

MOLEKULÁRIS GENETIKAI LEHETŐSÉGEK AZ OPTIMÁLIS VERSENYTÁV ÉS TRÉNINGMÓDSZER MEGVÁLASZTÁSÁHOZ ANGOL TELIVÉREKNÉL

KIS JUDIT - BODÓ SZILÁRD - RÓZSA LÁSZLÓ - ZSOLNAI ATTILA - ANTON ISTVÁN

ÖSSZEFOGLALÁS

A ló (*Equus caballus*) domesztikációja óta a fizikai erő, az aerob/anaerob kapacitás növelése, illetve a gyorsaság volt a szelekciós fókuszpontban. Kiváltképp igaz ez az angol telivérre: 300 éves tenyésztési történelme során a gyorsaság és kitartás volt szinte a kizárólagos szelekciós szempont, ezért alakult ki az atletikus fenotípus. Az elmúlt tíz év kutatásai, az új generációs szekvenálással végzett kísérletek igyekeztek felderíteni azon specifikus lókuszokat a lovak genomjában, amelyek összefüggésbe hozhatók a fajta szempontjából értékes tulajdonságokkal (pl. sebesség, állóképesség, acélosság). Néhány ezzel kapcsolatos kutatást és azok eredményeit kívánják a szerzők ismertetni ebben a tanulmányban.

SUMMARY

Kis, J. - Bodó, Sz. - Rózsa, L. - Zsolnai, A. - Anton, I.: MOLECULAR GENETIC APPROACH AS A PREDICTOR OF OPTIMUM RACE DISTANCE AND APPROPRIATE TRAINING METHOD OF THOROUGHBRED HORSES

Following domestication of horses (*Equus caballus*) physical strength, aerobic/anaerobic capacity and speed have represented the main target of selection. In case of Thoroughbreds, during their 300 year-long breeding history, speed and endurance were almost the only selection criteria, which led to the development of an athletic phenotype. In the past ten years Next-Generation Sequencing (NGS) enabled identification of specific loci associated with valuable traits (e.g., speed, stamina, steeliness). The aim of this study is to provide an overview of the genetic research related to Thoroughbred horses.

BEVEZETÉS

Néhány emlős faj aerob és anaerob kapacitásának köszönhetően kiemelkedik. Ezek között előkelő helyet foglalnak el a lovak. Vázizomzatuknak magas mitokondriális térfogata van, ami növeli az aerob kapacitást, tehát a VO_2 max érték (oxigénfelvevő képesség) kiugró (Jones és mtsai, 1989; Lovel és Rose, 1993; Potard és mtsai, 1998), valamint lehetővé teszi az energiaszubsztrátok (különösen a glikogén) jelentős mennyiségű intramuszkuláris tárolását. A magas puffer- és laktát-szállítási kapacitás megvédi az izmokat a gyors kifáradástól az anaerob edzés közben (Bryan és mtsai, 2017). A modern fajták (pl.: hannoveri, holland sportló, magyar sportló) fontos fenotípusos jellemzője emellett a megnövekedett mitokondriális biogenezis (Adhihetty és mtsai, 2003), a speciális, jól izmolt testfelépítés és az igen hatékony mozgás (Harrison és mtsai, 2010). A genomszekvenálás lehetőséget nyújt a teljes genom- és transzkriptom analízisre. E technológiák segítségével megérthetjük a fenotípus és genotípus közötti kölcsönhatásokat, illetve képesek leszünk elemezni a genetikailag kiemelkedő fenotípus-variációkat (Stefaniuk és Ropka-Molik, 2016). A történelem során azon emberi fenotípusokat melyekhez kiemelkedő fizikai teljesítmény kapcsolódott nem tudták kizárólag környezeti tényezőkkel igazolni, így az atletikusság genetikai meghatározottságát molekuláris genetikai módszerekkel kezdték vizsgálni (Santos és mtsai, 2016). Egy pontos nukleotid polimorfizmusokat (Single nucleotide polymorphism – SNP) vizsgáltak humán atlétákban (Sarzynski és mtsai, 2016) és a közelmúltban kiemelkedő versenyképességű versenylovakban is (Hill és mtsai, 2010c). Egy nemrég azonosított genomi régió, az ECA18 magába foglalja a miosztatin (MSTN) gént is, amely jelentősen befolyásolja az angol telivérek versenykarrierét. A teljesítménnyel összefüggő MSTN vizsgálatával elkülöníthetők egymástól a genotípusok, melyek a vázizomzat fejlődésén keresztül meghatározzák az optimális versenytávra való alkalmasságot (Farries és mtsai, 2018; Hill és mtsai, 2019). Ez a gén növekedési és differenciálódási faktor 8 néven is ismert (growth differentiation factor 8 – GDF8), a transzformáló növekedési faktor-béta szupercsalád tagja, mely negatív regulátora a miogenezisnek a mioblasztok proliferációján és a differenciálódás csökkentésén keresztül (McPherron és mtsai, 1997; Sharma és mtsai, 2015; Aiello és mtsai, 2018). A versenylovak sikeressége multifaktoriális, poligénes meghatározottságú. Ilyen kandidáns (jelölt) génekről több tanulmány is beszámolt, ide tartozik például a COX4I2, PDK4, DMRT3, CKM, ACSS1, ACN9, ACTN2, ACTN3, IGF1, HIF és PPAR (Gu és mtsai, 2010; Tozaki és mtsai, 2011; Negro Rama és mtsai, 2016; Wilkin és mtsai, 2017). Ezek jól mutatják, hogy vannak olyan lókuszek, melyek érintettek az oxidatív foszforilációban (Gu és mtsai, 2010; Hill és mtsai, 2010a; Wilkin és mtsai, 2017) a végtagmozgásban (Andersson és mtsai, 2012), a foszfokreatin és monoszacharid anyagcsere folyamatokban (Gu és mtsai, 2010), a glikolízisben, az izomrostok kontraktilis működésében (Hill és mtsai, 2010b), a proteinszintézisben, illetve proliferációban és a sejtanyagcserében (Wilkin és mtsai, 2017). Újabb kutatások szerint a MSTN mellett a PDK4_38973231 SNP (a lókuszt érintett a piruvát-dehidrogenáz komplex aktivitásában) erős befolyással van az 'elit' versenylovak teljesítményére, de további kisebb hatású gének szerepe is jól kimutatható (Hill és mtsai, 2010c). Tanulmányunkban átfogó képet adunk az MSTN gén szerepéről és azon további kandidáns génekről, melyek hatással vannak a versenyteljesítményre és az egyed sikerességére.

IRODALMI ÁTTEKINTÉS SZÁRMAZÁS ÉS FEJLŐDÉSTÖRTÉNET

A ló (*Equus caballus*) a páratlanujjú patások (*Perissodactyla*) rendjébe, a lófélék (*Equidae*) családjába, ezen belül a lovak (*Equus*) nemzetségébe tartozó faj. Ennek a nemzetségnek a paleontológiai származtatása jól dokumentált. Bár a fosszilis minták a lovak nagy diverzitását mutatták a miocénben (*Macfadden*, 2005) a ma élő fajokról ismert, hogy a pliocén korszakban, 2-4 millió évvel ezelőtt különváltak egymástól Észak-Amerika területén (*Everett és mtsai*, 1980). A legrégebbi leletek is innen származnak, az itt talált, testfelépítését tekintve primitív *Equus simplicidens* feltehetően az összes háziasított lófajta őse. A ma ismert lóhoz a véletlenszerű genetikai variációk, a természetes kiválasztódás és a folytonos fenotípusos változások vezettek (*Bowling és Ruvinsky*, 2000). Az idők során formálódott, fontos képesség a hosszú ideig (23 óra) történő állás, ami a fosszilis minták vizsgálatai alapján a középső miocénben (18–12 millió évvel ezelőtt) alakult ki (*Hermanson és Macfadden*, 1996).

DOMESZTIKÁCIÓ ÉS ELTERJEDÉS

Az Észak-Amerikából származó pleisztocén lófajok (beleértve az *Equus ferust* is) a Bering-földhídon keresztül érkeztek Eurázsia területére és terjedtek el világszerte (*Warmuth és mtsai*, 2012). A mai Ukrajna és Északnyugat-Kazahsztán sztyeppéiről, i.e. négyezres évekből származnak a legkorábbi domesztikációra vonatkozó bizonyítékok (*Hermanson és Macfadden*, 1996). A lovak és emberek közötti kapcsolat több ezer évre nyúlik vissza, s ez idő alatt a mindennapokban betöltött szerepük igencsak átalakult. Míg a háziasítást követő első időkben főként a kommunikációs, teherhordó és hadászati célú használatra helyezték a hangsúlyt, addig a közelmúltban a sport, illetve a rekreációs alkalmazás került előtérbe (*Thiruvankadan és mtsai*, 2009; *Outram és mtsai*, 2009). Az első bizonyíték ezen állatok tudatos kiválasztására – legyen az sport vagy munka célú – i. e. 3500-2800-ból származik. A tenyésztési, kiválasztási szempontok viszont már i. e. 400 körül is igen hasonlóak voltak a maiakhoz (*Amschler*, 1935; *Outram és mtsai*, 2009). Annak ellenére, hogy a tudatos tenyésztés és az egyértelmű szelekciós célok igen régóta tisztázottak, a lovakkal kapcsolatos genetikai kutatások nem kerültek fókuszba a háziállat állomány tej- és húshozam növelésére irányuló kutatásaival szemben (*Amschler*, 1935).

A versenylovak kiváló példaként szolgálnak arra, hogy bizonyos fajták kialakulásánál a szelekció viszonylag hosszabb időt ölelt fel. Történelmi szempontból az egyed egyéni pályafutása, így a tenyésztésértéke is sokszor pontatlan indexelési módszeren alapult, melyet a kollektív tenyésztői felfogás relatív és éppen divatos irányzatai befolyásoltak. A versenyfajták tenyésztésének az alapja az az intuitív elképzelés volt, hogy egy ló adott távot viszonylag rövid időn belül képes teljesíteni, és ezen képessége részben genetikai tényezőknek köszönhető. Ennek az elképzelésnek a megbízhatóságát később alátámasztotta a specializált versenyfajták kialakulása (*Hintz*, 1980).

AZ ANGOL TELIVÉR TÉRHÓDÍTÁSA

Az évszázadok óta galopplóként használt angol telivért a világ legértékesebb fajtájaként tartják számon. Az angol telivér – és ezen keresztül a ma ismert legtöbb modern lófajta kialakulásához a brit arisztokrácia lóverseny iránti szenvedélye vezetett egészen a XVII. századtól. A telivértuttatás mára a legelterjedtebb lóversenyzési forma lett (Észak-Amerikában a Quarter Horse-ok futtatása is népszerű) világszerte (Cassidy, 2002). A fajta összes ma élő egyede három alapítóménre (Darley Arabian, Godolphin Arabian, Byerly Turk), valamint 74 őshonos (brit) és import kancára vezethető vissza, melyeket királyi kancáknak (royal mares) is hívtak. A török, berber és arab származású törzsméneket és a törzskancákat a General Stud Bookban rögzítették 1791-ben (Vamplew és Kay, 2005; Bower és mtsai, 2012). A XVIII. század óta beltenyésztés folyik a zárt törzskönyv miatt. Az alapító 74 kanca közül csupán 50-nek a családja maradt fent és a ma élő összes ló pedigréje három nagy hatású pátriárkára mutat: Godolphin Barb unokájára Matchemre (ell.:1748), Byerly Turk ükunokájára Herodra (ell.:1758) és Darley Arabian ükunokájára Eclipse-re (ell.:1764).

Napjainkban az angol telivérek 95%-a Darley Arabian ménvonalának leszármazottja (Cunningham és mtsai, 2001). A fajta tenyésztések 300 éve alatt az intenzív szelekció olyan atletikus fenotípus kialakulását eredményezte, amely kiválóan alkalmazkodik a nagy terheléshez és képes kiemelkedő teljesítményre a versenypályán (Vamplew és Kay, 2005).

A LÓSPORT KIALAKULÁSA

Kezdetben még csak úgynevezett match-eket rendeztek, melyek két ló részvételével zajlottak igen hosszú, 4-6 mérföldes (6,5 – 9,5 km) távokon. Ha nem volt egyértelmű a győztes, a futamokat vagy heateket többször is megismételték. A mai angol klasszikus versenyeket, mint pl. St. Leger, Derby és Oaks ennél jóval rövidebb, másfél mérföld körüli (~2400 m) távokra futják. A világ több pontján a fent említett versenytávok egyre rövidülnek, az egyik legjelentősebb amerikai klasszikust, a Kentucky Derbyt már csak $1\frac{1}{4}$ mérföldön (~2000 m) rendezik (Binns és mtsai, 2010). A kezdetekben a lovak nem versenyeztek 5 vagy 6 éves koruk előtt, majd ez a tendencia átalakult. Míg 1802-ben kevesebb, mint 6% volt a kétévesen elsőként kipróbált lovak aránya, addig 1870-re ez 31%-ra emelkedett (Bower és mtsai, 2012). A történelem során a legjobb versenytáv és a tenyészanyag megválasztásához is elsősorban a fizikai jellemzőket és a származást vették alapul (Hill és mtsai, 2012). Általánosságban elmondható, hogy a versenylovakat három kategóriába osztják:

- rövidtávúak, vagyis 'sprinter/flyerek'
- középtávúak, azaz 'milerek'
- és hosszútávúak, tehát 'stayerek'.

Hagyományosan az egyed számára optimális versenytávot a rendelkezésre álló pedigré adatokból jósolják meg a felmenők eredményei alapján (Hill és mtsai, 2019). A kort és évjáratot nem a tényleges születési dátum határozza meg. Az északi féltekén egy egyed technikailag január elsejétől számít egy évvel idősebbnek, míg a déli féltekén július vagy augusztus elseje az évváltás időpontja

(*Thiruvankadan és mtsai*, 2009). Az IFHA (International Federation of Horseracing Authorities – Nemzetközi Lóversenyzési Hatóság) öt versenytávot ismer el (<http://www.horseracingintfed.com>):

1. táblázat

Nemzetközileg elfogadott versenytávok

Rövidtávú (1)	5-6,5 furlong	≤1300 m
Mérföldes (2)	6,51-9,49 furlong	1301–1900 m
Közép-hosszútávú (3)	9,5–10,5 furlong	1901–2112 m
Hosszútávú (4)	10,51–13,5 furlong	2114–2716 m
Extra hosszú távú (5)	>13,51 furlong	>2717 m

Table 1. Internationally accepted race distances

sprint (1); mile (2); intermediate (3); long (4); extended (5); (1 furlong=200 m)

Versenytípusokat tekintve két fő kategóriát különböztetünk meg a galoppsportban: síkversenyek és akadály- vagy gátversenyek. A síkversenyek, amelyeket általában 900-2500 m közötti távon rendeznek, a sebességet és állóképességet hivatottak tesztelni és további alkategóriákra oszthatók, élükön a legrangosabbnak számító tenyészversenyekkel. Ezek a black type futamok, amelyekbe növekvő sorrendben meghatározott Listed, Group3, Group2 és Group1 versenyek (bizonyos régiókban, pl. Amerikában a Group helyett a Graded megnevezést használják) tartoznak. Ezen versenyek díjazása és presztízse a legmagasabb. Gyakori, hogy azonos korú, ivarú és/vagy képességű lovak versenyeznek egymással, és sokszor csak az életkor szerint határozzák meg a vitt terhet (kortehér verseny), bár hozzá kell tenni, hogy a nemek esélyegyenlősége miatt a kancák számára engedményt szoktak adni. Ezzel szemben a hendikep versenyek során a jobb képességű lovak – korábbi teljesítményük függvényében – nagyobb súlyt visznek, míg a szerényebb képességű társaik kevesebbet, így az esélyek itt kiegyenlítődnek (*Thiruvankadan és mtsai*, 2009).

SIKERESSÉG, PREDIKCIÓ, ÖRÖKÖLHETŐSÉG

Egy angol telivér sikerességét a genetikai tényezők mellett a tréning, a takarmányozás és egyéb környezeti feltételek is befolyásolják (*Wilkin és mtsai*, 2017). A markerekre alapozott prediktív tesztek teljesítménye függ az adott tulajdonság h^2 értékétől (örökölhetőség), a kívánt fenotípus mennyiségétől a vizsgált csoporton belül és az algoritmusok megbízhatóságától is. Az egyed teljesítményének becslésére több fenotípusos mérőszámot alkalmaznak. Ezek közé tartozik a legjobb versenytáv (*Hill és mtsai*, 2019), a verseny lefutási ideje, a legjobb versenyidő, a helyezések, a nyerések, az életnyeremény, az éves nyeremény, az egy futásra jutó nyeremény és a hendikep szám. Korábbi tanulmányok a verseny lefutási idejét és az életnyereményt közepes örökölhetőségűnek találták (*Thiruvankadan és mtsai*, 2009), míg az állóképesség, sebesség, hendikepszám, legjobb versenytáv ($h^2=0,4-0,5$) jól örökölhetőnek bizonyult (*Tozaki és mtsai*, 2010). A nagy sűrűségű

SNP chipek elterjedésével lehetőség nyílt genom alapú szelekciós programok létrehozására, melyeket már sikeresen alkalmaznak más háziállat-populációk esetében (Hill és mtsai, 2019). A lovaknál a nagy generációs időintervallum és az unipara jelleg limitáló tényezőnek számít a genetikai előrehaladás szempontjából, azonban előny, hogy mindkét ivarnál jól megfigyelhető és rövid időn belül megismételhető a versenyek során nyújtott teljesítmény. Ezek a tényezők és a versenyteljesítmény szempontjából jelentős, jól örökölheto tulajdonságok lehetőséget adnak arra, hogy a teljesítményalapú kiválasztással gyorsabb genetikai előrehaladást legyünk képesek elérni (Thiruvankadan és mtsai, 2009).

A sikeresség szempontjából szintén nélkülözhetetlen tényező az aerob kapacitás maximuma, mely tréningben álló angol telivéreknél elérheti a 200 ml/kg/perc értéket (Tozaki és mtsai, 2011). A belső kapacitás mellett, az aerob metabolizmus és az energia-anyagcsere a tréningben nem részesülő lovak esetében az edzéshez való fizikai alkalmazkodást befolyásolja több genetikai tényezővel összhangban (Bouchard, 2012). A tréninghez való aerob alkalmazkodás örökölhetoisége ($h^2=0,43$) jónak tekinthető, (Troxell és mtsai, 2003).

A MIOSTATIN (MSTN) GÉN

A telivérek testtömeghez viszonyított izomtömeg-aránya kiemelkedő (55%) más állatfajokhoz, állatfajtákhoz képest (30-40%, pl.: modern sportló fajták, az agarak kivételével a kutya fajták) (Gunn, 1987; Kearns és mtsai, 2002). A közelmúltban végzett tanulmányok számos olyan izomerővel kapcsolatos gén (pl.: *CDKN1A*, *MYOD1*, *ACVR1B*) vizsgálatát javasolták, amelyek befolyásolják mind az állatok izomzatát, mind a versenypályán való sikerességüket (Gu és mtsai, 2009; Hill és mtsai, 2010a). Hill és mtsai (2010c) azonosítottak elsőként egy ló *MSTN* génhez köthető genetikai variánst, amely kapcsolatba hozható az optimális versenytávval (Aiello és mtsai, 2018). A *MSTN* a transzformáló növekedési faktor β család tagja, amely a vázizomban expresszáldódik és negatív szabályozója az izomtömegnek (Hill és mtsai, 2010c). Kulcsfontosságú szerepet játszik mind az ellés előtti, mind az ellés utáni életben, az állat teljes izomtömegének kialakításánál meghatározó szerepet játszik. A gén erősen konzerváldódott az emlős fajokban, három exont és két intront tartalmaz. A *MSTN* gén exonjai egy 375-aminosav hosszúságú fehérje kódolására szolgálnak, mely egy jelentős poszttranszlációs változáson esik keresztül, hogy biológiailag aktívvá váljon (Wolfman és mtsai, 2003). A *MSTN* ellés előtt befolyásolja az izom prekursor proliferációt, illetve a mioblaszt proliferációt és differenciáldást (Aiello és mtsai, 2018). Számos természetes mutációt azonosítottak a szarvasmarhákban (Grobet és mtsai 1997; Kambadur és mtsai, 1997; McPherron és Lee 1997; Hanset és Michaux 1985; Marchitelli és mtsai, 2003), juhokban (Clop és mtsai, 2006), egerekben (McPherron és Lee 1997) és a közelmúltban emberekben is (Schuelke és mtsai, 2004), ezek kettős izmos (ún. duplaizmolt) fenotípust eredményeznek (Hill és mtsai, 2010c). Úgy tűnik, hogy az *MSTN* (korábban GDF-8) expressziója lokalizált az egér embrióiban a myotomerekeszben (10,5 nappal a coitus után), és valószínűleg folyamatosan kifejeződik a felnőtt egyedek számos vázizmában. A miosztatin biológiai funkcióját egérben írták le először a vadon élő állatok és a mutáns típusok összehasonlításának segítségével. A *MSTN* génkiütött (knockout) egerek funkcionális bizonyítékot szol-

gáltattak arra vonatkozóan, hogy a fehérje a vázizomtömeg negatív szabályozója. A homozigóta mutáns állatok körülbelül 30%-kal nagyobbak voltak és 86%-kal több volt az izomsejtek száma, mint a heterozigóta és vad típusú alomtársaiknál (Varga és mtsai, 2003).

Hosoyama és mtsai (2002) izoláltak és szekvenáltak *MSTN* cDNS-t angol telivéből, a 18. kromoszóma feltérképezésekor. A lovak *MSTN* mutációit azonosították, melyek mind az izomrostok arányát, mind a versenyteljesítményt befolyásoló különböző fenotípusokkal társultak. A legfontosabb azonosított SNP g.66493737 C>T volt, az *MSTN* gén első intronjában, ez döntő mértékben járul hozzá a lovak legjobb versenytávjának kialakításához ($p = 4,85 \times 10^{-8}$). Ezen SNP alapján a C/C genotípussal rendelkező lovak sprinterek (~1000-1400 m) lesznek. Jellemző ezen egyedekre a nagy végsebesség, nagyobb izomtömeg és koraiérés. Kétévesen sikeresebbek a C/T és T/T genotípusú társaiknál. A C/T genotípusú lovak, azaz a milerek középtávon voltak a legeredményesebbek (~1400-2000 m), míg a T/T genotípussal rendelkezők – azaz az őstípusú lovak – nagy állóképességűek, hosszútávúak (>2000 m) voltak (Tozaki és mtsai, 2010, Hill és mtsai, 2010c). Azoknál a lovaknál, amelyek előnyben részesítik a kivételes sebességet igénylő rövid távú (7 furlong / ~1400 m alatti) futamokat, a C allél kétszer olyan gyakori, mint azoknál a lovaknál, amelyek hosszabb távokon (8 furlong / ~1600 m felett) nyújtanak optimális teljesítményt, mivel nagyobb állóképességet igényelnek (Hill és mtsai, 2010c). A gén polimorfizmusa szoros korrelációt mutatott továbbá a sebesség-indexekkel is (Hill és mtsai, 2012). Az angol telivéreknél az az *MSTN* polimorfizmus mellett fontos egy nem kódoló elem megjelenése a promoter régióban (227 bp SINE régió – Short Interspersed Nuclear Element, szétszórtan ismétlődő elemek). A vizsgált telivéreknél teljes összhangot figyeltek meg az SNP genotípusok és a SINE inszerció előfordulása között. Részletes génexpressziós vizsgálatokkal sikerült igazolni, hogy a „sebesség gén” hatásáért a SINE-régió felelős (Rooney és mtsai, 2018). A felfedezést későbbi vizsgálatok is alátámasztották, többek között egy digitális génexpressziós (DGE) technológiát alkalmazó egész transzkriptomra kiterjedt vizsgálat során, ahol tíz hónapos edzés után azonosították a legnagyobb változást az *MSTN* transzkriptjeiben. Hetvennégy annotált transzkriptumot differenciálisan expresszáltak a tréning előtt és után, és az 58 gén közül, amelyek csökkent expresszióval rendelkeztek, a *MSTN* mRNS transzkriptumok voltak a legjelentősebbek (-4,2-szeres, $p = 0,0043$) (Hill és mtsai, 2010c). A gén működését és expresszáldását izombiopsziás vizsgálatokkal is megfigyelték. A gluteus medius izomból vett mintákból RNS izolálás után qPCR segítségével megállapították, hogy a C/C genotípusnál a tréningbe kerülést megelőzően szignifikánsan magasabb a *MSTN* mRNS szint, mint a C/T vagy T/T csoportba sorolt állatoknál (McGivney és mtsai, 2012), tehát a C/C genotípus nagyobb arányú, 2B típusú izomrostokat és kisebb arányú 1. típusú izomrostokat eredményez az angol telivéreknél (sprinter típus) (Petersen és mtsai, 2014).

Más fajoknál a diszfunkcionális *MSTN* fehérje következtében fellépő izomhipertrófia „dózisfüggő” módon nyilvánul meg: nullmutációra – heterozigóta egerek esetében – az izomtömeg közepes lesz a homozigótákhoz képest (Negro Rama és mtsai, 2016). Az *MSTN* dózisfüggő hatását támasztja alá egy whippeteken végzett vizsgálat is, amelyben azok a kutyák, amelyek homozigóták voltak egy 2 bázispár hosszúságú nonsense delécióra, extrém hipermuszkularitást mutattak

és nem versenyeztek, szemben a heterozigóták kiváló versenyképességével (Mosher és mtsai, 2007).

Ezek a kutatások azt mutatják, hogy a gén különböző funkciókkal rendelkezhet a fejlődés különböző szakaszaiban, illetve azt, hogy működése jóval bonyolultabb annál, hogy csupán az izomfejlődés negatív regulátora legyen (McGivney és mtsai, 2012).

A *MSTN* GÉN POLIMORFIZMUSÁNAK LÓTENYÉSZTÉSI TÖRTÉNETE, ELTERJEDÉSE

Az angol telivérekben a T-allél az ősi „vad típusú” variáns, míg a C-allél a közelmúltban jelent meg, és a XX. században terjedt el széles körben. Ennek oka az lehetett, hogy a kezdetben extra hosszú távú „match”-ek egyre rövidebb versenyekké váltak, így az agár típusú testalkat mellett megjelentek a tömör, nagy izomtságot mutató, rövidebb testű lovak is. A SINE-inszerció a C-allélt tartalmazó genetikai háttérre vezethető vissza. A *MSTN*

SNP C-allél és a SINE inszerció gyakorisága mérsékelt vagy magas a telivérben, és a korábban közzétett adatok szerint a földrajzi régiótól függően különböző mértékű a populációkban. Az SNP-t számos telivértől eltérő lófajtánál is megfigyelték, ezen fajták közül azonban sok nem rendelkezett a SINE inszercióval, vagy az nagyon alacsony gyakoriságú volt. Ezeknek a polimorfizmusoknak az összefüggéseit általában egymástól elkülönítve értékelték, azonban a telivér lovaknál a kettő között nagyfokú kapcsoltsági egyensúlyhiány (LD – linkage disequilibrium) volt megfigyelhető ($r^2=0,73$) (Bower és mtsai, 2012; Rooney és mtsai, 2018). Kimutatták továbbá, hogy a SINE inszerció befolyásolja a *MSTN* fehérje expresszióját (Santagostino és mtsai, 2015). A SINE inszerció hatását egy riportergén-konstrukció HeLa-sejtekbe történő transzfekcióját követően elemezték, ahol az *MSTN*-génexpresszió és a fehérjetermelés jelentős csökkenését figyelték meg (Rooney és mtsai, 2018). A közelmúltban publikálták, hogy a sprintképességért felelős C allél a XVII. században került az angol telivér genetikai alapjába és valószínűleg egyetlen kanca volt, mely az őstípustól (T/T) eltérő C/C variációt hordozta (Tozaki és mtsai, 2011). A „sprint allél” a XVIII és XIX. században is viszonylag ritka volt még, majd Nearconak (született: 1935) köszönhetően terjedt el, és ezt a mén a XX. század három legjobb versenylova között tartottak számon és visszavonulása után kiemelkedő méneskarriert futott be. Ivadécai között három örökítő mén is szerepet játszott az allél elterjedésében (Nearctic, Royal Charger és Nasrullah). Utóbbit szintén kiváló sprintképessége emelte ki versenytársai közül. Nearctic ménvonalát híres fia, Northern Dancer vitte tovább, amely ló a modern kor egyik legjelentősebb és legnagyobb hatású ménje volt.

Nasrullah és Royal Charger kancacsaládjai szintén döntő fontosságúak voltak a C/C genotípus elterjedésében, mivel Mumtaz Mahalnak, a leszármazottai voltak, akit minden idők leggyorsabb kétéveseként tartanak számon. Ezen kancacsalád egyik leghíresebb mai leszármazottja Winx, egy ausztrál születésű kanca, akit szintén a világ legjobb sprinterei között jegyeznek (Bower és mtsai, 2012).

A PDK4 GÉN

A közelmúltban beszámoltak olyan további jelentős génekről, mint például a *PDK4*, *CKM* vagy *COXI2*, amelyek szerepet játszanak az adenosin-trifoszfát (ATP) termelésben és metabolizmusban. Ezek szintén hatással vannak a legjobb versenytáv kialakítására (*Tozaki és mtsai*, 2011).

A piruvát-dehidrogenáz lipoamid-kináz-izozim-4 gén (*PDK4*) az egyik legelső gén, amelynek hatását vizsgálták a versenylovak teljesítményére nézve. A *PDK4* szorosan szabályozott a PGC-1a révén. A PGC-1a a glükóz anyagcserét befolyásolja a piruvát-dehidrogenáz komplex (PDC) hatásának blokkolásával, így a zsírsavak acetyl-coA-ra béta-oxidálódnak, amely az oxidatív foszforiláció szubsztrátja, energiatermelésre használható. Ez egy hatékony útvonal az ATP létrehozásában. Ezzel szemben inzulin hatására a *PDK4* transzkripciója csökken, így a glükóz metabolizmus energiatermeléssé fordul át. A *PDK4* polimorfizmusok (g.38973231A>G) így potenciális markerekként szolgálnak genetikai főlénnel rendelkező angol telivérek azonosítására. Az A allél öröklődése a zsírsav-oxidáció növekedésével egyidejűleg *PDK4* termelés növekedést eredményez sprint edzést követően. Ezen felfedezéseket igazolja az a megállapítás, hogy az arab telivér fajtánál – amelyet nagy távolságok megtételére, kitartásra szelektáltak, illetve a távlovas versenyekben a legkiemelkedőbbnek bizonyulnak – magasabb a G allél frekvenciája, mint az angol telivérekben. Quarter horse lovagnál nem figyeltek meg összefüggést az allélok és a versenyképesség között. Mindez összhangban van azzal a feltételezéssel, hogy a *PDK4* gén variánsai az aerob anyagcserére hatnak kedvezően, és így nagyobb szerepük van a nagy kitartást és állóképességet igénylő versenyek során (*Hill és mtsai*, 2010a; *Wilkin és mtsai*, 2017).

Összességében elmondható, hogy a PDK-izozimok alternatív úton szabályozzák a szénhidrát anyagcserét az edzés időtartamától és intenzitásától függően (*Hill és mtsai*, 2010a). A három *PDK4* SNP (*PDK4*_38968139, *PDK4*_38969307 és *PDK4*_38973231) szignifikánsan ($p < 0,01$) kapcsolódik az elit kategóriába sorolt angol telivérek teljesítményéhez. A *PDK4* gén promotor egy kötőhelyet tartalmaz a FOXO1 transzkripciós faktor számára, amely kulcsfontosságú az inzulin-jelzések szabályozásánál a májban és a zsírszövetekben. A FOXO1 és a SMAD transzkripciós faktorok is felelősek a *MSTN* génszabályozásért, így döntő szerepet játszanak az izomnövekedésben. A biológiai szabályozási rendszer inzulin injekcióval befolyásolható. Annak ellenére, hogy kevés bizonyíték áll rendelkezésre az inzulin teljesítménynövelő hatására, humán sportolók esetén már volt példa az ezzel való visszaélésre, ahol az izomglikogén raktárak növelése céljából használták doppingszerként. Erősportok esetén gyakran alkalmazzák a növekedési hormonok mellett az izomszövet lebontásának lassítására, míg a nagy kitartást igénylő sportok esetén injekció formájában „üzemanyagként” szolgál az izomkontrakcióhoz, ezáltal növelve az állóképességet. A lósportban, közvetlenül a galoppfutam kezdete előtt beadott injekció teljesítménycsökkentő hatása, a vércukorszint- csökkentő hatása miatt (*Wilkin és mtsai*, 2017).

A DOPAMIN D4 RECEPTOR (*DRD4*) GÉN

Az ember által végzett szelekció nem csupán a testméret, szőrszín és egyéb morfológiai tulajdonságok változását eredményezte, hanem viselkedésbeli eltéréseket is kialakított a lovaknál. A viselkedéselemzések a társállatok esetében különösen fontosak, az etológiai tesztek lovak esetében is elterjednek számítanak és fontos alapkóként szolgálnak az egyed számára megfelelő tréning és menedzsment kialakításához. A neurotranszmitterekkel vagy hormonokkal kapcsolatos gének polimorfizmusai számos állatfajban, illetve az emberben is, befolyásolják a személyiséget és a viselkedési jellemzőket. Háziállatoknál ezen gének allélfrekvenciája fajokként eltérő, így eredményezve magatartásbeli különbségeket (*Hori és mtsai, 2013*).

A *DRD4* azon öt dopamin receptor közé sorolható, amelyek a G-fehérjéhez kapcsolt receptorok családjába tartoznak, és nagyobb affinitással kötődnek a klozapinnal, mint a család négy másik tagja (*Van Tol és mtsai, 1991; Momozawa és mtsai, 2005*).

A humán *DRD4*-ben olyan mikroszatellitek találhatók (VNTR), amelyek az „újdonság-kereső” személyiségért felelősek (*Benjamin és mtsai, 1996*). Kutya-fajták között a *DRD4* allélfrekvencia erősen eltérő, a *DRD4* exon3 régiójában lévő VNTR-ek a kutatások szerint kapcsolatban állnak az agresszivitással és aktivitással / impulzivitással (*Héjjas és mtsai, 2007*). A lovakban a 12. kromoszómán (*Momozawa és mtsai, 2007*) található *DRD4*-nek kétfajta polimorfizmusa ismert: a 18 bázispárból álló VNTR (6 aminosav alkotja) és néhány egy pontos nukleotid-polimorfizmus (SNP) az exon3 régióban. Az egyik ilyen SNP, a G292A nagy befolyással van a ló személyiségére (*Kiss és mtsai, 2014*). Egy korábbi tanulmányban egy japán őshonos lófajta (kiso) és angol telivérek összehasonlító vizsgálatát végezték el (*Hasegawa és mtsai, 2002*), mely azt mutatta, hogy nagy az eltérés a két fajtában a G292A allélfrekvencia tekintetében. Az A allél, amely alacsony kíváncsisággal és nagy éberséggel jár, frekvenciája sokkal kisebb volt az őshonos japán lovaknál. Egy 6 lófajtát vizsgáló tanulmány (*Hori és mtsai, 2013*) rávilágított arra, hogy az A allél tűnik a „fő” allélnek az angol telivéreknél a magas gyakoriságnak köszönhetően (kb. 0,54), azonban az összes többi vizsgált fajtára ez nem volt elmondható. A kiso fajtát az angol telivérrel történő összehasonlítás során kíváncsinak és barátságosnak titulálták, amelyet később a genetikai vizsgálatok eredményeül kapott alacsony A allélfrekvencia is igazolt. Hazai kutatás is beszámolt már előzetes eredményekről, s ez szintén alátámasztotta a *DRD4* gén jelentőségét (*Kiss és mtsai, 2016*).

A genotípusok által befolyásolt optimális versenytáv, illetve további fiziológiai és metabolikus tulajdonságok figyelembevételével lehetőség nyílik arra, hogy az egyednek leginkább megfelelő versenyt választhassuk ki, annak érdekében, hogy kiemelkedő versenykarriert futhasson be (*Tozaki és mtsai, 2011*).

TOVÁBBI KANDIDÁNS GÉNEK COX4I1, COX4I2, CKM, ACTN3

Az emlősök vázizma nagy plaszticitású és könnyen alkalmazkodik különböző tréningmódokhoz, testmozgásokhoz. A fő tényező, mely az izom adaptív reakcióját befolyásolja az az, hogy az edzés mennyi kitartást és állóképességet igényel. További befolyásoló tényezők közé tartozik az izomösszehúzódás típusa, a testmozgás-intenzitás és oxigénszint, azaz, hogy az edzést normoxiás vagy hipoxiás körülmények között végzi az egyed. A nagy állóképességet igénylő tréning magas VO_{2max} értéket és megnövekedett aerob anyagcserét eredményez. Az emberben ez részben a mitokondriumok és az izomkapillárisok térfogatsűrűségének növekedése okozza – melyek száma akár 30-40%-kal is magasabb lehet (Hoppeler és mtsai, 1985) –, valamint az izomrostok típusának változása, amely nagyobb oxidatív rostarányt eredményez. Számos – lovakon végzett – vizsgálat megerősítette a VO_{2max} és az oxidatív enzimek mennyiségének növekedését (Roneus és mtsai, 1992; Roneus, 1993; Katz és mtsai, 1999; Serrano és mtsai, 2000; Hinchcliff és mtsai, 2002; McGowan és mtsai, 2002). A II. típusú izomrostok növekedésével párhuzamosan IIX típusú izomrost-csökkenés figyelhető meg az angol telivéreknél a tréningperiódust követően. (Rivero és mtsai, 2006). A COX4I és COX4I2, vagyis a citokróm-c-oxidáz (COX) a légzési elektrontranszferlánc IV. komplexe, a mitokondrium belső membránjának integráns fehérjéje. A lokális hipoxia fontos inger, mely a vázizom strukturális és funkcionális változásait indukálja (Ameln és mtsai, 2005). A hipoxiára adott válasz fő szabályozója, a HIF-1 α (hypoxia inducible factor-1 alpha) a COX4 oxidatív enzimet szabályozza (citokróm-c-oxidáz, 4. alegység) oxigénfüggő módon a COX4-1 (COX4I1) és COX4-2 (COX4I2) izoformokkal, felváltva (Fukuda és mtsai, 2007). A normál oxigénkoncentráció növeli a COX4I1 génexpresszióját és a COX4I2 elnyomódik. A csökkent oxigénszint esetén a HIF-1 α aktivitás növekszik számos downstream gén (pl.: COX4I2, mitokondriális proteáz – LONP1 gén) aktivitásával együtt, amely a COX4I1 fehérje lebontásához szükséges. Ez után a COX4 alegység kapcsolódása biztosítja a maximális respirációs hatékonyságot különböző oxigén szintek mellett (Fukuda és mtsai, 2007). Egy 2010-ben megjelent tanulmányban (Hill és mtsai, 2010a) 2 csoportra osztott lovaknál vizsgálták, hogy különböző edzésmódszerek, amelyek eltérő anyagcsere-szabályozást igényelnek, miként indukálnak különböző transzkripció válaszokat a COX4I1 és COX4I2 esetében a vázizomban. Az A csoportot 9 egyede (n = 6 kanca, n = 3 mén) közepes intenzitású munkát kapott futópadon, míg a B csoport 8 egyede (n = 8 kanca) szokásos sprinttréningen vett részt. Mindkét csoporttól biopsziás mintát vettek (*gluteus medius*) a tréning előtt (T_0), közvetlenül utána (T_1), és az edzést követő 4 óra elteltével (T_2). Az eredmények azt mutatták, hogy a COX4I2 mRNS-expresszió szignifikánsan csökkent az A csoport esetében, és változatlan maradt a B csoportban a T_0 és a T_2 között. A COX4I1 mRNS-gyakoriság változatlan maradt mindkét csoportban (Hill és mtsai, 2010a).

Egy másik tanulmányban (Gu és mtsai, 2010) a COX4I1 és COX4I2 mellett a CKM (creatine kinase, muscle/kreatin-kináz, izom) –, és az ACTN3 gént is vizsgálták. Utóbbiak közül a CKM, vagyis a kreatin kináz enzim a foszfokreatin anyagcsere-folyamatokban vesz részt, az energiatermelésért felel (Gu és mtsai,

2010), míg az ACTN3 az alfa-aktinin-3-at kódolja, amely protein csak a II. típusú izomrostokban expresszálódik. Az ilyen típusú izmok így gyorsabb és erőteljesebb összehúzódnásra képesek (North és mtsai, 1999). Az ACTN3 génben gyakori polymorfizmus R577X (rs1815739), ahol az X allél nem termel aktint. Yang és mtsai, (2003) arról számoltak be emberi minták vizsgálata után, hogy az sprintereknél szignifikánsan magasabb volt az R allél frekvenciája, mint a kontroll mintáknál. Angol telivérek esetében a DNS mintákat több csoportra osztották és kategorizálták a lovak versenyeredményei alapján (retrospektív megközelítés). Húsz új SNP-t detektáltak 3 génben (ACTN3, CKM és COX4I2). Három SNP genotípus frekvenciaeloszlása szignifikáns különbséget mutatott ($p < 0,05$) a kiemelkedő teljesítményű versenylovak és a versenyt nem nyert lovak között.

A mai napig számos megközelítést alkalmaznak, hogy összefüggéseket találjanak az angol telivérek mérhető teljesítménye és fenotípusa között. Ide tartozik például a szív méret (Young és mtsai, 2005), izomrost-típus (Barrey és mtsai, 1999; Young és mtsai, 2005), az izom és csontrendszer konformációjának vizsgálata (Fang és mtsai, 2000), a sebesség megfigyelése maximális pulzus mellett (Gramkow és Evans, 2006), továbbá a tréning utáni laktát-koncentráció (Evans és mtsai, 1993), hematológiai (Revington, 1983) és egyéb fiziológiai változók (Harkins és mtsai, 1993) monitorozása. A lovak genom szekvenciájának hozzáférhetősége (Wade és mtsai, 2009) és a párhuzamos molekuláris genomikai technikák fejlesztése gyorsan lehetővé tette azon kapcsolódó szekvenciavariánsok azonosítását, amelyek kapcsolatban vannak az atletikus fenotípusokkal az angol telivérekben. Az eddigi tanulmányok azt sugallják, hogy az olyan kandidáns gének, mint az ACTN3, CKM vagy COX gén variációi nagy befolyással vannak az egyedek teljesítményére.

KÖVETKEZTETÉSEK

A molekuláris biológiai módszerek alkalmazásával korai szelekciót végezhetünk, képesek lehetünk predikciót tenni a versenylovak várható versenykarrierével kapcsolatban, s így hatékony tréningmódszerrel, komplex rendszerbe építve megszabhatjuk a leginkább kedvező körülményeket egyedre és genotípusra nézve. Ehhez szükséges egy objektív értékelési rendszer, aminek eleme az állat fiziológiai tulajdonságait figyelembe vevő pontos fenotípusleírás (pl.: alkat, izomtömeg, statikus leírás és dinamikus változást jellemző fenotípus), illetve a futott telivéreknél, a már meglévő versenyteljesítmény adatai (pl.: hendikepszám, életnyeremény, verseny lefutásának ideje stb.). Az így kapott fenotípusadatokat a genetikai alappal összevetve képesek leszünk a jövőben versenypályára lépő angol telivérek sikerességi rátáját növelni.

IRODALOMJEGYZÉK

- Adhihetty, P.J. – Irrcher, I. – Joseph, A.M. – Ljubcic, V. – Hood, D.A. (2003): Plasticity of skeletal muscle mitochondria in response to contractile activity. *Exp. Physiol.*, 88. 99–107.
- Aiello, D. – Pate, I.K. – Lasagna, E. (2018): The myostatin gene: an overview of mechanisms of action and its relevance to livestock animals. *Anim. Genet.*, 49. 505–519.
- Ameln, H. – Gustafsson, T. – Sundberg, C.J. – Okamoto, K. – Jansson, E. – Poellinger, L. – Makino, Y. (2005): Physiological activation of hypoxia inducible factor-1 in human skeletal muscle. *FASEB J.* 19. 1009–1011.

- Amschler, W. (1935): The Oldest Pedigree Chart: A Genealogical Table of the Horse and Pictures of Horsemen Dating Back 5,000 Years. *J. Hered.*, 26. 233–238.
- Andersson, L.S. - Larhammar, M. - Memic, F. - Wootz, H. - Schwochow, D. - Rubin, C.J. - Patra, K. - Arnason, T. - Wellbring, L. - Hjälms, G. - Imsland, F. - Petersen, J.L. - McCue, M.E. - Mickelson, J.R. - Cothran, G. - Ahituv, N. - Roepstorff, L. - Mikko, S. - Vallstedt, A. - Lindgren, G. - Andersson, L. - Kullander, K. (2012): Mutations in DMRT3 affect locomotion in horses and spinal circuit function in mice. *Nature*, 488. 642–646.
- Barrey, E. - Valette, J.P. - Jouglin, M. - Blouin, C. - Langlois, B. (1999): Heritability of percentage of fast myosin heavy chains in skeletal muscles and relationship with performance. *Equine Vet. J.*, 30. 289–292.
- Benjamin, J. - Li, L. - Patterson, C. - Greenberg, B.D. (1996): Population and familial association between the D4 dopamine receptor gene and measures of novelty seeking. *Nat. Genet.*, 12. 81–84.
- Binns, M.M. - Boehler, D.A. - Lambert, D.H. (2010): Identification of the myostatin locus (MSTN) as having a major effect on optimum racing distance in the Thoroughbred horse in the USA. *Anim. Genet.*, 41. 154–158.
- Bouchard, C. (2012): Genomic predictors of trainability. *Exp. Physiol.*, 97. 347–352.
- Bower, M.A. - McGivney, B.A. - Campana, M.G. - Gu, J. - Andersson, L.S. - Barrett, E. - Davis, C.R. - Mikko, S. - Stock, F. - Voronkova, V. - Bradley, D.G. - Fahey, A.G. - Lindgren, G. - MacHugh, D.E. - Sulimova, G. - Hill, E.W. (2012): The genetic origin and history of speed in the Thoroughbred racehorse. *Nat. Commun.*, 24. 643.
- Bowling, A.T. - Ruvinsky, A. (2000): The genetics of the Horse. CAB International, USA. 1–25.
- Bryan, K. - McGivney, B.A. - Farries, G. - McGettigan, P.A. - McGivney, C.L. - Gough, K.F. - MacHugh, D.E. - Katz, L.M. - Hill, E.W. (2017): Equine skeletal muscle adaptations to exercise and training: evidence of differential regulation of autophagosomal and mitochondrial components. *BMC Genomics*, 18. 595–621.
- Cassidy, R. (2002): The Sport of Kings: Kinship, Class and Thoroughbred Breeding in Newmarket (Cambridge University Press, 2002).
- Clop, A. - Marcq, F. - Takeda, H. - Pirottin, D. - Tordoir, X. - Bibé, B. - Bouix, J. - Caiment, F. - Elsen, J.M. - Eychenne, F. - Larzul, C. - Laville, E. - Meish, F. - Milenkovic, D. - Tobin, J. - Charlier, C. - Georges, M. (2006): A mutation creating a potential illegitimate microRNA target site in the myostatin gene affects muscularity in sheep. *Nat. Genet.*, 38. 813–818.
- Cunningham, E.P. - Dooley, J.J. - Splan, R.K. - Bradley, D.G. (2001): Microsatellite diversity, pedigree relatedness and the contributions of founder lineages to thoroughbred horses. *Anim. Genet.*, 32. 360–364.
- Evans, D.L. - Harris, R.C. - Snow, D.H. (1993): Correlation of racing performance with blood lactate and heart rate after exercise in thoroughbred horses. *Equine Vet. J.*, 25. 441–445.
- Everett, H.L. - Neil, D. - Opdyke, M.J. - Noye, M.J. (1980): Pliocene dispersal of the horse *Equus* and late Cenozoic mammalian dispersal events. *Nature*, 287. 135–138.
- Fang, J. - Dagenais, S.L. - Erickson, R.P. - Arlt, M.F. - Glynn, M.W. - Gorski, J.L. - Seaver, L.H. - Glover, T.W. (2000): Mutations in FOXC2 (MFH-1), a forkhead family transcription factor, are responsible for the hereditary lymphedema-distichiasis syndrome. *Am. J. Hum. Genet.*, 67. 1382–1388.
- Farries, G. - McGettigan, P.A. - Gough, K.F. - McGivney, B.A. - MacHugh, D.E. - Katz, L.M. - Hill, E.W. (2018): Genetic contributions to precocity traits in racing Thoroughbreds. *Anim. Genet.*, 49. 193–204.
- Fukuda, R. - Zhang, H. - Kim, J.W. - Shimoda, L. - Dang, C.V. - Semenza, G.L. (2007): HIF-1 regulates cytochrome oxidase subunits to optimize efficiency of respiration in hypoxic cells. *Cell*, 129. 111–122.
- Gramkow, H.L. - Evans, D.L. (2006): Correlation of race earnings with velocity at maximal heart rate during a field exercise test in thoroughbred racehorses. *Equine Vet. J., Suppl.*, 36. 118–122.

- Grobet, L. – Martin, L.J. – Poncelet, D. – Pirottin, D. – Brouwers, B. – Riquet, J. – Schoeberlein, A. – Dunner, S. – Ménissier, F. – Massabanda, J. – Fries, R. – Hanset, R. – Georges, M. (1997): A deletion in the bovine myostatin gene causes the double-muscling phenotype in cattle. *Nat. Genet.*, 17. 71–74.
- Gu, J. – MacHugh, D.E. – McGivney, B.A. – Park, S.D. – Katz, L.M. – Hill, E.W. (2010): Association of sequence variants in CKM (creatine kinase, muscle) and COX4I2 (cytochrome c oxidase, subunit 4, isoform 2) genes with racing performance in Thoroughbred horses. *Equine Vet. J. Suppl.*, 38. 569–575.
- Gu, J. – Orr, N. – Park, D.S. – Katz, M.L. – Sulimova, G. – MacHugh, E.D. – Hill, E.W. (2009): A Genome Scan for Positive Selection in Thoroughbred Horses. *PLoS One*. 4(6). e5767.
- Gunn, H. M. (1987): Muscle, bone and fat productions and muscle distribution of thoroughbreds and quarter horses. *Equine exercise physiology 2: Proceedings of the Second International Conference on Equine Exercise Physiology; August 7–11 1986; San Diego, California, United States.*
- Hanset, R. – Michaux, C. (1985): On the genetic determinism of muscular hypertrophy in the Belgian White and Blue cattle breed. I. Experimental data. *Genet. Sel. Evol.*, 17. 359–368.
- Harkins, J.D. – Beadle, R.E. – Kamerling, S.G. (1993): The correlation of running ability and physiological variables in thoroughbred racehorses. *Equine Vet. J.*, 25. 53–60.
- Harrison, S.M. – Whitton, R.C. – Kawcak, C.E. – Stover, S.M. – Pandey, M.G. (2010): Relationship between muscle forces, joint loading and utilization of elastic strain energy in equine locomotion. *J. Exp. Biol.*, 213(Pt 23). 3998–4009.
- Hasegawa, T. – Sato, F. – Ishida, N. (2002): Determination and variability of nucleotide sequences for D4 dopamine receptor genes (DRD4) in genus *Equus*. *J. Equine Sci.*, 13. 57–62.
- Héjjas, K. – Vas, J. – Topal, J. – Szantai, E. – Rónai, Z. – Székely, A. – Kubinyi, E. – Horváth, Z. – Sasvári-Székely, M. – Miklósi, A. (2007): Association of polymorphisms in the dopamine D4 receptor gene and the activity-impulsivity endophenotype in dogs. *Anim. Genet.* 38. 629–633.
- Hermanson, J.W. – Macfadden, B.J. (1996): Evolutionary and functional morphology of the knee in fossil and extant horses (Equidae). *J. Vertebr. Paleontol.*, 16. 349–357.
- Hill, E.W. – Eivers, S.S. – McGivney, B.A. – Fonseca, R.G. – Gu, J. – Smith, N.A. – Browne, J.A. – MacHugh, D.E. – Katz, L.M. (2010a): Moderate and high intensity sprint exercise induce differential responses in COX4I2 and PDK4 gene expression in Thoroughbred horse skeletal muscle. *Equine Vet. J. Suppl.*, 38. 576–581.
- Hill, E.W. – Gu, J. – McGivney, B.A. – MacHugh, D.E. (2010b): Targets of selection in the Thoroughbred genome contain exercise-relevant gene SNPs associated with elite racecourse performance. *Anim. Genet.*, 41. 56–63.
- Hill, E.W. – McGivney, B.A. – Gu, J. – Whiston, R. – MacHugh, D.E. (2010c): A genome-wide SNP-association study confirms a sequence variant (g.66493737C>T) in the equine myostatin (MSTN) gene as the most powerful predictor of optimum racing distance for Thoroughbred racehorses. *BMC Genomics*, 11. 552–562.
- Hill, E.W. – Fonseca, R.G. – McGivney, B.A. – Gu, J. – MacHugh, D.E. – Katz, L.M. (2012): MSTN genotype (g.66493737C/T) association with speed indices in Thoroughbred racehorses. *J. Appl. Physiol.*, 112. 86–90.
- Hill, E.W. – McGivney, B.A. – Rooney, M.F. – Katz, L.M. – Parnell, A. – MacHugh, D.E. (2019): The contribution of myostatin (MSTN) and additional modifying genetic loci to race distance aptitude in Thoroughbred horses racing in different geographic regions. *Equine Vet. J.*, 51. 625–633.
- Hinchcliff, K.W. – Lauderdale, M.A. – Dutson, J. – Geor, R.J. – Lacombe, V.A. – Taylor, L.E. (2002): High intensity exercise conditioning increases accumulated oxygen deficit of horses. *Equine Vet. J.*, 34. 9–16.
- Hintz, L.R. (1980): Genetics of performance in the horse. *J. Anim. Sci.*, 51. 582–594.

- Hoppeler, H. – Howald, H. – Conley, K. – Lindstedt, S.L. – Claassen, H. – Vock, P. – Weibel, E.R. (1985): Endurance training in humans: aerobic capacity and structure of skeletal muscle. *J. Appl. Physiol.*, 59. 320-327.
- Hori, Y. – Ozaki, T. – Yamada, Y. – Tozaki, T. – Kim, H.S. – Takimoto, A. – Endo – Manabe, N. – Inoue-Murayama, M. – Fujita (2013): Breed Differences in Dopamine Receptor D4 Gene (DRD4) in Horses. *J. Equine Sci.*, 24(3).31-6.
- Hosoyama, T. – Kawada, S. – Oshiumi, R. – Yoneda, S. – Soeta, C. – Yamanouchi, K. – Hasegawa, T. – Ishida, N. – Mukoyama, H. – Ishii, N. – Tachi, C. (2002): Molecular cloning of equine (thoroughbred) myostatin cDNA and detection of myostatin precursor proteins in the serum. *J. Reprod. Develop.*, 48. 335–342.
- Jones, J.H. – Longworth, K.E. – Lindholm, A. – Conley, K.E. – Karas, R.H. – Kayar, S.R. – Taylor, C.R. (1989): Oxygen transport during exercise in large mammals. I. Adaptive variation in oxygen demand. *J. Appl. Physiol.*, 67. 862-870.
- Kambadur, R. – Sharma, M. – Smith, T.P. – Bass, J.J. (1997): Mutations in myostatin (GDF8) in double-muscling Belgian Blue and Piedmontese cattle. *Genome Res.*, 7. 910–916.
- Katz, L.M. – Bayly, W.M. – Hines, M.T. – Sides, R.H. (1999): Differences in the ventilatory responses of horses and ponies to exercise of varying intensities. *Equine Vet. J., Suppl.*, 30. 49-51.
- Kearns, C.F. – McKeever, K.H. – Kumagai, K. – Abe, T. (2002): Fat-free mass is related to one mile race performance in elite Standardbred horses. *Vet. J.*, 163. 1-7.
- Kiss, B. – Pongrácz, L. – Bali, P.Á. (2014): Gene mapping results in pig, cattle and horse. Literature review. *Magy. Allatorvosok*, 136. 688-697. (In Hungarian with English summary)
- Kiss, B. – Tempfli, K. – Pongrácz, L. – Uriné, J.C. – Bali, P.Á. (2016): A lovak viselkedésével összefüggő dopamin d4 receptor (DRD4) gén vizsgálata. In: XXXVI. Óvári Tudományos Nap. 248–256.
- Lovel, D.K. – Rose, R.J. (1991): Changes in skeletal muscle composition in response to interval and high intensity training. *Equine Exercise Physiology*, 3. 215-222.
- Macfadden, B.J. (2005): Evolution. Fossil horses – evidence for evolution. *Science*, 307. 1728-1730.
- Marchitelli, C. – Savarese, M.C. – Crisa, A. – Nardone, A. – Marsan, P.A. – Valentini, A. (2003): Double muscling in Marchigiana beef breed is caused by a stop codon in the third exon of gene. *Mamm. Genome*, 14. 392–395.
- McGivney, B.A. – Browne, J.A. – Fonseca, R.G. – Katz, L.M. – Machugh, D.E. – Whiston, R. – Hill, E.W. (2012): *MSTN* genotypes in Thoroughbred horses influence skeletal muscle gene expression and racetrack performance. *Anim. Genet.*, 43. 810-812.
- McGowan, C.M. – Golland, L.C. – Evans, D.L. – Hodgson, D.R. – Rose, R.J. (2002): Effects of prolonged training, overtraining and detraining on skeletal muscle metabolites and enzymes. *Equine Vet. J., Suppl.*, 34. 257-263.
- McPherron, A.C. – Lee, S.J. (1997): Double muscling in cattle due to mutations in the myostatin gene. *P. Natl. Acad. Sci. USA*, 94. 12457–12461.
- McPherron, A.C. – Lawler, A.M. – Lee, S.J. (1997): Regulation of skeletal muscle mass in mice by a new TGF-beta superfamily member. *Nature*, 387. 83-90.
- Momozawa, Y. – Takeuchi, Y. – Kusunose, R. – Kikusui, T. – Mori, Y. (2005): Association between equine temperament and polymorphisms in dopamine D4 receptor gene. *Mamm. Genome*, 16. 538-544.
- Momozawa, Y. – Takeuchi, Y. – Tozaki, T. – Kikusui, T. – Hasegawa, T. – Raudsepp, T. – Chowdhary, B.P. – Kusunose, R. – Mori, Y. (2007): SNP detection and radiation hybrid mapping in horses of nine candidate genes for temperament. *Anim. Genet.*, 38. 81–83.
- Mosher, D.S. – Quignon, P. – Bustamante, C.D. – Sutter, N.B. – Mellersh, C.S. – Parker, H.G. – Ostrander, E.A. (2007): A mutation in the myostatin gene increases muscle mass and enhances racing performance in heterozygote dogs. *PLoS Genet.*, 3. 79.

- Negro, R.S. – Valera, M. – Membrillo, A. – Gómez, M.D. – Solé, M. – Menendez-Buxadera, A. – Anaya, G. – Molina, A. (2016): Quantitative analysis of short- and long-distance racing performance in young and adult horses and association analysis with functional candidate genes in Spanish Trotter horses. *J. Anim. Breed. Genet.*, 133. 347-356.
- North, K.N. – Yang, N. – Wattanasirichaigoon, D. – Mills, M. – Easteal, S. – Beggs, A.H. (1999): A common nonsense mutation results in α -actinin-3 deficiency in the general population. *Nat. Genet.*, 21. 353–354.
- Outram, A.K. – Stear, N.A. – Bendrey, R. – Olsen, S. – Kasparov, A. – Zaibert, V. – Thorpe, N. – Evershed, R.P. (2009): The earliest horse harnessing and milking. *Science*, 323. 1332-1335.
- Petersen, J.L. – Valberg, S.J. – Mickelson, J.R. – McCue, M.E. (2014): Haplotype diversity in the equine myostatin gene with focus on variants associated with race distance propensity and muscle fiber type proportions. *Anim. Genet.*, 45. 827-835.
- Potard, U.S. – Leith, D.E. – Fedde, M.R. (1998): Force, speed, and oxygen consumption in thoroughbred and draft horses. *J. Appl. Physiol.*, 84. 2052-2059.
- Revington, M. (1983): Haematology of the racing Thoroughbred in Australia 2: haematological values compared to performance. *Equine Vet. J.*, 15. 145-148.
- Rivero, J.L. – Ruz, A. – Marti-Korfft, S. – Lindner, A. (2006): Contribution of exercise intensity and duration to training-linked myosin transitions in thoroughbreds. *Equine Vet. J., Suppl.*, 36. 311-315.
- Roneus, M. (1993): Muscle characteristics in standardbreds of different ages and sexes. *Equine Vet. J.*, 25. 143-146.
- Roneus, M. – Essen-Gustavsson, B. – Lindholm, A. – Persson, S.G. (1992): Skeletal muscle characteristics in young trained and untrained standardbred trotters. *Equine Vet. J.*, 24. 292-294.
- Rooney, M.F. – Hill, E.W. – Kelly, V.P. – Porter, R.K. (2018): The „speed gene” effect of myostatin arises in Thoroughbred horses due to a promoter proximal SINE insertion. *PLoS One*. 13(10):e0205664.
- Santagostino, M. – Khorialui, L. – Gamba, R. – Bonuglia, M. – Klipstein, O. – Piras, M.F. – Vella, F. – Russo, A. – Badiale, C. – Mazzagatti, A. – Raimondi, E. – Nergadze, G.S. – Giulotto, E. (2015): Genome-wide evolutionary and functional analysis of the Equine Repetitive Element 1: an insertion in the myostatin promoter affects gene expression. *BMC Genet.*, 16. 126.
- Santos, C.G. – Pimentel-Coelho, P.M. – Budowle, B. – de Moura-Neto, R.S. – Dornelas-Ribeiro, M. – Pompeu, F.A. – Silva, R. (2016): The heritable path of human physical performance: from single polymorphisms to the „next generation”. *Scand. J. Med. Sci. Spor.*, 26. 600-612.
- Sarzynski, M.A. – Loos, R.J. – Lucia, A. – Pérusse, L. – Roth, S.M. – Wolfarth, B. – Rankinen, T. – Bouchard, C. (2016): Advances in Exercise, Fitness, and Performance Genomics in 2015. *Med. Sci. Sport Exer.*, 48. 1906-1916.
- Schuelke, M. – Wagner, K.R. – Stolz, L.E. – Hubner, C. – Riebel, T. – Komen, W. – Braun, T. – Tobin, J.F. – Lee, S.J. (2004): Myostatin mutation associated with gross muscle hypertrophy in a child. *New Engl. J. Med.*, 350. 2682–2688.
- Serrano, A.L. – Quiroz-Rothe, E. – Rivero, J.L. (2000): Early and long-term changes of equine skeletal muscle in response to endurance training and detraining. *Pflugers Arch.*, 441. 263-274.
- Sharma, M. – McFarlane, C. – Kambadur, R. – Kukreti, H. – Bonala, S. – Srinivasan, S. (2015): Myostatin: expanding horizons. *IUBMB Life*, 67. 589-600.
- Stefaniuk, M. – Ropka-Molik, K. (2016): RNA sequencing as a powerful tool in searching for genes influencing health and performance traits of horses. *J. Appl. Genet.*, 57. 199-206.
- Thiruvankadan, A.K. – Kandasamy, N. – Panneerselvam, S. (2009): Inheritance of racing performance of Thoroughbred horses. *Livest. Sci.*, 121. 308-326.
- Tozaki, T. – Miyake, T. – Kakoi, H. – Gawahara, H. – Sugita, S. – Hasegawa, T. – Ishida, N. – Hirota, K. – Nakano, Y. (2010): A genome-wide association study for racing performances in Thoroughbreds clarifies a candidate region near the MSTN gene. *Anim. Genet.*, 41. 28-35.

- Tozaki, T. – Sato, F. – Hill, E.W. – Miyake, T. – Endo, Y. – Kakoi, H. – Gawahara, H. – Hirota, K. – Nakano, Y. – Nambo, Y. – Kurosawa, M. (2011): Sequence variants at the myostatin gene locus influence the body composition of Thoroughbred horses. *J. Vet. Med. Sci.*, 73. 1617-1624.
- Troxell, M.L. – Britton, S.L. – Koch, L.G. (2003): Selected Contribution: Variation and heritability for the adaptational response to exercise in genetically heterogeneous rats. *J. Appl. Physiol.*, 94. 1674-1681.
- Vamplew, W. – Kay, J. (2005): *Encyclopedia of British Horseracing*. Routledge Sports Reference Series. 1st Edition
- Van Tol, H.H. – Bunzow, J.R. – Guan, H.C. – Sunahara, R.K. – Seeman, P. – Niznik, H.B. – Civelli, O. (1991): Cloning of the gene for a human dopamine D4 receptor with high affinity for the antipsychotic clozapine. *Nature*, 350. 610-614.
- Varga, L. – Müller, G. – Szabó, G. – Pinke, O. – Korom, E. – Kovács, B. – Patthy, L. – Soller, M. (2003): Mapping modifiers affecting muscularity of the myostatin mutant (Mstn (Cmpt-dl1Abc)) compact mouse. *Genetics*, 165. 257-267.
- Wade, C.M. – Giulotto, E. – Sigurdsson, S. – Zoli, M. – Gnerre, S. – Imsland, F. – Lear, T.L. – Adelson, D.L. – Bailey, E. – Bellone, R.R. – Blocker, H. – Distl, O. – Edgar, R.C. – Garber, M. – Leeb, T. – Mauceli, E. – MacLeod, J.N. – Penedo, M.C. – Raison, J.M. – Sharpe, T. – Vogel, J. – Andersson, L. – Antczak, D.F. – Biagi, T. – Binns, M.M. – Chowdhary, B.P. – Coleman, S.J. – Della Valle, G. – Fryc, S. – Guerin, G. – Hasegawa, T. – Hill, E.W. – Jurka, J. – Kiialainen, A. – Lindgren, G. – Liu, J. – Magnani, E. – Mickelson, J.R. – Murray, J. – Nergadze, S.G. – Onofrio, R. – Pedroni, S. – Piras, M.F. – Raudsepp, T. – Rocchi, M. – Roed, K.H. – Ryder, O.A. – Searle, S. – Skow, L. – Swinburne, J.E. – Syvanen, A.C. – Tozaki, T. – Valberg, S.J. – Vaudin, M. – White, J.R. – Zody, M.C. – Lander, E.S. – Lindblad-Toh, K. (2009): Genome sequence, comparative analysis, and population genetics of the domestic horse. *Science*, 326. 865-867.
- Warmuth, V. – Eriksson, A. – Bower, M.A. – Barker, G. – Barrett, E. – Hanks, B.K. – Li, S. – Lomitashvili, D. – Ochir-Goryaeva, M. – Sizonov, G.V. – Soyonov, V. – Manica, A. (2012): Reconstructing the origin and spread of horse domestication in the Eurasian steppe. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 109. 8202-8206.
- Wilkin, T. – Baoutina, A. – Hamilton, N. (2017): Equine performance genes and the future of doping in horseracing. *Drug Test. Anal.*, 9. 1456-1471.
- Wolfman, N.M. – McPherron, A.C. – Pappano, W.N. – Davies, M.V. – Song, K. – Tomkinson, K.N. – Wright, J.F. – Zhao, L. – Sebald, S.M. – Greenspan, D.S. – Lee, S.J. (2003): Activation of latent myostatin by the BMP-1/tolloid family of metalloproteinases. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 100. 15842-15846.
- Yang, N. – MacArthur, D.G. – Gulbin, J.P. – Hahn, A.G. – Beggs, A.H. – Easteal, S. – North, K. (2003): ACTN3 genotype is associated with human elite athletic performance. *Am. J. Hum. Genet.*, 73. 627-631.
- Young, L.E. – Rogers, K. – Wood, J.L. (2005): Left ventricular size and systolic function in Thoroughbred racehorses and their relationships to race performance. *J. Appl. Physiol.*, 99. 1278-1285.
<http://horseracingintfed.com>

Szerzők címe: Kis J. – Bodó Sz. – Rózsa L. – Zsolnai A. – Anton I.

NAIK Állattenyésztési, Takarmányozási és Húsipari Kutatóintézet

Authors' address: NAIK Research Institute for Animal Breeding, Nutrition and Meat Science
2053 Herceghalom, Gesztenyés u. 1.
kis.judit@athk.naik.hu