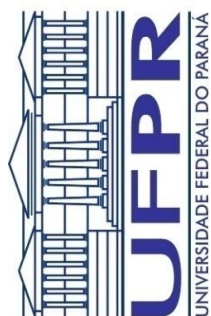
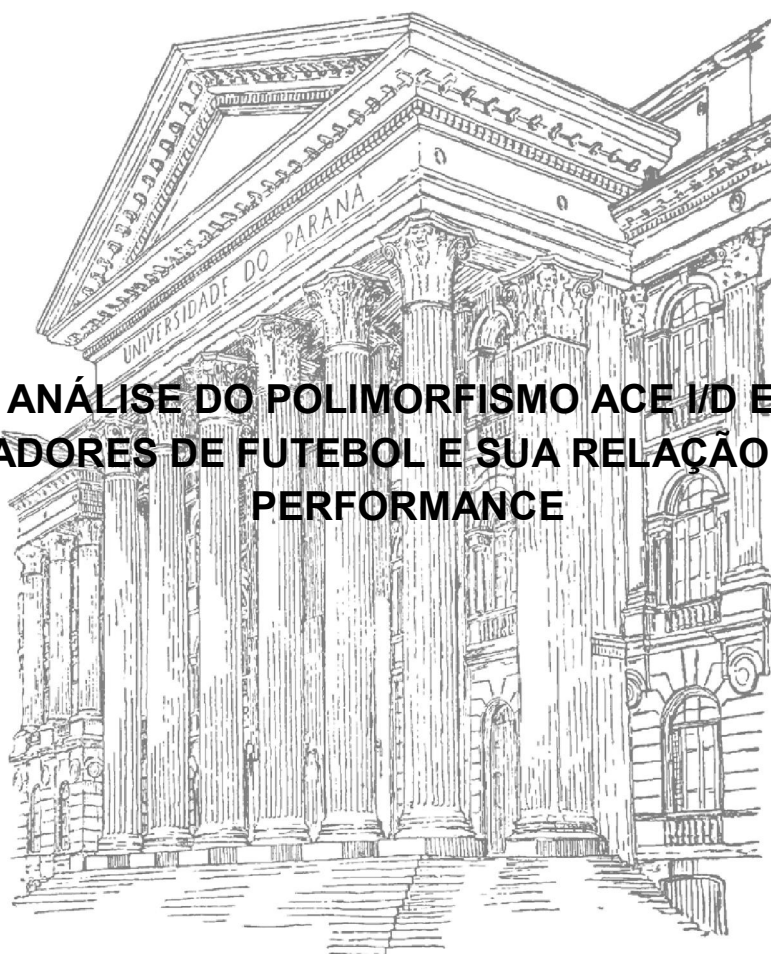


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM EDUCAÇÃO FÍSICA

ELTON BONFIM GOMES

**ANÁLISE DO POLIMORFISMO ACE /ID EM
JOGADORES DE FUTEBOL E SUA RELAÇÃO COM A
PERFORMANCE**



CURITIBA

2013

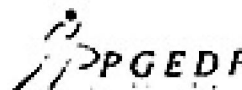
ELTON BONFIM GOMES

**ANÁLISE DO POLIMORFISMO ACE I/D EM
JOGADORES DE FUTEBOL E SUA RELAÇÃO COM A
PERFORMANCE**

Dissertação apresentada como requisito parcial para a obtenção do Título de Mestre em Educação Física do Programa de Pós-Graduação em Educação Física, do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Raul Osiecki

ELTON BONFIM GOMES
ANÁLISE DO POLIMORFISMO ACE I/D EM JOGADORES DE FUTEBOL E SUA RELAÇÃO COM A
PERFORMANCE
2013



TERMO DE APROVAÇÃO

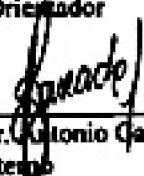
ELTON BONFIM GOMES

“Análise do polimorfismo ACE I/D em jogadores de futebol e sua relação com a performance”

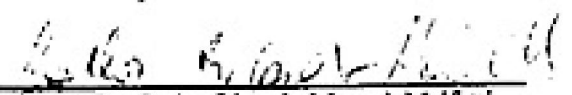
Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Educação Física – Área de Concentração Exercício e Esporte, Linha de Pesquisa de Desempenho Esportivo, do Programa de Pós-Graduação em Educação Física do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, pela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



Professor Dr. Raul Osiecki
Presidente/Orientador



Professor Dr. Antonio Carlos Dourado
Membro Externo



Professor Dr. Carlos Ricardo Maneck Malfatti
Membro Externo

Curitiba, 28 de Maio de 2013.



AGRADECIMENTOS

Meus agradecimentos são enormes a todos os meus colegas e familiares que fizeram e fazem parte de minha vida e contribuíram decisivamente em vários momentos importantes que vivi.

Gostaria de agradecer a minha mãe Maria do Carmo Bonfim, um eterno exemplo pra mim de aprendizagem como pessoa, que me ensina muitas coisas importantes, uma pessoa maravilhosa que enfrentou muitas dificuldades em sua vida desde meu nascimento em uma época de muito preconceito e através de muito amor, bondade, companheirismo e determinação conquista muitas vitórias sempre com muito respeito pelas pessoas. Mãe devo tudo a você!!

Agradeço também aos grandes momentos que vivo na presença de meu irmão Everton Bonfim dos Santos que também cultiva em seu coração uma bondade e um jeito de ser todo peculiar que muitas vezes nos encanta com sua capacidade sempre surpreendedora.

Jamais poderia deixar de agradecer a minha esposa Ellin Priscila Aparecida de Souza Bonfim que despertou em meu coração um grande amor, uma pessoa maravilhosa que sempre com muito carinho, amor e dedicação em suas idéias e atitudes me faz crescer todos os dias como pessoa, tornando-nos juntos um casal muito feliz. Te amo muito meu amor!!

Agradeço demais aos meus colegas da carreira acadêmica André de Camargo Smolareck, Cassiano Rech, Edson Itarú Kaminagakura e Marcelo Papoti por todos os ensinamentos compartilhados que foram decisivos para eu ter chegado até aqui. Sou eternamente agradecido!!!

A galera do Cepefis que me acolheu e me ajudou a desenvolver minhas pesquisas e me fez sentir em casa mesmo vindo de outra cidade, acreditaram em mim e sempre serão especiais em minha vida. São eles Raul Osiecki, Renata Wassmansdorf, Patrick Rodrigues, Ednaldo Oliveira, Vitor Bertoli do Nascimento, Luiz Fernando Novack, Larissa Bobroff Daros e Fabiano de Macedo Salgueirosa. Meus grandes parceiros.

Especial agradecimento também para a professora Geresa Gabriele Seniski e Fabiano de Macedo Salgueirosa, pois foram fundamentais para o desenvolvimento desta pesquisa, bem como a Universidade Tuiuti do Paraná, que concedeu seu espaço e equipamentos necessários para isto. Muito Obrigado!

DEDICATÓRIA

Dedico a DEUS que soberano sobre todas as coisas, ajuda-me a percorrer meus caminhos me guiando e protegendo, dando-me forças para superar todas as minhas dificuldades desde sempre e assim será para sempre.

Em especial a minha querida avó Emília Bonfim que infelizmente não se encontra mais presente em nossas vidas, mas que sempre estará em nossos corações pela pessoa destemida que foi, guerreira, jamais será esquecida. Um dia nós nos reuniremos novamente. Saudades...

LISTA DE QUADROS

Quadro 1.	Localização dos pontos anatômicos para as dobras cutâneas.....	34
------------------	--	----

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Estatística descritiva dos atletas de futebol das categorias Sub-15 e Sub-20 analisados no presente estudo, resultados representados por valores em média \pm desvio padrão e intervalo de confiança (IC95%) inferior e superior.....44
- Tabela 2.** Frequências relativas dos genótipos e dos alelos do polimorfismo ACE I/D dos grupos investigados Sub-15 e Sub-20 e Sub-15 + Sub-20, bem como as frequências encontradas por demais pesquisas.....45
- Tabela 3.** Análise do teste de χ^2 dos genótipos DD, ID e II comparando-se as categorias Sub-15, Sub-20 e Sub-15+Sub-20, do presente estudo, com demais estudos da literatura.....45
- Tabela 4.** Análise das frequências dos alelos D e I comparando-se as categorias Sub-15, Sub-20 e Sub-15+Sub-20, do presente estudo, com demais estudos da literatura.....47
- Tabela 5.** Resultado das comparações entre os testes de performance física dos atletas de futebol subdivididos por genótipo (DD, ID, II) do gene ACE I/D.....48

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Mapeamento genético de regiões específicas nos cromossomos humanos com polimorfismos associados com performance e aptidão física e saúde.....	21
Figura 2. Perfil das corridas de alta intensidade durante períodos de 15 minutos de um jogo de futebol profissional. Barra escura referente ao 1º tempo e a barra clara ao 2º tempo.....	26
Figura 3. Exemplo do funcionamento do Sistema Renina Angiotensina.....	28
Figura 4. Representação do teste de impulsão vertical com contramovimento livre executado pelos atletas do presente estudo.....	35
Figura 5. Teste de zigzag (agilidade) de 20m.....	37
Figura 6. Teste de potência aeróbica máxima 20x20m.....	37
Figura 7. Exemplo de determinação do espaço físico destinado ao teste de Yo-Yo IR2.....	39
Figura 8. Determinação visual de análise de eletroforese revelado em gel de agarose para caracterização dos genótipos.....	40
Figura 9. Determinação visual da segunda reação em cadeia da polimerase (PCR) em eletroforese de gel de agarose a 1% utilizando <i>primer</i> de inserção específico ao alelo I.....	42
Figura 10. Frequências determinadas entre os genótipos DD, ID e II das categorias Sub-15 e Sub-20 de jogadores brasileiros de futebol.....	46
Figura 11. Frequências determinadas entre os alelos D e I das categorias Sub-15 e Sub-20 de atletas brasileiros de futebol.....	48
Figura 12. Atividade circulante da Enzima Conversora da Angiotensina (ECA) em atletas Kenianos corredores de elite.....	55

Figura 13.Distribuição dos diferentes tipos de fibras musculares de um indivíduo de cada genótipo.....56

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

\approx	Aproximadamente igual.
\geq	Maior ou igual.
\leq	Menor ou igual.
μM	Micromolar.
%	Porcentagem.
IC95%	Intervalo de Confiança de 95%.
[Lac]	Concentração de lactato sanguíneo.
A	Base nitrogenada purínica Adenina.
ANOVA	Análise de variância.
AT ₁ R	Receptor tipo 1 da angiotensina.
ANG I	Angiotensina I.
ANG II	Angiotensina II.
ACE	Gene do polimorfismo que codifica a atividade da enzima conversora da angiotensina.
ACTN3	Gene do polimorfismo que transcreve a proteína muscular α -actinina3.

Alelo	Versão alternativa de um gene.
Alelo I	Alelo de inserção de 287 pares de base do polimorfismo da enzima conversora da angiotensina.
Alelo D	Alelo de deleção que não apresenta a variação polimórfica do polimorfismo da enzima conversora da angiotensina.
BK₂R	Receptor tipo 2 da bradicinina.
C	Base nitrogenada pirimidina Citosina.
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa.
CONEP	Comissão Nacional de Ética em Pesquisa.
CMJ	Teste de impulsão vertical com a técnica de contramovimento (<i>countermovement jump</i>).
Cm	Centímetro.
CK	Creatina Kinase.
DNA	Ácido Desoxirribonucleico.
df	Grau de liberdade.
DP	Desvio Padrão.
DMSO	Dimetilsulfóxido.
<i>et al,</i>	E colaboradores.

Endurance	Termo associado à resistência.
ECA	Enzima Conversora da Angiotensina.
Eletroforese	Procedimento de deslizamento dos amplicons através da utilização de equipamento com emissão de corrente elétrica.
EDTA	Ácido Etilenodiamino Tetra-acético.
Ex post facto	Delineamento de pesquisa em que o pesquisador por meio de fatos já ocorridos, sugere relações entre variáveis.
F	Teste estatístico F.
FIFA	Federação Internacional de Futebol.
FC	Frequência Cardíaca.
G	Base nitrogenada purina Guanina.
íntron	Um segmento do DNA.
Kg	Quilograma.
Km.h⁻¹	Quilômetro por hora.
LDH	Lactato Desidrogenase.
m	Metro.
ml.kg.min⁻¹	Mililitros por quilograma por minuto.

mM	Milimol.
µg/mL	Micromol por mililitro.
Ng	Nanograma.
Pb	Pares de bases nitrogenadas.
Primer	Sequência complementar de um filamento molde de DNA.
Performance	Desempenho esportivo de alto nível para uma característica.
PCR	Reação em cadeia da Polimerase.
P	Nível de significância.
RAS	Sistema Renina Angiotensina.
start-stop	Sistema de acionamento inicial e final por sensores de cronometragem de tempo (fotocélulas).
Sprint	Corrida em alta velocidade.
S	Segundos.
salting out	Método de separação de proteínas.
SNP	Polimorfismo de nucleotídeo único.
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

TBE	Tampão composto por Tris, Ácido Bórico e EDTA.
Taq	Enzima DNA polimerase utilizada na amplificação dos fragmentos de DNA.
T	Base nitrogenada pirimidina Timina.
V30m	Velocidade de corrida de 30 metros.
VO₂máx	Consumo máximo de oxigênio.
vs	Versus.
χ²	Teste estatístico de Qui-quadrado.
Yo-Yo IR2	<i>Yo-Yo Intermittent Recovery Test</i> nível 2
W.kg⁻¹	Potência relativa ao peso corporal.

RESUMO

Introdução: Inicialmente acreditava-se que o treinamento específico aliado a estratégias alimentares eram variáveis que explicavam o alto desempenho esportivo atingido pelos atletas. No entanto, com o tempo pesquisadores buscaram também investigar o relacionamento de polimorfismos genéticos associados com determinadas características nesta população de diferentes esportes. **Objetivo:** Neste sentido, o objetivo do presente estudo foi investigar relações entre o polimorfismo de inserção/deleção do gene *ACE* que codifica a atividade da enzima conversora da angiotensina (ECA) em atletas jogadores de futebol das categorias de base comparativamente a outros estudos na literatura com jogadores de futebol e com amostra de indivíduos brasileiros (grupo controle), e também, verificar a relação dos genótipos com a *performance* em testes físicos. **Métodos:** Foram genotipados para o polimorfismo do gene *ACE* I/D 45 atletas de futebol das categorias Sub-15 (n=23) e Sub-20 (n=22), assim como realizados testes de *performance* física para as variáveis: consumo máximo de oxigênio (VO_2max), distância no Yo-Yo *Intermittent recovery test 2* (Yo-Yo IR2), agilidade, velocidade de 30 metros (V30m), impulsão vertical e potência pico relativa na impulsão vertical. A análise estatística foi composta por estatística descritiva com média, desvio padrão e intervalo de confiança 95%. As comparações das frequências genótípicas foram analisadas pelo teste de Qui-quadrado de *Pearson* e as frequências alélicas pelo teste de Qui-quadrado com correção de Yates. As comparações das *performances* entre os genótipos foram desenvolvidas por meio de análise de variância ANOVA one-way, assumindo em todas as análises nível de significância de $p \leq 0,05$. **Resultados:** As frequências genótípicas dos atletas das categorias Sub-15 e Sub-20 foram diferentes $\chi^2=11,81$ e $p=0,01$, no entanto, as frequências alélicas entre as duas categorias não diferiram significativamente $\chi^2=0,37$ e $p=0,54$. Em relação ao grupo controle, somente houve diferença para a frequência genotípica da categoria Sub-20 $\chi^2=7,29$ e $p=0,02$. Foi possível identificar que as frequências genótípicas e alélicas das categorias Sub-15 e Sub-20 corroboram com outros estudos da literatura também desenvolvidos com jogadores de futebol. Nenhuma associação foi encontrada entre os genótipos dos atletas das categorias Sub-15 e Sub-20 com a *performance* física, contudo, as análises demonstraram níveis de significância sugestivos ($p=0,08$ e $p=0,09$) para as variáveis impulsão vertical e V30m, respectivamente. **Conclusão:** Pode-se concluir que as categorias analisadas diferem entre as distribuições genótípicas do polimorfismo *ACE* I/D, devido principalmente a maior frequência do genótipo ID e genótipo DD nas categorias Sub-20 e Sub-15, respectivamente. Este polimorfismo também não parece estar associado com a *performance* física dos atletas de futebol e também não demonstra capacidade para discriminar atletas com predisposição genética favorável para a modalidade comparativamente ao grupo controle. Estes fatores em âmbito geral parecem representar que o polimorfismo de inserção/deleção do gene *ACE* não parece, individualmente, capaz de caracterizar atletas com predisposição genética favorável para o esporte, no entanto, atletas de futebol tendem a carrear maior frequência do alelo D em relação ao alelo I.

Palavras-chaves: *ACE* I/D, Jogadores de Futebol e Desempenho Físico.

ABSTRACT

Introduction: Initially it was believed that specific training combined with dietary strategies were variables that explain the high performance sports achieved by athletes. However, with time researchers also sought to investigate the relationship of genetic polymorphisms associated with certain features of different sports in this population. **Objective:** In this sense, the objective of this study was to investigate the relationship between polymorphism of insertion / deletion ACE gene that encodes the activity of angiotensin converting enzyme (ACE) in soccer players in the lower grades compared to other studies in the literature with football players and a sample of Brazilian individuals (control group), and also investigate the relationship between genotypes with performance in physical tests. **Methods:** We genotyped for the polymorphism of the ACE gene I/D 45 soccer athletes of categories under 15 (U-15, n=23) and under 20 (U20, n=22), as well as physical performance tests conducted for the variables: maximal oxygen uptake (VO₂max), distance in the Yo-Yo intermittent recovery test 2 (Yo-Yo IR2), agility, speed 30 meters (V30m), vertical jump and peak power on the vertical jump. Statistical analysis consisted of descriptive statistics with mean, standard deviation and 95% confidence interval. Comparisons of genotype frequencies were analyzed by Chi-square test and allele frequencies by Chi-square test with Yates correction. Comparisons of performances between genotypes were developed by analysis of variance one-way ANOVA, taking in all analyzes a significance level of $p \leq 0,05$. **Results:** The genotype frequencies of the athletes in U-15 and U-20 were different $\chi^2 = 11,81$ and $p = 0,01$, however, allele frequencies between the two categories did not differ significantly $\chi^2 = 0,37$ and $p = 0,54$. In relation to the control group only was no difference in the frequency genotypic of category U-20 $\chi^2 = 7,29$ and $p = 0,02$. It was possible to identify the genotypic and allelic frequencies of the categories U-15 and U-20 are similar to other studies in the literature also developed with soccer players. No association was found between the genotypes of the athletes in U-15 and U-20 with physical performance, however, the analysis showed suggestive levels of significance ($p = 0,08$ and $p = 0,09$) for the variables vertical jump and V30m, respectively. **Conclusion:** It can be concluded that the analyzed categories differ between the genotype distribution of the ACE polymorphism, mainly due to higher frequency of genotype ID and DD genotype in the categories U-20 and U-15, respectively. This polymorphism does not seem to be associated with the physical performance of athletes in football and also shows no ability to discriminate athletes with genetic predisposition to form favorable compared to the control group. These factors appear to represent in the general scope of that polymorphism of insertion/deletion ACE gene does not appear individually capable of characterizing athletes with favorable genetic predisposition for sport, however, soccer players tend to careering D allele frequency greater relative the allele I.

Keywords: ACE I/D, Soccer Players and Physical Performance.

1. INTRODUÇÃO	20
1.1 Problema de Pesquisa.....	24
1.1.2 Objetivos	24
1.1.2.1 Objetivo Geral	25
1.1.2.2 Objetivos Específicos.....	25
2. REVISÃO DE LITERATURA	25
2.1 Características do Futebol.....	25
2.2 Sistema Renina-Angiotensina (RAS).....	27
2.3 O Polimorfismo do gene ACE I/D em Atletas	29
3. PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS	32
3.1 Comitê de Ética em Pesquisa.....	32
3.2 Tipo de Pesquisa	32
3.3 Amostra	32
3.4 Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).....	33
3.5 Caracterização Antropométrica	33
3.6 Avaliações do desempenho físico	35
3.6.1 Impulsão Vertical.....	35
3.6.2 Velocidade de deslocamento 30m	36
3.6.3 Teste de Agilidade	36
3.6.7 Maximum Aerobic Power Test	37
3.6.8 Yo-Yo Intermittent Recovery Test II	38
3.7 Coletas Sanguíneas	39
3.7.1 Extração do DNA genômico dos atletas.....	39

3.7.2 Genotipagem do polimorfismo I/D do íntron 16 do gene ACEI/D	39
3.8 Análises Estatísticas	42
4. RESULTADOS	44
5. DISCUSSÃO	49
5.1 Testes físicos e <i>performance</i> de jogadores de futebol	49
5.2 Associações entre as frequências alélicas e genotípicas com atletas de futebol	52
6. CONCLUSÃO	57
7. REFERÊNCIAS	59
8.1 APÊNDICE 1	71

1. INTRODUÇÃO

As pesquisas envolvendo *performance* física de atletas em modalidades esportivas sempre foi um interesse de médicos e demais profissionais ligados a medicina do esporte, acreditando que o desenvolvimento de atletas de elite era adquirido por meio dos processos de treinamento que os atletas eram submetidos, assim como por alimentação específica suprimindo as necessidades dos mesmos (DIAS *et al*, 2007; MACARTUR & NORTH, 2005).

Contudo, somente os processos envolvendo tais variáveis ao longo do tempo não foram suficientes em determinarem o *status* atlético de atletas, tendo em vista que alguns adquirem níveis nacionais e outros internacionais de competitividade.

Portanto o interesse em investigar a contribuição genética no desempenho humano passou a ser um dos enfoques das pesquisas, acreditando que parte das explicações das performances dos atletas poderia ser em razão de uma predisposição genética favorável (DIAS *et al*, 2007).

Através do mapeamento do genoma humano resultando em duas publicações de destaque literário (LANDER *et al*, 2001; VENTER *et al*, 2001) foi possível determinar a estrutura genética humana que é representada por 23 pares de cromossomos homólogos. Na genética, os polimorfismos são caracterizados por variações nas sequências dos genes do ácido desoxirribonucleico (DNA), nos humanos, contido dentro dos 23 pares de cromossomos (VENTER *et al*, 2001).

Estas variações ocorrem através de um dos tipos de polimorfismo como: nucleotídeo único ou simples (*SNP*) nas bases nitrogenadas adenina (A), timina (T), citosina (C) e guanina (G), ou também por meio de inserção/deleção de sequências destas bases nitrogenadas (repetições por microssatélites), sendo ambas as técnicas analisadas em gel de eletroforese (RINGO, 2005).

Atualmente, tem sido considerado na literatura científica a existência de aproximadamente 200 polimorfismos genéticos relacionados com fenótipos de *performance* e de aptidão física e saúde (BRAY *et al*, 2009; AHMETOV & ROGOZKIN, 2009). Figura 1.

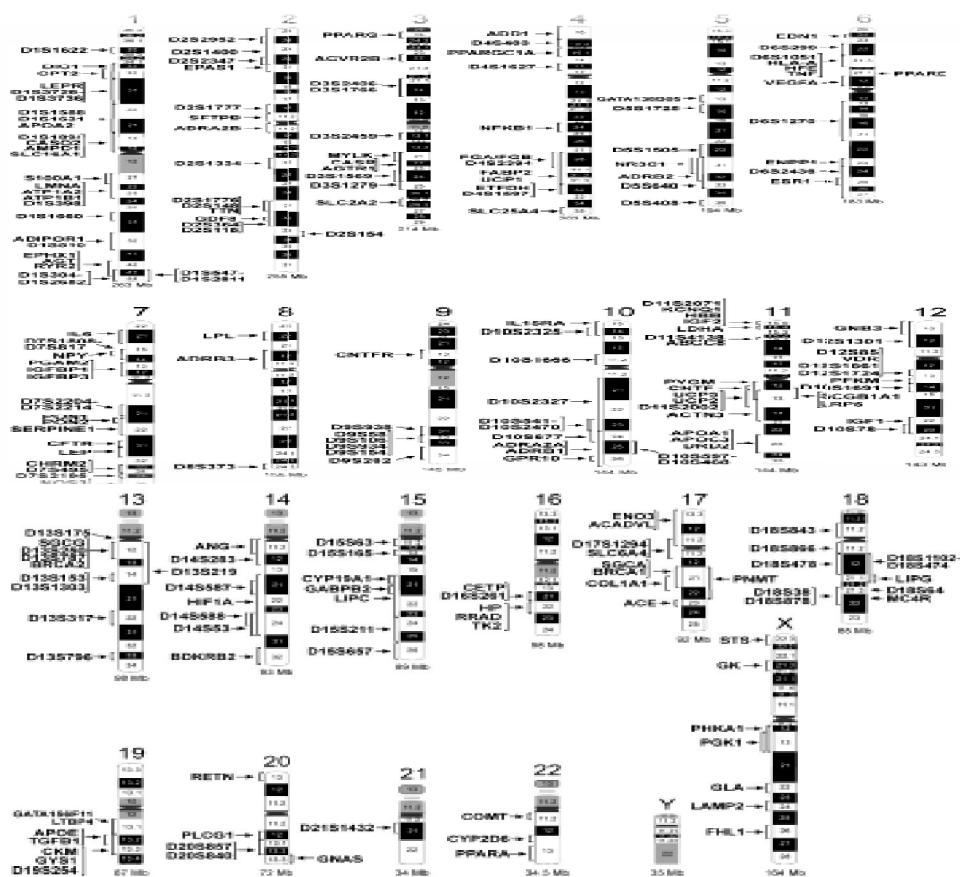


Figura 1. Mapeamento genético de regiões específicas nos cromossomos humanos com polimorfismos associados com *performance* e aptidão física e saúde (BRAY *et al*, 2009).

Os polimorfismos de genes candidatos a explicar as variações de aptidão humana com respeito aos fenótipos de *performance*, estão sendo direcionados para características voltadas à força/potência (RUIZ *et al*, 2009; SANTIAGO *et al*, 2010b; SCOTT *et al*, 2010) *endurance* (RUIZ *et al*, 2009; COLLINS *et al*, 2004) e perfil poligênico ótimo para característica fenotípica (AHMETOV *et al*, 2008, RUIZ *et al*, 2009; SANTIAGO *et al*, 2010a; WILLIAMS & FOLLAND, 2008).

Dentre as diferentes variantes genéticas candidatas mais investigadas nos estudos envolvendo atletas, o polimorfismo de 287 pares de base (MA *et al*, 2013) de inserção (I) ou deleção (D) do gene (*ACE*) que codifica a atividade da enzima conversora da angiotensina (ECA) com fragmentos de 490 e 190 pares de base, respectivamente (JUFFER *et al*, 2009; LÚCIA *et al*, 2004, RODRÍGUEZ-ROMO *et al*, 2012), localizadas no cromossomo 17 posição q23 (BRAY *et al*, 2009), foi o primeiro polimorfismo a ser relacionado com a performance física humana (GAYAGAY *et al*, 1998; MONTGOMERY *et al*, 1998) e por este motivo, é descrito como polimorfismo mais investigado na literatura ao longo dos anos (MACARTHUR & NORTH, 2005; CALÒ & VONA, 2008).

O enfoque de grande parcela das pesquisas atualmente encontra-se direcionado para a caracterização de vários polimorfismos na população geral (controles) e seus respectivos grupos de atletas com diferentes níveis competitivos (elite e não elite) (AHMETOV *et al*, 2008; CIESZCZYK *et al*, 2009; KIM *et al*, 2010; MONTGOMERY *et al*, 1998; MYERSON *et al*, 1999; NAZAROV *et al*, 2001; RUIZ *et al*, 2009; SCOTT *et al*, 2010; YANG *et al*, 2003) da mesma forma para o grau de responsividade ao treinamento físico em amostra de homens e mulheres (CLARKSON *et al*, 2005; DELMONICO *et al*, 2007; FOLLAND *et al*, 2000) área de secção transversal da coxa (ZEMPO *et al*, 2010) proporção de diferentes tipos de fibras musculares (VINCENT *et al*, 2007; ZHANG *et al*, 2003) ou até mesmo a frequência entre alelos de atletas de diferentes categorias e níveis competitivos (MONTGOMERY *et al*, 1998; SCOTT *et al*, 2010; WOODS *et al*, 2001).

Contudo, algumas lacunas ainda estão carentes de serem melhores esclarecidas na literatura ligadas aos polimorfismos genéticos, tendo em vista que a *performance* de atletas tem sido mostrada associada a um “perfil genotípico favorável” para uma determinada característica (LUCÍA *et al*, 2010), predispondo aos atletas com um determinado perfil genético uma condição para seleção natural perante as modalidades esportivas (AHMETOV *et al*, 2008).

No que diz respeito aos estudos desenvolvidos com polimorfismo genético envolvendo jogadores de futebol, tais investigações foram direcionadas a pesquisar a prevalência do polimorfismo do gene que transcreve a proteína muscular α -actinina3 (*ACTN3*) (PIMENTA *et al*, 2012; SANTIAGO *et al*, 2008) e o polimorfismo genético *ACE I/D* (JUFFER *et al*, 2009; MICHELI *et al*, 2011; MASSIDDA *et al*, 2012).

No estudo de Pimenta *et al*, (2012) com o gene *ACTN3* de jogadores de futebol brasileiros, os autores encontraram uma prevalência do genótipo RR (40%), RX (35%) e XX (24%) na amostra, caracterizando uma prevalência acentuada para o alelo 577R ($\cong 75\%$) do que ao alelo 577X ($\cong 25\%$) nos atletas.

Da mesma forma, Santiago *et al*, (2008) com jogadores de futebol de elite da Espanha que constataram uma diferença para o genótipo RR e de frequência do alelo 577R, significativamente, maiores nos jogadores de futebol em comparação com indivíduos controle e atletas de endurance.

Com respeito ao polimorfismo *ACE I/D* que codifica a atividade da ECA, poucos estudos investigaram a associação dos genótipos em atletas de futebol. O estudo de Juffer *et al*, (2009) envolvendo jogadores de futebol que participavam da primeira e segunda divisão do futebol da Espanha encontraram uma diferença significativamente maior para o genótipo ID e significativamente menor para o genótipo II comparado ao grupo de corredores de elite (>5000m) de nível olímpico.

No entanto, o polimorfismo *ACE I/D* não demonstrou diferença estatisticamente significante na comparação realizada entre as frequências dos alelos D e I com os outros grupos de corredores e controles, contudo, a frequência do alelo D nos jogadores de futebol atingiu a 60% e o alelo I 40%.

Em outra investigação, houve uma associação entre o genótipo ID do gene *ACE I/D* com desempenho de potência muscular de salto vertical envolvendo jovens jogadores de futebol da Itália, sinalizando que este polimorfismo genético parece contribuir como uma das formas para seleção de possíveis talentos para a modalidade (MICHELI *et al*, 2011).

No estudo de Saber-Ayad *et al*, (2013) envolvendo jovens atletas de futebol egípcios, os autores objetivaram analisar o polimorfismo *ACE I/D* e os efeitos de resposta cardíaca ao longo de um período de treinamento. Neste estudo, os autores encontraram uma elevada predominância do alelo D em relação ao alelo I no grupo de atletas, bem como, alterações em parâmetros cardíacos como na fração de ejeção, diâmetro do ventrículo direito durante a diástole e pressão sistólica na artéria pulmonar entre os genótipos do grupo de atletas.

Portanto, estes estudos com jogadores de futebol, sinalizam uma tendência dos atletas expressarem um perfil genotípico mais direcionado para alelos associados à força e potência (D e R) (YANG *et al*, 2003; WOODS *et al*, 2001) do que para resistência (I e X) (MYERSON *et al*, 1999; PASQUA *et al*, 2011) dos polimorfismos genéticos dos genes *ACE I/D* e *ACTN3*, respectivamente.

Neste sentido, a literatura ainda carece de mais estudos para melhor entendimento das associações entre polimorfismos genéticos com aspectos relacionados à *performance* física de atletas jogadores de futebol, tendo em vista o desenvolvimento de poucas investigações até o presente momento publicadas na modalidade.

1.1 Problema de Pesquisa

- Existem diferenças entre os genótipos e a frequência alélica do gene *ACE I/D* de jogadores de futebol de diferentes categorias em relação à população controle? As frequências deste polimorfismo em jogadores brasileiros diferem dos estudos da literatura com outros futebolistas? Qual a relação deste polimorfismo com fenótipos de *performance* relacionados ao futebol?

1.1.2 Objetivos

1.1.2.1 Objetivo Geral

- Investigar o polimorfismo do gene *ACE I/D* em uma amostra de jogadores de futebol das categorias Sub-15 e Sub 20 da cidade de Curitiba-PR, Brasil.

1.1.2.2 Objetivos Específicos

- Comparar as frequências genótípicas e alélicas do polimorfismo *ACE I/D* entre as categorias Sub-15 e Sub-20, assim como, comparar com as frequências encontradas com jogadores de futebol de outros estudos e de sujeitos saudáveis brasileiros publicadas na literatura.
- Analisar a relação dos genótipos II, ID e DD das categorias Sub-15 e Sub-20 com a *performance* em testes físicos associados ao futebol.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Características do Futebol

O futebol de acordo com dados da *Fédération Internationale de Football Association* (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 jogado 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 (Figura 2) 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 9 e 13km (CASTAGNA *et al*, 2007), sendo que 2 a 3km em corridas de acima de 15

km.h⁻¹ e aproximadamente 0,6 km em corridas acima de 20 km.h⁻¹ (Di SALVO *et al*, 2009).

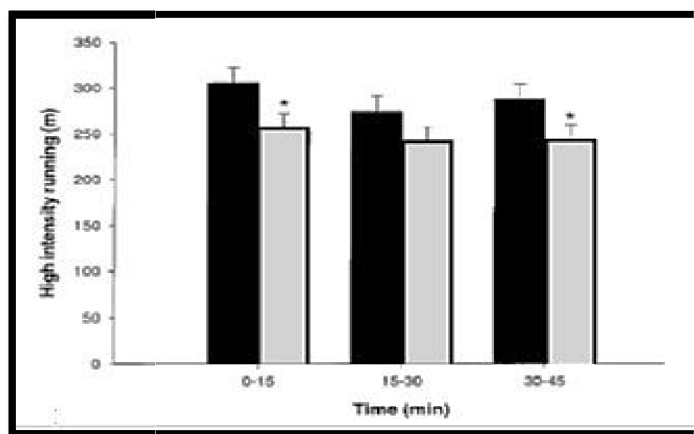


Figura 2. Perfil das corridas de alta intensidade durante períodos de 15 minutos de um jogo de futebol profissional. Barra escura referente ao 1º tempo e a barra clara ao 2º tempo (KRUSTRUP & BANGSBO, 2001).

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 (CASTAGNA *et al*, 2007; FORNAZIERO, 2009; KRUSTRUP & BANGSBO, 2001).

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 (COELHO *et al*, 2011; ISPIRLIDIS *et al*, 2008).

Em corroboração ao crescente volume de informações que hoje estão presentes na literatura para que os profissionais do futebol possam estar programando as cargas de treinamento para os atletas, com o intuito de proporcionar condições apropriadas para competição em alto nível, as pesquisas baseadas na biologia molecular também tem se esforçado para

representar o perfil de genes candidatos a explicar variações nas performances dos atletas de futebol (SANTIAGO *et al*, 2008; PIMENTA *et al*, 2012; JUFFER *et al*, 2009; MICHELI *et al*, 2011), para que a pré-disposição genética dos atletas possa também contribuir como uma alternativa para a seleção de futuros talentos para o esporte (MICHELI *et al*, 2011) bem como explorar associações entre fenótipos de *performance* necessários para o futebol (JUFFER *et al*, 2009; MICHELI *et al*, 2011).

2.2 Sistema Renina-Angiotensina (RAS)

O sistema circulatório responsável pelo transporte e manutenção da homeostase líquida corporal, tem seu controle efetuado através da quantidade de líquidos extracelulares, quando ocorre elevação na concentração de líquidos provoca aumento na volemia, e por consequência, aumento na pressão do sangue contra os vasos sanguíneos.

Basicamente, o organismo por sua vez, visando controlar a homeostase corporal aumenta a atividade dos rins para que a quantidade de líquido corporal seja excretada a fim de proporcionar a normalização da pressão arterial.

O sistema renina-angiotensina (RAS) desempenha função primordial no controle hemodinâmico da pressão arterial em longo prazo, sendo descrito na literatura como um processo importante relacionado a um aperfeiçoamento do sistema circulatório humano (GUYTON & HALL, 2011).

O RAS atua de maneira a controlar os níveis da pressão arterial interna no organismo através da liberação da enzima renina secretada pelos rins quando os níveis de pressão encontram-se demasiadamente baixos (hipotensão arterial). A renina que se encontra sintetizada e também armazenada nas células justaglomerulares dos rins é liberada na corrente sanguínea quando as pressões exercidas pelos líquidos dentro dos rins diminuem, também por baixas concentrações de sal, ou ainda, através de sinalização simpática (WOODS *et al*, 2000).

Uma vez a renina circulante na corrente sanguínea, esta ativa uma proteína inativa circulatória, o angiotensinogênio (ou substrato da renina), produzida no fígado, esta proteína atua como substrato da renina para

formação de um conjunto de dez aminoácidos denominado angiotensina I (ANG I) (PUTHUCHEARY *et al*, 2011), sendo este processo atuante dentro do sistema circulatório entre 30 minutos e 1 hora após a liberação da renina nos rins.

Contudo, o peptídeo ANG I possui pequena capacidade para vasoconstrição das veias, artérias e arteríolas, não sendo capaz de produzir alterações funcionais impactantes para regulação da pressão arterial.

Então, logo após a formação da ANG I, mais dois aminoácidos são retirados das ligações peptídicas dando origem a angiotensina II (ANG II). Este processo de conversão se desenvolve por meio de atuação da enzima conversora da angiotensina (ECA) (PUTHUCHEARY *et al*, 2011). Este peptídeo de oito aminoácidos, ao contrário da ANG II, possui uma grande capacidade vasopressora promovendo a vasoconstrição dos vasos sanguíneos (JONES *et al*, 2002; OSTRANDER *et al*, 2009).

A ECA além de catalisar a conversão da ANG I também tem outra função, degrada o hormônio bradicinina (CALÒ & VONA, 2008; JONES *et al*, 2002; OSTRANDER *et al*, 2009) que tem por uma das características ação vasodilatadora dos vasos sanguíneos, assim como, reduz a atividade do receptor tipo 2 da bradicinina (BK₂R) (PUTHUCHEARY *et al*, 2011).

Todas estas cascatas de reações bioquímicas associadas ao aumento da retenção líquida nos rins, pela ação do hormônio aldosterona, proporcionam elevação dos níveis hemodinâmicos do corpo que se encontravam inicialmente baixos, e assim, promovem o controle da homeostase circulatória do organismo humano. Figura 3.

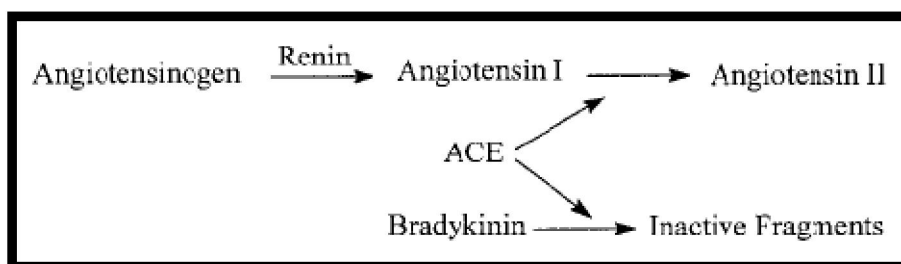


Figura 3. Exemplo do funcionamento do RAS, de acordo com Jones *et al*, (2002).

2.3 O Polimorfismo do gene ACE I/D em Atletas

O polimorfismo do gene ACE que regula a função da ECA composta pela presença ou inserção (I) ou ausência ou deleção (D) de uma sequência de 287 pares de base no *intron* 16 (JONES *et al*, 2002; MA *et al*, 2013; RIGAT *et al*, 1990) cromossomo 17 (BRAY *et al*, 2009; OSTRANDER & VONA, 2008) tem sido demonstrado na literatura atingir uma prevalência, aproximada, na população caucasiana entre 25% para genótipo II, 50% ID e 25% DD (JONES & WOODS, 2003; JONES *et al*, 2002), contudo estas prevalências parecem sofrer forte influências de variáveis como etnia (SCOTT *et al*, 2010) e especialidade esportiva por exemplo (HOLDYS *et al*, 2011) e que se desconsideradas, possivelmente, podem influenciar nos resultados (RANKINEN *et al*, 2000).

A frequência do alelo D do gene ACE em atletas tem sido descrito na literatura associada a fenótipos musculares orientados à força e potência (NAZAROV *et al*, 2001; WOODS *et al*, 2001) e o alelo I a atletas com características esportivas associadas à endurance física (ALVAREZ *et al*, 2000; GAYAGAY *et al*, 1998; MYERSON *et al*, 1999), resistência muscular à fadiga (MONTGOMERY *et al*, 1999), sucesso em atletas escaladores que atingiram o cume do monte (4,807m) ser dependente do alelo I (TSIANOS *et al*, 2005) e também como alelo que contribui para o desenvolvimento de atletas de elite de *endurance* (ALVAREZ *et al*, 2000).

As hipóteses que norteiam as relações encontradas entre os estudos de associação desenvolvidos, parecem desenvolver uma ligação com as diferentes ações de atividade da ECA, pelo fato que a presença do alelo D tem sido demonstrado promover maior atividade da ECA tanto em soro (ALVAREZ *et al*, 2000; RIGAT *et al*, 1990) como ao nível músculo esquelético (FOLLAND *et al*, 2000; JONES & WOODS, 2003) e cardíaco (DANSER *et al*, 1995; RIZZO *et al*, 2003).

Alguns estudos desenvolvidos objetivaram investigar se o polimorfismo do gene ACE I/D estaria associado com variações no VO_2 máx de atletas (MYERSON *et al*, 1999; RANKINEN *et al*, 2000) e indivíduos não atletas (ALMEIDA *et al*, 2012; ZHAO *et al*, 2003).

No estudo de Myerson *et al*, (1999) os autores analisaram um grupo de 495 atletas britânicos de diversas especialidades esportivas, assim como uma amostra de 1,096 indivíduos controle livres de doenças cardiovasculares. Os autores subdividiram os atletas de acordo com as predominâncias metabólicas musculares das suas especialidades esportivas, sendo $\leq 2000\text{m}$ (predominância anaeróbia/geração de potência), 400-3,000m (mistos aeróbios e anaeróbios) e $\geq 5,000\text{m}$ (predominância aeróbia e treinados em *endurance*).

Nos resultados, os autores verificaram uma frequência relativa ascendente do alelo I de acordo com o aumento das exigências esportivas direcionadas para a *performance* de endurance dos atletas, esta frequência relativa variou de 0,35%, 0,53% e 0,62% para $\leq 2000\text{m}$, 400-3,000m e $\geq 5,000\text{m}$, respectivamente, com nível de significância para tendência linear de $p=0,009$, enquanto que no grupo controle a frequência relativa do alelo de inserção atingiu quase 0,50% da amostra.

Estes dados sugerem que o alelo I em atletas britânicos parece possuir maior frequência de distribuição em grupos de atletas com perfil favorável para esportes de endurance do que para os que demandam exigência metabólica pertinente ao metabolismo anaeróbio, sendo esta distribuição diferente da normal populacional.

Em contrapartida, outro estudo conduzido por Rankinen *et al*, (2000) com 192 homens atletas com $\text{VO}_2\text{máx}$ em média de $78,6 \pm 3,2 \text{ ml.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$ e 189 homens sedentários média de $36,4 \pm 7,4 \text{ ml.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$, sendo todos os participantes de origem caucasiana.

Neste estudo os autores não verificaram diferenças entre as distribuições dos genótipos entre o grupo de atletas e o grupo controle, da mesma forma para a frequência dos alelos I e D ($p=0,214$ e $p=0,096$), respectivamente, mesmo quando o grupo de atletas foi separado em função do $\text{VO}_2\text{máx}$, os autores constaram que a frequência dos genótipos não diferiu significativamente ($p=0,648$). Sugerindo que para a população investigada de característica caucasiana de diferentes países, o polimorfismo do gene ACE I/D

parece não suportar a hipótese que este polimorfismo seja determinante para a *performance* em esportes de *endurance*.

Com o intuito de investigar o comportamento das distribuições dos genótipos do gene *ACE* I/D entre homens e mulheres atletas de campo universitários japoneses, Min *et al*, (2009) genotiparam 277 atletas (176 homens e 101 mulheres) com experiência média de $7,0 \pm 2,0$ anos que competiam em corridas que variavam entre 100 e 10,000m. Os atletas foram agrupados de acordo com as distâncias competitivas sendo, curtas distâncias ≤ 200 m, meias distâncias 400-800m e longas distâncias $\geq 1,500$ m.

Nos resultados, os autores corroboraram com o estudo de Myerson *et al*, (1999), quando todos os atletas foram agrupados houve aumento na presença do alelo de inserção de acordo com o aumento das distâncias de competição ($p < 0,001$) e frequência do alelo I aumentada de 66,2% no grupo $\geq 1,500$ m ($p < 0,001$). Entretanto, os resultados apontaram na análise de regressão logística somente para associação entre o gênero masculino para os genótipos ID x ≤ 200 m IC95% (1,34-4,32 e $P=0,004$), ID x $\geq 1,500$ m IC95% (1,07-4,03 e $P=0,030$) e II x $\geq 1,500$ m (1,67-6,43 e $P=0,001$). Concluindo que o alelo I está mais relacionado com a *performance* de corridas em distâncias $\geq 1,500$ m e que parece ser dependente do gênero.

Mais precisamente em se tratando do polimorfismo *ACE* I/D um estudo de revisão publicado recentemente direcionado para a *performance* física humana (PUTHUCHEARY *et al*, 2011) os autores concluem que os mecanismos que desempenham papel predominante nas interações encontradas dos estudos na literatura do gene *ACE* I/D com os fenótipos musculares, ainda carecem de serem melhor investigados.

Uma das alternativas empregadas na literatura pelos pesquisadores considerando o aspecto da interação gene-gene para um determinado fenótipo de *performance* em atletas, ocorre por meio da investigação de polimorfismos que corroboram para uma determinada característica de *performance*.

Tais pesquisas analisam a hipótese de “perfeita” combinação entre polimorfismos em atletas de elite, descritas como “perfil poligênico favorável” (RUIZ *et al*, 2010; RUIZ *et al*, 2009; WILLIAMS & FOLLAND, 2008) com o intuito de melhorar a compreensão na literatura no que diz respeito ao complexo traço genético que contribui para o desenvolvimento de atletas campeões (LUCIA *et al*, 2010).

3. PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

3.1 Comitê de Ética em Pesquisa

A presente pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa 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.

3.2 Tipo de Pesquisa

Este estudo é caracterizado por pesquisa quantitativa do tipo transversal correlacional (THOMAS, NELSON & SILVERMAN 2007), pois não há manipulação das variáveis e nem desenvolvimento de grupo experimental, somente é desenvolvido uma coleta de dados entre variáveis de um grupo de pessoas as quais se pretende explorar suas relações.

Bem como pode ser caracterizado por estudo *ex post facto*, pois o pesquisador não tem controle dos efeitos das variáveis independentes sobre as dependentes, cabendo ao mesmo, observar, quantificar e interpretar seus efeitos encontrados (GAYA, 2008).

3.3 Amostra

A amostra foi composta por 45 jogadores de futebol, estes foram subdivididos por categorias Sub-15 (n=23) e Sub-20 (n=22). Para a seleção da amostra foi assumido o procedimento de amostragem intencional não probabilística por conveniência.

Os critérios de inclusão que foram utilizados no presente estudo foram: (1) atletas de futebol do sexo masculino com experiência em treinamento acima de 3 anos, que treinavam com frequência de 6 sessões semanais e estavam registrados pela confederação brasileira de futebol, (2) faixa etária entre 15 e 20 anos de idade, (3) caracterizados como aptos pela comissão médica dos seus clubes para a realização dos testes físicos, (4) consentimento por escrito para participação no estudo de acordo com o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) dos pais ou devidos responsáveis legais (APÊNDICE 1).

Por outro lado, também foram adotados critérios de exclusão dos atletas da amostra de acordo com as seguintes características: (1) não “aptos” ou “inaptos” pela comissão técnica dos clubes para participação na pesquisa, (2) se desejassem por livre e espontânea vontade absterem-se de realizar qualquer procedimento relacionado à coleta dos dados para a pesquisa e (3) não obtenção do consentimento por escrito do TCLE conforme descrito anteriormente.

3.4 Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

Antes de iniciar o procedimento das coletas de dados, os atletas/responsáveis legais manifestaram o consentimento por escrito juntamente ao termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (APÊNDICE 1), para composição amostral.

3.5 Caracterização Antropométrica

Após o consentimento por escrito do TCLE todos os atletas que participaram do estudo foram submetidos a testes antropométricos consistidos em avaliação da massa corporal, estatura, perímetros corporais e dobras cutâneas.

A massa corporal foi mensurada por meio de uma balança mecânica com precisão de 0,02kg com estadiômetro acoplado com precisão de 0,05 cm (Filizola®), para mensuração das respectivas medidas foi permitido aos atletas estarem trajados com calção e camisa de treinamento e descalços sobre o aparelho em posição ortostática com a cabeça voltada para o plano de

Frankfurt. Após uma inspiração máxima foi anotado o valor referente à estatura, o equipamento também calibrado previamente e a cada 3 testes.

Para as medidas de dobras cutâneas foram obedecidas às recomendações de Benedetti, Pinho & Ramos (2007) (Quadro 1) para as seguintes medidas de dobras cutâneas (subescapular, tríceps, peitoral, axilar média, supra-ilíaca, abdominal, coxa medial e panturrilha medial) utilizando um plicômetro da marca CESCORF[®], graduado em milímetros, e o protocolo proposto por Jackson & Pollock (1978) para a determinação do percentual de gordura corporal e da massa corporal magra.

Quadro 1. Localização dos pontos anatômicos para as dobras cutâneas

Dobras	Localizações das dobras cutâneas
Subescapular	Dois centímetros abaixo do ângulo inferior da escápula em ângulo de 45° em relação ao eixo longitudinal do corpo.
Tríceps	Na região posterior do braço, no ponto médio de uma linha imaginária entre o ponto distal e proximal do tríceps.
Peitoral	No ponto medial de uma linha imaginária traçada entre a linha axilar anterior e o mamilo.
Axilar Média	Longitudinalmente na linha axilar média, no mesmo nível do apêndice xifoide do osso esterno.
Supra-ilíaca	Obliquamente, no ponto médio de uma linha imaginária entre a última costela e a crista ilíaca.
Abdominal	Verticalmente a 2,5 cm a direita da cicatriz umbilical.
Coxa Medial	Paralelamente ao eixo longitudinal do corpo, na distância média de uma linha imaginária entre o trocânter femoral e a borda superior da patela.
Panturrilha Medial	Ponto medial de maior perímetro da perna.

3.6 Avaliações do desempenho físico

3.6.1 Impulsão Vertical

O teste de impulsão vertical com a técnica de contramovimento *jump* (*CMJ*) com livre utilização dos braços foi realizado com auxílio do equipamento SysJump® composto por duas barras posicionadas paralelamente ao solo onde os atletas executavam os saltos. Foi escolhida pela utilização da técnica *CMJ* em função da semelhança desta técnica com o movimento natural desenvolvido pelos atletas durante os saltos nos jogos, e assim possibilitar aproximação com situação real vivenciada em campo.

Para realização do teste *CMJ*, previamente foi permitido ao avaliado executar até três saltos verticais em intensidade auto-selecionada para familiarização com o equipamento e também como forma de aquecimento específico ao teste.

Posteriormente o período de familiarização e aquecimento, os atletas eram posicionados dentro de um espaço determinado entre as duas barras laterais do equipamento e após o final da contagem regressiva de três segundos era emitido um sinal sonoro para a realização de sua impulsão vertical máxima. Figura 4.



Figura 4. Representação do teste de impulsão vertical *CMJ* executado pelos atletas do presente estudo.

O protocolo utilizado consistiu em executar uma sequência de até cinco saltos consecutivos com intervalo de 1 minuto de recuperação passiva entre os saltos conforme protocolo descrito para jogadores de futebol (PASQUARELLI

et al, 2010; WISLØFF *et al*, 2004). Os atletas também foram orientados a realizarem uma flexão do joelho a aproximadamente um ângulo de 110°, justificando-se por se tratar de um ângulo ótimo para aplicação de força (FINNI *et al*, 2001). Sendo as variáveis altura da impulsão vertical (cm) e potência pico relativa ($W.kg^{-1}$) utilizadas como fenótipos de *performance* do teste, e somente foi considerado o melhor salto entre as tentativas para análise dos dados.

3.6.2 Velocidade de deslocamento 30m

Para verificar a capacidade de velocidade de deslocamento, foi utilizado o teste de velocidade de 30 metros (V30m) de início parado no mesmo local de treinamento dos atletas, devido sua validade comprovada previamente (SANTIAGO *et al*, 2010b).

Dentro de um percurso que traçado de 30 metros foi posicionado em cada extremidade (0m e 30m) dois aparelhos de fotocélulas com precisão de 0,001 segundos, de sistema *start-stop* automático de tempo, ajustados para a altura do quadril de cada participante. O início do teste ocorreu por livre intenção do atleta que estava posicionado 30 centímetros 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, portanto, desenvolve-se toda sua capacidade de deslocamento da maneira mais rápida possível.

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

3.6.3 Teste de Agilidade

O teste de agilidade específico para o futebol foi desenvolvido de acordo com as descrições estabelecidas por Rebelo & Oliveira (2006). O teste foi desenvolvido em um percurso de 20 metros, no mesmo gramado dos

treinamentos com mudança de direção a cada 4 metros em demarcações específicas (Figura 5).

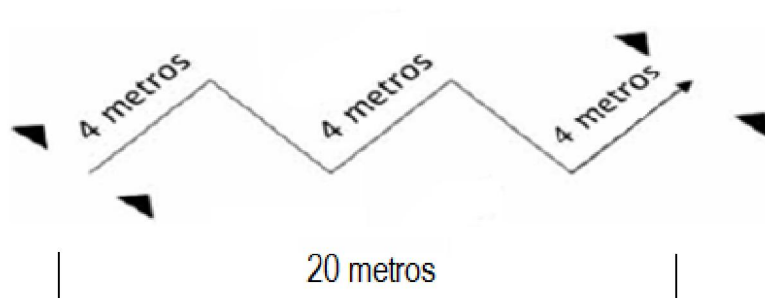


Figura 5. Teste de zigzag de 20m (REBELO & OLIVEIRA, 2006).

Os atletas correram em *sprint* de alta velocidade em deslocamento com mudanças de direção nas demarcações específicas. O teste foi executado duas vezes com 2 minutos de intervalo entre cada tentativa, sendo o menor tempo executado durante o teste por cada atleta a variável utilizada do teste.

3.6.7 Maximum Aerobic Power Test

Vinte e quatro horas após, o teste de potência aeróbia máxima (VO_2max) foi desenvolvido de acordo com estudo proposto para jogadores de futebol (DAROS *et al*, 2012). Os atletas iniciaram o teste em corrida incremental em um circuito estabelecido de 40 metros com mudanças de direção a cada 20 metros. (Figura 6).

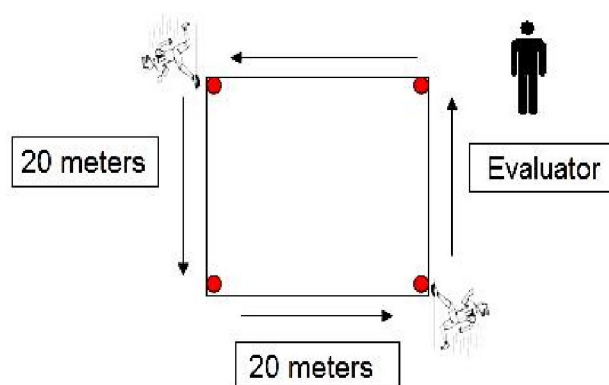


Figura 6. Teste de potência aeróbia máxima 20x20m (DAROS *et al*, 2012).

O teste iniciou em velocidade de 11,5 km.h⁻¹ com incrementos nas intensidades de 0,5 km.h⁻¹, sendo que a intensidade era conferida através de um aparelho de som com bips programados para os incrementos a cada minuto.

Sendo que ao som de cada bip os atletas deveriam estar correndo ao lado dos cones que demarcavam o percurso a cada 20 metros. Caso os atletas não conseguissem acompanhar o som dos bips e não passassem ao lado de dois cones consecutivamente, ou desistissem do teste por exaustão voluntária, o teste era interrompido, sendo a velocidade máxima atingida no teste registrada para determinação do VO₂máx de acordo com a seguinte equação: $VO_{2max} = (7,536 \times \text{velocidade máxima (km.h}^{-1}) - 65,275$ (DAROS *et al*, 2012).

3.6.8 Yo-Yo Intermittent Recovery Test II

24 horas após o teste de VO₂máx, os atletas foram submetidos ao teste Yo-Yo Intermittent Recovery Test nível 2 (Yo-Yo IR2) um teste específico para esportes intermitentes comumente utilizado no futebol (BANGSBO *et al*, 2008; PASQUARELLI *et al*, 2010). Este teste teve por finalidade avaliar a capacidade dos atletas de recuperação após exercício intenso. O teste consistiu em correr em intensidades programadas por tempos específicos marcados por bips sonoros.

Os atletas percorreram um percurso de 20 metros em sistema de ida e volta (20+20m) totalizando para cada corrida 40 metros percorridos, entre cada corrida houve intervalos de 10 segundos para recuperação ativa dentro de um espaço determinado de 5 metros (Figura 7).

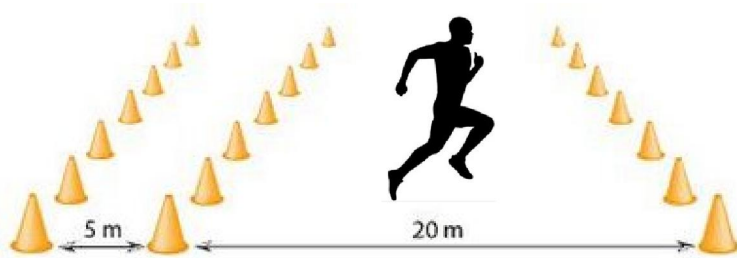


Figura 7. Exemplo de determinação do espaço físico destinado ao teste de Yo-Yo IR2 (BANGSBO *et al*, 2008).

O teste foi iniciado com sinais sonoros referentes a uma intensidade de corrida de 13 km.h^{-1} , sendo que o incremento na intensidade ocorreu com o avanço da execução do teste, através da diminuição dos intervalos entre os bips sonoros. Foi utilizada a distância total percorrida por cada atleta para análise dos dados referente ao teste.

3.7 Coletas Sanguíneas

A coleta de sangue dos atletas foi feita por uma enfermeira treinada a parti do sangue periférico venoso com auxílio de agulha para coletas múltiplas. A coleta foi realizada a vácuo em tubos de anticoagulante EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético) de 4mL (BD Vacutainer®). Os tubos foram armazenados sob refrigeração (2 a 8 °C) por no máximo 7 dias até a ocasião da extração do DNA.

3.7.1 Extração do DNA genômico dos atletas

A extração do DNA genômico dos atletas foi realizada a partir dos leucócitos do sangue periférico pela técnica de *salting out* (MILLER *et al*, 1988) com auxílio do kit Biopur Spin 50 (Biometrix, Curitiba) segundo informações do fabricante.

3.7.2 Genotipagem do polimorfismo I/D do íntron 16 do gene ACEI/D

Tanto os processos de extração do DNA quanto da genotipagem foram desenvolvidos em parceria com o laboratório de cultivo celular e genética humana da Universidade Tuiuti do Paraná. A genotipagem do polimorfismo I/D

do gene *ACEI/D* foi realizada pela técnica de PCR (Reação em Cadeia da Polimerase). Os atletas foram divididos em grupos de mesmo genótipo: DD, ID e II.

Como o polimorfismo I/D do gene *ACE* consiste na presença (inserção ou alelo "I") ou ausência (deleção ou alelo "D") de 287 pares de base no íntron 16 (MA *et al*, 2013). Dessa forma, parte do íntron 16 foi amplificada utilizando os seguintes iniciadores: direto 5'-TGGGACCACAGCGCCCGCCACTAC-3' e reverso 5'-TCGCCAGCCCTCCCATGCCATAA-3'. (LINDPAINTNER *et al*, 1995).

O sistema reacional foi composto por um volume total de 25µL, sendo composto por 1X Tampão para Taq, 3,0 mM MgCl₂, 0,2 mM de dNTP, 1,0 µM de cada indicador, 5% de dimetilsulfóxido (DMSO), 1 unidade de Taq DNA polimerase e 100 ng de DNA genômico como molde.

O programa de amplificação foi desenvolvido de acordo com os 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 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 190 pares de base (pb), enquanto o alelo I gera um amplicon de 490 pares de base, com a inserção de 287 pares de base. Figura 8.

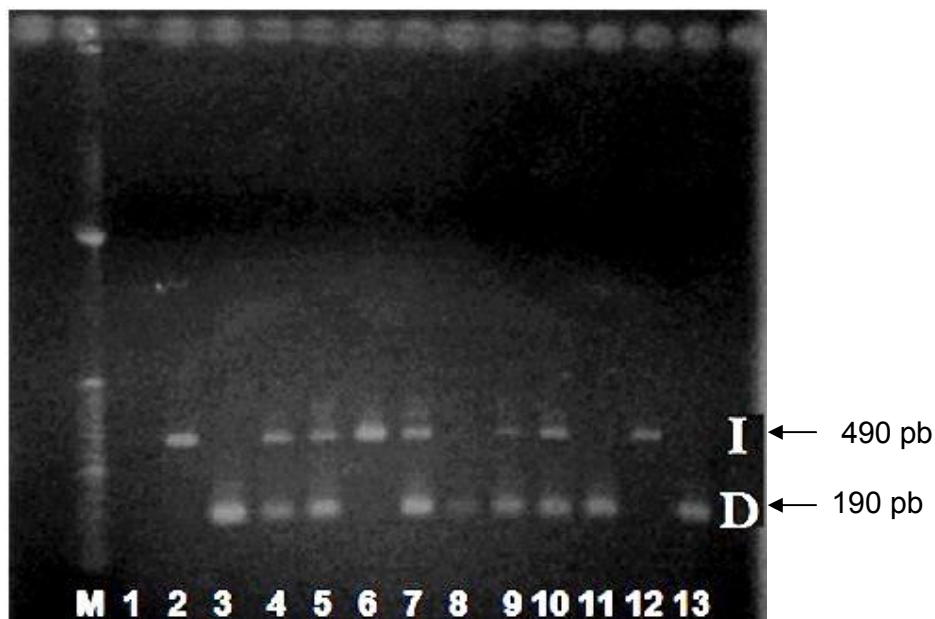


Figura 8. Determinação visual de análise de eletroforese revelado em gel de agarose para caracterização dos genótipos. Sendo, M para marcador de peso molecular, linha 1 para controle negativo, linhas 2, 6 e 12 para genótipo II, linhas 4, 5, 7, 9 e 10 para genótipo ID e linhas 3, 8, 11 e 13 para genótipo DD do polimorfismo do gene *ACE* I/D em cada atleta.

De acordo com a literatura, a classificação errônea de heterozigotos ID como sendo homozigotos DD pode ocorrer devido à amplificação preferencial do alelo D e ineficiência de amplificação do alelo I (SHANMUGAM, SELL & SAHA, 1993). Portanto, para aumentar a especificidade da genotipagem, as amostras que representaram genótipo DD foram reavaliadas por uma nova PCR utilizando um indicador direto específico para a inserção: 5'-TTTGAGACGGAGTCTCGCTC-3' (SHANMUGAM, SELL & SAHA, 1993) e o indicador reverso 5'-GATGTGGCCATCACATTCGTCAGAT-3'.

A reação adicional (específica para a inserção) foi desenvolvida sob as mesmas concentrações dos reagentes da primeira PCR. Sendo assim: 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 5µg/mL. O aparecimento de uma banda de 408 pares de base foi indicativo da presença do alelo I, ou seja, as amostras anteriormente genotipadas como DD passaram a ser classificadas como ID. Figura 9.

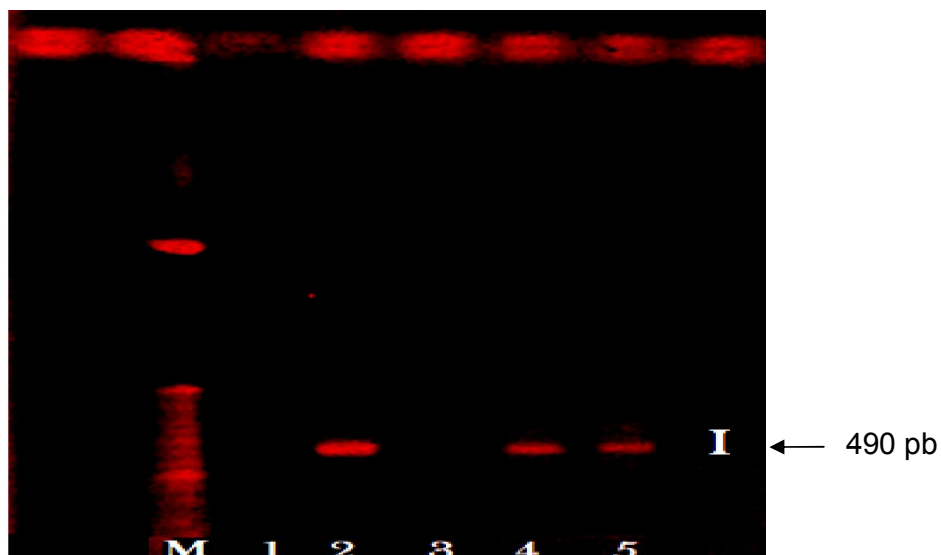


Figura 9. Determinação visual da segunda reação em cadeia da polimerase (PCR) em eletroforese de gel de agarose a 1% utilizando *primer* de inserção específico ao alelo I. M para marcador de peso molecular, linha 1 para controle negativo, linhas 2, 4 e 5 genótipo ID e linha 3 genótipo DD.

3.8 Análises Estatísticas

A análise estatística desenvolvida foi composta por estatística descritiva representada através da média, desvio padrão e intervalo de confiança (IC95%), seguido por teste de normalidade de Shapiro Wilks e homogeneidade das variâncias de Levene.

Para analisar possíveis associações entre as frequências dos genótipos DD, ID ou II do polimorfismo do gene *ACE I/D* entre os grupos Sub-15 e Sub-20, assim como realizar associações com outros estudos publicados com jogadores de futebol e com sujeitos brasileiros (ALMEIDA *et al*, 2012) foi realizado o teste de Qui-quadrado de *Pearson*. As associações entre as frequências dos alelos D e I foram verificadas através de tabelas de

contingência 2X2 analisadas pelo teste de Qui-quadrado com correção de *Yates*.

Em virtude dos dados obedecerem aos pressupostos de normalidade de distribuição, foi utilizado o teste de análise de variância (ANOVA) *oneway* para verificar possíveis diferenças entre os resultados dos testes de *performances* específicos do esporte investigado (VO_2 max, *Yo-Yo IR2*, impulsão vertical, potência pico, agilidade e V30m) subdivididos pelos genótipos, seguido do teste de comparações múltiplas de Tukey. Foi considerado como nível de significância para todos os testes o valor de $p \leq 0,05$ utilizando-se das análises proporcionadas por meio dos *softwares PASW 18.0* (Chicago, IL, USA) e *GraphPad Prism 5.0 for Windows* (San Diego, CA, USA).

4. RESULTADOS

As análises estatísticas comprovaram a homogeneidade das variâncias realizadas pelo teste de Levene com todas as variáveis apresentando nível de significância de $p > 0,05$.

As características como idade, variáveis antropométricas, bem como os resultados dos testes físicos desenvolvidos pelos atletas avaliados no presente estudo estão descritos através de valores em média \pm desvio padrão e intervalo de confiança na tabela 1 abaixo.

Tabela 1. Estatística descritiva dos atletas de futebol das categorias Sub-15 e Sub-20 analisados no presente estudo, resultados representados por valores em média \pm desvio padrão e intervalo de confiança (IC95%) inferior e superior.

Variáveis	Média \pm DP	IC95%	
		Inferior	Superior
Idade (anos)	18,22 \pm 2,63	17,43	19,01
Massa Corporal (kg)	69,90 \pm 9,13	67,16	72,65
Estatura (cm)	176,62 \pm 6,78	174,59	178,67
%G	10,79 \pm 1,38	10,38	11,20
MCM (kg)	62,40 \pm 7,87	60,04	64,76
VO ₂ max (ml.kg ⁻¹ .min ⁻¹)	49,57 \pm 4,91	48,11	51,06
Yo-Yo IR2 (m)	668,00 \pm 205,58	606,24	729,76
Agilidade (s)	5,82 \pm 0,25	5,75	5,90
V30m (s)	4,37 \pm 0,19	4,31	4,43
Impulsão Vertical (cm)	42,43 \pm 6,23	40,56	44,30
Potência Pico (W.kg ⁻¹)	73,80 \pm 6,17	71,95	75,66

As frequências relativas dos genótipos e dos alelos encontradas nas análises dos grupos Sub-15 e Sub-20 de brasileiros jogadores de futebol estão apresentadas na tabela 2 juntamente com as frequências genotípicas e alélicas do estudo com também sujeitos brasileiros desenvolvido por Almeida *et al*, (2012) o qual foi selecionado para caracterização de grupo controle, assim como para demais estudos com jogadores de futebol utilizados com finalidade de comparação.

Tabela 2. Frequências relativas dos genótipos e dos alelos do polimorfismo ACE I/D dos grupos investigados Sub-15 e Sub-20 e Sub-15 + Sub-20, bem como as frequências encontradas por demais pesquisas.

Grupos e Estudos	N	GENÓTIPOS			ALÉLOS	
		DD	ID	II	D	I
		n (%)	n (%)	n (%)	(%)	(%)
Sub-15	23	11 (0,47)	6 (0,26)	6 (0,26)	0,61	0,39
Sub-20	22	3 (0,13)	17 (0,77)	2 (0,09)	0,52	0,48
Sub-15 + Sub-20	45	14 (0,31)	23 (0,51)	8 (0,17)	0,57	0,43
Almeida et al, (2012)	57	15 (0,26)	25 (0,43)	17 (0,29)	0,48	0,52
Jufferet al, (2009)	54	21 (0,38)	27 (0,50)	6 (0,11)	0,60	0,40
Massiddaet al, (2012)	30	18 (0,60)	9 (0,30)	3 (0,10)	0,75	0,25
Micheli et al, (2011)	125	64 (0,51)	52 (0,42)	9 (0,07)	0,72	0,28

As análises resultantes do teste de χ^2 comparando as frequências dos genótipos e dos alelos dos atletas Sub-15 e Sub-20 da mesma forma para as frequências encontradas em outros estudos envolvendo atletas de futebol e grupo controle brasileiro estão representadas nas tabelas 3 e 4 respectivamente, na sequência.

Tabela 3. Análise do teste de χ^2 dos genótipos DD, ID e II comparando-se as categorias Sub-15, Sub-20 e Sub-15+Sub-20, do presente estudo, com demais estudos da literatura.

ESTUDOS	GENÓTIPOS								
	CATEGORIAS						AGRUPADAS		
	Sub-15			Sub-20			Sub-15 + Sub-20		
	χ^2	df	p	χ^2	df	p	χ^2	df	p
Almeida <i>et al</i> , (2012)	3,74	2	0,15	7,29	2	0,02*	1,97	2	0,37
Jufferet <i>al</i> , (2009)	7,35	2	0,02*	4,64	2	0,09	0,26	2	0,87
Massiddaet <i>al</i> , (2012)	2,40	2	0,30	12,43	2	0,01*	6,14	2	0,04*
Micheli <i>et al</i> , (2011)	8,07	2	0,01*	10,95	2	0,01*	7,29	2	0,02*

Para a categoria Sub-15 foram observadas diferenças entre as frequências dos genótipos do presente estudo com as encontradas pelas pesquisas desenvolvidas por Juffer *et al*, (2009) e Micheli *et al*, (2011), assim como não foram diferentes das frequências encontradas no grupo controle de Almeida *et al*, (2012) e no estudo de Massidda *et al*, (2012).

No que diz respeito à categoria Sub-20 também foram encontradas diferenças dos genótipos com os estudos publicados com jogadores de futebol por Massidda *et al*, (2012) e Micheli *et al*, (2011), mas não com os jogadores analisados por Juffer *et al*, (2009), no entanto, diferenças foram encontradas também com relação ao grupo controle publicado por Almeida *et al*, (2012).

Quando as duas categorias foram agrupadas as frequências genotípicas diferiram significativamente somente dos estudos de Massidda *et al*, (2012) e Micheli *et al*, (2011), no entanto, não ocorreram diferenças entre as frequências genotípicas representadas nos atletas de Juffer *et al*, (2009) e grupo controle de Almeida *et al*, (2012).

O teste de Qui-quadrado entre as duas categorias Sub-15 vs Sub-20 foi de $\chi^2 = 11,81$ e $p = 0,01$ demonstrando a existência de diferenças nas frequências do polimorfismo do gene ACE I/D entre as categorias de base de jogadores brasileiros de futebol. Estas diferenças podem ser visualmente analisadas na Figura 10.

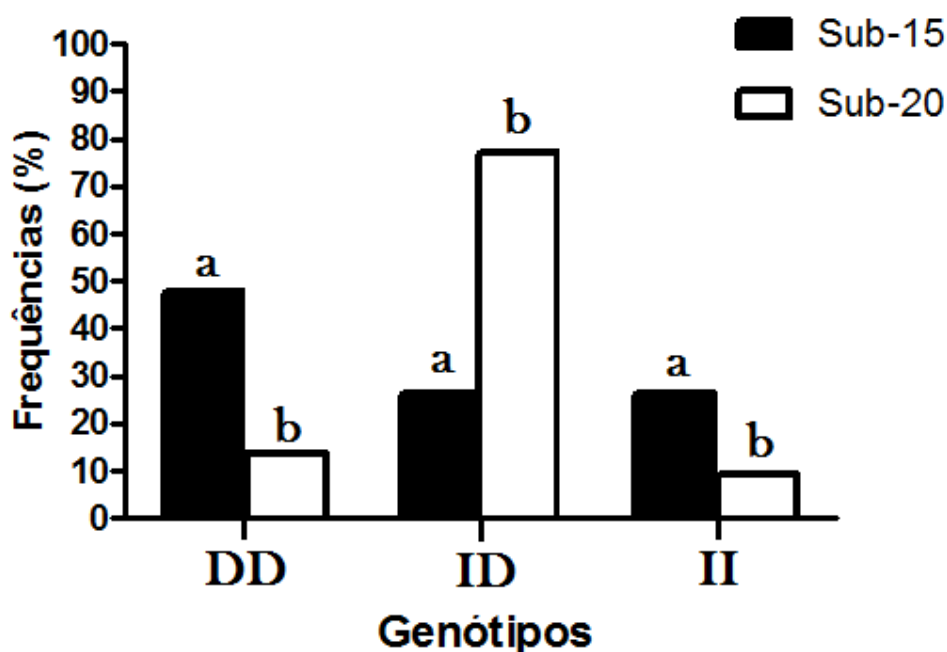


Figura 10. Frequências determinadas entre os genótipos DD, ID e II das categorias Sub-15 e Sub-20 de jogadores brasileiros de futebol. Letras diferentes representam diferenças significativas para o mesmo genótipo ($p = 0,01$).

Tabela 4. Análise das frequências dos alelos D e I comparando-se as categorias Sub-15, Sub-20 e Sub-15+Sub-20, do presente estudo, com demais estudos da literatura.

ESTUDOS	ALELOS								
	CATEGORIAS						AGRUPADAS		
	Sub-15			Sub-20			Sub 15 + Sub 20		
	χ^2	df	p	χ^2	df	p	χ^2	df	p
Almeida <i>et al</i> , (2012)	1,61	1	0,20	0,07	1	0,78	1,11	1	0,29
Juffer <i>et al</i> , (2009)	0,17	1	0,96	0,23	1	0,62	0,01	1	0,89
Massidda <i>et al</i> , (2012)	0,76	1	0,38	2,49	1	0,11	4,48	1	0,03*
Micheli <i>et al</i> , (2011)	1,80	1	0,17	5,92	1	0,01*	6,45	1	0,01*

As frequências alélicas da categoria Sub-15 do presente estudo não demonstraram diferenças significativas com as determinadas em outros estudos com jogadores de futebol e com as frequências do grupo controle.

Contudo, na categoria Sub-20 foi determinado somente diferenças entre as frequências alélicas com o estudo de Micheli *et al*, (2011) e concomitantemente ausência de diferenças do grupo controle. Da mesma forma, quando os dados das duas categorias foram agrupadas, as frequências alélicas diferiram dos atletas futebolistas dos estudos de Micheli *et al*, (2011) e Massidda *et al*, (2012), mas não foram diferentes do grupo controle.

As frequências alélicas das categorias Sub-15 vs Sub-20, ao contrário das distribuições genotípicas, as categorias não foram diferentes: $\chi^2=0,37$, $p=0,54$, ou seja, as frequências dos alelos D e I do gene ACE I/D não parecem diferir de acordo com o avanço da categoria em direção a profissional. Figura 11.

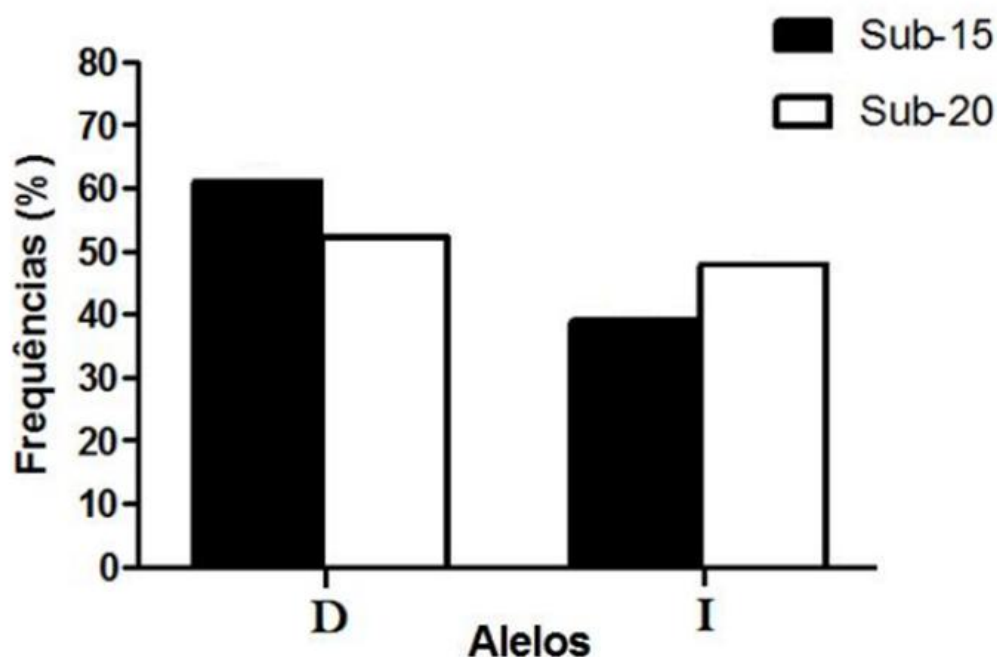


Figura 11. Frequências determinadas entre os alelos D e I das categorias Sub-15 e Sub-20 de atletas brasileiros de futebol. Não sendo encontradas diferenças significativas ($p=0,54$).

No que diz respeito aos testes físicos, as análises não determinaram diferenças significativas entre os genótipos DD, ID e II com as *performances* físicas de atletas jogadores brasileiros de futebol das categorias Sub-15 e Sub-20. Entretanto, as *performances* de impulsão vertical e V30m demonstraram tendência para associação com o polimorfismo ACE I/D da ECA. Tabela 5.

Tabela 5. Resultado das comparações entre os testes de *performance* física dos atletas de futebol subdivididos por genótipo (DD, ID, II) do gene ACE I/D.

VARIÁVEIS	GENÓTIPOS			F	p
	DD(14)	ID (23)	II (8)		
VO ₂ max (ml.kg ⁻¹ .min ⁻¹)	49,45 ± 4,53	49,78 ± 5,64	49,23 ± 3,60	0,04	0,95
Yo-Yo IR2 (m)	592,85 ± 116,77	714,78 ± 250,46	665,00 ± 157,02	1,57	0,22
Agilidade (s)	5,90 ± 0,21	5,77 ± 0,26	5,82 ± 0,26	1,33	0,27
V30m (s)	4,43 ± 0,19	4,30 ± 0,15	4,46 ± 0,20	3,43	0,09
Impulsão Vertical (cm)	40,76 ± 5,38	44,41 ± 5,93	39,63 ± 7,20	2,66	0,08
Potência Pico (W.kg ⁻¹)	72,90 ± 5,47	74,60 ± 6,81	73,10 ± 5,76	0,38	0,68

5. DISCUSSÃO

5.1 Testes físicos e *performance* de jogadores de futebol

Os testes físicos e de *performance* em equipes de futebol são geralmente em seu princípio organizados em grupos denominadas “baterias” com o intuito de caracterizar e promover subsídios para os profissionais do futebol estabelecerem as cargas de trabalho direcionadas para as necessidades específicas de cada atleta.

Diversos estudos tem sido realizados na literatura científica com a intenção de explorar as relações dos testes físicos com a *performance* de atletas jogadores de futebol (ALMEIDA *et al*, 2009; BRADLEY *et al*, 2011; COELHO *et al*, 2011; BUCHHEIT *et al*, 2010; BANGSBO, IAIA & KRUSTRUP, 2008; OSIECKI *et al*, 2007) proporcionando subsídios para elaboração de “baterias de testes físicos” para a modalidade (BRAZ *et al*, 2009), bem como o desenvolvimento de tabelas de referência para diversas análises antropométricas, bioquímicas e psicológicas (DA SILVA *et al*, 2012), tornando à avaliação destes diferentes aspectos fisiológicos e de desempenho extremamente importantes no processo da preparação física para aquisição do sucesso no futebol moderno (KRUSTRUP *et al*, 2006).

A média dos valores de $VO_{2\text{máx}}$ encontrados no presente estudo foi de $49,57 \pm 4,91 \text{ ml.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$ que pode ser caracterizado como baixo indicador de potência aeróbia máxima comparativamente a corredores de endurance com média de $77,2 \pm 5,2 \text{ ml.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$ (RUIZ *et al*, 2009), no entanto, o $VO_{2\text{máx}}$ encontrado em jogadores profissionais de futebol publicados na literatura permanecem aproximadamente entre $50 \text{ ml.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$ e $65 \text{ ml.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$ (NASCIMENTO *et al*, 2012; NOVACK *et al*, 2013; OSIECKI *et al*, 2007; WISLØFF *et al*, 2004) similares ao do presente estudo que também corrobora com os achados de Daros *et al*, (2012) que encontraram em teste de campo $VO_{2\text{máx}}$ em jovens jogadores de $48,55 \pm 6,56 \text{ ml.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$.

No que diz respeito ao teste de Yo-Yo IR2 que tem sido amplamente utilizado pelas pesquisas da ciência do esporte em virtude de sua especificidade e praticidade em avaliar a capacidade de realizar repetidas vezes exercícios de alta intensidade pertinentes a esportes coletivos (BANGSBO, IAIA & KRUSTRUP, 2008; KRUSTRUP *et al*, 2006) os atletas atingiram em média $668,00 \pm 205,58$ metros de distância percorrida que ficaram comparativamente inferiores aos resultados de Osiecki *et al*, (2007) que obtiveram média de $1251,67 \pm 340,74$ metros em profissionais, Krustrup *et al*, (2006) obtiveram média de 1059 ± 35 metros, 771 ± 26 metros e 790 ± 30 metros para jogadores profissionais da primeira divisão, segunda divisão e Sub-19, respectivamente. Assim como também ficaram os resultados dos atletas deste estudo inferiores aos resultados de atletas de elite Sub-19 e Sub-16 com médias de $2,603 \pm 451$ metros e $1,901 \pm 726$ metros, respectivamente, do estudo de Bradley *et al*, (2011). No entanto, Pasquarelli *et al*, (2010) analisando 24 jogadores da primeira divisão do estado do Paraná da categoria Sub-17 encontraram uma média de $571,67 \pm 119,99$ metros no teste Yo-Yo IR2, inferior ao determinado na presente investigação.

Com respeito aos demais testes de *performance* os resultados do presente estudo demonstraram concordância entre o teste de agilidade que obteve média de $5,82 \pm 0,25$ segundos quando comparados ao estudo de Little & Williams (2005) com média de $5,34 \pm 0,20$ segundos e Rebelo & Oliveira (2006) com média de $6,14 \pm 0,28$ segundos de jogadores profissionais de futebol com idades entre 18 e 36 anos utilizando-se o mesmo protocolo. Da mesma forma para o estudo de Pasquarelli *et al*, (2010) utilizando o teste do quadrado, os autores encontraram média no tempo muito semelhante de $5,48 \pm 0,33$ segundos com o resultado do presente estudo.

A V30m dos atletas das categorias Sub-15 e Sub-20 desta investigação ficou com média de $4,37 \pm 0,19$ segundos e foi muito semelhante aos resultados dos estudos de Chamari *et al*, (2004) que encontraram média de $4,38 \pm 0,18$ segundos e Malina *et al*, (2007) com média variando entre 4,75 e 5,00 segundos, da mesma forma que corrobora ao estudo de Pasquarelli *et al*, (2010), que determinaram tempo médio de $4,24 \pm 0,17$ segundos nos testes de

sprints de 30 metros de seus atletas, porém, superior ao estudo de Wisloff *et al*, (2004) que determinaram média de $4,0 \pm 0,2$ segundos em atletas jogadores profissionais de elite com média de idade de $25,8 \pm 2,9$ anos.

Para a capacidade física de impulsão vertical, os atletas atingiram em média $42,43 \pm 6,23$ centímetros de altura com a técnica de contramovimento e livre utilização dos braços sendo maiores que aos valores encontrados em jogadores de futebol dos estudos de Malina *et al*, (2007) com média entre 27,8 e 30,8 centímetros, Pasquarelli *et al*, (2010) com média de $36,81 \pm 3,46$ centímetros, Gomes *et al*, (2009) com média de $41,0 \pm 0,04$ centímetros, no entanto, inferior ao estudo de Wisloff *et al*, (2004) que determinaram $56,4 \pm 4,0$ centímetros através de protocolo com plataforma de força e da mesma forma para o estudo de Chamari *et al*, (2004) que encontraram $51,3 \pm 6,7$ centímetros.

No que diz respeito à potência pico durante o salto vertical o presente estudo demonstrou média de $73,80 \pm 6,17$ W.kg⁻¹ e comparando-se as análises de potência relativa oriunda de atletas com $17,5 \pm 1,1$ anos de idade das principais equipes do *ranking* da Tunísia e da seleção Sub-19 do estudo de Chamari *et al*, (2004) que apresentaram $55,1 \pm 5,7$ W.kg⁻¹, os atletas do presente estudo demonstraram maior potência relativa ao peso corporal durante a execução do teste de impulsão vertical.

As diferenças encontradas nas *performances* dos atletas do presente estudo com os resultados das demais pesquisas podem ser explicadas em razão das variações amostrais em várias pesquisas com atletas jogadores profissionais de nível elite, assim como as diversidades de faixas etárias analisadas no presente estudo com atletas de diferentes categorias, e por consequência, podendo o presente estudo incluir jogadores com diferentes níveis de estágio de desenvolvimento biológico (avançado, normal ou atrasado), que por sua vez, estão associadas com diferentes *performances* em testes físicos com jogadores de futebol (MALINA *et al*, 2007) e demais crianças e adolescentes (MACHADO, BONFIM & COSTA, 2009).

5.2 Associações entre as frequências alélicas e genótípicas com atletas de futebol

Os principais resultados desta investigação foram apresentar as frequências genótípicas e alélicas de jogadores brasileiros de futebol de diferentes categorias para o polimorfismo do gene *ACE I/D* que até o presente momento não se encontram descritas na literatura científica, bem como, analisar as diferenças das frequências deste polimorfismo com as frequências apresentadas em amostra de brasileiros não atletas e demais pesquisas com atletas de futebol.

As frequências dos genótipos do gene *ACE I/D* de atletas brasileiros de futebol de acordo com os resultados obtidos parecem guardar relação com as categorias de base Sub-15 e Sub-20 comprovadas pela análise de $\chi^2= 11,81$ e $p=0,01$ e visualmente determinadas na figura 10, não ocorrendo o mesmo comportamento com as distribuições alélicas entre as categorias que não foram estatisticamente diferentes $\chi^2=0,37$ e $p=0,54$, e encontram-se apresentadas na figura 11.

No estudo de Juffer *et al*, (2009) os autores analisaram 54 jogadores de futebol de nível elite que participavam de competições da primeira e segunda divisão da Espanha, os autores compararam as frequências genótípicas e alélicas do gene *ACE I/D* entre os jogadores de futebol, corredores e grupo controle.

Nos resultados encontraram maior frequência significativa ($p=0,001$) do genótipo ID nos jogadores de futebol em relação aos corredores, no entanto, menor frequência do genótipo II em jogadores de futebol comparativamente aos corredores. Não sendo evidenciadas diferenças nas frequências genótípicas e alélicas dos jogadores de futebol quando comparadas ao grupo controle, da mesma forma, não houve diferenças quando todos os grupos (jogadores de futebol, corredores e grupo controle) foram comparados para análise das frequências dos alelos I ($p=0,264$) e D ($p=0,332$).

De acordo com os resultados obtidos os autores concluem que atletas de futebol apresentam predisposição para menor frequência do genótipo II em relação a corredores de alto nível (campeões mundiais, finalistas de jogos olímpicos e campeões olímpicos) com características voltadas para atividades de *endurance*.

Massidda *et al*, (2012) também com atletas jogadores de futebol da Itália não encontraram associações entre as frequências dos genótipos e dos alelos do polimorfismo do gene *ACE I/D* em relação a frequência observada na população controle. Os autores concluem que apesar de encontrarem elevada frequência do genótipo DD e do alelo D na amostra indicando uma possibilidade com associação atlética, a destacável frequência também obtida na população controle não permite a este polimorfismo isoladamente predisposição para *performance* esportiva de alto nível.

Outro estudo com 125 atletas italianos de futebol de médio a elevado nível das categorias Sub-17 realizado por Micheli *et al*, (2011) também não encontraram associações entre as frequências genotípicas do polimorfismo *ACE I/D* comparativamente ao grupo controle. Contudo, analisando as respostas dos atletas no teste de impulsão vertical tanto pela técnica com contramovimento e *squat jump* os autores constataram que os atletas do genótipo ID desempenhavam maior salto vertical na média com relação aos demais genótipos em ambas as técnicas de salto vertical.

E assim, concluem que o polimorfismo do gene *ACE I/D* parece estar associado a certas *performances* de atletas de futebol em virtude das características do esporte que necessita de várias atividades intermitentes de alta intensidade com constantes alternâncias de decisões (MOHR *et al*, 2003), assim sendo, o genótipo heterozigoto poderia ser explorado na identificação de atletas com melhor predisposição para tarefas envolvendo saltos e contatos.

Os resultados do presente estudo corroboram com os estudos anteriores com jogadores de futebol que não encontraram diferenças nas distribuições genotípicas entre atletas de futebol e grupos controle, indicando que o

polimorfismo do gene *ACE I/D* parece não ser suficiente para, isoladamente, discriminar atletas predispostos ao desempenho esportivo no futebol.

Entretanto, para a categoria Sub-20 a distribuição das frequências genotípicas demonstraram diferentes comportamentos para este polimorfismo em relação à frequência encontrada em amostra de brasileiros não atletas, esta diferença ($p=0,02$) ocorreu em decorrência da acentuada frequência do genótipo ID nesta categoria em detrimento aos outros dois genótipos DD e II que foram menos frequentes.

Este comportamento está de acordo com o estudo de Juffer *et al*, (2009) que também determinaram significativamente maior frequência do genótipo ID nos atletas de futebol em relação a corredores de *endurance*, e pôde ser confirmado pela análise do teste de $\chi^2=4,64$ e $p=0,09$.

Neste mesmo sentido, foi possível estabelecer relação entre as frequências genotípicas dos atletas da categoria Sub-15 com o estudo desenvolvido por Massidda *et al*, (2012), sendo em ambos os casos, encontrado maior frequência do genótipo DD (47% e 60%), respectivamente, em detrimento aos demais genótipos, sendo também comprovado estatisticamente pela análise do teste $\chi^2= 2,40$ e $p=0,30$.

Da mesma forma quando os genótipos do polimorfismo do gene *ACEI/D* foram separados a fim de analisar suas interações com testes de *performance* específicos aos atletas desta modalidade, o presente estudo não determinou significativas contribuições deste polimorfismo isoladamente nos desempenhos físicos dos atletas. (Tabela 5). Todavia, vale a pena ressaltar que apesar das análises dos genótipos não demonstrarem diferenças para a variável impulsão vertical ($p=0,08$), foi possível observar que os atletas carreadores do genótipo ID atingiram em geral maior altura no teste, que de certa forma, demonstra concordância com os achados publicados por Juffer *et al*, (2009).

As associações encontradas entre os estudos analisando o polimorfismo *ACE I/D* em atletas de diferentes especialidades esportivas (COSTA *et al*, 2009; KIM *et al*, 2010; LUCIA *et al*, 2004; MICHELLI *et al*, 2011; TOBINA *et*

al,2010; WOODS, HUMPHRIES & MONTGOMERY, 2000) estão em parte baseadas na alteração da atividade enzimática da ECA tanto ao nível plasmático (RIGAT *et al*, 1990) como muscular (DANSER *et al*, 1995) e sabendo-se que a atividade da ECA torna-se aumentada nos carreadores do genótipo DD, mediana nos heterozigotos ID e diminuída nos homozigotos II tanto em indivíduos caucasianos (RIGAT *et al*, 1990) como em negros (SCOTT *et al*, 2005). Figura 11

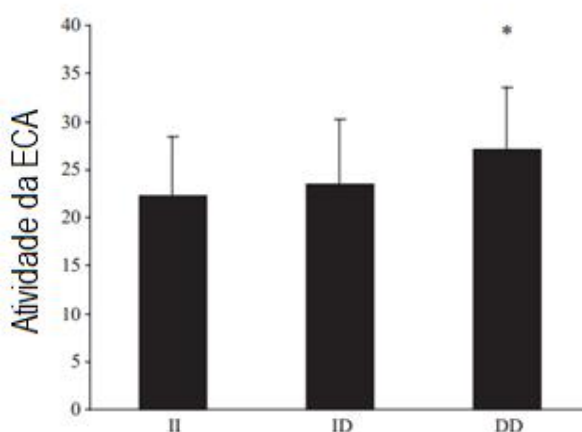


Figura 12. Atividade circulante da ECA em atletas Kenianos corredores de elite. (SCOTT *et al*, 2005).* Representa diferença significativa para os demais genótipos.

Este aumento da atividade da ECA nos carreadores do genótipo DD demanda maior conversão de ANG I em ANG II que além da diminuição na ativação do receptor BK₂R da bradicinina, promovendo aumento da pressão arterial, age como sinalizador de crescimento no músculo liso e densidade capilar no músculo esquelético (JONES & WOODS, 2003) via receptor tipo 1 da angiotensina (AT₁R) na membrana celular (PUTHUCHEARY *et al*, 2011), sendo também a ANG II considerada crucial para hipertrofia músculo esquelética induzida pela sobrecarga em modelo animal (GORDON *et al*, 2001) assim como a atividade da ECA em condições basais parece contribuir nos indicadores de força isométrica e isocinética do quadríceps da coxa de estudantes recreacionalmente ativos (WILLIAMS *et al*, 2005).

Além disso, o estudo publicado por Zhang *et al*, (2003) parece demonstrar interações entre o polimorfismo ACE I/D com diferentes tipos de

fibras musculares, sendo a fibra de contração rápida (tipo IIb) associada a indivíduos com genótipo DD em comparação ao genótipo II com maior distribuição de fibras musculares de contração lenta (tipo I). Figura 12.

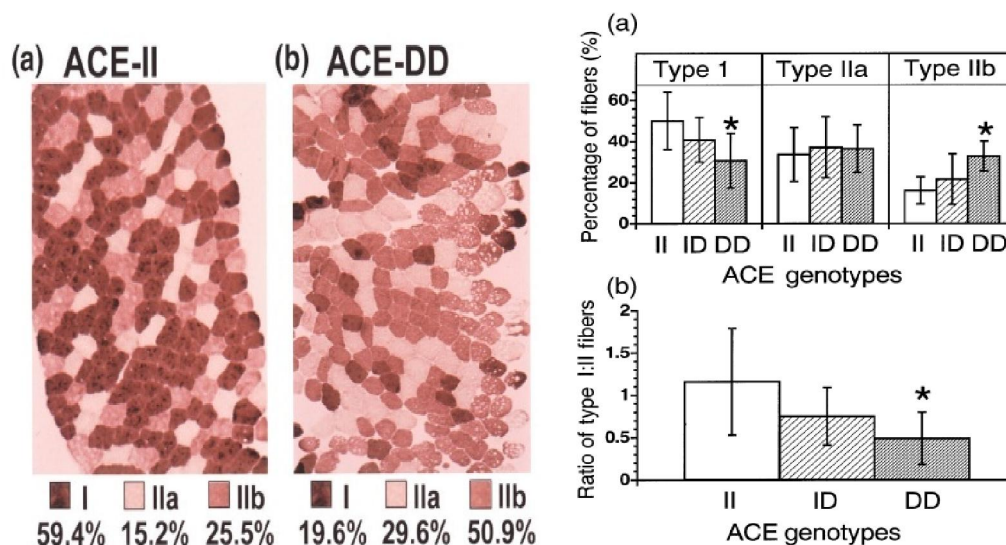


Figura 13. A esquerda a distribuição dos diferentes tipos de fibras musculares de um indivíduo de cada genótipo. A esquerda o percentual de fibras e a razão entre as fibras tipo I:II do vasto lateral de 41 indivíduos saudáveis sedentários japoneses (ZHANG *et al*, 2003).

Outro estudo desenvolvido por Yamin *et al*, (2007) comprovou a influência do polimorfismo do gene *ACE* I/D nas respostas das concentrações plasmáticas de CK, utilizada como marcador de dano muscular, após protocolo de flexões excêntricas máximas dos músculos do cotovelo em 70 universitários jovens saudáveis. Os autores não encontraram diferenças entre os genótipos ao nível basal ($p=0,71$), entretanto, após o protocolo, o pico de atividade da CK no sangue foi significativamente maior nos portadores do genótipo II, mediana no ID e reduzida no grupo DD ($p=0,009$).

Estes pressupostos que dão sustentabilidade para as associações encontradas em alguns estudos com o polimorfismo do gene *ACE* I/D com atletas e não atletas ainda precisam ser mais bem exploradas apesar de 12 anos de pesquisas (PUTHUCHEARY *et al*, 2011) pois existem contradições entre pesquisadores com resultados conflitantes na análise do mesmo alelo (LUCIA *et al*, 2004; TOBINA *et al*, 2010), assim como pesquisas que não

apontam para associações entre este polimorfismo em atletas (SCOOT *et al*, 2010; SCOOT *et al*, 2005; RANKINEN *et al*, 2000).

Infelizmente a literatura científica ainda carece de mais estudos com o intuito de analisar sob diversos aspectos a associação que o polimorfismo do gene *ACE I/D* pode proporcionar na *performance* física de atletas jogadores de futebol.

No entanto, em razão do sugestivo nível de significância encontrado no presente estudo para as comparações das variáveis V30m e impulsão vertical, e as tendências encontradas nos estudos em atletas de futebol com maior frequência do alelo D em relação ao alelo I, de certa forma, corrobora com alguns estudos realizados com atletas de elite especialistas em esportes que exigem força e potência muscular (COSTA *et al*, 2009; NAZAROV *et al*, 2001; WOODS, HUMPHRIES & MONTGOMERY, 2000).

6. CONCLUSÃO

Assim sendo pode-se concluir que o polimorfismo do gene *ACE I/D* da ECA, em atletas brasileiros jogadores de futebol das categorias de base, parece ser diferentemente distribuído, com elevada frequência do genótipo ID na categoria Sub-20 e destacável maior frequência do genótipo DD na categoria Sub-15, corroborando com alguns estudos desenvolvidos com atletas desta modalidade.

Os resultados das frequências deste polimorfismo em jogadores de futebol ainda não parecem esclarecedores quanto da sua contribuição para predisposição ao desenvolvimento de atletas de elite no esporte, tendo em vista que as categorias quando agrupadas não demonstraram diferenças nas frequências genóticas e alélicas comparativamente as frequências encontradas em estudo com amostra de brasileiros não atletas. Muito embora, jogadores de futebol possuem tendência de possuir maior frequência do alelo D em relação ao alelo I.

Em virtude disso, mais pesquisas são necessárias de serem desenvolvidas com grandes grupos de atletas de níveis homogêneos, a fim de melhor compreender as possíveis associações deste polimorfismo com as *performances* dos atletas e predisposição genética favorável para as modalidades esportivas.

7. REFERÊNCIAS

1. AHMETOV II, POPOV DV, ASTRATENKOVA IV, DRUZHEVSKAYA AM, MISSINA SS, VINOGRADOVA OL, ROGOZKIN VA. The use of molecular genetic methods for prognosis of aerobic and anaerobic performance in athletes **HumPhysiol**34:334-338, 2008.
2. ALMEIDA AG, PEREIRA G, CAMPEIZ JM, MARIA TS. Avaliação da capacidade anaeróbia de jogadores de futebol através de teste máximo de corrida de Vai-e-Vem. **Ver BrasCineantropom Desempenho Hum**11:88-93, 2009.
3. ALVAREZ R, TERRADOS N, ORTOLANO R et al. Genetic variation in the renin-angiotensin system and athletic performance. **Eur J ApplPhysiol** 82:117-120, 2000.
4. BRADLEY PS, MOHR M, BENDIKSEN M, RANDERS MB, FLINDT M, BARNES C, HOOD P, GOMEZ A, ANDERSEN JE, DI MASCIO M, BANGSBO J & KRUSTRUP P. Sub-maximal and maximal Yo–Yo intermittent endurance test level 2: heart rate response, reproducibility and application to elite soccer. **Eur J ApplPhysiol** 111:969–978, 2011.
5. BUCHHEIT M, MENDEZ-VILLANUEVA A, SIMPSON BM, BOURDON PC. Repeated-Sprint Sequences During Youth Soccer Matches. **Int J Sports Med** 31:709–716, 2010.
6. BRAY MS, HAGBERG JM, PERUSSE L, RANKINEN T, ROTH SM, WOLFARTH B et al. The human gene map for performance and health-related fitness phenotypes: the 2006-2007 update. **Med Sci Sports Exerc**41:35-73, 2009.
7. BRAZ TV, SPIGOLON LMP, BORIN JP. Proposta de bateria de testes para monitoramento das capacidades motoras em futebolistas. **R. da EducaçãoFísica/UEM** 20:569-575, 2009.

8. BANGSBO J, IAIA FM, KRUSTRUP P. The Yo-Yo intermittent recovery test: A useful tool for evaluation of physical performance in intermittent sports. **Sports Med**38:37-51, 2008.
9. BENEDETTI TRB, PINHO RA, RAMOS VM. Capítulo III Dobras Cutâneas. In: PETROSKI, EL(Org). **Antropometria: técnicas e padronizações**. Blumenau: Nova Letra, 2007. 3ed. 45-56.
10. CIESZCZYK P, KRUPECKI K, MACIEJEWSKA A, SAWCZUK M. The angiotensin converting enzyme gene I/D polymorphism in polish rowers. **Int J Sports Med** 30:624–627, 2009.
11. CASTAGNA C, ABT G, D'OTTAVIO S. Physiological aspects of soccer refereeing performance and training. **Sports Med** 37:625-46, 2007.
12. CALÒ CM, VONA G. Gene polymorphism and elite athletic performance. **J AnthropolSci**86:113-131, 2008.
13. COELHO D, MORANDI R, MELO M, SILAMI-GARCIA E. Cinética da creatina quinase em jogadores de futebol profissional em uma temporada competitiva. **RevBrasCineantropom Desempenho Hum**13:189-194, 2011.
14. COLLINS M, XENOPHONTOS SL, CARILOU MA, MOKONE GG, HUDSON DE, ANASTASIADES L, NOAKES TD. The ACE gene and endurance performance during the south african ironman triathlons. **Med Sci Sports Exerc** 36:1314-1320, 2004.
15. COSTA AM, SILVA AJ, GARRIDO ND, LOURO H, DE OLIVEIRA RJ, BREITENFELD L. Association between ACE D allele and elite short distance swimming. **Eur J ApplPhysiol**106:785–790, 2009.
16. CHAMARI K, HACHANA Y, AHMED YB, GALY O, SGHAIER F, CHATARD JC, HUE O, WISLØFF U. Field and laboratory testing in young elite soccer players. **Br J Sports Med** 38:191–196, 2004.
17. CLARKSON PM, DEVANEY JM, GORDISH-DRESSMAN H, THOMPSON PD, HUBAL MJ, URSO M, et al. ACTN3 genotype is associated

with increases in muscle strength in response to resistance training in women. **J Appl Physiol** 99:154–163, 2005.

18. DAROS LB, OSIECKI R, DOURADO AC, STANGANÉLLI LCR, FORNAZIERO AM, OSIECKI ACV. Maximum Aerobic Power Test for Soccer Players. **JEPonline**15:80-89, 2012.

19. DELMONICO MJ, KOSTEK MC, DOLDO NA, HAND BD, WALSH S, CONWAY JM, et al. α -Actinin-3 (ACTN3) R577X polymorphism influences knee extensor peak power response to strength training in older men and women. **J Am Geriatr Soc**62:206–212, 2007.

20. DI SALVO V, GREGSON W, ATKINSON G, TORDOFF P, DRUST B. Analysis of high intensity activity in Premier League soccer. **Int J Sports Med**30:205–212, 2009.

21. DA SIVA ASR, PAPOTI M, PAULI JR, GOBATTO AC. Elaboração de tabelas de percentis através de parâmetros antropométricos, de desempenho, bioquímicos, hematológicos, hormonais e psicológicos em futebolistas profissionais. **Rev Bras Med Esporte**18:148-152,2012.

22. DANSER AH, SCHALEKAMP MA, BAX WA, VAN DEN BRINK AM, SAXENA PR, RIEGGER GA, SCHUNKERT H. Angiotensin-converting enzyme in the human heart. Effect of the deletion/insertion polymorphism. **Circulation** 92:1387-1388, 1995.

23. FÉDÉRATION Internationale de Football Association FIFA. **FIFA.com/About FIFA**, Zurique Suíça, 2011. Disponível em: <<http://www.fifa.com/aboutfifa/federation/associations.html>>. Acesso em: 01maio.

24. FORNAZIERO, ANDRÉ MONTANHOLI. **Efeitos de um jogo de futebol sobre marcadores fisiológicos, bioquímicos e de performance**. 2009. 124f. (Mestrado em Educação Física) – Universidade Federal do Paraná. Curitiba

25. FOLLAND J, LEACH B, LITTLE T, HAWKER K, MYERSON S, MONTGOMERY H, et al. Angiotensin-converting enzyme genotype affects the

response of human skeletal muscle to functional overload.**ExpPhysiol**85:575–579, 2000.

26. GUYTON AC, HALL JE. **Tratado de fisiologia médica**. Rio de Janeiro: Elsevier, 12eds. 2011.

27. GOMES MM, PEREIRA G, FREITAS PB, BARELA JA. Características cinemáticas e cinéticas do salto vertical: comparação entre jogadores de futebol e basquetebol. **RevBrasCineantropom Desempenho Hum**11:392-399, 2009.

28. GAYA A. Desenhos Metodológicos II: métodos de procedimento predominantemente nomotéticos controle experimental. In: GAYA, A (Org). **Ciências do movimento humano: introdução à metodologia da pesquisa**. Porto Alegre: Artmed, 2008.p.117-120.

29. GAYAGAY G, YU B, HAMBLY B, BOSTON T, HAHN A, CELERMAJER DS. Elite endurance athletes and the ACE I allele the role of genes in athletic performance. **Hum Genet** 103:48-50, 1998.

30. GORDON SE, DAVIS BS, CARLSON CJ, BOOTH FW. ANG II is required for optimal overload-induced skeletal muscle hypertrophy. **Am J PhysiolEndocrinolMetab**280:150-159, 2001.

31. HOLDYS J, KRYŚCIAK J, STANISŁAWSKI D, GRONEK P. ACE I/D Polymorphism in athletes of various sports disciplines. **Human Moviment**12:223-231, 2011.

32. FINNI T, IKEGAWA S, KALLIO J, LEPOLA V, KOMI PV. Vastus lateral's length and force in isometric and stretch-shortening cycle conditions. **J Sports Sci**19:550-551, 2001.

33. ISPIRLIDIS I, FATOUROS IG, JAMURTAS AZ, NIKOLAIDIS MG, MICHAILIDIS I, DOUROUDOS I, MARGONIS K, CHATZINIKOLAOU A et al. Time-course of changes in inflammatory and performance responses following a soccer game. **Clinical J of Sports Med** 18:423-431, 2008.

34. JUFFER P, FURRER R, GONZÁLEZ-FREIRE M, SANTIAGO C, VERDE Z, SERRATOSA L, MORATE FJ. Genotype distributions in top-level soccer players: A role for ACE? **Int J Sports Med** 30:387–392, 2009.
35. JONES A, MONTGOMERY HE, WOODS DR. Human Performance: A Role for the ACE Genotype? **Exerc Sport Sci** 30:184–190, 2002.
36. JONES A, WOODS DR. Skeletal muscle RAS and exercise performance. **Int J Biochem Cell Biol** 35:855-66, 2003.
37. JACKSON AS, POLLOCK ML. Generalized equations for predicting body density of men. **Brit Jour of Nutrit** 40:497-504, 1978.
38. KIM CH, CHO JY, JOON JY, KOH YG, KIM YM, KIM KJ, et al. ACE DD genotype is unfavorable to korean short-term muscle power athletes. **Int J Sports Med** 31:65–71, 2010.
39. KRUSTRUP P, MOHR M, STEENSBERG A, BENCKE J, KJIER M, BANGSBO J. Muscle and Blood Metabolites during a Soccer Game: Implications for Sprint Performance. **Med Sci Sports Exerc** 38:1165-1174, 2006.
40. LUCIA A, MORÁN M, ZIHONG H, RUIZ JR. Elite athletes: Are the genes the champions? **Int J Sports Physiol Perform** 5:98-102, 2010.
41. LUCIA A, GÓMEZ-GALLEGO F, CHICHARRO JL, HOYOS J, CELAYA K, CÓRDOVA A. Is there an Association between ACE and CKMM Polymorphisms and Cycling Performance Status during 3-Week Races? **Int J Sports Med** 25: 442–447, 2004.
42. LITTLE T, WILLIAMS AG. Specificity of acceleration, maximum speed, and agility in professional soccer players. **J Strength Cond Res** 19: 76-78, 2005.
43. LINDPAINTNER K, PFEFFER MA, KREUTZ R. A prospective evaluation of an angiotensin-converting-enzyme gene polymorphism and the risk of ischemic heart disease. **N Engl J Med** 332:706–711, 1995.

44. LANDER ES, LINTON LM, BIRREN B et al. Initial sequencing and analysis of the human genome. **Nature** 15:860-921, 2001.
45. MA F, YANG Y, LI X, ZHOU F, GAO C, LI M, GAO L. The Association of Sport Performance with ACE and ACTN3 Genetic Polymorphisms: A Systematic Review and Meta-Analysis. **PLoS One** 8:1-9, 2013.
46. MICHELI ML, GULISANO M, MORUCCI G, PUNZI T, RUGGIERO M, CEROTI M. 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** 25:2084-2091, 2011.
47. MIN SK, TAKAHASHI K, ISHIGAMI H, HIRANUMA K, MIZUNO M, ISHII T. Is there a gender difference between ACE gene and race distance? **ApplPhysiolNutrMetab** 34:926-932, 2009.
48. MACHADO DRL, BONFIM MR, COSTA LT. Pico de velocidade de crescimento como alternativa para classificação maturacional associada ao desempenho motor. **RevBrasCineantropom Desempenho Hum**11:14-21, 2009.
49. MALINA RM, RIBEIRO B, AROSO A, CUMMING SP. Characteristics of youth soccer players aged 13–15 years classified by skill level. **Br J Sports Med** 41:290–295, 2007.
50. MACARTHUR DG, NORTH KN. Genes and human elite athletic performance. **Human Gent** 116:331-339, 2005.
51. MYERSON S, HEMINGWAY H, BUDGET R, MARTIN J, HUMPHRIES S, MONTGOMERY H. Human angiotensin I–converting enzyme gene and endurance performance. **J ApplPhysiol** 87:1313–1316, 1999.
52. MONTGOMERY H, CLARKSON P, BARNARD M et al. Angiotensin-converting-enzyme gene insertion/deletion polymorphism and response to physical training. **Lancet** 353:541-5, 1999.

53. MONTGOMERY HE, MARSHALL R, HEMINGWAY H, MYERSON S, CLARKSON P, DOLLERY C, HAYWARD M et al. Human gene for physical performance. **Nature** 393:221–222, 1998.
54. MOHR M, KRUSTRUP P, BANGSBO J. Match performance of high-standard soccer players with special reference to development of fatigue. **J Sports Sci** 21:519–528, 2003.
55. MILLER SA, DYKES DD, POLESKY HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. **Nucleic Acids Res** 16:1215, 1988.
56. NOVACK LF, NASCIMENTO VB, SALGUEIROSA FM, CARIGNANO LF, FORNAZIERO A, GOMES EB, OSIECKI R. Distribuição de subgrupos com base nas respostas fisiológicas em jogadores profissionais de futebol pela técnica cluster K-means. **Rev Bras Med Esporte** 9:133-136, 2013.
57. NASCIMENTO VB, OSIECKI R, REDKVA PE, GOMES EB, SALGUEIROSA FM, DAROS LB, OSIECKI AC, KAMINAGAKURA EI. Identification and Concordance of the Heart Rate Deflection Point and Heart Rate Variability Threshold Determined by Different Parameters in the 20 m MultiStage Fitness Test. **JEPonline** 15:55-63, 2012.
58. NAZAROV IB, WOODS DR, MONTGOMERY HE, SHNEIRDER OV, KAZAKOV VI, TOMILIN NV. The angiotensin converting enzyme I/D polymorphism in Russian Athletes. **Eur J Hum Genet** 9:797-801, 2001.
59. OSTRANDER EA, HUSON HJ, OSTRANDER GK. Genetics of athletic performance. **Annu Rev Genomics Hum Genet** 10:407-29, 2009.
60. OSIECKI R, GLIR FG, FORNAZIERO AM, CUNHA RC, DOURADO AC. Parâmetros antropométricos e fisiológicos de atletas profissionais de futebol. **R da Educação Física/UEM** 18:177-182, 2007.
61. PIMENTA ME, COELHO DB, CRUZ IR, MORANDI RF, VENEROSO CE, PUSSIELDI GA, CARVALHO MRS. The ACTN3 genotype in soccer players in response to acute eccentric training. **Eur J Appl Physiol** 112: 1495-1503, 2012.

62. PUTHUCHEARY Z, SKIPWORTH JR, RAWAL J, et al. The ACE gene and human performance: 12 years on. **Sports Med**41:433-448, 2011.
63. PASQUA LA, ARTIOLI GG, PIRES FO, BERTUZZI R. ACTN3 e desempenho esportivo: um gene candidato ao sucesso em provas de curta e longa duração. **Rev Bras Cineantropom Desempenho Hum** 13:477-483, 2011.
64. PASQUARELLI BN, SANTOS AL, FRISSELLI A, DOURADO AC, STANGANELLI LCR. Relationship between the Bangsbo Sprint Test with sprint, agility, lower limb power and aerobic capacity tests in soccer players. **Rev Andal Med Deporte** 3:87-91, 2010.
65. RINGO J. **Genética Básica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.
66. RIENZI E, DRUST B, REILLY T, CARTER JEL, MARTIN A. Investigation of anthropometrics and work-rate profiles of elite south American international soccer player. **Jour Spor Med PhyFitn**. 40:162-169, 2000.
67. RODRÍGUEZ-ROMO G, RUIZ JR, SANTIAGO C, FIUZA-LUCES C, GONZÁLEZ-FREIRE M, GÓMEZ-GALLEGO F. Does the ACE I/D polymorphism, alone or in combination with the ACTN3 R577X polymorphism, influence muscle power phenotypes in young, non-athletic adults? **Eur J App Physiol** 110:1099-1106, 2010.
68. RUIZ JR, ARTETA D, BUXENS A, ARTIEDA M, GÓMEZ-GALLEGO F, SANTIAGO C et al. Can we identify a power oriented polygenic profile? **J Appl Physiol** 108:561-566, 2010.
69. RUIZ JR, GÓMEZ-GALLEGO F, SANTIAGO C, GONZÁLEZ-FREIRE M, VERDE Z, FOSTER C. Is there an optimum endurance polygenic profile? **J Physiol** 587:1527-1534, 2009.
70. REBELO AN, OLIVEIRA J. Relação entre a velocidade, a agilidade e a potência muscular de futebolistas profissionais. **Rev Port Cien Desp** 6: 342-348, 2006.

71. RANKINEN T, WOLFARTH B, SIMONEAU JA et al. No association between the angiotensin-converting enzyme ID polymorphism and elite endurance athlete status. **J Appl Physiol** 88:1571-1575, 2000.
72. RIGAT B, HUBERT C, ALHENC-GELAS F, CAMBIEN F, CORVOL P, SOUBRIER F. An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin 1-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. **J Clin Invest** 86:1343-1346, 1990.
73. RIZZO M, GENSINI F, FATINI C ET AL. ACE I/D polymorphism and cardiac adaptations in adolescent athletes. **Med Sci Sports Exerc** 35:1986-1990, 2003.
74. SABER-AYAD MM, NASSAR YS, LATIF IA. Angiotensin-converting enzyme I/D gene polymorphism affects early cardiac response to professional training in young footballers. **J Renin Angiotensin Aldosterone Syst.** 2:1-7, 2013.
75. SANTIAGO C, RUIZ JR, MUNIESA CA, GONZÁLEZ-FREIRE M, GÓMEZ-GALLEGO F, LÚCIA A. Does the polygenic profile determine the potential for becoming a world-class athlete? Insights from the sport of rowing. **Scand J Med Sci Sports** 20:188-194, 2010a.
76. SANTIAGO C, RODRÍGUEZ-ROMO G, GÓMEZ-GALLEGO F, GONZÁLEZ-FREIRE M, YVERT T, VERDE Z, et al. Is there an association between ACTN3 R577X polymorphism and muscle power phenotypes in young, non-athletic adults? **Scand J Med Sci Sports** 20:771-778, 2010b.
77. SANTIAGO C, GONZÁLEZ-FREIRE M, SERRATOSA L, MORATE FJ, MEYER T, GÓMEZ-GALLEGO F et al. ACTN3 genotype in professional soccer players. **Br Jour Spor Med** 42:71-73, 2008.
78. SCOTT RA, IRVING R, IRWIN L, MORRISON E, CHARLTON V, AUGUSTIN K, et al. ACTN3 and ACE genotypes in elite Jamaican and US sprinters. **Med Sci Sports Exerc** 42:107–112, 2010.

79. SCOTT RA, MORAN C, WILSON RH, ONYWERA V, BOIT MK, GOODWIN WH et al. No association between Angiotensin Converting Enzyme (ACE) gene variation and endurance athlete status in Kenyans. **Comp BiochemPhysiol A MollIntegrPhysiol** 141:169-175, 2005.
80. SHANMUGAM V, SELL KW, SAHA BK. Mistyping ACE heterozygotes. **PCR Methods Appl** 3:120-121, 1993.
81. TOBINA T, MICHISHITA R, YAMASAWA F, ZHANG B, SASAKI H, TANAKA H, SAKU K, KIYONAGA A. Association between the angiotensin I-converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism and endurance running speed in Japanese runners. **J PhysiolSci** 60:325-330, 2010.
82. THOMAS JR, NELSON JK, SILVERMAN S. **Métodos de pesquisa em atividade física**. São Paulo: Artmed, 5 ed., 2007.
83. TSIANOS G, ELEFThERIOU KI, HAWE E. Performance at altitude and angiotensin I-converting enzyme genotype. **Eur J ApplPhysiol** 93:630–633, 2005.
84. VENTER JC, ADAMS MD, MYERS EW et al. The sequence of the human genome. **Science** 29:1304-51, 2001.
85. VINCENT B, DE BOCK K, RAMAEKERS M, VAN DEN EEDE E, VAN LEEMPUTTE M, HESPEL P, et al. The ACTN3 (R577X) genotype is associated with fibre type distribution. **Physiol Genomics** 32:58–63, 2007.
86. YAMIN C, AMIR O, SAGIV M, ATTIAS E, MECKEL Y, EYNON N, SAGIV M, AMIR RE. ACE ID genotype affects blood creatine kinase response to eccentric exercise. **J ApplPhysiol** 103:2057-2061, 2007.
87. YANG N, MACARTHUR DG, GULBIN JP, HAHN AG, BEGGS AH et al. ACTN3 genotype is associated with human elite athletic performance. **Am J Hum Genet** 73:627–631, 2003.
88. WOODS D, HICKMAN M, JAMSHIDI Y, BRULL D, VASSILIOU V, HUMPHRIES AJS, MONTGOMERY H. Elite swimmers and the D allele of the ACE I/D polymorphism. **Hum Genet** 108:230–232, 2001.

89. WOODS DR, HUMPHRIES SE, MONTGOMERY HE. The ACE I/D polymorphism and human physical performance. **Trends Endocrinol Metab** 11:416–420, 2000.
90. WILLIAMS AG, FOLLAND JP. Similarity of polygenic profiles limits the potential for elite human physical performance. **J Physiol** 586:113-121, 2008.
91. WILLIAMS AG, DAY SH, FOLLAND JP, GOHLKE P, DHAMRAIT S, MONTGOMERY HE. Circulating angiotensin converting enzyme activity is correlated with muscle strength **Med Sci Sports Exerc.** 37:944-948, 2005.
92. WISLOFF U, CASTAGNA C, HELGERUD J et al. Strong correlation of maximal squat strength with sprint performance and vertical jump height in elite soccer players. **Br J Sports Med** 38:285–288, 2004.
93. ZHANG B, TANAKA H, SHONO N et al. The I allele of the angiotensin-converting enzyme gene is associated with an increased percentage of slow-twitch type I fibres in human skeletal muscle. **Clin Genet** 63: 139–144, 2003.
94. ZEMPO H, TANABE K, MURAKAMI H et al. ACTN3 polymorphism affects thigh muscle area. **Int J Sports Med** 31:138–142, 2010.

8. APÊNDICE

8.1 APÊNDICE 1

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Título da Pesquisa:

“ANÁLISE DO POLIMORFISMO ACE I/D EM JOGADORES DE FUTEBOL E SUA RELAÇÃO COM A *PERFORMANCE*”

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 **“ANÁLISE DO POLIMORFISMO ACE I/D EM JOGADORES DE FUTEBOL E SUA RELAÇÃO COM A *PERFORMANCE*”** realizada na Universidade Federal do Paraná. Os objetivos da pesquisa serão “investigar e descrever o comportamento de genótipos relacionados ao desempenho físico com jogadores de futebol e sua relação com testes de campo específicos do 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 para determinação do percentual de gordura), testes de campo específicos do futebol (impulsão 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 para assepsia e 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 mestrado Elton Bonfim Gomes (42 99480641), além dos contatos via e-mail para: raulfisioex@gmail.com (Raul) e bonfimgomes@gmail.com (Elton).

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 (dou minha permissão) para participação voluntária neste estudo.

Assinatura do Responsável Legal (menor de 18 anos)

RG: _____

Assinatura do atleta (maior de 18 anos)

RG: _____

Assinatura do Pesquisador Responsável

Prof. Msd. Elton Bonfim Gomes

Curitiba, _____ de _____ de 2012.