

Orijinal araştırma-Original research

Ege bölgesi elit sporcularının ACTN3 R577X genotip dağılımının araştırılması

Investigation of ACTN3 R577X genotype distribution of elite athletes in the Aegean region

Fatma Şanlısoy, Nuray Altıntaş*, Gürbüz Büyükyazı, Nurullah Candan

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı (Uzm. Bio. F. Şanlısoy, Yrd. Doç. Dr. N. Altıntaş), Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Spor Sağlık Bilimleri (Doç. Dr. G. Büyükyazı), Beden Eğitimi ve Spor Öğretimi (Yrd. Doç. Dr. N. Candan), Celal Bayar Üniversitesi Beden Eğitimi Spor Yüksek Okulu, TR- 45040 Manisa

Özet

Amaç. Ege bölgesi elit sporcularının genetik alt yapılarının spordaki performansına olumlu katkısını moleküler yöntemlerle araştırmayı hedefledik. **Yöntem.** Moleküler genetik çalışma 105 gönüllü elit sporcu ve 105 gönüllü kontrol (sedanter bireyler) grubuna uygulandı. Her bir gönüllüden EDTA içeren tüplere 5'er mL kan alındı. DNA izolasyonu, standart protokollere göre yapıldı. Polimorfizm, Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ve Restriksiyon Uzunluk Polimorfizmi (Restriction Fragment Length Polymorphism=RFLP) yöntemleri uygulanarak saptandı. Çalışmamızın istatistiksel analizleri SPSS 15,0 programı kullanılarak değerlendirildi. **Bulgular.** Elit sporcuların RR ve RX genotiplerinin dağılımları, sedanter bireylerden önemli ölçüde farklı ($\chi^2= 17,9$; $p=0,000$) bulundu. **Sonuç.** Ege Bölgesinde ACTN3 R577X genotip dağılımının, elit sporcu ve kontrol grubundaki prevalansının araştırılması Ege bölgesinde ilk defa yapılan bir çalışmadır. Araştırmamızın ileride bu alanda yapılacak çalışmalara öncülük yapacağını düşünmekteyiz.

Anahtar sözcükler: ACTN3, R577X, RFLP

Abstract

Aim. The aim of our study is to investigate whether the genetic base of elite athletes in Aegean region have positive effects on their performance in sports by molecular techniques. **Methods.** Molecular genetic study was applied to the 105 volunteer elite athletes and 105 volunteer control group (sedantary individuals) individuals. Five milliliter blood samples were taken from each volunteer individuals into the tubes containing EDTA. DNA isolation was performed according to the standard protocols. Polymorphism was determined by Polymerase Chain Reaction (PCR) and Restriction Length Polymorphism (RFLP) techniques. The statistical analysis of our study was performed by using SPSS 15.0 program. **Results.** Significant difference ($\chi^2 =17.9$; $p=0.000$) was found in the distribution of RR and RX genotypes between the elite athletes and sedentary individuals ($\chi^2= 17,9$; $p=0,000$). **Conclusion.** This is the first study in the Aegean region investigating the prevalence of ACTN3 R577X genotype in elite athletes and sedentary individuals. We think that our study will initiate further researches on this subject.

Keywords: ACTN3, R577X, RFLP

Geliş tarihi/Received: 14 Mart 2011; **Kabul tarihi/Accepted:** 04 Nisan 2011

***İletişim adresi:**

Dr. Nuray Altıntaş, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi TR-45040 Manisa. E-posta: naltintas35@gmail.com

Bu çalışma 2010 yılında düzenlenen 11.Uluslararası Spor Bilimleri Kongresinde sözlü bildiri olarak sunulmuştur.

Giriş

Bugüne kadar sporcuların yüksek performans seviyelerinin ve elit sporcu özelliklerinin gelişiminin özel antrenmanlara ve beslenme programlarına bağlı olduğu düşüncesi yaygındır. Artık insan fiziksel performansındaki fenotip durumunu karakterize etmek için bu gibi çevresel faktörler yeterli görülmemektedir. Günümüzde karmaşık fiziksel performans fenotipi için, diğer bir belirleyici faktör olarak ‘genetik predispozisyon’ ilgisi ortaya çıkmıştır. Genetik predispozisyon, en önemli faktör olmasa da bir bireyin elit olarak karakterize edilmesinde büyük öneme sahiptir. İnsan genetik haritasında, fiziksel performans fenotipi ile ilişkili 170 adet varyant gen dizisi ve genetik belirteç bilinmektedir. Spor yeteneklerinin tespit edilmesinde genetik araştırmalar önemli ipuçları vermektedir. Genetiğin fiziksel performans üzerine etkisinin ilk güçlü kanıtları ikizler ve onların çekirdek ailelerinin karşılaştırılmasıyla ortaya çıkmıştır. İkizlerin aerobik zindelikleri ve kardiyak performanslarıyla ilişkili özellikleri çevresel ve genetik etkenlerle karşılaştırılmıştır [1-6]. Tüm genomu kapsayan bağlantı analizleri belirli performans özelliklerini etkileyen genlerin yerleştiği bölgeleri saptamak için güçlü bir tekniktir. Bu teknik, ortak özelliğe sahip çok sayıda birey üzerinde; insan genomuna yayılmış genetik belirteçleri incelemeyi ve her bir belirteç ile spesifik fenotip özellikleri arasındaki ilişkileri araştırmayı içerir. Azami oksijen tutma seviyesi ve kalp pompalama gücü gibi dayanıklılık performansı özelliklerini, iskelet kası kütlelerinin göstergesi olan yağsız vücut kütlesi gibi sprinter performans özelliklerini saptamada, anlamlı “bağlantı pikleri”ni (etkili genleri içermeye olasılığı olan genom bölgelerini) belirlemek için kullanılır [7, 8].

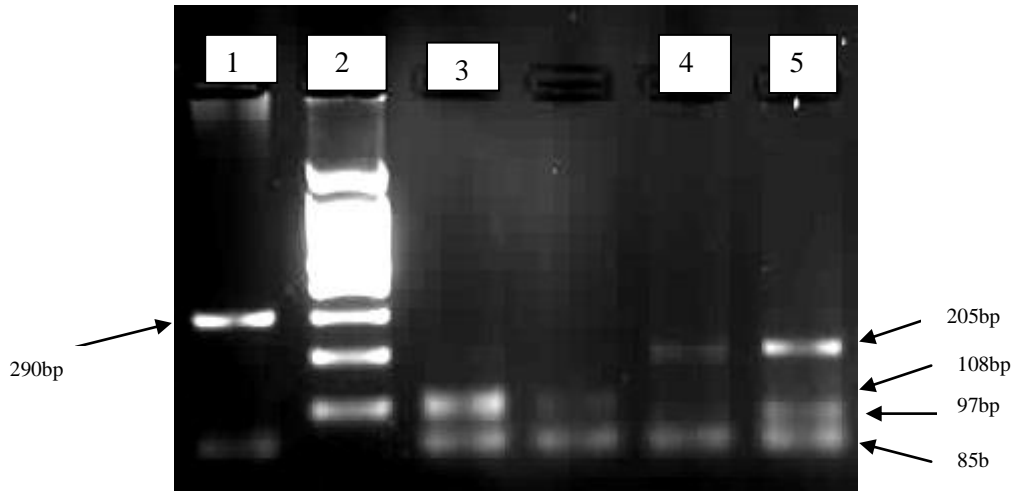
Aktinler, alfa, beta ve gama olmak üzere üç ana gruba ayrılırlar. Aktinler ökaryot hücrelerde bol miktarda bulunmakta, ayrıca hücre iskeleti ve motilitesinde rol oynamaktadırlar. Alfa-aktininler distrofin ile ilişkili aktin-bağlayıcı proteinlerin bir ailesidir. Hücre iskeleti organizasyonunda ve kas kasılmasında yapısal ve düzenleyici rolleri bulunur [9-14]. Alfa-aktinin-3’ün üretiminden 11q13-q14 bölgesinde yer alan ACTN3 geni sorumludur. ACTN3 genin 16. ekzonunda meydana gelen C1729T mutasyonu sonucunda stop kodon oluşmakta ve 577. pozisyondaki arjinin aminoasidini oluşturan kodon, stop kodona (R577X) dönüşmektedir [12, 13, 15-19]. Alfa-aktinin izoformlarına protistler, omurgasızlar, kuşlar ve memeliler gibi çok sayıda canlıda rastlanmaktadır. Bir α -aktinin-3 eksikliği, ACTN2 izoformu ile giderildiğinden, müsküler distrofi veya miyodistrofi gibi patolojik fenotipe sebep olmaz. Birey R allelinin en az bir kopyasına sahip ise, ACTN3 geninden yeterli α -aktinin-3 üretimi gerçekleşir. Eğer α -aktinin-3’ün tip II kas lifleri üzerinde önemli etkisi varsa, ACTN3 için farklı genotiplere (R577X) sahip bireyler arasında, iskelet kası fonksiyonlarında farklılıklarla karşılaşılabilir. ACTN3 geni (RR veya RX genotipi) belli olan bireyler, XX genotipli bireyler ile karşılaştırıldığında patlama (eksplozyon) ve kas gücü gerektiren modalitelerde avantaj gösterebilirler. ACTN3 geni hakkında ilgi çekici bir durumda X alleli için homozigot olan bireylerin oranının popülasyondan popülasyona farklılık göstermesidir [14, 20, 21].

Çalışmamızda, moleküler yöntemlerle Ege Bölgesi’ndeki elit sporcular ve sedanter bireylerde ACTN3 geninin dağılımını ve atletik performans üzerindeki etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve yöntem

Elit sporcu ve sedanter bireylere ait örneklerin toplanması Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulundan çalışma için onay alınarak çalışmaya başlandı. Çalışma grubumuzu oluşturan 8 farklı spor dalından (basketbol, atletizm, judo, güreş, tekwando, bisiklet, futbol ve tenis) 105 elit sporcu (15-40 yaş arası, erkek), Celal Bayar Üniversitesi Beden Eğitimi Spor Yüksek Okulu öğretim üyelerinin hazırlanmış bulunduğu, elit sporcuya ulaşma programı ile oluşturuldu. Elit sporcu seçim ölçütleri olarak, federasyonların düzenlediği resmi bölgesel müsabakalara katılmış olmak, dışlama ölçütü olarak federasyonların düzenlediği resmi bölgesel müsabakalara katılmamış olmak

şartı, sedanter seçim ölçütü olarak son 6 ayda haftada 2 gün günde 15 dakikadan az egzersiz yapmış olmak, dışlama ölçütü ise son 6 ayda haftada 2 gün günde 15 dakikadan fazla egzersiz yapmış olmak olarak belirlendi. Kontrol grubuna 15-40 yaş arası gönüllü 105 sedanter erkek bireyler alındı. Gönüllü elit sporcu ve sedanter birey gruplarına, çalışmayla ilgili detaylı bilgi verilip gönüllü onay formları okutuldu ve onayları alınarak imzalatıldı. Araştırmamızın tüm aşamaları Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Moleküler Biyoloji laboratuvarında gerçekleştirildi. Moleküler genetik çalışma, 105 Elit Sporcu (ES) ve 105 Sedanter Bireye (SB) uygulandı. DNA izolasyonu için çalışma ve kontrol gruplarından EDTA'lı tüplere 5 ml periferik kan alındı. Kanlar DNA izolasyon (NucleoSpin DNA İzolasyon Kiti) protokolü uygulanarak izole edildi. RFLP çalışması için 5U DdeI restriksiyon endonükleaz enzimi kullanıldı [15]. Polimorfizm PZR ve RFLP çalışmasında forward primeri olarak 5'-CTGTTGCCTGTGGTAAGTGGG-3' ve reverse primeri olarak 5'-TGGTCACAGTATGC AGGAGGG-3' bitişik intron dizileri kullanılarak saptandı [15].Elde edilen DNA'ların saflığını belirlemek amacıyla spektrofotometrede OD değerleri okutuldu ve OD 260/280 oranları değerlendirildi. Değerlendirilen örneklerin hepsinde bu oranın 1,75-2,0 arasında değiştiği gözlemlendi. Bu oran, DNA saflığının moleküler çalışmalar için uygun olduğu anlamına gelmektedir. ACTN3 geninin 16. ekzonunda ki R577X mutasyonunu araştırmak amacıyla yapılan PZR 290 bp uzunluğundaki ACTN3 gen bölgesinin RFLP çalışması sonucunda, RR (Restriksiyon Enziminin PZR ürününe bir kez kesim yapması sonucunda agaroz jelde 85 ve 205 bp'da bantlar vermesidir), XX (RE'nin PZR ürününe mutasyondan dolayı iki kez kesim yapması sonucunda agaroz jelde 85, 97 ve 108 bp'da bantlar vermesidir) ve RX genotipleri saptandı. Saptanan RR, XX, RX genotiplerinin PZR ürünlerine ait jel görüntüleri görüntüleme sistemi (Syngene-ABD) kullanılarak fotoğraflandı (Şekil 1).



Şekil 1. Elit sporcular ve sedanter bireylerdeki ACTN3 geninin polimorfizminin jeldeki görüntüsü.1.ACTN3 geninin kesilmemiş PZR ürünü 290 bp; 2. Markör:100 bp DNA ladder; 3. XX genotipi; 4. RR genotipi; 5. RX genotipi.

İstatistiksel analiz:

Çalışmamızın istatistiksel analizleri SPSS 15,0 programı kullanılarak değerlendirildi. Elde edilen verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde, Pearson Chi-Square testine göre ikili parametrelere Fisher's Exact, sayısal değerler için Oneway Anova testleri uygulandı. Bu modelde %95 güven aralığı içerisinde OR oranları hesaplandı. Anlamlılık derecesi $p < 0,05$ olarak alındı.

Bulgular

Çalışmamıza Ege bölgesinden 105 erkek elit sporcu ve 105 erkek sedanter birey alınmıştır. Elit sporcular ve sedanter bireylere ait demografik veriler Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Elit sporcular ve sedanter bireylere ait demografik veriler.

Demografik Veriler	Sayı		Minimum Maksimum				Ort±SD	
	ES	SB	ES	SB	ES	SB	ES	SB
Yaş (yıl)	105	105	15	18	35	40	18,67 ± 4,16	26,89 ± 6,69
Boy (m)	105	105	1,56	1,50	2,05	2,03	1,78 ± 0,09	1,75 ± 0,07
Kilo (kg)	105	105	45	55	83	113	77,76 ± 8,02	77,43 ± 11,16
Spor süre (yıl)	105	105	1,0	0,0	22,0	0,0	7,14 ± 4,02	0,00 ± 0,00

ES:Elit sporcu SB:Sedanter birey

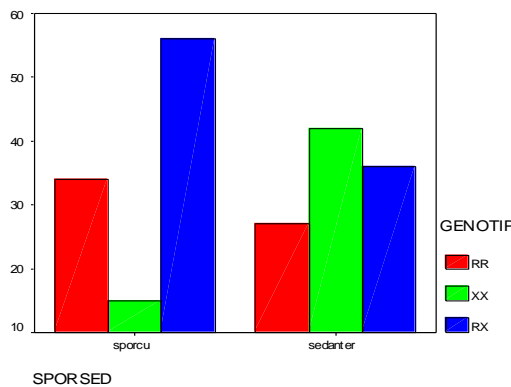
Ege bölgesi elit sporcu ve sedanter bireylerin ACTN3'ün genotip ve allel frekans bulguları

Ege bölgesinde, ES ve SB'de ACTN3 R577X genotipinin dağılımı Tablo 2 de görülmektedir. Elit sporcularda RX genotipi SB'e göre 1,235 kat artmıştır. X alleli, SB'de ES'lara göre 1.44 kat daha sık görülmektedir.

Tablo 2. Ege bölgesinde ES ve SB'de ACTN3'ün genotip ve allel frekansları.

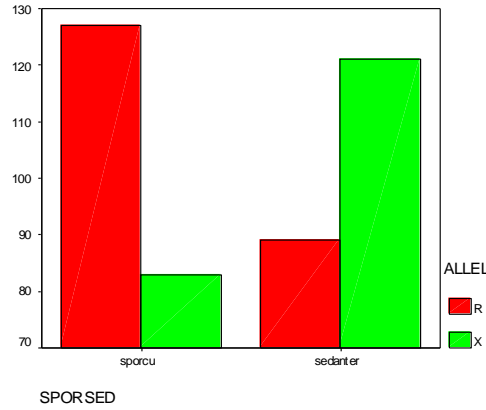
Genotip/Allel	SB n (%)	ES n (%)	Toplam n (%)	OR	%95 C.I.	p
RR	27(25,7)	34(32,4)	61(29,0)	1	-	-
RX	36(34,3)	56(53,3)	92(43,8)	1,235	(0,641-2,381)	0,528
XX	42(40,0)	15(14,3)	57(27,1)	0,284	(0,130-0,616)	0,001
Toplam Genotip	105(100)	105 (100)	210(100)	1,259	-	0,371
R	89(42,4)	127 (60,5)	216(51,4)	1,44	(1,183-1,765)	0,000
X	121(57,6)	83(39,5)	204(48,6)			
Toplam Allel	210(100)	210(100)	420(100)	-	-	-

Çalışmamızda elit sporcuların RR ve RX genotiplerinin dağılımları, sedanter bireylerden önemli ölçüde farklı ($\chi^2 = 17,9$; $p=0,000$) bulundu (Şekil 2).



Şekil 2. Elit sporcu ve sedanter bireylerde ACTN3 geni R577X polimorfizmi dağılımı.

Elit sporcuların R ve X alleli dağılımı da, sedanter bireylerden önemli ölçüde farklı ($\chi^2 = 13,7$; $p=0,000$) bulundu (Şekil 3).



Şekil 3. Elit sporcu ve sedanter bireylerde ACTN3 geni R577X polimorfizmi için allel genotipinin frekans dağılımı.

Tartışma

ACTN3 geni ve bu genin atletik performans özellikleri üzerindeki etkisi güncel araştırma konuları içerisinde. ACTN3 genotipleri ile elit sporcuların performansları arasındaki ilişki için, eğer α -aktin3'ün tip II kas lifleri üzerinde önemli etkisi varsa; ACTN3 için farklı genotiplere (R577X) sahip bireyler arasında, iskeletsel muskuler fonksiyonlarındaki farklılıkları öngörmenin mümkün olduğu bildirilmektedir [9]. ACTN3 geni RR veya RX genotipte olan bireyler, XX genotipte olan bireyler ile karşılaştırıldığında patlama (eksplozyon) ve kas gücü gerektiren modalitelerde avantaj gösterebildiklerinden bahsedilmektedir [4]. Hız açısından 107 elit sporcunun (72 erkek, 35 bayan), dayanıklılık açısından 194 elit sporcunun (122 erkek, 72 bayan) ve 436 sedanter bireyin ACTN3 genotipleri ve allellerinin frekanslarını karşılaştırılmış, hız sporcuları ile kontrol bireylerin allellerinin frekansları arasındaki önemli farklılığı (erkekler için $p < 0,001$, bayanlar için $p < 0,01$) doğrulamışlardır. Sporcular, toplam olarak kontrol grubu ile (sırasıyla %6 ve %18) karşılaştırılarak analiz edildiğinde, XX genotipinin düşük frekansı gösterilmiştir. Otuz beş bayan hız sporcusundan hiçbirinde XX genotipine rastlanmamıştır. Toplam olarak 107 hız sporcusu, kontrol grubu ile karşılaştırılarak analiz edildiğinde; RR genotipinin yüksek frekansını ve RX genotipinin düşük frekansını (%50 ve %45) göstermektedirler. Bu çalışmanın ilginç olan noktası, allellerinin frekansları zıt yönde olan hız/güçlülük sporcuları ile dayanıklılık sporcularının karşılaştırılması ve her iki cinsiyet için de önemli farklılıklara sahip olmalarıdır. Erkek sporcularda XX genotipinin frekansı; dayanıklılık sporcuları için %20, hız/güçlülük sporcuları için %8 iken; bayanlarda, dayanıklılık sporcuları için %29, hız/güçlülük sporcuları için %0'dır. Erkek sporcularda RR genotipinin frekansı; dayanıklılık sporcuları için %28, hız/güçlülük sporcuları için %53 iken; bayanlarda, dayanıklılık sporcuları için %36, hız/güçlülük sporcuları için %43'tür [9]. Hız/güçlülük sporcularında 577R allelinin bulunmasının yararının α -aktinin3'ün iskelet kas liflerinin hızlı büzülmesi ile uyumlu olduğu bildirilmiştir. [1]. Diğer taraftan ACTN3 geninin olmayışının ifadesinin (XX genotipi); dayanıklılık sporlarındaki daha iyi performans ile alakalı olabileceği yönünde olduğunu düşünmektedirler. Aynı yazarlar genetik alanındaki ilişki çalışmalarının kısıtlamalar gösterdiğine ve tek genin fenotip ile olan ilişkisinin açıklanmasında dikkatli olunması gerektiğine dikkat çekmektedirler. Sarkomerik α -aktininlerin muskuler büzülebilir aparatın yapısal fonksiyonlarına etkilerinin yanı sıra, fruktoz 1,6 biosfat ve glikojen fosforilaz gibi metabolizma düzenleyici proteinler ve sinyal yolları ile bağlantılı olduğu da bildirilmektedir [4]. Üst düzey 60 futbolcuda α -aktinin-3 (ACTN3) R577X genotipinin frekans dağılımını, 52 elit dayanıklılık sporcusu ve 123 ikincil kontrol grubu ile karşılaştırılarak çalışılmış ve futbolculardaki RR ve RX genotiplerinin dağılım yüzdesi (%48,3 ve %36,7); kontrol gruplarından (%28,5 ve %53,7) ve dayanıklılık sporcularından

(%26,5 ve %52) ($p=0,041$) önemli ölçüde, sırasıyla, yüksek ve düşük elde edilmiştir. Diğer bir değişle futbolcuların sprint kabiliyet gösterdiklerini iddia etmişlerdir [22]. Kuzey Hindistan populasyonunda ACTN3' ün R ve X allellerinin frekanslarını belirlemek amacıyla yapılan çalışmada, 125 gönüllü, sağlıklı kan donöründe yapılan, PZR ve RFLP yöntemleriyle elde edilen sonuçlarda homozigot R 27 (%22), heterozigot RX 76 (%61), homozigot X 22 (%17) bulunmuştur. Bu çalışmanın sonucunda, Kuzey Hindistan'daki ACTN3 gen prevalansının beyaz populasyonu ile benzerlik gösterdiği bulunmuştur [15]. Erkek elit sporcularda yapılan bir çalışmada ACTN3 R577X ve diğer polimorfizmlerin elit atlet seçiminde genetik belirleyici olmadığı bildirilmektedir [23]. Bayan sporcularda yapılan bir çalışmada da, ACTN3 R577X polimorfizminin sporcu performansına etkisi belirlenmiştir belirlenmiştir [24].

Çalışmamızda, ege bölgesindeki ACTN3 R577X genotip ve allel dağılımı sırasıyla erkek elit sporcularda RR %32,4, RX %53,3, XX %14,3, R %60,5, X %39,5, sedanter bireylerde RR %25,7, RX %34,3, XX %42, R %42,4 ve X %57,6 olarak saptanmıştır. Elit sporcuların RR ve RX genotiplerinin dağılımları, sedanter bireylerden önemli ölçüde farklı ($\chi^2 = 17,9$; $p=0,000$) bulunmuştur (Şekil 2). Elit sporcularda RX genotipi sedanter bireylere göre 1,23 kat daha fazladır. Elit sporcuların R ve X alleli dağılımı da, sedanter bireylerden önemli ölçüde farklı ($\chi^2= 13,7$; $p=0,000$) bulunmuştur (Şekil 3). Sedanter bireylerde X alleli elit sporculardan 1,44 kat daha fazladır. Sonuçlarımız Yang ve ark. [9]'nın verileriyle uyumludur. Ancak Türkiye populasyonunda ACTN3 R577X genotipinin dağılımı ile ilgili bir çalışmaya literatür taramalarımızda rastlamadığımızdan, elde ettiğimiz verilerin karşılaştırılması yapılamamıştır. Çalışmamızda ege bölgesindeki elit sporcuların ve kontrol grubunun ACTN3 gen prevalansı PZR ve RFLP yöntemleriyle saptanarak, bölgemizdeki elit sporcular ve sedanter bireylere ilişkin ACTN3 gen polimorfizmi çalışılmıştır. Türkiye populasyonunda ve ege bölgesinde ACTN3 R577X genotipinin dağılımı ile ilgili bir çalışma bulunmadığından, bu çalışmamız orijinal araştırma niteliği taşımaktadır.

Sonuç olarak; çalışmamızda ege bölgesindeki elit sporcu ve sedanter bireylerde ACTN3 geni polimorfizminin farklı olduğu belirlendiğinden, bu verilerimizin aday elit sporcuların spora yatkınlığının araştırılmasında olumlu katkısının olabileceğini ve Türkiye populasyonunda elit sporcu ve sedanter bireylere yönelik ACTN3 R577X genotipinin dağılımı ilgili araştırmalara katkıda bulunacağını düşünmekteyiz.

Kaynaklar

1. Dias RG, Pareira AC, Negrao CE, Krieger JE. Genetic polymorphisms determining of the physical performance in elite athletes. Rev Bras Med Esporte 2007; 13: 3.
2. Wolfarth B, Rivera MA, Oppert JM, Boulay MR, Dionne FT, Chagnon M, Gagnon J, Chagnon Y, Perusse L, Keul J, Bouchard C. A polymorphism in the alpha2a-adrenoceptor gene and endurance athlete status. Med Sci Sports Exerc 2000; 32: 1709-12.
3. Rankinen T, Pérusse L, Gagnon J, Chagnon YC, Leon AS, Skinner JS, Wilmore JH, Rao DC, Bouchard C. Angiotensin-converting enzyme ID polymorphism and fitness phenotype in the HERITAGE Family Study. J Appl Physiol 2000; 88: 1029-35.
4. MacArthur DG, North KN, A gene for speed? The evolution and function of alpha-actinin-3. Bioessays 2004; 26: 786-95.
5. MacArthur DG, North KN. Genes and human elite athletic performance. Hum Genet 2005; 116: 331-9.
6. Döring FE, Onur S, Geisen U, Boulay MR, Pérusse L, Rankinen T, Rauramaa R, Wolfahrt B, Bouchard C. ACTN3 R577X and other polymorphisms are not associated with elite endurance athlete status in the Genathlete study. J Sports Sci 2010; 14: 1-5.
7. Feitosa MF, Gaskill SE, Rice T, Rankinen T, Bouchard C, Rao DC, Wilmore JH,

- Skinner JS, Leon AS. Major gene effects on exercise ventilatory threshold: the HERITAGE Family Study. *J App Physiol* 2002; 93: 1000-6.
8. Scott RA, Irving R, Irwin L, Morrison E, Charlton V, Austin K, Tladi D, Deason M, Headley SA, Kolkhorst FW, Yang N, North K, Pitsiladis YP. ACTN3 and ACE genotypes in elite Jamaican and US sprinters. *Med Sci Sports Exerc* 2010; 42: 107-12.
 9. Yang N, MacArthur DG, Gulbin JP, Hahn AG, Beggs AH, Eastale S, North K. ACTN3 genotype is associated with human elite athletic performance, *Am J Hum Genet* 2003; 73: 627-31.
 10. Fyrberg E, Kelly M, Ball E, Fyrberg C, Reedy MC. Molecular genetics of Drosophila alpha-actinin: mutant alleles disrupt Z disc integrity and muscle insertions. *J Cell Biol* 1990; 110: 1999-2011.
 11. Barstead RJ, Kleiman L, Waterston RH. Cloning, sequencing, and mapping of an alpha-actinin gene from the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Cell Motil Cytoskeleton* 1991; 20: 69-78.
 12. Honda K, Yamada T, Endo R, Ino Y, Gotoh M, Tsuda H, Yamada Y, Chiba H, Hirohashi S. Actinin-4, a novel actin-bundling protein associated with cell motility and cancer invasion. *J Cell Biol* 1998; 140: 1383-93.
 13. Beggs AH, Byers TJ, Knoll JH, Boyce FM, Bruns GA, Kunkel LM. Cloning and characterization of two human skeletal muscle alpha-actinin genes located on chromosomes 1 and 11. *J Biol Chem* 1992; 267: 9281-8
 14. Chiu, Li-Ling; Hsieh, Ling-Ling; Yen, Ke-Tien²; Hsieh, Sandy S. FACSM, ACE I/D and ACTN3 R577X Polymorphism in Elite Athletes. National Science Council, Taiwan, 2003.
 15. Goel H, Mittal B. ACTN3: Athlete gene prevalence in North India .*Current Science* 2007; 92: 84-6.
 16. Lucia A, Oliván J, Gómez-Gallego F, Santiago C, Montil M, Foster C. Citius and longius (faster and longer) with no α -actinin-3 in skeletal muscles?, *Br J Sports Med* 2007; 41: 616-7.
 17. Moran CN, Yang N, Bailey ME, Tsiokanos A, Jamurtas A, MacArthur DG, North K, Pitsiladis YP, Wilson RH. Association analysis of the ACTN3 R577X polymorphism and complex quantitative body composition and performance phenotypes in adolescent Greeks. *Eur J Hum Genet* 2007; 15: 88-93.
 18. Vincent B, De Bock K, Ramaekers M, Van den Eede E, Van Leemputte M, Hespel P, Thomis MA. ACTN3 (R577X) genotype is associated with fiber type distribution. *Physiol Genomics* 2007 Dec 19; 32: 58-63.
 19. Roth SM, Walsh S, Liu D, Metter EJ, Ferrucci L, Hurley BF. The ACTN3 R577X nonsense allele is under-represented in elite-level strength athletes. *Eur J Hum Genet* 2008; 16: 391-4.
 20. Saunders CJ, September AV, Xenophontos SL, Cariolou MA, Anastassiades LC, Noakes TD Collins M. No association of the ACTN3 gene R577X Polymorphism with endurance performance in ironman triathlons. *Ann of Hum Genet* 2007; 71: 777-81.
 21. MacArthur DG, North KN. ACTN3: a genetic influence on muscle function and athletic performance. *Exerc Sport Sci Rev* 2007; 35: 30-4.
 22. Lippi G, Longo UG, Maffulli N. Genetics and sports. *Br Med Bull* 2010; 93: 27-47.
 23. Santiago C, González-Freire M , Serratos L, Morate FJ, Meyer T, Gómez-Gallego F, Lucia A. ACTN3 genotype in professional soccer players. *Br J Sports Med* 2008; 42: 71-3.
 24. Shang X, Huang C, Chang Q, Zhang L, Huang T. Association between the ACTN3 R577X polymorphism and female endurance athletes in China. *Int J Sports Med* 2010; 31: 913-6.