

علوم زیستی ورزشی - زمستان ۱۴۰۰  
دوره ۱۳، شماره ۴، ص: ۴۰۵ - ۳۹۹  
نوع مقاله: علمی - پژوهشی  
تاریخ دریافت: ۱۳۹۹ / ۱۱ / ۲۷  
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰ / ۰۲ / ۱۳

## شناسایی واریانت‌های جدید در ژن‌های مرتبط با قدرت عضلانی در یک وزنه‌بردار نخبه با استفاده از روش توالی‌یابی کل اگزو: یک گزارش موردی

بهمن ابراهیمی ترکمانی<sup>۱</sup> - معرف سیاه کوهیان\*<sup>۲</sup> - علی خازنی<sup>۳</sup> - سجاد  
انوشیروانی<sup>۴</sup> - لطفعلی بلبلی<sup>۵</sup> - فاطمه اسدی<sup>۶</sup>

۱. دانشجوی دکتری، گرایش فیزیولوژی ورزشی قلب و عروق و تنفس، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه  
محقق اردبیلی، اردبیل، ایران ۲. استاد، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران  
۳. استاد یار، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران ۴. استاد یار، گروه تربیت بدنی  
و علوم ورزشی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران ۵. دانشیار، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه  
محقق اردبیلی، اردبیل، ایران ۶. دکتری، گروه ژنتیک، دانشگاه آزاد علوم و تحقیقات فارس، شیراز، ایران

### چکیده

فاکتورهای ژنتیکی نقش مهمی در عملکرد ورزشی و فنوتیپ‌های مرتبط با آن مانند قدرت، توان و ظرفیت هوایی دارند. توالی‌یابی کل اگزوم پتانسیل زیادی برای شناسایی واریانت‌های مولکول دنوکسی‌ریبونوکلئیک اسید (DNA) مرتبط با عملکرد جسمانی دارد. با وجود این در تحقیقات ژنتیک ورزشی هنوز از این تکنیک جدید استفاده نشده است. بنابراین هدف از تحقیق حاضر گزارش واریانت‌های جدید در ژن‌های درگیر در قدرت عضلانی در یکی از قهرمانان وزنه‌برداری جهان با استفاده از روش توالی‌یابی کل اگزوم بود. پس از اخذ رضایت‌نامه کتبی از یکی از ورزشکاران عضو تیم ملی وزنه‌برداری مردان، ۵ سی‌سی خون دریافت شد و پس از استخراج DNA از نمونه خون، با استفاده از روش توالی‌یابی کل اگزوم بررسی شد. نتایج توالی‌یابی کل اگزوم جهش‌های بدمعنی ( $G>230845794A$  و  $A>230845977G$ ) در ژن آنژیوتانسین (AGT) و همچنین جهش‌های ( $A>148206440G$  و  $C>148206473G$ ) را در ژن گیرنده بتا-۲ آدرنرژیک (ADRB2) نشان داد. نتایج تجزیه و تحلیل توالی‌یابی کل اگزوم واریانت‌های جدیدی را در ژن‌های مرتبط با قدرت و توان در این ورزشکار نشان داد. تحقیقات بیشتر با حجم نمونه زیاد به منظور بررسی ارتباط این واریانت‌ها با عملکرد ورزشکاران قدرتی مورد نیاز است.

### واژه‌های کلیدی

ژن AGT، فعالیت جسمانی، قدرت عضلانی، وزنه‌بردار، هیپرتروفی عضلانی.

## مقدمه

عملکرد ورزشی ویژگی پیچیده‌ای است که تحت تأثیر عوامل ژنتیکی و محیطی قرار دارد. در دو دهه گذشته، شواهد قانع‌کننده‌ای در خصوص ارتباط بین برخی ژن‌ها با عملکرد ورزشی به دست آمده است (۱، ۲). مطالعات گسترده در سراسر جهانی نشان می‌دهد عناصر ژنتیکی تأثیر زیادی بر اجزای عملکرد ورزشی همچون استقامت، قدرت، توان، انعطاف‌پذیری، هماهنگی عصبی عضلانی، ویژگی‌های روان‌شناختی و سایر ویژگی‌های مهم در ورزش دارند (۳). تحقیقات نشان می‌دهد برخی از ژن‌های تنظیم‌کننده سیستم رنین آنژیوتانسین با قدرت عضلانی ارتباط معناداری دارند. سیستم رنین آنژیوتانسین (RAS) یکی از سیستم‌های هورمونی است که وظیفه کنترل حجم خون، عملکرد سیستم گردش خون و فشار خون را بر عهده دارد. سیستم رنین آنژیوتانسین همچنین با تنظیم پرفیوژن<sup>۱</sup> موضعی، که می‌تواند فعالیت متابولیکی را تعدیل کند، عملکرد عضلات اسکلتی را کنترل می‌کند. تأثیرگذارترین عامل در سیستم رنین آنژیوتانسین، آنژیوتانسین II است که منقبض‌کننده قوی عروق<sup>۲</sup> و محرک آلدوسترون است که فشار خون، تعادل مایعات و الکترولیت‌ها را کنترل می‌کند. آنژیوتانسین II علاوه بر تنظیم فشار خون، ممکن است بر عملکرد عضلات اسکلتی هم تأثیر بگذارد (۴). پژوهش‌های صورت‌گرفته نشان می‌دهد برخی از ژن‌هایی که در کنترل فشار خون نقش دارند، در عملکرد عضلات اسکلتی هم نقش دارند. در این زمینه ژینوسین<sup>۳</sup> و همکاران (۲۰۱۶) تأثیر ژنوتیپ‌های مختلف ژن ACE در عملکرد ورزشکاران قدرتی و توانی را گزارش کردند (۵). زاربسکا<sup>۴</sup> و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند ژنوتیپ CC در پلی‌مورفیسم M۲۳۵T ژن AGT در ورزشکاران قدرتی لهستان بیش از حد بیان می‌شود که نشان‌دهنده ارتباط مثبت واریانت M۲۳۵T با عملکرد ورزشکاران قدرتی است (۶). همچنین کلی<sup>۵</sup> و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کردند در افراد سالم واریانت‌های ژن ADRB۲ ممکن است عامل ژنتیکی مهمی در میزان قدرت عضلانی باشد (۷). از طرف دیگر، با وجود وراثت‌پذیری نسبتاً بالای عملکردهای مرتبط با قدرت و توان عضلانی، تاکنون ۷۰ پلی‌مورفیسم ژنی در ارتباط با عملکرد ورزشکاران قدرتی شناسایی شده است و جست‌وجوی واریانت‌های ژنتیکی که زمینه‌ساز موفقیت در انواع خاصی از رشته‌های ورزشی‌اند، کار چالش‌برانگیزی است (۸). در

- 
۱. perfusion
  ۲. Potent vasoconstrictor
  ۳. Gineviciene
  ۴. Zarebska
  ۵. Kelley

دهه اخیر با ظهور تکنولوژی توالی‌یابی نسل جدید<sup>۱</sup> (NGS)، توالی‌یابی ژن‌ها و شناسایی واریانت‌ها وارد عرصه جدیدی شده است. فناوری توالی‌یابی کل اگزوم<sup>۲</sup> (WES) امکان شناسایی انواع جهش در ژن‌هایی را که قبلاً با فعالیت ورزشی در ارتباط بودند، فراهم کرده است، اما در حیطه علوم ورزشی استفاده از این روش به‌منظور شناسایی واریانت‌های جدید در ژن‌های مرتبط با فعالیت ورزشی هنوز گزارش نشده است. بنابراین هدف از تحقیق حاضر گزارش واریانت‌های جدید در ژن‌های ADRB2 و AGT در ژنوم از قهرمانان وزنه‌برداری جهان با استفاده از روش توالی‌یابی کل اگزوم است.

### روش تحقیق

تحقیق حاضر در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی اردبیل (IR.ARUMS.REC.۱۳۹۸,۵۴۸) تأیید شد. پس از اخذ رضایت‌نامه کتبی از یک وزنه‌بردار مرد نخبه ۳۲ ساله (وزن ۱۶۰/۳ کیلوگرم، قد ۱۹۰/۱ سانتی‌متر) که در تمام رده‌های سنی عضو تیم ملی وزنه‌برداری بوده، همچنین موفق به کسب ۶ مدال طلا و ۲ مدال نقره در رده‌های سنی مختلف در گروه وزنی ۱۰۵+ در مسابقات جهانی و آسیایی شده است، مقدار ۵ میلی‌لیتر نمونه خونی به‌منظور توالی‌یابی کل اگزوم گرفته شد.

پس از کسب رضایت‌نامه کتبی، ۵ میلی‌لیتر خون از نمونه مورد بررسی گرفته شد و در لوله آزمایش حاوی EDTA ریخته شد. ابتدا DNA ژنومی از خون آزمودنی با استفاده از کیت GeNET Bio مطابق با دستورالعمل استخراج شد. برای بررسی ژن‌ها، توالی‌یابی نسل جدید<sup>۳</sup> (NGS) به کار گرفته شد. نواحی کدینگ و نواحی اینترون/اگزون کل ژن‌ها با استفاده از کیت SureSelect V4 kit (Agilent, Santa Clara, CA) کپیچر شدند، سپس کتابخانه‌های کپیچر شده با سیستم Illumina Hiseq4000 (Illumina) (Illumina, San Diego, CA, USA) Inc. فراهم شده توسط انستیتو ژنوم پکن<sup>۴</sup> توالی‌یابی شد. سپس اطلاعات خام حاصل از توالی‌یابی، با مرجع ژنوم انسان (GRCh37/hg19) با کاربرد BWA-0,7,15 هم‌تراز شدند. سپس از ابزار Picard (<https://github.com/broadinstitute/picard>) به‌منظور حذف خوانش‌های مضاعف استفاده شد. پس از آن فراخوانی واریانت‌ها با کیت آنالیز ژنوم GTAK<sup>۵</sup> انجام گرفت که در آن با نرم‌افزارهای

۱. Next-Generation Sequencing.

۲. Whole Exome Sequencing.

۳. Next Generation Sequencing

۴. Beijing Genomics Institute

۵. Genome Analysis Tool Kit

خاص اطلاعات طبقه‌بندی و فهرست‌سازی شد. پس از طبقه‌بندی، فرایند یافتن واریانت اصلی برای هر دو نوع مضاعف‌شدگی/حذف‌شدگی<sup>۱</sup> (Indel) و واریانت‌های تک‌نوکلئوتیدی (SNV) با نرم‌افزارهای مربوطه انجام گرفت. سپس نرم‌افزار ANNOVAR (<http://annovar.openbioinformatics.org>) برای تفسیر مناسب واریانت‌ها به کار برده شد.

سپس واریانت‌هایی با فراوانی آلل بیشتر از ۱٪ مطابق با پایگاه‌های داده‌های نوکلئوتید مانند dbSNP (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>) و هزاره ژنوم (<https://www.internationalgenome.org/>) به‌عنوان پلی‌مورفیسم جداسازی (فیلتر) شدند.

جدول ۱. واریانت‌های جدید شناسایی شده در ژن‌های AGT و ADRB2 در نمونه مورد بررسی با استفاده از WES

gene	rs number	Protein change	Genomic change		ExAC Frequencies	SIFT	Mutation taster	MAF
AGT	rs۶۹۹	p.N1۶۰ S	Chr1:g. ۲۳۰۸۴۵۷۹۴A> G	Exonic	۰.۵۴۸۴	T	P	۰.۴۵۳ ۳۷
AGT	rs۴۷۶۲	p.T۲۸۱ M	Chr1:g. ۲۳۰۸۴۵۹۷۷G> A	Exonic	۰.۱۲۳	D	P	۰.۱۲۳ ۳۶
ADR B2	rs1۰۴۲۷ ۱۳	p.G1۶ R	Chr5:g.۱۴۸۲۰ ۶۴۴۰G>A	Exonic	۰.۴۲۰۴	T	P	۰.۳۸۴ ۴۱
ADR B2	rs1۰۴۲۷ ۱۴	p.E۲۷Q	Chr5:g.۱۴۸۲۰ ۶۴۷۳G>C	Exonic	۰.۶۸۳۴	T	P	۰.۳۹۲ ۸۰

## بحث و نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از توالی‌یابی کل اگزوم نشان‌دهنده وجود جهش‌های بدمعنی (G>A ۲۳۰۸۴۵۷۹۴A) و (A>G ۲۳۰۸۴۵۹۷۷G) در ژن AGT بود. AGT از اجزای مهم سیستم رنین است. AGT یک گلیکوپروتئین کروی است که توسط ژن AGT کدگذاری می‌شود و در کروموزوم ۱q۴۲ قرار دارد. از آنجا که به‌نظر می‌رسد غلظت آنژیوتانسینوزن محدودیتی در میزان تولید آنژیوتانسین I و II پلاسما ایجاد می‌کند، بنابراین غلظت آنژیوتانسینوزن داخل بدن ممکن است برای فعال‌سازی سیستم رنین آنژیوتانسین از اهمیت

۱. insertion/deletion

زیادی برخوردار باشد (۹). گومز گالگو<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۰۹) ژنوتیپ و فراوانی آلل AGT Met<sup>۲۳۵</sup>Thr را در گروهی از ورزشکاران نخبه استقامتی، قدرتی و افراد غیرورزشکار قفقاز مقایسه و گزارش کردند ورزشکاران قدرتی رده جهانی درصد زیادی از ژنوتیپ Thr/Thr نسبت به ورزشکاران استقامتی و افراد غیرورزشکار داشتند (۱۰). در تحقیق دیگری آلوز<sup>۲</sup> و همکاران (۲۰۰۹) ارتباط معناداری بین پلی‌مورفیسم Met<sup>۲۳۵</sup>Thr با افزایش شاخص توده بطن چپ در جوانان سالم پس از چهار ماه تمرین ورزشی گزارش کردند. آنها همچنین گزارش کردند شاخص توده بطن چپ افراد با ژنوتیپ Thr/Thr به‌طور معناداری از ژنوتیپ‌های Met/Thr و Met/Met بزرگ‌تر است (۱۱). بنابراین به نظر می‌رسد که آلل Thr<sup>۲۳۵</sup> پلی‌مورفیسم AGT Met<sup>۲۳۵</sup>Thr می‌تواند عملکرد ورزشکاران قدرتی را تحت تأثیر قرار دهد که این مسئله به دلیل فعالیت بیشتر آنژیوتانسین II است که به‌عنوان یک عامل رشد در عضلات اسکلتی عمل می‌کند (۴).

از دیگر نتایج تحقیق حاضر وجود جهش‌های بدمعنی (A>G ۱۴۸۲۰۶۴۴۰ و C>G ۱۴۸۲۰۶۴۳۳) در ژن ADRB<sub>2</sub> این وزنه‌بردار نخبه بود. گیرنده بتا-۲ آدرنرژیک یا ADRB<sub>2</sub> یکی دیگر از ژن‌های است که به دلیل ارتباط آن با قدرت عضلانی بیشتر مورد توجه محققان علوم ورزشی قرار گرفته است (۱۲). گیرنده بتا-۲ آدرنرژیک علاوه بر کنترل فشار خون در تنظیم سیستم قلبی-عروقی، ریوی، غدد درون‌ریز و سیستم عصبی مرکزی نیز نقش دارد و در بسیاری از سلول‌های بدن انسان بیان می‌شود (۴). تحقیقات گوناگون ارتباط بین برخی از پلی‌مورفیسم‌های این ژن را با قدرت عضلانی ورزشکاران نشان داده‌اند (۴، ۱۳). در این زمینه ساوچوک<sup>۳</sup> و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند آلل Gly<sup>۱۶</sup> و واریانت Glu<sup>۲۷</sup> پلی‌مورفیسم Gln<sup>۲۷</sup>Glu در ورزشکاران قدرتی/توانی لهستان نسبت به افراد غیرورزشکار بیشتر بیان می‌شود (۱۳). مهم‌ترین محدودیت تحقیق حاضر تعداد کم نمونه است که در ابتدا قصد داشتیم تحقیق را با تعداد بیشتری از ورزشکاران نخبه قدرتی انجام دهیم، ولی با توجه به اپیدمی کرونا در کشور و محدودیت‌های ناشی از آن و همچنین عدم همکاری ورزشکاران نخبه در این شرایط، در نهایت یک نفر از ورزشکاران تیم ملی وزنه‌برداری حاضر به همکاری شد که نتایج آن به‌صورت گزارش موردی تهیه شد. از این‌رو برای بررسی ارتباط بین این واریانت‌ها با عملکرد ورزشی تحقیقات جدید با تعداد زیادی از ورزشکاران نخبه قدرتی مورد نیاز است تا ارتباط این واریانت‌ها با عملکرد ورزشکاران مشخص شود. واریانت‌های شناسایی شده

---

۱. Gomez-Gallego

۲. Alves

۳. Sawczuk

ممکن است در موفقیت ورزشکاران نخبه تأثیرگذار باشد، از این رو در این زمینه به تحقیقات جدید روی ورزشکاران نخبه نیاز است.

### قدردانی

بدین وسیله از همکاری ورزشکار محترم و همچنین تمامی کسانی که در انجام این پژوهش ما را یاری کردند، تقدیر و تشکر می‌شود.

### منابع و مأخذ

1. Puthuchery Z, Skipworth JR, Rawal J, Loosemore M, Van Someren K, Montgomery HE. Genetic influences in sport and physical performance. *Sports medicine*. ۲۰۱۱;۴۱(۱۰):۸۴۵-۵۹.
2. Ma F, Yang Y, Li X, Zhou F, Gao C, Li M, et al. The association of sport performance with ACE and ACTN<sup>3</sup> genetic polymorphisms: a systematic review and meta-analysis. *PLoS one*. ۲۰۱۳;۸(۱):e۵۴۶۸۵.
3. Tanisawa K, Wang G, Seto J, Verdouka I, Twycross-Lewis R, Karanikolou A, et al. Sport and exercise genomics: the FIMS ۲۰۱۹ consensus statement update. *British journal of sports medicine*. ۲۰۲۰;۵۴(۱۶):۹۶۹-۷۵.
4. Maciejewska-Skrendo A, Cieszczyk P, Chycki J, Sawczuk M, Smółka W. Genetic markers associated with power athlete status. *Journal of human kinetics*. ۲۰۱۹;۶۸(۱):۱۷-۳۶.
5. Gineviciene V, Jakaitiene A, Aksenov M, Aksenova A, Astratenkova ADI, Egorova E, et al. Association analysis of ACE, ACTN<sup>3</sup> and PPARGC<sup>1A</sup> gene polymorphisms in two cohorts of European strength and power athletes. *Biology of sport*. ۲۰۱۶;۳۳(۳):۱۹۹.
6. Zarebska A, Sawczyn S, Kaczmarczyk M, Ficek K, Maciejewska-Karlowska A, Sawczuk M, et al. Association of rs۶۹۹ (M<sup>23</sup>T) polymorphism in the AGT gene with power but not endurance athlete status. *The Journal of Strength & Conditioning Research*. ۲۰۱۳;۲۷(۱۰):۲۸۹۸-۹۰۳.
7. Kelley EF, Johnson BD, Snyder EM. Beta-۲ adrenergic receptor genotype influences power output in healthy subjects. *Journal of strength and conditioning research*. ۲۰۱۷;۳۱(۸):۲۰۵۳.
8. Boulygina EA, Borisov OV, Valeeva EV, Semenova EA, Kostryukova ES, Kulemin NA, et al. Whole genome sequencing of elite athletes. *Biology of Sport*. ۲۰۲۰;۳۷(۳):۲۹۵.
9. Corvol P, Jeunemaitre X. Molecular genetics of human hypertension: role of angiotensinogen. *Endocrine reviews*. ۱۹۹۷;۱۸(۵):۶۶۲-۷۷.
10. Gomez-Gallego F, Santiago C, González-Freire M, Yvert T, Muniesa CA, Serratos L, et al. The C allele of the AGT Met<sup>23</sup>Thr polymorphism is associated with power sports performance. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*. ۲۰۰۹;۳۴(۶):۱۱۰۸-۱۱.
11. Alves GB, Oliveira EM, Alves CR, Rached HR, Mota GF, Pereira AC, et al. Influence of angiotensinogen and angiotensin-converting enzyme polymorphisms on cardiac

- hypertrophy and improvement on maximal aerobic capacity caused by exercise training. *European Journal of Preventive Cardiology*. ۲۰۰۹; ۱۶(۴):۹۲-۴۸۷.
۱۲. Wolfarth B, Rankinen T, Mühlbauer S, Scherr J, Boulay MR, Pérusse L, et al. Association between a  $\beta_2$ -adrenergic receptor polymorphism and elite endurance performance. *Metabolism*. ۲۰۰۷; ۵۶(۱۲):۱۶۴۹-۵۱.
۱۳. Sawczuk M, Maciejewska-Karlowska A, Cieszczyk P, Skotarczak B, Ficek K. Association of the ADRB $_2$  Gly $^{16}$ Arg and Glu $^{27}$ Gln polymorphisms with athlete status. *Journal of sports sciences*. ۲۰۱۳; ۳۱(۱۴):۱۵۳۵-۴۴.

## Identification of New Variants in Genes Related To Muscle Strength in an Elite Weightlifter Using Whole Exome Sequencing: A Case Report

**Bahman Ebrahimi-Torkamani<sup>۱</sup>, Marefat Siahkoughian<sup>۲\*</sup> - Ali Khazani<sup>۳</sup> - Sajad Anoshirvani<sup>۴</sup> - Lotfali Bolboli<sup>۵</sup> - Fatemeh Asadi<sup>۶</sup>**  
<sup>۱</sup>.PhD Student, Field of Exercise Physiology in Cardiovascular and Respiration, Department of Physical Education and Sport Sciences, Mohaghegh Ardabili University, Ardabil, Iran <sup>۲</sup>.Prof, Field of Exercise Physiology, Department of Physical Education & Sport Science, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran <sup>۳</sup>.Associate Prof, Field of Exercise Physiology, Department of Physical Education & Sport Science, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran <sup>۴</sup>. Associate Prof, Field of Exercise Physiology, Department of Physical Education & Sport Science, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran <sup>۵</sup>.Associate Prof, Field of Exercise Physiology, Department of Physical Education & Sport Science, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran <sup>۶</sup>.PhD, Department of Molecular Genetics, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Fars, Iran  
(Received: ۲۰۲۱/۰۲/۱۵; Accepted: ۲۰۲۰/۰۵/۰۳)

### Abstract

Genetic factors play an important role in athletic performance and its related phenotypes such as strength, power and aerobic capacity. Whole Exome Sequencing (WES) has great potential to explore all possible deoxyribonucleotide (DNA) variants associated with physical performance. However, this new technique has not been used in sports genetics research. Therefore the aim of this case study was to report new variants in genes involved in skeletal muscles strength in an elite weightlifter using WES. After obtaining an informed consent participated in this study from a ۳۲-year-old man, who is a member of the Iranian national weightlifting team, ۱۰ cc of blood was taken and then DNA was extracted. DNA samples were analyzed using the WES

\* Corresponding Author: E-mail: Iba.ayden@yahoo.com ;Tel: +۹۸۴۵۳۱۵۰۵۰۰۰



method. WES analysis of this elite weightlifter revealed missense mutations (۲۳۰۸۴۵۷۹۴A>G and ۲۳۰۸۴۵۹۷۷G>A) in AGT and (۱۴۸۲۰۶۴۴۰G>A and ۱۴۸۲۰۶۴۷۳G>C) in ADRB $\beta$  genes. Results of WES analysis revealed missense mutations in Power/Strength related genes in this elite athlete. However more studies with larger sample sizes are needed to reveal the relationship between these variants and performance of strength athletes.

**Key words**

Physical activity, Muscle strength, Weightlifter, Muscular Hypertrophy, AGT gene.