



IKER
GAZTE
NAZIOARTEKO
IKERKETA EUSKARAZ

II. IKERGAZTE

NAZIOARTEKO IKERKETA EUSKARAZ

2017ko maiatzaren 10, 11 eta 12
Iruñea, Euskal Herria

ANTOLATZAILEA:
Udako Euskal Unibertsitatea (UEU)

OSASUN ZIENTZIAK

**Faktore genetikoak eta
iskiortibialetako lesio muskularrak
goi-mailako futbolarietan:
asoziazio eta balioztatze ikerketa**

*Jon Larruskain, David Celorrio,
Irantzu Barrio, Adrian Odriozola,
Susana Maria Gil, Jose Ramon
Fernandez-Lopez, Raul Nozal,
Isusko Ortuzar, Jose Antonio Lekue
eta Jose Maria Aznar*

102-106 or.

<https://dx.doi.org/10.26876/ikergazte.ii.04.13>

ANTOLATZAILEA:



ELKARLANEAN:



LAGUNTZAILEAK:



Faktore genetikoak eta iskiotibialetako lesio muskularrak goi-mailako futbolarietan: asoziazio eta balioztatze ikerketa

Jon Larruskain¹, David Celorrio², Irantzu Barrio¹, Adrian Odriozola¹, Susana M Gil¹, Juan Ramon Fernandez-Lopez³, Raul Nozal³, Isusko Ortuzar⁴, Jose A Lekue^{1,4}, Jose M Aznar²

1: Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU), 2: BAIGENE, 3: Kirolene, 4: Athletic Club
jlarruskain@hotmail.com

Laburpena

Helburua 25 nukleotido bakarrekoko polimorfismoren (SNP), adinaren eta aurretiko lesioen, eta futboleko ohikoak diren iskiotibialetako lesioen arteko asoziazioa ikertzea izan zen 5 denboralditan goi-mailako futbolarietan; lesio arriskua zenbatesteko eredu bat sortzeko eta lesio berriak auresateko gaitasuna denboraldi independente batean aztertzeko. 24 urte edo gehiago, eta *MMP3* rs679620 AA, *TNC* rs2104772 AA, *IL6* rs1800795 GG, *NOS3* rs1799983 GG, eta *HIF1A* rs11549465 CC genotipoak lesionatzeko arrisku handiagoarekin erlazionatu ziren. Ereduak ez zuen lesio berriak auresateko gaitasuna eduki (C indizea=0.52). Etorkizunean beharrezkoa da genoma osoa aztertzeko teknikak erabiltzea, eta aldagai genetikoak beste faktore batzuekin batera aztertzea eredu multifaktorialetan.

Hitz gakoak: genetika, iskiotibialak, lesioak, futbola, auresatea

Abstract

The aim was to investigate the association of 25 single nucleotide polymorphisms (SNP), age, and previous injury with hamstring injuries, the most frequent injury in football, over 5 seasons in elite football players; and to create a model to estimate the risk of injury and test its predictive ability in an independent season. Players older than 24 years, and those with the MMP3 rs679620 AA, TNC rs2104772 AA, IL6 rs1800795 GG, NOS3 rs1799983 GG, and HIF1A rs11549465 CC genotypes were at a higher risk of injury. The model had no ability to predict future injuries (C index=0.52). Future studies should use whole-genome screening methods, and investigate genetic variants in combination with other risk factors in multifactorial models

Keywords: genetics, hamstrings, injury, football, prediction

1. Sarrera eta motibazioa

Futbolaren praktikak osasunerako onura anitz dakartza, baina lesioak pairatzeko arriskua handitzen du ere. Lesioek taldeen errendimendua jaisten dute, koste ekonomiko handiak dituzte, eta futbolarien kirol bizitza murrizteaz gain, epe luzeko osasunean eta bizi kalitatean eragin kaltegarria eduki dezakete. Iskiotibialetako lesio muskularra, izterraren atzealdeko muskuluen gainkarga edo haustura, lesiorik ohikoena da goi-mailako futbolekoan. Beraz, lesio hau jasateko arriskuan dauden jokalariek identifikatzea eta lesioen prebentziora bideratutako esku-hartzeak garatzea beharrezkoa da. Horretarako lehen urratsa iskiotibialetako lesioen arrisku faktoreak ikertzea da.

Orain arte egindako ikerketetan iskiotibialetako lesioekin indartsuen erlazionatu den faktorea aurretiko iskiotibialetako lesioa da. Beste arrisku faktore batzuei dagokienez, hala nola, adin handiagoa, iskiotibialetako malgutasun murriztua, iskiotibialetako indar baxua, indar desorekak edota nekea, ebidentzia mugatua da edo kontraesanekin (van Beijsterveldt et al., 2013).

Gainera, aurreko ikerketek genetikak lesioetan eragina izan dezakeela iradoki dute. Hainbat nukleotido bakarrekoko polimorfismo (single nucleotide polymorphism edo SNP, DNA sekuentzian ematen diren nukleotido bakarrekoko aldaketak), kirol lesio ezberdinekin erlazionatuak izan dira kasu-kontrol ikerketa erretrospektiboetan, batez ere belauneko aurreko lotailu gurutzatuaren hausturarekin eta Akilesen tendinopatiarekin. SNP hauek ehun muskuloeskeletikoa osatzen duten proteina estrukturalak edo erregulatuak kodifikatzeaz arduratzen diren geneetan daude kokatuta, hala nola, *COL1A1*, *COL5A1*, *ACAN*, *TNC*, *MMP3*, etab. Hau dela eta, polimorfismo jakin batek geneak sortutako proteinaren ezaugarri estrukturalak edo funtzionalak moldatu ditzake, lesionatzeko arriskua handituz edo gutxituz (Collins et al., 2015).

Era berean, SNP hauek muskuluaren egituran edo funtzionamenduan zer esana eduki dezakete, eta ondorioz, lesio muskular bat jasateko aukeretan eragin. Hala ere, orain arte ez da ikertua izan aldagai genetikoaren eta iskiotibialetako lesioen arteko erlazioa. Hau beharrezkoa da iskiotibialetako lesioen kausa biologikoetan sakontzeko, eta arriskuan dauden jokalariai identifikatzeko test edo frogak garatzeko. Alabaina, gaur egun ez dago lesioak aurreikusteko ahalmena duen frogarik (Bahr, 2016). Lesionatzeko arriskuan dauden jokalariai identifikatzeko testek informazio baliotsua emango lukete prebentzio esku-hartzeak norbanakoaren beharretara egokitzeko, eta futboleko dihardutenen kirol praktika eta bizi estilo osasuntsuak bultzatzeko.

2. Arloko egoera eta ikerketaren helburuak

Orain arte, ez da ikertua izan aldagai genetikoaren eta iskiotibialetako lesioen arteko erlazioa, ezta ere froga genetikoaren baliagarritasuna arriskuan dauden jokalariai identifikatzeko. Beraz, ikerketaren helburuak hurrengoak izan ziren: (1) aurretik beste lesio batzuekin erlazionatutako SNP-en eta iskiotibialetako lesioen arteko asoziazioa ikertzea hainbat denboralditan, eta (2) lesionatzeko arriskuan dauden jokalariai identifikatzeko eredu estatistiko bat eratzea, eta honen lesioak auresateko gaitasuna denboraldi independente batean aztertzea.

3. Ikerketaren muina

3.1 Metodoak

Lagina eta diseinu esperimentalak

Ikerketan Athletic Club-eko 107 zelaiko jokalarik hartu zuten parte, denak gizonezkoak. Jokalariaren erreklutamendua eta listu laginen bilketa 2014-2015 denboraldiaren hasieran burutu zen. Une hartan 27 jokalaria lehen taldekoak ziren, 42 Bilbao Athletic eta Basconiakoak, 36 gazte mailakoak eta 2 jokalaria ohiak. Jokalari hauek era prospektiboan jarraituak izan ziren 2010-2011 denboralditik 2015-2016 denboraldira. Ikerketa bi fasetan banandu zen: (1) aurkikuntza fasean, 2010-2011 eta 2014-2015 denboraldien artean, arrisku faktoreen eta iskiotibialetako lesioen arteko erlazioa aztertu zen, lesio arriskua zenbatesteko eredu bat sortzeko asmoarekin; eta (2) balioztatze fasean, 2015-2016 denboraldian, ereduak lesio berriak auresateko zuen gaitasuna ikertu zen.

Lesioen eta esposizio denboraren erregistroa

Klubaren talde medikuak denbora galera eragin zuten lesioak FIFA-k gomendatutako argibideak jarraituz erregistratu zituen (Fuller et al., 2006). Analisisirako kontaktu gabeko egoeretan gertatutako iskiotibialetako lesio muskularrak aukeratu ziren. Zerbitzu medikuak eta entrenatzaileek egunero jokalaria bakoitzak entrenamendu eta partiduetan parte hartutako denbora minututan erregistratu zuten.

Genotipatzea

Ikerketarako 25 SNP aukeratu ziren, aurretiaz beste lesio muskuloeskeletiko batzuekin erlazionatutakoak (Rahim et al 2016). Listu laginak ahoko hisopoekin lortu ziren (4N6FLOQSwab, Life Technologies). DNA erauzketa QIAmp DNA Mini kitarekin burutu zen (Qiagen), eta fluorimetria bidez kuantifikatu zen (Qubit, Life Technologies). DNA laginak Biomark HD sisteman genotipatu ziren SNP type probak erabilita (Fluidigm). Genotipatzea UPV/EHU-ko Ikerkuntzarako Zerbitzu Orokorretako (SGIker) Sekuentziazio eta Genotipo Azterketen Zerbitzuak burutu zuen.

Analisi estatistikoa

Iskiotibialetako lesioen eta arrisku faktoreen arteko asoziazioa Cox-en arrisku proportzionalen erregresioaren bidez aztertu zen frailty luzapenarekin, R v.3.2.3 software estatistikoa erabilita (R Core Team 2015, R Foundation for Statistical Computing). Eredu estatistikoa honek jokalaria bakoitzak esposizio denbora (esposizio orduak denboraldi bakoitzean) ezberdina duela kontuan hartzen du, eta frailty luzapenak jokalaria berdinen behaketan arteko

korrelazioa aintzat hartzen du (Ullah et al., 2014). Jokalari bakoitzaren jarraipena denboraldi bakoitzaren hasieran hasten zen. Jokalari batzuek lesionatu gabe igaro zezaketen denboraldia, eta beste batzuek, ordea, lesio bat edo gehiago jasan.

Lehenbizi, aurkikuntza faseko datuekin, arrisku faktore bakoitzaren (25 SNP, adina, aurretiko iskiotibialetako lesioak), eta iskiotibialetako lesioen arteko erlazioa aztertu zen banan-banan. Jarrain, $P < 0.25$ erakutsi zuten aldagaiekin Cox-frailty erregresio multiple bat eratu zen, aldagaien aukeraketa pausoka eta aurrerantz eginda. Hazard ratioak (HR, adb. SNP baten kasuan, zenbat aldiz den handiagoa genotipo bat duten jokalarien lesionatzeko arriskua, beste genotipoak dituzten jokalariekin alderatuta) eta % 95-eko konfiantza tarteak kalkulatu ziren. Asoziazio hauek grafikoki irudikatu ziren Kaplan-Meier biziraupen kurben bidez GraphPad Prism v.6.0c erabilia (GraphPad Software). Esangarritasun estatistikoaren maila $P < 0.05$ -en ezarri zen.

Azkenik, Cox-frailty ereduaren bidez jokalari batek lesionatzeko duen arriskua kalkulatu daiteke lagineko batezbesteko jokalariairekin alderatuta. Ereduaren auresate gaitasuna aurkintza eta balioztatze faseetan aztertu zen Harrell-en C indizea erabilia. Indize honek, jokalari aleatorio bi konparatzen direnean, lesionatuko den jokalaria arrisku puntuazio altuagoa duena izateko probabilitatea zenbatesten du. 0.5 inguruko emaitzek eredu zorizko hautaketa bat bezain ona dela adierazten dute. Ostera, 1 inguruko indizeek ereduak lesionatzeko arrisku handiagoa duten jokalaria ia beti identifikatzen dituela adierazten dute (Harrell et al., 1996).

3.2 Emaitzak

Aurkikuntza fasean 413 behaketa eta 129 iskiotibialetako lesio egon ziren (107 jokalari), eta balioztatze fasean 98 behaketa eta 31 iskiotibialetako lesio (67 jokalari). Iskiotibialetako lesioen intzidentzia 1.64/1000 ordu izan zen. 7 SNP eta adina iskiotibialetako lesioekin era indibidualean erlazionatuak egon ziren (1. taula). Aldagai anitzeko Cox-frailty eredu estatistikoan 5 SNP eta adina lesionatzeko arriskuarekin asoziatu ziren (2. taula). Aldagai hauen Kaplan-Meier biziraupen kurbak 1. irudian erakusten dira. Emaitza hauen arabera 24 urte baino gehiago izatea, eta *MMP3* (matrizearen metaloproteinasa-3) rs679620 AA, *TNC* (tenaszina-C) rs2104772 AA, *IL6* (interleukina-6) rs1800795 GG, *NOS3* (oxido nitriko sintasa-3) rs1799983 GG, eta *HIF1A* (hipoxiak eragin lezakeen-1a faktorea) rs11549465 CC genotipoak iskiotibialetako lesioak pairatzeko arrisku handiagoarekin erlazionatu ziren. Azkenik, aldagai anitzeko ereduak auresate gaitasun onargarria erakutsi zuen aurkikuntza fasean (C indizea=0.74), baina ez balioztatze fasean (C indizea=0.52).

4. Ondorioak

107 goi-mailako futbolari 6 denboralditan zehar aztertu eta gero, 5 SNP eta adina iskiotibialetako lesio arriskuarekin asoziatu ziren aldagai anitzeko Cox-frailty eredu batean. 5 gene hauek muskuluaren egituraren eta funtzionamenduaren erregulazioan parte hartzen duten proteinak kodifikatzen dituzte, eta SNP-ak funtzionalak direnaren ebidentzia dago, proteinaren kantitatea, egitura edo funtzionamendua aldatu dezaketelarik (Rahim et al., 2016). Hala ere, ikusitako asoziazioen arrazoiak ezagutzeko ikerketa mekanistikoaren beharra dago.

Aldez aurretik, SNP hauen eta beste lesio batzuen erlazioa ikertua izan da. Iskiotibialetako lesio arrisku handiagoarekin asoziatutako *TNC* rs2104772 A aleloa eta *IL6* rs1800795 G aleloa Akilesen tendinopatiarekin erlazionatuak izan dira. Alderantziz, ez zen erlazorik aurkitu Akilesen tendinopatiaren eta *MMP3* rs679620 eta *NOS3* rs1799983-ren artean; ezta ere aurreko lotailu gurutzatuaren hausturaren eta *MMP3* rs679620 eta *HIF1A* rs11549465-en artean (Gibbon et al., 2016; Rahim et al., 2016). Ikerketa honen emaitzen aurka, ez zen erlazorik aurkitu lesio muskularren eta *MMP3* rs679620 eta *TNC* rs2104772-ren artean (Pruna et al., 2016). Adinari dagokionez, nagusiagoak diren jokalaria arrisku handiagoan egon daitezke adinarekin erlazionatutako aldaketak direla medio, edo aurretiko iskiotibialetako lesioak edukitzeko aukera handiagoak dituztelako (van Beijsterveldt et al., 2013).

1. taula. Aldagai genetiko eta ez genetikoaren asoziazio indibiduala iskiotibialetako lesioekin goi-mailako futbolarietan.

Genea	SNP/aldagaia	Arrisku handiagoa*	vs.	Arrisku txikiagoa	HR (95% CI)	P balioa
<i>MMP3</i>	rs679620	A		G	1.79 (1.27-2.51)	0.001
<i>COL5A1</i>	rs16399	DI		DD+II	1.83 (1.13-2.97)	0.01
<i>MMP1</i>	rs1799750	DD+DI		II	2.05 (1.13-3.74)	0.02
<i>NOS3</i>	rs1799983	G		T	1.43 (1.02-1.99)	0.04
<i>DCN</i>	rs516115	A		G	1.51 (1.02-2.22)	0.04
<i>HIF1A</i>	rs11549465	CC		CT	2.32 (1.03-5.20)	0.04
<i>MMP12</i>	rs2276109	A		G	1.62 (0.99-2.64)	0.05
<i>CASP8</i>	rs3834129	DD		DI+II	1.62 (0.98-2.67)	0.06
<i>COL5A1</i>	rs12722	TC+CC		TT	1.59 (0.90-2.80)	0.11
<i>TNC</i>	rs2104772	A		T	1.35 (0.92-1.99)	0.12
<i>COL1A1</i>	rs1107946	C		A	1.68 (0.80-3.50)	0.17
<i>VEGFA</i>	rs2010963	GG+GC		CC	4.48 (0.49-40.52)	0.18
<i>ADAMTS5</i>	rs226794	GA+AA		GG	1.44 (0.83-2.48)	0.20
<i>ACAN</i>	rs1516797	TG+GG		TT	1.37 (0.82-2.28)	0.23
<i>ADAMTS2</i>	rs1054480	CT+TT		CC	1.35 (0.82-2.21)	0.24
<i>IL6</i>	rs1800795	GG		GC+CC	1.33 (0.81-2.18)	0.25
<i>GDF5</i>	rs143383	TT+CC		TC	1.33 (0.81-2.19)	0.26
<i>COL12A1</i>	rs970547	AA+AG		GG	2.11 (0.53-8.40)	0.29
<i>TIMP2</i>	rs4789932	CC+TT		CT	1.21 (0.73-1.99)	0.46
<i>IL6R</i>	rs2228145	AA+AC		CC	1.24 (0.69-2.24)	0.46
<i>ADAMTS14</i>	rs4747096	AG		AA	1.22 (0.71-2.08)	0.47
<i>EMILIN1</i>	rs2289360	GG+AA		GA	1.19 (0.71-1.97)	0.51
<i>COL1A1</i>	rs1800012	G		T	1.09 (0.75-1.60)	0.64
<i>IL1A</i>	rs1800587	T		C	1.07 (0.73-1.56)	0.72
<i>IL1B</i>	rs1143634	CC+TT		CT	1.03 (0.61-1.76)	0.90
	Adina (urteak)	≥ 24		≤ 23	2.33 (1.30-4.17)	0.004
	Aurretiko lesioak	Bai		Ez	1.19 (0.80-1.75)	0.34

HR: hazard ratio, zenbat aldiz den handiagoa lesionatzeko aukera arrisku handiagoko taldean arrisku baxuagoko taldearekin alderatuta. SNP: single nucleotide polymorphism. CI: konfiantza tarte. I: txertatzea (insertion), D: ezabaketa (deletion).

*Aleloak konparatzen direnean HR-a gehigarria da, hau da, arrisku aleloaren 2 kopia edukitzeak HR-a bikoizten du babes aleloaren 2 kopia dutenekin alderatuta.

Nahiz eta behatutako erlazioen kausa ezezaguna izan, sortutako eredu estatistikoa jokalaria batek lesionatzeko duen arriskua kalkulatzeko erabili daiteke. Horrelako tresna bat oso erabilgarria izan daiteke jokalariai arrisku taldeetan sailkatzeko, eta prebentzio estrategien inguruko erabakiak hartzeko. Hala eta guztiz ere, ereduak ez zuen lesionatzeko arriskuan zeuden jokalariai identifikatzeko gaitasunik erakutsi, eta ez zen zorizko hautaketa bat baino hobeia izan etorkizuneko lesioak auresaterakoan.

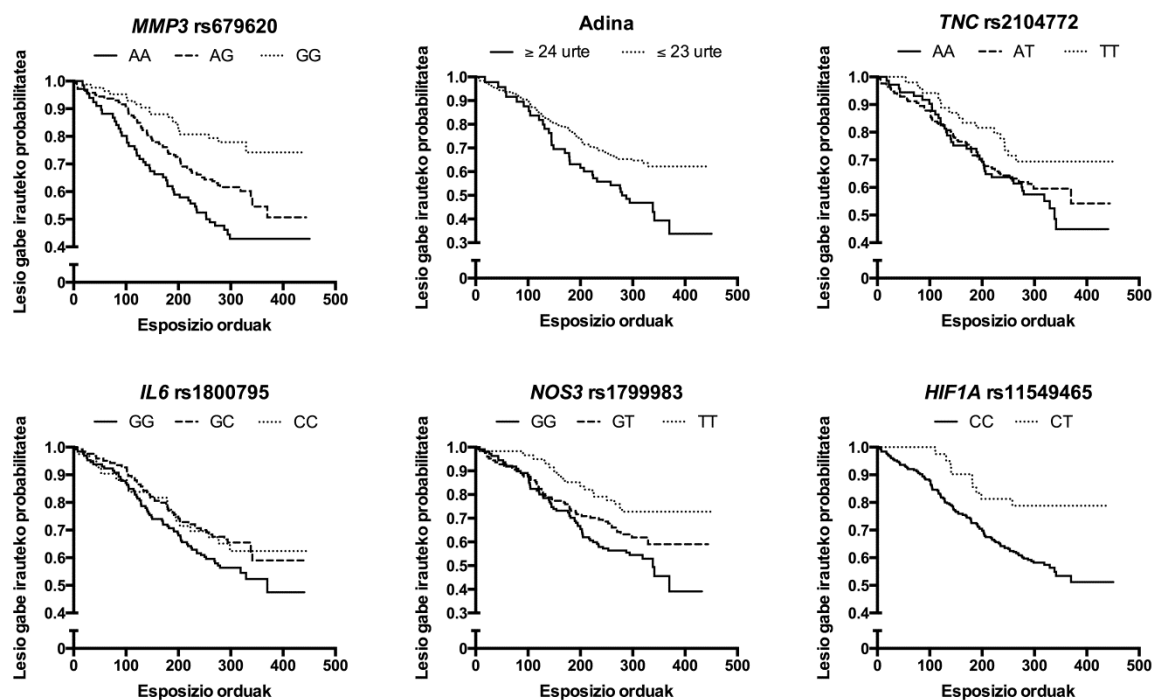
2. taula. Iskiotibialetako lesioak jasateko arriskua zenbatesteko aldagai anitzeko Cox-frailty eredu goi-mailako futbolarietan.

Genea	SNP/aldagaia	Arrisku handiagoa*	vs. Arrisku txikiagoa	HR (95% CI)	P balioa
<i>MMP3</i>	rs679620	A	G	2.06 (1.51-2.81)	6.2 x 10 ⁻⁶
	Adina (urteak)	≥ 24	≤ 23	2.10 (1.29-3.42)	0.003
<i>TNC</i>	rs2104772	A	T	1.65 (1.17-2.32)	0.004
<i>IL6</i>	rs1800795	CC	GC+CC	1.68 (1.11-2.53)	0.01
<i>NOS3</i>	rs1799983	G	T	1.35 (1.01-1.79)	0.04
<i>HIF1A</i>	rs11549465	CC	CT	2.08 (1.00-4.29)	0.05

HR: hazard ratio, zenbat aldiz den handiagoa lesionatzeko aukera arrisku handiagoko taldean arrisku baxuagoko taldearekin alderatuta. SNP: single nucleotide polymorphism. CI: konfiantza tartea.

*Aleloak konparatzen direnean HR-a gehigarria da, hau da, arrisku aleloaren 2 kopia edukitzeak HR-a bikoizten du babes aleloaren 2 kopia dutenekin alderatuta.

1. irudia. Kaplan-Meier biziraupen kurbak, denboraldi bat iskiotibialetako lesiorik gabe irauteko probabilitatea irudikatuz Cox-frailty erregresio multipleko aldagaientzat.



Arazoi ezberdinek azaldu dezakete arriskuan dauden jokalariai identifikatzeko ezgaitasuna. Laginaren tamaina balioztatze fasean txikia izan zen, eta emaitza hauek lagin handiagoetan erreplikatzeko beharrezkoa da. Dena den denboraldi batean test batek duen ahalmen prediktiboa garrantzitsua da futbol talde batentzat. SNP gutxi batzuk ikertzea gene hautagai hurbilketarekin mugatua da ere, eta gaur egun milioika SNP ikertzeko aukera dago genoma osoa aztertzekeo teknikak erabilita (Collins et al., 2016). Bestalde, lesioak gertaera konplexu eta multifaktorialak dira, eta genetikaz gain beste arrisku faktore batzuk kontuan hartu behar dira, besteak beste, entrenamendu karga, nekea, iskiotibialen indarra edota prebentzio estrategiak burutzen diren edo ez (van Beijsterveldt et al., 2013).

Azkenik, arriskuan dauden jokalariak identifikatzea ezinezkoa izan daitekeela argudiatu da, eta gaur egun ez dago kirol lesioak auresan ditzaken testik (Bahr, 2016). Dena den, horrelako testak erabilgarriak izan daitezke mediku eta entrenatzaileentzat, esku hartze prebentiboan inguruan erabakiak hartzen laguntzeko. Zentzu honetan, test genetikoaren erabilera goiztiarra dirudi.

5. Etorkizunerako planteatzen den norabidea

Aipatutako mugak kontuan hartuta, ikerketa gehiagoren beharra dago (1) genoma osoa aztertzeke teknikak erabilita eta milioika SNP analizatuz; eta (2) aldagai genetikoek beste arrisku faktore batzuekin duten interakzioa aztertuz arrisku eredu multifaktorialetan. Horretarako, laginaren tamaina handitzea beharrezkoa izango da. Pausu garrantzitsuak izango dira genetikak lesio arriskuan duen influentzia ezagutzeko, eta test genetikoek iskiotibialetako lesioak prebenitzeko erabaki prozesuetan informazio erabilgarria eskaini dezaten.

6. Erreferentziak

- Bahr, R. (2016), Why screening tests to predict injury do not work-and probably never will...: a critical review, *Br J Sports Med*, 50, 776-780.
- Collins, M. et al. (2015), Biological variation in musculoskeletal injuries: current knowledge, future research and practical implications, *Br J Sports Med*, 49, 1497-1503.
- Fuller, CW. et al. (2006), Consensus statement on injury definitions and data collection procedures in studies of football (soccer) injuries, *Br J Sports Med*, 40, 193-201.
- Gibbon, A. et al. (2017), The MMP3 gene in musculoskeletal soft tissue injury risk profiling: A study in two independent sample groups, *J Sports Sci*, 35, 655-662.
- Harrell, FE. et al. (1996), Multivariable prognostic models: issues in developing models, evaluating assumptions and adequacy, and measuring and reducing errors, *Stat Med*, 15, 361-387.
- Pruna, R. et al. (2016), Genetic biomarkers in non-contact muscle injuries in elite soccer players, *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*, [Epub ahead of print].
- Rahim, M. et al. (2016), Genes and musculoskeletal soft-tissue injuries, *Med Sport Sci*, 61, 68-91.
- Ullah, S. et al. (2014), Statistical modelling for recurrent events: an application to sports injuries, *Br J Sports Med*, 48, 1287-1293.
- van Beijsterveldt, AM. et al. (2013), Risk factors for hamstring injuries in male soccer players: a systematic review of prospective studies, *Scand J Med Sci Sports*, 23, 253-262.

7. Eskerrak eta oharrak

Jon Larruskain UPV/EHU-ko Euskararen Arloko Errektoreordetzaren beka baten onuraduna da.