

XÁC ĐỊNH KIỂU GENE ACTN3 R577X CỦA CÁC VẬN ĐỘNG VIÊN MÔN ĐIỀN KINH VIỆT NAM

PGS.TS. Lê Đức Chương

Trường Đại học Sư phạm Thể dục thể thao Hà Nội

Tóm tắt: Hệ gene con người đã được giải mã thành công, nhưng ảnh hưởng của đa hình gene đến tố chất thể thao vẫn còn nhiều điều chưa biết hết. Nhiều nhà nghiên cứu có đồng quan điểm cho rằng đa hình gene α -actinin-3 (*ACTN3*) có liên quan đến thành tích của các vận động viên ưu tú. Gene *ACTN3* mã hóa cho protein α -actinin-3, chỉ được biểu hiện trong sợi cơ nhanh loại II. Biến đổi C \rightarrow T (rs.1815739 C/T) ở exon 16 của gene *ACTN3* làm xuất hiện mã kết thúc (đa hình R577X) dẫn đến thiếu hụt protein α -actinin-3 ở dạng đồng hợp tử XX (không có α -actinin-3). Vai trò của đa hình *ACTN3* R577X được chứng minh có ảnh hưởng đến thành tích thể thao của các VĐV. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã tách chiết DNA tổng số từ tế bào niêm mạc miệng và đánh giá chất lượng sản phẩm PCR. Sản phẩm PCR sau đó được xử lý bằng enzyme giới hạn *DdeI* để xác định kiểu gene *ACTN3* R577X và tần số allele của 36 vận động viên thuộc các đội điền kinh tuyển trẻ và đội tuyển Quốc gia. Chúng tôi đã xác định tần số kiểu gene *ACTN3* R577X, tần số allele R/X (42% RR; 39% RX; 19% XX; tần số allele R: 61%; allele X: 39%). Kết quả nghiên cứu này sẽ được sử dụng kết hợp với các thông tin về đặc điểm thể lực và thành tích thể thao của các VĐV đã thu thập được để phân tích và đánh giá ảnh hưởng của gene *ACTN3* đến thành tích của VĐV Việt Nam. Mục đích tiếp theo của chúng tôi là tập trung nghiên cứu ứng dụng công nghệ gene trong công tác tuyển chọn VĐV nhằm góp phần giảm thiểu chi phí trong tuyển chọn, đào tạo và nâng cao thành tích của thể thao Việt Nam.

Từ khóa: α -actinin-3, *ACTN3* R577X, allele, PCR-RFLP, thành tích thể thao.

Abstract: Although the human genome has now been sequenced, the influence of gene polymorphisms on genetic predisposition to sports is largely unknown. Numerous studies were conducted concerning the determination of association of the α -actinin-3 gene (*ACTN3*) polymorphism with performance of elite athletes. *ACTN3* gene codes α -actinin-3, which is found only in fast, type II muscle fibers. C-to-T transition (rs.1815739 C/T) in exon 16 of the *ACTN3* gene leads to a stop-codon (R577X polymorphism), which results in α -actinin-3 deficiency in XX homozygotes (no α -actinin-3 protein detectable in muscle fibers). Functional *ACTN3* R577X polymorphism has been associated with athletic performance. In the present study, we was performed to determine the quality and the quantity of DNA extracted from buccal swabs and to estimate PCR products. The amplified fragment subsequently underwent digestion by *DdeI* to determine *ACTN3* R577X genotype and allelic frequencies of 36 Vietnamese track and field athletes belong to young and national teams. We obtained genotype and allelic frequencies of *ACTN3* R577X from athletes (42% RR; 39% RX; 19% XX; frequency allele R: 61%; allele X: 39%). Together with physical characteristics and the obtained performance, these results are used in order to analyze and evaluate the effect of *ACTN3* gene on the performance of Vietnamese athletes. Further, our target is focusing to study gene technology on selecting athletes, that aims to reduce costs of athlete selection, coaching, and enhance Vietnamese athletes's performance.

Keywords: α -actinin-3, *ACTN3* R577X, allele, athletic performance, PCR-RFLP.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Hệ gene con người đã được giải mã thành công, nhưng ảnh hưởng của đa hình gene đến tố chất thể lực trong thể thao vẫn còn nhiều điều chưa biết. Nhiều nghiên cứu có đồng quan điểm cho rằng đa hình gene α -actinin-3 (*ACTN3*) có liên quan đến thành tích thể thao đỉnh cao. α -actinin-3 chủ yếu có ở các sợi cơ nhanh, loại sợi cơ tạo ra sức mạnh và sức mạnh tốc độ, tham gia vào cấu tạo của đoạn α -actinin (thành phần chính của Z-line) (Squire, 1997). Z-line là một cấu trúc quan trọng của cơ vân, có vai trò liên kết các sợi actin và giúp nâng đỡ, sắp xếp các sợi myosin, hỗ trợ quá trình co rút của cơ (Yang *et al.*, 2007). Các nhà nghiên cứu nhận thấy α -actinin-3 có thể giúp làm giảm sự tổn thương cơ bằng cơ chế cơ ly tâm (Yang *et al.*, 2007). Vai trò này đặc biệt quan trọng trong quá trình cơ cơ nhanh.

Biến đổi C→T (rs.1815739 C/T) ở exon 16 của gene *ACTN3* làm thay đổi bộ ba mã hóa thứ 577 CGA (mã hóa cho Arginine, ký hiệu là allele R) thành TGA (mã kết thúc, ký hiệu là allele X) dẫn đến tạo ra một protein α -actinin-3 không hoàn chỉnh (North *et al.*, 1999). Allele R có lợi đối với các VĐV cần tốc độ nhờ vào cấu tạo sợi cơ nhanh (loại IIa và IIb) trong quá trình thực hiện các động tác với cường độ cao như là chạy cự ly ngắn (Cieszczyk *et al.*, 2011). Allele X có lợi cho các VĐV cần sức bền (Roth *et al.*, 2008; Chiu *et al.*, 2011). Mỗi cá thể người đều có hai bản sao của gene *ACTN3*, do vậy có 3 kiểu tổ hợp kiểu gene khác nhau: (1) XX: sự kết hợp giữa hai allele X gây ra thiếu hụt hoàn toàn α -actinin-3, tạo ra nhiều sợi chậm và sẽ phát huy tối đa lợi thế ở các môn thể thao đòi hỏi sức bền như chạy Marathon (Yang *et al.*, 2003); (2) RX: tạo ra lượng sợi nhanh và sợi chậm bằng nhau; (3) RR: sự kết hợp

giữa hai allele R tạo ra nhiều sợi nhanh, phù hợp với các môn thể thao đòi hỏi sức mạnh hay sức mạnh-tốc độ (Clarkson *et al.*, 2005; Delmonico *et al.*, 2007; Vincent *et al.*, 2007).

Mục đích nghiên cứu của chúng tôi là xác định đa hình kiểu gene *ACTN3* R577X trong nhóm VĐV môn điền kinh ở Việt Nam. Kết quả của nghiên cứu sẽ mở ra một hướng mới trong việc ứng dụng công nghệ gene nhằm hỗ trợ công tác tuyển chọn VĐV, giúp góp phần giảm thiểu chi phí trong tuyển chọn, đào tạo và nâng cao thành tích của VĐV thể thao Việt Nam.

Đối tượng nghiên cứu: Mẫu tế bào niêm mạc miệng của 36 VĐV điền kinh thuộc đội tuyển quốc gia và đội tuyển trẻ đang tập trung tập luyện tại ba Trung tâm Huấn luyện Thể thao Quốc gia và của thành phố Hà Nội, thành phố Đà Nẵng và thành phố Hồ Chí Minh. Tất cả các đối tượng nghiên cứu đều đã được xác minh không có quan hệ huyết thống. Bảng thành tích thể thao của các đối tượng nghiên cứu cũng được thu thập để phục vụ cho việc phân tích.

Cặp primer sử dụng để nhân exon 16 của gene *ACTN3*, ký hiệu 2ACTN3-F và 2ACTN3-R được tổng hợp tại Bio Basic INC (Canada) có trình tự như sau:

2ACTN3-F:
5'-ACTCTGTGGAGGAGACCCAG-3'

2ACTN3-R:
5'-TGAGCCCGAGACAGGCAAG-3'

Phương pháp nghiên cứu:

Tách chiết DNA

DNA tổng số của các đối tượng nghiên cứu được tách chiết từ mẫu tế bào niêm mạc miệng bằng bộ Kit Buccal Swab DNA Extraction (GeneShun, Trung Quốc) và các hướng dẫn đi kèm.

Phản ứng PCR

Đoạn exon 16 của gene *ACTN3* được nhân lên bằng kỹ thuật PCR sử dụng cặp mồi 2ACTN3-F và 2ACTN3-R. Phản ứng PCR được tiến hành trên máy luân nhiệt với chu trình nhiệt như sau: 95°C trong 5 phút, 95°C trong 60 giây, 62°C trong 90 giây, 72°C trong 45 giây, lặp lại 35 lần từ bước 2, 72°C trong 10 phút, giữ ở 4°C. Sản phẩm PCR được giữ ở -20°C đến khi sử dụng.

Phân tích đa hình gene

Sản phẩm PCR được tinh sạch bằng PCR and DNA Fragment Purification Kit (GeneShun, Trung Quốc). Kiểu gene *ACTN3* R577X được xác định bằng phương pháp phân tích RFLP, sử dụng enzyme cắt giới hạn *DdeI* (BioLabs, Mỹ), các điều kiện của phản ứng cắt enzyme giới hạn được tiến hành theo

khuyến cáo của nhà sản xuất. Sản phẩm cắt giới hạn sau đó được điện di kiểm tra trên gel agarose 3% (Code: V3841, Promega). Xác định kiểu gene của từng đối tượng dựa vào kết quả điện di.

Xác định trình tự gene *ACTN3* R577X

Sản phẩm PCR được gửi đi giải trình tự tại MCLAB (Mỹ) nhằm kiểm tra lại đa hình R577X sau khi được xác định bằng phương pháp PCR-RFLP. Phân tích trình tự thu được bằng phần mềm BioEdit V7.0.9.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Phân tích tần số kiểu gene và tần số allele

Kết quả phân tích tần số kiểu gene/allele của *ACTN3* R577X ở 36 VĐV môn điền kinh được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Tần số kiểu gene/allele của *ACTN3* R577X ở các vận động viên môn điền kinh và các nội dung thi đấu ($n = 36$)

Nhóm VĐV	Tần số kiểu gene			Tần số allele	
	RR (%)	RX (%)	XX (%)	R (%)	X (%)
Điền kinh	0.42	0.39	0.19	0.61	0.39
Nhảy cao, nhảy xa, 100m, 200m, 400m	0.48	0.37	0.15	0.67	0.33
800m, 1500m	0.31	0.44	0.25	0.53	0.47
> 3000m	0.125	0.375	0.50	0.31	0.69

Với điền kinh, đây là môn thể thao thực hiện các bài tập đòi hỏi thể lực, tính linh hoạt, nhanh nhẹn, sức bền dẻo dai và phối hợp giữa các động tác một cách nhịp nhàng. Các các nội dung thi đấu như ném dĩa, nhảy cao, nhảy xa và chạy các cự ly ngắn đòi sức mạnh và sức mạnh – tốc độ; còn cự ly trung bình, dài được coi là môn thể thao đòi hỏi tố chất sức bền phải phát triển tốt.

Sự phân bố kiểu gene *ACTN3* R577X trong nhóm tổng số đối tượng nghiên cứu 36 VĐV môn điền kinh cho thấy tỷ lệ RR: 0.42, RX: 0.39, XX: 0.19 là tuân theo định luật Hardy-Weinberg ($\chi^2=1.685, p=0,194$).

Xét tần số kiểu gene và alen trong nhóm VĐV có nội dung thi đấu đòi hỏi sức mạnh, nhanh (nhảy cao, nhảy xa, 100m, 200m, 400m) chúng tôi thấy rõ sự khác biệt giữa tần số kiểu gene RR và XX, tỉ lệ này là ~ 3.2, tần số alen R gấp ~ 2 lần alen X là đủ kiện để khẳng định alen R và kiểu gene RR hoàn toàn phù hợp với VĐV chạy cự ly ngắn. Điều này tương đồng với kết luận trong nghiên cứu của Mikami E và cs (2014). Nghiên cứu thực hiện trên nhóm VĐV ưu tú người Nhật cho thấy ở nhóm VĐV chạy cự ly ngắn tần số kiểu gene RR và RX cao hơn so với nhóm đối chứng trong khi không có sự khác biệt đáng

kể về tần số kiểu gene RR và RX ở nhóm VĐV cần sức bền so với nhóm đối chứng. Đặc biệt mối tương quan thể hiện rõ ràng ở cự ly 100m chạy tốc độ tối đa, VĐV có kiểu gene RR chạy nhanh hơn nhiều so với VĐV có kiểu gene XX. Từ đó có thể thấy alen R là có lợi, ảnh hưởng đến sức nhanh/mạnh của VĐV. Với nhóm VĐV thi đấu ở cự ly trung bình (800m, 1500m) alen R và X dường như cân bằng cho thấy vai trò của 2 alen này là như nhau đối với nội dung cần sự kết hợp của sức mạnh, nhanh và sức bền. Một lần nữa chúng tôi thêm tin tưởng vào giả thuyết đưa ra khi phân tích nhóm VĐV có nội dung thi đấu ở cự ly dài (3000 m, 5000m, 10.000m, marathon). Tần số kiểu gene XX gấp 4 lần tần số kiểu gene RR, tần số alen X gấp 2.2 lần alen R là những con số đáng tin cậy cho thấy alen X là cần thiết cho VĐV thi đấu ở những cự ly này. Sự kết hợp giữa hai alen X gây ra thiếu hụt α -actinin-3, tạo ra nhiều sợi cơ chậm và sẽ phát huy tối đa lợi thế ở các

nội dung đòi hỏi sức bền như marathon.

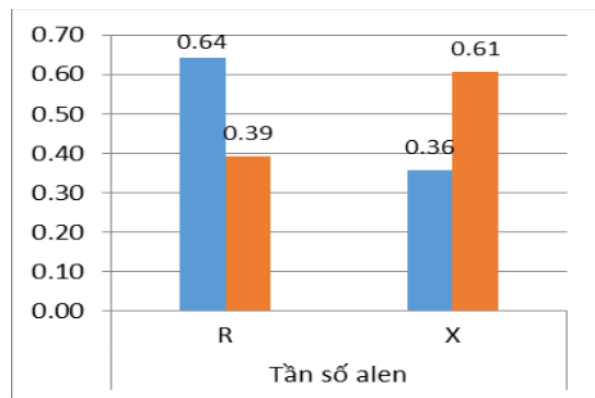
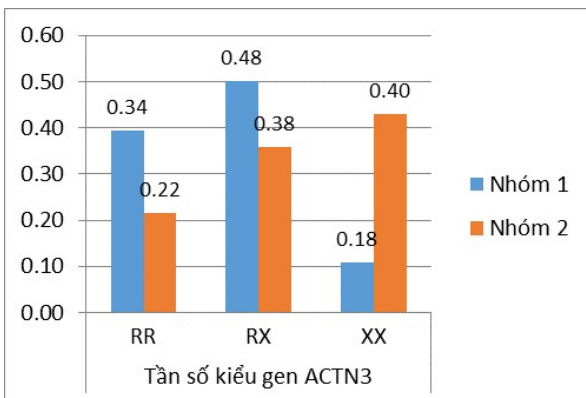
Những phân tích về ảnh hưởng của kiểu gene *ACTN3* đối với bộ môn điền kinh của chúng tôi cho kết luận tương đồng với nghiên cứu của Sigal Ben-Zaken và cs (2015). Nghiên cứu này cho thấy tần số kiểu gene *ACTN3* và alen R, X có sự khác biệt rõ rệt giữa VĐV chạy cự ly ngắn và cự ly dài, kiểu gene RR có tần số cao hơn ở VĐV chạy tốc độ tối đa so với VĐV chạy bền và trong nhóm đối tượng nghiên cứu không có VĐV chạy tốc độ tối đa đỉnh cao nào có kiểu gene XX. Từ đó có thể thấy rõ ảnh hưởng của kiểu gene *ACTN3* với khả năng thành tích thể thao của các VĐV điền kinh.

Tần số kiểu gene *ACTN3* R577X và tần số alen R/X của 2 nhóm VĐV: nhóm 1 là VĐV tiêu biểu (những VĐV đã có thành tích thi đấu cao đạt được các loại huy chương tại các giải đấu quốc tế) và nhóm 2 VĐV trẻ được thể hiện trong bảng sau.

Bảng 2. Phân bố tần số kiểu gene *ACTN3* R577X và tần số alen R/X của 2 nhóm VĐV

Nhóm	Số VĐV	Số VĐV có kiểu gene (VĐV)			Tần số kiểu gene <i>ACTN3</i> (%)			Tần số alen (%)	
		RR	RX	XX	RR	RX	XX	R	X
1	14	04	08	02	34	48	18	64	36
2	22	06	11	05	22	38	40	39	61

Sự khác biệt về tần số kiểu gene *ACTN3* giữa các nhóm cũng được thể hiện qua biểu đồ so sánh như biểu đồ 3.



Biểu đồ 3. phân bố tần số kiểu gene *ACTN3* R577X và alen R,X giữa 2 nhóm VĐV

Dựa vào biểu đồ có thể thấy nhóm 1 – nhóm VĐV tiêu biểu đại diện cho tố chất mạnh, nhanh có tần số kiểu gene *ACTN3 RR* (34 %) cao hơn, gấp 1,5 lần nhóm 2 (22 %) là nhóm VĐV đại diện cho tố chất bền. Tần số kiểu gene *RX* tương tự cũng cao hơn ở nhóm 1 (48 %) so với nhóm 2 (38 %). Xét tần số kiểu gene *ACTN3 XX* cho thấy sự khác biệt rõ rệt giữa 2 nhóm, thể hiện qua tần số kiểu gene này ở nhóm 2 là 40 % gấp 2,22 lần nhóm 1 là 18 %. Ngoài ra, tỉ lệ tần số alen *R* của nhóm 1/nhóm 2 là 1.64 lần và tần số alen *X* của nhóm 2/nhóm 1 là 1.70 lần. kết quả cho chúng tôi thêm tin tưởng khi cho rằng *alen R, kiểu gene RR có lợi cho VĐV cần tố chất sức mạnh, sức nhanh và alen X, kiểu gene XX có lợi cho VĐV cần yếu tố sức bền.*

Xem xét cụ thể các VĐV tiêu biểu nhóm 1 để thấy rõ hơn ảnh hưởng của kiểu gene *ACTN3* đến thành tích thi đấu:

+ VĐV Cao Võ Ngọc Long (K24) với nội dung thi đấu là nhảy cao cũng cần sức mạnh để có thể bật nhảy tốt, sức mạnh là yếu tố cơ bản của nhảy cao do vậy kiểu gene *ACTN3RR* là hoàn toàn phù hợp.

+ VĐV Dương Văn Thái (K3) và VĐV Vũ Thị Ly (K4) là hai VĐV có thành tích cao cự ly chạy 800m và 1500m, đây là các cự ly chạy trung bình. VĐV Dương Văn Thái có kiểu gene *ACTN3RR* trong khi VĐV Vũ Thị Ly có kiểu gene *ACTN3RX*. Kiểu gene *ACTN3RR* làm tăng lợi thế về sức mạnh còn kiểu gene *ACTN3RX* vừa có sự kết hợp giữa yếu tố nhanh/mạnh và yếu tố bền. Bằng chứng là tại SEA Games 27 và 28 VĐV Vũ Thị Ly với kiểu gene *ACTN3 RX*, đạt 2 HCB. VĐV Dương Văn Thái có kiểu gene là *RR* giành 2 HCV ở cự ly này.

+ VĐV Dương Thị Việt Anh (K17) nội dung thi đấu nhảy cao, VĐV Nguyễn Hoài Văn (K18) – ném lao, VĐV Huỳnh Thị Mỹ

Tiên (K28) – 100m rào và VĐV Vũ Đức Anh (K30) – nhảy cao đều có kiểu gene *ACTN3RX*.

+ VĐV Phạm Tiến Sản (K6), Phạm Thị Thúy Hạnh (K8): Đây cũng là những VĐV tiêu biểu, có nhiều thành tích xuất sắc ở môn chạy cự ly dài. VĐV Phạm Tiến Sản thi đấu ở nội dung chạy 1500m, 3000m VCN; VĐV Phạm Thị Thúy Hạnh thi đấu nội dung chạy 800m, 1500m, 3000m - những nội dung này yếu tố sức bền là rất quan trọng. Các VĐV này có kiểu gene *ACTN3XX* là hoàn toàn phù hợp.

+ VĐV Lò Thị Thanh (K5) là VĐV điền kinh có nội dung thi đấu ở các cự ly chạy 1500m, 4 km, 5 km, 10 km. Với kiểu gene *ACTN3RX* có sự kết hợp giữa sức nhanh/mạnh và sức bền, VĐV này nên thi đấu ở những cự ly chạy trung bình như 800m, 1500m vì đặc thù của môn chạy cự ly dài là cần sức bền cao. Có thể kiểu gene *RX* đã giới hạn thành tích của VĐV này, thể hiện ở những giải đấu nội dung marathon, VĐV này chỉ đạt HCB và HCD.

KẾT LUẬN

Chúng tôi đã thực hiện thành công kỹ thuật PCR-RFLP để xác định đa hình kiểu gene *ACTN3 R577X* trên các nhóm đối tượng nghiên cứu. Xác định được tần số kiểu gene *ACTN3 R577X*, tần số allele *R/X* của 36 đối tượng nghiên cứu là VĐV môn điền kinh (42% *RR*; 39% *RX*; 19% *XX*; tần số allele *R*: 61%; allele *X*: 39%). Ngoài ra, VĐV có thành tích thi đấu quốc tế có tỷ lệ tần số kiểu gene *ACTN3 RR* và *RX* cao hơn hẳn nhóm VĐV trẻ. Kết quả nghiên cứu này sẽ được sử dụng kết hợp với các thông tin về đặc điểm thể lực và thành tích thể thao của các vận động viên đã thu thập được để phân tích sâu hơn về ảnh hưởng của gene *ACTN3* tới thành tích thể thao Việt Nam.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Cieszczyk P, Eider J, Ostanek M, Arczewska A, Leońska-Duniec A, Sawczyn S, Ficek K, Krupecki K (2011) Association of the ACTN3 R577X Polymorphism in Polish Power-Orientated Athletes. *J Hum Kinet* 28: 55 - 61.
- [2]. Chiu LL, Wu YF, Tang MT, Yu HC, Hsieh LL, Hsieh SS (2011) ACTN3 genotype and swimming performance in Taiwan. *Int J Sports Med* 32: 476 - 480.
- [3]. Lê Đức Chương và cộng sự (2014) “Nghiên cứu xác định kiểu gen ACTN3 và ACE ở vận động viên một số Đội tuyển Quốc gia Việt Nam”, *Đề tài khoa học cấp Bộ, Bộ Văn hóa, Thể Thao và Du Lịch*
- [4]. Clarkson PM, Devaney JM, Gordish-Dressman H et al (2005) ACTN3 genotype is associated with increases in muscle strength and response to resistance training in women. *J Appl Physiol* 99: 154–163
- [5]. Delmonico MJ, Kostek MC, Doldo NA et al (2007) Alpha-actinin-3 (ACTN3) R577X polymorphism influences knee extensor peak power response to strength training in older men and women. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 62(2):206–212
- [6]. North KN, Yang N, Wattanasirichaigoon D et al (1999) A common nonsense mutation results in alpha-actinin-3 deficiency in the general population. *Nat Genet* 21: 353–354
- [7]. Roth SM, Walsh S, Liu D, Metter EJ, Ferrucci L, Hurley BF (2008) The ACTN3 R577X nonsense allele is under-represented in elite-level strength athletes. *Eur J Hum Genet* 16: 391 - 394.
- [8]. Squire JM (1997) Architecture and function in the muscle sarcomere. *Curr Opin Struct Biol* 7: 247–257
- [9]. Vincent B, De Bock K, Ramaekers M et al (2007) ACTN3 (R577X) genotype is associated with fiber type distribution. *Physiol Genomics* 32(1): 58–63
- [10]. Yang N, MacArthur DG, Wolde B, Onywera VO, Boit MK, Lau SY, Wilson RH, Scott RA, Pitsiladis YP, North K (2007) The ACTN3 R577X polymorphism in East and West African athletes. *Med Sci Sports Exerc* 39: 1985 - 1988.