-fenotipo asociacijų analizės metodus, nustatyta:
- *CKM* c.*800A>G polimorfizmo A alelis yra asocijuotas su Lietuvos aukšto meistriškumo sportininkų greičio ir jėgos savybėmis, o aerobiniam sportininkų pajėgumui, mūsų tyrimo duomenimis, reikšmingos įtakos *CKM* c.*800A>G polimorfizmas neturi.
 - *AMPDI* c.133C>T polimorfizmo asociacija su fizinio pajėgumo savybėmis Lietuvos aukšto meistriškumo sportininkų grupėje nebuvo nustatyta, tačiau C alelis turi didesnę reikšmę moterų aerobiniam pajėgumui nei greičiui ir jėgai.
 - *MB* c.174G>A polimorfizmo A alelis susijęs su vyrų greičio ir jėgos savybėmis, G/A genotipo Lietuvos aukšto meistriškumo sportininkai pasižymi geresniais raumenų pajėgumo rodikliais atliekant anaerobinio pobūdžio fizinį darbą.
 - *MSTN* c.458A>G polimorfizmo tyrimo galimybės buvo apribotos retu G alelio dažniu tiriamųjų grupėje (tik du Lietuvos aukšto meistriškumo sportininkai buvo heterozigotiniai ir tik vienas sportininkas buvo homozigotinis pagal G alelį). Nepaisant to, buvo pastebėta, kad *MSTN* c.458A>G polimorfizmo G alelis turi didelį potencialą lemti didesnę raumenų masę ir jėgą.
 - *MPRIP* c.219+14693G>A polimorfizmo A alelis susijęs su ištvermes savybėmis, o G/A ir G/G genotipo sportininkai pasižymi geresniais raumenų pajėgumo rodikliais atliekant anaerobinio pobūdžio fizinius krūvius.

SANTRAUKA

Genų variantų, lemiančių žmogaus raumenų adaptaciją prie fizinių krūvių, analizė

Fizinio krūvio sukelti hemodinaminiai pokyčiai bei hormoninis fonas yra stiprūs dirgikliai daugeliui organų sistemų. Sporto varžybų ir treniruočių metu judėjimo funkciją užtikrinantiems griaučių raumenims tenka dideli krūviai. Tačiau jie pasižymi dideliu plastiškumu, kurį atspindi struktūros persitvarkymo galimybės ir fermentinių sistemų gebėjimas užtikrinti efektyvią organizmo homeostazę fizinės apkrovos metu. Minėti procesai priklauso nuo daugelio genų, kurių raiška kinta fizinio krūvio metu, darnios veiklos. Šių genų sekose nustatyti VNP laikomi vieni iš potencialiausių fizinio pajėgumo genetinių žymenų. Šiame darbe tyrimui parinkti genų, įtakančių raumenų adaptaciją prie fizinių krūvių, sekose nustatyti VNP: kreatinkinazės raumenų subvieneto geno (*CKM*) polimorfizmas (c.*800A>G, rs8111989), raumenims specifinės adenzino monofosfato deaminazės geno (*AMPDI*) polimorfizmas (c.34C>T, rs17602729), mioglobino geno (*MB*) polimorfizmas (c.174G>A, rs7293), miostatino geno (*MSTN*) polimorfizmas (c.458A>G, rs1805086) ir miozino fosfatazės–Rho sujungiančio baltymo geno (*MPRIP*) polimorfizmas (c.219+14693G>A, rs6502557). *CKM* ir *AMPDI* genų produktai raumenų ląstelėse palaiko ATF homeostazę. *MB* geno koduojamas mioglobinas atlieka viduląstelinio deguonies rezervo ir transporto vaidmenį. *MSTN* genas koduoja miostatina, kuris neigiamai reguliuoja raumenų augimą. *MPRIP* geno produktas – miozino fosfatazės–Rho sujungiantis baltymas, yra svarbus lygiųjų raumenų susitraukimo kontrolėje.

Pagrindinis tyrimo tikslas buvo iširti pasirinktų genetinių žymenų įtaką Lietuvos didelio meistriškumo sportininkų fizinio pajėgumo savybėms. Tyrimui naudoti 150 Lietuvos didelio meistriškumo sportininkų (60 moterų ir 90 vyrų, vidutinis amžius 28,6±6,9 metai) DNR mėginiai ir 257 profesionaliai nesportuojančių negiminingų asmenų (66 moterys ir 191 vyras, vidutinis amžius 32,5±6,9 metai) DNR mėginiai. Taip pat buvo gauti 109 sportininkų (73 vyrų ir 36 moterų) fenotipinių rodiklių duomenys (ūgis, svoris, kūno masės indeksas, riebalų masė, raumenų masė, abiejų plaštakų suspaudimo jėga, vienkartinis raumenų susitraukimo galingumas, anaerobinis alaktatinis raumenų galingumas, maksimalus deguonies suvartojimas). Sportininkai pagal sporto šakų specifiką buvo suskirstyti į 3 grupes: 1) aerobinės ištvėmės reikalaujančios sporto šakos; 2) anaerobinio pajėgumo reikalaujančios sporto šakos; 3) „mix“ grupė – aerobinio ir anaerobinio pajėgumo sporto šakos. Taikant restrikcijos fragmentų ilgio polimorfizmų analizės metodą, nustatyti tiriamųjų asmenų genotipai pagal *AMPDI* c.34C>T ir *MB* c.174G>A polimorfizmus. Tuo tarpu *CKM* c.*800A>G, *MSTN* c.458A>G ir *MPRIP* c.219+14693G>A polimorfizmų genotipavimui buvo naudota tikro laiko polimerazės grandininė reakcija.

Atlikus pasirinktų polimorfizmų alelių ir genotipų dažnių pasiskirstymo analizę tiriamųjų grupėse (sportininkų ir kontrolinės grupės asmenų) ir išanalizavus fenotipinių rodiklių vertes tarp tiriamų polimorfizmų genotipų grupių, gauti šie rezultatai: 1) Nustatyta *CKM* c.*800A>G polimorfizmo A alelio asociacija su Lietuvos aukšto meistriškumo sportininkų greičio ir jėgos savybėmis; 2) *AMPD1* c.133C>T polimorfizmo asociacija su fizinio pajėgumo savybėmis Lietuvos aukšto meistriškumo sportininkų grupėje nebuvo nustatyta, tačiau C alelis turi didesnę reikšmę moterų aerobiniam pajėgumui nei greičiui ir jėgai.; 3) Nustatyta *MB* c.174G>A polimorfizmo A alelio sąsaja su vyrų greičio ir jėgos savybėmis, o G/A genotipo sportininkai pasižymi geresniais anaerobinio pajėgumo rodikliais; 4) *MSTN* c.458A>G polimorfizmas nebuvo išsamiai ištirtas dėl reto G alelio dažnio tiriamųjų grupėse; 5) Nustatyta, kad *MPRIP* c.219+14693G>A polimorfizmo A alelis susijęs su ištvėrmės savybėmis, o G/A ir G/G genotipų sportininkai pasižymi geresniais anaerobinio pajėgumo rodikliais.

SUMMARY

Analysis of Gene Variants Determining Human Muscle Adaptation to Physical Exertion

Haemodynamic changes and hormonal milieu caused by physical exertion are strong stimuli for many organ systems. During sports competition and physical training, skeletal muscle, which ensures ability to move, are subjected to high workloads. However, they are characterized by high plasticity, which is reflected in the structural remodeling capabilities and enzyme systems ability to ensure effective body homeostasis during physical load. These processes depend on a coherent activity of many genes, whose expression is influenced during exercise. Single nucleotide polymorphisms, identified in the sequences of those genes, are considered one of the most promising genetic markers of physical capacity. In this study, we selected to investigate single nucleotide polymorphisms, which are located in the genes that affect muscle adaptation to physical loads: creatine kinase muscle subunit gene (*CKM*) polymorphism (c.*800A>G, rs8111989), muscle specific adenosine monophosphate deaminase gene (*AMPD1*) polymorphism (c.34C>T, rs17602729), myoglobin gene (*MB*) polymorphism (c.174G>A, rs7293), myostatin gene (*MSTN*) polymorphism (c.458A>G, rs1805086) and myosin phosphatase-Rho interacting protein gene (*MPRIP*) polymorphism (c.219+14693G>A, rs6502557). The products of *CKM* and *AMPD1* genes take part in ATP homeostasis in muscle cells. Myoglobin, which is the product of *MB* gene, has two roles: intracellular oxygen transportation and formation of intracellular oxygen reserve. *MSTN* gene codes myostatin, which is a negative regulator of muscle growth. *MPRIP* gene product

– myosin phosphatase Rho interacting protein. It is an important regulator of smooth muscle contractility.

The aim of the study was to investigate the influence of selected genetic markers on the physical capacity properties of Lithuanian elite athletes. The study was conducted using 150 DNA samples of Lithuanian elite athletes (60 female and 90 male, mean age 28.6 ± 6.9) and 257 DNA samples of healthy, unrelated, not engaged in professional sports controls (66 female and 191 male, mean age 32.5 ± 6.9). We also obtained various phenotypic indices (height, weight, body mass index, fat mass, muscle mass, both hand grip strength, short-term explosive muscle power, anaerobic alactic muscle power, maximal oxygen uptake) from the 109 investigated athletes (36 female and 73 male). Next, the whole athlete group was divided into 3 groups according to the specificity of sport: 1) aerobic capacity demanding sports group; 2) anaerobic capacity demanding sports group; 3) „mix“ group – sports group, which values aerobic and anaerobic capacity uniformly. Genotyping of *AMPD1* c.34C>T and *MB* c.174G>A polymorphisms was performed by restriction fragment length polymorphism analysis method. Whereas, in the case of *CKM* c.*800A>G, *MSTN* c.458A>G and *MPRIP* c.219+14693G>A polymorphisms, genotypes were identified using real-time polymerase chain reaction.

After performing statistical analysis of the distribution of allele and genotype frequencies by all investigated polymorphisms in the study groups (athletes and controls) and upon completing the comparison of phenotypic indices values between investigated polymorphisms genotype groups, we got the following results: 1) we determined *CKM* c.*800A>G polymorphism A allele association with speed and strength properties in Lithuanian elite athletes; 2) we did not find *AMPD1* c.133C>T polymorphism to be associated with any of the physical capacity property in Lithuanian elite athletes, but the C allele had more influence for female aerobic capacity than speed and strength properties; 3) we determined that *MB* c.174G>A polymorphism A allele is linked with male speed and strength properties and that athletes with G/A genotype have better anaerobic power capacity; 4) we were unable to thoroughly investigate *MSTN* c.458A>G polymorphism due to small G allele frequency in the studied groups; 5) we determined that *MPRIP* c.219+14693G>A polymorphism A allele is linked with endurance properties, whereas athletes with G/A and G/G genotypes have better characteristics of anaerobic power.

LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. BOUCHARD, C., ir HOFFMAN, E. P. *Genetic and Molecular Aspects of Sport Performance*. West Sussex, UK: Blackwell Publishing Ltd, 2011 [žiūrėta 2017 m. kovo 9 d.], ISBN 9781444334456.
2. SCHOENFELDER, M. Genetics-based performance talent research: polymorphisms as predictors of endurance performance. In *Journal of Applied Physiology (1985)* [interaktyvus]. 2010, vol. 108, no. 6 [žiūrėta 2017 m. kovo 11 d.], p. 1454-1455.
3. GUILHERME, J.P.L.F., *et al.* Genetics and sport performance: current challenges and directions to the future. In *Revista Brasileira de Educação Física e Esporte* [interaktyvus]. 2014, vol. 28, no. 1 [žiūrėta 2017 m. kovo 11 d.], p. 177-193.
4. AHMETOV, I.I., *et al.* Genes and Athletic Performance: An Update. In *Medicine and Sport Science* [interaktyvus]. 2016, vol. 61, no. 41-54 [žiūrėta 2017 m. kovo 12 d.].
5. GINEVIČIENĖ, V. Žmogaus organizmas – sudėtinga biologinė sistema. In *Treneris* [interaktyvus]. 2013, no. 3-4 [žiūrėta 2017 m. kovo 12 d.], p. 19-27.
6. KUKLYS, V., ir BLAUZDYS, V. *Kūno kultūros teorijos ir metodikos terminai bei sąvokos: Mokymo priemonė kūno kultūros specialybės studentams*. Vilnius: VPU leidykla, 2000 [žiūrėta 2017 m. kovo 12 d.], ISBN 9986-869-52-8.
7. WARBURTON, D.E., NICOL, C.W., ir BREDIN, S.S. Health benefits of physical activity: the evidence. In *Canadian Medical Association Journal* [interaktyvus]. 2006, vol. 174, no. 6 [žiūrėta 2017 m. kovo 12 d.], p. 801-809.
8. VAN BEEK, J.H., *et al.* Simulating the physiology of athletes during endurance sports events: modelling human energy conversion and metabolism. In *Philosophical Transactions of The Royal Society A Mathematical Physical and Engineering Sciences* [interaktyvus]. 2011, vol. 369, no. 1954 [žiūrėta 2017 m. kovo 13 d.], p. 4295-4315.
9. GUTH, L.M., ir ROTH, S.M. Genetic influence on athletic performance. In *Current Opinion in Pediatrics* [interaktyvus]. 2013, vol. 25, no. 6 [žiūrėta 2017 m. kovo 13 d.], p. 653-658.
10. HEINONEN, I., *et al.* Organ-specific physiological responses to acute physical exercise and long-term training in humans. In *Physiology (Bethesda)* [interaktyvus]. 2014, vol. 29, no. 6 [žiūrėta 2017 m. kovo 13 d.], p. 421-436.
11. EGAN, B., ir ZIERATH, J.R. Exercise metabolism and the molecular regulation of skeletal muscle adaptation. In *Cell Metabolism* [interaktyvus]. 2013, vol. 17, no. 2 [žiūrėta 2017 m. kovo 13 d.], p. 162-184.
12. EYNON, N., *et al.* Genes and elite athletes: a roadmap for future research. In *The Journal of Physiology* [interaktyvus]. 2011, vol. 589, no. 13 [žiūrėta 2017 m. kovo 14 d.], p. 3063-3070.

13. LEMEZ, S., ir BAKER, J. Do Elite Athletes Live Longer? A Systematic Review of Mortality and Longevity in Elite Athletes. In *Sports Medicine – Open* [interaktyvus]. 2015, vol. 1, no. 1 [žiūrėta 2017 m. kovo 14 d.], p. 16.
14. OSTRANDER, E.A., HUSON, H.J., ir OSTRANDER, G.K. Genetics of Athletic Performance. In *Annual Review of Genomics and Human Genetics* [interaktyvus]. 2009, vol. 10 [žiūrėta 2017 m. kovo 15 d.], p. 407-429.
15. MRÓWCZYŃSKI, W., ir ŁOCHYŃSKI, D. Physiological adaptations of motor units to endurance and strength training. In *TRENDS in Sport Sciences* [interaktyvus]. 2014, vol. 3, no. 21 [žiūrėta 2017 m. kovo 16 d.], p. 129-134.
16. VOLBEKIENE, V. *Eurofitas. Fizinio pajėgumo testai ir metodika, Lietuvos studentų fizinio pajėgumo rezultatai: Metodikos knyga sporto specialistams, pedagogams, medicinos darbuotojams, sportuotojams. 2-asis pataisytas ir papildytas leidimas.* Vilnius: Lietuvos sporto informacijos centras, 2003 [žiūrėta 2017 m. kovo 16 d.], ISBN 9986-575-61-7.
17. ABERNETHY, B., et al. *Biophysical Foundations of Human Movement-3rd Edition.* Stanningley: Human Kinetics, 2013 [žiūrėta 2017 m. kovo 16 d.], SBN-13: 9781450431651.
18. GINEVIČIENĖ, V. Griaučių raumenų adaptacija prie fizinių krūvių. Genetiniai ypatumai. In *Treneris* [interaktyvus]. 2013, no. 1-2 [žiūrėta 2017 m. kovo 16 d.], p. 17-26.
19. BRUMITT, J., ir CUDDEFORD, T. Current concepts of muscle and tendon adaptation to strength and conditioning. In *International Journal of Sports Physical Therapy* [interaktyvus]. 2015, vol. 10, no. 6 [žiūrėta 2017 m. kovo 16 d.], p. 748-759.
20. SKURVYDAS, A. *Judesių mokslas: raumenys, valdymas, mokymas, reabilitavimas, sveikatinimas, treniravimas, metodologija.* Kaunas, Lietuvos sporto universitetas, 2010 [žiūrėta 2017 m. kovo 16 d.], ISBN 978-9955-622-80-2.
21. LIAO, K.H. Optimal Handle Grip Span for Maximum Hand Grip Strength and Accurate Grip Control Strength Exertion According to Individual Hand Size. In *Journal of Osteoporosis and Physical Activity* [interaktyvus]. 2016, vol. 4, no. 2 [žiūrėta 2017 m. kovo 17 d.].
22. MILAŠIUS, K. *Sporto fiziologijos tyrimų metodologija: Mokomoji knygakūno kultūros ir sporto magistro studijoms.* Vilnius: Lietuvos edukologijos universiteto leidykla, 2014 [žiūrėta 2017 m. kovo 17 d.], ISBN 978-9955-20-956-0.
23. Andreato, L.V., et al. Physical and Physiological Profiles of Brazilian Jiu-Jitsu Athletes: a Systematic Review. In *Sports Medicine – Open* [interaktyvus]. 2017, vol. 3, no. 1 [žiūrėta 2017 m. kovo 17 d.], p. 9.
24. PITSILADIS, Y., et al. Genomics of elite sporting performance: what little we know and necessary advances. In *British Journal of Sports Medicine* [interaktyvus]. 2013, vol. 47, no. 9 [žiūrėta 2017 m. kovo 17 d.], p. 550-555.

25. KOMI, P.V., KLISSOURAS, V., ir KARVINEN, E. Genetic variation in neuromuscular performance. In *Internationale Zeitschrift Fur Angewandte Physiologie* [interaktyvus]. 1973, vol. 31, no. 4 [žiūrėta 2017 m. kovo 17 d.], p. 289-304.
26. GINEVIČIENĖ, V., *et al.* Association analysis of ACE, ACTN3 and PPARGC1A gene polymorphisms in two cohorts of European strength and power athletes. In *Biology of Sport* [interaktyvus]. 2016, vol. 33, no. 3 [žiūrėta 2017 m. kovo 17 d.], p. 199-206.
27. MACARTHUR, D.G., ir NORTH, K.N. Genes and human elite athletic performance. In *Human Genetics* [interaktyvus]. 2005, vol. 116, no. 5 [žiūrėta 2017 m. kovo 18 d.], p. 331-339.
28. LEWIS, C.M., ir KNIGHT, J. Introduction to genetic association studies. In *Cold Spring Harbor Protocols* [interaktyvus]. 2012, vol. 2012, no. 3 [žiūrėta 2017 m. kovo 18 d.], p. 297-306.
29. LEONSKA-DUNIEC, A. Genetic research in modern sport. In *Central European Journal of Sport Sciences and Medicine* [interaktyvus]. 2013, vol. 3, no. 3 [žiūrėta 2017 m. kovo 18 d.], p. 19–26.
30. DICK, D.M., LATENDRESSE, S.J., ir RILEY, B. Incorporating genetics into your studies: a guide for social scientists. In *Front Psychiatry* [interaktyvus]. 2011, vol. 2, no. 17 [žiūrėta 2017 m. kovo 19 d.].
31. CORDELL, H.J., ir CLAYTON, D.G. Genetic association studies. In *The Lancet* [interaktyvus]. 2005, vol. 366, no. 9491 [žiūrėta 2017 m. kovo 19 d.], p. 1121-1131.
32. CARRIER, G., *et al.* Selection of candidate genes for grape proanthocyanidin pathway by an integrative approach. In *Plant Physiology and Biochemistry* [interaktyvus]. 2013, vol. 72 [žiūrėta 2017 m. kovo 19 d.], p. 87-95.
33. JORGENSEN, T.J., *et al.* Hypothesis-driven candidate gene association studies: practical design and analytical considerations. In *American Journal of Epidemiology* [interaktyvus]. 2009, vol. 170, no. 8 [žiūrėta 2017 m. kovo 19 d.], p. 986-993.
34. TABOR, H.K., Risch, N.J., ir Myers, R.M. Candidate-gene approaches for studying complex genetic traits: practical considerations. In *Nature Reviews Genetics* [interaktyvus]. 2002, vol. 3, no. 5 [žiūrėta 2017 m. kovo 20 d.], p. 391-397.
35. MARIAN, A.J. Molecular genetic studies of complex phenotypes. In *Translational Research* [interaktyvus]. 2012, vol. 159, no. 2 [žiūrėta 2017 m. kovo 21 d.], p. 64-79.
36. PONSUKSILI, S., *et al.* Discovery of candidate genes for muscle traits based on GWAS supported by eQTL-analysis. In *International Journal of Biological Sciences* [interaktyvus]. 2014, vol. 10, no. 3 [žiūrėta 2017 m. kovo 21 d.], 327-337.
37. AHMETOV, I.I., ir FEDOTOVSKAYA, O.N. Sports genomics: Current state of knowledge and future directions. In *Cellular and Molecular Exercise Physiology* [interaktyvus]. 2012, vol. 1, no. 1 [žiūrėta 2017 m. kovo 21 d.].

38. GREALY, R., *et al.* Evaluation of a 7-Gene Genetic Profile for Athletic Endurance Phenotype in Ironman Championship Triathletes. In *PLoS One* [interaktyvus]. 2015, vol. 10, no. 12 [žiūrėta 2017 m. kovo 22 d.].
39. ECHEGARAY, M., ir RIVERA, M.A. Role of creatine kinase isoenzymes on muscular and cardiorespiratory endurance: genetic and molecular evidence. In *Sports Medicine* [interaktyvus]. 2001, vol. 31, no. 13 [žiūrėta 2017 m. kovo 22 d.], p. 919-934.
40. FEDOTOVSKAYA, O.N., *et al.* Association of the muscle-specific creatine kinase (CKMM) gene polymorphism with physical performance of athletes. In *Fiziologija čeloveka* [interaktyvus]. 2012, vol. 38, no. 1 [žiūrėta 2017 m. kovo 23 d.], p. 105-109.
41. RIVERA, M.A., *et al.* Muscle-specific creatine kinase gene polymorphism and VO₂max in the HERITAGE Family Study. In *Medicine and science in sports and exercise Journal* [interaktyvus]. 1997, vol. 29, no. 10 [žiūrėta 2017 m. kovo 23 d.], p. 1311-1317.
42. RIVERA, M.A., *et al.* Linkage between a muscle-specific CK gene marker and VO₂max in the HERITAGE Family Study. In *Medicine and science in sports and exercise Journal* [interaktyvus]. 1999, vol. 31, no. 5 [žiūrėta 2017 m. kovo 24 d.], p. 698-701.
43. GINEVIČIENĖ, V., *et al.* AMPD1 rs17602729 is associated with physical performance of sprint and power in elite Lithuanian athletes. In *BMC Genetics* [interaktyvus]. 2014, vol. 15 [žiūrėta 2017 m. kovo 24 d.], p. 58.
44. HAYES, L.D., HOUSTON, F.E., ir BAKER, J. Genetic Predictors of Adenosine Monophosphate Deaminase Deficiency. In *Journal of Sports Medicine and Doping Studies* [interaktyvus]. 2013, vol. 3 [žiūrėta 2017 m. kovo 24 d.], p. 2.
45. DIAS, R.G., *et al.* Genetic polymorphisms determining of the physical performance in elite athletes. In *Revista Brasileira de Medicina do Esporte* [interaktyvus]. 2007, vol. 13 [žiūrėta 2017 m. kovo 25 d.], p. 3.
46. RUBIO, J.C., *et al.* Frequency of the C34T mutation of the AMPD1 gene in world-class endurance athletes: does this mutation impair performance? In *Journal of Applied Physiology (1985)* [interaktyvus]. 2005, vol. 98, no. 6 [žiūrėta 2017 m. kovo 25 d.], p. 2108-2112.
47. MORISAKI, T., SABINA, R.L., ir HOLMES, E.W. Adenylate deaminase. A multigene family in humans and rats. In *The Journal of Biological Chemistry* [interaktyvus]. 1990, vol. 265, no. 20 [žiūrėta 2017 m. kovo 25 d.], p. 11482-11486.
48. JINNAH, H.A., SABINA, R.L., ir VAN DEN BERGHE, G. Metabolic disorders of purine metabolism affecting the nervous system. In *Handbook of Clinical Neurology* [interaktyvus]. 2013, vol. 113 [žiūrėta 2017 m. balandžio 21 d.], p. 1827-1836.
49. HENNIS, P.J., *et al.* Genetic factors associated with exercise performance in atmospheric hypoxia. In *Sports Medicine* [interaktyvus]. 2015, vol. 45, no. 5 [žiūrėta 2017 m. kovo 27 d.], p. 745-761.

50. CHENG, J., *et al.* Effect of isolated AMP deaminase deficiency on skeletal muscle function. In *Molecular Genetics and Metabolism Reports* [interaktyvus]. 2014, vol. 1 [žiūrėta 2017 m. kovo 28 d.], p. 51-59.
51. DE RUITER, C.J., *et al.* Muscle function during repetitive moderate-intensity muscle contractions in myoadenylate deaminase-deficient Dutch subjects. In *Clinical Science* [interaktyvus]. 2002, vol. 102, no. 5 [žiūrėta 2017 m. kovo 28 d.], p. 531-539.
52. RICO-SANZ, J., *et al.* Associations between cardiorespiratory responses to exercise and the C34T AMPD1 gene polymorphism in the HERITAGE Family Study. In *Physiological Genomics* [interaktyvus]. 2003, vol. 14, no. 2 [žiūrėta 2017 m. kovo 28 d.], p. 161-166.
53. FISCHER, H., *et al.* AMP deaminase deficiency is associated with lower sprint cycling performance in healthy subjects. In *Journal of Applied Physiology (1985)* [interaktyvus]. 2007, vol. 103, no. 1 [žiūrėta 2017 m. kovo 29 d.], p. 315-322.
54. SOUZA, J.S., BRUNETTO, E.L., ir NUNES, M.T. Iron restriction increases myoglobin gene and protein expression in Soleus muscle of rats. In *Anais da Academia Brasileira de Ciências* [interaktyvus]. 2016, vol. 88, no. 4 [žiūrėta 2017 m. kovo 29 d.], p. 2277-2290.
55. ORDWAY, G.A., ir GARRY, D.J. Myoglobin: an essential hemoprotein in striated muscle. In *Journal of Experimental Biology* [interaktyvus]. 2004, vol. 207, no. 20 [žiūrėta 2017 m. kovo 29 d.], p. 3441-3446.
56. WITTENBERG, J.B., ir WITTENBERG, B.A. Myoglobin function reassessed. In *Journal of Experimental Biology* [interaktyvus]. 2003, vol. 206 [žiūrėta 2017 m. kovo 30 d.], p. 2011-2020.
57. WITTENBERG, J.B. Myoglobin - facilitated oxygen diffusion: role of myoglobin in oxygen entry into muscle. In *Physiological Reviews* [interaktyvus]. 1970, vol. 50 [žiūrėta 2017 m. kovo 30 d.], p. 559-636.
58. JONES, D.P., ir KENNEDY, F.G. Intracellular O₂ gradients in cardiac myocytes. Lack of a role for myoglobin in facilitation of intracellular O₂ diffusion. In *Biochemical and Biophysical Research Communications* [interaktyvus]. 1982, vol. 5 [žiūrėta 2017 m. kovo 30 d.], p. 419-424.
59. TAKAHASHI, E., ENDOH, H., ir DOI, K. Visualization of myoglobin-facilitated mitochondrial O₂ delivery in a single isolated cardiomyocyte. In *Biophysical Journal* [interaktyvus]. 2000, vol. 78, no. 6 [žiūrėta 2017 m. kovo 30 d.], p. 3252-3259.
60. STORZ, J.F., OPAZO, J.C., ir HOFFMANN, F.G. Phylogenetic diversification of the globin gene superfamily in chordates. In *IUBMB Life* [interaktyvus]. 2011, vol. 63, no. 5 [žiūrėta 2017 m. kovo 31 d.], p. 313-322.
61. WU, J., *et al.* SNP A79G in the second exon of the myoglobin gene in elite long distance runners. In *British Journal of Sports Medicine* [interaktyvus]. 2005, vol. 39, no. 10 [žiūrėta 2017 m. kovo 31 d.], p. 781-782.

62. HUNT, R., *et al.* Silent (synonymous) SNPs: should we care about them? In *Methods in Molecular Biology* [interaktyvus]. 2009, vol. 578 [žiūrėta 2017 m. balandžio 1 d.], p. 23-39.
63. MOORE, L.G., *et al.* Analysis of the myoglobin gene in Tibetans living at high altitude. In *High Altitude Medicine & Biology* [interaktyvus]. 2002, vol. 3, no. 1 [žiūrėta 2017 m. balandžio 1 d.], p. 39-47.
64. CUI, T., ir JIANG, M.S. Myoglobin A79G polymorphism association with exercise-induced skeletal muscle damage. In *Genetics and Molecular Research* [interaktyvus]. 2016, vol. 15, no. 2 [žiūrėta 2017 m. balandžio 2 d.].
65. GARATACHEA, N., *et al.* Association of the K153R polymorphism in the myostatin gene and extreme longevity. In *Age* [interaktyvus]. 2013, vol. 35, no. 6 [žiūrėta 2017 m. balandžio 3 d.], p. 2445-2454.
66. BERGEN, H.R. 3rd, *et al.* Myostatin as a mediator of sarcopenia versus homeostatic regulator of muscle mass: insights using a new mass spectrometry-based assay. In *Skeletal Muscle* [interaktyvus]. 2015, vol. 5 [žiūrėta 2017 m. balandžio 3 d.], p. 21.
67. TOBIN, J.F., ir CELESTE, A.J. Myostatin, a negative regulator of muscle mass: implications for muscle degenerative diseases. In *Current Opinion in Pharmacology* [interaktyvus]. 2005, vol. 5, no. 3 [žiūrėta 2017 m. balandžio 3 d.], p. 328-332.
68. RODINO-KLAPAC, L.R., *et al.* Inhibition of myostatin with emphasis on follistatin as a therapy for muscle disease. In *Muscle & Nerve* [interaktyvus]. 2009, vol. 39, no. 3 [žiūrėta 2017 m. balandžio 4 d.], p. 283-296.
69. RODRIGUEZ, J., *et al.* Myostatin and the skeletal muscle atrophy and hypertrophy signaling pathways. In *Cellular and Molecular Life Sciences* [interaktyvus]. 2014, vol. 71, no. 22 [žiūrėta 2017 m. balandžio 4 d.], p. 4361-4371.
70. REHFELDT, C., *et al.* Environmental and Genetic Factors as Sources of Variation in Skeletal Muscle Fibre Number. In *Basic and applied myology: BAM* [interaktyvus]. 1999, vol. 9, no. 5 [žiūrėta 2017 m. balandžio 5 d.], p. 235-253.
71. SHARMA, M., *et al.* Myostatin in Muscle Growth and Repair. In *Exercise and Sport Sciences Reviews* [interaktyvus]. 2001, vol. 29, no. 4 [žiūrėta 2017 m. balandžio 5 d.], p.155-158.
72. CARNAC, G., VERNUS, B., ir BONNIEU, A. Myostatin in the pathophysiology of skeletal muscle. In *Current Genomics* [interaktyvus]. 2007, vol. 8, no. 7 [žiūrėta 2017 m. balandžio 6 d.], p. 415-422.
73. MORGAN, J.E., ir PARTRIDGE, T.A. Muscle satellite cells. In *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* [interaktyvus]. 2003, vol. 35, no. 8 [žiūrėta 2017 m. balandžio 6 d.], p. 1151-1156.

74. BLAAUW, B., ir REGGIANI, C. The role of satellite cells in muscle hypertrophy. In *Journal of Muscle Research and Cell Motility* [interaktyvus]. 2014, vol. 35, no. 1 [žiūrėta 2017 m. balandžio 6 d.], p. 3-10.
75. DENG, B., *et al.* The function of myostatin in the regulation of fat mass in mammals. In *Nutrition & Metabolism* [interaktyvus]. 2017, vol. 14 [žiūrėta 2017 m. balandžio 8 d.], p. 29.
76. GONZALEZ-CADAVID, N.F., *et al.* Organization of the human myostatin gene and expression in healthy men and HIV-infected men with muscle wasting. In *Proceedings of the National Academy of Sciences* [interaktyvus]. 1998, vol. 95, no. 25 [žiūrėta 2017 m. balandžio 8 d.], p. 14938-14943.
77. SCHUELKE, M., *et al.* Myostatin mutation associated with gross muscle hypertrophy in a child. In *The New England Journal of Medicine* [interaktyvus]. 2004, vol. 350, no. 26 [žiūrėta 2017 m. balandžio 8 d.], p. 2682-2688.
78. SZLÁMA, G., *et al.* K153R polymorphism in myostatin gene increases the rate of promyostatin activation by furin. In *FEBS Letters* [interaktyvus]. 2015, vol. 589, no. 3 [žiūrėta 2017 m. balandžio 9 d.], p. 295-301.
79. SANTIAGO, C., *et al.* The K153R polymorphism in the myostatin gene and muscle power phenotypes in young, non-athletic men. In *PLoS One* [interaktyvus]. 2011, vol. 6, no. 1. [žiūrėta 2017 m. balandžio 9 d.].
80. RIDDICK, N., OHTANI, K., ir SURKS, H.K. Targeting by myosin phosphatase-RhoA interacting protein mediates RhoA/ROCK regulation of myosin phosphatase. In *Journal of Cellular Biochemistry* [interaktyvus]. 2008, vol. 103, no. 4 [žiūrėta 2017 m. balandžio 10 d.], p. 1158-1170.
81. MOCZYDLOWSKI, E.G. Chapter 9: Cellular physiology of skeletal, cardiac, and smooth muscle. In BORON, W.F., ir BOULPAEP, E.L. *Medical Physiology 3rd edition*. Philadelphia, PA, Elsevier, 2017, p. 228-254, ISBN 978-1-4557-4377-3 [žiūrėta 2017 m. balandžio 10 d.].
82. SURKS, H.K., RIDDICK, N., ir OHTANI, K. M-RIP targets myosin phosphatase to stress fibers to regulate myosin light chain phosphorylation in vascular smooth muscle cells. In *The Journal of Biological Chemistry* [interaktyvus]. 2005, vol. 280, no. 52 [žiūrėta 2017 m. balandžio 11 d.], p. 42543-42551.
83. SURKS, H.K., RICHARDS, C.T., ir MENDELSON, M.E. Myosin phosphatase-Rho interacting protein. A new member of the myosin phosphatase complex that directly binds RhoA. In *The Journal of Biological Chemistry* [interaktyvus]. 2003, vol. 278, no. 51 [žiūrėta 2017 m. balandžio 12 d.], p. 51484-51493.
84. EGOROVA, E.S., *et al.* Genome-wide association study of elite strength athlete status in Russians. In *European Journal of Human Genetics* [interaktyvus]. 2015, vol. 23, no. 1 [žiūrėta 2017 m. balandžio 12 d.], p. 468-469.

85. JO, B.S., ir CHOI, S.S. Introns: The Functional Benefits of Introns in Genomes. In *Genomics & Informatics* [interaktyvus]. 2015, vol. 13, no. 4 [žiūrėta 2017 m. balandžio 12 d.], p. 112-118.
86. PSIFIDI, A., *et al.* Comparison of eleven methods for genomic DNA extraction suitable for large-scale whole-genome genotyping and long-term DNA banking using blood samples. In *PLoS One* [interaktyvus]. 2015, vol. 10, no. 1 [žiūrėta 2017 m. balandžio 12 d.].
87. LORENZ, T.C. Polymerase chain reaction: basic protocol plus troubleshooting and optimization strategies. In *Journal of Visualized Experiments* [interaktyvus]. 2012, vol. 63 [žiūrėta 2017 m. balandžio 13 d.].
88. HIRSCHHORN, J.N., *et al.* A comprehensive review of genetic association studies. In *Genetics in Medicine* [interaktyvus]. 2002, vol. 4, no. 2 [žiūrėta 2017 m. balandžio 13 d.], p. 45-61.
89. DUARTE, C.W., *et al.* Chapter 12 - Multifactorial Inheritance and Complex Diseases, In PYERITZ, R.E., *et al.* *Emery and Rimoin's Principles and Practice of Medical Genetics (Sixth Edition)*. Oxford, Academic Press, 2013, p. 1-15, ISBN 978-0-12-383834-6 [žiūrėta 2017 m. balandžio 13 d.].
90. EMIGH, T.H. A comparison of tests for Hardy-Weinberg equilibrium. In *Biometrics* [interaktyvus]. 1980, vol. 36, no. 4 [žiūrėta 2017 m. balandžio 13 d.], p. 627-642.
91. WACKERHAGE, H., *et al.* Genetic research and testing in sport and exercise science: a review of the issues. In *Journal of Sports Sciences* [interaktyvus]. 2009, vol. 27, no. 11 [žiūrėta 2017 m. balandžio 14 d.], p. 1109-1116.
92. BEUNEN, G., ir THOMIS, M. Gene driven power athletes? Genetic variation in muscular strength and power. In *British Journal of Sports Medicine* [interaktyvus]. 2006, vol. 40, no. 10 [žiūrėta 2017 m. balandžio 14 d.], p. 822-823.
93. TUBELIS, L. *Didelio meistriškumo sportininkų ir jų pamainos ugdymo valdymo aspektai: Mokslo darbų apžvalga*. Lietuvos edukologijos universitetas. Vilnius: Leidykla „Edukologija“, 2013. 22 p [žiūrėta 2017 m. balandžio 14 d.], ISBN 978-9955-20-821-1.
94. SAHA, S. Leg explosive power and handgrip strength of college students. In *European Journal of Sports and Exercise Science* [interaktyvus]. 2014, vol. 3, no. 1 [žiūrėta 2017 m. balandžio 14 d.], p. 33.
95. LIPPI, G., LONGO, U.G., ir MAFFULLI, N. Genetics and sports. In *British Medical Bulletin* [interaktyvus]. 2009, vol. 93, no. 1 [žiūrėta 2017 m. balandžio 14 d.], p. 27-47.
96. VAN DAMME, R., *et al.* Performance constraints in decathletes. In *Nature* [interaktyvus]. 2002, vol. 415 [žiūrėta 2017 m. balandžio 15 d.], p. 755-756.
97. THIBAUT, V., *et al.* Women and Men in Sport Performance: The Gender Gap has not Evolved since 1983. In *Journal of Sports Science and Medicine* [interaktyvus]. 2010, vol. 9, no. 2 [žiūrėta 2017 m. balandžio 15 d.], p. 214-223.

98. BAKER, J.S., MCCORMICK, M.C., ir ROBERGS, R.A. Interaction among Skeletal Muscle Metabolic Energy Systems during Intense Exercise. In *Journal of Nutrition and Metabolism* [interaktyvus]. 2010, vol. 2010 [žiūrėta 2017 m. balandžio 15 d.], p. 905612.
99. BOGDANIS, G.C. Effects of physical activity and inactivity on muscle fatigue. In *Frontiers in Physiology* [interaktyvus]. 2012, vol. 3 [žiūrėta 2017 m. balandžio 15 d.], p. 142.
100. KANG, B.Y., KANG, C.Y., ir LEE, K.O. Muscle-specific creatine kinase gene polymorphisms in Korean elite athletes. In *Journal of Toxicology and Health* [interaktyvus]. 2003, vol. 19, no. 2 [žiūrėta 2017 m. balandžio 17 d.], p. 115-121.
101. RIVERA, M.A., *et al.* Muscle-specific creatine kinase gene polymorphisms in elite endurance athletes and sedentary controls. In *Medicine and science in sports and exercise Journal* [interaktyvus]. 1997, vol. 29, no. 11 [žiūrėta 2017 m. balandžio 17 d.], p. 1444-1447.
102. LUCÍA, A., *et al.* Is there an association between ACE and CKMM polymorphisms and cycling performance status during 3-week races? In *International Journal of Sports Medicine* [interaktyvus]. 2005, vol. 26, no. 6 [žiūrėta 2017 m. balandžio 17 d.], p. 442-447.
103. MARTINEZ, J.L., *et al.* Lack of an association between ckmm genotype and endurance performance level in hispanic marathon runners. In *Medicina Sportiva* [interaktyvus]. 2009, vol. 13, no. 4 [žiūrėta 2017 m. balandžio 18 d.], p. 219-223.
104. EIDER, J., *et al.* CKM gene polymorphism in Russian and Polish rowers. In *Genetika* [interaktyvus]. 2015, vol. 51, no. 3 [žiūrėta 2017 m. balandžio 18 d.], p. 389-392.
105. FEDOTOVSKAYA, O.N., *et al.* Association of muscle-specific creatine kinase (CKM) gene polymorphism with combat athlete status in Polish and Russian cohorts. In *Archives of Budo* [interaktyvus]. 2013, vol. 9, no. 3 [žiūrėta 2017 m. balandžio 19 d.], p. 233-237.
106. SPROUSE, C., *et al.* CK-MM Polymorphism is Associated With Physical Fitness Test Scores in Military Recruits. In *Military Medicine* [interaktyvus]. 2015, vol. 180, no. 9 [žiūrėta 2017 m. balandžio 19 d.], p. 1001-1005.
107. MECKEL, Y., *et al.* The AMPD1 C34T mutation is not associated with the status of Israeli athletes. In *European Journal of Sport Science* [interaktyvus]. 2012, vol. 12, no. 3 [žiūrėta 2017 m. balandžio 20 d.], p. 244-248.
108. TSIANOS, G.I., *et al.* Associations of polymorphisms of eight muscle- or metabolism-related genes with performance in Mount Olympus marathon runners. In *Journal of Applied Physiology (1985)* [interaktyvus]. 2010, vol. 108, no. 3 [žiūrėta 2017 m. balandžio 20 d.], p. 567-574.
109. FEDOTOVSKAYA, O.N., DANILOVA, A.A., ir AHMETOV, I.I. Effect of AMPD1 gene polymorphism on muscle activity in humans. In *Bulletin of Experimental Biology and Medicine* [interaktyvus]. 2013, vol. 154, no. 4 [žiūrėta 2017 m. balandžio 20 d.], p. 489-491.

110. CIESZCZYK, P., *et al.* Distribution of the AMPD1 C34T polymorphism in Polish power-oriented athletes. In *Journal of Sports Sciences* [interaktyvus]. 2012, vol. 30, no. 1 [žiūrėta 2017 m. balandžio 21 d.], p. 31-35.
111. NORMAN, B., *et al.* The effect of AMPD1 genotype on blood flow response to sprint exercise. In *European Journal of Applied Physiology* [interaktyvus]. 2008, vol. 103, no. 2 [žiūrėta 2017 m. balandžio 21 d.], p. 173-180.
112. GINEVIČIENĖ, V., *et al.* The myoglobin gene A79G polymorphism in Lithuanian athletes. In *6th Baltic Scientific Conference Sport Science for Sustainable Society: Abstracts* [interaktyvus]. Riga, Latvian Academy of Sport Education, 2013 [žiūrėta 2017 m. balandžio 21 d.]. p. 161-162. ISSN 1691-6220.
113. RUIZ, J.R., *et al.* Can we identify a power-oriented polygenic profile? In *Journal of Applied Physiology (1985)* [interaktyvus]. 2010, vol. 108, no. 3 [žiūrėta 2017 m. balandžio 22 d.], p. 561-566.
114. LI, X., *et al.* The A55T and K153R polymorphisms of MSTN gene are associated with the strength training-induced muscle hypertrophy among Han Chinese men. In *Journal of Sports Sciences* [interaktyvus]. 2014, vol. 32, no. 9 [žiūrėta 2017 m. balandžio 22 d.], p. 883-891.
115. Kostek, M.A., *et al.* Myostatin and follistatin polymorphisms interact with muscle phenotypes and ethnicity. In *Medicine and science in sports and exercise Journal* [interaktyvus]. 2009, vol. 41, no. 5 [žiūrėta 2017 m. balandžio 22 d.], p. 1063-1071.
116. FUKU, N., *et al.* Muscle-Related Polymorphisms (MSTN rs1805086 and ACTN3 rs1815739) Are Not Associated with Exceptional Longevity in Japanese Centenarians. In *PLoS One* [interaktyvus]. 2016, vol. 11, no. 11 [žiūrėta 2017 m. balandžio 23 d.].
117. BHATT, S.P., *et al.* Association of the Myostatin gene with obesity, abdominal obesity and low lean body mass and in non-diabetic Asian Indians in north India. In *PLoS One* [interaktyvus]. 2012, vol. 7, no. 8. [žiūrėta 2017 m. balandžio 23 d.].
118. SAUNDERS, M.A., *et al.* Human adaptive evolution at Myostatin (GDF8), a regulator of muscle growth. In *The American Journal of Human Genetics* [interaktyvus]. 2006, vol. 79, no. 6 [žiūrėta 2017 m. balandžio 23 d.], p. 1089-1097.

PRIEDAI

1 PRIEDAS. DNR išskyrimo fenolio–chloroformo–izoamilo alkoholio metodu protokolai.

Darbo eiga:

1. Veninis kraujas imamas į 5–10 ml vakuuminį mėgintuvėlį su antikoagulantu EDTA ir laikomas kambario temperatūroje 2 val arba 4 °C temperatūroje 12 val.
2. Kraujas perpilamas į sterilų 45 ml mėgintuvėlį, iki 35 ml pripilama lizuojančio buferio (0,32 M sacharozės, MgCl₂·6H₂O, Triton X-100, Tris-HCl pH 7,5). Centrifuguojama 15 min, 10°C temperatūroje, 3000 aps/min greičiu.
3. Viršnuosėdinis skystis nupilamas, nuosėdos sumaišomos pipetuoiant, pripilama lizuojančio buferio iki 10 ml ir centrifuguojama 10 min, 10°C temperatūroje, 3000 aps/min greičiu.
4. Viršnuosėdinis skystis nupilamas, nuosėdos sumaišomos pipete, pripilama lizuojančio buferio iki 5 ml ir centrifuguojama 10 min, 10°C temperatūroje, 3000 aps/min greičiu.
5. Viršnuosėdinis skystis nupilamas ir įpilama 400 µl ląstelių branduolių pernešimo buferio (10 mM Tris-HCl, pH 10,5; 1 mM EDTA; 0,15 mM NaCl).
6. Visas turinys sterilia Pastero pipete pernešamas į 2 ml sterilų mėgintuvėlį, pridedama 20 µl 10% natrio dodecilsulfato tirpalo ir 10 µl 2% proteinazės K tirpalo.
7. Mišinys inkubuojamas 37°C temperatūroje termostate 16 val. arba 55°C temperatūroje 3 val.
8. Į mėgintuvėlį įpilama 400 µl fenolio ir mėgintuvėlio turinys sumaišomas intensyviai vartant 10 min. Centrifuguojama 2 min, 5000 aps/min greičiu.
9. Pipete nusiurbiamas viršutinis sluoksnis ir pernešamas į 2 ml sterilų mėgintuvėlį. Į mėgintuvėlį įpilama 200 µl fenolio ir 200 µl chloroformo. Mėgintuvėlio turinys sumaišomas intensyviai vartant 5–10 min. Centrifuguojama 2 min, 5 000 aps/min greičiu.
10. Pipete nusiurbiamas viršutinis sluoksnis ir pernešamas į 2 ml sterilų mėgintuvėlį, įpilama 500 µl chloroformo ir izoamilo alkoholio mišinio (24:1). Mėgintuvėlio turinys sumaišomas intensyviai vartant 5 min. Centrifuguojama 2 min, 5 000 aps/min greičiu.
11. Pipete nusiurbiamas viršutinis sluoksnis ir pernešamas į 2 ml sterilų mėgintuvėlį, įpilama 400 µl chloroformo. Mėgintuvėlio turinys sumaišomas intensyviai vartant 5 min. Po to centrifuguojama 2 min, 5000 aps/min greičiu.
12. Pipete nusiurbiamas viršutinis sluoksnis ir padalijus į 2 dalis pernešamas į 0,5 ml ir 1,5 ml sterilius mėgintuvėlius. Į kiekvieną mėgintuvėlį įpilama po 20 µl 3 M natrio acetato tirpalo ir po 500 µl 96° šalto etanolio.
13. Vartant mėgintuvėlius DNR iškrinta į nuosėdas. Centrifuguojama 5 min., 13 200 aps/min greičiu.

14. Etanolis nupilamas ir įpilama 500 μ l 70° etanolio. Centrifuguojama 5 min., 13 200 aps/min greičiu.
15. Etanolis nupilamas ir įpilama 500 μ l 96° etanolio. Centrifuguojama 5 min., 13 200 aps/min greičiu.
16. Vienas (0,5 ml) mėgintuvėlis saugomas -20°C temperatūroje. Iš kito mėgintuvėlio išpilamas etanolis ir mėgintuvėlyje likęs turinys džiovinamas 37°C temperatūroje.
17. Išdžiovinta DNR užpilama 100 μ l TE buferinio tirpalo (10 mM Tris-HCl; 1 mM EDTA, pH 8) ir laikoma kambario temperatūroje, kol ištirpsta.

2 PRIEDAS. Fenotipinių rodiklių vertės priklausomai nuo CKM c.*800A>G polimorfizmo genotipų, sportininkų ir lyties grupių.

Genotipas	Grupė	Lytis	DPSJ (kg)		KPSJ (kg)		VRSG (W)		AARG (W)		MDS (ml/kg/min)	
			\bar{X} <u>M_d</u>	SN <u>IQR</u>	\bar{X} <u>M_d</u>	SN <u>IQR</u>	\bar{X} <u>M_d</u>	SN <u>IQR</u>	\bar{X} <u>M_d</u>	SN <u>IQR</u>	\bar{X} <u>M_d</u>	SN <u>IQR</u>
[A][A]	I	B	53,9	9,6	49,9	9,5	1726,8	283,9	1124,8	154,0	71,5	3,3
		V	<u>61,0</u>	<u>10,0</u>	54,3	8,1	1725,0	321,3	1181,9	155,5	72,7	2,9
		M	46,5	7,2	<u>45,0</u>	<u>5,8</u>	1729,3	238,9	1045,0	116,5	69,8	3,0
	II	B	62,7	12,3	<u>59,5</u>	<u>17,3</u>	2375,3	306,4	<u>1249,5</u>	<u>291,5</u>	67,1	3,6
		V	<u>70,0</u>	<u>15,0</u>	<u>67,0</u>	<u>11,0</u>	2448,6	298,2	<u>1360,5</u>	<u>333,8</u>	68,2	3,2
		M	52,6	9,9	50,0	10,0	2246,6	294,8	1134,5	117,7	65,2	3,7
	III	B	51,0	1,4	52,5	7,8	2038,0	53,7	1281,0	114,6	68,7	0,4
		V	51,0	1,4	52,5	7,8	2038,0	53,7	1281,0	114,6	68,7	0,4
		M	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
[A][G]	I	B	54,5	9,3	50,9	9,4	1758,6	305,8	1111,4	113,5	71,0	3,2
		V	<u>61,5</u>	<u>15,3</u>	55,7	9,1	1802,9	299,2	1170,8	96,0	72,2	3,5
		M	49,0	6,9	<u>45,0</u>	<u>11,0</u>	1702,4	319,1	1035,9	88,0	69,6	2,2
	II	B	63,0	12,4	<u>65,0</u>	<u>18,5</u>	2410,8	361,1	<u>1238,0</u>	<u>158,0</u>	64,6	3,9
		V	<u>68,5</u>	<u>18,8</u>	<u>67,0</u>	<u>18,5</u>	2391,5	353,8	<u>1234,5</u>	<u>118,3</u>	65,2	3,6
		M	56,7	7,6	56,3	6,4	2539,7	464,7	1329,7	201,8	60,7	4,2
	III	B	61,0	1,4	61,0	1,4	2049,0	237,6	1276,5	290,6	72,9	4,1
		V	61,0	1,4	61,0	1,4	2049,0	237,6	1276,5	290,6	72,9	4,1
		M	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
[G][G]	I	B	61,0	10,5	58,6	10,1	1715,8	324,8	1072,6	91,9	70,7	2,8
		V	<u>67,0</u>	<u>6,5</u>	62,5	5,8	1669,8	355,7	1068,5	105,6	71,7	2,1
		M	45,0	–	<u>43,0</u>	–	1900,0	–	1089,0	–	66,9	–
	II	B	59,3	10,7	<u>56,0</u>	<u>14,3</u>	1902,5	374,9	<u>1280,0</u>	<u>232,2</u>	63,7	4,7
		V	<u>68,0</u>	<u>12,0</u>	<u>62,0</u>	<u>14,5</u>	1793,7	539,8	<u>1359,0</u>	<u>243,5</u>	64,7	7,0
		M	58,7	9,5	54,7	8,9	2011,3	156,2	1194,7	148,4	62,6	1,4
	III	B	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
		V	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
		M	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–

I – ištvermės sporto grupė; II – greičio ir jėgos sporto grupė; III – mix sporto grupė; B – bendra grupė (vyrai ir moterys); V – vyrų grupė; M – moterų grupė; \bar{X} – vidurkis, M_d – mediana; SN – standartinis nuokrypis; IQR – tarpkvartilinis plotis; DPSJ – dešinės plaštakos suspaudimo jėga; KPSJ – kairės plaštakos suspaudimo jėga; VRSG – vienkartinis raumenų susitraukimo galinumas; AARG – anaerobinis alaktatinis raumenų galinumas; MDS – maksimalus deguonies suvartojimas; spalvomis pažymėti reikšmingi skirtumai tarp genotipų grupių.

3 PRIEDAS. Fenotipinių rodiklių vertės priklausomai nuo *AMPDI* c.133C>T polimorfizmo genotipų, sportininkų ir lyties grupių.

Genotipas	Grupė	Lytis	DPSJ (kg)		KPSJ (kg)		VRSG (W)		AARG (W)		MDS (ml/kg/min)	
			\bar{X} <u>M_d</u>	SN <u>IQR</u>	\bar{X} <u>M_d</u>	SN <u>IQR</u>	\bar{X} <u>M_d</u>	SN <u>IQR</u>	\bar{X} <u>M_d</u>	SN <u>IQR</u>	\bar{X} <u>M_d</u>	SN <u>IQR</u>
[C][C]	I	B	55,3	9,7	51,6	10,1	1750,5	284,9	1090,3	122,9	71,7	3,1
		V	<u>63,0</u>	<u>11,0</u>	56,8	8,5	1760,0	306,9	1133,6	121,9	72,6	3,2
		M	47,8	7,3	<u>45,0</u>	<u>10,0</u>	1736,4	257,8	1026,8	95,9	70,3	2,5
	II	B	62,6	13,1	<u>63,0</u>	<u>19,0</u>	2375,6	387,4	<u>1230,0</u>	<u>230,5</u>	65,6	4,2
		V	<u>69,5</u>	<u>19,0</u>	<u>68,0</u>	<u>17,3</u>	2394,3	389,9	<u>1240,5</u>	<u>259,8</u>	66,3	3,9
		M	53,2	9,6	51,8	10,4	2313,2	395,4	1153,8	170,3	63,5	4,6
	III	B	56,0	5,9	56,8	6,7	2043,5	140,8	1278,8	180,4	70,8	3,4
		V	56,0	5,9	56,8	6,7	2043,5	140,8	1278,8	180,4	70,8	3,4
		M	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
[C][T]	I	B	51,6	8,1	48,5	6,6	1716,2	342,6	1191,5	132,2	69,4	2,9
		V	<u>54,0</u>	<u>13,0</u>	51,3	7,5	1746,3	365,8	1271,3	103,9	71,4	2,3
		M	47,4	5,7	<u>43,0</u>	<u>3,0</u>	1680,0	350,9	1095,8	95,9	67,1	0,9
	II	B	61,5	7,9	<u>62,0</u>	<u>13,5</u>	2239,8	266,6	<u>1299,0</u>	<u>152,5</u>	65,4	3,5
		V	<u>68,0</u>	<u>5,0</u>	<u>64,0</u>	<u>3,0</u>	2237,4	331,9	<u>1359,0</u>	<u>275,0</u>	66,1	4,1
		M	55,0	7,2	50,5	1,7	2244,0	128,5	1224,8	92,9	64,2	1,7
	III	B	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
		V	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
		M	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
[T][T]	I	B	<u>69,0</u>	–	64,0	–	1590,0	–	1244,0	–	69,9	–
		V	<u>69,0</u>	–	64,0	–	1590,0	–	1244,0	–	69,9	–
		M	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	II	B	68,0	–	65,0	–	1831,0	–	1366,0	–	63,1	–
		V	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
		M	68,0	–	65,0	–	1831,0	–	1366,0	–	63,1	–
	III	B	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
		V	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
		M	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–

I – ištvermės sporto grupė; II – greičio ir jėgos sporto grupė; III – mix sporto grupė; B – bendra grupė (vyrai ir moterys); V – vyrų grupė; M – moterų grupė; \bar{X} – vidurkis, M_d – mediana; SN – standartinis nuokrypis; IQR – tarpkvartilinis plotis; **DPSJ** – dešinės plaštakos suspaudimo jėga; **KPSJ** – kairės plaštakos suspaudimo jėga; **VRSG** – vienkartinis raumenų susitraukimo galingumas; **AARG** – anaerobinis alaktatinis raumenų galingumas; **MDS** – maksimalus deguonies suvartojimas.

4 PRIEDAS. Fenotipinių rodiklių vertės priklausomai nuo *MB* c.174G>A polimorfizmo genotipų, sportininkų ir lyties grupių.

Genotipas	Grupė	Lytis	DPSJ (kg)		KPSJ (kg)		VRSG (W)		AARG (W)		MDS (ml/kg/min)	
			\bar{X} <u>M_d</u>	SN <u>IQR</u>	\bar{X} <u>M_d</u>	SN <u>IQR</u>	\bar{X} <u>M_d</u>	SN <u>IQR</u>	\bar{X} <u>M_d</u>	SN <u>IQR</u>	\bar{X} <u>M_d</u>	SN <u>IQR</u>
[G][G]	I	B	56,4	9,3	50,8	7,4	1628,1	185,2	1127,8	161,5	71,7	2,3
		V	<u>62,0</u>	<u>5,0</u>	54,8	4,8	1569,4	161,7	1191,2	168,6	72,6	2,5
		M	47,3	8,7	<u>44,0</u>	<u>6,0</u>	1726,0	211,5	1022,0	87,4	70,1	0,7
	II	B	57,1	12,2	<u>53,0</u>	<u>16,0</u>	2150,3	212,3	<u>1109,0</u>	<u>162,0</u>	65,2	3,9
		V	<u>70,0</u>	<u>9,0</u>	<u>65,0</u>	<u>6,0</u>	2189,3	244,3	<u>1260,0</u>	<u>78,5</u>	67,6	1,6
		M	53,0	11,8	49,8	11,9	2130,8	216,4	1101,3	127,2	64,1	4,3
	III	B	62,0	–	62,0	–	1881,0	–	1071,0	–	70,0	–
		V	62,0	–	62,0	–	1881,0	–	1071,0	–	70,0	–
		M	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
[G][A]	I	B	54,3	10,1	51,2	10,3	1831,5	281,9	1130,8	125,4	71,1	3,1
		V	<u>63,5</u>	<u>13,0</u>	55,9	9,2	1818,1	331,9	1167,8	126,9	72,2	2,8
		M	46,6	6,6	<u>44,0</u>	<u>8,3</u>	1852,4	187,8	1072,8	101,9	69,4	2,7
	II	B	64,6	11,4	<u>64,5</u>	<u>16,3</u>	2357,9	408,1	<u>1230,5</u>	<u>166,5</u>	65,7	4,0
		V	<u>68,5</u>	<u>16,5</u>	<u>67,0</u>	<u>15,0</u>	2353,3	404,0	<u>1234,5</u>	<u>172,0</u>	66,4	3,9
		M	58,2	7,1	55,8	6,6	2376,3	463,2	1258,8	165,7	62,8	3,5
	III	B	51,0	1,4	52,5	7,8	2038,0	53,7	1281,0	114,6	68,7	0,4
		V	51,0	1,4	52,5	7,8	2038,0	53,7	1281,0	114,6	68,7	0,4
		M	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
[A][A]	I	B	55,4	8,6	51,4	9,5	1503,0	247,5	1041,3	106,7	71,2	4,3
		V	<u>59,0</u>	<u>12,0</u>	57,2	9,7	1644,6	234,1	1112,8	99,7	72,7	4,9
		M	51,0	7,0	<u>46,0</u>	<u>6,0</u>	1361,4	181,5	969,8	53,7	69,6	3,4
	II	B	61,1	12,8	<u>63,5</u>	<u>18,5</u>	2418,9	335,1	<u>1362,0</u>	<u>255,8</u>	65,4	4,4
		V	<u>67,5</u>	<u>16,0</u>	<u>65,0</u>	<u>15,5</u>	2444,5	361,4	<u>1382,5</u>	<u>230,5</u>	65,5	4,6
		M	50,0	2,8	49,5	0,7	2291,5	143,5	1244,0	77,8	65,0	4,2
	III	B	60,0	–	60,0	–	2217,0	–	1482,0	–	75,8	–
		V	60,0	–	60,0	–	2217,0	–	1482,0	–	75,8	–
		M	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–

I – ištvermės sporto grupė; II – greičio ir jėgos sporto grupė; III – mix sporto grupė; B – bendra grupė (vyrai ir moterys); V – vyrų grupė; M – moterų grupė; \bar{X} – vidurkis, M_d – mediana; SN – standartinis nuokrypis; IQR – tarpkvartilinis plotis; **DPSJ** – dešinės plaštakos suspaudimo jėga; **KPSJ** – kairės plaštakos suspaudimo jėga; **VRSG** – vienkartinis raumenų susitraukimo galinumas; **AARG** – anaerobinis alaktatinis raumenų galinumas; **MDS** – maksimalus deguonies suvartojimas.

5 PRIEDAS. Fenotipinių rodiklių vertės priklausomai nuo *MSTN* c.458A>G polimorfizmo genotipų, sportininkų ir lyties grupių.

Genotipas	Grupė	Lytis	DPSJ (kg)		KPSJ (kg)		VRSG (W)		AARG (W)		MDS (ml/kg/min)	
			\bar{X} <u>M_d</u>	SN <u>IQR</u>	\bar{X} <u>M_d</u>	SN <u>IQR</u>	\bar{X} <u>M_d</u>	SN <u>IQR</u>	\bar{X} <u>M_d</u>	SN <u>IQR</u>	\bar{X} <u>M_d</u>	SN <u>IQR</u>
[A][A]	I	B	54,8	9,6	51,2	9,6	1740,5	292,6	1113,8	130,3	71,2	3,2
		V	<u>62,5</u>	<u>11,8</u>	55,9	8,5	1752,2	308,9	1162,8	128,1	72,3	3,1
		M	47,7	6,9	<u>44,5</u>	<u>9,0</u>	1723,6	273,3	1042,5	98,1	69,5	2,6
	II	B	62,0	12,3	<u>61,5</u>	<u>19,1</u>	2342,6	377,1	<u>1234,5</u>	<u>218,0</u>	65,4	4,0
		V	<u>68,5</u>	<u>17,3</u>	<u>66,0</u>	<u>14,8</u>	2377,1	390,6	<u>1252,0</u>	<u>259,8</u>	66,2	3,9
		M	54,8	9,1	52,4	9,0	2259,0	340,9	1189,2	153,3	63,7	3,7
	III	B	56,0	5,9	56,8	6,7	2043,5	140,8	1278,8	180,4	70,8	3,4
		V	56,0	5,9	56,8	6,7	2043,5	140,8	1278,8	180,4	70,8	3,4
		M	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
[A][G]	I	B	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
		V	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
		M	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	II	B	<u>70,0</u>	<u>2,0</u>	<u>65,0</u>	<u>3,0</u>	2238,0	328,1	<u>1474,0</u>	<u>214,0</u>	65,1	1,3
		V	<u>70,0</u>	<u>2,0</u>	<u>65,0</u>	<u>3,0</u>	2238,0	328,1	<u>1474,0</u>	<u>214,0</u>	65,1	1,3
		M	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	III	B	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
		V	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
		M	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
[G][G]	I	B	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
		V	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
		M	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	II	B	<u>68,0</u>	–	<u>64,0</u>	–	2195,0	–	<u>1359,0</u>	–	72,0	–
		V	<u>68,0</u>	–	<u>64,0</u>	–	2195,0	–	<u>1359,0</u>	–	72,0	–
		M	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	III	B	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
		V	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
		M	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–

I – ištvermės sporto grupė; **II** – greičio ir jėgos sporto grupė; **III** – mix sporto grupė; **B** – bendra grupė (vyrai ir moterys); **V** – vyrų grupė; **M** – moterų grupė; \bar{X} – vidurkis, M_d – mediana; SN – standartinis nuokrypis; IQR – tarpkvartilinis plotis; **DPSJ** – dešinės plaštakos suspaudimo jėga; **KPSJ** – kairės plaštakos suspaudimo jėga; **VRSG** – vienkartinis raumenų susitraukimo galingumas; **AARG** – anaerobinis alaktatinis raumenų galingumas; **MDS** – maksimalus deguonies suvartojimas.

6 PRIEDAS. Fenotipinių rodiklių vertės priklausomai nuo *MPRIP* c.219+14693G>A polimorfizmo genotipų, sportininkų ir lyties grupių.

Genotipas	Grupė	Lytis	DPSJ (kg)		KPSJ (kg)		VRSG (W)		AARG (W)		MDS (ml/kg/min)	
			\bar{X} <u>M_d</u>	SN <u>IQR</u>	\bar{X} <u>M_d</u>	SN <u>IQR</u>	\bar{X} <u>M_d</u>	SN <u>IQR</u>	\bar{X} <u>M_d</u>	SN <u>IQR</u>	\bar{X} <u>M_d</u>	SN <u>IQR</u>
[G][G]	I	B	55,2	9,1	51,8	9,0	1709,1	288,3	1135,6	136,9	71,1	2,9
		V	<u>64,0</u>	<u>12,0</u>	56,8	8,4	1700,9	330,0	1201,2	118,2	72,3	2,7
		M	48,5	6,6	<u>44,0</u>	<u>7,0</u>	1719,9	235,5	1049,7	112,1	69,5	2,7
	II	B	62,2	11,3	<u>62,0</u>	<u>19,0</u>	2370,0	337,1	<u>1219,5</u>	<u>288,0</u>	65,7	3,4
		V	<u>69,0</u>	<u>16,0</u>	<u>68,0</u>	<u>14,5</u>	2386,1	321,8	<u>1242,0</u>	<u>245,5</u>	65,9	3,8
		M	53,9	10,1	50,7	9,9	2328,9	390,9	1171,7	176,9	65,0	2,2
	III	B	56,0	5,9	56,8	6,7	2043,5	140,8	1278,8	180,4	70,8	3,4
		V	56,0	5,9	56,8	6,7	2043,5	140,8	1278,8	180,4	70,8	3,4
		M	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
[G][A]	I	B	54,7	10,4	50,9	10,4	1764,8	296,7	1082,7	119,9	71,3	3,5
		V	<u>60,0</u>	<u>13,0</u>	55,1	8,8	1810,3	282,9	1119,3	128,8	72,3	3,5
		M	46,3	7,9	<u>45,5</u>	<u>7,3</u>	1679,6	322,3	1014,0	61,4	69,3	2,7
	II	B	65,3	11,9	<u>64,5</u>	<u>10,0</u>	2369,8	344,8	<u>1267,0</u>	<u>163,5</u>	65,9	4,9
		V	<u>68,0</u>	<u>8,0</u>	<u>66,0</u>	<u>6,0</u>	2477,3	348,0	<u>1272,0</u>	<u>196,5</u>	68,2	3,3
		M	56,4	7,8	55,4	6,9	2133,2	203,3	1220,8	108,8	61,2	4,9
	III	B	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
		V	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
		M	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
[A][A]	I	B	48,0	–	<u>40,0</u>	–	2123,0	–	1176,0	–	71,6	–
		V	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
		M	48,0	–	<u>40,0</u>	–	2123,0	–	1176,0	–	71,6	–
	II	B	50,0	15,9	<u>38,0</u>	<u>13,5</u>	1786,7	532,1	<u>1365,0</u>	<u>243,5</u>	61,7	3,3
		V	50,0	15,9	<u>38,0</u>	<u>13,5</u>	1786,7	532,1	<u>1365,0</u>	<u>243,5</u>	61,7	3,3
		M	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	III	B	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
		V	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
		M	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–

I – ištvermės sporto grupė; II – greičio ir jėgos sporto grupė; III – mix sporto grupė; B – bendra grupė (vyrai ir moterys); V – vyrų grupė; M – moterų grupė; \bar{X} – vidurkis, M_d – mediana; SN – standartinis nuokrypis; IQR – tarpkvartilinis plotis; **DPSJ** – dešinės plaštakos suspaudimo jėga; **KPSJ** – kairės plaštakos suspaudimo jėga; **VRSG** – vienkartinis raumenų susitraukimo galingumas; **AARG** – anaerobinis alaktatinis raumenų galingumas; **MDS** – maksimalus deguonies suvartojimas.