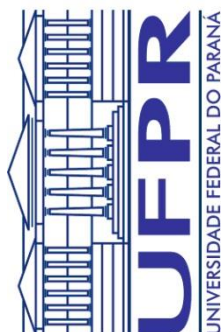
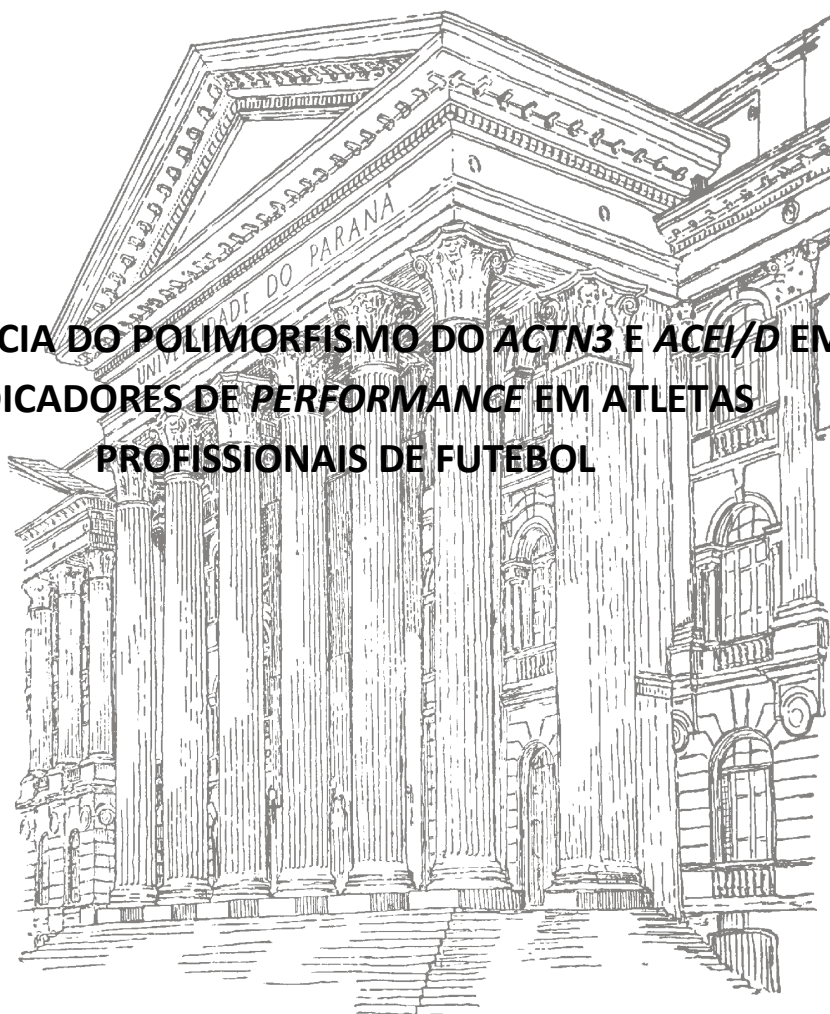


FABIANO DE MACEDO SALGUEIROSA

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM EDUCAÇÃO FÍSICA

**INFLUÊNCIA DO POLIMORFISMO DO ACTN3 E ACEI/D EM  
INDICADORES DE *PERFORMANCE* EM ATLETAS  
PROFISSIONAIS DE FUTEBOL**



CURITIBA

2013

**FABIANO DE MACEDO SALGUEIROSA**

**INFLUÊNCIA DO POLIMORFISMO DO *ACTN3* E *ACE I/DEM*  
INDICADORES DE *PERFORMANCEEM* ATLETAS  
PROFISSIONAIS DE FUTEBOL**

Tese apresentada como pré-requisito para a obtenção do título de Doutor em Educação Física, no Departamento de Educação Física, Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná.

**Orientador: Prof. Dr. Raul Osiecki**

# TERMO DE APROVAÇÃO

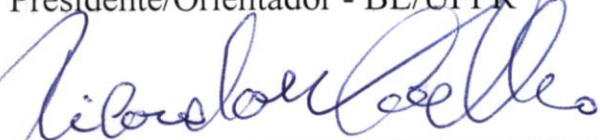
## FABIANO DE MACEDO SALGUEIROSA

### **“Influência do polimorfismo do ACTN3 e ACE I/D em indicadores de performance em atletas profissionais de futebol”**

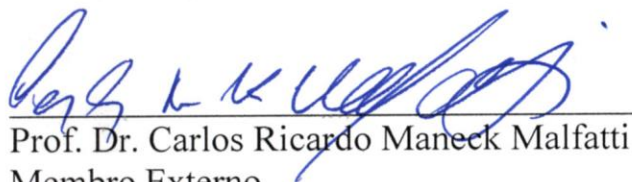
Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Educação Física – Área de Concentração: Exercício e Esporte; Linha de Pesquisa: Desempenho Esportivo; do Programa de Pós-Graduação em Educação Física do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, pela seguinte Banca Examinadora:



Professor Dr. Raul Osiecki  
Presidente/Orientador - BL/UFPR



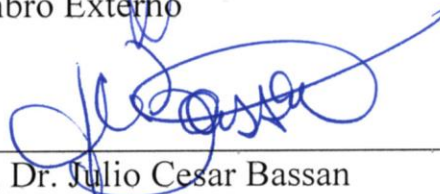
Prof. Dr. Ricardo Weigert Coelho  
Membro Interno



Prof. Dr. Carlos Ricardo Maneck Malfatti  
Membro Externo



Prof. Dr. Antonio Carlos Dourado  
Membro Externo



Prof. Dr. Julio Cesar Bassan  
Membro Externo

Curitiba, 30 de Agosto de 2013.

## AGRADECIMENTOS

Nenhuma palavra seria suficiente para expressar aqui toda minha gratidão à minha família. À minha mãe Regina, meus irmãos Cassio e Alessandro e minha namorada Jéssica: Obrigado por todo amor, apoio e paciência. Amo vocês!

Ao meu orientador prof. Dr. Raul Osiecki por compartilhar seu conhecimento, pelos conselhos, dedicação, amizade e pela compreensão nos momentos mais difíceis.

A todos os professores da UFPR por tudo que aprendi em quase 10 anos de convivência.

Ao professor João Henrique Faryniuk e toda Universidade Tuiuti do Paraná, instituição na qual leciono, por abrir as portas dos laboratórios, cedendo equipamentos e materiais.

A todos os técnicos dos laboratórios da UTP que sempre foram muito prestativos.

A todos meus alunos por compreenderem meus momentos de ausência.

Um eterno agradecimento à professora Gersa Gabriele Seniski por compartilhar duas coisas preciosas: seu tempo e conhecimento, o que tornou possível a realização desta pesquisa. Espero um dia poder retribuir tudo que fez por mim!

A todos os amigos que passaram pelo CEPEFIS nesses anos: Patrick, Renatinha, Paulinha, Vitor, Sara, Larissa, Luiz Fernando, Guilherme e em especial a Ednaldo e Elton, companheiros nas análises de laboratório.

Ao professor Marcelo Romanovitch Ribas pela importante ajuda com o comitê de ética.

Aos secretários do programa Daniel Dias e Rodrigo Waki pelo auxílio durante todo o processo.

À todos os atletas que participaram da pesquisa.

## SUMÁRIO

|   |           |
|---|-----------|
| AGRADECIMENTOS.....   | 12        |
| LISTA DE FIGURAS.....   | 16        |
| LISTA DE TABELAS.....   | 17        |
| LISTA DE GRÁFICOS.....  | 18        |
| RESUMO.....   | 19        |
| ABSTRACT.....   | 20        |
| <b>1. INTRODUÇÃO.....</b>   | <b>11</b> |
| 1.1 Objetivos.....  | 15        |
| 1.1.1 Objetivo Geral.....   | 15        |
| 1.1.2 Objetivos Específicos.....  | 15        |
| <b>2 REVISÃO DA LITERATURA.....</b>   | <b>16</b> |
| 2.1 Demandas Fisiológicas do Futebol.....                                       | 16        |
| 2.2 $\alpha$ -actininas.....  | 17        |
| 2.3 Deficiência da $\alpha$ -actinina 3.....                                    | 18        |
| 2.4 ACTN3 e <i>performance</i> física.....                                      | 19        |
| 2.4.1 Estudos de associação.....  | 19        |
| 2.4.2 ACTN3 e indicadores de <i>performance</i> .....                           | 20        |
| 2.4.3 ACTN3 e resposta ao treinamento.....                                      | 22        |
| 2.5 Sistema Renina-Angiotensina (SRA).....                                      | 23        |
| 2.6 O polimorfismo I/D do gene ACE.....   | 24        |
| 2.7 Polimorfismo ACE I/D e <i>performance</i> .....                             | 24        |
| 2.7.1 Estudos de Associação.....  | 24        |
| 2.7.2 Associação com indicadores de <i>performance</i> .....                    | 26        |
| 2.8 Relação ACE I/D e <i>performance</i> : possíveis mecanismos envolvidos..... | 29        |
| <b>3 MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>   | <b>32</b> |
| 3.1 Desenho do Estudo.....  | 32        |
| 3.2 Comitê de Ética em Pesquisa.....  | 32        |
| 3.3 Amostra.....  | 32        |
| 3.4 Caracterização Antropométrica.....  | 33        |
| 3.5 Avaliações do desempenho físico.....  | 34        |

|          |  |           |
|----------|--|-----------|
| 3.5.1    | Teste progressivo em esteira.....  | 34        |
| 3.5.2    | Impulsão Vertical.....   | 35        |
| 3.5.3    | Velocidade de Deslocamento de 10m e 30m.....   | 35        |
| 3.5.4    | Teste de Agilidade .....   | 36        |
| 3.5.5    | Yo-Yo Intermittent Recovery Test II (Yo-YoIR2).....                                  | 36        |
| 3.6      | Coleta sanguínea.....  | 37        |
| 3.7      | Extração do DNA genômico dos atletas.....  | 38        |
| 3.8      | Genotipagem do polimorfismo R577X no gene <i>ACTN3</i> .....                         | 38        |
| 3.9      | Genotipagem do polimorfismo I/D do íntron 16 do gene <i>ACE</i> .....                | 39        |
| 3.10     | Análise Estatística .....  | 41        |
| <b>4</b> | <b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>  | <b>42</b> |
| 4.1      | Frequências genótípicas e alélicas.....  | 44        |
| 4.2      | Polimorfismos do <i>ACTN3</i> e <i>ACE</i> e indicadores de <i>performance</i> ..... | 51        |
| <b>5</b> | <b>CONCLUSÃO .....</b>   | <b>62</b> |
|          | REFERÊNCIAS .....  | 63        |
|          | APÊNDICE.....  | 74        |

## LISTA DE FIGURAS

|   |    |
|---|----|
| Figura 1 - A estrutura do sarcômero.....  | 17 |
| Figura 2 - Distribuição de fibras (vasto lateral) de um indivíduo II e um DD.....   | 31 |
| Figura 3 - Teste de zigzag de 20m.....  | 36 |
| Figura 4 - Exemplo de determinação do espaço físico destinado ao teste de YO-YO intermittent recovery test 2.....                       | 37 |
| Figura 5 - Determinação visual de análise de eletroforese em gel de agarose para caracterização dos genótipos ACTN3.....                | 39 |
| Figura 6 - Determinação visual de análise de eletroforese em gel de agarose para caracterização dos genótipos ACE I/D.....              | 40 |
| Figura 7 - Determinação visual da segunda reação em cadeia da polimerase (PCR) utilizando primer de inserção específico ao alelo I..... | 41 |

## LISTA DE TABELAS

|  |    |
|--|----|
| Tabela 1- Protocolo do teste progressivo em esteira .....                                      | 34 |
| Tabela 2 - Características descritivas da amostra (n=40) .....                                 | 43 |
| Tabela 3 - Distribuição genotípica do ACTN3 .....  | 45 |
| Tabela 4 - Distribuição alélica do ACTN3.....  | 46 |
| Tabela 5 - Distribuição genotípica do ACE I/D .....  | 48 |
| Tabela 6 - Distribuição alélica do ACE I/D.....  | 49 |
| Tabela 7 - Genótipos do ACTN3 e fenótipos de <i>performance</i> .....                          | 52 |
| Tabela 8 - Genótipos do ACTN3 e fenótipos de <i>performance</i> pelo modelo dominante.....     | 52 |
| Tabela 9 - Genótipos do ACTN3 e fenótipos de <i>performance</i> pelo modelo recessivo .....    | 53 |
| Tabela 10 - Genótipos do ACE I/D e fenótipos de <i>performance</i> .....                       | 56 |
| Tabela 11 - Genótipos do ACE I/D e fenótipos de <i>performance</i> pelo modelo dominante.....  | 56 |
| Tabela 12 - Genótipos do ACE I/D e fenótipos de <i>performance</i> pelo modelo recessivo ..... | 57 |
| Tabela 13 - Genótipos ACTN3 e ACE I/D combinados e fenótipos de <i>performance</i> .....       | 59 |



## LISTA DE GRÁFICOS

|   |    |
|---|----|
| Gráfico 1 - Distribuição genotípica do ACTN3..... | 45 |
| Gráfico 2 - Distribuição alélica do ACTN3 .....   | 46 |
| Gráfico 3 - Distribuição genotípica do ACE .....  | 48 |
| Gráfico 4 - Distribuição alélica do ACE.....      | 49 |

## RESUMO

O objetivo do estudo foi analisar a Influência do polimorfismo do *ACTN3* e *ACE I/D* em indicadores de *performance* em atletas profissionais de futebol. A amostra foi composta de 40 atletas de uma equipe da primeira divisão do futebol brasileiro. A genotipagem dos polimorfismos do *ACTN3* e *ACE I/D* foi realizada por reação em cadeia da polimerase (PCR) a partir do DNA genômico. Foram avaliados também vários indicadores de *performance* física (velocidade, impulsão vertical,  $VO_{2máx}$ , limiar anaeróbio e habilidade de realização de estímulos intensos repetidos). As frequências genótípicas e alélicas foram comparadas com populações controle e de atletas pelo testes do Qui-Quadrado e exato de Fisher e os indicadores de *performance* foram comparados utilizando Kruskal-Wallis para os genótipos isoladamente ou Mann-Whitney para os modelos dominante e recessivo. Para todas as análises foi adotado  $p < 0,05$ . As frequências genótípicas e alélicas do *ACTN3* (RR=45%, RX=50% e XX=5%; R=70% e X=30%) e do *ACE I/D* (DD=30%, ID=57,5% e II=12,5%; D=58,8% e I=41,2%) não diferiram significativamente tanto da população controle, quanto de outros grupos de atletas de futebol, com a exceção de um estudo do *ACE I/D*. Também não foram encontradas diferenças significativas entre os genótipos *ACTN3* e *ACE I/D* para nenhum dos indicadores de *performance* testados. Concluindo, os dados sugerem que na amostra estudada os genótipos *ACTN3* e *ACE I/D* não foram associados com fenótipos relacionados à *performance* física.

## ABSTRACT

The purpose of the present study was to analyze the influence of ACTN3 and ACE I/D polymorphisms on performance phenotypes in professional soccer players. The sample consisted of 40 athletes from a first division team of Brazilian soccer. Genotyping ACTN3 and ACE I/D polymorphisms was performed by polymerase chain reaction (PCR) from genomic DNA. We also evaluated several physical performance indicators (speed, vertical jump,  $VO_{2max}$ , anaerobic threshold and ability to repeatedly perform intense exercise). The genotypic and allelic frequencies were compared with control populations and athletes by chi-square and exact Fisher tests. The performance indicators were compared using Kruskal-Wallis test for genotypes alone or Mann-Whitney test for dominant and recessive models. For all analyzes was set at  $p < 0.05$ . The allele and genotype frequencies ACTN3 (RR=45%, RX=50% and XX=5%; R=70% and X=30%) and ACE I/D (DD=30%, ID=57,5% e II=12,5%; D=58,8% e I=41,2%) did not differ significantly from both the control population, as other groups of soccer players with the exception of one study of ACE I/D. We also found no significant differences between ACTN3 and ACE I/D genotypes for any of the performance indicators tested. In conclusion, the data suggest that in the studied sample ACTN3 and ACE I/D genotypes were not associated with phenotypes related to physical performance.

## 1. INTRODUÇÃO

A *performance* física de alto nível é resultados de uma combinação de fatores ambientais como treinamento e nutrição adequada. Contudo, tais fatores não são capazes de explicar sozinhos a grande variação da resposta ao treinamento. Surge então, um terceiro componente importante para a determinação do fenótipo de *performance* física, o componente genético (DIAS *et al.*, 2007).

O conceito de variação humana na habilidade em responder ao treinamento foi proposta há três décadas e desde então, vários estudos conduzidos com gêmeos monozigóticos têm confirmado um componente genético substancial na resposta ao treinamento (BOUCHARD, 2012). No entanto, somente a partir do sequenciamento do genoma humano é que foi possível o estudo de quais genes possivelmente estariam envolvidos.

Uma alteração nas sequências de bases do DNA (polimorfismos) pode influenciar na expressão e atividade de determinadas proteínas e, assim, estar de várias formas envolvida na variação do fenótipo de *performance* física. Hoje, acredita-se que aproximadamente 200 variações genéticas (genes candidatos) estão relacionados com fenótipos de *performance* e aptidão física e saúde (SHARP, 2008; BRAY *et al.*, 2009), dentre os quais destacam-se o gene *ACTN3* que codifica a  $\alpha$ -actinina 3 e o *ACE* que codifica a enzima conversora da angiotensina (ECA), sendo o primeiro associado com a *performance* física humana (MONTGOMERY *et al.*, 1998).

Em humanos, duas isoformas de  $\alpha$ -actininas são encontradas no músculo esquelético ( $\alpha$ -actinina 2 e  $\alpha$ -actinina 3) (BEGGS *et al.*, 1992), sendo a  $\alpha$ -actinina 2 encontrada em todos tipos de fibras e  $\alpha$ -actinina 3 somente na fibras de contração rápida (fibras do tipo II) (NORTH *et al.*, 1999).

No músculo as  $\alpha$ -actininas são as principais proteínas estruturais que formam a linha Z, ligando os filamentos finos e estabilizando a estrutura do sarcômero (SQUIRE, 1997). Além de seu papel estrutural, parecem exercer um

importante papel em processos metabólicos e de sinalização intracelular (MACARTHUR e NORTH, 2004).

North *et al.* (1999) descreveram pela primeira vez um polimorfismo do gene *ACTN3*, convertendo um resíduo da arginina (R) para um códon de parada (X) na posição 577, levando à deficiência na produção da  $\alpha$ -actinina 3. Aproximadamente 16% da população é completamente deficiente desta proteína devido à homozigotidade do códon de parada R577X (BERMAN e NORTH, 2010).

Vários estudos, a partir de então, têm tentado demonstrar possíveis influências do polimorfismo do *ACTN3* na estrutura e desempenho musculares.

Um estudo mostrou frequências significativamente maiores do alelo R em atletas de sprint quando comparados a controles, sugerindo que a presença da  $\alpha$ -actinina 3 é benéfica na geração de força e potência musculares (YANG *et al.*, 2003). Ainda, em outras investigações, o genótipo RR foi associado à maior porcentagem de fibras do tipo IIb (VINCENT *et al.*, 2007) e menor dano muscular após exercício (VINCENT *et al.*, 2010; PIMENTA *et al.*, 2011; SETO *et al.*, 2011). Contudo, alguns autores não encontraram diferenças significativas na produção de potência muscular entre os genótipos para *ACTN3* (NORMAN *et al.*, 2009; HANSON *et al.*, 2010).

Já o gene que codifica a ECA (*ACE I/D*) apresenta um polimorfismo que consiste na ausência (deleção, D) ou presença (inserção I) de 287 pares de base no íntron 16 (RIGAT *et al.*, 1990). O alelo D está associado à maior atividade da ECA tanto no plasma, quanto nos tecidos (PUTHUCHEARY *et al.*, 2011), assim, homozigotos para o alelo D (genótipo DD) apresentam maior atividade da ECA quando comparados com os genótipos ID e II. O fato de existirem sistemas renina-angiotensina locais em tecidos como o adiposo e muscular cardíaco e esquelético sugere que a expressão e atividade da angiotensina II (ANG II) pode influenciar em fenótipos de *performance* física.

O alelo I parece estar associado com eventos de *endurance*, sendo observado com maior frequência em montanhistas (MONTGOMERY *et al.*, 1998), remadores (GAYAGAY *et al.*, 1998), triatletas (COLLINS *et al.*, 2004; SHENOY *et al.*, 2010) e corredores de fundo de nível olímpico (MYERSON *et al.*, 1999). Está associado também com maior percentual de fibras do tipo I

(ZHANG *et al.*, 2003) e maior consumo máximo de  $O_2$  ( $VO_{2máx}$ ) (ALMEIDA *et al.*, 2012). Em contrapartida, o alelo D tem demonstrado relação com eventos de força/potência, apresentando maior frequência em nadadores de curta distância (WOODS *et al.*, 2001; COSTA *et al.*, 2009a) e atletas de eventos de curta duração de modalidades variadas (NAZAROV *et al.*, 2001), além de estar ligado a maior percentual de fibras do tipo IIb (ZHANG *et al.*, 2003) e menor expressão de marcadores de dano muscular pós-exercício (YAMIN *et al.*, 2007).

Entretanto, alguns estudos mostram dados controversos, não demonstrando diferenças nas frequências dos genótipos em atletas comparados aos respectivos grupos controle (RANKINEN *et al.*, 2000; SCOTT *et al.*, 2005; SCOTT *et al.*, 2010),  $VO_{2máx}$  (RANKINEN *et al.*, 2000) e resposta ao treinamento resistido em não-atletas (GENTIL *et al.*, 2011a).

O Futebol é considerado uma modalidade esportiva mista do ponto de vista metabólico. A distância percorrida por um atleta de futebol de alto nível é de 10-13 km (BANGSBO *et al.*, 2006) em intensidades próximas ao limiar anaeróbio (HOFF e HELGERUD, 2004), com padrão de exercício intermitente, com mudanças de intensidade a cada 4-6 segundos (MOHR *et al.*, 2005).

Contudo, apesar de ser um esporte predominantemente aeróbio, as ações decisivas são caracterizadas por momentos de curta duração e alta intensidade com predomínio do metabolismo anaeróbio. Vários momentos de atividade explosiva são necessários, como saltos, chutes, sprints e mudanças de direção (STOLEN *et al.*, 2005). De acordo com Mohret *et al.* (2003) jogadores de elite realizam entre 150-250 ações intensas durante um jogo, indicando que a taxa de utilização de energia anaeróbia é alta em determinados momentos da partida (BANGSBO *et al.*, 2006), tornando a potência muscular crucial em muitas situações decisivas do jogo (CHELLY *et al.*, 2010). Neste sentido, um perfil genético favorável para eventos de alta intensidade parece ser desejável para os atletas de alto nível (JUFFER *et al.*, 2009).

De fato, alguns estudos envolvendo jogadores de futebol e os genótipos do *ACTN3* e *ACE I/D* demonstram esta tendência.

Em jogadores de futebol de alto nível da Espanha, Santiago *et al.*(2008) encontraram frequências dos genótipos RR e RX significativamente maiores e menores, respectivamente, quando comparados ao grupo controle e atletas de *endurance*. Recentemente Pimenta *et al.*(2013) observaram, em jogadores da primeira divisão do futebol brasileiro, que atletas com genótipo RR apresentaram melhores índices em testes de velocidade e potência e o genótipo XX maior  $VO_{2máx}$ .

Outro aspecto interessante estudado em jogadores profissionais brasileiros foi o a resposta de indicadores de dano muscular após um protocolo de treinamento excêntrico (PIMENTA *et al.*, 2011). Os autores demonstraram que indivíduos que possuíam o genótipo XX apresentaram [CK] significativamente maiores comparados aos genótipos RR e RX 4 horas após o protocolo de treinamento.

Com relação ao polimorfismo do ACE I/Dembora não tenha sido encontrada diferença significativa para frequência genotípica em relação ao controle, Micheli *et al.*(2011) demonstraram que atletas de futebol sub-17 da Itália possuíam predominância do genótipo DD e menor expressão do genótipo II. Os autores observaram que atletas que possuíam o genótipo ID obtinham melhor desempenho em testes salto vertical quando comparados à atletas II e DD. Já, Juffer *et al.*(2009) não observaram diferenças com relação ao grupo controle, porém os autores observaram maiores e menores frequências de genótipos ID e II, respectivamente, em jogadores profissionais de futebol da Espanha quando comparados com corredores de *endurance*.

Deste modo, parece aceitável assumir que o perfil genotípico favorável para o esporte está associado aos alelos D e R dos polimorfismos ACE I/D e ACTN3, respectivamente.

Apesar das investigações citadas com relação ao futebol e os polimorfismos do ACTN3 e ACE I/D, até onde se sabe, não se estudou o efeito combinado destes polimorfismos em indicadores de *performance* em atletas de alto nível do futebol.

Evidentemente, o perfil poligênico ótimo depende de uma combinação de vários genes. Contudo, o presente estudo pretende contribuir com o

entendimento do tema ao analisar conjuntamente o possível efeito de duas variantes genéticas que têm se mostrado importantes na determinação do fenótipo de *performance* física. Estes achados podem auxiliar profissionais do futebol na prescrição das cargas de treinamento de forma individualizada, uma vez que a resposta ao treinamento e recuperação parecem ser influenciados pelo perfil genético.

Portanto, levanta-se a seguinte questão problema: existe influência do polimorfismo da *ACTN3* e *ACE I/D* em indicadores de *performance* de atletas profissionais de futebol?

## 1.1 Objetivos

### 1.1.1 Objetivo Geral

Analisar a Influência do polimorfismo do *ACTN3* e *ACE I/D* em indicadores de *performance* física em atletas profissionais de futebol

### 1.1.2 Objetivos Específicos

Avaliar a frequência genotípica e alélica dos polimorfismos do *ACTN3* e *ACE I/D* em atletas profissionais de futebol

Comparar indicadores de *performance* física em atletas profissionais de futebol de acordo com a distribuição dos genótipos do *ACTN3* e *ACE I/D*



## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Demandas Fisiológicas do Futebol

O futebol de acordo com a FIFA é o esporte mais popular no mundo, sendo praticado de maneira oficial em 208 países com mais de 200 milhões de jogadores em atividade (FIFA, 2011). Não por acaso a existência de diversas pesquisas associadas à *performance* na modalidade também torna-se bastante presente na literatura em virtude da abrangência de informações decorrentes de partidas oficiais de futebol.

As pesquisas têm demonstrado que apesar do futebol ser praticado em dois tempos de 45 minutos que representaria em teoria uma condição de predominância de resistência aos atletas durante as partidas, as ações dos atletas dentro dos gramados ocorrem de maneira intermitente, com variações de atividades musculares de alta intensidade e curta duração (RIENZI *et al.*, 2000), com aproximadamente 1200 atividades de mudanças de direção a cada 3-5 segundos envolvendo 30-40 corridas em alta intensidade (MOHR *et al.*, 2003), perfazendo uma distância total entre 10 e 13km (BANGSBO *et al.*, 2006), sendo que 2 a 3km em corridas acima de 15 km.h<sup>-1</sup> e aproximadamente 0,6 km em corridas acima de 20 km.h<sup>-1</sup> (DI SALVO *et al.*, 2009).

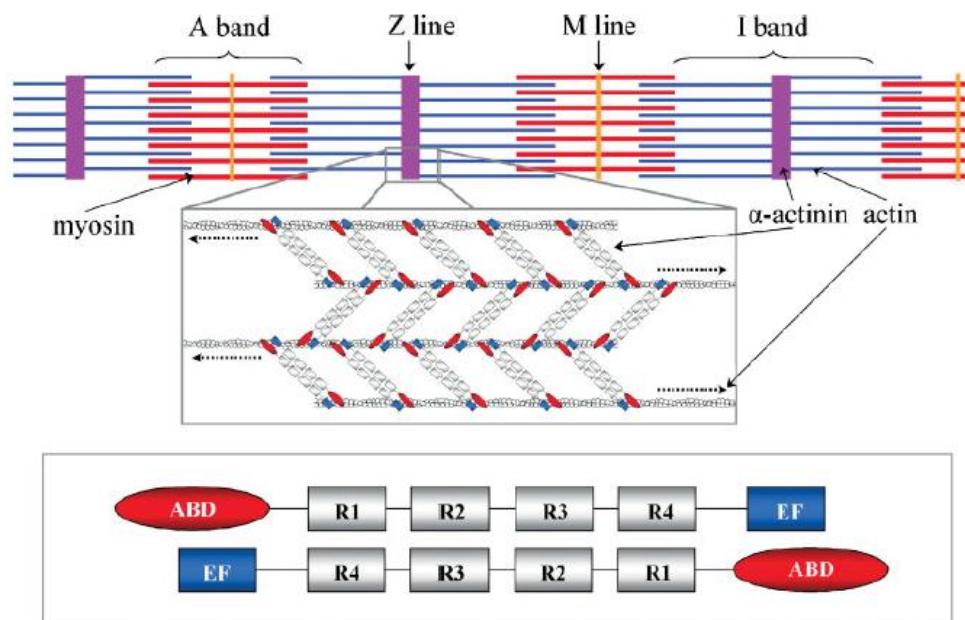
Estas exigências do ponto de vista física aos atletas durante as partidas são confirmadas por variações em parâmetros fisiológicos de atletas monitoradas nas pesquisas por meio de alterações da frequência cardíaca (FC), concentrações de lactato sanguíneo ([Lac]) e status de desidratação (KRUSTRUP *et al.*, 2006; CASTAGNA *et al.*, 2007).

Assim as exigências fisiológicas de uma partida oficial de futebol demandam dos atletas um alto nível de preparação física e também de recuperação fisiológica após as partidas, sendo confirmadas tais exigências por meio do extravasamento de marcadores de microtraumas musculares [CK e LDH] e marcadores de processos inflamatórios [Proteína C-reativa e Leucócitos] monitorados por diversos períodos após os jogos (SPIRLIDIS *et al.*, 2008).

## 2.2 $\alpha$ -actininas

O sarcômero é a menor estrutura funcional do músculo e é composta por um conjunto de proteínas, as quais formam o aparato contrátil. As principais proteínas do aparato contrátil estão dispostas em dois filamentos: 1) o filamento de actina, composto por actina e pelas proteínas regulatórias troponina e tropomiosina e, 2) o filamento de miosina, composto principalmente por moléculas de miosina. Os filamentos finos são ancorados em estruturas denominadas linhas Z (bandas Z, discos Z), as quais delimitam o início e fim de cada sarcômero, que unidos formam uma estrutura maior, a miofibrila.

Dentro da linha Z filamentos antiparalelos de actina são ligados por uma estrutura formada principalmente pela  $\alpha$ -actinina, além de outros componentes proteicos (SQUIRE, 1997). As  $\alpha$ -actininas contêm um domínio de ligação de actina (ABD, do inglês *actin-binding domain*) que compreendem dois domínios homólogos à calponina (CH, *Calponin homolog domain*), uma haste central composta de 4 *spectrin-like repeats* (SLRs) e uma região C-terminal similar à calmodulina, a qual contém dois sítios de ligação *EF-hand* (Figura 1) (MACARTHUR e NORTH, 2004).



**Figura 1** - A estrutura do sarcômero (MACARTHUR e NORTH, 2004)

Em humanos, duas isoformas de  $\alpha$ -actinas são encontradas no músculo esquelético ( $\alpha$ -actina 2 e  $\alpha$ -actina 3), as quais são codificadas respectivamente pelos genes ACTN2 (cromossomo 1q42-q43) e ACTN3 (cromossomo 11q13-q14) (BEGGS *et al.*, 1992).

A  $\alpha$ -actina 2 é encontrada no músculo cardíaco, músculo esquelético e cérebro, enquanto a  $\alpha$ -actina 3 é encontrada quase exclusivamente no músculo esquelético e, em níveis muito pequenos, no cérebro (MILLS *et al.*, 2001). Além disso, a expressão dessas proteínas difere com relação ao tipo de fibra muscular. Sendo que a  $\alpha$ -actina 2 é encontrada em todos tipos de fibras, enquanto a  $\alpha$ -actina 3 somente na fibras de contração rápida (fibras do tipo II) (NORTH *et al.*, 1999).

### 2.3 Deficiência da $\alpha$ -actinina3

Em 1999 foi identificada pela primeira vez uma variação genética no gene ACTN3 que resulta em transversão (citosina - timina) na posição 1747 no exon 16, convertendo um resíduo da arginina (R) para um *stop codon* (X) no aminoácido 577 (R577X) (NORTH *et al.*, 1999). Esta variação cria duas versões (ou alelos) diferentes do gene ACTN3, a 577R a qual é a versão funcional (selvagem) e o alelo 577X (mutante) que contém a alteração, que transcreve uma versão não funcional da proteína  $\alpha$ -actinina3.

Já que todo ser humano herda duas cópias do gene (uma materna e outra paterna) existem 3 possíveis combinações, ou genótipos (RR, RX ou XX), sendo que a variante XX resulta em completa deficiência na produção de  $\alpha$ -actina 3 no músculo esquelético (MACARTHUR e NORTH, 2011). Aproximadamente 18% da população europeia é homozigota para o alelo X, estimando-se mais de 1 bilhão de pessoas no mundo (MILLS *et al.*, 2001). Apesar da mutação, a ausência da  $\alpha$ -actinina 3 parece não resultar em quadro patológico, provavelmente por sua deficiência ser, pelo menos em parte, compensada pela  $\alpha$ -actinina 2. Contudo, o padrão especializado de expressão e a forte conservação da sequência nos últimos 300 milhões de anos sugere que esta proteína possua funções nas fibras de contração rápida que podem não ser totalmente compensadas pela  $\alpha$ -actinina 2 (MACARTHUR e NORTH, 2011). Portanto, sugeriu-se que a ausência da  $\alpha$ -actinina 3 poderia influenciar

nas propriedades funcionais do músculo e, conseqüentemente, na *performance* física.

Além de seu papel estrutural, as  $\alpha$ -actinas parecem exercer um importante papel em processos metabólicos e de sinalização intracelular (MACARTHUR e NORTH, 2004).

## 2.4 ACTN3 e *performance* física

### 2.4.1 Estudos de associação

Estudos de associação caso-controle têm demonstrado evidência da possível influência do genótipo do ACTN3 com fenótipos relacionados à *performance* atlética. Para testar a hipótese que, devido à localização da  $\alpha$ -actinina 3 nas fibras de contração rápida, sua deficiência poderia reduzir a *performance* em eventos de força/potência. Yanget *al.*(2003) avaliaram a frequência dos genótipos em atletas de força/potência e demonstraram uma frequência significativamente menor do genótipo XX (6%) quando comparados ao grupo controle (18%)e, dos atletas de nível olímpico, nenhum apresentou o genótipo XX. No entanto os atletas de *endurance* apresentaram uma frequência maior do genótipo XX, apesar de significativa apenas nas mulheres. Na tentativa de responder a pergunta sobre a associação entre variação do ACTN3 com a *performance* atlética diversos estudos foram realizados.

Niemi e Majamaa (2005) encontraram resultados similares ao avaliar atletas de elite de velocidade e *endurance*. Os autores observaram redução marcante na frequência do genótipo XX nos velocistas e aumento (não significativo) em atletas de *endurance*.

Em atletas gregos de potência e *endurance*, foi observado que, quando comparados ao grupo controle os sprinters apresentaram menor frequência do genótipo XX e maior frequência do RR e, uma tendência (não significativo) de maior frequência do genótipo XX no grupo de *endurance*(PAPADIMITRIOU *et al.*, 2008b).

Ainda, em um estudo com atletas de potência russos(DRUZHEVSKAYA *et al.*, 2008) a frequência do gene XX foi significativamente menor ao se comparar aos controles e ainda, os autores demonstraram que a frequência foi menor quanto maior o nível de competitividade.

Em outro estudo com atletas de potência poloneses foi demonstrada frequência significativamente maior do genótipo RR (44,94%) quando comparados com o grupo controle (35,04%) (CIEŚZCZYK *et al.*, 2011).

A primeira investigação com atletas de futebol foi realizada por Santiago *et al.*(2008). Foram estudados 60 atletas de elite da 1ª, 2ª e 3ª divisão do futebol espanhol e comparados com atletas de *endurance* e um grupo controle. A distribuição dos genótipos RR e RX (48,3% e 36,7%) foram significativamente maiores e menores, respectivamente, que o grupo controle (28,5% e 53,7%) e atletas de *endurance* (26,5% e 52,0%). Na mesma a mostra os autores encontraram uma frequência de 15% no genótipo XX.

No Brasil, Coelho(2011) determinou a frequência genotípica do ACTN3 em atletas de futebol de várias categorias. Foi observado aumento da frequência do genótipo RX e redução do XX em categorias de atletas com maior idade, sendo que nos profissionais apenas 5% se apresentaram homozigotos para o alelo X. O autor sugere que à medida que os atletas ascendem nas categorias possa ocorrer uma seleção natural.

Juntos os resultados dos estudos citados demonstram uma associação negativa entre o alelo X e a *performance* em força/potência. Contudo, a relação com a *performance* de *endurance* parece ser menos clara.

#### 2.4.2 ACTN3 e indicadores de *performance*

Alguns autores analisaram a possível influência do genótipo do ACTN3 em fenótipos musculares em atletas e não atletas. Vincent *et al.*(2007) avaliaram homens entre 18 e 29 anos e encontraram proporções das fibras do tipo II/x significativamente maiores no genótipo RR quando comparado ao XX. No mesmo estudo os autores observaram pico de torque à 300º/s significativamente maior no grupo RR. Já Walsh *et al.*(2008) analisaram a massa corporal magra e pico de torque em 848 adultos entre 22 e 90 anos. Foi verificado que as mulheres homozigotas para o alelo X apresentaram menor

massa corporal magra total e de membros inferiores e menor pico de torque nas fases excêntrica e concêntrica à 30°/s e 180°/s quando comparadas com os genótipos RX e RR. Interessantemente nenhuma diferença significativa foi encontrada nos sujeitos do sexo masculino.

Em outro estudo foi analisada a associação entre o polimorfismo do ACTN3 e indicadores de composição corporal e *performance*(preensão manual, salto vertical, velocidade de 40m, agilidade, potência aeróbia) em adolescentes de ambos os sexos (MORAN *et al.*, 2007). A única diferença significativa encontrada foi na velocidade de 40m no sexo masculino, onde os indivíduos RR apresentaram valores maiores quando comparados aos outros genótipos.

Por outro lado, muitas pesquisas não conseguiram demonstrar possíveis efeitos do polimorfismo do ACTN3 em indicadores tanto de força/potência como *endurance*.

Em um estudo realizado com homens e mulheres moderadamente treinados Norman *et al.*(2009) não observaram diferenças significativas nos parâmetros do teste de Wingate (potência máxima, índice de fadiga) e pico de torque máximo em dinamômetro isocinético. Hanson *et al.*(2010) em um estudo similar também não encontraram diferenças significativas no teste de Wingate e avaliação isocinética em 57 homens e mulheres jovens recreacionalmente treinados.

Ainda, em outro estudo, avaliando um grupo de homens e mulheres jovens não atletas, não houve diferença entre os genótipos em salto vertical (squat jump e salto com contra movimento) e velocidade (30m parado e lançado), mesmo após ajuste por sexo, idade, peso e estatura (SANTIAGO *et al.*, 2010). O mesmo grupo de pesquisadores avaliou indicadores de força explosiva de membros inferiores (squat jump e salto com contra movimento) em jogadores de elite de volleyball de ambos os sexos e, mais uma vez, não se encontraram diferenças entre os genótipos (RUIZ *et al.*, 2011).

Em um estudo relacionado com a *performance* de *endurance* Lucia *et al.*(2006) compararam o consumo máximo de oxigênio ( $VO_{2máx}$ ) de ciclistas e corredores de elite e não observaram diferenças nos genótipos do ACTN3.

Para avaliar a possível influência do genótipo da ACTN3 no sistema oxidativo Vincent *et al.*(2012) analisaram a atividade das citocromo c oxidase e

sucinato desidrogenase, e não observaram qualquer diferença entre os grupos RR e XX. A amostra deste estudo foi formada por indivíduos de diferentes níveis de atividade física, porém igualmente distribuídos entre os grupos.

#### 2.4.3 ACTN3 e resposta ao treinamento

Uma questão importante que surge é se o polimorfismo do ACTN3 influencia a resposta ao treinamento crônico. Contudo poucos estudos, até o momento, determinaram tal relação.

A primeira investigação neste sentido foi realizada por Clarkson *et al.* (2005). Os pesquisadores submeteram homens e mulheres com idades entre 18 e 40 anos a um treinamento contra resistência de 12 semanas. Não houve nenhuma diferença significativa entre os genótipos nos homens tanto nos valores iniciais quanto nos ganhos com o treinamento, contudo, as mulheres homozigotas para o alelo X apresentaram menores valores de força no início do treinamento e, surpreendentemente, os maiores ganhos de força quando comparadas com os genótipos RR e RX. Os autores argumentaram que a ausência da  $\alpha$ -actinina-3 pode prejudicar a integridade estrutural do sarcômero tornando-os mais suscetíveis ao dano (fato demonstrado por outros estudos) e conseqüentemente melhorando a resposta adaptativa do músculo, já que o dano muscular é visto como um importante estímulo para o remodelamento muscular. Na mesma linha, Gentil *et al.* (2011b) avaliaram o efeito de 11 semanas de treinamento de força em homens jovens e não observaram diferenças entre os genótipos nos valores iniciais e nem nos ganhos de força após o período de treinamento. Contudo foi observado que somente os portadores do alelo R aumentaram significativamente a espessura muscular avaliada por ultrassom.

Delmonico *et al.* (2007) demonstraram, em seu estudo com idosos, diferenças significativas na potência pico absoluta em homens e na potência pico relativa em mulheres após 10 semanas de treinamento de força (extensão de joelho) com, em ambos os casos, os maiores aumentos atribuídos aos indivíduos RR. Importante citar que nas mulheres houve diferença significativa nos valores iniciais, com o genótipo XX expressando valores maiores quando comparado ao RR. Os resultados vão contra os citados por Clarkson *et*

*al.*(2005) onde os maiores ganhos ocorreram no grupo XX. Segundo *Gentile et al.* (2011b) uma possível explicação é que em ambos os estudos, na amostra de mulheres, os maiores ganhos ocorreram no grupo com menor valor inicial, o que explicaria as diferenças, ao invés da variação genética.

De uma forma geral, as evidências da influência da variação do ACTN3 na resposta ao treinamento parecem ser fracas, indo contra as observações que o genótipo XX é menos frequente em modalidades de força e potência. Uma possível explicação é que em não atletas, as diferenças atribuídas ao polimorfismo não são relevantes, especialmente em jovens, mas significativas em atletas de elite (*GENTIL et al.*, 2011b).

## 2.5 Sistema Renina-Angiotensina (SRA)

O sistema renina-angiotensina endócrino desempenha um papel importante na homeostase circulatória, exercendo controle sobre a pressão arterial a longo prazo.

A renina é secretada pelas células justaglomerulares renais em situações de redução de volume e sais no plasma, ou ativação simpática (*WOODS et al.*, 2000). A renina então cliva o angiotensinogênio (sintetizado no fígado), convertendo em um peptídeo com 10 aminoácidos, conhecido como angiotensina I, com ação levemente vasoconstritora. A angiotensina I é então convertida em um peptídeo com 8 aminoácidos, a angiotensina II pela ação da enzima conversora da angiotensina (ECA) (*PUTHUCHEARY et al.*, 2011). A angiotensina II por sua vez, possui propriedades vasodilatadoras potentes e ainda, atua na retenção de sódio e água pelos rins, via secreção da aldosterona, aumentando, dessa forma, a pressão arterial (*JONES et al.*, 2002). Tais ações são mediadas pelo receptor da angiotensina do tipo I (AT<sub>1</sub>R) (*PUTHUCHEARY et al.*, 2011).

Outra ação importante da ECA é a degradação da bradicinina que age nos receptores da bradicinina tipos I e II (BK<sub>1</sub>R e BK<sub>2</sub>R), a qual possui efeitos vasodilatadores. Assim, a ECA simultaneamente gera um potente



vasoconstritor (Angiotensina II) e inativa um potente vasodilatador (bradicinina) (JONES e WOODS, 2003).

Contudo, tem sido relatado que além do SRA endócrino existe também um SRA completo em vários tecidos como coração, fígado, tecido adiposo e músculo esquelético (JONES *et al.*, 2002), os quais são chamados de sistemas renina-angiotensina locais.

## 2.6 O polimorfismo I/D do gene ACE

O gene humano que codifica a ECA (ACE) está localizado no cromossomo 17 (q22-24) e apresenta um polimorfismo que consiste na ausência (deleção, D) ou presença (inserção I) de 287 pares de base no íntron 16 (RIGAT *et al.*, 1990). O alelo D está associado à maior atividade da ECA tanto no plasma, quanto nos tecidos (PUTHUCHEARY *et al.*, 2011), assim, homozigotos para o alelo D (genótipo DD) apresentam maior atividade da ECA quando comparados com os genótipos ID e II.

O polimorfismo I/D do ACE foi a primeira variante genética a ser associada com a *performance* física humana por Montgomery *et al.* (1998) que demonstraram maior e menor frequência dos alelos I e D, respectivamente em montanhistas, quando comparados ao controle e ainda uma maior resposta a um teste de resistência muscular localizada pós-treinamento no genótipo II quando comparados aos outros genótipos (ID e DD). Desde então o polimorfismo do ACE ganhou atenção dos pesquisadores da área da atividade física e do esporte.

## 2.7 Polimorfismo ACE I/D e *performance*

### 2.7.1 Estudos de Associação

Uma possível relação do polimorfismo do ACE com a *performance* física foi avaliada por diversos autores pela comparação entre a distribuição dos

diferentes genótipo em atletas e a população geral (controle). Como já citado, o primeiro estudo a comparar a frequência genotípica com a população controle foi o de Montgomery *et al.* (1998), demonstrando maior frequência do genótipo II em atletas de *endurance* (montanhistas). Os autores ainda citam que, nenhum dos montanhistas que já realizaram escaladas acima de 8000m sem o uso de oxigênio apresentou o genótipo DD.

No mesmo ano, Gayagay *et al.* (1998) demonstraram que atletas de *endurance* (remadores) australianos possuíam um excesso do alelo I ( $p < 0,02$ ) e do genótipo II ( $p = 0,03$ ) quando comparados ao grupo controle.

Outro estudo, onde os atletas foram agrupados por predominância metabólica das distâncias de corrida foi publicado por Myerson *et al.* (1999). Subdividindo os atletas em grupos de  $\leq 200$ m, 400–3,000m e  $\geq 5,000$ m, encontraram uma tendência significativa ( $p = 0,009$ ) de aumento na frequência do alelo I com aumento da distância de corrida, sendo 35%, 53% e 62% para  $\leq 200$ m, de 400–3,000m e  $\geq 5,000$ m, respectivamente, encontrando também diferenças significativas nas distribuições alélicas ( $p = 0,012$ ) e genotípicas ( $p = 0,020$ ).

Por outro lado, dados de diversos autores têm demonstrado associação da prevalência do alelo D com eventos de força/potência.

Woods *et al.* (2001) demonstraram que uma amostra composta por nadadores de elite de europeus de várias distâncias apresentaram um excesso do alelo D quando comparados a grupos controle. A maior frequência do alelo D se manteve quando foram analisados apenas os nadadores de menores distâncias (400 m ou menos), porém o mesmo não ocorreu com as distâncias maiores. Ainda, os autores não encontraram diferença na frequência do alelo D em nadadores americanos que não eram considerados de elite.

Outro estudo interessante foi publicado por Nazarov *et al.* (2001) que dividiram atletas russos das modalidades de Natação, Atletismo, Esqui Cross-Country e Triathlon em grupos de acordo com a duração dos eventos (curta, média e longa) e nível de *performance* (excelentes e médios). Os autores não encontraram diferenças significantes nas frequências genotípicas e alélicas

quando todos os atletas foram agrupados, assim como, para o grupo de atletas excelentes nas frequências genótípicas e alélicas comparadas ao grupo controle. Porém, com a distribuição dos atletas por distância dos eventos, encontraram significativamente ( $p=0,001$ ) maior frequência do alelo D nos atletas excelentes do grupo de curta duração e excesso do alelo I nos atletas de nível excelente do grupo de média duração ( $p=0,032$ ), não sendo diferentes as frequências genótípicas dos atletas de nível excelente de longa duração comparados ao grupo controle.

Especificamente no futebol, Juffer *et al.* (2009) compararam as frequências genótípicas e alélicas entre os jogadores profissionais da Espanha, corredores e grupo controle. Em seus resultados encontraram maior frequência ( $p=0,001$ ) do genótipo ID dos jogadores de futebol em relação aos corredores, e menor frequência do genótipo II dos jogadores de futebol comparativamente aos corredores, não sendo evidenciadas diferenças nas frequências genótípicas e alélicas quando comparadas ao grupo controle.

Diante dos dados de estudos de associação, parece que o alelo D é mais frequente em eventos de força/potência, enquanto o alelo I é mais frequente em eventos de *endurance*. Porém, existem estudos onde não foram encontradas diferenças em relação ao grupo controle (RANKINEN *et al.*, 2000; SCOTT *et al.*, 2005; SCOTT *et al.*, 2010) e ainda, demonstrando resultados controversos aos apresentados, com o alelo D associado a eventos de *endurance* (AMIR *et al.*, 2007).

### 2.7.2 Associação com indicadores de *performance*

Diante da observação que atletas de diferentes características podem exibir diferenças em relação às frequências genótípicas e alélicas do polimorfismo *ACE I/D* alguns autores testaram a hipótese da sua influência em fenótipos de *performance*. Contudo, tal associação ainda não é clara.

Como visto o alelo I vem sendo associado à maior *performance* de *endurance*. Um estudo mostrou, em escaladores (claramente dependentes da

capacidade de *endurance*), que a altitude máxima alcançada foi influenciada pelo alelo I, sendo  $8079 \pm 947$  m para o genótipo DD,  $8107 \pm 653$  m para o ID e  $8559 \pm 565$  m para o II ( $p=0,007$ ) (THOMPSON *et al.*, 2007). Ainda, em outro estudo (THOMPSON *et al.*, 2007) foi demonstrado que em um grupo de 284 escaladores, o sucesso em alcançar o cume do Mont Blanc foi influenciado pelo genótipo ACE I/D (87,7% para DD; 94,9% para ID e 100% para II;  $p=0,048$ ).

Em uma investigação conduzida por Collins *et al.* (2004) envolvendo triatletas de várias nacionalidades e sul-africanos que completaram a competição do Ironman entre 2000 e 2001, os autores não conseguiram evidenciar diferenças nas frequências genótípicas ou nas frequências alélicas dos triatletas sul-africanos comparadas ao grupo controle de sul-africanos. No entanto, quando os autores dividiram os atletas em subgrupos, os mais rápidos a completarem a competição apresentaram significativamente maior frequência do alelo I (51,5%) em relação ao grupo controle de sul-africanos (42,2%).

Em outro estudo foram analisados atletas remadores de ambos os sexos subdividindo por qualificação no ranking e por gênero, encontraram nas mulheres atletas com qualificação de candidatas a alto nível que possuíam o genótipo II maior potência máxima no teste incremental em ergômetro de remo comparativamente as atletas carreadoras do alelo D (ID ou DD). Além disso, nas atletas de alto nível carreadoras do alelo I, foi observada maior contribuição do metabolismo aeróbio no fornecimento de energia durante teste incremental em virtude da menor concentração de lactato imediatamente após a exaustão voluntária no teste, sendo,  $7,7 \pm 2$  mM,  $8,1 \pm 1,1$  mM e  $9,7 \pm 1,3$  mM, para os genótipos II, ID e DD ( $r=0,47$ ;  $p=0,03$ ) (AHMETOV *et al.*, 2008).

Em jovens do sexo masculino moderadamente ativos, Almeida *et al.* (2012) encontraram valores significativamente maiores de  $VO_{2máx}$  no grupo II (54,4 ml/kg/min) quando comparados aos grupos ID (51,9 ml/kg/min) e DD (45,6 ml/kg/min).

Já a relação do alelo D com indicadores de *performance* de força/potência parece ter menos dados na literatura.

Com atletas de futebol, Micheli *et al.* (2011) observaram diferenças significativas ( $p=0,02$ ) para o salto vertical no teste de *squat jump* (SJ) nos atletas portadores do genótipo ID ( $37,4 \pm 4,0$  cm) do que nos genótipos DD ( $33,1 \pm 3,9$  cm) e II ( $30,4 \pm 4,6$  cm), resultados similares foram observados no teste *counter movement jump* (CMJ) ( $p=0,04$ ), com maiores índices de salto vertical nos atletas com genótipo ID ( $38,8 \pm 3,6$  cm), do que nos demais genótipos DD ( $35,9 \pm 4,1$  cm) e II ( $34,7 \pm 1,9$  cm). Não foram evidenciadas diferenças significativas entre os genótipos para os tempos de 20 e 30 metros de corrida e arremesso de *medicine ball* de 2kg.

Juntos, estes dados reforçam a hipótese de que o alelo I está associado com a *performance* em atividades de *endurance*. Porém, mais uma vez, existem dados conflitantes.

Gomez-Gallego *et al.* (2009) compararam o polimorfismo do gene ACE I/D em ciclistas capazes de finalizar uma edição do *Tour de France* incluindo atletas que venceram algumas etapas ou top três finalistas na classificação final da competição. Os autores não encontraram diferenças estatisticamente significativas no  $VO_{2máx}$  genótipos II e DD. Porém, a potência pico relativa do genótipo II ( $7,1 \pm 0,1$  W.kg<sup>-1</sup>) foi significativamente menor que a do genótipo DD ( $7,3 \pm 0,1$  W.kg<sup>-1</sup>). De maneira semelhante para a potência relativa no limiar ventilatório (LV<sub>1</sub>) no grupo II ( $4,3 \pm 0,2$  W.kg<sup>-1</sup>) e DD ( $4,5 \pm 0,1$  W.kg<sup>-1</sup>) com diferença significativa e para a potência relativa ao limiar de compensação respiratória entre os genótipos II ( $5,9 \pm 0,1$  W.kg<sup>-1</sup>) vs DD ( $6,0 \pm 0,1$  W.kg<sup>-1</sup>). Vale ressaltar que embora seja uma modalidade de longa duração, a força/potência é uma característica marcante em atletas de ciclismo, principalmente nos velocistas.

Já no estudo realizado por Tobina *et al.* (2010) associando os genótipos ACE com as melhores *performances* de 37 corredores (>5,000m) japoneses de elite, os autores encontraram que os indivíduos ID e DD obtiveram tendência ( $p=0,053$ ) a maiores velocidades de corrida do que os homozigotos para o alelo I, e quando foram agrupados os atletas pelos genótipos (ID+DD vs II) os atletas com a presença do alelo D possuíam maior velocidade de corrida ( $p=0,023$ ). Neste caso claramente o alelo D foi associado à *performance* de *endurance*.

Outro exemplo de uma associação inversa ao que seria esperado é o estudo de Kim *et al.* (2010). Ao analisar um grupo de atletas coreanos de potência de diversas modalidades e dividindo os mesmos pelo nível de *performance*, observaram redução gradual da frequência do genótipo DD a medida que aumentava o nível de *performance*. Os autores concluíram que os atletas do genótipo DD tinham 3,83 vezes menor probabilidade de sucesso em esportes de potência do que os outros genótipos (II e ID).

Ainda, alguns autores não encontraram nenhuma relação do polimorfismo *ACE I/D* com indicadores de *performance* (SCOTT *et al.*, 2005; DAY *et al.*, 2007; SHENOY *et al.*, 2010).

## 2.8 Relação *ACE I/D* e *performance*: possíveis mecanismos envolvidos

Como visto anteriormente, o alelo D está associado a maior atividade da ECA, aumentando a síntese de angiotensina II e a degradação da bradicinina (JONES *et al.*, 2002).

O aumento da atividade da ECA exerce influência na hipertrofia do músculo cardíaco, uma vez que a angiotensina II age como um agente de crescimento muscular, provavelmente mediado pela atividade de receptores AT<sub>1</sub>R (PUTHUCHEARY *et al.*, 2011). Além disso, a bradicinina age como um inibidor do crescimento muscular cardíaco via receptores BK<sub>2</sub>R (BRULL *et al.*, 2001). Portanto, é de se esperar que o alelo D esteja associado com maior hipertrofia cardíaca em resposta ao treinamento. De fato, foi observada uma associação entre a magnitude da resposta da hipertrofia cardíaca a 10 semanas de treinamento militar e os genótipos *ACE I/D*. O aumento da massa do ventrículo esquerdo foi de 2.0, 38.5 e 42.3g, nos grupos II, ID e DD, respectivamente (MONTGOMERY *et al.*, 1997).

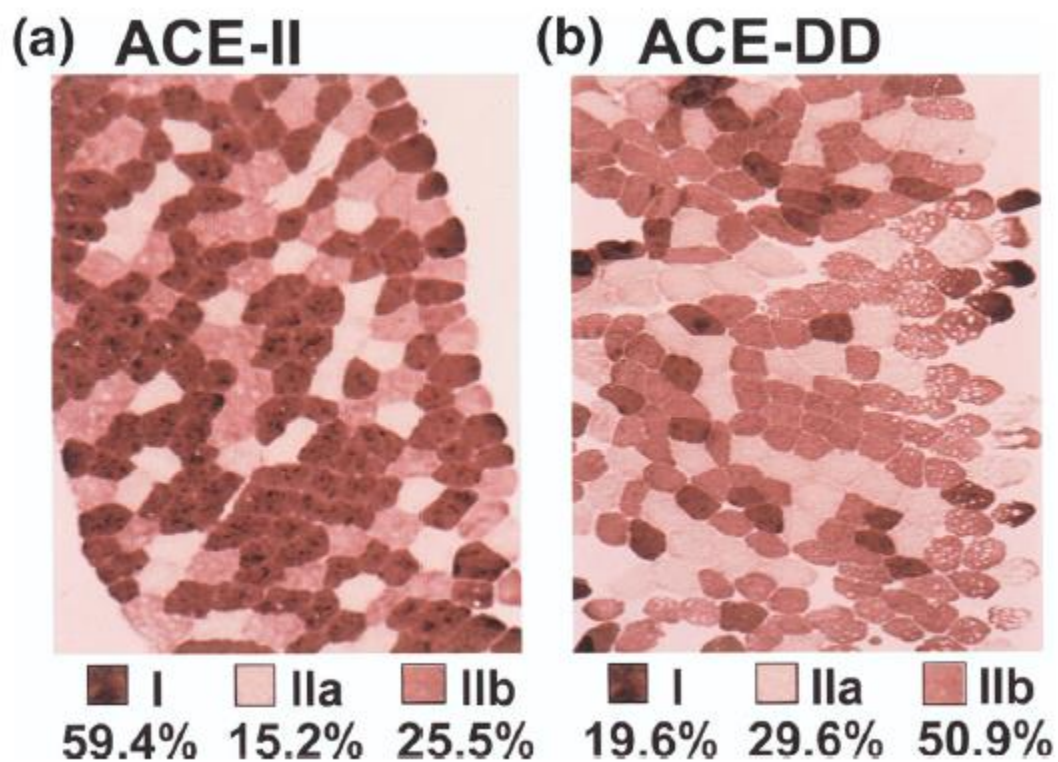
Contudo, como visto, a maioria dos estudos demonstraram a associação do alelo I, ao invés do D, com a *performance* de *endurance*, apesar da menor

resposta de crescimento cardíaco, sugerindo haver outro mecanismo envolvido (PUTHUCHEARY *et al.*, 2011).

O músculo esquelético humano apresenta um sistema renina-angiotensina independente, o qual parece influenciar em determinadas propriedades. Por exemplo, Williams *et al.* (2000) examinaram as alterações da eficiência mecânica (energia utilizada por unidade de potência) e observaram aumento de 8,62% nos indivíduos II e redução de 0,39% para os DD após 11 semanas de treinamento aeróbio. Os autores citam que possivelmente as diferenças podem ser atribuídas a maiores concentrações de óxido nítrico em indivíduos II, melhorando a respiração mitocondrial (a ECA é inibidora da produção de óxido nítrico) e/ou diferenças nas proporções das fibras musculares.

De fato, é possível que o polimorfismo *ACE I/D* influencie de alguma forma na distribuição de fibras musculares. Zhang *et al.* (2003) demonstraram que indivíduos do genótipo II apresentaram uma porcentagem significativamente maior de fibras do tipo I ( $50,1 \pm 13,9\%$  vs  $30,5 \pm 13,3\%$ ) e menor de fibras do tipo IIb ( $16,2 \pm 6,6\%$  vs  $32,7,4\%$ ) quando comparados aos do genótipo DD (Figura 2), o que pode explicar, pelo menos em parte, a associação da *ACE I/D* com a *performance* de *endurance* e força/potência.

Além disso, parece que a angiotensina II esteja envolvida diretamente na hipertrofia muscular esquelética. Gordon *et al.* (2001) demonstraram em ratos submetidos a sobrecarga induzida cirurgicamente que a inibição da produção endógena de angiotensina II via antagonista oral atenuou a hipertrofia dos músculos plantar e sóleo em 57% e 96%, respectivamente. Ainda, a administração de antagonista do receptor  $AT_1$  resultou em 48% de atenuação da hipertrofia. Os autores concluíram que a angiotensina II parece ser necessária para resposta ótima da hipertrofia muscular, agindo via receptores  $AT_1$ .



**Figura 2** - Distribuição de fibras (vasto lateral) de um indivíduo II e um DD(ZHANG *et al.*, 2003)

Além do efeito hipertrófico direto, a angiotensina II pode influenciar outras propriedades musculares como: direcionamento do fluxo sanguíneo para as fibras do tipo II, aumento do consumo de  $O_2$  pelo músculo e aumento da tensão de contração (JONES e WOODS, 2003).



### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 Desenho do Estudo

De acordo com seus objetivos o presente estudo caracteriza-se como *ex post facto* (THOMAS *et al.*, 2007). Os procedimentos de coleta foram divididos em 4 etapas:

1 – No primeiro dia foram explicados aos atletas os objetivos do estudo e a assinatura do TCLE. Na sequência foi realizada a coleta dos dados antropométricos e coleta de sangue.

2 – Vinte e quatro horas depois foi realizado o teste de esforço máximo.

3 – No terceiro dia de coleta, 48 horas depois, foram realizados os teste de impulsão vertical, agilidade e velocidade.

4 – Quarenta e oito horas após foi realizado o teste Yo-Yo IR2.

Foi solicitado aos atletas que não realizassem exercícios vigorosos nos intervalos entre as avaliações.

#### 3.2 Comitê de Ética em Pesquisa

Os procedimentos da pesquisa foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade Dom Bosco através do sistema de registros de pesquisas envolvendo seres humanos CEP/CONEP, em acordo com a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, com parecer favorável de número: 225.747

#### 3.3 Amostra

A amostra foi composta por 40 atletas profissionais de uma equipe da primeira divisão do futebol brasileiro, sendo 20% (n=8) atacantes, 40% (n=16)

meio-campistas, 15% (n=6) zagueiros, 15% (n=6) laterais e 10% (n=4) goleiros. Para a seleção da amostra foi adotado o procedimento de amostragem intencional não probabilística por conveniência.

Os critérios de inclusão utilizados no presente estudo foram: (1) atletas profissionais de futebol do sexo masculino com experiência em treinamento acima de 10 anos, que treinassem com frequência de 6 sessões semanais e registrados pela confederação brasileira de futebol (CBF), (2) caracterizados como aptos pela comissão médica para a realização dos testes físicos, (3) ter dado consentimento por escrito para participação no estudo de acordo com o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (APÊNDICE 1).

Por outro lado, seriam excluídos do estudo os atletas que: (1) desejassem por livre e espontânea vontade absterem-se de realizar qualquer procedimento relacionado à coleta dos dados para a pesquisa e (2) ter sofrido algum tipo de lesão durante os procedimentos de coleta.

### 3.4 Caracterização Antropométrica

Após a assinatura do TCLE todos os atletas que foram submetidos a testes antropométricos de avaliação da massa corporal, estatura e dobras cutâneas.

A estatura e peso corporal dos sujeitos foram mensuradas conforme as recomendações de Gordon *et al.* (1988).

Para a verificação do percentual de gordura foi utilizada a técnica de dobras cutâneas com um compasso da marca Harpenden (British Indicators, England), seguindo as recomendações de Harrison *et al.* (1988).

A densidade corporal foi calculada pelo do protocolo de Jackson e Pollock (1978) de 7 dobras, pela equação:  $Dc = 1,1120 - 0,00043499 * (X1) + 0,00000055 * (X1)^2 - 0,00028826 * (X2)$ , onde X1=somatório das dobras peitoral, axilar, tríceps, subescapular, abdominal, supra-ilíaca e coxa; e X2= idade em anos.

O percentual de gordura (%G) foi calculado através da seguinte equação (SIRI, 1961):  $\%G = (495/Dc) - 450$

### 3.5 Avaliações do desempenho físico

#### 3.5.1 Teste progressivo em esteira

Para a avaliação do  $VO_{2m\acute{a}x}$  e Limiar Ventilatório foi utilizado um sistema de circuito aberto para análise de gases (True Max 2400, Parvo Medics, Salt Lake City, UT). Antes de cada teste o equipamento foi calibrado com uma seringa de 3 litros para o analisador de fluxo e com gás padrão (16% de  $O_2$  e 4% de  $CO_2$ ) para os analisadores de  $O_2$  e  $CO_2$ .

O teste foi realizado em esteira (Cybex790T, Medway, USA) e iniciou com velocidade de 8 km/h com inclinação de 1%, aumentando em 1 km/h a cada minuto até a exaustão para se determinar o  $VO_{2m\acute{a}x}$  (Tabela 1).

**Tabela 1-** Protocolo do teste progressivo em esteira

| Tempo do estágio<br>(min) | Velocidade<br>(km/h) | Inclinação<br>(%) |
|---------------------------|----------------------|-------------------|
| 1:00                      | 8,0                  | 1,0               |
| 1:00                      | 9,0                  | 1,0               |
| 1:00                      | 10,0                 | 1,0               |
| 1:00                      | 11,0                 | 1,0               |
| 1:00                      | 12,0                 | 1,0               |
| 1:00                      | 13,0                 | 1,0               |
| 1:00                      | 14,0                 | 1,0               |
| 1:00                      | 15,0                 | 1,0               |
| 1:00                      | 16,0                 | 1,0               |
| 1:00                      | 17,0                 | 1,0               |
| 1:00                      | 18,0                 | 1,0               |
| 1:00                      | 19,0                 | 1,0               |
| 1:00                      | 20,0                 | 1,0               |

Para se avaliar o consumo máximo de oxigênio foram utilizados os critérios propostos por Howley *et al.* (1995): quociente respiratório maior que 1,0, atingir valores iguais ou superiores a 90%  $FC_{m\acute{a}x}$  predita (220-idade) e aumento de  $VO_2$  não superior a 150 ml entre as últimas mensurações. Simultaneamente foi mensurada a frequência cardíaca de cada participante durante todo o teste com um frequencímetro (Polar Electro Oy, RS800, Kempele, Finlândia).

O Limiar Ventilatório foi identificado no momento em que ocorreu um aumento na relação  $VE/VO_2$ , acompanhado por um aumento da fração expirada de oxigênio ( $F_{EO_2}$ ). Para a análise de dados foi determinada a velocidade ( $V_{lim}$ ) e frequência cardíaca ( $FC_{lim}$ ) de ocorrência do Limiar Ventilatório.

### 3.5.2 Impulsão Vertical

O teste de impulsão vertical com contra movimento livre (CMJ) foi desenvolvido com o auxílio de uma plataforma de saltos (Jump System Fit<sup>®</sup>, CEFISE, Nova Odessa, Brasil) com um tapete de contato de área útil de 500mm x 500mm, sendo que variáveis como tempo de contato, tempo de vôo, e altura atingida foram registrados através do software Jump System 1.0 (CEFISE, Nova Odessa, Brasil).

O protocolo utilizado consistiu em executar uma sequência de três saltos com intervalo de 2:30 minutos entre os saltos conforme protocolo descrito para jogadores (WISLOFF *et al.*, 2004; PASQUARELLI *et al.*, 2010), sendo que altura (cm) foi registrada, e somente considerado o maior valor para análises dos dados.

### 3.5.3 Velocidade de Deslocamento de 10m e 30m

Para verificar a capacidade de velocidade de deslocamento, foi aplicado o teste de velocidade de 30m de início parado no mesmo local de treinamento dos atletas (SANTIAGO *et al.*, 2010).

Dentro de um percurso de 30m foram colocados três aparelhos (0m, 10m e 30m) de fotocélulas com precisão de 0,001s, de sistema start-stop automático de tempo, ajustados para a altura do quadril de cada participante.

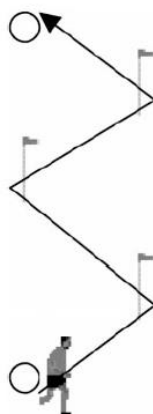
O início do teste ocorreu por livre intensão do atleta que estava posicionado 30 cm atrás da primeira fotocélula a fim de evitar acionamento prematuro do cronômetro.

Durante todo o trajeto do percurso (30m) foram proferidos incentivos verbais como estímulo ao executante a fim de que o mesmo não desacelerasse durante todo o percurso de *sprint* e desenvolvesse toda sua capacidade de deslocamento da maneira mais rápida possível.

Foram realizados dois sprints com um intervalo de cinco minutos de repouso passivo, sendo o menor tempo individual aos 10m e 30m de cada atleta registrado para análise dos dados(WISLOFF *et al.*, 2004).

#### 3.5.4 Teste de Agilidade

O teste de agilidade específico para o futebol foi desenvolvido de acordo com as descrições de Little e Williams(2005). O teste foi realizado em um percurso de 20 metros com mudança de direção a cada 5 metros em demarcações específicas (Figura 3).



**Figura 3** - Teste de ziguezague de 20m(LITTLE e WILLIAMS, 2005)

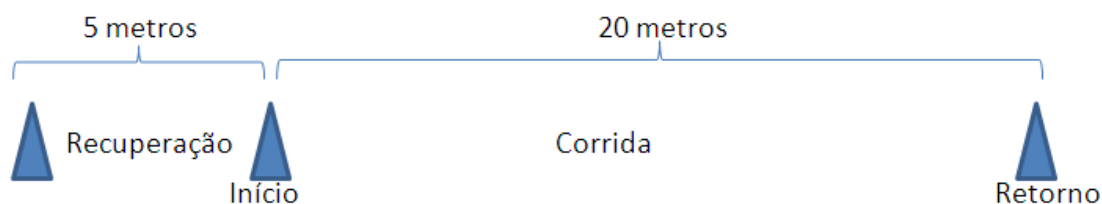
Os atletas saíram em *sprint* de alta velocidade em deslocamento com mudanças de direção em ângulos de 100°. Foram executados 2 testes com 2:30 minutos de intervalo entre cada tentativa, sendo o menor tempo executado durante o teste por cada atleta a variável utilizada do teste.

#### 3.5.5 Yo-YoIntermitent Recovery Test II (Yo-YoIR2)

Na sequência os atletas foram submetidos a um teste específico para esportes intermitentes comumente utilizado no futebol (SHARP, 2008).

Este teste tem por finalidade avaliar a capacidade dos atletas de recuperação após exercício intenso. O teste consiste em correr em intensidades programadas por tempos específicos marcados por bips sonoros.

Os atletas percorreram um percurso de vinte metros em sistema de ida e volta (20+20m) totalizando para cada corrida 40 metros percorridos, entre cada corrida houve uma pausa de 10s para recuperação ativa dentro de um espaço determinado de 5 metros (Figura 4).



**Figura 4** - Exemplo de determinação do espaço físico destinado ao teste de YO-YO intermittent recovery test 2 (BANGSBO *et al.*, 2008).

O teste foi iniciado com velocidade de corrida de  $13\text{km}\cdot\text{h}^{-1}$  (11s para percorrer 20 + 20 metros) com velocidades crescentes controladas por estímulo sonoro. O teste foi encerrado com a exaustão voluntária ou se o atleta não conseguisse acompanhar o sinal nas linhas limítrofes do teste. Durante todo o teste foram oferecidos vigorosos estímulos verbais. Para efeito de análise foi utilizada a distância total percorrida.

### 3.6 Coleta sanguínea

A coleta do sangue dos atletas foi feita por coletador treinado a partir do sangue periférico venoso com auxílio de agulha para coletas múltiplas. A coleta foi realizada à vácuo em tubos com EDTA de 4 mL (BD Vacutainer®). Os tubos

foram então armazenados sob refrigeração (2 a 8 °C) por no máximo 7 dias até a ocasião da extração do DNA.

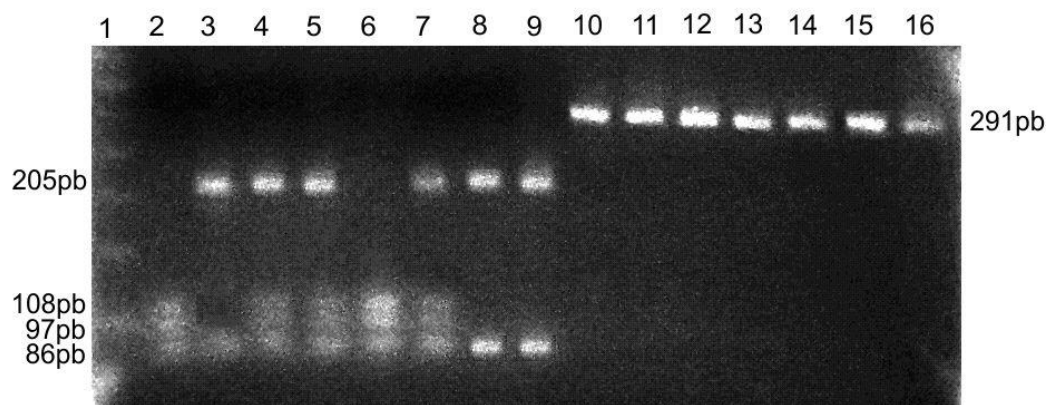
### 3.7 Extração do DNA genômico dos atletas

A extração do DNA genômico dos atletas foi feita a partir dos leucócitos do sangue periférico pela técnica de *salting out* com auxílio do kit BioPur Spin 50 (Biometrix, Curitiba) segundo instruções do fabricante.

### 3.8 Genotipagem do polimorfismo R577X no gene *ACTN3*

A genotipagem do polimorfismo R577X do gene *ACTN3* foi realizada pela técnica RFLP-PCR (Reação em Cadeia da Polimerase associada ao Polimorfismo dos comprimentos dos fragmentos de restrição). Os atletas foram divididos em grupos de mesmo genótipo: RR, RX e XX. O éxon 15 do gene *ACTN3*, onde se encontra o polimorfismo, foi amplificado utilizando os seguintes iniciadores: direto 5'-CTGTTGCCTGTGGTAAGTGGG-3' e reverso 5'-TGGTCACAGTATGCAGGAGGG-3', ancorados nas sequências intrônicas adjacentes (MILLS *et al.*, 2001). O sistema reacional teve um volume total de 25 µL, sendo composto por 1x Tampão para Taq, 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0,2 mM de dNTP, 1,0 µM de cada iniciador, 1 unidade de Taq DNA polimerase e 100 ng de DNA genômico como molde. O programa de amplificação foi composto dos seguintes passos: 95°C por 5 minutos de desnaturação inicial e liberação da enzima, seguida de 30 ciclos de desnaturação a 94°C por 30 segundos, anelamento a 58°C por 30 segundos, extensão a 72°C por 30 segundos. Terminados os 30 ciclos, houve 5 minutos de extensão final a 72°C. Após a amplificação, 10 µL do produto da PCR foram digeridos por 10 unidades da enzima Ddel por 4 horas em Banho-Maia a 37°C. Os alelos R ou X (códon CGA e TGA) foram distinguidos pela presença (577X) ou ausência (577R) do sítio de restrição da enzima Ddel (5'-C↓TNA G-3') (MILLS *et al.*, 2001). Os

fragmentos de restrição foram separados por eletroforese em gel de agarose a 3% e revelados com brometo de etídeo a 5 µg/mL. O alelo *ACTN3* 577R gera fragmentos de 205 e 86 pares de bases (pb), enquanto o alelo *ACTN3* 577X gera fragmentos de 108, 97 e 86 pb (YANG *et al.*, 2003) (Figura 5).



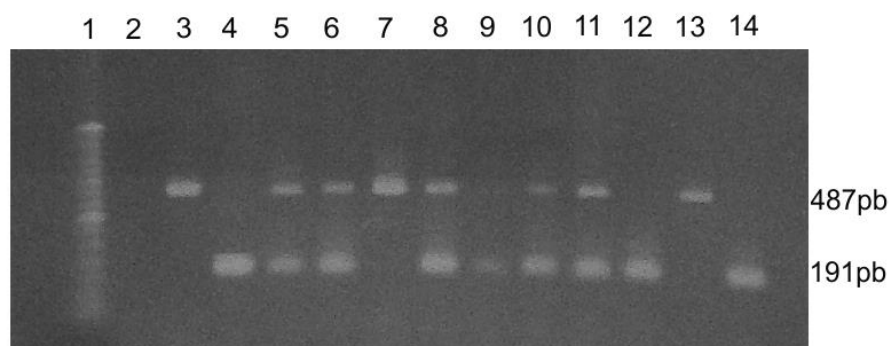
**Figura 5** - Determinação visual de análise de eletroforese em gel de agarose para caracterização dos genótipos *ACTN3*. Poço 1 – Ladder de 50pb; poços 2 e 6 – genótipo XX; poços 4, 5 e 7 – genótipo RX; poços 3, 8 e 9 genótipo RR e poços 10 a 16 produtos de PCR sem digestão.

### 3.9 Genotipagem do polimorfismo I/D do íntron 16 do gene *ACE*

A genotipagem do polimorfismo I/D do gene *ACE* foi realizada pela técnica de PCR (Reação em Cadeia da Polimerase). Os atletas foram divididos em grupos de mesmo genótipo: D/D, I/D e I/I. O polimorfismo I/D do gene *ACE* consiste na ausência (deleção ou alelo “D”) ou presença (inserção ou alelo “I”) de 287 pares de base no íntron 16. Dessa forma, parte do íntron 16 foi amplificada utilizando os seguintes iniciadores: direto 5'-CTGGAGAGCCACTCCCATCCTTTCT-3' e reverso 5'-GATGTGGCCATCACATTCGTCAGAT-3' (RIGAT *et al.*, 1992). O sistema reacional teve um volume total de 25 µL, sendo composto por 1X Tampão para Taq, 3,0 mM MgCl<sub>2</sub>, 0,2 mM de dNTP, 1,0 µM de cada iniciador, 5% de dimetilsulfóxido (DMSO), 1 unidade de Taq DNA polimerase e 100 ng de DNA genômico como molde. O programa de amplificação foi composto dos seguintes



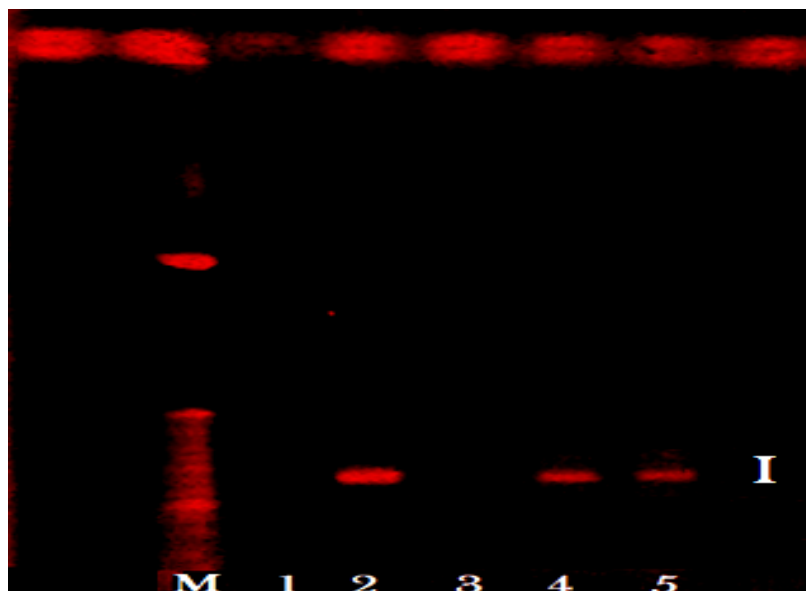
passos: 95°C por 5 minutos de desnaturação inicial e liberação da enzima, seguida de 30 ciclos de desnaturação a 94°C por 30 segundos, anelamento a 57°C por 1 minuto, extensão a 72°C por 1 minuto. Terminados os 30 ciclos, houve 5 minutos de extensão final a 72°C. Os amplicons foram separados por eletroforese em gel de agarose a 1% e revelados com brometo de etídeo a 5 µg/mL. O alelo D do gene *ACE* gera um amplicon de 191 pares de bases, enquanto o alelo I gera um amplicon de 478 pares de base, contendo a inserção de 287 pb (Figura 6).



**Figura 6** - Determinação visual de análise de eletroforese em gel de agarose para caracterização dos genótipos ACE I/D. Poço 1 – Ladder de 50pb; poço 2 – controle negativo; poços 3, 7 e 13 – genótipo II; poços 4, 9, 12 e 14 – genótipo DD e poços 5, 6, 8, 10 e 11 – genótipo ID.

De acordo com a literatura, a classificação errônea de heterozigotos D/I como sendo homozigotos D/D pode ocorrer devido à amplificação preferencial do alelo D e ineficiência de amplificação do alelo I (SHANMUGAM *et al.*, 1993). Portanto, para aumentar a especificidade da genotipagem, as amostras que apresentarem genótipo D/D foram reavaliadas por uma nova PCR utilizando um iniciador direto específico para a inserção: 5'-TTTGAGACGGAGTCTCGCTC -3' (SHANMUGAM *et al.*, 1993) e o iniciador reverso 5'-GATGTGGCCATCACATTTCGTCAGAT-3'. A reação adicional (específica para a inserção) teve as mesmas concentrações dos reagentes da primeira PCR. O programa de amplificação foi: 95°C por 5 minutos de desnaturação inicial e liberação da enzima, seguida de 35 ciclos de

desnaturação a 94°C por 30 segundos, anelamento a 56°C por 1 minuto, extensão a 72°C por 1 minuto. Terminados os 35 ciclos, houve 5 minutos de extensão final a 72°C. Os resultados foram visualizados após eletroforese em gel de agarose a 1% e revelados com brometo de etídeo a 5 µg/mL. O aparecimento de uma banda de 408 pares de base é indicativo da presença do alelo I, ou seja, as amostras anteriormente genotipadas como D/D passaram a ser classificadas como I/D (Figura 7). Amostras classificadas como I/D ou I/I na primeira reação foram utilizadas como controle positivo da reação específica para a inserção.



**Figura 7** - Determinação visual da segunda reação em cadeia da polimerase (PCR) utilizando primer de inserção específico ao alelo I. M para marcador de peso molecular, poço 1: controle negativo, poços 2, 4 e 5: genótipo ID e poço 3: genótipo DD.

Das 23 amostras genotipadas como D/D inicialmente 11 (47,8%) foram classificadas como I/D após a segunda PCR.

### 3.10 Análise Estatística

A análise estatística foi desenvolvida por meio de estatística descritiva composta por média, desvio padrão, valores mínimos e máximos, seguida por teste de normalidade de Shapiro-Wilks.

Para comparar as frequências dos genótipos com outros estudos publicados foi realizado o teste de Qui-quadrado de *Pearson*, quando o n de incidência de algum genótipo foi menor que 5 foi usado o teste exato de Fisher. As associações entre as frequências dos alelos foram verificadas através de tabelas de contingência 2X2 analisadas pelo teste de Qui-quadrado com correção de *Yates*.

Para comparar os indicadores de *performance* de acordo com os genótipos foram utilizados os testes Mann-Whitney para as comparações pareadas e Kruskal-Wallis para as comparações múltiplas.

Todas as análises foram realizadas no software SPSS 20.0, com exceção do equilíbrio de Hardy-Weinberg que foi calculado no software Bioestat 5.3. Foi considerado o nível de significância de  $p \leq 0,05$ .

#### **4 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

O estudo teve como objetivo analisar a Influência do polimorfismo do *ACTN3* e *ACE I/D* em indicadores de performance física em atletas profissionais de futebol. Assim, neste capítulo são apresentados os resultados e discussão dos dados.

As características descritivas da amostra são mostradas na tabela 2.

**Tabela 2** -Características descritivas da amostra (n=40)

|                                | <b>Média</b> | <b>DP</b> | <b>Mínimo</b> | <b>Máximo</b> |
|--------------------------------|--------------|-----------|---------------|---------------|
| Idade, anos                    | 24,57        | 4,35      | 19,75         | 35,76         |
| Peso, Kg                       | 77,17        | 8,06      | 61,50         | 97,00         |
| Estatura, cm                   | 179,15       | 7,49      | 165,00        | 194,00        |
| %G                             | 11,66        | 2,81      | 6,93          | 17,09         |
| Massa magra, kg                | 68,11        | 6,81      | 53,80         | 85,81         |
| FC <sub>limiar</sub> , bpm     | 172,35       | 10,00     | 155,00        | 191,00        |
| V <sub>lim</sub> , km/h        | 13,58        | 0,84      | 12,00         | 15,00         |
| V <sub>máx</sub> , km/h        | 17,81        | 0,98      | 16,00         | 20,00         |
| VO <sub>2máx</sub> , ml/kg/min | 65,37        | 3,55      | 59,23         | 73,17         |
| Imp Vertical, cm               | 48,36        | 4,93      | 35,80         | 57,20         |
| Agilidade, seg                 | 6,01         | 0,24      | 5,39          | 6,47          |
| V10m, seg                      | 1,63         | 0,12      | 1,37          | 1,99          |
| V30m, seg                      | 4,02         | 0,24      | 3,51          | 4,48          |
| Yo-Yo IR2, m                   | 745,00       | 138,47    | 480,00        | 1200,00       |

%G – Percentual de gordura corporal; FC<sub>lim</sub> – Frequência cardíaca no limiar ventilatório; V<sub>máx</sub> – Velocidade máxima no teste progressivo; V10 – velocidade em 10 metros; V30m – velocidade em 30 metros; Yo-Yo IR2 – Yo-Yo Intermittent Recovery Level 2.

Os valores de %G são similares aos apresentados para jogadores de elite por outros autores como: Prado *et al.* (2006) (11,19% - 11,59%), Silva *et al.* (2012) (9,3±3,1%), Osiecki *et al.* (2008) (11,64±1,61%) e Reilly *et al.* (2000) (10,6±26,6%). O mesmo ocorreu com os valores de VO<sub>2máx</sub> que foram comparáveis a outros estudos com jogadores profissionais brasileiros: 62,66±2,64ml/kg/min (OSIECKI *et al.*, 2008), 61,2±2,50 – 65,0±3,2ml/kg/min (DA SILVA *et al.*, 2009), da Espanha: 65,5±8,0ml/kg/min (CASAJUS, 2001) e Noruega: 67,6±4,0 (WISLOFF *et al.*, 1998).

Já em relação aos valores de impulsão vertical os valores encontrados no presente estudo superiores aos encontrados em atletas profissionais brasileiros: 39,72±4,34 cm (COELHO *et al.*, 2011) e similares aos reportados

em atletas da Espanha:  $47,8 \pm 2,9$  cm e inferiores aos de atletas da Noruega  $56,4 \pm 4,0$  (WISLOFF *et al.*, 2004).

Em relação à *performance* de velocidade os tempos de 10m são inferiores aos achados por Daros *et al.*(2008) ( $1,74 \pm 0,10$  seg) em atletas do Brasil e de Wisloff *et al.*(2004) ( $1,82 \pm 0,3$  seg) em atletas da Noruega. Já os tempos de 30m são comparáveis aos achados por Wisloff *et al.*(2004) ( $4,0 \pm 0,2$  seg).

O Yo-Yo IR2 é amplamente utilizado no futebol pela sua especificidade em avaliar habilidade de realizar esforços repetitivos. Os valores encontrados na presente investigação foram mais baixos que os encontrados em outro estudo com jogadores do Brasil:  $1251,67 \pm 340,74$  (OSIECKI *et al.*, 2008).

Finalmente, as variáveis de  $V_{lim}$ ,  $V_{máx}$  e  $FC_{lim}$ , foram bastante similares às encontradas por Osiecki *et al.*(2008) ( $13,82 \pm 0,87$  km/h,  $17,70 \pm 0,74$  km/h e  $171,08 \pm 6,97$  bpm, respectivamente).

Juntos, estes dados mostram que os atletas avaliados encontram-se com indicadores de *performance* física comparáveis a atletas de elite do Brasil e de outros países.

#### 4.1 Frequências genotípicas e alélicas

O primeiro objetivo do estudo foi analisar as frequências genotípicas e alélicas dos polimorfismos dos genes ACTN3 e ACE I/D em atletas profissionais de futebol. Para isso as frequências dos polimorfismos foram comparadas com diversos estudos da literatura, tanto com a população em geral (controle) quanto com atletas de futebol.

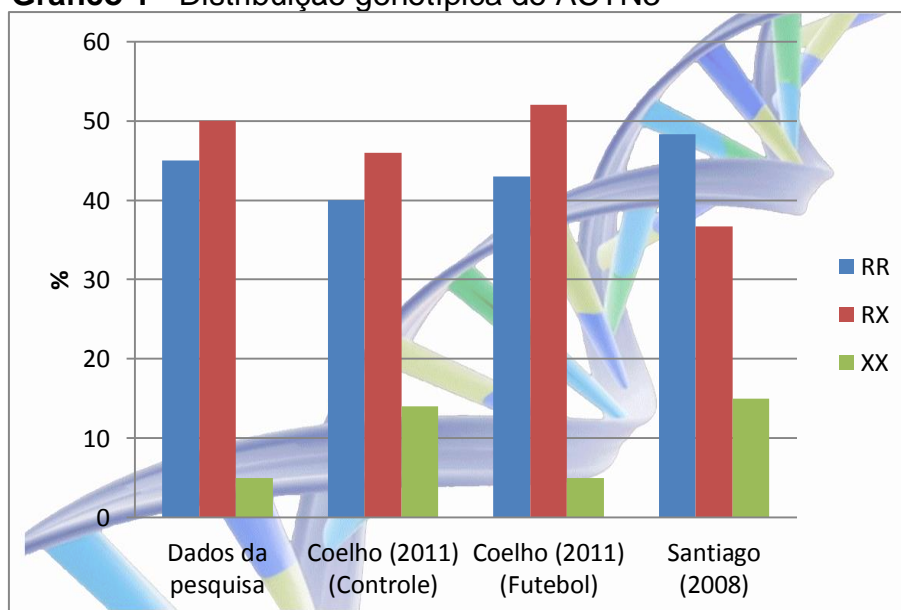
A distribuição dos genótipos dos genes ACTN3 e ACE I/D estão de acordo com o equilíbrio de Hardy-Weinberg, com  $p=0,2283$  e  $p=0,2396$ , respectivamente.

Na tabela 3 e gráfico 1 estão descritos a distribuição genotípica e na tabela 4 e gráfico 2 a distribuição alélica do ACTN3. Os dados de referência da população brasileira (controle) utilizados para a comparação foram os reportados por Coelho (2011), que consistiu de 100 sujeitos residentes na cidade de Belo Horizonte – MG, cuja distribuição foi similar a de outros estudos (YANG *et al.*, 2003; CHIU *et al.*, 2011; CIĘSZCZYK *et al.*, 2011).

**Tabela 3 - Distribuição genotípica do ACTN3**

|                               | RR         | RX         | XX       | P     |
|-------------------------------|------------|------------|----------|-------|
|                               | n (%)      | n (%)      | n (%)    |       |
| Dados da pesquisa             | 18 (45%)   | 20 (50%)   | 2 (5%)   |       |
| Coelho (2011) (Controle)      | 40 (40%)   | 46 (46%)   | 14 (14%) | 0,317 |
| Coelho (2011) (Futebol)       | 36 (43%)   | 43 (52%)   | 4 (5%)   | 0,982 |
| Santiago <i>et al.</i> (2008) | 29 (48,3%) | 22 (36,7%) | 9 (15%)  | 0,196 |

**Gráfico 1 - Distribuição genotípica do ACTN3**



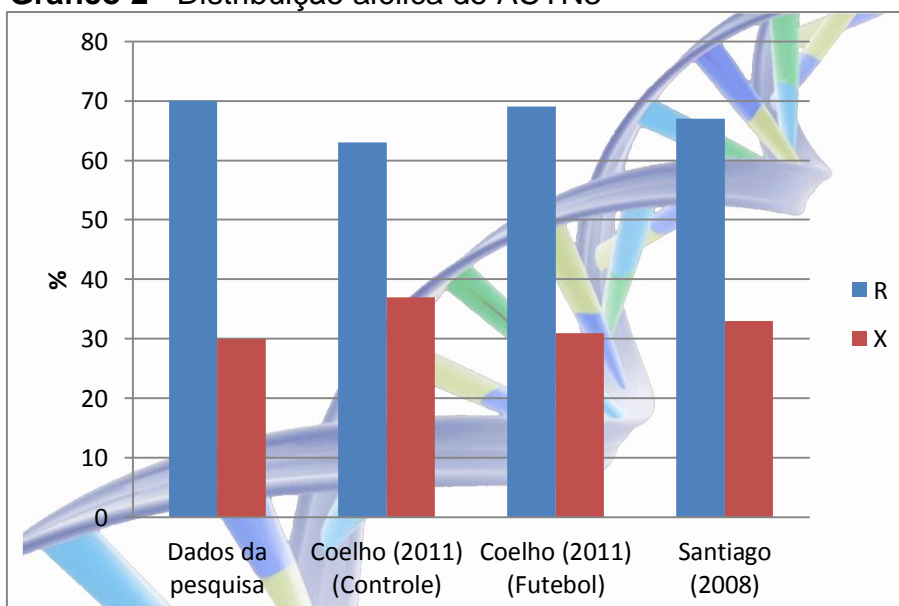
Não foram encontradas diferenças significativas nas distribuições genotípica e alélica dos dados do presente estudo quando comparados tanto ao controle (COELHO, 2011), quanto a outros autores que avaliaram jogadores

profissionais de futebol, do Brasil (COELHO, 2011) e da liga da Espanha (SANTIAGO *et al.*, 2008).

**Tabela 4 - Distribuição alélica do ACTN3**

|                               | R<br>n (%) | X<br>n (%) | P     |
|-------------------------------|------------|------------|-------|
| Dados da pesquisa             | 56 (70%)   | 24 (30%)   |       |
| Coelho (2011) (Controle)      | 126 (63%)  | 74 (37%)   | 0,331 |
| Coelho (2011) (Futebol)       | 115 (69%)  | 51 (31%)   | 0,974 |
| Santiago <i>et al.</i> (2008) | 80 (67%)   | 40 (33%)   | 0,733 |

**Gráfico 2 - Distribuição alélica do ACTN3**



Desde a primeira evidência que o genótipo do ACTN3 poderia influenciar fenótipos relacionados à *performance* física (YANG *et al.*, 2003) vários autores mostraram uma associação do alelo R com atividades de força/potência e do alelo X com atividades de *endurance*, sugerindo que a deficiência da  $\alpha$ -actinina-3 (genótipo XX) pode oferecer uma desvantagem em atividades de força/potência.

O fato de um grupo de atletas de determinada característica apresentar uma distribuição genotípica diferente da população geral pode evidenciar uma seleção natural para chegar a um alto nível de competitividade. Por exemplo,

Yang *et al.* (2003) demonstraram uma frequência significativamente menor do genótipo XX (6%) em atletas de força/potência quando comparados ao grupo controle (18%) e dados similares foram encontrados por outros autores (NIEMI e MAJAMAA, 2005; DRUZHEVSKAYA *et al.*, 2008; PAPANITRIOU *et al.*, 2008a).

Com relação a atletas de futebol, os dados são mais escassos. Em atletas da Espanha foi observada distribuição dos genótipos RR e RX (48,3% e 36,7%) significativamente diferentes do grupo controle (28,5% e 53,7%) (SANTIAGO *et al.*, 2008). Contudo, a frequência do genótipo XX foi similar ao controle. Diante dos dados os autores sugeriram uma associação entre os genótipos do ACTN3 e o status de *performance* em atletas de elite de futebol.

Em outros estudos, assim como na presente amostra, não foi encontrada diferença significativa tanto na distribuição genotípica quanto alélica em relação à população controle não atleta. Massidda *et al.* (2012) ao avaliarem atletas de elite da Itália observaram distribuição genotípica similar ao grupo controle ( $p=0,53$ ).

Coelho (2011) ao avaliar atletas de elite brasileiros (tabelas 3 e 4), tanto na distribuição genotípica quanto alélica também não observou diferença com relação ao controle, porém encontrou um dado interessante. Ao avaliar também categorias de base observou um aumento da frequência do genótipo RX e diminuição do XX nas categorias formadas por atletas mais velhos e de maior nível competitivo, sugerindo uma seleção natural para o esporte.

Cabe salientar que, embora sem diferença significativa, a prevalência do genótipo XX nos atletas do presente estudo foi aproximadamente 1/3 da apresentada no grupo controle (5% vs. 14%), sugerindo também uma possível seleção. Assim, o tamanho da amostra pode ter sido um fator limitante do poder de teste.

Outra possível explicação para a ausência de diferenças significativas é que em geral os estudos que demonstraram excesso ou carência de determinado alelo ou genótipo avaliaram atletas de modalidades com características metabólicas bem definidas: Yang *et al.* (2003) (velocistas e atletas de *endurance*), Chiu *et al.* (2011) (nadadoras velocistas), Ciężczyk *et al.* (2011) (velocistas), Ciężczyk *et al.* (2012) (remadores), Niemi e Majamaa (2005) (atletas de *endurance* e velocistas), Papanitriou *et al.* (2008a) (velocistas,



saltadores, arremessadores e corredores de longa distância). Assim, é possível que o polimorfismo do ACTN3 possa ter menos influência em atividades de características mistas como o futebol (MASSIDDA *et al.*, 2012).

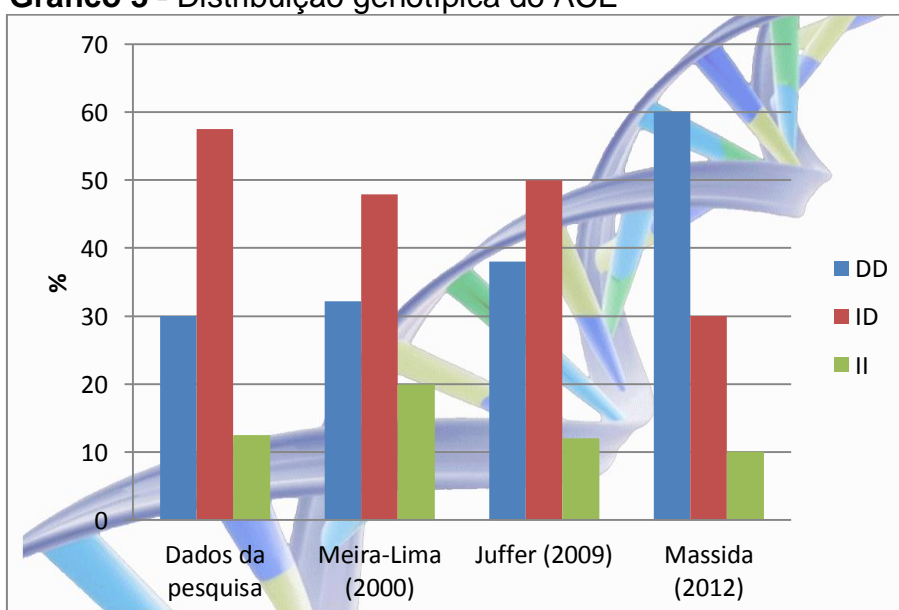
A tabela 5 e gráfico 3 mostram a distribuição genotípica e a tabela 6 e gráfico 4 a distribuição alélica do ACE I/D. Os dados de referência da distribuição na população brasileira foram os reportados por Meira-Lima *et al.* (2000) que avaliaram 323 sujeitos de ambos os sexos com idades entre 18 e 60 anos, e cuja distribuição foi similar ao grupo controle de outros estudos (GAYAGAY *et al.*, 1998; TAYLOR *et al.*, 1999; SCOTT *et al.*, 2005; CHELLY *et al.*, 2010).

**Tabela 5** - Distribuição genotípica do ACE I/D

|                                 | DD<br>n (%) | ID<br>n (%) | II<br>n (%) | P      |
|---------------------------------|-------------|-------------|-------------|--------|
| Dados da pesquisa               | 12 (30%)    | 23 (57,5%)  | 5 (12,5%)   |        |
| Meira-Lima <i>et al.</i> (2000) | 104 (32,2)  | 155 (47,9%) | 64 (19,9%)  | 0,424  |
| Juffer <i>et al.</i> (2009)     | 21 (38%)    | 27 (50%)    | 6 (12%)     | 0,671  |
| Massida <i>et al.</i> (2012)    | 18 (60%)    | 9 (30%)     | 3 (10%)     | 0,038* |

\*Diferença significativa em relação aos dados da pesquisa

**Gráfico 3** - Distribuição genotípica do ACE



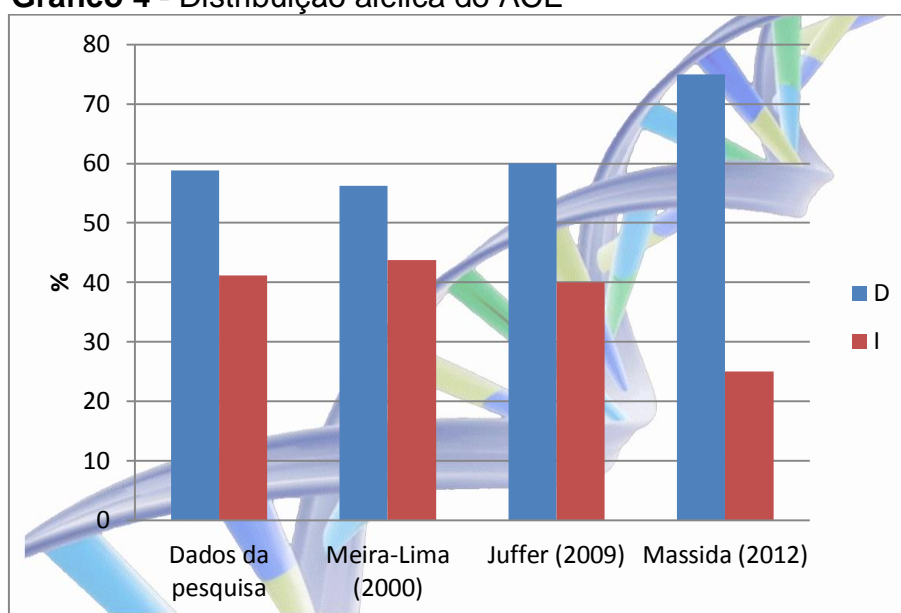
Assim como para o polimorfismo do ACTN3, não foram encontradas diferenças significativas nas distribuições genotípica e alélica quando os dados da presente pesquisa foram comparados ao controle (MEIRA-LIMA *et al.*, 2000). Também não foi observada diferença em relação aos atletas de futebol da liga da Espanha (JUFFER *et al.*, 2009).

Quando comparado ao estudo de Massidda *et al.* (2012) foi observada diferença significativa ( $p=0,038$ ) na distribuição genotípica e uma tendência com relação à distribuição alélica ( $p=0,068$ ).

**Tabela 6** - Distribuição alélica do ACE I/D

|                                 | D           | I           | P     |
|---------------------------------|-------------|-------------|-------|
|                                 | n (%)       | n (%)       |       |
| Dados da pesquisa               | 47 (58,8%)  | 33 (41,2%)  |       |
| Meira-Lima <i>et al.</i> (2000) | 363 (56,2%) | 283 (43,8%) | 0,752 |
| Juffer <i>et al.</i> (2009)     | 69 (60%)    | 39 (40%)    | 0,572 |
| Massida <i>et al.</i> (2012)    | 45 (75%)    | 15 (25%)    | 0,068 |

**Gráfico 4** - Distribuição alélica do ACE



De forma semelhante ao polimorfismo do ACTN3, a variação do gene ACE I/D tem sido associada com a *performance* física. Enquanto o alelo I tem sido associado com eventos de *endurance* (GAYAGAY *et al.*, 1998; MONTGOMERY *et al.*, 1998; MYERSON *et al.*, 1999), o alelo D parece guardar relação com eventos de força/potência (NAZAROV *et al.*, 2001; WOODS *et al.*, 2001). Mais uma vez, poucos dados estão disponíveis na literatura com relação a atletas profissionais de futebol. Até onde se teve acesso, apenas dois autores analisaram a distribuição alélica e genotípica nesse grupo de atletas (JUFFER *et al.*, 2009; MASSIDDA *et al.*, 2012).

Assim como no presente estudo, Juffer *et al.* (2009) ao analisarem jogadores de elite da liga espanhola não observaram diferenças nas frequências genotípicas e alélicas em relação ao controle. Os jogadores diferiram apenas de uma amostra formada por corredores de longa distância. Massidda *et al.* (2012) encontraram uma maior e menor frequência dos genótipos DD e ID, respectivamente, quando comparados aos da presente investigação. Porém os autores não observaram diferença estatística em relação ao seu grupo controle, já que os mesmos apresentaram, assim como os atletas, grande frequência do alelo D. Não é citado no estudo se foi realizada a reavaliação nos sujeitos do genótipo DD, que podem ser classificados erroneamente devido à amplificação preferencial do alelo D e, na realidade possuem o genótipo ID. Caso a reavaliação não tenha sido realizada, pode explicar a alta frequência do genótipo DD tanto na amostra de atletas quanto no controle.

Novamente, como no polimorfismo do ACTN3, de uma forma geral as associações do ACE I/D foram encontradas em atletas com características metabólicas definidas. Montgomery *et al.* (1998) avaliaram atletas de *endurance* (montanhistas) e encontraram maior frequência do genótipo II em relação ao controle. Gayagay *et al.* (1998) também observaram maior frequência do genótipo II e do alelo I em atletas de *endurance* (remadores).

Por outro lado, ao avaliar nadadores de velocidade Woods *et al.* (2001) demonstraram um excesso do alelo D em relação ao controle. No

mesmo sentido, Nazarov *et al.*(2001) observaram maior frequência do alelo D em atletas de modalidades de curta duração.

Como na presente investigação, outros autores não encontraram associação da variação do ACE I/D com *performance*. Por exemplo, atletas de *endurance* quenianos não diferiram de uma amostra controle (SCOTT *et al.*, 2005). Os autores citam que as investigações onde a associação foi encontrada foram conduzidas em populações caucasianas, onde a o genótipo ACE I/D é fortemente relacionado com a atividade da ECA, porém em sujeitos africanos a relação não é forte. Não se pode descartar que esse fato possa explicar, pelo menos em parte, os resultados do presente estudo, já que a amostra foi constituída por sujeitos de grupos étnicos variados.

Resultados semelhantes foram encontrados por Rankinen *et al.*(2000) ao avaliar 192 atletas de *endurance* do Canadá, Alemanha, Finlândia, e Estados Unidos. Neste caso todos os atletas eram caucasianos, porém de modalidades diversas, o que pode ser um fator influenciador nos resultados (PUTHUCHEARY *et al.*, 2011).

Cabe ainda ressaltar que alguns autores encontraram resultados opostos ao que seria esperado com o alelo D associado com eventos de *endurance* (AMIR *et al.*, 2007; MUNIESA *et al.*, 2010).

#### 4.2 Polimorfismos do ACTN3 e ACE e indicadores de *performance*

O segundo objetivo do estudo foi associar a distribuição dos genótipos do ACTN3 e ACE I/D com indicadores de *performance* em atletas profissionais de futebol. Para tal diversos indicadores foram avaliados, e comparados de acordo com os genótipos.

A tabela 7 mostra a comparação dos indicadores de *performance* de acordo com o genótipo do ACTN3. Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas tanto na comparação entre os genótipos isoladamente, quanto na comparação pelos modelos dominante (Tabela 8) e

recessivo (Tabela 9). É importante ressaltar que a frequência de apenas 5% (n=2) do genótipo XX pode ser um fator limitante do ponto de vista estatístico, e nesse caso, as comparações devem ser interpretadas com cautela.

**Tabela 7** - Genótipos do ACTN3 e fenótipos de *performance*

|                                | ACTN3 RR<br>(n=18) | ACTN3 RX<br>(n=20) | ACTN3 XX<br>(n=2) | P     |
|--------------------------------|--------------------|--------------------|-------------------|-------|
| FC <sub>rep</sub> , bpm        | 59,43±9,19         | 59,63±0,15         | 50,50±0,70        | 0,226 |
| FC <sub>limiar</sub> , bpm     | 173,62±9,92        | 171,26±10,51       | 172,50±9,19       | 0,905 |
| V <sub>lim</sub> , km/h        | 13,69±0,87         | 13,41±0,82         | 14,25±0,35        | 0,274 |
| V <sub>máx</sub> , km/h        | 17,96±0,90         | 17,65±1,10         | 18,00±0,00        | 0,502 |
| VO <sub>2máx</sub> , ml/kg/min | 65,70±3,48         | 65,00±3,85         | 66,20±0,15        | 0,693 |
| Imp. Vertical, cm              | 49,01±4,85         | 47,97±5,27         | 47,85±4,45        | 0,910 |
| Agilidade, seg                 | 5,97±0,27          | 6,06±0,19          | 5,79±0,22         | 0,260 |
| V10m, seg                      | 1,63±0,12          | 1,63±0,14          | 1,65±0,05         | 0,891 |
| V30m, seg                      | 4,00±0,26          | 4,05±0,25          | 3,96±0,07         | 0,883 |
| Yo-Yo IR2, m                   | 795,55±153,32      | 692,00±106,30      | 820,00±141,42     | 0,132 |

Valores de significância (p) obtidos pelo teste de Kruskal-Wallis.

**Tabela 8** - Genótipos do ACTN3 e fenótipos de *performance* pelo modelo dominante

|                                | RR+RX<br>(n=38) | XX<br>(n=2)   | P     |
|--------------------------------|-----------------|---------------|-------|
| FC <sub>rep</sub> , bpm        | 59,54±8,51      | 50,50±0,70    | 0,108 |
| FC <sub>limiar</sub> , bpm     | 172,34±10,16    | 172,50±9,19   | 0,973 |
| V <sub>lim</sub> , km/h        | 13,54±0,84      | 14,25±0,35    | 0,270 |
| V <sub>máx</sub> , km/h        | 17,80±1,01      | 18,00±0,00    | 0,631 |
| VO <sub>2máx</sub> , ml/kg/min | 65,32±3,65      | 66,20±0,82    | 0,589 |
| Imp. Vertical, cm              | 48,40±5,03      | 47,85±4,45    | 0,897 |
| Agilidade, seg                 | 6,02±0,23       | 5,79±0,22     | 0,226 |
| V10m, seg                      | 1,63±0,13       | 1,65±0,05     | 0,966 |
| V30m, seg                      | 4,03±0,25       | 3,96±0,07     | 0,662 |
| Yo-Yo IR2, m                   | 741,05±139,10   | 820,00±141,42 | 0,433 |

Valores de significância (p) obtidos pelo teste de Mann-Whitney.

**Tabela 9** - Genótipos do ACTN3 e fenótipos de *performance* pelo modelo recessivo

|                                | RR<br>(n=18)  | RX+XX<br>(n=22) | P     |
|--------------------------------|---------------|-----------------|-------|
| FC <sub>rep</sub> , bpm        | 59,43±9,19    | 58,76±8,21      | 0,988 |
| FC <sub>limiar</sub> , bpm     | 173,62±9,92   | 171,38±10,19    | 0,683 |
| V <sub>lim</sub> , km/h        | 13,69±0,87    | 13,49±0,82      | 0,439 |
| V <sub>máx</sub> , km/h        | 17,96±0,90    | 17,69±1,05      | 0,404 |
| VO <sub>2máx</sub> , ml/kg/min | 65,70±3,48    | 65,12±3,67      | 0,683 |
| Imp. Vertical, cm              | 49,01±4,85    | 47,96±5,07      | 0,674 |
| Agilidade, seg                 | 5,97±0,27     | 6,03±0,21       | 0,536 |
| V10m, seg                      | 1,63±0,12     | 1,63±0,13       | 0,662 |
| V30m, seg                      | 4,00±0,26     | 4,04±0,24       | 0,950 |
| Yo-Yo IR2, m                   | 795,55±153,32 | 703,63±112,23   | 0,119 |

Valores de significância (p) obtidos pelo teste de Mann-Whitney.

A possível influência do polimorfismo do ACTN3 com fenótipos relacionados à força/potência está associada à interação da  $\alpha$ -actinina-3 com as proteínas da linha Z, como a titina, tendo assim papel estrutural na integridade do sarcômero durante atividades de alta intensidade (PIMENTA *et al.*, 2013). Assim, pessoas com deficiência na produção da  $\alpha$ -actinina-3 poderiam demonstrar redução de *performance*, já que a  $\alpha$ -actinina-2 demonstra propriedades estruturais e elásticas alteradas, quando comparada à  $\alpha$ -actinina-3 (SETO *et al.*, 2011; PIMENTA *et al.*, 2013). Ainda, outra explicação é uma possível associação do ACTN3 com a distribuição de fibras musculares. Em um estudo com humanos, foi observada maior proporção de fibras do tipo IIx no genótipo RR quando comparado ao XX (VINCENT *et al.*, 2007). Portanto, espera-se que indivíduos carreadores do alelo R apresentem vantagem em eventos de força/potência.

De fato, existem dados na literatura corroborando com essa afirmação. Por exemplo, Moran *et al.* (2007) observaram em adolescentes não-atletas da Grécia maior velocidade de 40m no genótipo RX quando comparado ao XX. Porém, nenhum outro indicador diferiu significativamente (salto vertical, agilidade, potência aeróbia). Em outro estudo, Vincent *et al.* (2007) verificaram, em sujeitos do sexo masculino não-atletas, que homozigotos para o alelo R

apresentaram maiores valores de torque de extensores de joelho quando comparados aos homozigotos para o alelo X. Resultados semelhantes foram encontrados por Walsh *et al.* (2008) em mulheres, mas não em homens.

Por outro lado, outras investigações com populações semelhantes não encontraram diferenças entre os genótipos em indicadores de força/potência, como por exemplo, nos índices do Wingate e pico de torque máximo em mulheres e homens (NORMAN *et al.*, 2009; HANSON *et al.*, 2010), cabendo salientar que todos os estudos citados anteriormente foram realizados com populações de não-atletas.

No presente estudo, foram avaliados diversos indicadores de velocidade/potência e, em nenhum foi observada diferença estatisticamente significativa em atletas de elite. Resultados similares foram encontrados em uma amostra de jogadores de elite de voleibol (RUIZ *et al.*, 2011) e em atletas de elite de basquetebol (GARATACHEA *et al.*, 2013) onde os atletas com diferentes genótipos não diferiram em testes de potência de membros inferiores. Em outro estudo Bellet *et al.* (2012) também não observaram quaisquer diferenças em indicadores como força máxima, potência de membros inferiores e velocidade em atletas de Rugby do Reino Unido. Ou seja, parece que de uma forma geral em atletas de alto nível de esportes coletivos o polimorfismo do ACTN3 não influencia de forma significativa fenótipos de *performance* de força/potência.

Todavia, resultados conflitantes foram encontrados por Pimenta *et al.* (2013) em uma amostra de atletas de futebol, onde os indivíduos do genótipo RR apresentaram melhor desempenho em testes de velocidade (10m, 20m e 30m) e salto vertical quando comparados aos outros genótipos. Cabe salientar que a frequência do genótipo XX na amostra foi de 11%, superior à reportada pelo mesmo grupo em estudo anterior com atletas profissionais (COELHO, 2011). Ainda, o grupo XX apresentou média de idade ( $20,4 \pm 2,4$  anos) menor que a dos grupos RR ( $23,8 \pm 0,7$ ) e RX ( $26,2 \pm 2,9$ ). Juntos estes dados sugerem que foram incluídos atletas de categorias de base na amostra, o que pode ter influenciado nos resultados.

Também vem sendo relatada na literatura a associação do alelo X com fenótipos de *endurance*. Em um interessante estudo, ratos com *knockout* para o gene ACTN3 (e, portanto deficientes de  $\alpha$ -actinina-3) demonstraram redução de força e do diâmetro de fibras de contração rápida. Por outro lado, os animais passaram a exibir uma atividade aumentada de enzimas do metabolismo aeróbio, melhora de recuperação de fadiga, sugerindo um papel importante do ACTN3 no metabolismo celular e explicando, pelo menos em parte, os resultados encontrados em atletas de *endurance* com relação à frequência genotípica (MACARTHUR *et al.*, 2008). Entretanto, em humanos a mesma relação não foi encontrada. A atividade das enzimas do metabolismo aeróbio CYTOX e SDH não diferiu significativamente em sujeitos com os genótipos RR e XX (VINCENT *et al.*, 2012).

No presente estudo foram avaliados indicadores associados à *performance* de *endurance* como  $VO_{2m\acute{a}x}$  e  $V_{lim}$ , os quais não diferiram entre os genótipos. Em um estudo com ciclistas e corredores de alto nível europeus também não foram encontradas diferenças significativas em relação a  $VO_{2m\acute{a}x}$ , limiar ventilatório e ponto de compensação respiratório (LUCIA *et al.*, 2006). Assim, parece que a deficiência da  $\alpha$ -actinina-3 por si só não confere benefícios em relação à *performance* de *endurance*.

Novamente resultados conflitantes foram achados por Pimenta *et al.* (2013), onde em sua amostra de atletas de futebol os indivíduos XX apresentaram maiores valores de  $VO_{2m\acute{a}x}$ , quando comparados aos indivíduos RR. Os dados de média não são apresentados no estudo, mas ao observar o gráfico parecem estar em torno de 55ml/kg/min, menores que os apresentados no presente estudo.

Até onde se teve acesso nenhum outro estudo comparou atletas com diferentes genótipos do ACTN3 utilizando o Yo-Yo IR2, teste frequentemente utilizado no futebol pela natureza que simula a dinâmica do jogo. O Yo-Yo IR2 avalia a capacidade de realizar um exercício intermitente com uma contribuição aeróbia significativa em combinação com um grande componente anaeróbio já que apresenta alta produção de lactato, utilização do sistema ATP-CP e depleção de glicogênio muscular (BANGSBO *et al.*, 2008). Assim, como nos



testes de desempenho de *endurance* e força/potência o ACTN3 não influenciou a habilidade de realizar *sprints* repetitivos na presente amostra.

A tabela 10 mostra a comparação dos indicadores de *performance* de acordo com o genótipo do ACE I/D. Novamente não foram encontradas diferenças significativas em nenhuma das comparações, seja pelos genótipos isoladamente ou pelos modelos dominante (Tabela 11) e recessivo (Tabela 12).

**Tabela 10** - Genótipos do ACE I/D e fenótipos de *performance*

|                                | ACE DD<br>(n=12) | ACE ID<br>(n=23) | ACE II<br>(n=5) | P     |
|--------------------------------|------------------|------------------|-----------------|-------|
| FC <sub>rep</sub> , bpm        | 61,09±10,37      | 58,90±7,76       | 54,25±6,80      | 0,321 |
| FC <sub>limiar</sub> , bpm     | 172,27±10,78     | 171,86±9,87      | 175,25±10,81    | 0,922 |
| V <sub>lim</sub> , km/h        | 13,40±1,01       | 13,63±0,80       | 13,75±0,64      | 0,752 |
| V <sub>máx</sub> , km/h        | 17,77±1,08       | 17,79±1,00       | 18,00±0,81      | 0,855 |
| VO <sub>2máx</sub> , ml/kg/min | 65,40±3,76       | 65,20±3,68       | 66,20±2,84      | 0,806 |
| Imp. Vertical, cm              | 46,92±5,47       | 49,25±4,58       | 47,60±5,95      | 0,646 |
| Agilidade, seg                 | 6,07±0,15        | 5,95±0,25        | 6,17±0,27       | 0,369 |
| V10m, seg                      | 1,63±0,16        | 1,62±0,10        | 1,74±0,03       | 0,188 |
| V30m, seg                      | 3,98±0,26        | 4,02±0,24        | 4,25±0,07       | 0,237 |
| Yo-Yo IR2, m                   | 716,66±128,15    | 733,91±121,57    | 864,00±199,19   | 0,212 |

Valores de significância (p) obtidos pelo teste de Kruskal-Wallis.

**Tabela 11** - Genótipos do ACE I/D e fenótipos de *performance* pelo modelo dominante

|                                | II+ID<br>(n=28) | DD<br>(n=12)  | P     |
|--------------------------------|-----------------|---------------|-------|
| FC <sub>rep</sub> , bpm        | 58,19±7,69      | 61,09±10,37   | 0,332 |
| FC <sub>limiar</sub> , bpm     | 172,38±9,87     | 172,27±10,78  | 1,000 |
| V <sub>lim</sub> , km/h        | 13,65±0,77      | 13,40±1,01    | 0,481 |
| V <sub>máx</sub> , km/h        | 17,82±0,96      | 17,77±1,08    | 0,909 |
| VO <sub>2máx</sub> , ml/kg/min | 65,36±3,54      | 65,40±3,76    | 0,987 |
| Imp. Vertical, cm              | 49,01±4,66      | 46,92±5,47    | 0,444 |
| Agilidade, seg                 | 5,98±0,26       | 6,07±0,15     | 0,321 |
| V10m, seg                      | 1,64±0,11       | 1,63±0,16     | 0,471 |
| V30m, seg                      | 4,05±0,24       | 3,98±0,26     | 0,525 |
| Yo-Yo IR2, m                   | 757,14±143,16   | 716,66±128,15 | 0,358 |

Valores de significância (p) obtidos pelo teste de Mann-Whitney.

**Tabela 12** - Genótipos do ACE I/D e fenótipos de *performance* pelo modelo recessivo

|                                | II<br>(n=5)   | DD+ID<br>(n=35) | P     |
|--------------------------------|---------------|-----------------|-------|
| FC <sub>rep</sub> , bpm        | 54,25±6,80    | 59,63±8,62      | 0,203 |
| FC <sub>limiar</sub> , bpm     | 175,25±10,81  | 172,00±10,01    | 0,724 |
| V <sub>lim</sub> , km/h        | 13,75±0,64    | 13,56±0,86      | 0,724 |
| V <sub>máx</sub> , km/h        | 18,00±0,81    | 17,78±1,01      | 0,620 |
| VO <sub>2máx</sub> , ml/kg/min | 66,20±2,84    | 65,27±3,65      | 0,555 |
| Imp. Vertical, cm              | 47,60±5,95    | 48,45±4,93      | 0,813 |
| Agilidade, seg                 | 6,17±0,27     | 5,99±0,23       | 0,497 |
| V10m, seg                      | 1,74±0,03     | 1,63±0,13       | 0,174 |
| V30m, seg                      | 4,25±0,74     | 4,01±0,25       | 0,115 |
| Yo-Yo IR2, m                   | 864,00±199,19 | 728,00±122,25   | 0,103 |

Valores de significância (p) obtidos pelo teste de Mann-Whitney.

Partindo do princípio que a maior frequência do alelo D vem sendo associada a atletas de força/potência é de se esperar que sujeitos carreadores deste alelo, especialmente o genótipo DD, apresentem melhor desempenho em testes associados a estes fenótipos pelos níveis aumentados de ECA e consequentemente de angiotensina II, que por sua vez parece influenciar na resposta hipertrófica ao exercício (FOLLAND *et al.*, 2000; GORDON *et al.*, 2001) ou ainda pelo possível efeito do polimorfismo ACE I/D na proporção de fibras musculares (ZHANG *et al.*, 2003). Por exemplo, foi demonstrada em sujeitos destreinados uma associação significativa entre níveis de ECA com a força isométrica e isocinética, sendo que os homozigotos DD apresentaram maiores índices de força que os homozigotos II (WILLIAMS *et al.*, 2005).

Adicionalmente, um estudo com atletas corrobora com estes resultados. Em nadadores de curta e média distância Costa *et al.* (2009b) verificaram que tanto em homens quanto em mulheres os atletas do genótipo DD exibiram maiores de força de preensão manual do que os do genótipo II. O mesmo foi observado, mas somente em mulheres para salto vertical. Em outro estudo com jogadores de futebol de categorias de base, Micheli *et al.* (2011) encontrou valores significativamente maiores de salto vertical (squat jump e salto com

contra movimento) nos atletas do genótipo ID em relação aos outros genótipos, mas sem diferenças para indicadores de velocidade e potência de membros superiores.

Por outro lado, em atletas de hockey de campo de elite foram observados resultados similares ao do presente estudo, onde o polimorfismo ACE I/D não influenciou nos valores dos testes de salto vertical e velocidade (GRONEK *et al.*, 2013).

A maior parte das informações do possível efeito do polimorfismo do ACE I/D em indicadores de *performance* física está relacionada à indicadores de *endurance*. Por exemplo, em mulheres pós-menopausa foram encontrados valores maiores de  $VO_{2máx}$  no genótipo II quando comparado ao DD (HAGBERG *et al.*, 1998), resultados similares foram encontrados em jovens moderadamente ativos, onde os genótipos II e ID demonstraram valores significativamente maiores em relação ao DD (ALMEIDA *et al.*, 2012). Contudo, dados de outros autores avaliando atletas parecem não sugerir essa relação, assim como no presente estudo Shenoy *et al.* (2010) também não observaram diferenças no  $VO_{2máx}$  em triatletas, assim como Gronek *et al.* (2013) ao avaliarem atletas de hockey de campo e Gomez-Gallego *et al.* (2009) em ciclistas.

Entretanto, em um estudo com corredores de fundo japoneses foram observadas maiores velocidades de corrida nos portadores do alelo D (TOBINA *et al.*, 2010). Assim, é possível que o efeito do genótipo ACE I/D na *performance* de *endurance* se deva a outro mecanismo que não o  $VO_{2máx}$ .

Uma possível explicação é que o polimorfismo ACE I/D tem sido associado à eficiência metabólica (trabalho/energia utilizada). Em um estudo com militares os sujeitos com genótipo II aumentaram a eficiência metabólica em 1,87% contra uma redução de 0,30% no genótipo DD, após 11 semanas de treinamento (WAGNER *et al.*, 2006). O mecanismo pelo qual o polimorfismo afeta a eficiência metabólica, contudo, não é conhecido.

No presente estudo esta variável não foi mensurada, portanto não é possível especular a influência do genótipo ACE I/D na amostra. É possível,

porém, que caso os atletas diferissem na eficiência metabólica, os mesmo se refletiria de forma indireta na  $V_{lim}$ , o que não ocorreu.

Para verificar um possível efeito combinado dos genótipos ACTN3 e ACE I/D nos indicadores de *performance*, foi formado um grupo com os atletas portadores do alelo R do ACTN3 (RR e RX) mais os do genótipo DD do ACE I/D (ou seja, em teoria a melhor combinação para fenótipos relacionados à força/potência) e comparado com todos os outros atletas (Tabela 13).

**Tabela 13** - Genótipos ACTN3 e ACE I/D combinados e fenótipos de *performance*

|   | RR+RX+DD<br>(n=10) | OUTROS<br>(n=30) | P     |
|---|--------------------|------------------|-------|
| FC <sub>rep</sub> , bpm   | 62,44±10,81        | 57,96±7,57       | 0,125 |
| FC <sub>limiar</sub> , bpm                                      | 172,88±10,97       | 172,17±9,87      | 0,848 |
| $V_{lim}$ , km/h  | 13,27±1,08         | 13,67±0,74       | 0,270 |
| $V_{máx}$ , km/h  | 17,72±1,20         | 17,83±0,93       | 0,689 |
| VO <sub>2máx</sub> , ml/kg/min                                  | 65,23±4,18         | 65,42±3,41       | 0,794 |
| Impulsão Vertical, cm   | 47,30±6,24         | 48,70±4,55       | 0,823 |
| Agilidade, seg  | 6,10±0,16          | 5,98±0,25        | 0,224 |
| V10m, seg   | 1,61±0,17          | 1,64±0,10        | 0,115 |
| V30m, seg   | 3,97±0,29          | 4,05±0,23        | 0,476 |
| Yo-Yo, m  | 716,00±141,67      | 754,66±138,45    | 0,396 |
| Valores de significância (p) obtidos pelo teste de Mann-Whitney |                    |                  |       |

Mais uma vez não foram observadas diferenças significativas em nenhum dos indicadores estudados.

Com já descrito, indicadores relacionados à força/potência poderiam sofrer influência do ACTN3 pelo seu papel estrutural no sarcômero (PIMENTA *et al.*, 2013) e do ACE I/D pela sua possível influência nos níveis de ECA e consequentemente na resposta hipertrófica (FOLLAND *et al.*, 2000), além da associação de ambos em proporções de fibras musculares (ZHANG *et al.*, 2003; VINCENT *et al.*, 2007). Por outro lado a influência dos genótipos em indicadores de *endurance* pode estar relacionada à influências no metabolismo energético (MACARTHUR *et al.*, 2008) no caso do ACTN3 e (WAGNER *et al.*, 2006) no caso do ACE I/D.

Todavia, o sucesso esportivo depende evidentemente do treinamento específico, além de outros fatores como nutrição. Assim, a influência genética em atletas pode ser difícil de determinar, pois rivaliza com os efeitos resultantes do treinamento (COSTA *et al.*, 2009b). Isso pode explicar porque diferenças nos indicadores de *performance* são encontradas mais frequentemente em estudos com não-atletas do que os com atletas de elite, apesar da diferença na frequência dos genótipos observadas em vários estudos.

Desta forma na presente amostra, apesar da frequência menor dos genótipos XX do ACTN3 e II do ACE I/D em relação à população controle (ambos não significativos) que pode sugerir uma possível seleção dos atletas, ao comparar indicadores de *performance* nenhuma diferença significativa foi encontrada, ou seja, fatores como o treinamento podem fazer com que todos se nivelem nestas variáveis.

Além disso, o futebol é uma modalidade esportiva com características metabólicas mistas, onde vários componentes são importantes (OSIECKI *et al.*, 2008), porém nenhum necessita ser desenvolvido ao extremo como um atleta de maratona ou velocista, por exemplo. Neste sentido, no futebol assim como em outras modalidades coletivas, talvez a influência dos genes estudados não seja tão relevante, principalmente em atletas de elite como visto no voleibol (RUIZ *et al.*, 2011), basquetebol (GARATACHEA *et al.*, 2013), rugby (BELL *et al.*, 2012) e hockey de campo (GRONEK *et al.*, 2013).

Por fim não se pode descartar a possível influência de fatores epigenéticos. A epigenética está relacionada a mudanças na expressão gênica que não pode ser explicada por alterações na sequência do DNA (SHARP, 2008). Os mecanismos epigenéticos incluem a metilação do DNA, modificação das histonas e ação de micro-RNAs (AGUILERA *et al.*, 2010).

Sabe-se que a exposição a um determinado fator ambiental pode provocar alterar marcadores epigenéticos (AGUILERA *et al.*, 2010) e desta forma alterar a expressão de determinados genes. Dentre estes fatores ambientais estão: dieta, tratamentos farmacológicos, hábitos de saúde, treinamento e destreinamento e estimulação mecânica (AGUILERA *et al.*,

2010; RALEIGH, 2012). Assim, fatores importantes relacionados ao atleta como treinamento e nutrição podem afetar a expressão de genes relacionados à *performance* física e, desta forma, influenciar fenótipos. Por exemplo, foi demonstrado que o gene *ACE* humano possui ilhas CpG e que a metilação destas regiões junto com a acetilação de histonas influenciou a atividade do gene (RIVIERE *et al.*, 2011). Portanto, parece que a exposição a determinados fatores pode influenciar na atividade da ECA. Contudo, até onde se teve acesso nenhum estudo avaliou se a regulação epigenética dos genes aqui estudados influenciou de forma direta fenótipos relacionados à *performance* física.

## 5 CONCLUSÃO

O presente estudo é um dos primeiros a descrever de forma combinada a frequência genotípica e alélica dos polimorfismos do ACTN3 e ACE I/D e também sua possível influência em indicadores de *performance* física em atletas profissionais de futebol.

Diante dos resultados apresentados pode-se concluir que as frequências genotípicas e alélicas do ACTN3 (RR=45%, RX=50% e XX=5%; R=70% e X=30%) e do ACE I/D (DD=30%, ID=57,5% e II=12,5%; D=58,8% e I=41,2%) não diferiram significativamente quando comparadas à população em geral. Contudo, a frequência de genótipos que em teoria são desfavoráveis para atividades de força e potência foram menores que na população controle: ACTN3-XX (5% vs. 14%) e ACE-II (12,5% vs. 19,9%), o que pode sugerir um possível efeito de seleção dos atletas.

Com relação aos indicadores de desempenho físico foram apresentados, até onde se teve acesso, dados inéditos em relação à influência genética em testes como Yo-YoIR2,  $V_{lim}$ ,  $FC_{lim}$  e agilidade na população estudada. Não foi observada nenhuma diferença associada aos polimorfismos do ACTN3 e ACE I/D tanto nas comparações entre os genótipos isoladamente, quanto nos modelos recessivo e dominante. Pode-se especular que vários fatores possam explicar os resultados encontrados como a característica metabólica mista do futebol, o efeito do treinamento e fatores epigenéticos. Ainda, o tamanho amostral quando os atletas foram agrupados em genótipos pode ter sido um fator limitante do poder dos testes estatísticos utilizados.

Portanto, sugere-se que novos estudos utilizem amostras maiores e analisem um número maior de polimorfismos para a melhor compreensão da predisposição genética favorável para o futebol.

## REFERÊNCIAS

AGUILERA, O. et al. Epigenetics and environment: a complex relationship. **J Appl Physiol**, v. 109, n. 1, p. 243-51, Jul 2010.

AHMETOV, I. I. et al. The use of molecular genetic methods for prognosis of aerobic and anaerobic performance in athletes. **Human Physiology**, v. 34, n. 3, p. 338-342, 2008/05/01 2008.

ALMEIDA, J. A. et al. A influência do genótipo da ECA sobre a aptidão cardiovascular de jovens do sexo masculino moderadamente ativos. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 98, n. 4, p. 6, 2012.

AMIR, O. et al. The ACE deletion allele is associated with Israeli elite endurance athletes. **Exp Physiol**, v. 92, n. 5, p. 881-6, Sep 2007.

BANGSBO, J.; IAIA, F. M.; KRUSTRUP, P. The Yo-Yo intermittent recovery test : a useful tool for evaluation of physical performance in intermittent sports. **Sports Med**, v. 38, n. 1, p. 37-51, 2008.

BANGSBO, J.; MOHR, M.; KRUSTRUP, P. Physical and metabolic demands of training and match-play in the elite football player. **J Sports Sci**, v. 24, n. 7, p. 665-74, Jul 2006.

BEGGS, A. H. et al. Cloning and characterization of two human skeletal muscle alpha-actinin genes located on chromosomes 1 and 11. **J Biol Chem**, v. 267, n. 13, p. 9281-8, May 5 1992.

BELL, W. et al. ACTN3 genotypes of Rugby Union players: distribution, power output and body composition. **Ann Hum Biol**, v. 39, n. 1, p. 19-27, Jan 2012.

BERMAN, Y.; NORTH, K. N. A gene for speed: the emerging role of alpha-actinin-3 in muscle metabolism. **Physiology (Bethesda)**, v. 25, n. 4, p. 250-9, Aug 2010.

BOUCHARD, C. Genomic predictors of trainability. **Exp Physiol**, v. 97, n. 3, p. 347-52, Mar 2012.

BRAY, M. S. et al. The human gene map for performance and health-related fitness phenotypes: the 2006-2007 update. **Med Sci Sports Exerc**, v. 41, n. 1, p. 35-73, Jan 2009.



BRULL, D. et al. Bradykinin B2BKR receptor polymorphism and left-ventricular growth response. **Lancet**, v. 358, n. 9288, p. 1155-6, Oct 6 2001.

CASAJUS, J. A. Seasonal variation in fitness variables in professional soccer players. **J Sports Med Phys Fitness**, v. 41, n. 4, p. 463-9, Dec 2001.

CASTAGNA, C.; ABT, G.; D'OTTAVIO, S. Physiological aspects of soccer refereeing performance and training. **Sports Med**, v. 37, n. 7, p. 625-46, 2007.

CHELLY, M. S. et al. Effects of in-season short-term plyometric training program on leg power, jump- and sprint performance of soccer players. **J Strength Cond Res**, v. 24, n. 10, p. 2670-6, Oct 2010.

CHIU, L. L. et al. ACTN3 genotype and swimming performance in Taiwan. **Int J Sports Med**, v. 32, n. 6, p. 476-80, Jun 2011.

CIĘSZCZYK, P. et al. Association of the ACTN3 R577X Polymorphism in Polish Power-Orientated Athletes. **Journal of Human Kinetics**, v. 28, n. -1, p. 55-61, 2011.

CIESZCZYK, P. et al. ACTN3 R577X polymorphism in top-level Polish rowers. **Journal of Exercise Science & Fitness**, v. 10, n. 1, p. 12-15, 2012.

CLARKSON, P. M. et al. ACTN3 genotype is associated with increases in muscle strength in response to resistance training in women. **J Appl Physiol**, v. 99, n. 1, p. 154-63, Jul 2005.

COELHO, D. B. **Determinação da frequência genótipica do ACTN3 e da sua relação com o desempenho físico, respostas hormonais e indicadores do dano muscular em jogadores de futebol**. 2011. 115 (Doutorado). Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

COELHO, D. B. et al. Correlação entre o desempenho de jogadores de futebol no teste de sprint de 30m e no teste de salto vertical. **Motriz-Revista De Educacao Fisica**, v. 17, p. 63-70, 2011.

COLLINS, M. et al. The ACE gene and endurance performance during the South African Ironman Triathlons. **Med Sci Sports Exerc**, v. 36, n. 8, p. 1314-20, Aug 2004.

COSTA, A. M. et al. Association between ACE D allele and elite short distance swimming. **Eur J Appl Physiol**, v. 106, n. 6, p. 785-90, Aug 2009a.

COSTA, A. M. et al. Angiotensin-converting enzyme genotype affects skeletal muscle strength in elite athletes. **J Sports Sci Med**, v. 8, p. 410-8, 2009b.

DA SILVA, J. F. et al. Aptidão aeróbia e capacidade de sprints repetidos no futebol: comparação entre as posições. 2009.

DAROS, L. B. et al. ANÁLISE COMPARATIVA DAS CARACTERÍSTICAS ANTROPOMÉTRICAS E DE VELOCIDADE EM ATLETAS DE FUTEBOL DE DIFERENTES CATEGORIAS-DOI: 10.4025/reveducfis. v19i1. 4319. **Revista da Educação Física/UEM**, v. 19, n. 1, p. 93-100, 2008.

DAY, S. et al. No correlation between circulating ACE activity and VO<sub>2</sub>max or mechanical efficiency in women. **European Journal of Applied Physiology**, v. 99, n. 1, p. 11-18, 2007/01/01 2007.

DELMONICO, M. J. et al. Alpha-actinin-3 (ACTN3) R577X polymorphism influences knee extensor peak power response to strength training in older men and women. **J Gerontol A Biol Sci Med Sci**, v. 62, n. 2, p. 206-12, Feb 2007.

DI SALVO, V. et al. Analysis of high intensity activity in Premier League soccer. **Int J Sports Med**, v. 30, n. 3, p. 205-12, Mar 2009.

DIAS, R. G. et al. Polimorfismos genéticos determinantes da performance física em atletas de elite. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 13, n. 3, p. 8, 2007.

DRUZHEVSKAYA, A. M. et al. Association of the ACTN3 R577X polymorphism with power athlete status in Russians. **Eur J Appl Physiol**, v. 103, n. 6, p. 631-4, Aug 2008.

FIFA. FIFA.com/About FIFA. 2011. Disponível em: <<http://www.fifa.com/aboutfifa/federation/associations.html>>. Acesso em: 01 maio 2013.

FOLLAND, J. et al. Angiotensin-converting enzyme genotype affects the response of human skeletal muscle to functional overload. **Exp Physiol**, v. 85, n. 5, p. 575-9, Sep 2000.

GARATACHEA, N. et al. ACTN3 R577X Polymorphism and Explosive Leg Muscle Power in Elite Basketball Players. **Int J Sports Physiol Perform**, May 20 2013.

GAYAGAY, G. et al. Elite endurance athletes and the ACE I allele--the role of genes in athletic performance. **Hum Genet**, v. 103, n. 1, p. 48-50, Jul 1998.

GENTIL, P. et al. Lack of association of the ACE genotype with the muscle strength response to resistance training. **European Journal of Sport Science**, v. 12, n. 4, p. 331-337, 2012/07/01 2011a.

GENTIL, P. et al. ACTN3 R577X polymorphism and neuromuscular response to resistance training. **Journal of Sports Science and Medicine**, v. 10, n. 2, p. 7, 2011b.

GOMEZ-GALLEGO, F. et al. Endurance performance: genes or gene combinations? **Int J Sports Med**, v. 30, n. 1, p. 66-72, Jan 2009.

GORDON, C. C.; CHUMLEA, W. C.; ROCHE, A. F. Stature, recumbent length, and weight. In: LOHMAN, T. G.; ROCHE, A. F., et al (Ed.). **Anthropometric standardization reference manual**. 1. Champaign: Human Kinetics, 1988. p.177.

GORDON, S. E. et al. ANG II is required for optimal overload-induced skeletal muscle hypertrophy. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 280, n. 1, p. E150-9, Jan 2001.

GRONEK, P. et al. ACE genotype in professional field hockey players. **Trends Sport Sci**, v. 1, p. 38-42, 2013.

HAGBERG, J. M. et al. VO<sub>2</sub> max is associated with ACE genotype in postmenopausal women. **J Appl Physiol**, v. 85, n. 5, p. 1842-6, Nov 1998.

HANSON, E. D. et al. ACTN3 genotype does not influence muscle power. **Int J Sports Med**, v. 31, n. 11, p. 834-8, Nov 2010.

HARRISON, G. H. et al. Skinfold thicknesses and measurement technique. In: LOHMAN, T. G.; ROCHE, A. F., et al (Ed.). **Anthropometric standardization reference manual**. 1. Champaign: Human Kinetics, 1988. p.177.

HOFF, J.; HELGERUD, J. Endurance and strength training for soccer players: physiological considerations. **Sports Med**, v. 34, n. 3, p. 165-80, 2004.

HOWLEY, E. T.; BASSETT, D. R., JR.; WELCH, H. G. Criteria for maximal oxygen uptake: review and commentary. **Med Sci Sports Exerc**, v. 27, n. 9, p. 1292-301, Sep 1995.

ISPIRLIDIS, I. et al. Time-course of changes in inflammatory and performance responses following a soccer game. **Clin J Sport Med**, v. 18, n. 5, p. 423-31, Sep 2008.

JACKSON, A. S.; POLLOCK, M. L. Generalized equations for predicting body density of men. **Br J Nutr**, v. 40, n. 3, p. 497-504, Nov 1978.

JONES, A.; MONTGOMERY, H. E.; WOODS, D. R. Human performance: a role for the ACE genotype? **Exerc Sport Sci Rev**, v. 30, n. 4, p. 184-90, Oct 2002.

JONES, A.; WOODS, D. R. Skeletal muscle RAS and exercise performance. **Int J Biochem Cell Biol**, v. 35, n. 6, p. 855-66, Jun 2003.

JUFFER, P. et al. Genotype distributions in top-level soccer players: a role for ACE? **Int J Sports Med**, v. 30, n. 5, p. 387-92, May 2009.

KIM, C. H. et al. ACE DD genotype is unfavorable to Korean short-term muscle power athletes. **Int J Sports Med**, v. 31, n. 1, p. 65-71, Jan 2010.

KRUSTRUP, P. et al. Muscle and blood metabolites during a soccer game: implications for sprint performance. **Med Sci Sports Exerc**, v. 38, n. 6, p. 1165-74, Jun 2006.

LITTLE, T.; WILLIAMS, A. G. Specificity of acceleration, maximum speed, and agility in professional soccer players. **J Strength Cond Res**, v. 19, n. 1, p. 76-8, Feb 2005.

LUCIA, A. et al. ACTN3 genotype in professional endurance cyclists. **Int J Sports Med**, v. 27, n. 11, p. 880-4, Nov 2006.

MACARTHUR, D. G.; NORTH, K. N. A gene for speed? The evolution and function of alpha-actinin-3. **Bioessays**, v. 26, n. 7, p. 786-95, Jul 2004.

MACARTHUR, D. G.; NORTH, K. N. The ACTN3 Gene and Human Performance. In: (Ed.). **Genetic and Molecular Aspects of Sport Performance**: Wiley-Blackwell, 2011. p.204-214. ISBN 9781444327335.

MACARTHUR, D. G. et al. An Actn3 knockout mouse provides mechanistic insights into the association between alpha-actinin-3 deficiency and human athletic performance. **Hum Mol Genet**, v. 17, n. 8, p. 1076-86, Apr 15 2008.

MASSIDDA, M. et al. **ACTN-3 and ACE genotypes in elite male Italian athletes**. Anthropological Review. 75: 51 p. 2012.

MEIRA-LIMA, I. V. et al. Angiotensinogen and angiotensin converting enzyme gene polymorphisms and the risk of bipolar affective disorder in humans. **Neuroscience Letters**, v. 293, n. 2, p. 103-106, 2000.

MICHELI, M. L. et al. Angiotensin-converting enzyme/vitamin D receptor gene polymorphisms and bioelectrical impedance analysis in predicting athletic performances of Italian young soccer players. **J Strength Cond Res**, v. 25, n. 8, p. 2084-91, Aug 2011.

MILLS, M. et al. Differential expression of the actin-binding proteins, alpha-actinin-2 and -3, in different species: implications for the evolution of functional redundancy. **Hum Mol Genet**, v. 10, n. 13, p. 1335-46, Jun 15 2001.

MOHR, M.; KRUSTRUP, P.; BANGSBO, J. Match performance of high-standard soccer players with special reference to development of fatigue. **J Sports Sci**, v. 21, n. 7, p. 519-28, Jul 2003.

\_\_\_\_\_. Fatigue in soccer: a brief review. **J Sports Sci**, v. 23, n. 6, p. 593-9, Jun 2005.

MONTGOMERY, H. E. et al. Association of angiotensin-converting enzyme gene I/D polymorphism with change in left ventricular mass in response to physical training. **Circulation**, v. 96, n. 3, p. 741-7, Aug 5 1997.

MONTGOMERY, H. E. et al. Human gene for physical performance. **Nature**, v. 393, n. 6682, p. 221-2, May 21 1998.

MORAN, C. N. et al. Association analysis of the ACTN3 R577X polymorphism and complex quantitative body composition and performance phenotypes in adolescent Greeks. **Eur J Hum Genet**, v. 15, n. 1, p. 88-93, Jan 2007.

MUNIESA, C. A. et al. World-class performance in lightweight rowing: is it genetically influenced? A comparison with cyclists, runners and non-athletes. **Br J Sports Med**, v. 44, n. 12, p. 898-901, Sep 2010.

MYERSON, S. et al. Human angiotensin I-converting enzyme gene and endurance performance. **J Appl Physiol**, v. 87, n. 4, p. 1313-6, Oct 1999.

NAZAROV, I. B. et al. The angiotensin converting enzyme I/D polymorphism in Russian athletes. **Eur J Hum Genet**, v. 9, n. 10, p. 797-801, Oct 2001.

NIEMI, A. K.; MAJAMAA, K. Mitochondrial DNA and ACTN3 genotypes in Finnish elite endurance and sprint athletes. **Eur J Hum Genet**, v. 13, n. 8, p. 965-9, Aug 2005.

NORMAN, B. et al. Strength, power, fiber types, and mRNA expression in trained men and women with different ACTN3 R577X genotypes. **J Appl Physiol**, v. 106, n. 3, p. 959-65, Mar 2009.

NORTH, K. N. et al. A common nonsense mutation results in alpha-actinin-3 deficiency in the general population. **Nat Genet**, v. 21, n. 4, p. 353-4, Apr 1999.

OSIECKI, R. et al. Parâmetros antropométricos e fisiológicos de atletas profissionais de futebol. **Revista da Educação Física/UEM**, v. 18, n. 2, p. 177-182, 2008.

PAPADIMITRIOU, I. et al. The ACTN3 gene in elite Greek track and field athletes. **International journal of sports medicine**, v. 29, n. 4, p. 352, 2008a.

PAPADIMITRIOU, I. D. et al. The ACTN3 gene in elite Greek track and field athletes. **Int J Sports Med**, v. 29, n. 4, p. 352-5, Apr 2008b.

PASQUARELLI, B. N. et al. Relationship between the Bangsbo Sprint Test with sprint, agility, lower limb power and aerobic capacity tests in soccer players. **Revista Andaluza de Medicina del Deporte**, v. 3, n. 3, p. 5, 2010.

PIMENTA, E. M. et al. Effect of Gene Actn3 on Strength and Endurance in Soccer Players. **J Strength Cond Res**, Mar 27 2013.

PIMENTA, E. M. et al. The ACTN3 genotype in soccer players in response to acute eccentric training. **Eur J Appl Physiol**, Aug 13 2011.

PRADO, W. L. et al. Perfil antropométrico e ingestão de macronutrientes em atletas profissionais brasileiros de futebol, de acordo com suas posições. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 12, p. 61-65, 2006.

PUTHUCHEARY, Z. et al. The ACE gene and human performance: 12 years on. **Sports Med**, v. 41, n. 6, p. 433-48, Jun 1 2011.

RALEIGH, S. M. Epigenetic regulation of the ACE gene might be more relevant to endurance physiology than the I/D polymorphism. **J Appl Physiol**, v. 112, n. 6, p. 1082-3, Mar 2012.

RANKINEN, T. et al. No association between the angiotensin-converting enzyme ID polymorphism and elite endurance athlete status. **J Appl Physiol**, v. 88, n. 5, p. 1571-5, May 2000.

REILLY, T.; BANGSBO, J.; FRANKS, A. Anthropometric and physiological predispositions for elite soccer. **J Sports Sci**, v. 18, n. 9, p. 669-83, Sep 2000.

RIENZI, E. et al. Investigation of anthropometric and work-rate profiles of elite South American international soccer players. **J Sports Med Phys Fitness**, v. 40, n. 2, p. 162-9, Jun 2000.

RIGAT, B. et al. An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. **J Clin Invest**, v. 86, n. 4, p. 1343-6, Oct 1990.

RIGAT, B. et al. PCR detection of the insertion/deletion polymorphism of the human angiotensin converting enzyme gene (DCP1) (dipeptidyl carboxypeptidase 1). **Nucleic Acids Res**, v. 20, n. 6, p. 1433, Mar 25 1992.

RIVIERE, G. et al. Epigenetic regulation of somatic angiotensin-converting enzyme by DNA methylation and histone acetylation. **Epigenetics**, v. 6, n. 4, p. 478-89, Apr 2011.

RUIZ, J. R. et al. ACTN3 R577X polymorphism does not influence explosive leg muscle power in elite volleyball players. **Scand J Med Sci Sports**, v. 21, n. 6, p. e34-41, Dec 2011.

SANTIAGO, C. et al. ACTN3 genotype in professional soccer players. **Br J Sports Med**, v. 42, n. 1, p. 71-3, Jan 2008.

SANTIAGO, C. et al. Is there an association between ACTN3 R577X polymorphism and muscle power phenotypes in young, non-athletic adults? **Scand J Med Sci Sports**, v. 20, n. 5, p. 771-8, Oct 2010.

SCOTT, R. A. et al. ACTN3 and ACE genotypes in elite Jamaican and US sprinters. **Med Sci Sports Exerc**, v. 42, n. 1, p. 107-12, Jan 2010.

SCOTT, R. A. et al. No association between Angiotensin Converting Enzyme (ACE) gene variation and endurance athlete status in Kenyans. **Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol**, v. 141, n. 2, p. 169-75, Jun 2005.

SETO, J. T. et al. Deficiency of alpha-actinin-3 is associated with increased susceptibility to contraction-induced damage and skeletal muscle remodeling. **Hum Mol Genet**, v. 20, n. 15, p. 2914-27, Aug 1 2011.

SHANMUGAM, V.; SELL, K. W.; SAHA, B. K. Mistyping ACE heterozygotes. **PCR Methods Appl**, v. 3, n. 2, p. 120-1, Oct 1993.

SHARP, N. C. The human genome and sport, including epigenetics and athleticogenomics: a brief look at a rapidly changing field. **J Sports Sci**, v. 26, n. 11, p. 1127-33, Sep 2008.

SHENOY, S. et al. Association of Angiotensin Converting Enzyme gene Polymorphism and Indian Army Triathletes Performance. **Asian J Sports Med**, v. 1, n. 3, p. 143-50, Sep 2010.

SILVA, A. S. R. et al. Elaboração de tabelas de percentis através de parâmetros antropométricos, de desempenho, bioquímicos, hematológicos, hormonais e psicológicos em futebolistas profissionais. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 18, p. 148-152, 2012.

SIRI, W. E. Body composition from fluid space and density. In: BROZEK, J. e HANSCHERL, A. (Ed.). **Techniques for measuring body composition**. Washington: National Academy of Science, 1961. p.223-224.

SQUIRE, J. M. Architecture and function in the muscle sarcomere. **Curr Opin Struct Biol**, v. 7, n. 2, p. 247-57, Apr 1997.

STOLEN, T. et al. Physiology of soccer: an update. **Sports Med**, v. 35, n. 6, p. 501-36, 2005.

TAYLOR, R. R. et al. Elite athletes and the gene for angiotensin-converting enzyme. **J Appl Physiol**, v. 87, n. 3, p. 1035-7, Sep 1999.

THOMAS, J. R.; NELSON, J. K.; SILVERMAN, S. J. **Métodos de pesquisa em atividade física**. ArtMed, 2007.



THOMPSON, J. et al. Angiotensin-converting enzyme genotype and successful ascent to extreme high altitude. **High Alt Med Biol**, v. 8, n. 4, p. 278-85, Winter 2007.

TOBINA, T. et al. Association between the angiotensin I-converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism and endurance running speed in Japanese runners. **The Journal of Physiological Sciences**, v. 60, n. 5, p. 325-330, 2010/09/01 2010.

VINCENT, B. et al. ACTN3 (R577X) genotype is associated with fiber type distribution. **Physiol Genomics**, v. 32, n. 1, p. 58-63, Dec 19 2007.

VINCENT, B. et al. Protective role of alpha-actinin-3 in the response to an acute eccentric exercise bout. **J Appl Physiol**, v. 109, n. 2, p. 564-73, Aug 2010.

VINCENT, B. et al. Alpha-actinin-3 deficiency does not significantly alter oxidative enzyme activity in fast human muscle fibres. **Acta Physiol (Oxf)**, v. 204, n. 4, p. 555-61, Apr 2012.

WAGNER, H. et al. Biomechanical muscle properties and angiotensin-converting enzyme gene polymorphism: a model-based study. **Eur J Appl Physiol**, v. 98, n. 5, p. 507-15, Nov 2006.

WALSH, S. et al. ACTN3 genotype is associated with muscle phenotypes in women across the adult age span. **J Appl Physiol**, v. 105, n. 5, p. 1486-91, Nov 2008.

WILLIAMS, A. G. et al. Circulating angiotensin converting enzyme activity is correlated with muscle strength. **Med Sci Sports Exerc**, v. 37, n. 6, p. 944-8, Jun 2005.

WILLIAMS, A. G. et al. The ACE gene and muscle performance. **Nature**, v. 403, n. 6770, p. 614, Feb 10 2000.

WISLOFF, U. et al. Strong correlation of maximal squat strength with sprint performance and vertical jump height in elite soccer players. **Br J Sports Med**, v. 38, n. 3, p. 285-8, Jun 2004.

WISLOFF, U.; HELGERUD, J.; HOFF, J. Strength and endurance of elite soccer players. **Med Sci Sports Exerc**, v. 30, n. 3, p. 462-7, Mar 1998.

WOODS, D. et al. Elite swimmers and the D allele of the ACE I/D polymorphism. **Hum Genet**, v. 108, n. 3, p. 230-2, Mar 2001.

WOODS, D. R.; HUMPHRIES, S. E.; MONTGOMERY, H. E. The ACE I/D polymorphism and human physical performance. **Trends Endocrinol Metab**, v. 11, n. 10, p. 416-20, Dec 2000.

YAMIN, C. et al. ACE ID genotype affects blood creatine kinase response to eccentric exercise. **J Appl Physiol**, v. 103, n. 6, p. 2057-61, Dec 2007.

YANG, N. et al. ACTN3 genotype is associated with human elite athletic performance. **Am J Hum Genet**, v. 73, n. 3, p. 627-31, Sep 2003.

ZHANG, B. et al. The I allele of the angiotensin-converting enzyme gene is associated with an increased percentage of slow-twitch type I fibers in human skeletal muscle. **Clin Genet**, v. 63, n. 2, p. 139-44, Feb 2003.

## APÊNDICE

## APÊNDICE 1

### Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Título da Pesquisa:

**“INFLUÊNCIA DO POLIMORFISMO DO ACTN3 E ACE/D EM INDICADORES DE PERFORMANCE EM ATLETAS PROFISSIONAIS DE FUTEBOL”**

*Por favor, leia com atenção as informações contidas abaixo antes de dar o seu consentimento para participação neste estudo.*

Prezado (a) Senhor (a):

Gostaríamos de convidá-lo (a) a participar da pesquisa intitulada **“INFLUÊNCIA DO POLIMORFISMO DO ACTN3 E ACE/D EM INDICADORES DE PERFORMANCE EM ATLETAS PROFISSIONAIS DE FUTEBOL”** realizada na Universidade Federal do Paraná. Os objetivos da pesquisa serão “Analisar a Influência do polimorfismo do ACTN3 e ACE na performance de atletas profissionais de futebol”.

A sua participação será muito importante e ela se realizará da seguinte maneira: antropometria (realizar medidas de peso corporal, altura e medidas de dobras cutâneas), testes de campo específicos do futebol (salto vertical, velocidade de 30m, agilidade e resistência cardiovascular) e coletas de sangue venoso do braço (5ml de sangue por profissional de enfermagem com experiência na coleta utilizando os devidos materiais descartáveis para este procedimento).

Gostaríamos de esclarecer que sua participação será totalmente **voluntária**, podendo você recusar-se de participar, ou mesmo desistir a qualquer momento sem que isto acarrete qualquer ônus ou prejuízo à sua pessoa. Informamos ainda que as informações recebidas serão utilizadas apenas para os fins desta pesquisa e serão tratadas com o mais absoluto sigilo e confidencialidade, de modo a preservar a sua identidade.

Os benefícios esperados serão obter subsídios que possam contribuir para melhor entender a relação entre uma característica genética que têm se mostrado nas pesquisas relacionada com condições físicas importantes para atletas, e assim, podermos verificar qual a frequência e sua relação com o desempenho de jogadores de futebol.

**Informamos que o (a) senhor (a) não pagará ou será remunerado (a) para sua participação. Garantimos, contudo, que todas as despesas decorrentes dos materiais para o desenvolvimento da pesquisa serão financiadas pelos pesquisadores responsáveis da mesma.**

Caso você tenha dúvidas ou queira nos contatar para outros esclarecimentos estaremos disponíveis em: Professor Dr. Raul Osiecki, professor do Departamento de Educação Física da Universidade Federal do Paraná, campus Jardim Botânico, Rua Coração de Maria, 93, BR 116, km

95, Laboratório de Pesquisa do Centro de Estudos da Performance Física (CEPEFIS) e seu aluno de Doutorado Fabiano de Macedo Salgueirosa, além dos contatos via e-mail para: [raulfisioex@gmail.com](mailto:raulfisioex@gmail.com) (Raul) e [fabiano.salgueirosa@gmail.com](mailto:fabiano.salgueirosa@gmail.com) (Fabiano).

Eu \_\_\_\_\_ li o texto acima e compreendi a natureza e objetivo do estudo o qual fui convidado para participar. A explicação que recebi menciona os riscos e benefícios do estudo. Eu entendi e estou livre para interromper minha participação no estudo a qualquer momento sem justificar minha decisão e que não receberei nenhuma quantia financeira para participar do mesmo.

Eu concordo voluntariamente em participar deste estudo.

---

**Assinatura do avaliado**

RG: \_\_\_\_\_

---

**Assinatura do Pesquisador Responsável**

Prof. Ms. Fabiano de Macedo Salgueirosa

RG: 6.375.790-0 (PR)

Curitiba, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2013.