

**VARIAZIONI GENOTIPICHE CHE SI ASSOCIANO A
VARIABILITA' NEL RENDIMENTO SPORTIVO**

**Polimorfismi genetici con effetto
sulla performance atletica**

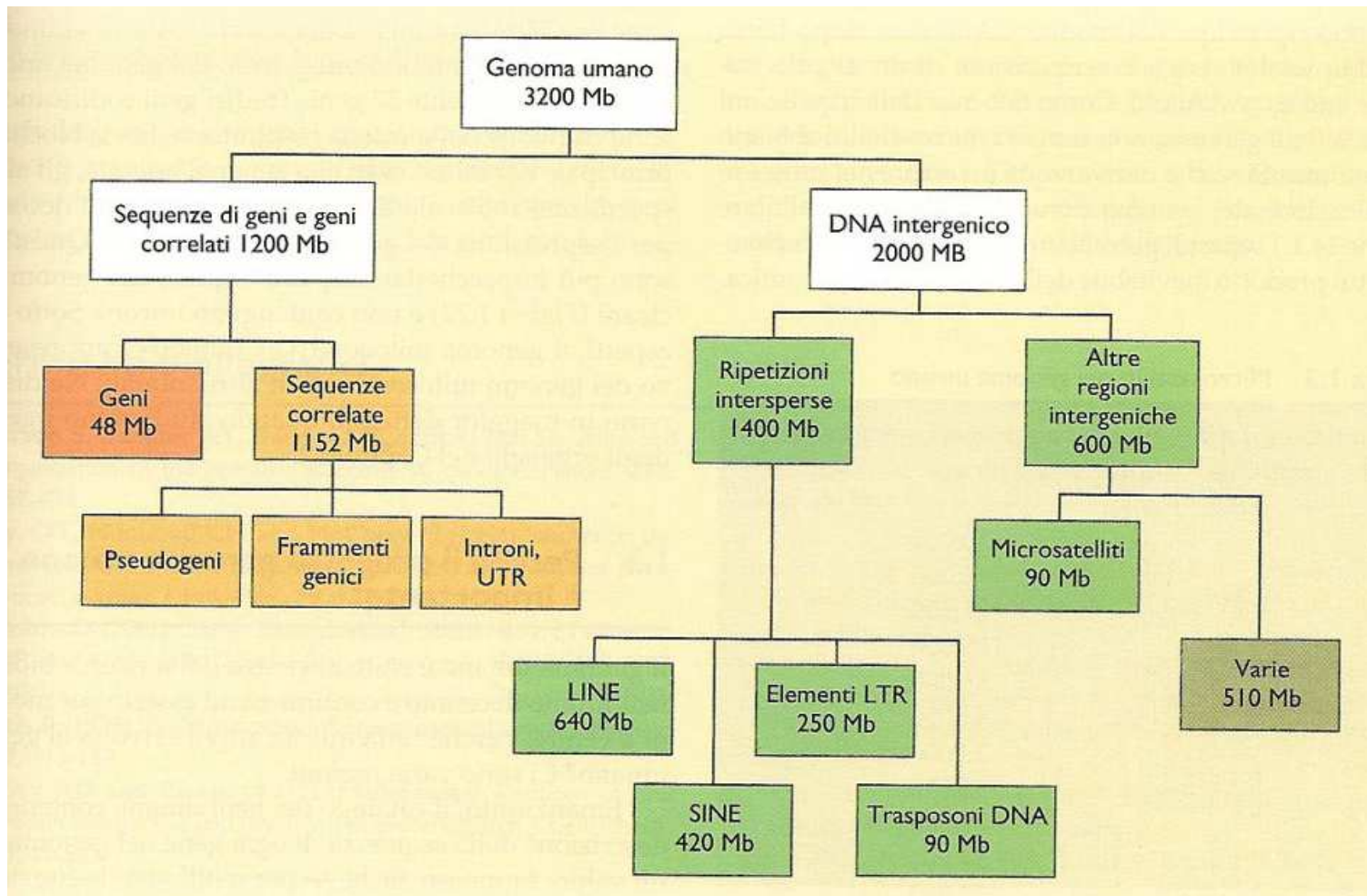
Human Genome Project

Progetto Genoma Umano completato nel 2003
(99% sequence; accuracy 99.9%)

Sequencing Centers:
China, France, Germany, Japon, UK, USA

Il Genoma Umano in numeri

- 23 paia di cromosomi
- 3.000.000.000 paia di basi
- circa 30.000 geni
- Non si conosce la funzione di circa la meta' dei geni scoperti



Meno del 2% dell'intero genoma codifica per proteine
 Più del 50% del genoma è costituito da sequenze ripetute
 con funzione sconosciuta

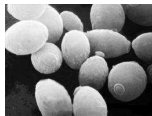
A cosa serve il DNA non codificante e intergenico?

Benefici del progetto Genoma Umano in medicina

- migliorare la diagnosi di malattie
- identificazione di predisposizione genetica a specifiche malattie
- creazione di farmaci sulla base di informazioni molecolari
- produzione di “farmaci personalizzati” sulla base dei profili genetici individuali
- possibilità' di terapia genica

Che cosa ci dicono i risultati del Progetto Genoma Umano?

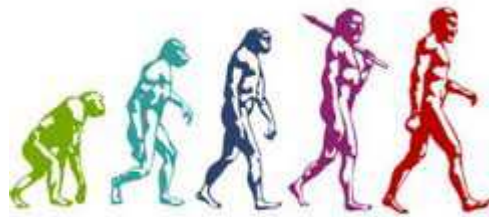
Il Genoma Umano rispetto agli altri organismi



Organism	Genome Size (Bases)	Estimated Genes
Human (<i>Homo sapiens</i>)	3 billion	30,000
Laboratory mouse (<i>M. musculus</i>)	2.8 billion	30,000
Mustard weed (<i>A. thaliana</i>)	100 million	25,000
Roundworm (<i>C. elegans</i>)	97 million	19,000
Fruit fly (<i>D. melanogaster</i>)	137 million	13,000
Yeast (<i>S. cerevisiae</i>)	12.1 million	6,000
Bacterium (<i>E. coli</i>)	4.6 million	3,200
Human immunodeficiency virus (HIV)	9700	9



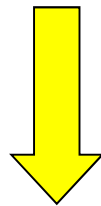
Il genoma umano e quello delle scimmie antropomorfe è identico per più del 98%



Il Genoma Umano nucleare è conservato per il **99,9%**.

Il 99.9% del DNA è identico in tutta la popolazione

Lo 0.1% del DNA mostra variabilità



POLIMORFISMI

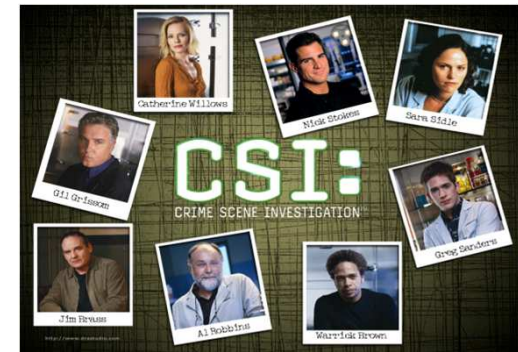
POLIMORFISMO = esistenza di forme diverse

Il polimorfismo è una variazione genetica che non altera la funzione del prodotto genico, ma che nell'ambito della normalità è responsabile di variazioni nei livelli e nella funzione di una proteina.

Una mutazione è un cambio del genotipo che produce variabilità modificando il fenotipo e la sua frequenza nella popolazione è **INFERIORE** allo 0,1%.

Il polimorfismo è una variazione nel DNA che può avere un effetto fenotipico minimo o nullo e la sua frequenza nella popolazione è **MAGGIORE** dell' 1%

Polimorfismi genetici nelle scienze forensi (medicina legale)



A cosa serve?

- Identificare individui che hanno commesso dei crimini
- Predire la popolazione di origine di un DNA (es. Africano, Asiatico ecc.)
- Ottenere informazioni fenotipiche su un soggetto (es. colore capelli)
- Identificare le vittime nei disastri di massa (disastri aerei, genocidi, ecc.)
- Risolvere casi di paternità incerta
- Riconoscimento di eredi legittimi attraverso la parentela
- Identificazione di DNA appartenente a specie a rischio di estinzione in crimini legati al loro contrabbando

TIPI DI POLIMORFISMI DEL DNA

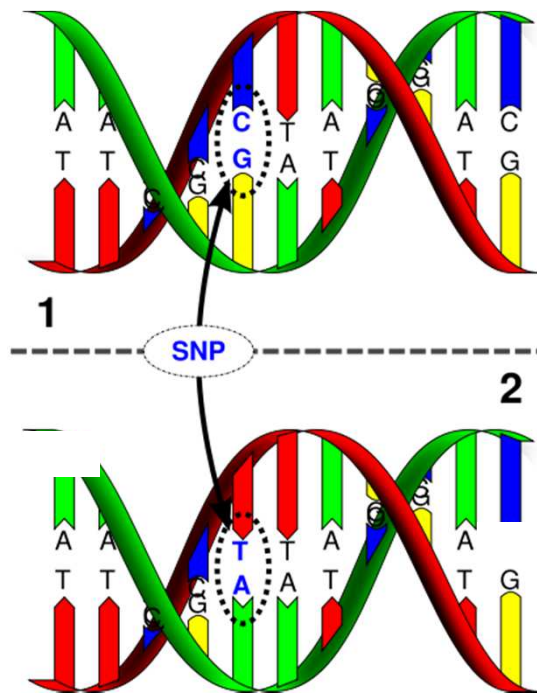
- 1. RESTRICTION FRAGMENTS LENGTH POLYMORPHISM (RFLP):** enzimi di restrizione riconoscono sequenze di DNA specifiche composte da 4 a 8 basi
- 2. SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISM (SNP)**
- 3. VARIABLE NUMBER TANDEM REPEATS (VNTR)**

POLIMORFISMI PIU' COMUNI

1. Cambiamenti di una singola base (**SNP= Single Nucleotide Polymorphism**)
2. Variazione nel numero di sequenze ripetute in tandem:
 - **microsatelliti Short Tandem Repeats (STR)**. Sono ripetizioni di 2 nucleotidi es.: CACACACACA.....
GTGTGTGTGTG..... CTCTCTCTCT.....
GAGAGAGAG.....
 - **minisatelliti Variable Number Tandem Repeat= VNTR**) sono ripetizioni in tandem di una corta sequenza (10-100 bp)

SNP (Single Nucleotide Polymorphism)

Polimorfismo a Singolo Nucleotide



Variazione di un singolo nucleotide nella sequenza di DNA

Frequenza nella popolazione >1%

SNPs

- SNPs nella regione codificante di un gene: possono alterare la struttura di una proteina



sono spesso usati a scopo diagnostico

- SNPs possono alterare la struttura primaria di una proteina coinvolta nel metabolismo di un farmaco



bersagli dell'analisi farmacogenetica

- SNPs nelle regioni non-codificanti del genoma, sono quasi sempre senza impatto sul fenotipo dell'individuo



markers usati in genetica di popolazione e negli studi di evoluzione

POLIMORFISMI DI RIPETIZIONE

(VNTR = Variable Number Tandem Repeats)

• Microsatelliti

- **sequenze ripetute, costituite da ripetizioni in tandem di 2-3-4 bp**, distribuiti nel genoma (ripetizioni ogni 50-100 Kb)

Es:CACACACACACACACA..... (CA)_n

.....GTGTGTGTGTGTGTGTGT..... (GT)_n

.....CTCTCTCTCTCTCTCTCT.....(CT)_n

Molto polimorfici e uniformemente -> utili come marcatori genetici

• Minisatelliti

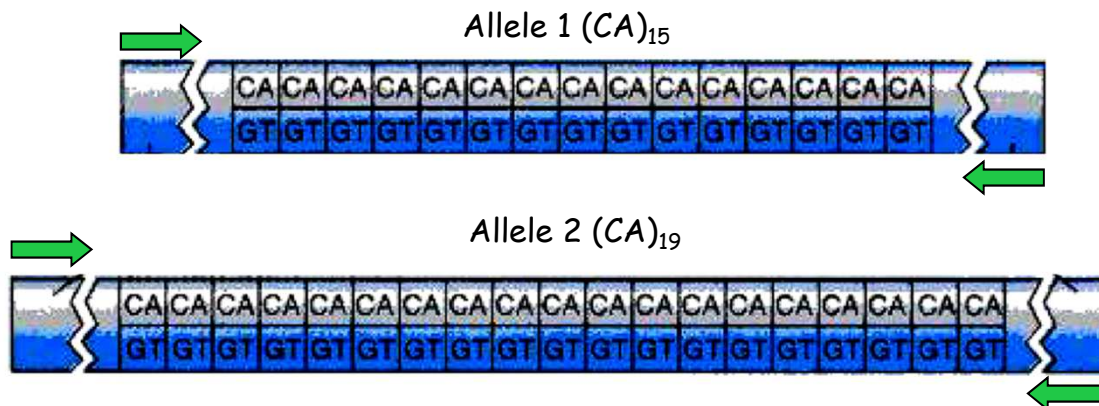
- **ripetizioni in tandem di una corta sequenza (10-100 bp)**
- distribuzione non omogenea (vicino ai telomeri)
- sequenza comune (core) GGGCAGGAXG + seq specifiche

Molto polimorfici : utili come marcatori per mappe genetiche ma distribuzione non omogenea

Utilizzati in passato per **DNA FINGERPRINTING**

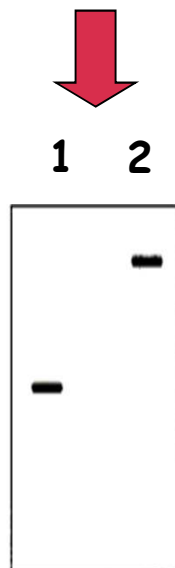
Determinazione di polimorfismi di lunghezza: I MICROSATELLITI

Si determinano le sequenze UNICHE che fiancheggiano il microsatellite per disegnare i PRIMERS per l'amplificazione con PCR



Si amplifica il DNA genomico da saggiare con i primers selezionati e si analizza su gel di agarosio

I MICROSATELLITI, possono essere usati sia per la GENOTIPIZZAZIONE sia per l'analisi di "linkage" con determinate malattie



L'analisi dei prodotti dell'amplificazione mediante elettroforesi su gel e colorazione con etidio bromuro permette di distinguere un allele dall'altro

Polimorfismi minisatelliti Variable Number Tandem Repeat (VNTR) da Inserzione o Delezione

- **SINEs** (Short interspersed elements) <500 bp
Es. le sequenze **Alu** - ripetizioni di ~300 bp ogni 4 kb

- **LINEs** (Long interspersed elements) ripetizioni di circa 6 Kb intersperse nel genoma

Le Sequenze **Alu**

Gli elementi Alu sono classificati SINE (**S**hort **I**nterspersed **E**lement). Gli elementi Alu sono lunghi approssimativamente 300 bp (coppie di base).

Il loro nome ha origine dal fatto che l'enzima di restrizione Alu I taglia gli elementi Alu in due parti una di 130bp e l'altra di 170 bp.

Si stima che circa 500-2000 elementi Alu sono presenti nel genoma umano. La stragrande maggioranza delle inserzioni Alu si trova in regioni non codificanti.

E' stato dimostrato che:

- un inserimento Alu nel gene NF-1 è responsabile della neurofibromatosi tipo 1
- inserzioni Alu in introni di geni per l'attivazione tissutale del plasminogeno (TPA) e nel gene convertitore dell'angiotensina (ACE) sono associati con malattie del cuore.
- inserzioni Alu sono state associate ad alcuni tipi di cancro.

VARIAZIONI NELL'ASSETTO GENOTIPICO DI UN INDIVIDUO CHE SI ASSOCIANO A VARIABILITA' NEL RENDIMENTO SPORTIVO

Variazioni polimorfiche del DNA, non patologiche

1. Polimorfismo del gene ACE del Sistema renina-angiotensina
2. Polimorfismo ACTN3

Il Sistema renina-angiotensina-aldosterone

(RAA) è un meccanismo ormonale che regola:

- la pressione sanguigna,
- il volume plasmatico circolante (volemia)
- il tono della muscolatura arteriosa
attraverso diversi meccanismi.

SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA

Importante sistema umorale implicato nella omeostasi idro-salina e nel mantenimento del tono vascolare.

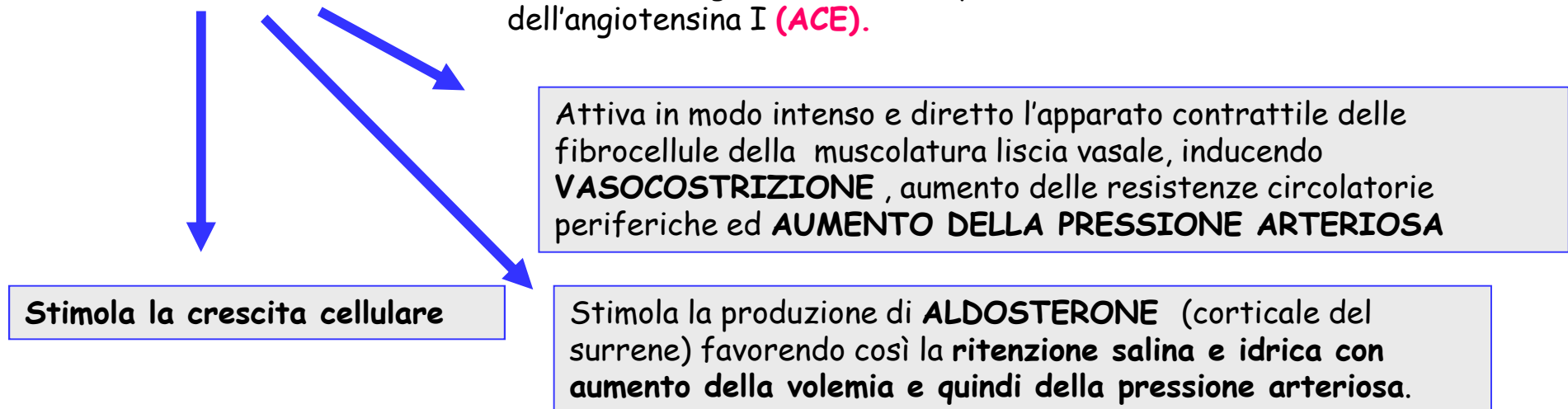
Comprende:

RENINA proteasi prodotta dal rene in risposta a riduzione della pressione sanguigna o riduzione del livello di sodio nei tubuli renali.

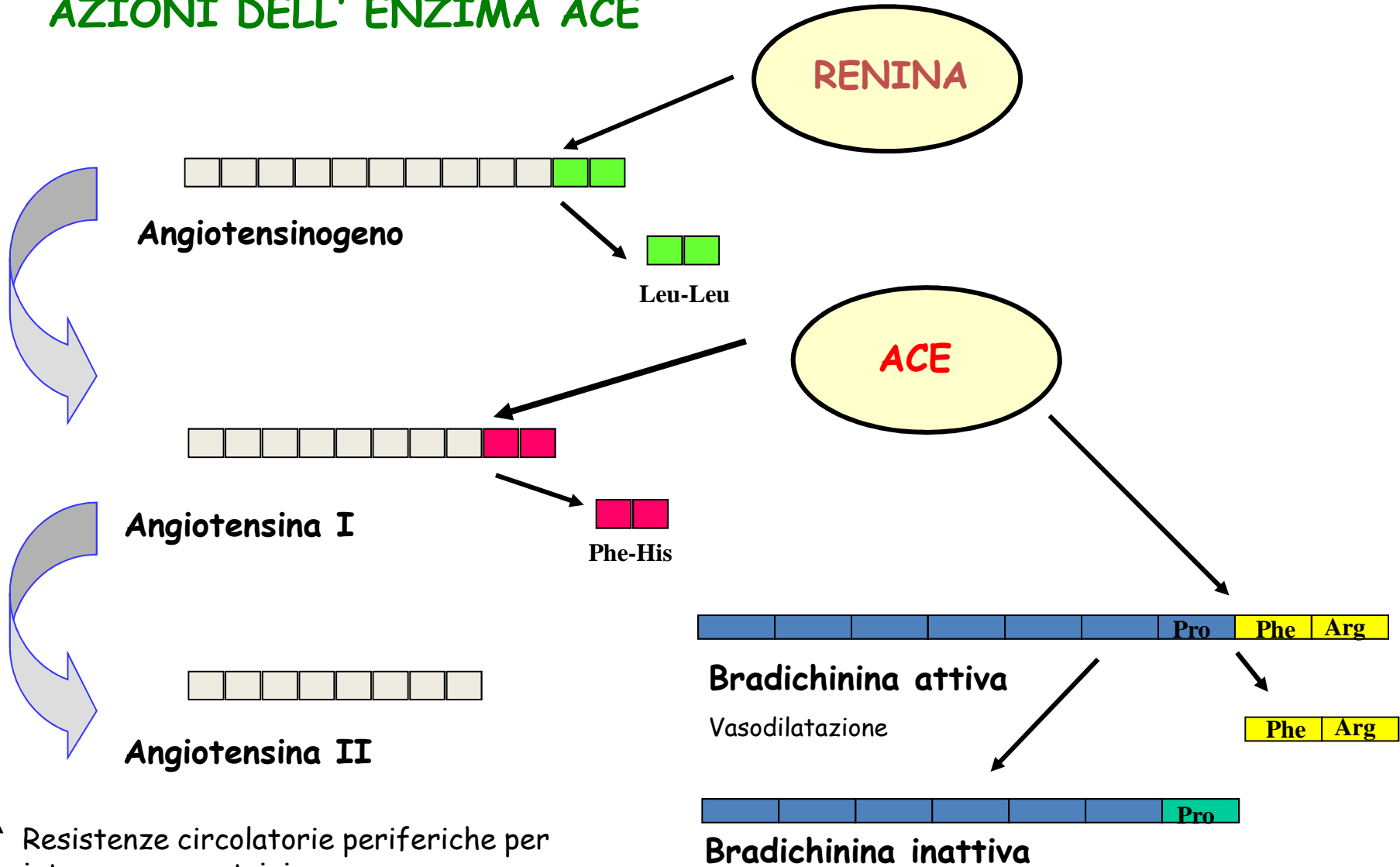
ANGIOTENSINOGENO Alfa-globulina di origine epatica sotto controllo positivo di estrogeni, glucocorticoidi, ormoni tiroidei, angiotensina II

ANGIOTENSINA I Decapeptide risultante dalla scissione del legame peptidico fra 10° e 11° residuo dell'angiotensinogeno ad opera della **RENINA**.

ANGIOTENSINA II Octapeptide risultante dalla scissione del legame peptidico fra 8° e 9° residuo dell'angiotensina I ad opera dell'enzima di conversione dell'angiotensina I (**ACE**).



AZIONI DELL' ENZIMA ACE

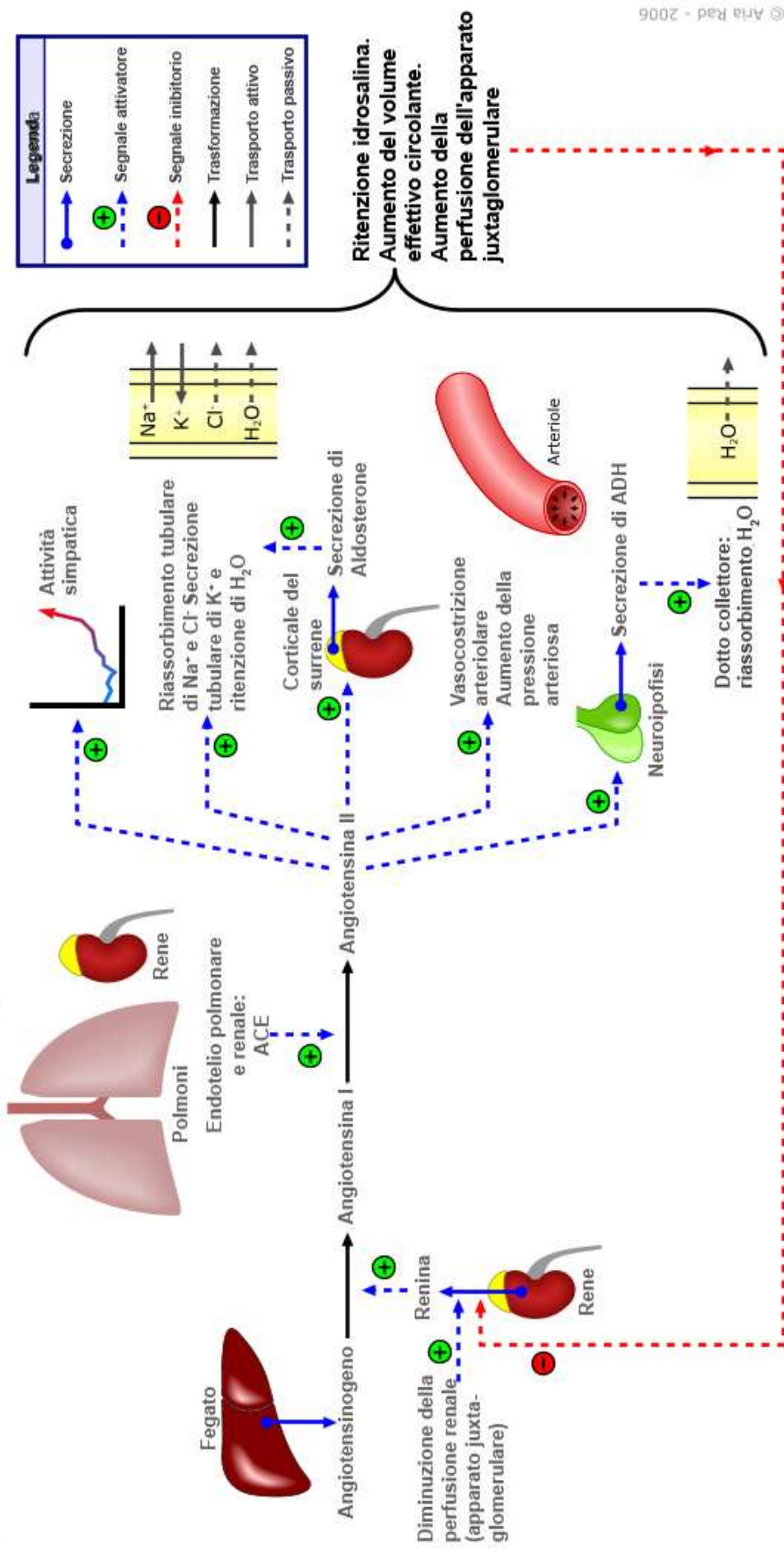


↑ Resistenze circolatorie periferiche per intensa vasocostrizione

↑ Ritenzione salina per stimolazione aldosterone

AZIONE IPERTENSIVA

Sistema renina-angiotensina-aldosterone



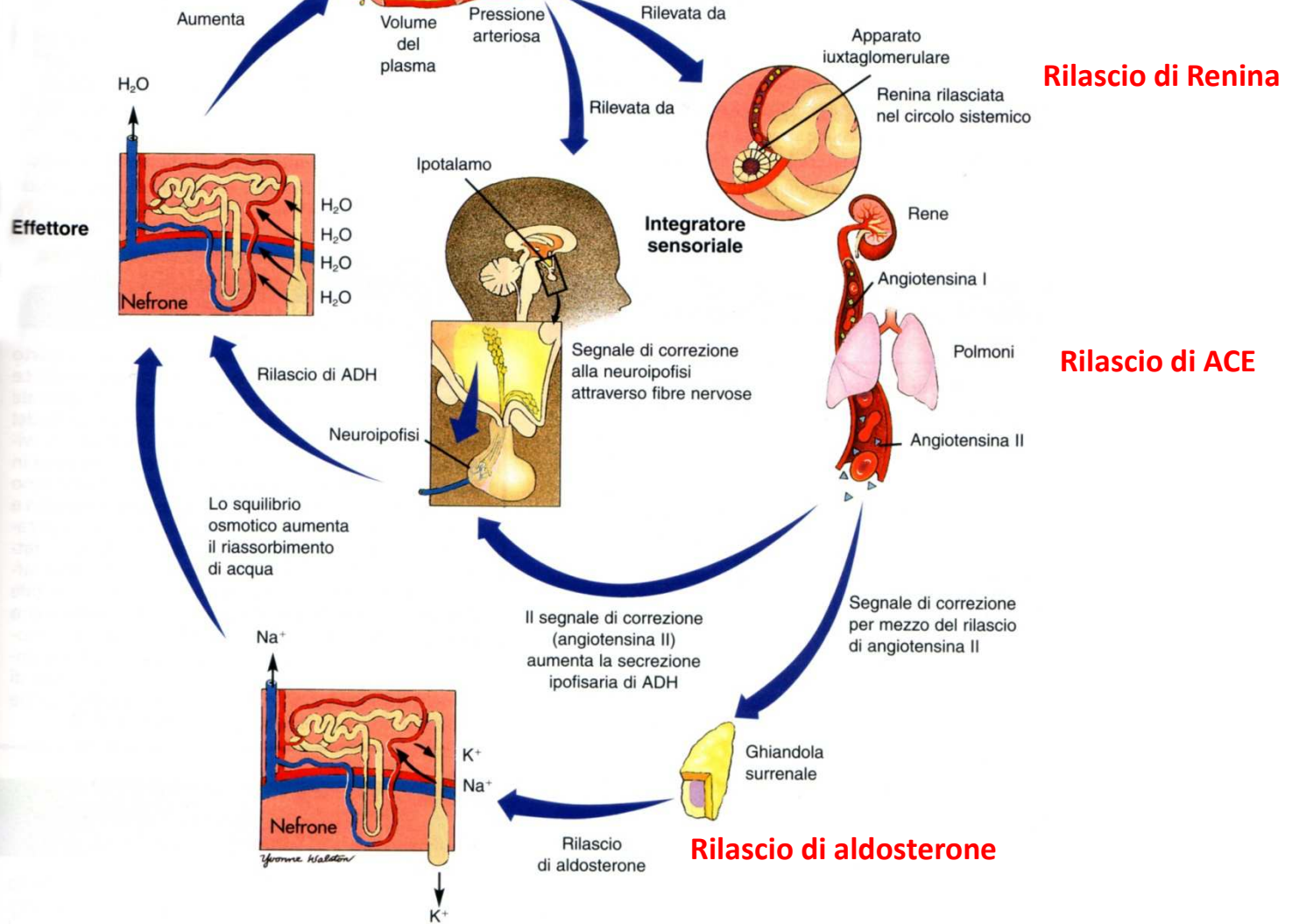


Perdita di acqua
(per es., sudore)

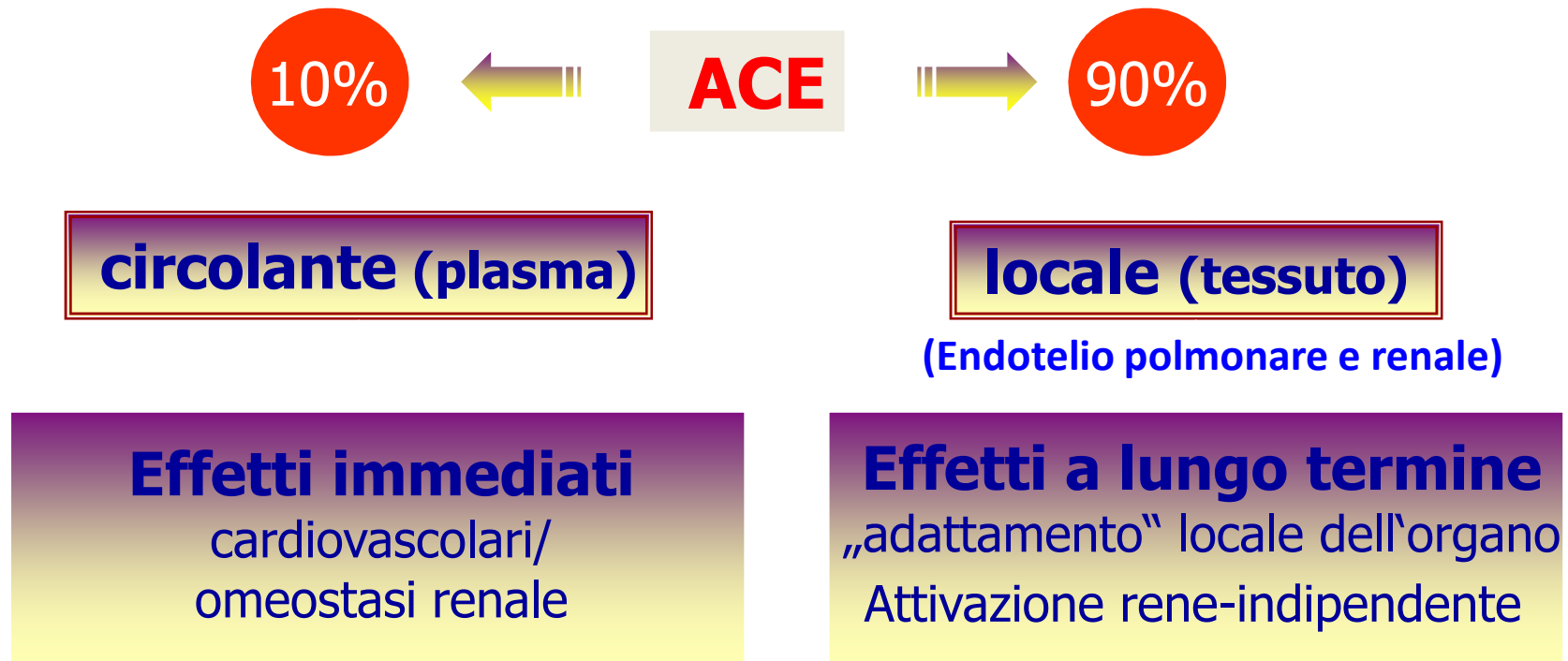
ATTIVITA' FISICA

Diminuzione controllata
di variabili

**Aumento della pressione
arteriosa**



Distribuzione Angiotensin Converting Enzyme (**ACE**) nell'organismo:

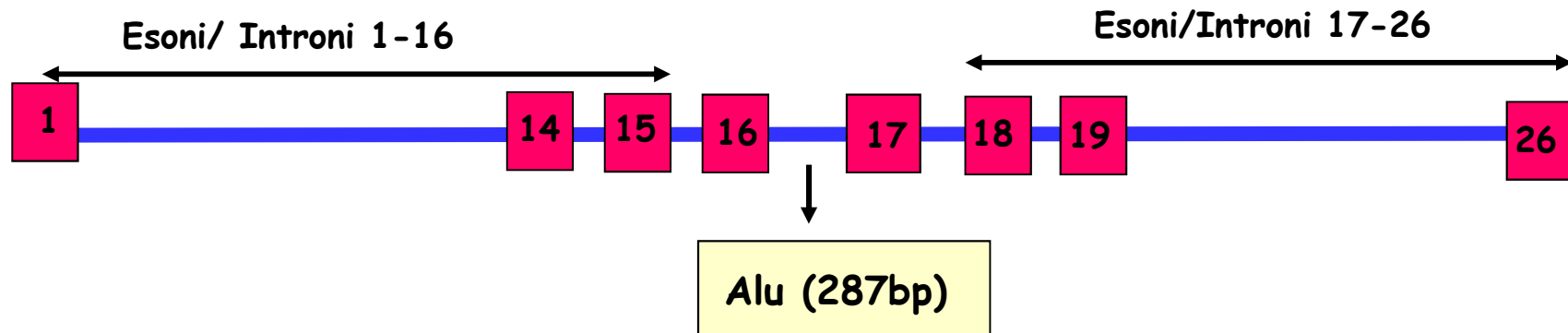


Esiste una grande variabilità fra individui nei livelli di **ACE circolante nel plasma.**

Tale variabilità è principalmente dovuto a fattori **GENETICI per la presenza di **UN POLIMORFISMO DA INSERZIONE/DELEZIONE (I/D) NEL GENE ACE.****

Polimorfismo da Inserzione/Delezione (I/D) di una sequenza **Alu** nel gene **ACE**

Il **gene ACE** è composto da 27 esoni ed è localizzato sul cromosoma 17: è stata identificata la presenza o l'assenza del polimorfismo Alu nell'introne 16 nella popolazione.



Le sequenze Alu sono gli elementi mobili presenti nel genoma dell'uomo. In media sono sequenze di circa 300 paia di basi e sono quindi classificate come *short interspersed element* (SINE).

Nella popolazione esistono tre possibili genotipi relativi al polimorfismo I/D nel gene ACE :

I=presenza di Alu; D= assenza di Alu.

GENOTIPI:

DD= omozigote per mancanza dell'elemento Alu (alleli corti)

II= omozigote per presenza dell'elemento Alu (allele più lunghi)

ID = eterozigosi (allele corto / allele con l'inserzione Alu)

I tre genotipi hanno frequenze diverse in gruppi etnici diversi:

Afro-Americani	DD 29%	ID 60%	II 11%
Indiani	DD 19%	ID 50%	II 31%
Bianchi	DD 29%	ID 40%	II 31%

Il polimorfismo I/D ha un effetto fenotipico:

soggetti omozigoti DD hanno attività enzimatica ACE plasmatica maggiore rispetto ai soggetti eterozigoti ID ed omozigoti II.

Associazione tra il polimorfismo I/D nel gene ACE e PERFORMANCE ATLETICA:

Studi su gruppi di atleti olimpionici allenati a 4000m di altitudine, senza l'uso supplementare di ossigeno, praticanti discipline su lunghe distanze e di canoisti hanno evidenziato un eccesso di genotipi omozigoti I/I o eterozigoti I/D fra gli atleti d'elite rispetto alla popolazione di controllo:

L'allele I sembra associato alla performance di durata.

La presenza (inserzione I) della sequenza Alu favorisce le persone che praticano sport di durata.

Il genotipo DD sarebbe invece più frequente in atleti praticanti discipline su distanze brevi (corsa, nuoto):

L'allele D sembra associato alla capacità di "sprint".

L'assenza (delezione D) della sequenza Alu favorisce le persone che praticano sport di velocità (sprint).

Come si spiega l'associazione tra il polimorfismo I/D nel gene ACE e PERFORMANCE ATLETICA??

Il sistema renina-angiotensina e' presente a livello del tessuto muscolare sia scheletrico che cardiaco.

Soggetti con uno o due alleli **I (I/D o I/I)** nel loro genotipo

sarebbero favoriti dal punto di vista metabolico per:

- miglior sfruttamento acidi grassi come fonte energetica (probabile azione ACE nel tessuto adiposo);
- ridotta risposta vasocostrittoria alla ipossia a livello polmonare (vantaggio respiratorio);
- aumento bradichinina che contrasta la risposta ipertrofica a livello cardiaco.

Come si spiega l'associazione tra il polimorfismo I/D nel gene ACE e PERFORMANCE ATLETICA?

L'allele **D** in individui con genotipo (D/D) si associa a maggior incremento:

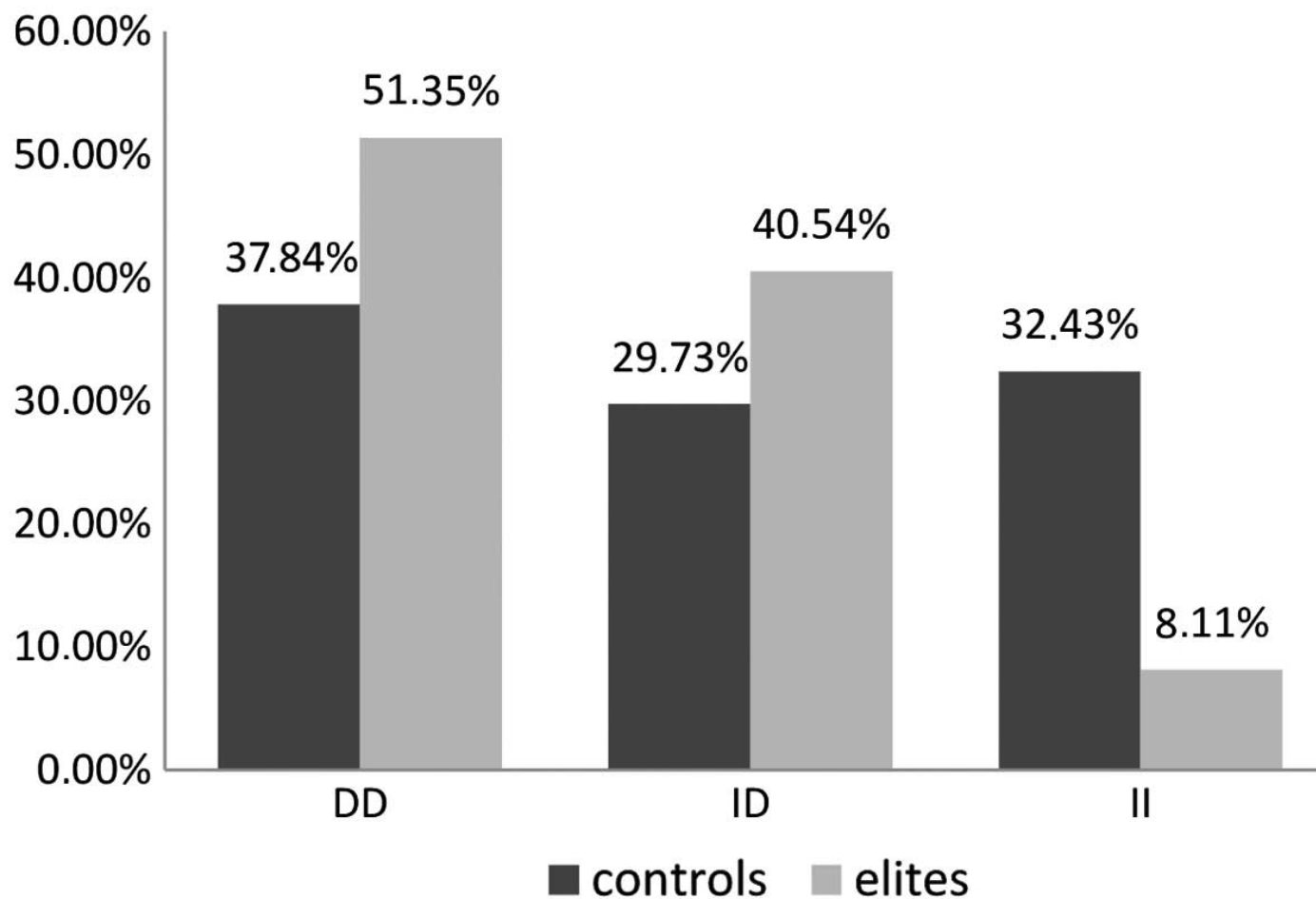
- ❖ della massa ventricolare sinistra,
- ❖ della quantità di ossigeno utilizzabile dall'organismo (VO₂max)
- ❖ della forza muscolare (quadricipite) in seguito ad esercizio.

Controversa l'associazione tra il polimorfismo I/D nel gene ACE e PATOLOGIE CARDIO-VASCOLARI:

- ❑ Diversi autori hanno descritto una frequenza superiore del **genotipo D/D** in soggetti affetti da cardiomiopatia ipertrofica, stenosi coronariche, infarto del miocardio, ipertensione, ipertrofia ventricolare sinistra.
- ❑ Altri studi non rilevano un significativo aumento di frequenza del genotipo DD nelle categorie suddette.
- ❑ E' stata suggerita una associazione fra genotipo DD e longevita', sulla base di una maggior frequenza di tale genotipo in soggetti centenari.

Effect of angiotensin I-converting enzyme and α -actinin-3 gene polymorphisms on sport performance. Molecular Medicine Reports 9: 1422-1426, 2014

ACE Polimorphisms



FREQUENZE DI ATLETI DI ELITE E CONTROLLI

Genetica e razze.....(Bouchard C. 1988)

Quale è l'origine del BLACK POWER??



ACE I allele
associato positivamente con le capacità aerobiche
(Science 305, July 2004)

- **Keeping pace with ACE: are ACE inhibitors and angiotensin II type 1 receptor antagonists potential doping agents?** Wang P et al.
Sports Med. 2008;38(12):1065-79.

L'enzima di conversione dell'angiotensina (ACE) è stato il primo gene ad essere proposto come gene umano per le prestazioni fisiche: ci sono stati numerosi studi che hanno esaminato gli effetti del genotipo ACE sui fenotipi di prestazione fisica (es. capacità aerobica, la funzione muscolare e stato atletico).

In questo articolo si discute la possibilità che gli ACE-inibitori [bloccanti del recettore dell'angiotensina], in virtù dei loro effetti sull'enzima ACE o sulla funzione angiotensina II, possano avere la capacità di migliorare le prestazioni atletiche.

ACTN3 gene and Physical Performances

- [Sports Med.](#) 2013 Sep;43(9):803-17. **Genes for elite power and sprint performance: ACTN3 leads the way.** [Eynon N](#), [Hanson ED](#), [Lucia A](#), [Houweling PJ](#), [Garton F](#), [North KN](#), [Bishop DJ](#).

ACTN3 è l'unico gene che mostra associazione tra genotipo e prestazioni atletiche tra più coorti di atleti d'elite.

I geni ACTN codificano la formazione di proteine chiamate Actinine che legano actina e servono per stabilizzare i filamenti di actina = contrazioni più forti

Due tipi principali di geni ACTN :

- **ACTN2** che codifica per l' α -actinina 2, espressa in tutte le fibre muscolari
- **ACTN3** che codifica α -actinina 3 che è presente solo nelle fibre a contrazione veloce.

ACTN3: Come funziona il gene

- ACTN3 è espressa nelle fibre muscolari a contrazione veloce e la proteina che codifica è α -actinina 3.
- α -actinina 3 è una componente importante della linea Z, e si collega con i filamenti di actina per coordinare la contrazione muscolare.
- Le fibre muscolari a contrazione veloce sono alimentati da glucosio, che fornisce potenza e velocità.
- Ci sono due varianti del gene ACTN3 presenti nella popolazione, la variante R e la variante X.

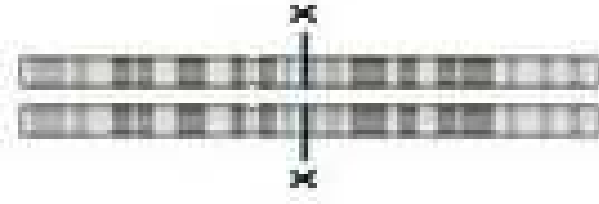
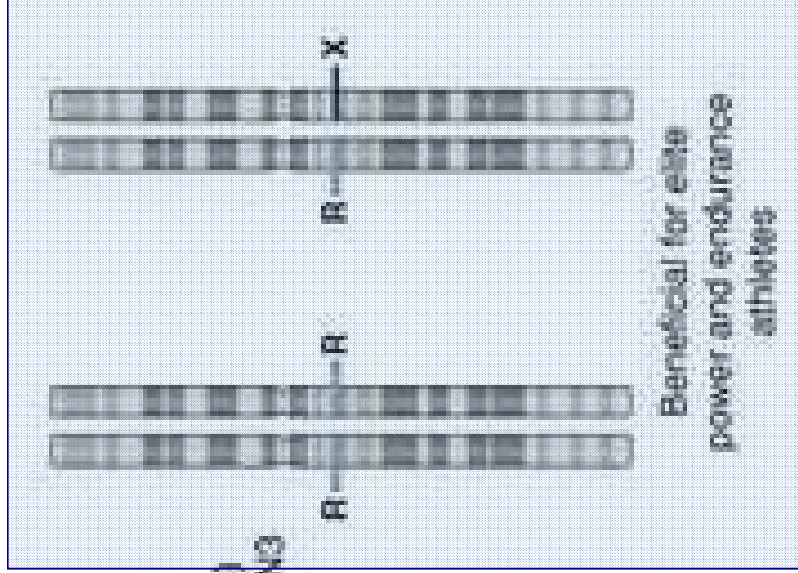


Chromosome 11

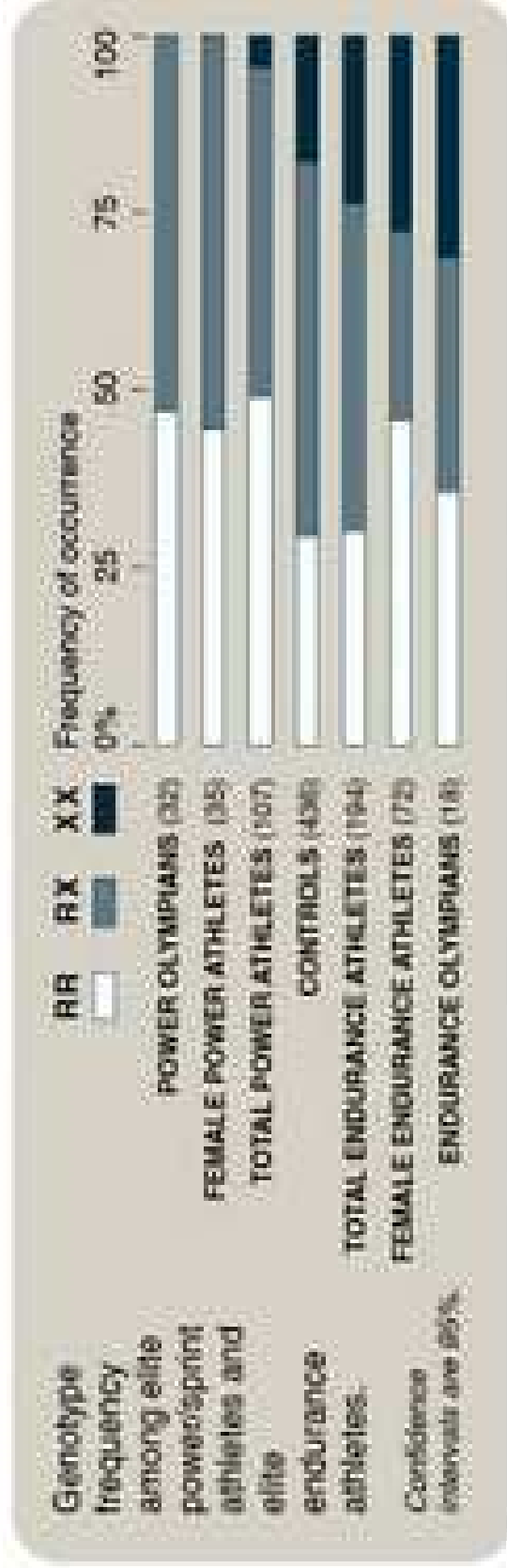
Research suggests that elite athletes who rely on the power of fast-twitch fibers in their muscles, like sprinters, share a common genotype. These fibers contain a protein produced by the R allele (version) of the ACTN3 gene.

ACTN3

Possible variations (genotypes) of the ACTN3 gene.



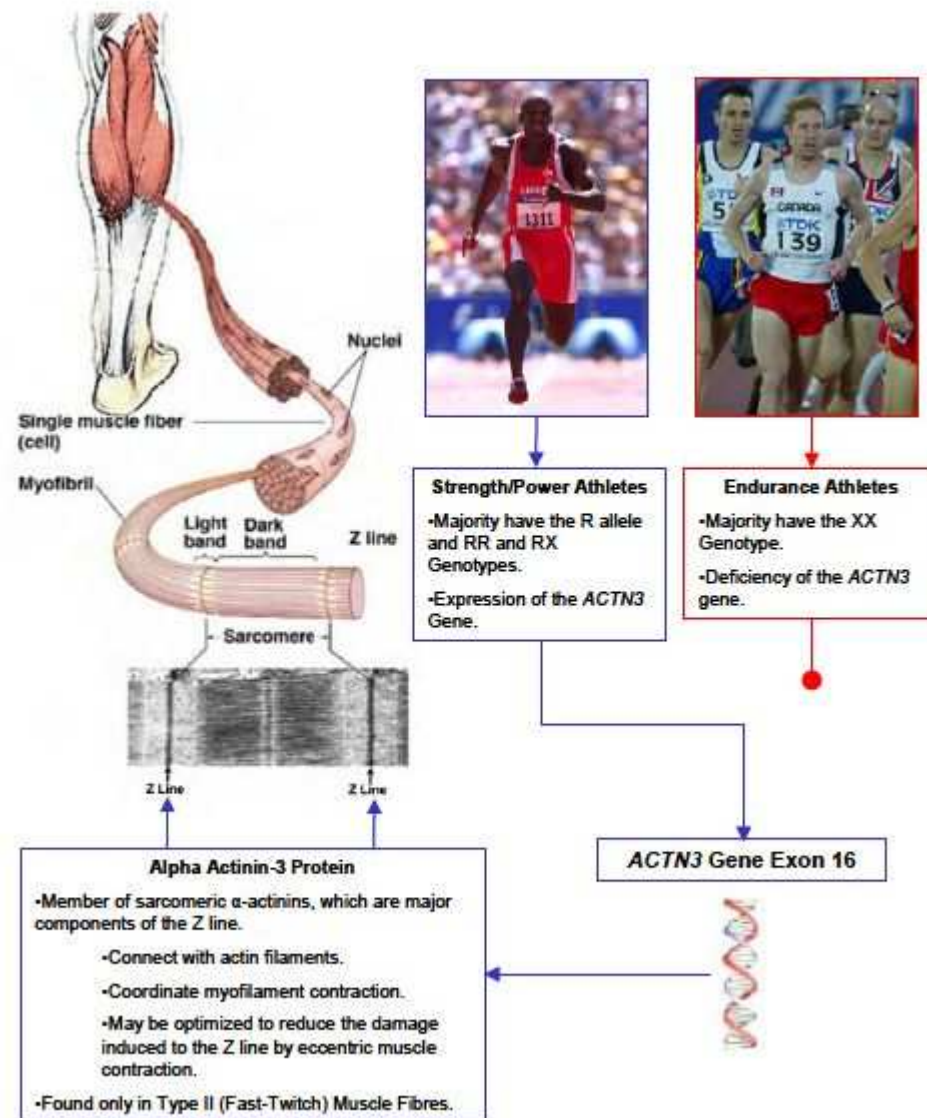
Not beneficial for elite power athletes.



ACTN3: Come funziona il gene per il lavoro di velocità?

- La variante R del gene, 577R, codifica per l'allele funzionale che produce la proteina α -actinina 3.
- La variante X del gene, R577X, codifica un codone di stop prematuro con formazione di proteina α -actinina 3 non funzionale.
- Le persone con la variante R producono più proteine ACTN3 nei muscoli a contrazione rapida.
- Le persone con le varianti XX non producono proteine ACTN3.
- La variante XX non si traduce in un fenotipo malattia.
- Le persone con le varianti XX non producono α -actinina 3 ma possono produrre più proteine ACTN2 che aumenta le loro capacità di resistenza.

DOVE SI ESPRIME ACTN3





Michael Phelps e Usain Bolt:

Che cosa li ha portati ad
eccellere?

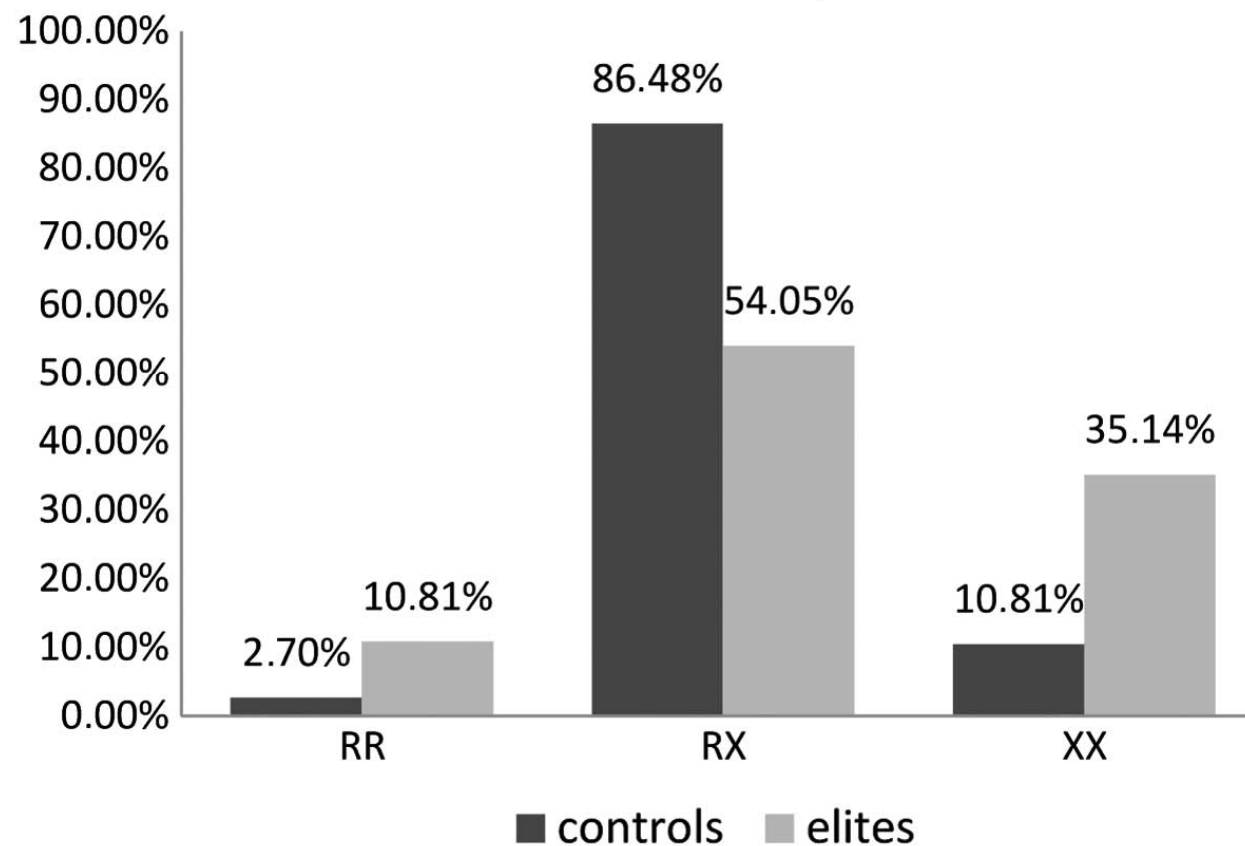




Tu Sì! Tu No!
La genetica ha già
deciso.....
chi sarà un
campione?

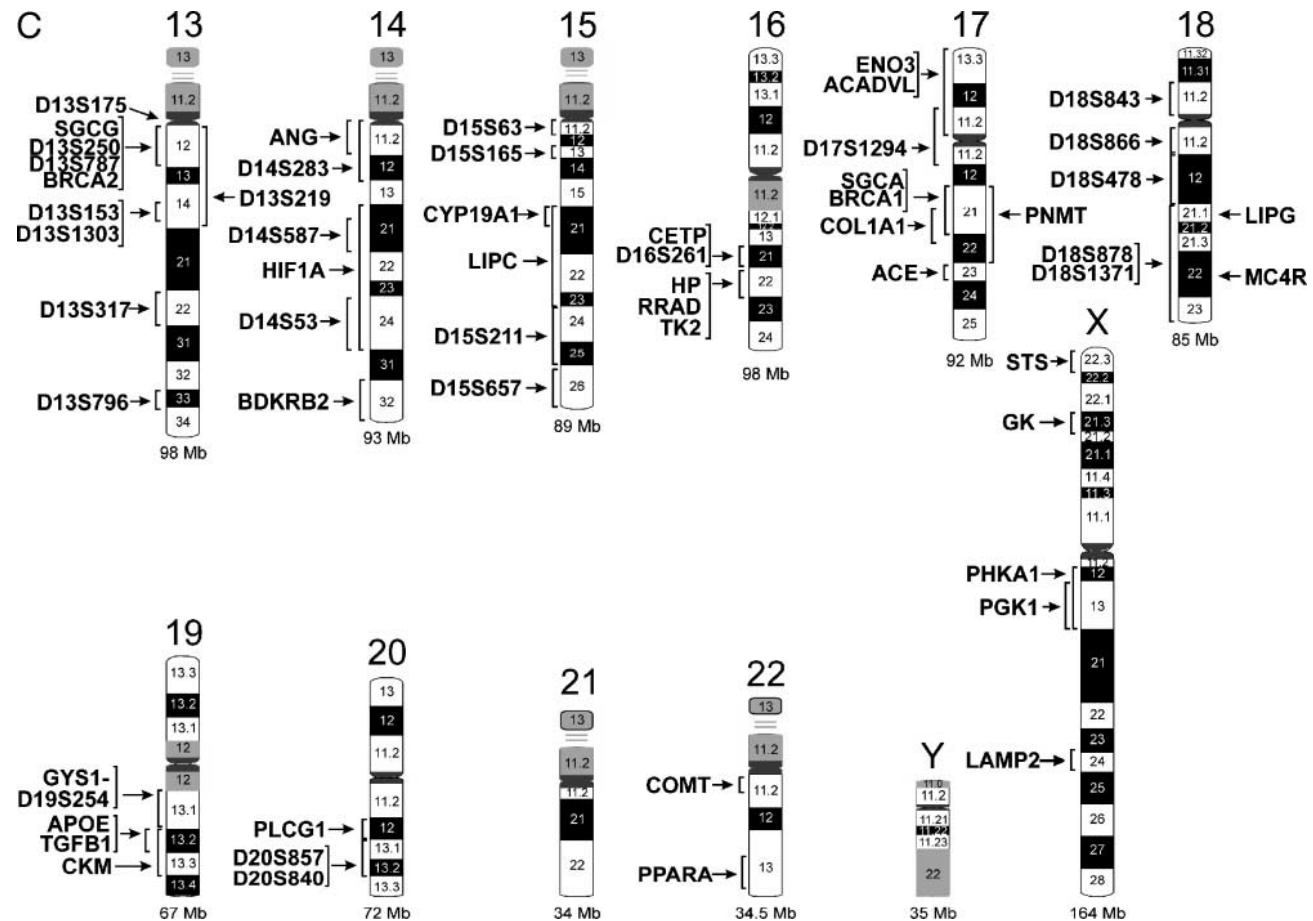
Effect of angiotensin I-converting enzyme and α -actinin-3 gene polymorphisms on sport performance. Molecular Medicine Reports 9: 1422-1426, 2014

ACTN3 Polimorphisms



FREQUENZE DI ATLETI DI ELITE E CONTROLLI

GENI E PERFORMANCE SPORTIVA



Un test genetico può predire le "capacità sportive" di un individuo?

In America una società ha creato "Athletic Talent Laboratory Analysis System" (ATLAS). La società sostiene che lo studio della variazione ACTN3 nei bambini tra 8-10 anni «**può determinare che tipo di atleta sei nato per essere**» e propone alle società sportive questo test per l'immissione di giovani nello sport.



PROBLEMI ETICI

Che cosa porta all'eccellenza nello sport:
Geni? Ambiente? Formazione? Guidare?



GENI E PERFORMANCE SPORTIVA

GENI ASSOCIATI ALLA CAPACITÀ DI RESISTENZA

ACE/ angiotensin-converting enzyme

ADRB2/ β -2 adrenergic receptor

BDKBR2/ bradykinin type 2 receptor BE1

CHRM2/ cholinergic receptor muscarinic 2

EpoR/ erythropoietin receptor

HBB/ haemoglobin beta

HIF-1 α / hypoxia-inducible factor 1

GYS1/ glycogen synthase 1

NOS3/ nitric oxide synthase

NRF2/ nuclear respiratory factor 2

PPAR δ / peroxisome proliferator-activated receptor δ

VEGF/ vascular endothelial growth factor

GENI ASSOCIATI A PRESTAZIONI MUSCOLARI E POTENZA

ACE/ angiotensin-converting enzyme

ACTN3/ α -actinin 3

AMPD1/ adenosine monophosphate deaminase

CK-MM/ muscle creatine kinase

IGF-1/ insulin like growth factor 1

SUSCEPTIBILITY TO INJURIES

COL1A1/ collagen type 1 α 1

COL5A1/ collagen type 5 α 1

MMP3/ matrix metalloproteinase 3

TNC/ tenascin C

GENI ASSOCIATI ALLA ATTITUDINE PSICOLOGICA

5HTT/ serotonin transporter 5

BDNF/ brain-derived neurotrophic factor

5HTT/ serotonin transporter 5

ATTITUDINE PSICOLOGICA

- Resistenza allo stress e il controllo delle emozioni sono in una certa misura geneticamente determinate. Ci sono prove che esistono polimorfismi nel gene trasportatore della serotonina HTT .
- Il trasportatore della serotonina (5HTT) può codificare per due forme alleliche: HTT lungo (L) e HTT corto (S).
- Uno studio psicologico di atlete femmine con il genotipo SS ha rivelato che la loro irritazione e livelli pessimismo erano inferiori a quelli di atlete con i genotipi LS e LL.