

Sprememba p.R577X gena *ACTN3* (rs1815739) je povezana s pojavnostjo poškodb slovenskih nogometašic

Variant p.R577X (rs1815739) in ACTN3 gene is associated with frequency of injuries in Slovenian female football players

Inge Sotlar¹, Tisa Podkrajšek¹, Tina Levstek¹, Katja Goričar¹, Vita Dolžan¹, Katarina Trebušak Podkrajšek^{1,2}

¹ Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta, Inštitut za biokemijo in molekularno genetiko

² Univerzitetni klinični center Ljubljana, Pediatrična klinika, Klinični inštitut za specialno laboratorijsko diagnostiko

Avtor za korespondenco:

izr. prof. dr. Katarina Trebušak Podkrajšek, spec. med. biokem., spec. lab. med. gen.

Medicinska fakulteta, Inštitut za biokemijo in molekularno genetiko, Vrazov trg 2, 1000 Ljubljana,

e-pošta: katarina.trebusakpodkrajsek@mf.uni-lj.si

POVZETEK

Alfa-aktinin-3 je protein, ki se izraža v hitrih mišičnih vlaknih tipa II. Sprememba NM_001104.4:c.1729C>T (p.R577X, rs1815739) gena *ACTN3* v homozigotni obliki zmanjšuje moč, mišično maso ter premer hitrih mišičnih vlaken. Pri športnikih je v homozigotni obliki lahko povezana z večjim tveganjem za poškodbe in daljšim okrevanjem po vadbi. Zato smo želeli oceniti vpliv p.R577X na poškodbe in igralni položaj slovenskih nogometašic. V študijo smo vključili 43 nogometašic, starih od 13 do 28 let (mediana = 16), ki so aktivno trenirale nogomet vsaj štiri leta. Genotipizacijo *ACTN3* p.R577X smo izvedli z metodo PCR in restrikcijsko analizo z encimom *DdeI* na vzorcu DNA, izolirane iz sline. Sprememba p.R577X je bila v homozigotni in heterozigotni obliki prisotena pri 58,1 % igralk, 41,9 % jih je imelo genotip RR. V zadnjih štirih le-

tih je imelo vsaj eno športno poškodbo 53,7 % preiskovank. V raziskavi nismo dokazali statistično značilnih povezav med genotipi *ACTN3* p.R577X in pojavnostjo poškodb ($p = 0,309$) ter med pojavnostjo poškodb in položajem igralke ($p = 0,830$) oziroma selekcijo, ki ji igralka pripada ($p = 0,427$). Potrdili pa smo povezavo med pojavnostjo poškodb in frekvencami posameznega alela ($p = 0,037$), pri čemer je alel X povezan z večjo pojavnostjo poškodb.

Ključne besede: *ACTN3*, p.R577X, nogometašice, športne poškodbe

ABSTRACT

Alpha-actinin-3 is a protein expressed in fast-twitch (type II) muscle fibres. *ACTN3* gene variant NM_001104.4:c.1729C>T (p.R577X, rs1815739) in a homozygous state reduces strength, muscle mass, and fast-twitch fibre diameter and was associated with a higher risk of sports injuries and longer exercise recovery. We aimed to evaluate the association of the p.R577X with injuries and player position in Slovenian female football players. The study group included 43 participants, with a median age of 16 (13–28) years, who had been actively training football for at least 4 years. *ACTN3* p.R577X genotyping was performed with PCR and *DdeI* restriction analysis on saliva DNA. p.R577X in the homozygous or heterozygous state was present in 58.1 % of the players,

while 41.9 % had normal genotype. 53.7 % had a four years history of at least one sports injury. In our study, no statistically significant association was found between *ACTN3* p.R577X genotypes and the presence of injuries ($p = 0.309$), nor between the presence of injuries and player position ($p = 0.830$) or age dependant category team ($p = 0.427$). However, we confirmed the association between the presence of injuries and the frequencies of each allele ($p = 0.037$), with the X allele being associated with a higher incidence of injuries.

Key words: *ACTN3*, p.R577X, female football players, sports injuries

UVOD

Genetsko testiranje omogoča opredelitev genetskih sprememb pri posamezniku, ki lahko vplivajo na razvoj bolezni ali na posameznikove lastnosti (1). V zadnjih 20 letih je bilo opravljenih precejšnje število raziskav, ki so preučevale vpliv genetske raznolikosti na področju vzdržljivosti v športu (2). Za genetsko testiranje na področju športa je veliko povpraševanje, saj je za starše in trenerje odločitev za usmeritev otrok v šport ali športno panogo, ki bi mu genetsko ustrezala, zelo privlačna (3).

Glavni izziv pri vprašanju, kako genetske spremembe vplivajo na športno vzdržljivost, je njihov vsestranski vpliv na delovanje organizma. Zaradi različnih sistemov (mišično-skeletni, kardiovaskularni, dihalni itd.), ki morajo v človeškem telesu delovati usklajeno, na vzdržljivost pri posameznem športu vplivajo številni dejavniki. Poleg različne telesne morfologije sta pri športnikih pomembna dejavnika vzdržljivosti predvsem aerobna vzdržljivost, ki omogoča dolgotrajne nizkointenzivne aktivnosti pri vzdržljivostnih športih (npr. tek, kolesarjenje), in mišična (fizična) moč, ki je ključna pri visokointenzivnih, eksplozivnih športih (npr. sprint, dvigovanje uteži). Pri nekaterih moštvenih športih, kot je npr. nogomet, pa sta za uspeh športnika pomembna tako moč in hitrost kot tudi vzdržljivost. Nogometno ekipo sestavlja enajst igralcev na različnih osnovnih igralnih položajih z različnimi igralnimi nalogami (vratarji, napadalci, branilci in vezisti). Pri tem določeni igralni položaji zahtevajo več mišične moči in hitrosti, drugi pa več

vzdržljivosti (4). Med dejavnike, ki vplivajo na uspešnost v športu, prištevamo tudi dovzetnost za poškodbe, zlasti poškodbe mišic (5, 6).

Eden najbolj raziskanih genov, povezanih z vzdržljivostjo, je gen *ACTN3*, ki ga imenujejo tudi »gen za hitrost«. Pri človeku vsebuje zapis za protein alfa-aktinin-3 (*ACTN3*) in se specifično izraža v hitrih mišičnih vlaknih tipa II. Protein *ACTN3* ima pomembno vlogo strukturne komponente Z-diska v sarkomerah (7). Pogosta sprememba gena *ACTN3* je p.R577X (rs1815739), ki povzroči spremembo kodona za arginin (R) v terminacijski kodon (X). V splošni svetovni populaciji je delež homozigotnih nosilcev 17,5 %, delež heterozigotnih nosilcev 48,7 % in delež oseb brez spremembe 33,8 % (8). Posledica prisotnosti te spremembe pri homozigotnih nosilcih z genotipom XX je odsotnost proteina *ACTN3* (9), kar vodi v nižji delež in manjši premer hitrih mišičnih vlaken (10). Tako naj bi imeli športniki z genotipom XX večjo mišično vzdržljivost, medtem ko naj bi imeli športniki z normalnim genotipom RR večjo mišično moč (11). Raziskave obenem kažejo, da ima sprememba p.R577X tudi vpliv na hitrost okrevanja po športni aktivnosti in na tveganje za športne poškodbe (2).

Namen naše raziskave je bil oceniti povezavo spremembe p.R577X v genu *ACTN3* s pogostostjo športnih poškodb pri mlajših slovenskih nogometašicah ter tudi igralnim položajem posamezne igralke in selekcijo, ki ji pripada. »

MATERIALI IN METODE

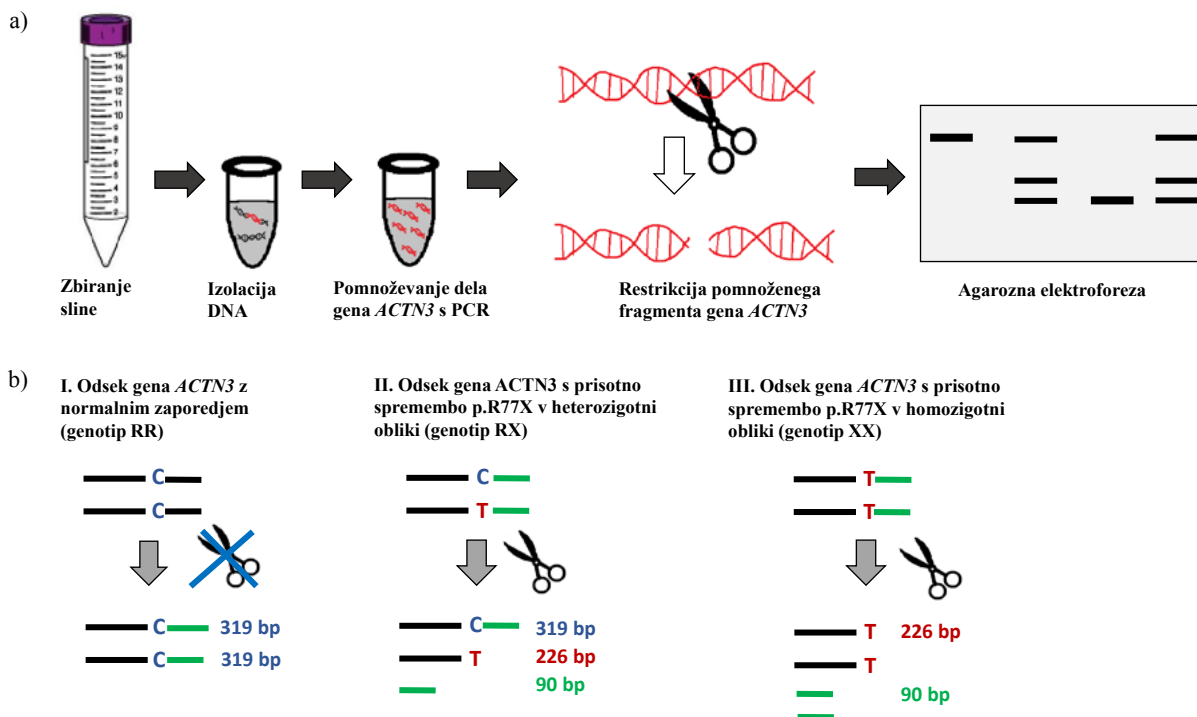
V raziskavo smo vključili nogometašice iz različnih slovenskih nogometnih klubov. K sodelovanju smo povabili nogometašice, ki so bile stare več kot 13 let in so aktivno trenirale nogomet vsaj štiri leta. Vsaka udeleženka raziskave, oziroma njen starš ali skrbnik v primeru mladoletnosti, je podala pisno soglasje za vključitev v raziskavo in izpolnila anketo o svojih osebnih podatkih, podatkih o aktivnem treniranju nogometa, igralnem položaju in številu ter tipu športnih poškodb. Raziskava je bila opravljena v skladu z načeli Helsinško-Tokijske deklaracije, protokol raziskave je odobrila Komisija Republike Slovenije za medicinsko etiko (št. 0120-428/2020/6).

Okvirni postopek analize za opredelitev spremembe p.R577X gena *ACTN3* je prikazan na Sliki 1a. Zbrani slini (1–2 mL) smo za stabilizacijo dodali reagent DNA/RNA Shield (Zymo Research, ZDA) in jo do izolacije genomske DNA (gDNA) hranili na $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. Za izolacijo smo uporabili reagenčni komplet Quick DNA Miniprep Plus Kit (Zymo Research, ZDA) po navodilih proizvajalca. Koncentracijo in čistost izolirane gDNA smo določili spektrofotometrično z aparatom NanoDrop One (Thermo Scientific, ZDA).

Pomnoževanje 319 bp velikega odseka gena *ACTN3* smo izvedli z verižno reakcijo s polimerazo (*angl.* polymerase

chain reaction, PCR), z uporabo smernega začetnega oligonukleotida 5'-ATAGGGATGGGAGGAAAACC-3' in protismernega začetnega oligonukleotida 5'-ATGTAGG-GATTGGTGAGCA-3'. Reakcijska mešanica za PCR je vsebovala 50–200 ng gDNA, 0,05 pM vsakega začetnega oligonukleotida in 25 μL reakcijskega pufra Platinum™ HotStart PCR Master Mix (Invitrogen, ZDA) v končnem volumnu 50 μL . Ciklično pomnoževanje s 35 cikli smo izvedli na GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems, ZDA) z naslednjimi koraki: denaturacija DNA pri $95\text{ }^{\circ}\text{C}$, prileganje začetnih oligonukleotidov pri $59\text{ }^{\circ}\text{C}$ in podaljševanje pri $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ (vsak po 30 s).

Prisotnost spremembe p.R577X gena *ACTN3* smo opredelili z restrikcijsko analizo glede na prisotnost (alel p.R577X) ali odsotnost (alel p.R577R) restrikcijskega mesta encima *DdeI* (NEB, Velika Britanija). Nastale fragmente, ki so shematsko prikazani na Sliki 1b, smo ločili na 2-odstotnem (m/V) agaroznem gelu v pufru TBE. V primeru nejasnih rezultatov restrikcije (pri 28 od 43 vzorcev) smo nukleotidna zaporedja restrikcijskih fragmentov dodatno preverili s sekvenciranjem po Sangerju. Pri tem smo uporabili sekvenčne reagente BigDye Terminator v3.1 in sekvenator ABI Genetic Analyser 3500 (oba Applied Biosystems, ZDA).



Slika 1: a) Shema postopka za opredelitev spremembe p.R577X gena *ACTN3* (rs1815739) in b) shema restrikcije pomnoženega odseka gena *ACTN3* z encimom *DdeI*, če je sprememba p.R577X prisotna ali odsotna.

Figure 1: a) Schematic presentation of the procedure for determining *ACTN3* p.R577X (rs1815739) variant and b) schematic presentation of cleavage of the *ACTN3* amplicon with the enzyme *DdeI* when p.R577X is present/absent.

Statistična analiza je bila opravljena s programom GraphPad Prism verzija 9.1.0 (San Diego, Kalifornija, ZDA). Igralke smo razdelili v dve skupini glede na prisotnost spremembe p.R577X gena *ACTN3* in primerjali nosilke vsaj enega polimorfnege alela z nosilkami dveh normalnih alelov. Kategorične spremenljivke smo podali s številom in relativno frekvenco, numerične pa z mediano in razponom. Za primerjavo porazdelitve števila po-

škodb glede na genotip smo uporabili Mann-Whitneyjev test. Za ugotavljanje povezanosti med kategoričnimi spremenljivkami smo uporabili hi-kvadrat test. Razmerje obov (OR) in 95-odstotni interval zaupanja (95 % CI) za OR smo izračunali s pomočjo programa MedCalc (dosegljiv na: https://www.medcalc.org/calc/odds_ratio.php), ki temelji na Altmanovi metodi. Pri vseh testih smo upoštevali stopnjo značilnosti $\alpha = 0,05$.

REZULTATI

V raziskavo smo vključili 43 slovenskih nogometašic, ki so bile stare od 13 do 28 let (mediana = 16) in so trenirale nogomet vsaj štiri leta. V članski ekipi je igralo 19 nogometašic, ostale pa so igrale v selekcijah U-17 ($n = 10$) in U-15 ($n = 14$). Frekvenca genotipa RR in genotipa XX je bila

pri naši populaciji nogometašic za približno 8 % večja, kot bi pričakovali glede na frekvenco alelov R in X, frekvenca genotipa RX pa je bila za približno 16 % nižja (Tabela 1). Kljub temu je število posameznih genotipov še vedno v Hardy-Weinbergovem ravnotežju ($p = 0,278$). »

Tabela 1: Opazovana in pričakovana frekvenca ter število genotipov spremembe p.R577X gena *ACTN3* glede na Hardy-Weinbergovo ravnotežje pri slovenskih nogometašicah ($n = 43$).

Table 1: Observed and expected p.R577X *ACTN3* genotype frequencies and numbers according to the Hardy-Weinberg equilibrium in Slovenian female football players ($n = 43$).

Genotip	Opazovana frekvenca (%)	Pričakovana frekvenca (%)	Opazovano število (n)	Pričakovano število (n)	Vrednost p
RR	41,9	33,8	18	15	0,278
RX	32,5	48,7	14	21	
XX	25,6	17,5	11	7	

Pojav vsaj ene poškodbe v preteklih štirih letih je navedlo 22 (53,7 %) preiskovank, od tega zvine, zlome, poškodbe mišic in ostale poškodbe. Od dveh nogometašic podatkov o poškodbah nismo dobili. Povprečno število poškodb v štiriletnem obdobju v celotni skupini je bilo 1,4 (mediana = 1), v skupini nogometašic, ki so imele poškodbo, pa 2,6 (mediana = 2). Največje število poškodb je bilo 9. Najpogostejše so bile poškodbe mišic. Med nogometašicami s

prisotno spremembo p.R577X jih je 60,0 % že utrpelo poškodbo, pri nogometašicah z genotipom RR pa je bilo že poškodovanih 43,4 %. Med posameznimi genotipi *ACTN3* ni bilo statistično značilnih razlik v pojavnosti ($p = 0,309$) ali številu poškodb ($p = 0,283$). Analiza frekvence alelov v povezavi s poškodbami pa je pokazala, da je alel X povezan z večjo pojavnostjo poškodb v primerjavi z alelom R ($p = 0,037$) (Tabela 2).

Tabela 2: Pojavnost poškodb pri slovenskih nogometašicah ($n = 41$) glede na genotip spremembe p.R577X gena *ACTN3* in frekvenco alelov R in X. Relativni delež pojavnosti poškodb je izračunan glede na število poškodb.

Table 2: Frequency of injuries in Slovenian female football players ($n = 41$) according to *ACTN3* p.R577X genotype and allele frequencies. The relative frequency was calculated according to the number of injuries.

Prisotnost poškodb (n)	Frekvenca genotipa n (%)		OR (95 % CI)	Vrednost p	Frekvenca alela n (%)		Vrednost p
	RR	RX in XX			R	X	
Ne (19)	9 (47,4)	10 (52,6)	1,93 (0,55–6,88)	0,309	26 (68,4)	12 (31,6)	0,037
Da (22)	7 (31,8)	15 (68,2)			20 (45,5)	24 (54,5)	
SKUPAJ	16 (39,0)	25 (61,0)			46 (56,1)	36 (43,9)	

Nadalje smo želeli preveriti, ali je analizirana sprememba v genu *ACTN3* povezana z igralnim položajem nogometašic, ki smo jih razvrstili v dve skupini. V prvo skupino smo razvrstili položaje, pri katerih sta najpomembnejši moč in hitrost (bočne branilke, krilne in osrednje napadalke), v drugo pa tiste, pri katerih je v večji meri pomembna vzdržljivost (osrednje branilke in vezne igralke). Vratark in igralck, ki so igrale na več različnih položajih, v anali-

zo nismo vključili. Med genotipom in igralnim položajem nismo ugotovili statistično značilne povezave ($p = 0,830$). Povezava tudi ni bila značilna pri upoštevanju frekvence posameznega alela ($p = 0,866$). Podatki so prikazani v Tabeli 3. Statistična analiza tudi ni pokazala povezave med igralnim položajem in pojavnostjo poškodb ($p = 0,598$).

Tabela 3: Igralni položaj slovenskih nogometašic ($n = 35$) glede na genotip spremembe p.R577X gena ACTN3 in frekvenco alelov R in X. Relativni delež je izračunan glede na število igralcev v posamezni skupini. Skupina 1: bočne branilke, krilne in osrednje napadalke, skupina 2: osrednje branilke in vezne igralke. Vratarke in igralke, ki igrajo na različnih položajih, niso bile vključene. Izračun razmerja obetov je bil narejen za skupino 1 v primerjavi s skupino 2.

Table 3: Playing positions of Slovenian female football players ($n = 35$) according to the ACTN3 p.R577X genotype and allele frequencies. The relative frequency was calculated according to the number of players in each group. Group 1: side defenders, wingers and center forwards; group 2: central defenders and midfielders. Goalkeepers and players, without constant playing position were not included in the analysis.

Igralni položaj (n)	Frekvencija genotipa n (%)		OR (95 % CI)	Vrednost p	Frekvencija alela n (%)		Vrednost p
	RR	RX in XX			R	X	
Skupina 1 (19)	9 (47,4)	10 (52,6)	0,86 (0,23–3,29)	0,830	23 (60,5)	15 (39,5)	0,866
Skupina 2 (16)	7 (43,8)	9 (56,2)			20 (62,5)	12 (37,5)	
SKUPAJ	16 (45,7)	19 (54,3)			43 (61,4)	27 (38,6)	

V Tabeli 4 so prikazane frekvence genotipov in alelov glede na selekcijo, v kateri so nogometašice igralce ob vključitvi v študijo. Najvišji delež genotipa RR smo opazili pri članicah (52,6 %). Pojavnost genotipa XX je bila najnižja

v selekciji U-17 (10 %). Frekvence genotipov se med selekcijami niso statistično značilno razlikovale ($p = 0,427$), prav tako ni bilo razlik v frekvenci alelov ($p = 0,836$).

Tabela 4: Primerjava selekcij glede na genotip spremembe p.R577X gena ACTN3 in frekvenco alelov R in X ($n = 43$). Relativni delež je izračunan glede na število igralcev v posamezni selekciji.

Table 4: Genotype and allele frequencies ACTN3 p.R577X in age-dependent category teams of Slovenian female football players ($n = 43$). The relative frequency was calculated according to the number in each team.

Selekcija (n)	Frekvencija genotipa n (%)		OR (95 % CI)	Vrednost p	Frekvencija alela n (%)		Vrednost p
	RR	RX in XX			R	X	
U-15 (14)	5 (35,7)	9 (64,3)	2,00 (0,49–8,24)	0,427	15 (53,6)	13 (46,4)	0,836
U-17 (10)	3 (30,0)	7 (70,0)	2,59 (0,51–13,2)		12 (60,0)	8 (40,0)	
Članice (19)	10 (52,6)	9 (47,4)	referenčna skupina		23 (60,5)	15 (39,5)	
SKUPAJ	18 (41,9)	25 (58,1)			50 (58,1)	36 (41,9)	

»

RAZPRAVA

ACTN3 je prvi gen, za katerega je bila dokazana povezava med genotipom in športno zmogljivostjo (2). V preteklosti so spremembo p.R577X gena *ACTN3* povezovali predvsem z mišično močjo (12) in statusom vrhunskih športnikov pri visokointenzivnih športih (13). Danes pa jo povezujejo tudi z dovzetnostjo za pojav športnih poškodb in sposobnostjo regeneracije po športni aktivnosti (14, 15). Namen raziskave je bil pri slovenskih nogometašicah analizirati pojavnost genotipa spremembe p.R577X gena *ACTN3* ter frekvenc posameznih alelov v povezavi s pojavnostjo športnih poškodb, igralnim položajem in selekcijo nogometašice. Gre za prvo raziskavo, ki ugotavlja pomen genetskih dejavnikov pri slovenskih nogometašicah, pri kateri smo ugotovili, da sprememba p.R577X gena *ACTN3* vpliva na pojavnost poškodb.

Genetska raznolikost profesionalnih nogometašev je odvisna od populacije, ki ji pripadajo (16, 17). V populaciji afriškega porekla je namreč ne glede na športni status frekvenca genotipa RR (~78 %) višja in genotipa XX (~1 %) značilno nižja (18, 19) v primerjavi z ocenjeno frekvenco pri svetovni populaciji (RR ~40 %, XX ~18 %) (8). Tudi naši rezultati se kar dobro ujemajo z ocenjeno frekvenco genotipov pri svetovni populaciji, zanimivo pa je genotip XX v naši populaciji nogometašic celo malo bolj pogost (~8 %). V raziskavi je bil torej najpogostejši genotip RR, kar je v skladu s še nekaterimi drugimi raziskavami (16, 20, 21). Nekatere izmed njih prav tako niso vključevale samo profesionalnih nogometašev. Pri majhni raziskavi na 27 srbskih nogometašicah, starih od 16 do 18 let, je bil s 57 % prevladujoč genotip RX (21). Tudi v številnih drugih raziskavah, ki so vključevale profesionalne nogometaše, so poročali, da je najpogostejši genotip RX (17, 23–25). Namreč, nogomet je zelo kompleksen šport, ki poleg vzdržljivostne komponente vključuje tudi ponavljajoče visokointenzivne napore (26). Ker se mišična sestava in s tem zmogljivost med različnimi genotipi razlikuje, je pričakovano, da bi se na to situacijo najbolje prilagodili posamezniki z genotipom RX (25). Ugotovili so, da genotip RX deluje zaščitno pri poškodbi mehkih tkiv, medtem ko so pri posameznikih z genotipom XX poškodbe pogostejše (23). Teoretično lastnosti posameznikov z genotipom XX manj ustrezajo fizičnim zahtevam pri igri nogometa prav zaradi eksplozivnih mišičnih naporov (11, 14, 27).

Čeprav je bilo v naši raziskavi največ poškodb pri nogometašicah z genotipom XX, statistična analiza ni pokazala značilnih povezav med genotipi p.R577X gena *ACTN3* in pojavnostjo poškodb, kar bi bila lahko posledica tega, da smo zaradi majhnega števila analizo naredili glede na prisotnost oz. odsotnost spremembe. Kljub temu pa smo dokazali statistično značilno večjo pojavnost poškodb pri nogometašicah z alelom X. V prihodnosti bi bilo zato smiselno nadgraditi raziskavo z analizo večjega števila preiskovank, s katero bi lahko preučevali vpliv vsakega od treh genotipov. Genotip RR je bil najpogostejši pri članicah, prav tako je bil ta genotip pri članicah najbolj zastopan v primerjavi z genotipoma RX in XX. To bi lahko nakazovalo na to, da nogometašice, ki imajo alel X, zaradi pogostejših poškodb prej opustijo treniranje nogometa. Do takšne ugotovitve je prišla tudi raziskava na populaciji brazilskih nogometašev (17). Pokazali so namreč, da je frekvenca genotipa RX pri profesionalnih nogometaših v primerjavi s selekcijo U-14 višja, medtem ko je bil genotip XX manj pogost pri profesionalnih igralcih v primerjavi s selekcijo U-20 oziroma U-15 (17). Sprememba p.R577X gena *ACTN3* je bila pri nogometaših povezana tako s pogostostjo kot tudi resnostjo poškodb (15).

Pogostost posameznih alelov *ACTN3* se razlikuje med različnimi športi. Alel p.R577R je pogostejši pri posameznikih, ki se ukvarjajo z eksplozivnimi športi (11, 14), medtem ko je pri posameznikih, ki se ukvarjajo z vzdržljivostnimi športi, pogostejši alel p.R577X (11, 14). Metaanaliza 23 raziskav, ki so vključevale tako vzdržljivostne športnike kot tudi športnike, ki se ukvarjajo z eksplozivnimi športi, je pokazala, da je alel p.R577R pogostejši pri slednjih (28). Do enakih zaključkov je prišla tudi metaanaliza raziskav, ki so preučevale le posameznike v eksplozivnih športih (29). Pri nogometu je zaradi različnih igralnih položajev, ki zahtevajo različne sposobnosti igralcev, smiselno pričakovati genetske razlike glede na igralni položaj. Šele pred kratkim je bila izvedena prva taka raziskava, pri kateri so na manjši skupini profesionalnih španskih nogometašev dokazali razliko v porazdelitvi alelov glede na igralni položaj, medtem ko razlika ni bila značilna pri porazdelitvi genotipov (25). V naši raziskavi statistično pomembne povezave nismo dokazali niti pri porazdelitvi genotipov niti porazdelitvi alelov. To je na nek način tudi pričakovano, saj smo v raziskavo vključili tudi nogometašice, ki igrajo v mlajših selekcijah, pri katerih prihaja tudi še do menjav igralnega položaja, da se ugotovi, kje ima igralka največji potencial.

Vloga genetskega testiranja v športu trenutno še nima jasnega mesta, predvsem zaradi etičnih pomislekov in nezadostnega poznavanja dejavnikov, ki vplivajo na športni uspeh (30). Trenutno genetski testi otrok in mladostnikov z namenom iskanja talentov in individualizacijo treninga niso priporočljivi (31, 32). Zaradi dostopnosti komercialnih genetskih testov neposredno naročnikom (*angl.* Direct to Consumer genetic testing) se ti v praksi pri odraslih pogosto uporabljajo. Dejstvo pa je, da bi bilo prav prepoznavanje nagnjenosti za športne poškodbe v prihodnosti morda smiselno, saj bi omogočilo njihovo aktivnejše preprečevanje. Vsekakor pa bi bilo za zanesljivejšo napoved treba v analizo vključiti večje število genetskih dejavnikov.

ZAKLJUČEK

Genetska različnost pomembno vpliva na posameznikovo uspešnost pri športu. V zadnjih desetih letih so raziskave, ki preučujejo genetsko raznolikost pri igralcih nogometa, doživele pravi razcvet (2). Vsekakor pa na uspešnost v posameznem športu, vzdržljivost in pogostost poškodb vplivajo tudi negenetski dejavniki, zato je pomembno, da raziskave vključujejo tudi te. Najpogosteje raziskovani gen pri nogometaših v povezavi s športno uspešnostjo je *ACTN3* (2). V naši raziskavi smo ugotovili povezavo med porazdelitvijo alelov in pojavnostjo poškodb pri mladih slovenskih nogometašicah, s čimer smo potrdili predhodne

Največja omejitev naše raziskave je bila majhno število vključenih nogometašic, zato bodo v prihodnosti potrebne dodatne raziskave za potrditev rezultatov na večji skupini. Poleg tega zaradi mladosti nogometašic sam vpliv spremembe najverjetneje še ni prišel popolnoma do izraza, predvsem glede na igralni položaj. Zanimivo bi bilo ugotoviti tudi delež te spremembe pri profesionalnih igralcih nogometa in njeno povezavo s pojavnostjo poškodb ter igralnim položajem in tudi preučiti morebitne razlike med nogometaši in nogometašicami.

Ugotovitve, da je sprememba p.R557X povezana z večjo pojavnostjo poškodb. Povezave med igralnim položajem in pojavnostjo spremembe nismo potrdili, kar je nekako pričakovano, saj so nekatere vključene nogometašice šele na začetku kariere. Z intenzivnim raziskovanjem na področju športne genetike lahko v prihodnosti, kljub etičnim pomislekom, pričakujemo porast genetskega testiranja z namenom ugotavljanja predispozicij in sposobnosti posameznika ter seveda nagnjenosti k športnim poškodbam in njihovemu aktivnemu preprečevanju.

FINANCIRANJE

Raziskava je potekala v sklopu raziskovalnega programa P1-0170, ki ga financira Javna agencija za raziskovalno dejavnost Republike Slovenije.

LITERATURA

1. Slavec L, Geršak K, Karas Kuželički N, Trebušak Podkrajšek K. Human Genetic Variants and Their Analysis: Current State and Future Perspectives. *Slovenska pediatrija*. 2020;27(4):163–71.
2. McAuley ABT, Hughes DC, Tsaprouni LG, Varley I, Suraci B, Roos TR, et al. Genetic association research in football: A systematic review. *Eur J Sport Sci*. 2020;1–39.
3. Lippi G, Longo UG, Maffulli N. Genetics and sports. *Br Med Bull*. 2010;93(1):27–47.
4. Schwesig R, Schulze S, Reinhardt L, Laudner KG, Delank K-S, Hermassi S. Differences in Player Position Running Velocity at Lactate Thresholds Among Male Professional German Soccer Players. *Front Physiol*. 2019;10:886. >>

5. Bouchard C. Genomic predictors of trainability. *Exp Physiol*. 2012;97(3):347–52.
6. Guth LM, Roth SM. Genetic influence on athletic performance. *Curr Opin Pediatr*. 2013;25(6):653–8.
7. Seto JT, Lek M, Quinlan KGR, Houweling PJ, Zheng XF, Garton F, et al. Deficiency of α -actinin-3 is associated with increased susceptibility to contraction-induced damage and skeletal muscle remodeling. *Hum Mol Genet*. 2011;20(15):2914–27.
8. Auton A, Abecasis GR, Altshuler DM, Durbin RM, Abecasis GR, Bentley DR, et al. A global reference for human genetic variation. *Nature*. 2015;526(7571):68–74.
9. North K. Why is alpha-actinin-3 deficiency so common in the general population? The evolution of athletic performance. *Twin Res Hum Genet*. 2008;11(4):384–94.
10. Vincent B, De Bock K, Ramaekers M, Van den Eede E, Van Leemputte M, Hespel P, et al. ACTN3 (R577X) genotype is associated with fiber type distribution. *Physiol Genomics*. 2007;32(1):58–63.
11. Yang N, MacArthur DG, Gulbin JP, Hahn AG, Beggs AH, Eastel S, et al. ACTN3 genotype is associated with human elite athletic performance. *Am J Hum Genet*. 2003;73(3):627–31.
12. Kikuchi N, Nakazato K, Min S, Ueda D, Igawa S. The ACTN3 R577X polymorphism is associated with muscle power in male Japanese athletes. *J Strength Cond Res*. 2014;28(7):1783–9.
13. Alfred T, Ben-Shlomo Y, Cooper R, Hardy R, Cooper C, Deary IJ, et al. ACTN3 genotype, athletic status, and life course physical capability: meta-analysis of the published literature and findings from nine studies. *Hum Mutat*. 2011;32(9):1008–18.
14. Pimenta EM, Coelho DB, Veneroso CE, Barros Coelho EJ, Cruz IR, Morandi RF, et al. Effect of ACTN3 gene on strength and endurance in soccer players. *J Strength Cond Res*. 2013;27(12):3286–92.
15. Massidda M, Voisin S, Culigioni C, Piras F, Cugia P, Yan X, et al. ACTN3 R577X Polymorphism Is Associated With the Incidence and Severity of Injuries in Professional Football Players. *Clin J Sport Med*. 2019;29(1):57–61.
16. Egorova ES, Borisova AV, Mustafina LJ, Arkhipova AA, Gabbasov RT, Druzhevskaya AM, et al. The polygenic profile of Russian football players. *J Sports Sci*. 2014;32(13):1286–93.
17. Coelho D, Pimenta E, Rosse I, de Castro B, Becker L, de Oliveira E, et al. Evidence for a Role of ACTN3 R577X Polymorphism in Football Player's Career Progression. *Int J Sports Med*. 2018;39(14):1088–93.
18. Yang N, MacArthur DG, Wolde B, Onyewera VO, Boit MK, Lau SYM-A, et al. The ACTN3 R577X polymorphism in East and West African athletes. *Med Sci Sports Exerc*. 2007;39(11):1985–8.
19. Scott RA, Irving R, Irwin L, Morrison E, Charlton V, Austin K, et al. ACTN3 and ACE Genotypes in Elite Jamaican and US Sprinters. *Med Sci Sports Exerc*. 2010;42(1):107–112.
20. Galeandro V, Notarnicola A, Bianco A, Tafuri S, Russo L, Pesce V, et al. ACTN3/ACE genotypes and mitochondrial genome in professional soccer players performance. *J Biol Regul Homeost Agents*. 2017;31(1):207–13.
21. Pimenta EM, Coelho DB, Cruz IR, Morandi RF, Veneroso CE, de Azambuja Pussieldi G, et al. The ACTN3 genotype in soccer players in response to acute eccentric training. *Eur J Appl Physiol*. 2012;112(4):1495–503.
22. Jeremic D, Macuzic IZ, Vulovic M, Stevanovic J, Radovanovic D, Varjacic V, et al. ACE/ACTN3 Genetic Polymorphisms and Athletic Performance of Female Soccer Players. *Rev Bras Med Esporte*. 2019;25(1):35–9.
23. Clos E, Pruna R, Lundblad M, Artells R, Esquirol Caussa J. ACTN3 single nucleotide polymorphism is associated with non-contact musculoskeletal soft-tissue injury incidence in elite professional football players. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2019;27(12):4055–61.
24. Jacob Y, Anderton RS, Cochrane Wilkie JL, Rogalski B, Laws SM, Jones A, et al. Association of Genetic Variances in ADRB1 and PPARGC1a with Two-Kilometre Running Time-Trial Performance in Australian Football League Players: A Preliminary Study. *Sports*. 2021;9(2):22.
25. Clos E, Pruna R, Lundblad M, Artells R, Maffulli N. ACTN3's R577X Single Nucleotide Polymorphism Allele Distribution Differs Significantly in Professional Football Players according to Their Field Position. *Med Princ Pract*. 2021;30(1):92–7.
26. Taylor JB, Wright AA, Dischiavi SL, Townsend MA, Marmon AR. Activity Demands During Multi-Directional Team Sports: A Systematic Review. *Sports Med*. 2017;47(12):2533–51.
27. Weyerstraß J, Stewart K, Wesselius A, Zeegers M. Nine genetic polymorphisms associated with power athlete status - A Meta-Analysis. *J Sci Med Sport*. 2018;21(2):213–20.
28. Ma F, Yang Y, Li X, Zhou F, Gao C, Li M, et al. The association of sport performance with ACE and ACTN3 genetic polymorphisms: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2013;8(1):e54685.
29. Tharabenjasin P, Pabalan N, Jarjanazi H. Association of the ACTN3 R577X (rs1815739) polymorphism with elite power sports: A meta-analysis. *PLoS One*. 2019;14(5):e0217390.
30. Pickering C, Kiely J, Grgic J, Lucia A, Del Coso J. Can Genetic Testing Identify Talent for Sport? *Genes (Basel)*. 2019;10(12):972.
31. Vlahovich N, Fricker PA, Brown MA, Hughes D. Ethics of genetic testing and research in sport: a position statement from the Australian Institute of Sport. *Br J Sports Med*. 2017;51(1):5–11.
32. Webborn N, Williams A, McNamee M, Bouchard C, Pitsiladis Y, Ahmetov I, et al. Direct-to-consumer genetic testing for predicting sports performance and talent identification: Consensus statement. *Br J Sports Med*. 2015;49(23):1486–91.