

# Magyar élsportolók gén polimorfizmus-mintázatának vizsgálata

Doktori értekezés

**Bosnyák Edit Ilona**

Testnevelési Egyetem  
Sporttudományok Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Tóth Miklós, egyetemi tanár, az MTA doktora

Hivatalos bírálók: Dr. Dékány Miklós, egyetemi docens, PhD

Dr. Ihász Ferenc, egyetemi tanár, PhD

Szigorlati bizottság elnöke:

Dr. Istvánfi Csaba, rector emeritus, PhD

Szigorlati bizottság tagjai:

Dr. Szabó Tamás, intézetigazgató, PhD

Dr. Lacza Zsombor, tudományos főmunkatárs,  
az MTA doktora

Budapest

2016

## BEVEZETÉS

A genetikai háttér figyelembe vétele nélkül a sporttudományi vizsgálatok által alkotott kép nem teljes. Elemezni és értelmezni szükséges a stabil genetikai meghatározottság és a dinamikus környezet kölcsönhatását, s vizsgálni kell a fejlődés alatt a genetikai program kibontakozásában szerephez jutó tényezőket. A sportgenomika egy fiatal tudományág, mely az élsportolók genomjának működésére és szerveződésére koncentrál. Az egyik legígéretesebb eszköz lehet a sportági kiválasztás, az egyénre szabott edzéstervezés, a sporttraumatológia illetve géndopping területén. A teljesítmény vonatkozásában a hajlamosító gének, bár önmagukban nem elegendők egy adott tulajdonság kifejeződéséhez, előre jelezhetik a sportági teljesítmény minőségét. A genetikai alapon létrejövő összetett jellegek kialakulásakor néhány vagy sok gén egyidejű vagy halmozódó működése befolyásolja a jelleg megnyilvánulását, ahol minden gén önmagában egy kis részét magyarázza az egésznek. Ismeretes az is, hogy a poligénes meghatározottság általában érzékenyebb a környezeti tényezőkre is. A fizikai aktivitás komplex emberi viselkedésforma, így a fenti folyamat még összetettebb lesz. A mozgások tanulása, a fizikai környezet, a külvilágból érkező információk igen erősen befolyásolhatják bármelyik fizikai aktivitással kapcsolatban álló gén hatásának megjelenését. Előbbiek ismeretében a sportteljesítménnyel összefüggésben álló specifikus génváltozatok meghatározása jelentősen korlátozott.

A sportgenomika területén többnyire élsportolókat vizsgáltak. A kutatások legjelentősebb hányada az állóképességi teljesítménnyel összefüggésben zajlott. A hosszútávú állóképességet ellenpontoszó gyorsasági teljesítmény genetikai háttere szintén gyakran vizsgált témakör. Sok tanulmány egyedi gén polimorfizmusokkal foglalkozott, melyek kiindulási pontot adtak a további összetettebb vizsgálatokhoz. Ezek eredményei alapján lehetőség nyílt bizonyos képességek szempontjából kedvező poligénes profil kialakítására is.

### *Az angiotenzin-konvertáló enzim (ACE) gén inszerciós és deléciós polimorfizmusa*

Az ACE gén polimorfizmusai hatást gyakorolnak a kódolt enzim szérum és szöveti szintjére. D allél homozigóta esetében a plazma és szöveti ACE szint szignifikánsan emelkedett, összehasonlítva a heterozigóta (ID) és II genotípusokkal. Ez utóbbi (II) esetben az ACE aktivitási szintje fele akkora a DD genotípussal rendelkezőkhöz képest, míg a heterozigótáknál közepes szint mérhető. Az I allél alacsonyabb szérum ACE

szinttel és aktivitással jellemezhető, mely kisebb mértékű vazokonstrukciót okoz, ami nagyobb teret enged az oxigéndús vér áramlásának az izmok irányában. Ennek a következtében feltételezhető, hogy az I allél kedvezőbb mutáció, s előnyösebb az állóképességi sportágak képviselői számára, hiszen esetükben az oxigénigény lehető legteljesebb kielégítése létfontosságú. Az ACE gén D allélja magasabb angiotenzin-konvertáló enzim aktivitással jár együtt. Megállapították, hogy a keringő ACE aktivitás szignifikánsan korrelál a quadriceps izom izometriás és izokinetikus erejével.

#### *Az alfa-actinin-3 gén R/X polimorfizmusa (ACTN3)*

Az ACTN3 expresszió a II-es típusú izomrostokhoz kötött, melyek a nagy sebesség melletti erőteljes kontrakcióért felelősek. Bizonyították, hogy az átlag populációra  $\alpha$ -actinin-3 hiánya a jellemző, amit a homozigóta stop kodon okoz az ACTN3 (R577X) génben. Az ACTN3 fehérje funkcionálisan nem redundáns, tehát a 2-es izoforma nem képes teljes mértékben kiegyenlíteni a hiányt. Bizonyításra került az is, hogy az  $\alpha$ -actinin-3 jelenléte vagy hiánya befolyásolja a harántcsíkolt izomzat teljesítményét. Az R allél a nagyobb erő kifejtéssel járó terheléseknél, valamint a gyorsasági teljesítménynél előnyös, míg az XX genotípus az említett fehérje teljes hiányát okozza, ezzel befolyásolva a harántcsíkolt izom teljesítményét.

#### *A 2. típusú bradikinin receptor génjének +9/-9-es polimorfizmusa (BDKRB2)*

A polimorfizmust egy 9 bázispárból álló szakasz jelenléte (+9), vagy hiánya (-9) okozza. A 2. típusú bradikinin receptor gén aktivációja serkenti a terhelés alatt a vázizom glükóz felvételét, valamint javít az izmok vérellátottságán. A -9 allél, a +9-essel szemben, fokozza a gén transzkripcióját és jelentősebb a receptor mRNS expresszió. Kiemelten vizsgálták ezt az inszerció/deléción polimorfizmust a fizikai aktivitással összefüggésben.

#### *Az ACE és az ACTN3 kombinációja*

Az ACE DD genotípus feltételezhető előnnyel jár a rövidtávú teljesítmény fejlesztésénél, valamint bizonyították a D allél és az erő-domináns teljesítmény összefüggését. Az ACTN 577R allél és 577RR genotípus az erő-domináns sportágak élvonalbeli versenyzői körében gyakrabban előforduló változatai a génnek, mint az 577X allél és a másik kettő, X allélt tartalmazó genotípus. Továbbá kimutatható az összefüggést az R allél és a nagy teljesítményű izomkontrakció képessége között. Az ismert eredmények alapján az ACE D és az ACTN3 R allélpár jelenléte előnyös lehet a

gyorsasági és nagy izomerő szükségességével járó sportágaknál, míg az ACE I és ACTN3 X allélok megléte az állóképességi sportolóknál.

#### *Az ACE és a BDKRB2 párosítása*

A két polimorfizmus kapcsolata az ACE renin-angiotenzin és a kallikrein-kinin rendszerbeli funkciójával összhangban magyarázható meg. Az angiotenzin-konvertáló enzim katalizálja az angiotenzin I átalakulását az erős érösszehúzó hatással bíró angiotenzin II-vé, továbbá inaktív metabolitokká bontja a kifejezetten értágító hatású bradikininint. Az ACE I alléljának jelenléte azonban csökkenti a keringő angiotenzin aktivitását, ami visszafogottabb vazokonstrukciót eredményez, valamint szintén csökkenti az értágító és vazoprotektív hatású anyag, a bradikinin bontását. A bradikinin béta 2. típusú receptor gén -9 allélja növeli a gén transzkripcióját, így az aktiváció hatására még kiemeltebben fokozza a terhelés alatti glükóz felvételt a vázizomban, és az izmok vérellátottságát. Ezekre az ismeretekre alapozva az ACE I és a BDKRB2 -9 allélok együttes előfordulása az állóképességi sportolóknak kedvezőbb feltételeket biztosít a kiemelkedő teljesítményekhez.

#### *Az ACTN3 és a BDKRB2 kombinációja*

A két gén változatainak élettani hatását figyelembe véve az állóképességi teljesítmény szempontjából az ACTN3 X és a BDKRB2 -9, míg az erő kifejtés nagyságának mértékére az ACTN3 R és a BDKRB2 +9 párosítások a kedvező kombinációk.

#### *Az ACE gén és a relatív aerob kapacitás (relVO<sub>2max</sub>) összefüggése*

Az ACE I/D polimorfizmus és a különböző teljesítmény-élettani mutatók kapcsolatának vizsgálata a gén allélja által kifejeződésre került fiziológiai hatások ismeretében értelemeszerű. Az I allél és a magasabb maximális, illetve relatív aerob kapacitás összefüggését több tanulmányban megerősítették.

#### *A BDKRB2 gén és a relatív aerob kapacitás (relVO<sub>2max</sub>) összefüggése*

Ezzel a lehetséges kapcsolattal összefüggésben még nem készült tanulmány, azonban a génváltozatok élettani hatásának ismeretében célszerű megvizsgálni a relatív aerob kapacitás alakulását ebből a szempontból is.

#### *Az osteocalcin gén HindIII (rs1800247) polimorfizmusa*

Az osteocalcin allélok a HindIII restrikciós fragmentum jelenléte (h) illetve hiánya (H) alapján definiáltak. Egy karboxilcsoport bekötődésével aktiválódik az osteocalcin és segíti a kalcium beépülését a csontba, azonban csak a K-vitamin jelenlétében szállítja és

köti be a kalciumot a csontállományba, elindítva ezzel a csontépítést. Az osteocalcin gén *HindIII* polimorfizmusa feltételezhetően befolyásolja a csont ásványianyagtartalmát és a csontépülést. Amennyiben a fragmentum hiányáról (H) beszélünk, negatív befolyásoló hatást vélünk a csontépítésre.

## **CÉLKITŰZÉSEK**

A magyar élsportolók sportgenomikai hátterének átfogó és hiánypótló feltérképezése volt a doktori munka célja.

- Az allél- és genotípus frekvenciák bemutatása, összehasonlítása és különbségei a sportolói és a kontrollcsoportban.
  - Az allél és genotípus gyakoriságok különbségeinek vizsgálata az állóképességi, a nem állóképességi sportolók és a sportjátékosok között.
  - Az allél és genotípus arányok összehasonlítása a sportági sajátosságokat követő csoportbontás alapján az állóképességi sportágak, a küzdősportok, a kajak-kenu/evezés, a sportjátékok és a vízilabda játékosok valamint a kontrollcsoport között
  - Az allél- és genotípus frekvenciák elemzése nemenként kialakított sportolói és kontrollcsoportokban.
  - Az allél és genotípus gyakoriságok vizsgálata a sportági sajátosságokat követő csoportbontás során kialakított alcsoportokban nemenként.
  - Az eredmények viszonyítása elsősorban kaukázusi mintákhoz, valamint az ezen kívül publikált eredményekhez. Hasonlóságok és különbségek feltárása, a nemzeti sajátosságok megjelenítése.
  - A genotípus kombinációk megjelenésének összehasonlítása sportolók és kontrollcsoport között.
  - A genotípus párosítások arányának elemzése a sportolói alcsoportokban.
  - A genotípusok együttes megjelenésének elemzése nemenként bontott sportolói és kontrollcsoportban.
- ❖ Az ACE és a BDKRB2 gén polimorfizmusok illetve azok kombinációinak és a relatív aerob kapacitás eredményeknek az összefüggésvizsgálata sportolóknál.
  - ❖ Az osteocalcin gén változatainak és az ultrahangos csontparamétereknek, valamint a humánbiológiai jellemzőknek az összefüggésvizsgálata magyar élsportolóknál.

A vizsgálataink előtt a célkitűzések alapján a következő hipotéziseket fogalmaztuk meg:

- ❖ Az ACE, az ACTN3 és a BDKRB2 gén polimorfizmusok aránya a nemzetközi eredményekhez hasonlóan a magyar mintán is eltér a sportolói és a kontroll csoportok között.
- ❖ Az ACE+ACTN3, az ACE+BDKRB2 és az ACTN3+BDKRB2 gén polimorfizmusok kombinációinak gyakoriságai összefüggést mutatnak a sportélettani szempontból előnyös hatásaik alapján a megfelelő sportági csoportokkal.
- ❖ Az ACE I és a BDKRB2 –9 gén polimorfizmusok magasabb relatív aerob kapacitással járnak együtt a másik kettő változathoz képest.
- ❖ Az osteocalcin gén *HindIII* polimorfizmusa és a csontjellemzők között összefüggés mutatható ki.

## VIZSGÁLT SZEMÉLYEK, ALKALMAZOTT MÓDSZEREK

Vizsgált személyek

A vérminták összegyűjtését 2008 és 2011 között végeztük. Ez idő alatt 449 mintavételre került sor (176 nő, 273 férfi). A genotipizálás során több esetben sikertelen volt bizonyos polimorfizmusok meghatározása, ez okozza a génenként eltérő elemszámokat (1. táblázat).

1. táblázat: A vizsgálatban résztvevő személyek (fő)

<b>Gén</b>	<b>Összesen</b>	<b>Férfi</b>	<b>Nő</b>	<b>Sportoló</b>	<b>Kontroll</b>
<b>ACE</b>	430	261	169	335	95
<b>ACTN3</b>	434	265	169	338	96
<b>BDKRB2</b>	161	67	94	161	0
<b>ACE+ACTN3</b>	391	236	155	298	93
<b>ACE+BDKRB2</b>	161	67	94	161	0
<b>ACTN3+BDKRB2</b>	161	67	94	161	0
<b>ACE+relVO<sub>2</sub>max</b>	182	110	72	182	0
<b>BDKRB2+relVO<sub>2</sub>max</b>	105	38	67	105	0
<b>Osteocalcin</b>	302	203	99	214	88

A résztvevők mindannyian magyar származásúak, életkoruk  $32 \pm 12,7$  év volt. Közülük 63 fő szerepelt ultrahangos csontsűrűségmérő vizsgálaton, 17 sportoló és 47 kontroll személy. A kontrollcsoport ( $n=97$ ; férfi=58, nő=39) kiválasztásának elsődleges szempontja a sportmúlt hiánya volt. Mindannyian életkorban a sportolói mintához illő, egészséges, ismert betegséggel nem rendelkező emberek voltak. A sportolók kiválasztásakor a sportág jellemzői és a versenyzők eredményei (olimpiai-, világ-, európa-, és országos bajnokok, valamint helyezettek) jelentették a szelekciós szempontokat. Az általunk kialakított felosztásban az állóképességi sportágak csoportjába az evezés, a kajak-kenu, az országúti kerékpár, a rövidpályás gyorskorcsolya, a triatlon és a hosszútávfutás tartozott. A nem állóképességi sportágak csoportját a küzdősportok, nevezetesen a birkózás, a cselgáncs, a karate, az ökölvívás, a vívás, valamint a torna alkotta. A sportjátékokhoz soroltuk a kézi-, vízi- és kosárlabdát, illetve a labdarúgást. A sportági sajátosságokat követő csoportbontás során különválasztottuk a szárazföldi sportjátékokat a vízilabdától, a küzdősportok önmagukban egy kategóriát jelentettek.

#### Vizsgálati módszerek

##### *DNS izolálás*

A kiválasztott sportolóktól és a kontrollcsoportba kerülő személyektől 3 ml vénás vérmintát gyűjtöttünk. A genomiális DNS izolálását Fujifilm Quickgene Mini80 készülékkel végeztük. Az izolálás során a készüléknek megfelelő protokollt használtuk. A tisztítás után visszaoldott DNS minták koncentrációját NanoDrop 2000 spektrofotométer segítségével határoztuk meg.

##### *Genotipizálás*

##### ACTN3, osteocalcin

A genotipizálás DNS chip használatával a szegedi Avidin Kft. közreműködésével zajlott. A nanokapilláris QRT-PCR folyamán egy reakció 33 nl térfogatban ment végbe. A polimorfizmusok vizsgálatához fluoreszcens festékekkel (VIC, FAM) jelölt TaqMan próbákat használtunk. A vérből izolált genomi DNS-hez OpenArray SNP MasterMixet adtunk, majd a nanokapilláris chip reakciótereit OpenArray™ Autoloader használatával feltöltöttük. Az OpenArray™ chipeket egy olajat tartalmazó üvegtartóba helyeztük, melyet UV fényel szilárdított ragasztóval rögzítettünk, majd a chipeket Perkin Elmer 1000 Plate PCR készülékbe helyeztük, ahol egy 10 perces,  $92^{\circ}\text{C}$ -os aktiválást követően

50 cikluson át futtattuk (97°C-1 min, 51°C-20 sec, 53°C-20 sec, 55°C-10 sec). Ezt követően a chipet a BioTrove OpenArray™ NT Cyler készülékbe helyeztük, ami automatikusan detektálta a fluoreszcencia intenzitást.

#### ACE

Az ACE I/D típusú variációinak meghatározása az OpenArray rendszerrel történt, előzetes validálást követően. A hagyományos PCR technikával a GenoID Molekulárbiológiai Laboratórium elvégezte a sportolók genotipizálását, melyek közül 96 mintát, random kiválasztással az OpenArray rendszerrel az ACE rs4343-as polimorfizmusára is lefuttattunk, mivel több tanulmányban arra a megállapításra jutottak, hogy az ACE rs4343-as SNP-je a legjobb „proxy”-ja az Alu I/D polimorfizmusnak (Daya és Gaunta 2008, Glenn és mtsai 2009). Az eredmények azonosnak bizonyultak, így a továbbiakban a fentiekben ismertetett módszert alkalmaztuk a polimorfizmus meghatározására.

#### BDKRB2

A bradikinin receptor B2 genotípusok meghatározása a GenoID Molekulárbiológiai Laboratóriumon keresztül történt Williams és munkatársainak módszertani leírása alapján, módosított protokollal. A gén polimorfizmusok PCR-en alapuló technológiával lettek meghatározva.

#### *Antropometria*

Az antropometriai jellemzéshez szükséges testdimenziókat a Nemzetközi Biológiai Program által megfogalmazott ajánlásoknak megfelelően mértük fel. Összesen 24 testméret került rögzítésre. A mért és származtatott adatokból a testmagasság, a testtömeg, a könyök-és térdszélesség, valamint a csontarány került megjelenítésre.

#### *Kvantitatív ultrahangos csontsűrűség mérés*

A sarokcsont ultrahangos vizsgálata OSTEOSYS SONOST 3000 típusú ultrahangos csontsűrűség-mérő készülék segítségével történt.

#### *Az elemzések során három paramétert vizsgáltunk.*

- SOS – Speed Of Sound, ultrahang terjedési sebesség (m/s): ez a mutató az adott csont anyagi minőségéről biztosít információt.
- BUA – Broadband Ultrasound Attenuation, frekvenciafüggő ultrahanggyengülés (dB/MHz): a csont mikroszerkezetéről és a csonttömegről informál.



- BQI index – Bone Quality Index: A két mért paraméter (SOS és BUA) összekapcsolásával csökken a megbízhatósági hiba mértéke ( $BQI = \alpha \text{SOS} + \beta \text{BUA}$ ,  $\alpha, \beta$ : hőmérséklet-korrektúra), s ez a paraméter a törési rizikóra ad becslést.

#### *Terhelésdiagnosztikai vizsgálat*

A sportolók egy része futószalagos terhelést is teljesített, melyet Schiller terheléses rendszerrel végeztük. A teszt vita maxima típusú (állandó sebesség mellett fokozódó meredekség) volt, végrehajtása teljes kifáradásig zajlott. A vizsgáltunkba a maximális oxigén felvételt vontuk be, melynél a testtömegre vonatkoztatott aerob kapacitás értékeivel számoltunk ( $\text{relVO}_2\text{max}$ , ml/ttkg/min).

#### *A statisztikai analízis módszerei*

Az eredmények statisztikai feldolgozásához és grafikus megjelenítéséhez a GraphPad Prism és a Microsoft Excel programokat használtuk. A Hardy-Weinberg egyensúly genotípus-gyakoriság megállapításához Pearson-féle  $\text{Khi}^2$  próbát használtunk, akárcsak az allél és a genotípus, valamint a polimorfizmus-kombinációk gyakoriságoknak az összehasonlítására. Az osteocalcin H allél jelenléte vagy hiánya alapján megkülönböztetett csoportok ultrahangos csontsűrűsége és humánbiológiai jellemzőire vonatkozó eredmények különbségeit kétmintás t-próbával vizsgáltuk. Egyszempontos varianciaanalízist használtunk a csontsűrűség és a csontarány összefüggéseinek vizsgálatára a genotípus alapján bontott csoportok között, valamint a  $\text{relVO}_2\text{max}$  értékek elemzésénél is. Az többszörös tesztelés korrekcióját a Benjamini-Hochberg-féle, valamint a Bonferroni korrekció alkalmazásával számítottuk ki. A statisztikai analízis során a szignifikancia szintjét következetesen kevesebb, mint 5%-ban határoztuk meg.

## **EREDMÉNYEK**

### *ACE*

A teljes mintában az ACE heterozigóta genotípus 50,47%-os jelenléte mellett nagyobb arányban volt megtalálható a DD (25,58%) genotípus, mint az II (23,95%). Az ACE II genotípus jelentősen visszafogottabb mértékben jelent meg a kontrollcsoportnál (15,79%), mint a sportolónál (26,27%). A sportolók és a kontrollcsoport összehasonlításakor sem a genotípusok, sem az allélok gyakoriságában nem volt különbség. Az állóképességi sportolók II genotípus gyakorisága alacsonyabbnak, a homozigóta D allélpár megjelenésének aránya viszont magasabbnak bizonyult a nem-

állóképességi csoportnál. A két csoport ACE genotípus és allélgyakoriságai között azonban nem volt szignifikáns különbség.

### *ACTN3*

A sportolók ACTN3 genotípus és allélfrekvenciái nem különböztek a kontrollcsoport eredményeitől. Az állóképességi és nem állóképességi sportolók csoportjai között nem volt különbség az ACTN3 R577X allélok és genotípusok között. A nem állóképességi sportágakat összehasonlítva a kontrollcsoporttal szintén nem tapasztalható különbség az előfordulások között. Az állóképességi sportolók és a sportjátékosok körében nagyobb volt az aránya az RR genotípusnak (37,00% és 38,68%), mint a nem állóképességi sportolóknál (28,30%), de nem volt szignifikáns a különbség.

### *BDKRB2*

A csoportokat összehasonlítva nem volt szignifikáns különbség egyik jellemzőben sem. Az állóképességi és a nem állóképességi csoportokban egyaránt a BDKRB2 –9-es allél megjelenése volt a gyakoribb az allélok közül, a –9 homozigóta allélpár pedig mindkét csoportban gyakoribb volt, mint a +9/+9-es genotípus. A nem állóképességi sportolóknál a –9/–9 genotípus közel 10%-kal nagyobb arányban fordult elő, mint az állóképességi sportolóknál (36,36% és 27,87%).

### *A sportági jellemzők alapján kialakított csoportok ACE, ACTN3 és BDKRB2 genotípus és allélgyakoriságainak vizsgálata*

A vízilabdázók és a kontrollcsoport ACE I/D allélgyakoriságai között szignifikáns különbség volt ( $\chi^2_{(df=1)}=3,905$ ;  $p=0,048$ ). A férfiaknál az ACTN3 allélfrekvenciákban szignifikáns különbség volt a kajak-kenu/evezés és a küzdősportok között. Szignifikáns különbséget találtunk nők esetében a sportolók és a kontrollcsoport között az ACE genotípusainak gyakoriságaiban. Nőknél a kajak-kenu/evezés csoport statisztikai analízisből történő kiemelésével a fennmaradó 5 csoport ACE genotípusainak arányai között szignifikáns különbséget tapasztaltunk. Az ACE allélgyakoriságok esetében a vízilabdázók és a kontrollcsoport között szignifikáns volt a különbség.

#### *Az ACE I/D és az ACTN3 R/X kombinációk elemzése*

A fizikai teljesítmény szempontjából előnyösnek vélt homozigóta allélpárok, az ACTN3 RR és az ACE II genotípuspár aránya szignifikánsan különbözött a többi lehetséges kombinációhoz képest a sportolók és a kontrollcsoport között.

A sportági csoportok közötti különbség az ACTN3 RR + ACE II/ID/DD kombinációk esetében a hat csoportot összehasonlítva szignifikáns volt, akárcsak a küzdősportok/kajak-kenu/evezés/állóképességi/vízilabda sportágak bármelyikét viszonyítva a kontrollcsoporthoz. Különbség volt még az ACE DD és az ACTN3 RR/RX/XX kombinációk gyakoriságában az állóképességi sportágak és a kontrollcsoport között.

A küzdősportokra nézve kedvező kombinációként kezeltük az ACTN3 RR + ACE DD/ID genotípusok együttes jelenlétét. Az állóképességi sportágakkal összehasonlítva a gyakoriságokat nem volt különbség a csoportok között. A kontrollcsoporttól viszont szignifikánsan különbözik a küzdősportok csoportja e kombináció gyakoriságában.

#### *Az ACE I/D és a BDKRB2 +9/-9 kombinációk elemzése*

Az állóképességi csoportban a legjelentősebb gyakoriságú a mindkét génre heterozigóta párosítás, míg a küzdősportolóknál ez a kombináció van jelen a legkisebb arányban, de nem szignifikáns a különbség. A férfi sportolók és a női sportolók között sem volt különbség a genotípus kombinációk arányaiban.

#### *Az ACTN3 R/X és a BDKRB2 +9/-9 kombinációk elemzése*

A sportolókat nemenként egymással összehasonlítva nem tapasztaltunk szignifikáns különbséget a kombinációk gyakoriságaiban.

#### *Az ACE I/D és a BDKRB2 +9/-9 polimorfizmusainak összefüggésvizsgálata a relatív aerob kapacitással*

A teljes mintában a két nem  $relVO_2max$  értékei között szignifikáns különbség volt. A mintát az ACE, majd a BDKRB2 genotípusok alapján csoportosítva, majd a relatív aerob kapacitás eredményeket összehasonlítva nem volt különbség az adott génen belüli genotípusokhoz kapcsolt értékek között.

Az aerob/állóképességi teljesítmény szempontjából leginkább (ACE II és BDKRB2 – 9/-9) és legkevésbé (ACE DD és BDKRB2 +9/+9) kedvező kombináció alkotta két csoportot is összehasonlítottuk a relatív aerob kapacitás szempontjából, azonban nem

találtunk szignifikáns különbséget. A két genotípust magában foglaló kombinációkat módosítottuk adott genotípus és meghatározott allél együttes jelenlétére. Így vizsgáltuk meg az ACE II és BDKRB2 -9 allél vs. az ACE DD és BDKRB +9 allél jelenléte alkotta csoportokban a relatív aerob kapacitást, de nem tapasztaltunk szignifikáns különbséget az eredményekben. Ugyanezt kijelenthetjük fordított esetben, a BDKRB2 -9/-9 és ACE I allél vs. a BDKRB2 +9/+9 és ACE D allél kombinációk együttes meglétekor is. A sportági csoportok relVO<sub>2</sub>max eredményei között számos esetben szignifikáns különbség volt, de sem az ACE, sem a BDKRB2 genotípusok és allélfrekvenciák között nem volt különbség a csoportok között.

A relatív aerob kapacitás eredményeiből kiindulva az átlag  $\pm$  1SD alapján elkülönítettünk felső kategóriába és alsó kategóriába tartozó sportolókat. Megvizsgáltuk e két csoport gén polimorfizmusait. A két csoport között nem volt különbség sem az ACE, sem a BDKRB2 genotípus és allélgyakoriságokban.

#### *Osteocalcin HindIII polimorfizmus, a csontparaméterek és a humánbiológiai jellemzők vizsgálata*

A genotipizált 88 fős kontrollcsoportból 47 résztvevőn, míg a sportolók közül 16 versenyzőn végeztünk csontultrahang vizsgálatot. Nem találtunk szignifikáns különbséget a humánbiológiai és csontultrahang jellemzők eredmények egyikében sem a H allél jelenléte vagy hiánya alapján kialakított két csoport között.

Minden csontparamétert genotípusonként is megvizsgáltunk. Az eredményekben nem találtunk szignifikáns különbséget osteocalcin genotípusok alapján a BUA, a SOS és a BQI értékekben sem.

A sportolókat összehasonlítva a kontrollcsoporttal, a versenyzőknek szignifikánsan magasabb volt az összes mért csontultrahang mutatója. A *HindIII* polimorfizmus allélfrekvenciáiban különbség azonban nem volt a két csoport között, a h allél jelenléte gyakoribb volt, mint a H változaté mind a sportolóknál, mind a kontrollcsoportban.

### **KÖVETKEZTETÉSEK**

A bemutatott elemzés célja a magyar élsportolók egy jelentős hányadának genotípusos jellegzetességeinek vizsgálata, az egyedi gének polimorfizmusaitól kiindulva a kombinációs jellemzőkig, illetve feltárni ezek összefüggéseit teljesítménydiagnosztikai vonatkozású mutatóval, valamint humánbiológiai sajátosságokkal.

A sportolóknál jelentősebb arányban jelent meg az ACE II genotípus és az ACE I allél is, mint a kontrollcsoportban, de különbség nem volt kimutatható az arányok között. Ezzel a magyar mintán visszafogott tendenciaként felfedezhető volt a sportolói teljesítmény és a polimorfizmus közötti kapcsolat, melyet Montgomery munkacsoportja írt le először. Az állóképességi és nem állóképességi sportolók ACE genotípus és allélgyakoriságának arányai kifejezetten hasonlóan alakultak, így nem jelenthető ki, hogy az I allél és az állóképességi teljesítmény között van kapcsolat a magyar sportolóknál.

Az ACTN3 XX genotípus és X allél kifejezetten visszafogott jelenléte egybehangzik az irodalmi adatokkal, miszerint az európai populációban 18% ennek a változatnak a megjelenési gyakorisága. A nem állóképességi sportágak csoportjában tapasztalt mérsékelt RR gyakoriság, s a genotípus párhuzamosan megfigyelhető frekvens jelenléte az állóképességi csoportban megerősíti azokat az kutatásokat, melyeknek nem sikerült összefüggést találni az R allél és a nagyobb erő kifejtéssel járó vagy a gyorsasági teljesítmény között.

A BDKRB2 -9/-9, az állóképesség szempontjából kedvezőbb genotípus magasabb arányú megjelenése a nem állóképességi csoportban (mint az állóképességi sportolóknál) megerősíti az orosz és lengyel sportolóknál tapasztalt eredményeket, ahol szintén nem találtak összefüggést ezzel a polimorfizmussal kapcsolatban az állóképességi sportágaknál.

A nemi bontás által megjelent a nőknél az ACE genotípus gyakoriságbeli differencia a sportolói és a kontrollcsoport között, következésképpen a nemenkénti kategorizálás létjogosultságára megkaptuk az első bizonyítékokat.

A férfi kajak-kenu/evezés csoport és a küzdősportolók közötti ACTN3 allélgyakoriságbeli különbség kiemelten kezelendő. Az irodalmi adatok alapján az R alléllal járó előnyök a küzdősportolók számára igen nagy jelentőséggel bírhat, ám nincs jelen a magyar minta 50%-ában sem. Míg a kajak-kenu és evezős sportolókat magában foglaló csoportban a 60% feletti aránya kiemelkedő. A csoport résztvevőinek jelentős hányada világszinten jóval nagyobb sikereket ér el, és előkelőbb helyezeket foglalnak el a világranglistán, mint a küzdősportok képviselői (akik között szintén a hazai legjobbak szerepelnek), ez utóbbiak esetében tehát akár az R allél alacsonyabb gyakorisága is egy apró tényező lehet abban a folyamatban, hogy a versenyzők „csak” az európa-bajnoki

legjobb 10 között szerepelnek és nem a dobogó legfelső fokán. A kajak-kenu és evezés sportágakban pedig a magas szintű állóképesség mellett az erőállóképesség és a maximális erő, sőt a robbanékonysági erő kiemelkedő színvonala is nélkülözhetetlen a csúcsteljesítményhez.

A férfi állóképességi sportolóknál leggyakrabban előforduló BDKRB2 -9/-9 genotípussal kapcsolatos eredményeink egybehangzanak a Saunders és munkatársai által vizsgált kaukázusi triatlonos férfiaknál tapasztaltakkal, tehát a magyar férfisportolók eredményei e tekintetben beilleszthetők a kaukázusi minták sorába.

Az állóképességi sportolók egyértelműen kimagasló ACE II genotípusgyakoriságával megerősítettük, hogy nőknél a magyar mintában is van kapcsolat az állóképességi teljesítmény és az ACE II genotípus között. Kihangsúlyozandó még a női vízilabdázók kiugróan magas ACE I allélfrekvenciája, mely állóképességi szempontból kedvező feltételeket adhat a kiemelkedő teljesítményhez.

Eredményeink alapján a következő megállapítást tehetjük az egyedi gén polimorfizmusok és a sportági csoportok összefüggéseivel kapcsolatos hipotézisről: részben igaz.

A kombináció-vizsgálatnál tapasztalt csoportok közötti különbségek megerősítik, hogy szükséges a polimorfizmusokat együttesen is vizsgálni. A küzdősportolók ACE I+ACTN3 X allélpárosításának kimagasló aránya teljesen ellentétes a polimorfizmusokról ismert eddigi eredményekkel. A magyar küzdősportolóknál nem vonatkoztathatók a nemzetközileg megjelent összefüggések a D és az R alléllal. Mindezek alátámasztására szolgál, hogy a csoport RR+D kombináció aránya is alacsonyabb, mint a kontrollcsoportnál. A vízilabdázóknál e kombinációk közül a vegyes, ACE I+ACTN3 R a leggyakoribb, így eredményeink alapján a sokszínű képességszükségletekkel rendelkező sportágak számára ezek a variációk a legkedvezőbbek. Akár kiegészíthető az együttes megjelenés a BDKRB2 -9 változatával, melynek gyakorisága az összehasonlítások során szintén kiemelkedő volt.

Az állóképességi sportolóknál az ACE és a BDKRB2 kombináció eredménye a párosítással együtt járó élettani háttér szempontjából kedvezőtlenül alakult, a két előnyös genotípus párosítása (II és -9/-9) a magyar mintában nem jelent meg, ellenpontozva Williams és munkatársainak vizsgálatát.

Eredményeink alapján a következő megállapítást tehetjük a gén polimorfizmus kombinációkkal és a sportági csoportokkal kapcsolatos hipotézisről: részben igaz.

A magyar sportolók relatív aerob kapacitásának mértékével sem egyes genotípusok, sem egyes allélok, sem polimorfizmus-kombinációk nem mutattak összefüggést. Ezen a területen elsődlegesen két irányban lenne logikus továbbgondolkodni. Érdeemes lehet további terhelésélettani paraméterek kapcsolatát megvizsgálni a gén polimorfizmusokkal, avagy a *vita maxima* terhelésen résztvevők számát bővíteni, ezzel nagyobb áttekintést nyerni az esetleges összefüggésekkel kapcsolatban.

Eredményeink alapján a következő megállapítást tehetjük az ACE I és a BDKRB2 –9 gén polimorfizmusok és a relatív aerob kapacitással kapcsolatos hipotézisről: nem igaz.

Megerősítettük azt a tényt, hogy a fizikálisan aktív étellel együtt jár a jobb csontminőség, tehát preventív hatása elvitathatatlan a csonttritkulással szemben. Nem tudtunk azonban az osteocalcin *HindIII* polimorfizmus és a csontjellemzők között összefüggést találni a magyar sportolók körében. Az eredményeink alapján az osteocalcin gén polimorfizmusainak nincs felfedezhető hatása a magyar minta csontminőségére.

Eredményeink alapján a következő megállapítást tehetjük az osteocalcin *HindIII* polimorfizmusa és a csontjellemzők összefüggéseivel kapcsolatos hipotézisről: részben igaz.

Ez a tanulmány bizonyította, hogy a vizsgálatoknak feltétlenül a világszinten ténylegesen eredményes élsportolókra kell összpontosítani, mert a leginkább letisztult és egyértelműen értelmezhető eredményeket ez a szubpopuláció fogja biztosítani. A versenyzők nemi elkülönítése kifejezetten előnyös, hiszen önmagukban a nemek számtalan különbséget hordoznak magukban. Amennyiben van lehetőség megfelelő létszámú sportolót felmérni, akkor a kategóriákat elsődlegesen a aerob-anaerob karakter, illetve az erő/gyorsasági-állóképességi jellemzők alapján szükséges elkülöníteni, s lehetőség szerint elsősorban a szélsőséges kategóriákba tartozó sportágakat felmérni.

Az ACE gén polimorfizmust nem kell „az emberi fizikai teljesítmény” egyik génjének titulálni, viszont fel kell ismerni, hogy egy olyan módosító marker lehet, mely

elsősorban a legszűkebb elithez tartozó élsportolóknál jelenthet különbséget, a versenyszám természetétől függően.

E tanulmány alapján az egyik cél a nemzeti sajátosságok megismerése, hiszen nem minden esetben mutattak hasonlóságot a magyar eredmények más populációs elemzésekkel.

Kiemelkedően fontos hangsúlyozni, hogy egy világklasszis sportoló „születéséhez” számos genotípus kedvező kombinációja szükséges, hiszen ez természetesen egy poligénes meghatározottságú jelleg. Egy önálló gén polimorfizmus nem lehet felelős a sportsikerekért, viszont képes megváltoztatni az edzésre adott válasz minőségét, az adaptációs képességet, a teljesítményélettani határokat, tehát számtalan szempontból befolyásolhatja a fizikai teljesítőképességet.



## SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE

### A disszertációhoz kapcsolódó közlemények

**Bosnyák E**, Trájer E, Protzner A, Komka Zs, Györe I, Szmodis M, Tóth M (2016) Osteocalcin gene polymorphism and bone density in Hungarian athletes. *Anthropol Anz*, 10.1127/anthranz/2016/0594. **IF: 0.426**

**Bosnyák E**, Trájer E, Udvardy A, Komka Zs, Protzner A, Kováts T, Györe I, Tóth M, Pucsok J, Szmodis M (2015) ACE and ACTN3 genes polymorphisms among female Hungarian athletes in the aspect of sport disciplines. *Acta Physiologica Hungarica*, 102: 451–458. **IF: 0.814**

Velders M, Treff G, Machus K, **Bosnyák E**, Steinacker J, Schumann U. (2014) Exercise is a potent stimulus for enhancing circulating DNase activity. *Clin Biochem*.47:471-474. **IF: 2.275**

### Független közlemények

Zügel M, Qiu S, Laszlo R, **Bosnyák E**, Weigt C, Müller D, Diel P, Steinacker JM, Schumann U (2016) The role of sex, adiposity, and gonadectomy in the regulation of irisin secretion. *Endocrine*. [Epub ahead of print]. **IF: 3.279**

Szmodis M., **Bosnyák E.**, Protzner A., Szóts G., Trájer E., Tóth M. (2016) Bone characteristics, anthropometry and lifestyle in late adolescents. *Antropologische Anzeiger*. 73: 23–32. **IF: 0.426**

Trájer E, **Bosnyák E**, Komka Zs, Kováts T, Protzner A, Szmodis M, Tóth Sz, Udvardy A, Tóth M. (2015) Retrospective Study of the Hungarian National Transplant Team's Cardiorespiratory Capacity. *Transplantation Proceedings*, 47: 1600-1604.**IF: 0.867**

Protzner A, Szmodis M, Udvardy A, **Bosnyák E**, Trájer E, Komka Zs., Györe I, Tóth M. (2015) Hormonal Neuroendocrine and Vasoconstrictor Peptide Responses of Ball Game and Cyclic Sport Elite Athletes by Treadmill Test. *PLOS ONE* 10: e0144691. **IF: 3.057**

Lengyel C, Orosz A, Hegyi P, Komka Z, Udvardy A, **Bosnyák E**, Trájer E, Pavlik G, Tóth M, Wittmann T, Papp JG, Varró A, Baczkó I. (2011) Increased Short-Term Variability of the QT Interval in Professional Soccer Players: Possible Implications for Arrhythmia Prediction, *PLoS One*, 6: e18751. **IF: 4.092**