



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PROGRAMA MULTI-INSTITUCIONAL DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
BIOTECNOLOGIA

**AVALIAÇÃO DE GENES RELACIONADOS AO DESEMPENHO ESPORTIVO
EM ATLETAS DO ESTADO DO AMAZONAS**

AGNELO WEBER DE OLIVEIRA ROCHA

MANAUS
2015

AGNELO WEBER DE OLIVEIRA ROCHA

**AVALIAÇÃO DE GENES RELACIONADOS AO DESEMPENHO ESPORTIVO
EM ATLETAS DO ESTADO DO AMAZONAS**

Dissertação apresentada à Banca Examinadora do Programa Multi-Institucional de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Amazonas, como pré-requisito para a obtenção do título de Mestre em Biotecnologia, área de concentração biotecnologia para a saúde.

Orientador: Prof. Dr. Spartaco Astolfi Filho (UFAM)

Co-orientadora: Prof^a. Dra. Isabel da Mota Pontes (UFAM)

Co-orientador: Prof. Dr. Ozanildo Vilaça do Nascimento (UFAM)

MANAUS
2015

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

R672a Rocha, Agnelo Weber de Oliveira
Avaliação de Genes Relacionados ao Desempenho Esportivo em Atletas do Estado do Amazonas / Agnelo Weber de Oliveira Rocha. 2015
85 f.: il. color; 31 cm.

Orientador: Spartaco Astolfi Filho
Coorientador: Isabel da Mota Pontes
Coorientador: Ozanildo Vilaça do Nascimento
Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Amazonas.

1. Polimorfismo. 2. Genótipo. 3. ACTN3. 4. ECA I. I. Astolfi Filho, Spartaco II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

AGNELO WEBER DE OLIVEIRA ROCHA

**AVALIAÇÃO DE GENES RELACIONADOS AO DESEMPENHO ESPORTIVO
EM ATLETAS DO ESTADO DO AMAZONAS**

Dissertação apresentada à Banca Examinadora do Programa Multi-Institucional de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Amazonas, como pré-requisito para a obtenção do título de Mestre em Biotecnologia, área de concentração biotecnologia para a saúde.

Aprovado em 27, de Agosto de 2015.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Spartaco Astolfi Filho
Universidade Federal do Amazonas

Profª. Dra. Cintia Mara Costa de Oliveira
Universidade Federal do Amazonas

Prof. Dr. Gilmar Eduardo Costa do Couto
Universidade Federal do Amazonas

MANAUS
2015

DEDICATÓRIA

Esta conquista é dedicada a todos aqueles que sempre estiveram ao meu lado me dando o apoio necessário para superar as dificuldades encontradas durante a trajetória pessoal e profissional.

Começo me referindo a pessoa mais especial que já conheci e nunca deixei de amar, porém hoje está nos braços pai, minha avó Amália que DEUS a tenha, mas esteja no local que estiver saiba que me lembro da senhora todos os dias e serei eternamente grato por tudo o que a senhora fez por mim. Aproveito este parágrafo para dedicar o título a meu avô Raimundo “vulgo tesourão” com certeza se não fosse esse senhor teimoso na minha vida, a realidade pra mim seria muito diferente.

Minha família materna que nunca fez questão de esconder o orgulho que sente de mim, muito obrigado: Wanda (minha mãe) que mesmo impaciente jamais deixou de apoiar um filho, Luciclea (minha mãe-avó) que me criou em um momento crítico da minha infância e hoje ajuda bastante na criação do filho, meus irmãos Paula e Alessandro, pelas brigas e brincadeiras sempre por conta dos ciúmes (hehe) e as minhas tias, tios, primas e primos (não citarei todos, pois ficaria maior que o capítulo da revisão de literatura).

Meu pai e meu irmão Levy, mesmo com seus jeitos meio tímidos sempre estiveram dando forças.

Por fim, agradeço as duas pessoas que hoje estão mais próximas de mim, minha esposa Janny Cruz que hoje me proporciona a melhor sensação que um homem ter, que é a de ser pai e por muitas vezes passar madrugadas acordada comigo me ajudando no que fosse necessário. E por último, porém o mais importante, meu Agnelo filho, meu garotão que todos os dias me oferece o seu amor. Amo você, meu filho.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a DEUS por me conceder a vida e saúde para poder estudar e trabalhar com dignidade.

Agradeço aos professores que auxiliaram na minha formação desde o colegial até a Pós-Graduação, em especial aos meus orientadores: Dr. Spartaco Astolfi Filho, Dra. Isabel da Mota ponte e Dr. Ozanildo Vilaça do Nascimento. Além deles, sou um felizardo por um dia ter sido incentiva pelo professor Sérgio Fernandes, com certeza as palavras dele foram fundamentais para eu deixar de ser um carregador em loja de materiais de construção, para hoje me tornar Mestre em Biotecnologia.

Aos meus amigos da confraria ABM: Agda, Alex, Álvaro, Amadeu, Bola, Botinha, Butel, Erickson, Fernando, Jean, Jorge, Judite, Leilson, Limão, Míau, Ranióstoro e Wladier, por todos esses 27 anos de amizade.

Agradeço aos parceiros de laboratório André e Alana, que muitas vezes auxiliaram e dividiram alegrias e aflições altas horas da noite, inclusive nos finais de semana. Aos meus alunos que muito me ensinaram ao se mostrarem batalhadores mediante a tantas dificuldades enfrentadas.

Não poderia deixar de mencionar os amigos de trabalho, não citarei nenhum para não ser injusto por confiar na minha memória. Mas com certeza, quem me apoiou vai se sentir homenageado aqui.

Meus colegas da faculdade, em especial aquela que hoje é madrinha do meu filho, Ronélia Viana, muito obrigado por sempre me defender e apoiar.

A todos os citados aqui fica o meu muito obrigado e tenham a certeza de que podem contar comigo.

RESUMO

Evidências indicam que os polimorfismos nos genes da alfa-actinina-3 (ACTN3) e da enzima conversora de angiotensina I (ECA I) são fortes candidatos para modalidades de altas performances e força muscular. No entanto, no estado do Amazonas, esses estudos ainda são escassos. Dessa maneira, esta pesquisa se propôs a investigar a influência do polimorfismo R577X do gene ACTN3 e o polimorfismo I/D do gene da ECA I no desempenho esportivo de atletas do estado do Amazonas. Para tal, amostras de sangue de 127 atletas de ambos os sexos foram coletadas e divididas em dois grupos: G1 de modalidades predominantemente aeróbias e G2 de modalidades predominantemente anaeróbias. A extração do DNA foi realizada com o Kit *QIAamp*® QIAGEN. Enquanto que a quantificação do DNA extraído foi realizada no equipamento *Nanodrop*® ND-1000 Thermo Scientific, e em seguida por meio de eletroforese em gel de agarose a 0,8% e com coloração por brometo de etídeo. A identificação dos polimorfismos foi feita através das técnicas de PCR-RFLP (ACTN3) com a enzima de restrição DdeI e PCR (ECA I). Após todos os procedimentos experimentais a amplificação dos genes ocorreu em 96 amostras das 127 coletadas. Os resultados não apontaram diferença significativa de $p < 0,05$ quando avaliados os genótipos encontrados em modalidades aeróbias (RR = 31%, RX = 31% e XX = 38%). Porém, no G2 houve significância de $p < 0,05$ do grupo RR em relação aos demais (RR = 10%, RX = 53% e XX = 37%). Além disso, foi verificado que tanto em G1, quanto em G2 houve maior frequência dos portadores da proteína alfa-actinina-3 em relação dos homocigotos com mutação. A frequência genotípica do gene da ECA I não apontou diferenças entre os genótipos do G1 (II = 35%, ID = 61% e DD = 44%) e nem nos do G2 (II = 47%, ID = 47% e DD = 6%). Após o agrupamento dos genótipos (RR+RX+DD ou XX+ID+II) identificou-se que 37 sujeitos que obtiveram uma das duas combinações, sendo que 3 (8%) apresentaram a variação RR+RX+DD que é considerada ótima para as modalidades de força/potência, enquanto que 34 (92%) sujeitos apresentaram a variação XX+II+ID classificada como a mais indicada para modalidades de endurance. Portanto, conclui-se que a frequência do polimorfismo R577X do gene ACTN3 neste estudo se apresentou bem diferente que em outros experimentos. Porém, a genotipagem do gene da ECA I se assemelhou bastante com investigações realizadas no continente asiático, apesar de diferir de outros estudos realizados no sul e sudeste do Brasil, bem como na Europa.

Palavras chave: Polimorfismo, genótipo, ACTN3, ECA I.

ABSTRACT

Some studies show that the alpha-actinin 3 (ACTN3) and angiotensin-converting enzyme (ACE 1) polymorphisms are strong indicators of candidates for high power and performance in sports. However, in the north region, specifically on the Amazon state, this studies are very rare. According to that, this study presents an evaluation of the polymorphism R577X of the gene ACTN3 and the polymorphism I/D of the gene ECA I in the sports performance of athletes in the Amazon state. For that, blood samples were extracted from 127 athletes of both sexes and divided in two groups: G1 for primarily aerobic sports and G2 for primarily anaerobic sports. The DNA extraction was made by the Kit *QIAamp*® QIAGEN. While the quantification of the extracted DNA was done by the *Nanodrop*® ND-1000 Thermo Scientific machine. Postpone, a second quantification was realized with agarose gel at 0,8% flushed with ethidium bromide. The identification of the polymorphisms was done by the PCR-RFLP (ACTN3) technique with the restriction enzyme Ddel and PCR (ACE I). After all the procedures, the gene amplification occurred in 96 samples of 127 that were collected. The results did not show any significantly difference of $p < 0,05$ in the aerobic group (RR = 31%, RX = 31% e XX = 38%). However, the G2 group had a significant difference of $p < 0,05$ to the RR group compared to the others (RR = 10%, RX = 53% e XX = 37%). Besides that, it was verified that both the G1 and G2 groups had a high presence of the alpha-actin 3 gene, and less homozygous mutations. The genotype incidence of the gene ECA I did not show any difference between the genotypes of G1 (II = 35%, ID = 61% e DD = 44%) and G2 (II = 47%, ID = 47% e DD = 6%). After the grouping of the genotypes (RR+RX+DD ou XX+ID+II), it was identified that from the 37 subjects that obtained one of both combinations and 3 subjects (8%), showed a variation RR+RX+DD which is considered the best for power/strength sports, while 34 subjects (92%) of the subjects presented a variation XX+II+ID classified as the most indicated for endurance sports. For that so, it can be concluded that the incidence of the polymorphism R577X of the ACTN3 gene, was found to be very different from other experiments. However, the genotype of the gene ECA I was very similar to some studies realized in the asian country, despite being different from other studies done in the south and southeast regions of Brazil, as in Europe.

Keywords: Polymorphism, genotype, ACTN3, ACE I

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Localização da alfa-actinina na estrutura sarcomérica.....	17
FIGURA 2. Esquematização fisiológica do Sistema Renina Angiotensina.....	27
FIGURA 3. Ilustração dos sítios de restrição da enzima DdeI.....	38
FIGURA 4. Perfil eletroforético da quantificação do DNA em gel de agarose a 0,8%.....	42
FIGURA 5. Visualização da digestão feita com a enzima DdeI em gel de agarose a 3%.....	43
FIGURA 6. Distribuição dos genótipos ACTN3 na amostra global do estudo.....	43
FIGURA 7. Distribuição dos genótipos ACTN3 nos grupos das modalidades aeróbias ou anaeróbias.....	45
FIGURA 8. Distribuição dos genótipos ACTN3 nos subgrupos das modalidades.....	48
FIGURA 9. Expressão da proteína alfa-actinina-3 nos subgrupos das modalidades.....	50
FIGURA 10. Expressão da proteína alfa-actinina-3 em ambos os sexos.....	51
FIGURA 11. Visualização dos polimorfismos do gene da ECA I em gel de agarose a 2%.....	52
FIGURA 12. Distribuição dos genótipos da ECA I na amostra global do estudo.....	54
FIGURA 13. Distribuição dos genótipos da ECA I nos grupos das modalidades aeróbias ou anaeróbias.....	55
FIGURA 14. Distribuição dos genótipos da ECA I nos subgrupos das modalidades.....	58
FIGURA 15. Distribuição dos genótipos agrupados.....	60

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Resultados encontrados no trabalho de Yang et al. (2003).....	21
TABELA 2. Característica da amostra.....	40
TABELA 3. Distribuição dos atletas de acordo com as peculiaridades das modalidades.....	41
TABELA 4. Formação dos subgrupos de acordo com o sexo e a característica da modalidade.....	42
TABELA 5. Distribuição dos genótipos ACTN3 para ambos os sexos.....	44
TABELA 6. Frequência genotípica e distribuição alélica do gene ACTN3 em ambos os grupos.....	47
TABELA 7. Distribuição dos genótipos da ECA I para ambos os sexos.....	54
TABELA 8. Frequência genotípica e distribuição alélica do gene da ECA I em ambos os grupos.....	57

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

α - actinina – Alfa Actinina

ADP – Adenosina difosfato

ACTN1 – Gene da proteína Alfa Actinina 1

ACTN2 – Gene da proteína Alfa Actinina 2

ACTN3 – Gene da proteína Alfa Actinina 3

ACTN4 – Gene da proteína Alfa Actinina 4

Aercol – Aeróbia Coletiva

Aerind – Aeróbia Individual

Anacol – Anaeróbia Coletiva

Anaind – Anaeróbia Individual

Ang I – Angiotensina I

Ang II – Angiotensina II

AT1 – Receptor de angiotensina I

ATP – Adenosina trifosfato

ATP-CP - Adenosina trifosfato com fosfocreatina

B₂R – Receptor de bradicinina

DD – Genótipo homozigoto de deleção

DNA – Ácido desoxirribonucleico, do inglês *Deoxyribonucleic Acid*

ECA – Enzima Conversora de Angiotensina

ECA I – Enzima Conversora de Angiotensina I

ECA I/D – Polimorfismo de inserção/deleção do gene da ECA I

EDTA - Ácido Etilenodiamino Tetra-acético, do inglês *Ethylenediamine tetraacetic acid*.

EPO – Espécies reativas de oxigênio.

ID – Genótipo heterozigoto de inserção/deleção

II – Genótipo homozigoto de inserção.

LDH – Enzima lactato desidrogenase.

NaCl – Cloreto de Sódio.

NADH – Nicotinamida Adenina Dinucleotídio.

NCBI – Centro Nacional de Informações em Biotecnologia, do inglês *National Center the biotechnology in information*.

ng - nanograma

pb – Pares de bases.

PCR – Reação em Cadeia de Polimerase, do inglês *Polimerase Chain Reaction*.

PCR-RFLP - *restriction fragments lengths Polymorphism*.

pH – Potencial de hidrogeniônico

Pi – Fosfato inorgânico

pmol - Picomol

R577X – Polimorfismo do gene ACTN3

RR – Genótipo homozigoto do ACTN3 que desenvolve a alfa-actinina-3

RX - Genótipo heterozigoto do ACTN3

SPSS – do inglês *Statistical Package for Social Sciences*.

SRA – Sistema Renina Angiotensina

VO_{2max} – Volume Máximo de Oxigênio

UFAM – Universidade Federal do Amazonas.

ul - microlitro

XX - Genótipo homozigoto do ACTN3 que não desenvolve a alfa-actinina-3

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
2. REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1 CARACTERÍSTICAS DAS MODALIDADES ESPORTIVAS	13
2.2 GENÓTIPOS E FENÓTIPOS RELACIONADOS AO DESEMPENHO ATLÉTICO	14
2.3 POLIMORFISMO R577X DO GENE ACTN3 E INFLUÊNCIA NO DESEMPENHO ATLÉTICO.....	17
2.4 ENZIMA CONVERSORA DE ANGIOTENSINA (ECA I/D) E POLIMORFISMOS RELACIONADOS À SAÚDE E AO RENDIMENTO ESPORTIVO.....	26
3. OBJETIVOS.....	35
3.1 OBJETIVO GERAL	35
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	35
4. METODOLOGIA	36
4.1 AMOSTRA.....	36
4.2 EXTRAÇÃO DO DNA.....	37
4.3 AVALIAÇÃO DO POLIMORFISMO DO GENE ACTN3 POR PCR-RFLP. 37	
4.4 AVALIAÇÃO DO POLIMORFISMO (I/D) DO GENE DA ECA POR PCR . 38	
4.5 PROCEDIMENTOS ESTATÍSTICOS	39
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	40
5.1 CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA	40
5.2 QUANTIFICAÇÃO DO DNA EM GEL DE AGAROSE.....	42
5.3 DETECÇÃO DA FREQUÊNCIA DOS GENÓTIPOS ACTN3	43
5.3 ANÁLISE DA FREQUÊNCIA DOS GENÓTIPOS ECA I.....	52
5.4 ANÁLISE DA FREQUÊNCIA DOS GENÓTIPOS ACTN3 E ECA I AGRUPADOS.....	60
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	62

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63
APÊNDICE	78
APENDICE 1	79
APENDICE 2	80

1. INTRODUÇÃO

O desporto de rendimento teve grande evolução técnica e física nos últimos anos e muito desse progresso se deve as pesquisas científicas. Diversos laboratórios têm se dedicado a encontrar parâmetros fisiológicos que auxiliem os treinadores no planejamento e elaboração da preparação dos atletas. Sabe-se que o resultado significativo em uma modalidade específica depende de fatores como: acompanhamento psicológico e nutricional, treinamento, materiais esportivos e aspectos genéticos (Weineck, 2003). Esta última variável vem sendo amplamente investigada pela comunidade científica. Pesquisadores como: Walpole et al. (2006), Auweter e Allain (2007), McGivney et al. (2010) e Thomaes et al. (2011) realizaram investigações acerca de marcadores moleculares que podem influenciar o desempenho esportivo tanto em modalidades que exigem predominantemente a produção de energia através do sistema oxidativo, quanto aquelas que a síntese de ATP é proveniente do sistema glicolítico.

Esses estudos são justificados pelo fato de que por mais que haja certo grau de similaridade entre os seres humanos, existem pequenas variações que podem modificar a velocidade de algumas reações metabólicas favorecendo ou não a prática de determinada modalidade esportiva (Dantas, 2003 e Gentil, 2005). Apesar da dificuldade encontrada para identificar quais os genes podem ser benéficos ao rendimento atlético, alguns autores têm conferido aos fatores genéticos a responsabilidade por grande parte dos resultados esportivos (Ruiz et al., 2009, Seto et al., 2011, Montenegro et al., 2013).

Um percentual significativo dos estudos acerca da genética molecular atrelada aos exercícios físicos tem utilizado a abordagem de um gene candidato, isto é, um gene tem sido analisado baseado no seu potencial fisiológico e relevância metabólica para a característica de interesse do gene alvo, e este tem sua sequência determinada buscando-se identificar possíveis alterações (Mooran e Volker, 2012). Algumas evidências apontam para os polimorfismos nos genes da alfa-actinina-3 (ACTN3) e da enzima conversora de angiotensina I (ECA I) como fortes candidatos para modalidades de altas performances e força muscular (Massida et al., 2012).

Autores como Yang et al. (2003), Vicent et al. (2007), Alfred et al. (2011) e Fattahi e Najmabadi (2012) realizaram investigações acerca do polimorfismo R577X do gene ACTN3, que segundo Eynon et al. (2012) é um dos genes mais estudados no que

diz respeito ao desempenho atlético. Evidências científicas, como as encontradas nos trabalhos de Moran et al. (2007), têm associado esse polimorfismo (R577X do gene ACTN3) com o desempenho atlético em modalidades que exigem predominantemente força/potência.

Nos estudos de Beggs et al. (1992) foi identificado que o gene ACTN3 possui informação para codificar a proteína alfa-actinina-3 que está presente nas fibras de contração rápida. Yang et al. (2003) afirmam que a alfa-actinina-3 sarcomérica é uma proteína que constitui um dos principais componentes da linha Z e parece ser crucial para produzir contrações musculares rápidas e fortes. Para Fattahi e Najmabadi (2012) e Massida et al. (2012) indivíduos homocigotos para o polimorfismo R577 têm cópia completa da alfa-actinina-3, além disso, esse polimorfismo tem frequência significativa em atletas de elite de força/potência. Por outro lado, os autores apontam que estudos têm demonstrado que o alelo X tem elevado nível de frequência em atletas de resistência.

Por outro lado, Brutsaert e Parra (2006), Eynon et al. (2011), Garatachea et al. (2012), Chiu et al. (2012), realizaram investigações relacionando a enzima conversora de angiotensina (ECA) com performance física.

De acordo com Cam e seus colaboradores a ECA I é responsável por clivar a angiotensina I, convertendo-a em angiotensina II, esta tem elevada capacidade vasoconstritora e, além disso, é capaz de inativar a bradicinina, que possui características vasodilatadoras (Cam et al., 2005).

Em 1990 Rigat e colaboradores identificaram um polimorfismo no gene da ECA I que resulta na inserção ou deleção de 287 pares de bases no íntron 16 (Rigat et al., 1990). Esse mesmo grupo verificou menor atividade da ECA I quando os avaliados possuíam dois alelos de inserção, ou seja, homocigoto I/I da ECA I. No entanto, os sujeitos com maior atividade da enzima conversora de angiotensina apresentaram dois alelos de deleção (ECA D/D) (Rigat et al. 1990). Porém, Gayagay et al. (1998) e Myerson et al. (1999) encontraram correlação no polimorfismo homocigoto de inserção, ECA I/I, e o desempenho de atletas de resistência, enquanto que Cam et al. (2005) e Sgorou et al. (2012) identificaram performance superior em eventos de força/potência, nos sujeitos portadores do genótipo DD.

É importante ressaltar que as pesquisas envolvendo a influência dos fatores genéticos no desempenho esportivos ainda são escassas no Brasil. Dias et al. (2007)

revisaram acerca dos polimorfismos que podem influenciar a performance física em atletas de elite. Costa et al. (2009) avaliaram os efeitos do sistema renina angiotensina-aldosterona e do polimorfismo da ECA I/D no desempenho esportivo. Pasqua et al. (2011) pesquisaram a respeito do ACTN3 e desempenho esportivo em diferentes provas, sendo elas de curta e longa duração. Gentil et al. (2011) investigaram a influência do polimorfismo R577X do gene ACTN3 nas adaptações neuromusculares no treinamento resistido. Pimenta et al. (2011) avaliaram o genótipo ACTN3 em jogadores de futebol submetidos a treinamento excêntrico. Salgueirosa (2013) investigou influência do polimorfismo do ACTN3 e ECA I/D em indicadores de *performance* em atletas profissionais de futebol. Já Pereira et al. (2013) avaliaram como os polimorfismos da ECA I/D e do ACTN3 podem modular a resposta fisiológica em mulheres submetidas ao treinamento de força. No mesmo ano, foi avaliado o desenvolvimento anaeróbio de crianças e sua relação com o ACTN3 (Montenegro et al., 2013). Entretanto, é válido salientar que a predisposição genética é somente um indicador de *performance* e por conta disso fatores ambientais também são levados em consideração como determinantes do desempenho atlético (Dias et al., 2007).

Por conta de todos os fatores que podem interferir no desempenho esportivo dos atletas, como: as condições climáticas do estado do Amazonas, aspectos nutricionais e a miscigenação, os resultados dos atletas amazonenses ou aqueles que treinam no referido estado podem se apresentar diferentes dos que foram encontrados nos estudos citados. Além desses fatores ambientais que influenciam diretamente as variáveis fenotípicas, é preciso avaliar o perfil genético dos atletas que treinam no estado do Amazonas, principalmente no que diz respeito aos marcadores genéticos que podem influenciar positivamente o desempenho esportivo dos competidores, para fim de enriquecer a literatura referente ao tema e auxiliar os treinadores na prescrição dos treinamentos com maior embasamento científico.

Desta maneira o presente estudo propõe avaliar a relação dos genes ACTN3 e ECA I/D com o desempenho esportivo dos atletas do estado do Amazonas.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 CARACTERÍSTICAS DAS MODALIDADES ESPORTIVAS

O conhecimento dos aspectos fisiológicos das modalidades esportivas é fundamental para prescrição do treinamento físico, bem como para o processo de seleção de atletas. As modalidades anaeróbias exigem dos atletas esforços mais intensos, porém com curtos períodos de execução. Em grande parte essas modalidades são intermitentes, no entanto os intervalos são insuficientes para restaurar os substratos energéticos utilizados.

Durante esforços anaeróbios o organismo dos atletas ressintetiza o ATP através da fosfocreatina (sistema anaeróbio alático, ATP-CP) e/ou da degradação da glicose no sarcoplasma muscular (glicólise anaeróbia) (Riegel, 2006). Em ambos os casos ocorrem a diminuição do pH intramuscular devido a elevada liberação de íons hidrogênio, seja pela degradação do ATP e formação do ADP e de um fosfato inorgânico (Pi), seja pela redução do piruvato catalisada pela lactato desidrogenase (LDH), que regula a transferência do hidrogênio à NADH (nicotinamida adenina dinucleotídeo com hidrogênio) para o piruvato, que forma uma molécula de lactato (Powers e Howley, 2005; Houston, 2008; Wilmore et al., 2010).

Além da acidose muscular, que impede em grande parte a continuação das contrações musculares com a velocidade necessária para os esforços de grande magnitude, outros fatores também podem influenciar o rendimento nas modalidades anaeróbias. De acordo com Foschini et al. (2007) o estresse elevado ao qual a musculatura é submetida pode causar danos a estrutura das fibras musculares, causando o extravasamento de enzimas citosólicas que auxiliam na mobilização ou degradação de substratos necessários as contrações.

A somatória de todos esses eventos no ambiente intramuscular faz com que as provas ou modalidades anaeróbias sejam mais curtas (quando individuais) ou com possibilidades de um elevado número de substituições dos atletas durante uma partida (quando coletivas).

Em modalidades aeróbias as vias de fornecimento de energia para a contração muscular são em grande parte oxidativas. Porém, é válido ressaltar que em determinados

momentos os atletas realizam esforços anaeróbios. No entanto, a proporção dos esforços nos quais os atletas extraem energia através das vias oxidativas são preponderantes.

Nas provas ou modalidades aeróbias os esforços exigem contrações menos vigorosas que nas anaeróbias, porém o tempo de exercício é muito superior (McArdle et al., 2008). A manutenção da atividade muscular durante o período prolongado se deve, principalmente, as características metabólicas das fibras musculares de contração lenta, que tem maior capacidade oxidativa e por isso degradam com maior eficácia açúcares e ácidos graxos dentro da mitocôndria (Curi et al., 2003; Ide et al., 2010). É válido ressaltar que uma pequena proporção da energia utilizada nesses esforços é oriunda do metabolismo glicolítico, porém a remoção do lactato é proporcional a sua produção o que gera uma leve alteração no pH intramuscular, porém sem grandes prejuízos às contrações musculares.

Além desses fatores, existem indícios de que o exercício aeróbio possa modular a resposta metabólica quando referente a formação de espécies reativas de oxigênio (EPO) (Schneider e Oliveira, 2004).

A predisposição a uma modalidade específica em grande parte pode ser explicada por fatores genotípicos. Por exemplo: grande parte dos atletas de força/potência não apresentam o genótipo XX no gene ACTN3 (Yang et al., 2003). Em contrapartida, o alelo de inserção (I) do gene da enzima conversora de angiotensina apresenta grande frequência em modalidades com predominância aeróbia (Mooren e Volker, 2012).

Dessa maneira, fica evidente que identificar essas variações pode ser um ponto chave na prescrição do treinamento de atletas de alto nível, para que estes possam alcançar resultados satisfatórios.

2.2 GENÓTIPOS E FENÓTIPOS RELACIONADOS AO DESEMPENHO ATLÉTICO

O desempenho esportivo está diretamente relacionado a uma gama de fatores fenotípicos e genotípicos, e esses fatores têm aumentado o interesse de cientistas do desporto, das diversas modalidades, em pesquisar a relação entre os marcadores moleculares e a performance atlética (Dias et al. 2007 e Salgueirosa et al. 2013). Todas as informações biológicas dos atletas estão organizadas nas moléculas de DNA e a

transmissão dessas informações ocorre quando um fragmento do DNA é transcrito a RNAm e, este, traduzido a proteína (Hoffee, 2000 e De Roberts e Hib, 2012).

No entanto é possível afirmar que nem mesmo gêmeos univitelinos possuem todas as características genéticas idênticas (Dantas, 2003). As variações genéticas são responsáveis pelas características individuais dos atletas e normalmente podem ser explicadas por: 1) *splicing* alternativo: que pode gerar diferentes RNAs mensageiros; 2) mutações: que alteram a sequência de nucleotídeos podendo, conseqüentemente alterar a proteína e 3) polimorfismos: que resultam em alteração na sequência de base, que podem criar ou destruir sítios de reconhecimento de enzimas de restrição, e tem frequência maior que 1% na população (Lima et al., 2006; McArdle et al., 2008; Pasqua et al., 2011 e Ahmetov et al., 2014).

Por conta de todas essas possibilidades de variabilidade genética nos seres humanos, pode-se afirmar que gene e ambiente interagem, não só em curto prazo, mas por toda a vida de um indivíduo gerando efeitos permanentes sobre o fenótipo adulto (Brutsaert e Parra, 2006).

O desenvolvimento de tecnologia para o sequenciamento do DNA e genotipagem rápida permitiu a identificação de algumas variações genéticas individuais que contribuem para o desempenho físico (Chiu et al., 2012). Pesquisas realizadas nos últimos anos, mais precisamente a partir de 1990, vêm demonstrando certa correlação entre variações genéticas e prática de exercícios físicos tanto como promotores de saúde, bem como moduladores de rendimento no desporto de alto nível (Rankinen et al., 2000; Parker et al., 2009; Quinlan et al., 2010; Pereira et al., 2013).

As células humanas contêm cerca de 30.000 genes com informações para codificar diversas proteínas e muitos deles apresentam associação com fenótipos relacionados à regulação do crescimento muscular, desempenho esportivo e condicionamento físico (Powers e Howley, 2005 p. 25 e Dias et al. 2007). Porém a quantidade de informações acerca de genes que podem ser moduladores de desempenho no desporto de rendimento ainda é pequena.

Apesar da dificuldade para identificar quais e como os genes podem modular a *performance* esportiva, Wolfarth et al. (2005) apontaram certa evolução nas pesquisas acerca dessa vertente, uma vez que no ano 2000 somente 29 genes haviam sido relacionados com a aptidão física, já em 2004 o mapa genético para o desempenho físico

e relacionado à saúde incluiu a entradas de 140 genes. Posteriormente, Bray et al. (2009) identificaram 214 genes autossômicos em uma revisão sistemática realizada durante os anos de 2006 e 2007 e a enzima conversora de angiotensina (ECA) e alfa-actinina-3 (ACTN3) foram os genes com maior número de resultados positivos quando relacionados ao treinamento físico.

De acordo com Ginevičienė et al. (2011) os resultados de muitos estudos, têm apontado que ECA I/D e o ACTN3 são considerados fortes candidatos com a associação da *performance* física humana. Dias et al. (2007) afirmam que o polimorfismo I/D da ECA I tem atraído considerável atenção por conta de sua associação com a *performance* física. A enzima conversora de angiotensina, de acordo com Powers e Howley (2005), é capaz de converter a angiotensina I em angiotensina II nos pulmões. Esse processo faz parte do sistema renina angiotensina (SRA) que segundo Jonsson et al. (1994) e Dragovic et al (1996) existe também em outros tecidos como o adiposo e muscular.

Ao longo dos últimos anos, foram relatadas associações significativas entre polimorfismos de inserção (I) e deleção (D) da enzima conversora de angiotensina (ECA) e fenótipos relacionados ao desempenho (Rankinen et al., 2000). Pesquisas como a realizada por Zhang et al. (2003) sinalizam para maior predisposição a exercícios de resistência, as pessoas com maiores níveis de ECA I/I quando comparadas com ECA I/D e ECA D/D. Esses resultados foram corroborados por Hagberg et al. (1998) e Myerson et al. (1999), porém recentemente foram refutados por Costa et al. (2009) e Almeida et al. (2012).

A respeito dos genótipos que podem influenciar o fenótipo força/potência, a literatura tem dado atenção especial ao ACTN3. Experimentos acerca desse gene têm sido realizados pela comunidade científica haja vista sua possível correlação com rendimento esportivo. As investigações feitas por: North (1999), Yang et al. (2003), Druzhevskaya et al. (2008), Gentil (2010), Pasqua et al. (2011) e Friedlander et al. (2013) apontam que nos seres humanos, dois genes contêm informação para codificar diferentes alfa-actininas para o músculo esquelético: ACTN2 é expresso em todas as fibras musculares esqueléticas, enquanto ACTN3 é expressa nas fibras musculares de contração rápida.

2.3 POLIMORFISMO R577X DO GENE ACTN3 E INFLUÊNCIA NO DESEMPENHO ATLÉTICO.

É bem aceita e comprovada a hipótese de que a composição e a distribuição das fibras musculares estão estreitamente relacionadas ao desempenho físico (Ahmetov et al., 2011). O sarcômero é uma microestrutura fundamental para a arquitetura e contração dessas fibras musculares. A organização estrutural de um sarcômero, bem como a integridade do aparelho muscular contrátil dependem de complexos proteicos que ligam sarcômeros adjacentes (Pimenta, 2012). Do ponto de vista da importância das proteínas sarcoméricas, as alfa-actininas têm um papel fundamental no que diz respeito às contrações musculares vigorosas.

Localizadas na linha Z sarcomérica, as alfa-actininas são uma família de proteínas de ligação de actina relacionadas à distrofina e que desempenham ambos os papéis estruturais e contráteis durante contrações musculares em várias espécies (Yang et al., 2003 e San Juan et al., 2006), podendo também estar relacionadas a diferenciação do tipo de fibra muscular (Frey et al., 2000). Além de ligar as actinas a linha Z do sarcômero, Clark et al. (2002) e Dias et al. (2007) apontam que o ponto de fixação da proteína muscular titina dentro do sarcômero é justamente na alfa-actinina. Mills et al. (2001) sugerem que as alfa-actininas desempenham um papel na organização do filamento fino, e a interação entre o citoesqueleto e a membrana sarcomérica muscular.

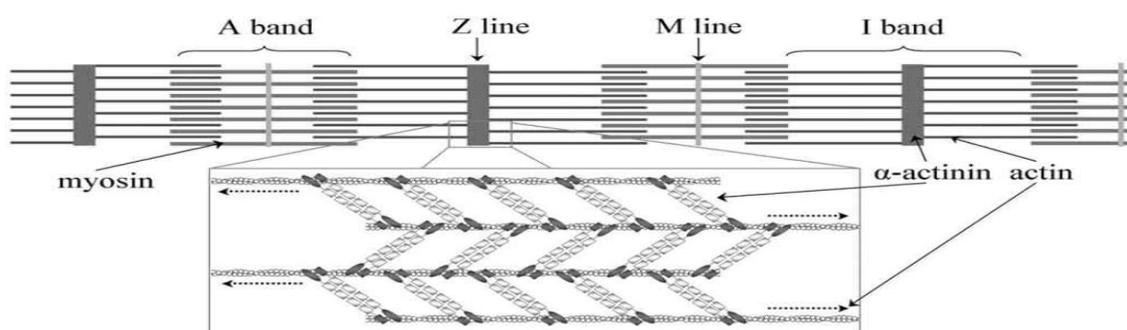


Figura 1 – Localização da alfa-actinina na estrutura sarcomérica de acordo com North (2004).

Além disso, a localização da alfa-actinina permite sua interação com a calcineurina, uma proteína treonina/serina fosfatase dependente de cálcio/calmodulina, que tem elevada atividade nas fibras do tipo I, principalmente no que diz respeito ao

crescimento muscular (Frey et al., 2000). Informações dão conta de que a inibição da calcineurina pode gerar um efeito transitório na tipologia da fibra muscular de lenta para rápida e aumentar, inclusive, a produção de testosterona (Chin et al., 1998; Allen e Leinwand 2002; Henesy et al., 2012). Outros estudos sinalizam para a participação do ACTN3 na regulação do tipo de fibras musculares esqueléticas. Vicent et al. (2007), avaliaram 90 homens saudáveis e identificaram que o percentual do número de fibras IIX foi maior no grupo que apresentou o genótipo RR em relação ao grupo XX.

Dos quatro genes encontrados para a síntese de alfa-actininas nos humanos apenas ACTN2 e ACTN3 possuem informação para codificar proteínas musculares, já os genes ACTN1 e ACTN4 são codificadores de proteínas não musculares (Gentil, 2010 e Pimenta, 2012). Além disso, o ACTN2 é expresso em todos os tipos de fibras musculares, porém o ACTN3 codifica somente proteínas presentes nas fibras musculares do tipo 2 (Yang et al., 2003, Santiago et al., 2008 e Friedlander et al., 2013).

Em 1992, Beggs e colaboradores clonaram e caracterizaram o gene ACTN3 localizado no cromossomo 11 e demonstram que uma diversidade de isoformas de alfa-actininas são sintetizadas como resultado de transcrição a partir de diferentes *locus* genéticos (Beggs et al., 1992). ACTN3 está localizado no cromossomo 11q13-q14 e codifica a proteína alfa-actinina-3 (Fattahi e Najmabadi, 2012).

Uma das variações genéticas do gene ACTN3 bastante estudada é o polimorfismo C1747T (éxon 16) responsável pela substituição de uma arginina (R), por um códon de terminação prematuro (X) no resíduo 577 (R577X, rs1815739) (Ma et al., 2013, Moran et al., 2007, Gentil, 2011).

Esse polimorfismo resulta na ausência de alfa-actinina-3 em mais de um bilhão de pessoas em todo o mundo (North, 2008; Bermam e North, 2010). Mills et al. (2001) demonstraram que a alfa-actinina-3 está ausente em cerca de 18% dos indivíduos em uma série de populações humana, e que a homozigose para um códon de terminação prematuro (577X) é responsável pela maioria dos casos de deficiência de alfa-actinina-3. Estudos realizados por North et al. (1999), através de biopsias, com o objetivo de verificar a deficiência de alfa-actinina-3 na população em geral, revelaram que 51 (19%) de 267 ocidentais avaliados apresentaram deficiência de alfa-actinina-3, porém não encontraram nenhuma alteração em relação à presença da alfa-actinina-2, no entanto esses resultados não sugerem nenhum fenótipo patológico na população investigada. Segundo Yang et al. (2003), é provável que a alfa-actinina-2 seja capaz de "compensar" a ausência de alfa-

actinina-3 em fibras do tipo 2, embora não haja uma regulação de alfa-actinina-2 em resposta a níveis de deficiência da alfa-actinina-3. Sendo assim, a variante genética 577X não está associada com um fenótipo de doença muscular, mas evidências apontam que o desempenho atlético em modalidades de força e *sprint* nos portadores desse polimorfismo está reduzido (Roth et al., 2008 e Santiago et al., 2008).

North (2008) usando modelos murino verificou que o músculo dos camundongos sem alfa-actinina-3 utiliza a energia de forma mais eficiente. Além disso, as fibras rápidas nesses animais possuem as propriedades metabólicas e contráteis das fibras oxidativas lentas, sugerindo que a deficiência de alfa-actinina-3 pode estar relacionada com alguma vantagem adaptativa do alelo 577X. Em outra investigação MacArthur et al. (2007), verificaram menor expressão da enzima lactato desidrogenase e maior expressão da citrato sintase em ratos homozigotos para o genótipo XX quando comparados com os homozigotos RR.

Por outro lado Quinlan et al. (2010), identificaram maior conteúdo da enzima glicogênio fosforilase, que atua hidrolisando a molécula de glicogênio, nas fibras do tipo II tanto de homens quanto de ratos portadores do genótipo RR em comparação com aqueles que apresentaram a variação XX.

Já Vincent et al. (2011), avaliaram através de biopsia do vasto lateral a atividade das enzimas citocromo c e succinato desidrogenase, que são consideradas marcadores da capacidade oxidativa, em 17 sujeitos XX e 16 RR. Os autores concluíram que não foram encontradas diferenças para a atividade do citocromo c oxidase em ambos os genótipos tanto nas fibras do tipo I, quanto nas fibras musculares tipo II. Além disso, não foram encontradas diferenças significativas na coloração da succinato desidrogenase de fibras rápidas comparando portadores XX e RR.

Porém, está evidenciado que os indivíduos portadores do polimorfismo funcional 577R apresentam maior vantagem quando o estímulo no qual a musculatura é exigida tem características de força/potência (Santiago et al., 2008 e Shang et al., 2012).

Desse modo, percebe-se que o polimorfismo R577X tem sido associado com o estado atlético e fenótipos musculares em várias etnias (Broos et al., 2012). Talvez essa evidência possa ser comprovada devido à contribuição desse polimorfismo para a determinação da composição do tipo de fibra muscular e estado atlético (Ahmetov et al., 2011).

Vale ressaltar que foi encontrada uma relação positiva entre o polimorfismo RR da isoforma 3 da alfa-actinina (alfa-actinina-3) e maior produção de testosterona em atletas de diversas modalidades em comparação com sujeitos XX, o que causaria um aumento da massa muscular magra, força e velocidade (Urban et al., 2011 e Ahmetov et al., 2014).

A alfa-actinina-3 é expressa especificamente em fibras musculares de contração rápida, que são responsáveis pela geração de força em alta velocidade (Yang et al., 2003). Investigações realizadas por Ginevičienė et al. (2011) demonstram que o genótipo ACTN3 R/R é bastante frequente em atletas de força/potência, enquanto que o genótipo ACTN3 X/X é sub-representado nesses atletas.

Eynon et al. (2012) sustentam a hipótese de que o polimorfismo R577X tem um significado funcional, em função do músculo e do metabolismo, e pode ser influente para o desempenho atlético elite.

No entanto, estudos de associação genética em grupos de atletas produziram resultados contraditórios. Yang et al. (2003) analisaram três grupos diferentes. O primeiro com 292 mulheres e 134 homens não atletas, o segundo grupo foi composto por 107 atletas *sprint* (72 masculinos e 32 femininos) e o terceiro por 194 atletas de *endurance* (122 homens e 72 mulheres). Não foram encontradas diferenças quando compararam o grupo controle com os dois outros grupos juntos, porém quando comparados com o grupo *sprint* isoladamente houve uma forte evidência de variação de frequência nos alelos, além das diferenças na variação das frequências entre os controles homens e mulheres.

A tabela 1 resume os dados encontrados no realizado por Yang et al (2003), na qual é possível observar que os genótipos se apresentam de maneira diferente entre atletas homens e mulheres. Apesar das variações, o alelo R teve frequência superior em relação ao X em ambos os sexos, além disso, ao analisar somente as provas que exigem *sprint* a homozigose para R foi superior que as demais variações, porém nas mulheres a heterozigose RX foi superior nos atletas *sprint* e o genótipo XX não foi identificado.

Tabela 1. Resultados encontrados no trabalho de Yang et al. (2003)

Grupos	Número Percentual (%) dos Genótipos			Frequência Alélica (%)	
	RR	RX	XX	R	X
Homem					
Controle	40 (30)	73 (54)	21 (16)	57	43
<i>Sprint</i>	38 (53)	28 (39)	6 (8)	72	28
Resistência	34 (28)	63 (52)	25 (20)	54	46
Mulher					
Controle	88 (30)	147 (50)	57 (20)	55	45
<i>Sprint</i>	15 (43)	20 (57)	0 (0)	71	29
Resistência	26 (36)	25 (35)	21 (29)	53	47
Total					
Controle	130 (30)	226 (52)	80 (18)	56	44
<i>Sprint</i>	53 (50)	48 (45)	6 (6)	72	28
Resistência	60 (31)	88 (45)	46 (24)	54	46

Niemi & Majamaa (2005) analisaram o DNA mitocondrial (mtDNA) e genótipos ACTN3 de atletas de resistência (n = 52) e velocidade pura (n = 89) da elite finlandesa. A frequência do genótipo 577XX foi maior e de RR foi menor entre os atletas de resistência finlandesa, e, além disso, em nenhum dos velocistas finlandeses foi identificados o genótipo XX.

Clarkson et al. (2005) verificaram a relação dos genótipos do ACTN3 com o tamanho do músculo bíceps braquial (ressonância magnética), força isométrica (através de testes de contrações voluntárias máximas (CVM)) e com a força dinâmica (utilizando o teste de uma repetição máxima (1RM)) em 247 homens e 355 mulheres. Os avaliados passaram por um período de treinamento de força, somente para o membro não dominante, com duração de 12 semanas. Os resultados não foram significativos nos homens, porém nas mulheres houve expressivo aumento de força nas que apresentaram o genótipo XX. Esses resultados apresentam certa discordância com outros estudos que apontam que os genótipos RR e RX têm maior relação com o desenvolvimento da força. Talvez isso possa ser explicado através da hipótese de que o ACTN3 module as respostas fisiológicas nos exercícios de potência somente em atletas, pois em pessoas sedentárias ou ativas não atletas as variações desse gene não apresentam diferenças.

Lucia et al. (2006) testaram a distribuição da frequência do genótipo R577X em um grupo de 50 ciclistas profissionais, e compararam seus resultados com os de um grupo de 52 atletas olímpicos em provas de fundo para o sexo masculino e 123 indivíduos sedentários, porém saudáveis, também do sexo masculino como grupo controles, sendo os três grupos compostos somente por pessoas com ascendência europeia. Os resultados

não apresentaram diferença significativa: RR: 28,5%, RX: 53,6% e XX: 17,9% nos controles; RR: 28%; RX: 46% e XX: 26% em ciclistas e RR: 25%; RX: 57,7%; XX: 17,3% em corredores. Os autores concluíram que apesar da deficiência da alfa-actinina-3 no genótipo XX, o que pode ser prejudicial para o desempenho da velocidade em humanos, o polimorfismo R577X parece não conferir uma vantagem sobre a capacidade dos atletas masculinos para sustentar o desempenho de resistência extrema. Esses resultados apresentam certa contradição em relação a outros achados com pesquisas de mesmo delineamento, uma vez que no estudo de Yang et al. (2003) e Niemi & Majamaa (2005) os resultados apresentaram diferenças significativas para a frequência superior do genótipo RR em atletas *sprint* ou de força quando comparados com atletas de *endurance*.

Na tentativa de verificar se a presença ou ausência de alfa-actinina-3 influencia os efeitos deletérios do envelhecimento sobre a produção de força e a capacidade funcional do músculo, San Juan et al. (2006) investigaram a frequência do genótipo ACTN3 em 23 idosas saudáveis e não atletas, através da realização do teste de esforço progressivo, teste de supino e caminhada ao ar livre de uma milha. Foram feitas coletas de sangue para a detecção do gene ACTN3. Os resultados apontaram que 22% da amostra apresentou homozigose para o genótipo XX e os outros 78% apresentaram genótipo heterozigoto RX e homozigoto RR. No que diz respeito aos testes, não foram encontradas diferenças para os genótipos encontrados, e com isso os autores concluíram que a deficiência completa de alfa-actinina-3 não afeta a capacidade aeróbia máxima, capacidade funcional, ou a força muscular máxima em mulheres idosas, embora sejam necessários estudos com amostras maiores.

Delmônico et al. (2007) avaliaram a força unilateral do quadríceps em 71 idosos e 86 idosas antes e após 10 semanas de treinamento resistido. Inicialmente as com genótipo XX apresentaram resultados significativos em relação aos demais genótipos, porém ao final do estudo as idosas com genótipos RR apresentaram respostas mais satisfatórias no pico de força do músculo avaliado. Porém nos homens não houve essa transição de alteração da força de acordo com os genótipos. Nestes o grupo RR apresentou maior percentual de força desde o início do estudo.

Moran et al. (2007) selecionaram 992 indivíduos (525 homens, 467 mulheres) gregos jovens e os submeteram a um teste de velocidade de 40 metros. Os resultados apontaram que os sujeitos portadores do genótipo RR tiveram menor tempo, seguidos daqueles com genótipo RX e XX, respectivamente.

Santiago et al. (2007) investigaram a distribuição da frequência dos genótipos R577X em 60 futebolistas profissionais. Os resultados foram comparados com os de 52 atletas de elite e 123 controles sedentários. A distribuição dos genótipos RR e RX em jogadores de futebol (48,3% e 36,7%) foi significativamente superior e inferior, respectivamente, em relação aos controles (28,5% e 53,7%) e atletas de endurance (26,5% e 52%) ($p = 0,041$). Os autores concluíram que embora haja exceções notáveis, os jogadores de futebol de elite tendem a ser atletas de *sprint*/potência por isso o genótipo RR teve uma frequência maior.

Em outro estudo que buscou identificar a frequência dos genótipos do ACTN3, Saunders et al. (2007) publicaram os resultados da avaliação de 457 homens caucasianos que disputaram o Ironman entre os anos de 2000 e 2001 na África do Sul e compararam com 143 controles também caucasianos. Dentre o grupo experimental foram identificados 162 sujeitos RR, 91 XX e 204 RX e os respectivos tempos de prova em minutos foram: 752 ± 95 , 767 ± 98 e 753 ± 88 . Dessa maneira, os autores concluíram que não houve diferença nos genótipos entre os grupos e nem entre o tempo de prova do grupo experimental. Portanto na referente pesquisa o polimorfismo R577X do gene ACTN3 não foi associado com o desempenho de ultra resistência no *Ironman* da África do Sul nos anos de 2000 e 2001.

Papadimitriou et al. (2008) verificaram as diferenças na frequência genotípica do ACTN3 em 28 atletas de modalidades aeróbias e 73 de modalidades anaeróbias. Os resultados apontaram que houve maior frequência do genótipo RR nos praticantes de modalidades anaeróbias em comparação com os atletas do outro grupo. Além disso, 74% dos atletas que disputavam provas com até 400m foram genotipados como RR.

Seguindo a linha de pesquisa que busca identificar o perfil genotípico de atletas de alto nível, Ciężczyk et al. (2011) investigaram a frequência do polimorfismo R577X do gene ACTN3 em dois grupos (158 atletas de força/potência e 254 controles). Os autores verificaram a frequência do alelo R significativamente maior nos atletas de força/potência, enquanto que o alelo X foi maior representado no grupo controle. Esses achados confirmam a hipótese que os genótipos RR e RX do ACTN3 podem ter efeito benéfico no desempenho esportivo de modalidades que exigem contrações musculares fortes e em curto intervalo de tempo.

Ahmetov et al. (2011) avaliaram a relação entre a tipologia de fibras musculares do vasto lateral, a distância preferida das corridas e o polimorfismo R577X do gene

ACTN3 em 115 patinadores russos de velocidade e longas distâncias (provas que variavam de 500 a 10.000 metros) e compararam com 1301 controles. Os resultados apontaram para maior frequência o genótipo XX para os patinados de distâncias mais próximas dos 10.000 metros, enquanto que nos patinadores de distâncias menores (próximas dos 500 metros) a frequência maior foi do genótipo RR. Além disso, os sujeitos com genótipo XX apresentaram maior proporção de fibras de contração lenta. Dessa maneira, pode-se concluir que o genótipo ACTN3 pode estar tanto relacionado a tipologia das fibras musculares, bem como na modulação da performance em patinadores de curta e longa distância.

Com o intuito de investigar a influência do polimorfismo R577X na resposta muscular, Gentil et al. (2011) submetem 141 homens a 11 semanas de treinamento resistido. Após este protocolo de treinamento foi observado que o polimorfismo R577X no gene ACTN3 não esteve associado com a força muscular basal ou com a resposta da força muscular no treinamento resistido. No entanto, apenas os portadores do alelo R mostraram aumentos na espessura muscular em resposta ao treinamento.

Em 2011, Coelho investigou os genótipos RR, RX e XX de 367 futebolistas das categorias sub-15, sub-17, sub-20 e profissionais e comparou com os de 100 sujeitos controles na tentativa de associar esses polimorfismos com indicadores de dano muscular e respostas hormonais pós-jogo. O autor pôde verificar que entre os atletas e o grupo controle não houve diferenças para os genótipos do ACTN3. Porém, foi identificada menor frequência do polimorfismo XX na categoria profissional. Nesta mesma categoria foi encontrada significativa frequência do genótipo RX. Dessa maneira, foi concluído que pode haver uma espécie de seleção natural do perfil genotípico RX nos atletas profissionais de futebol, sendo o XX menos frequente nesta população (Coelho, 2011).

Com objetivo de investigar a relação do ACTN3 e desempenho de nadadores caucasianos do leste asiático, Wang et al. (2013) compararam o genótipo de 200 nadadores europeus (130 de curta e média distância até 400m e 70 de longa distância, acima de 500 metros) com 326 nadadores japoneses e taiwaneses (curta distância, 100 m, n = 166 e média distância, 200-400 m, n = 160). Os autores concluíram que o polimorfismo ACTN3 R577X funcional não apresentou associação significativa com o desempenho de nadadores de elite do leste asiático, apesar de inúmeros relatos de associações com força/potência em outros esportes.

Oliveira (2013) buscou determinar as variações entre a aptidão anaeróbia de lutadores de Artes Marciais Mistas e a variação R577X do gene ACTN3. Os atletas realizaram testes de esforço que avaliaram a aptidão anaeróbia alática e anaeróbia láctica. Os resultados sinalizaram positivamente para os genótipos RR e RX nos testes anaeróbicos aláticos (salto vertical e teste de uma repetição máxima no agachamento). Esses achados corroboram com outros estudos que apontam maior predisposição do alelo R em eventos de força/potência.

Pasqua (2013) realizou uma investigação com intuito de identificar a associação entre o polimorfismo R577X e variáveis fisiológicas relativas a aptidão aeróbia. O autor avaliou a frequência dos genótipos RR, RX e XX do ACTN3 em sujeitos fisicamente ativos e submetidos a testes que avaliaram a resistência aeróbia e a força muscular. Os resultados indicaram que os indivíduos com melhores respostas nos testes aeróbios foram genotipados para a variação XX, o que indica que esse polimorfismo reflete em variações fisiológicas positivas para a melhora da aptidão aeróbia.

Mais recentemente, Bernadez-Pereira et al. (2014), testaram uma hipótese diferente daquela que relaciona os polimorfismos do gene ACTN3 com o desempenho esportivo. Os referidos autores acompanharam um grupo de sujeitos com insuficiência cardíaca durante cinco anos e, ao final do estudo, identificaram maior índice de mortalidade nos pacientes com os genótipos RX ou XX. Dessa maneira concluíram que esse gene poderia ser usado, no futuro, como um marcador de prognóstico em insuficiência cardíaca. No entanto é válido ressaltar que esse estudo foi o primeiro a investigar a possível associação do gene ACTN3 com o prognóstico da insuficiência cardíaca e, portanto mais investigações acerca dessa relação precisam ser realizadas.

Norman et al. (2014) avaliaram as respostas musculares em 143 (88 homens e 55 mulheres) sujeitos submetidos a treinamento anaeróbio. A genotipagem dos homens mostrou que 29 são RR, 44 RX e 15 XX. Já as mulheres foram genotipadas da seguinte maneira: 22 RR, 21 RX e 12 XX. Após os testes não foram identificadas diferenças na área de secção transversa do músculo, nos níveis de glicogênio muscular e nem na composição corporal dos participantes da pesquisa. Porém observou-se que nos sujeitos com genótipo XX houve menos fosforilação da enzima mTOR e no fator de iniciação em eucariotos p70S6K. Isso pode evidenciar uma menor resposta no que diz respeito a síntese proteica em sujeito com genótipo XX, quando comparados com aqueles RR e RX.

2.4 ENZIMA CONVERSORA DE ANGIOTENSINA (ECA I/D) E POLIMORFISMOS RELACIONADOS À SAÚDE E AO RENDIMENTO ESPORTIVO.

A enzima conversora de angiotensina (ECA) está relacionada, principalmente, com duas funções metabólicas. Segundo Matos (2006), Dias et al. (2007), Costa et al. (2009) e Lemes et al. (2013) a ECA faz parte do Sistema Renina Angiotensina (SRA) e pode, além disso, inativar a bradicinina, um importante vasodilatador. Sabe-se que o sistema renina angiotensina é um dos principais reguladores da pressão arterial (Franken et al., 2004). Já a bradicinina, segundo Matos (2006), é uma das substâncias que estimulam a síntese do óxido nítrico por transformação da L-arginina em L-citrulina, reação essa que forma o óxido nítrico.

O SRA é um complexo sistema hormonal, em que a cascata de reações envolvem diversos peptídeos com fundamental importância no controle da pressão arterial, função cardiovascular, renal, regulação da função adrenal, fluido corporal e homeostasia hidroeletrólítica do organismo (Carey e Siragy, 2003; Oliveira et al., 2003; Alves, 2007).

A elevação da atividade simpática durante o exercício físico produz a constrição dos vasos sanguíneos que se dirigem aos rins, diminuindo assim o fluxo sanguíneo para esse órgão (McArdle et al. 2008). Segundo Powers e Howley (2005) fatores que levam a causar diminuição do volume plasmático ou queda da pressão arterial nos rins estimulam as células justaglomerulares renais a secretarem uma enzima denominada renina. A renina atua sobre o seu substrato, o angiotensinogênio, clivando-o e conseqüentemente liberando um decapeptídeo conhecido angiotensina I (Ang I) (Dias et al., 2007). Alguns segundos após a formação da angiotensina I, outros dois resíduos de aminoácidos são removidos, formando assim a angiotensina II (Ang II) que tem fortes características vasoconstritoras e atuará no receptor de angiotensina I (AT1), reação essa catalisada pela ECA I (Guyton e Hall, 2006).

Dentre outras funções, a Ang II também estimula a secreção de aldosterona que faz os rins excretarem potássio e reterem sódio, aumentando assim a reabsorção hídrica e expandindo o volume plasmático que tem como consequência a elevação da pressão arterial nos túbulos renais (McArdle et al. 2008). Além de ser um potente vasoconstritor, a Ang II promove o crescimento da massa muscular esquelética e degrada as cininas, que o inibem (Bueno Junior e Pereira, 2010).

A figura 2 ilustra a cascata de reações fisiológicas do sistema renina angiotensina propostas por Guyton e Hall, (2006) para explicar os mecanismos que levam a ativação da ECA e, conseqüentemente, formação da angiotensina II.

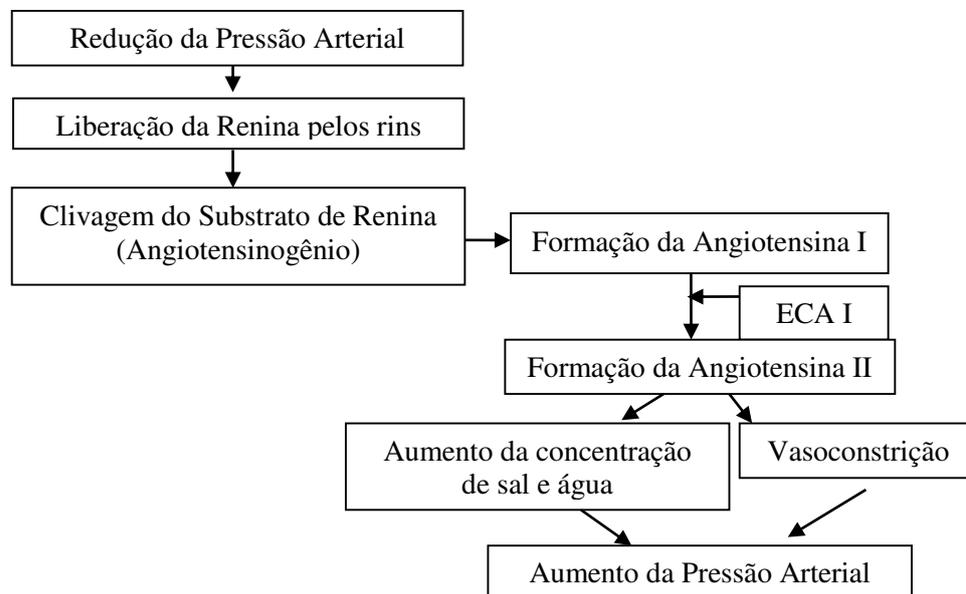


Figura 2 – Esquematização do Sistema Renina Angiotensina adaptado do livro “Tratado de Fisiologia Médica” (Guyton e Hall, 2006).

Outra atividade da ECA I está relacionada à hidrólise de dois peptídeos na posição C-terminal da bradicinina, enzima que possui importante função vasodilatadora quando ativa o receptor de bradicinina (B_2R) (Coates, 2003 e Willams et al., 2004).

Vale ressaltar algumas evidências que apontam atividade do SRA em tecidos diferentes como o adiposo e o muscular esquelético (Rankinen et al., 2000; Bergamo, 2010; Chiu et al., 2012 e Garatachea et al., 2012). Além disso, a ECA está presente como uma enzima de membrana, na superfície de células endoteliais e em vários tipos de células epiteliais, bem como numa forma circulante em fluidos biológicos, tais como plasma e líquido amniótico (Rigat et al., 1990 e Matos, 2006).

Sendo assim, pode-se afirmar que devido à atuação local do SRA diversos efeitos fisiológicos podem ser evidenciados (Bergamo, 2010). Dentre os mecanismos do SRA no organismo humano, pode-se destacar a taxa de regulação do crescimento miofibrilar (hipertrofia do miocárdio ou músculo esquelético), secreção de hormônios que atuam em tecidos específicos (hormônios reguladores da pressão arterial) e diferenciação celular

(transição das fibras do tipo IIx para IIa) (Zhang et al., 2003, Brewster e Perazella, 2004, Cam et al., 2005, Costa et al., 2009 e Wang et al., 2013).

Apesar de estar relacionada a quadros hipertensivos, a ativação da ECA I a nível muscular tem como consequência o aumento do fluxo sanguíneo para o músculo esquelético durante o exercício e isso, provavelmente, aumenta a vascularização periférica e potencializa a utilização de oxigênio pelo tecido muscular (Zoll et al., 2006; Xi et al., 2012).

O gene que possui a informação para codificar a isoforma da ECA I está localizado no cromossomo 17q23.3 (Coates, 2003). Estudos realizados em seres humanos identificaram que este gene possui 21 mil pares de bases (21Kb) e, além disso, no íntron 16 deste gene, que possui 26 éxons e 25 íntrons, um polimorfismo que resulta na inserção *Alu* (I) ou ausência (D) de 287 pares de bases, o que pode levar a uma diminuição ou um aumento da atividade dessa enzima, respectivamente (Rigat et al., 1990; Schunkert et al., 1994; Sayed-Tabatabaei et al., 1996; Montgomery et al., 1998; Crisan e Car 2000, Amir et al., 2007 e Park et al., 2009).

Alguns dados sugerem que indivíduos com homozigose para o alelo I (ECA I/I) possuem menor atividade da ECA, enquanto que os sujeitos homozigotos para o alelo D (ECA D/D) têm atividade mais expressiva da enzima conversora de angiotensina (Tiret et al., 1992, Lee e Tsai, 2002, Zhang et al., 2004, Walpole et al., 2006 e Salgueirosa, 2013). Já estudos como os de Franken et al. (2004) apontam que o alelo D da ECA está mais relacionado com quadros hipertensivos em comparação com o alelo I. Porém Rigat et al. (1990) não encontraram diferenças significativas entre os polimorfismos que pudessem apontar para uma maior predisposição do alelo D a quadros hipertensivos. Corroborando com Rigat et al. (1990), Mooren e Volker (2012 p. 47) apontam que em vários estudos o alelo D foi descrito associado com riscos aumentados de doenças coronarianas e outras desordens crônicas, porém as evidências até hoje são inconsistentes.

No que diz respeito à modulação da performance física, estudos anteriores têm associado o alelo D da enzima conversora de angiotensina com variabilidade na força muscular esquelética e o alelo I com desempenho em modalidades aeróbias, embora conclusões tenham sido inconsistentes diversas investigações (Gayagay et al., 1998 e Costa et al. 2009).

Objetivando identificar a relação entre o polimorfismo I/D da ECA com a diminuição do nível de hipertensão arterial em japoneses, Zhang et al. (2002) submeteram 64 sujeitos hipertensos a 10 semanas de exercício aeróbio em cicloergômetro. Os autores verificaram diminuição nos níveis pressóricos nos avaliados portadores do genótipo II e ID, mas não foram encontradas diferenças nos indivíduos DD. Dessa maneira, puderam concluir que os sujeitos detentores dos polimorfismos II e ID da ECA podem ter respostas satisfatórias na redução da pressão arterial quando submetidos a exercícios aeróbios.

Na tentativa de identificar alguma relação entre o polimorfismo da ECA com dados do ecocardiograma de filhos jovens de hipertensos, comparados com filhos jovens de normotensos, Franken et al. (2004) estudaram 80 jovens normotensos divididos em dois grupos: 40 filhos normotensos de pais normotensos e 40 filhos normotensos de pais hipertensos. Os resultados apontam que os filhos de hipertensos apresentaram maior espessura do septo interventricular, porém não mostraram diferenças entre os grupos em relação ao genótipo do gene da ECA, já que a genotipagem de filhos de hipertensos (D/D 42,5%, I/D 37,5%, I/I 20%) e dos filhos de normotensos (D/D 37,5%, I/D 32,5%, I/I 30%) foi bastante similar estatisticamente. Dessa maneira, concluíram que apesar de ter ocorrido diferença significativa da espessura do septo interventricular entre os grupos, não houve correlação desse dado com o polimorfismo do gene da ECA, tanto ao se analisar os genótipos, quanto os alelos separadamente.

Matos (2006) avaliou 1066 sujeitos de ambos os sexos para buscar identificar relação entre os polimorfismos dos genes da ECA, do angiotensinogênio e do receptor tipo 1 da angiotensina II com a pressão arterial. O alelo D da ECA esteve entre os alelos que apresentaram maior probabilidade a quadros hipertensivos. No entanto, a autora conclui que para o quadro da doença ser devolvido fatores ambientais também são implicados e que esta variação genética isoladamente é capaz de ser responsável por um quadro hipertensivo.

Em outro estudo buscando identificar a mesma associação, Napolis et al. (2007) estudaram o polimorfismo I/D da ECA em hipertensos cubanos. Neste estudo foram selecionados 243 hipertensos e 407 normotensos, na cidade de Havana, pareados por idade, sexo e etnia. O polimorfismo foi determinado pela reação em cadeia de polimerase (PCR). Os resultados absolutos da genotipagem apontaram diferenças significativas somente nas mulheres negras, sendo o alelo D o mais frequente nas hipertensas em comparação com as normotensas: 0.58 e 0.54 respectivamente. Os autores concluíram,

portanto, que o polimorfismo I/D da ECA não está associado com hipertensão na amostra multiétnica.

Freitas et al. (2007) avaliaram a influência de seis polimorfismos presentes no SRA no desenvolvimento de quadros hipertensivos em 150 habitantes do município de Santa Isabel do Rio Negro, divididos em dois grupos (normotensos = 78 e hipertensos = 82). No que diz respeito ao gene da ECA I, observaram a seguinte distribuição genotípica II = 67%, ID = 25% e DD = 8%. Além disso, verificaram no grupo hipertenso maior elevação da Pressão Arterial Sistólica naqueles portadores do alelo D, quando comparados com os sujeitos II e ID.

Quanto à relação do polimorfismo I/D do gene ECA e aptidão física, alguns estudos apontam para ações diferenciadas. A ECA expressa no músculo esquelético humano parece influenciar a sua função da seguinte maneira: o alelo I tem sido associado com o aumento de ganhos relacionados com a resistência à fadiga e eficiência contrátil, e o alelo D com melhorias na força (Folland et al., 2000; Humphries e Montgomery, 2000 e Williams et al., 2004).

Nos estudos de Gayagay et al. (1998) e Zhang et al. (2013) foram encontradas evidências que sinalizam para maior predisposição a modalidades aeróbias aqueles sujeitos portadores de um alelo I ou do genótipo homocigoto para o referido alelo. Amir et al. (2007) e Ginevičienė et al. (2011), identificaram maior frequência do alelo D ou do genótipo ECA D/D nos sujeitos que mais condicionado às competições de *endurance* quando comparados com grupos controle ou atletas de força/potência.

Uma das primeiras investigações acerca da influência do polimorfismo I/D do gene da enzima conversora de angiotensina no rendimento esportivo foi realizada por Montgomery et al. (1998). Estes autores avaliaram 25 alpinistas com experiência em altitudes maiores que 7000 metros e identificaram que menos de 10% dos atletas apresentaram o genótipo DD.

Em um estudo acerca do polimorfismo I/D da enzima conversora da angiotensina e fenótipo de desempenho em exercícios cardiorrespiratórios no Estudo Familiar HARITAGE, Rankin et al. (2000) submetem a 20 semanas de treinamento de resistência em 476 caucasianos e 248 indivíduos adultos negros, sendo ambos os grupos compostos por sujeitos sedentários. Os resultados apontaram melhoras na resistência cardiorrespiratória de ambos os grupos, no entanto não houve diferenças no aumento

percentual de VO_{2max} entre os grupos. Os autores sugeriram que algumas ou todas as associações relatadas entre o desempenho físico e o polimorfismo do gene da ECA pode ser devido ao desequilíbrio de ligação com outro gene ou genes, em estreita proximidade com a localização do gene da ECA e não para esse gene por si só.

Cam et al. (2005) investigaram a associação entre o polimorfismo I/D da ECA e desempenho atlético em oitenta e oito esportistas turcos, mas não de elite, submetidos a teste de velocidade (*sprint* de 60 metros) e corridas de meia-distância (2.000 m). Os resultados apontaram melhor desempenho para os sujeitos detentores dos genótipos D/D e I/D, respectivamente. Sendo que os atletas homozigotos para o alelo I tiveram resultados inferiores. Os autores concluíram que genótipo D/D da ECA pode estar relacionado a um melhor desempenho em modalidades curta e média duração, mas não puderam afirmar o mesmo em provas longas.

Curiosamente o resultado do estudo realizado por Cam et al. (2005) obteve um resultado oposto ao encontrado por Amir et al. (2007). Estes autores investigaram a frequência do polimorfismo I/D do gene da ECA em 121 atletas israelense, divididos em maratonistas e velocistas. Os resultados apontaram maior frequência do alelo D e do genótipo DD nos maratonistas em relação aos velocistas e grupo controle. A frequência do alelo D foi de 0,77 nos corredores de maratona, 0,66 no grupo controle e 0,57 nos velocistas.

Para tentar identificar qual a associação da ECA com fenótipos musculares em idosos submetidos ao treinamento de força, Charbonneau et al. (2008) analisaram 86 homens e 139 mulheres sedentários, com idade entre 50 a 85 anos, a treinamento de 10 semanas do exercício de extensão dos joelhos unilateral e avaliaram o ganho de massa muscular e força após o protocolo de treinamento. Os autores não encontraram diferenças significativas para os três genótipos (I/I, D/D e I/D). Sendo assim, concluíram que em idosos não há relação entre o ganho de massa muscular em resposta ao treinamento de força e o polimorfismo I/D da ECA.

Para analisar a relação entre a força muscular e os genótipos da ECA em atletas de alto nível, Costa et al. (2009) submeteram 58 sujeitos com índices olímpicos, sendo: 35 nadadores e 23 triatletas de ambos os sexos, aos testes de força de prensão manual, salto vertical e salto contra movimento. Os resultados apontaram para maior predisposição do desenvolvimento da força muscular aqueles atletas que foram genotipados pra pelo menos um alelo D em seu gene.

Ruiz et al. (2010) analisaram seis polimorfismos candidatos para explicar as variações da potência de atletas espanhóis. Para tal foram selecionados 53 atletas de potência (salto ou velocista), 100 atletas de endurance (corredores de fundo e ciclistas de longa distância) e 100 controles. No que diz respeito ao gene da ECA, as variações foram as seguintes: 44% II, 36% ID e 20% DD para os atletas de endurance e 40% II, 49% ID e 11% DD.

Outro resultado diferente foi encontrado no estudo de Ginevičienė et al. (2011). Esses autores investigaram a frequência dos polimorfismos da ECA I/D em 193 atletas da Lituânia comparados com 250 sujeitos saudáveis no grupo controle. Para analisar a força do grupo experimental foram aplicados os testes de força de preensão manual e salto vertical. Os resultados mais expressivos foram encontrados nos atletas com genótipo II ou ID em comparação com aqueles que possuíam o genótipo DD. Dessa maneira, os autores concluíram que genótipos II e ID têm o potencial de alcançar melhores resultados no esporte que requer força/potência.

Sgourou et al. (2012) verificaram a frequência de diversos polimorfismos do sistema renina-angiotensina em 175 atletas gregos de ambos os sexos (102 homens e 73 mulheres) de nível internacional praticantes das modalidades natação (44 homens e 25 mulheres), voleibol (16 homens), handebol (29 mulheres) e corredores de longa distância (42 homens e 19 mulheres). Os resultados encontrados pelos pesquisadores foram os seguintes: 7% II, 59% ID e 34% DD para o sexo masculino e 18% II, 34% ID e 48% DD para o sexo feminino. Desta maneira, os autores concluíram que o genótipo DD e o alelo D do gene da ECA podem conferir maior vantagem na performance atlética.

A hipótese de que o genótipo II da ECA está mais frequente em sujeitos predispostos a exercícios aeróbios pôde ser reforçada por Almeida et al. (2012) no estudo que avaliou o VO_{2max} em 57 sujeitos moderadamente treinados através de uma corrida de 1600 metros e de outra em uma esteira ergométrica com incrementos de intensidade para levar os sujeitos a exaustão. Os resultados encontrados pelos autores para o VO_{2max} em $mL.kg^{-1}.min^{-1}$ foram: $45,6 \pm 1,8$ para o genótipo DD; $51,9 \pm 0,8$ para o genótipo ID e $54,4 \pm 1,0$ para o genótipo II. Dessa maneira, chegaram a conclusão de que é provável existir uma associação entre o genótipo II da ECA com a aptidão cardiovascular e o desempenho em corridas de média distância de jovens do sexo masculino moderadamente ativos.

Buscando examinar as relações entre a ECA, ACTN3, receptor delta ativado por proliferadores de peroxissomo (PPAR δ) e receptor gama co-ativador-1 alfa ativado por

proliferadores de peroxissomo (PPARGC1A) e o desempenho em testes de aptidão por adolescentes sedentários, Chiu et al. (2012) submeteram 170 indivíduos do sexo feminino com características antropométricas similares. A bateria de testes foi composta por exercícios que exigiam força/potência, resistência muscular localizada e velocidade, sendo eles: força de preensão manual, 30 e 60 segundos de abdominais, salto horizontal, corrida de 800m e corrida de 60m. Os resultados apontam que as meninas com polimorfismo D/D da ECA tiveram resultados significativamente satisfatórios nos testes de força de preensão manual e salto horizontal. No entanto, nos demais testes não foram encontradas diferenças nos resultados. Os autores concluíram que os genes estudados têm pouca influência no desempenho individual avaliada por testes de aptidão e força específica em adolescentes sedentárias.

Salgueirosa (2013) analisou a influência do polimorfismo do ACTN3 e ECA I/D em indicadores de *performance* 40 atletas profissionais da primeira divisão do futebol brasileiro. Foram mensuradas também capacidades físicas inerentes ao desempenho através dos testes de velocidade, impulsão vertical, VO₂máx, limiar anaeróbio e habilidade de realização de estímulos intensos repetidos. O autor não encontrou diferenças significativas entre os genótipos ACTN3 e ECA I/D para nenhum dos indicadores testados e concluiu que em futebolistas os polimorfismos do ACTN3 e ECA I/D não estão associados com fenótipos relacionados à *performance* física.

Também em 2013, Gomes avaliou a frequência do polimorfismo I/D do gene da ECA e analisou a relação dos genótipos com testes de esforço físico em futebolistas de duas categorias: sub-15 e sub-20, respectivamente (Gomes, 2013). Os resultados encontrados apontaram pra maior frequência dos genótipos ID e DD em comparação com o II. Já nos testes de aptidão física, as análises não apresentaram diferenças entre os genótipos em ambas as categorias.

Ao analisar os resultados encontrados na literatura, é preciso tomar alguns cuidados no que diz respeito a tratamentos e estatísticos e metodologias utilizadas para extração e genotipagem do DNA. Prova disso é o posicionamento de Cardon e Palmer (2003), no qual os pesquisadores afirmam que em estudos de caso-controle e coorte para análise de associação genética, algumas abordagens são propensas a estratificação da população, o que pode levar a resultados tendenciosos ou espúrios. Vale ressaltar que os dados disponíveis ainda estão muito dispersos e fragmentados para permitir uma

completa avaliação do papel do gene da ECA na variação do nível da *performance* humana (Mooren e Volker, 2012).

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a influência dos polimorfismos dos genes ACTN3 e ECA I no desempenho esportivo de atletas do estado do Amazonas.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Verificar a frequência do(s) polimorfismo(s) do gene ACTN3 nos atletas de modalidades anaeróbias ou aeróbias.

Verificar a frequência do(s) polimorfismo(s) do gene da ECA I/D nos atletas de modalidades anaeróbias ou aeróbias.

Analisar a frequência do(s) polimorfismo(s) do gene ACTN3 e da ECA I/D agrupados nos atletas de modalidades anaeróbias ou aeróbias.

Comparar os resultados encontrados entre as diferentes variações polimórficas dos genes ACTN3 e ECA nos atletas de modalidades anaeróbias ou aeróbias.

4. METODOLOGIA

4.1 AMOSTRA

Este estudo foi realizado com 127 amostras sanguíneas de atletas de rendimento registrados nas respectivas federações das modalidades praticadas. As modalidades foram: Atletismo de velocidade (n=1), corrida de fundo (n=1), futebol (n=31), futsal (n=41), handebol (n=27), luta olímpica (n=5), Remo (n=1), Taekwondo (n=20).

De cada participante foram coletados 5 ml de sangue utilizando seringa estéril descartável e, posteriormente, o material foi transferido para tubos vacutainer com ácido etilenodiamino-tetraacético (EDTA). Após a coleta as amostras foram armazenadas em geladeira, no Laboratório de Diagnóstico Molecular da UFAM, até que foi realizada a extração do DNA.

Utilizou-se como critérios de inclusão atletas de ambos os sexos registrados na federações que regem as modalidades praticadas, com idade superior a 18 anos e que participaram de competições nas esferas estaduais, nacionais ou internacionais nos últimos 5 anos.

Os atletas receberam o convite para assinar um termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) desenvolvido especificamente para atender as necessidades da presente pesquisa. Juntamente com TCLE, os participantes preencheram um questionário para identificação da modalidade praticada e análise das características fisiológicas preponderantes do esporte em questão. Todos os cuidados éticos foram tomados afim de assegurar a integridade dos participantes da pesquisa.

Posteriormente a coleta dos materiais, os atletas foram distribuídos em dois grupos, sendo que um dos grupos teve em sua composição atletas de modalidades predominantemente aeróbias (G1) e o outro por atletas das modalidades que empregam principalmente a força/potência no contexto geral do estímulo (G2).

Após essa divisão, os grupos G1 e G2 foram subdivididos de acordo com a maneira em que as modalidades eram praticadas. Formando dessa maneira, os subgrupos de modalidade aeróbias coletivas ou individuais e os de modalidades anaeróbias coletivas ou individuais.

Foram adotados como critérios de exclusão os atletas que não atenderam uma ou mais exigências do estudos, aqueles que se recusaram a assinar o TCLE e os portadores dos genes que não amplificaram.

4.2 EXTRAÇÃO DO DNA

Todos os procedimentos de extração e purificação do DNA foram realizados com a utilização do Kit *QIAamp® DNA Mini and Blood Mini Handbook* da empresa QIAGEN. Para a quantificação optou-se pelo *Nanodrop® ND-1000* Thermo Scientific. Posteriormente, retirou-se um volume do estoque e diluiu-se para 10ng. Esta segunda quantificação foi confirmada em gel de agarose a 0,8% e corado com brometo de etídeo. Para tal procedimento foram pesados 0,4g de agarose e diluídas em solução tampão 1X (Tris-Hcl, Borato e EDTA). Posteriormente, o frasco contendo os reagentes foi levado a um forno microondas e aquecido para tornar a solução homogênea. Em seguida foi aplicado 1ul de brometo de etídeo e, então, toda a solução foi despejada em uma cuba de eletroforese para polimerização do gel.

4.3 AVALIAÇÃO DO POLIMORFISMO DO GENE ACTN3 POR PCR-RFLP

As amostras de DNA foram amplificadas através da técnica de Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) e os produtos, posteriormente, digeridos com enzima de restrição. Para tal utilizou-se iniciadores diretos e reversos que possibilitaram a análise de todo o éxon 16 do gene ACTN3 (Beggs et al. 1992). A sequência do *primer* iniciador: 5' CTGTTGCCTGTGGTAAGTGGG 3', e do *primer* reverso: 5' TGGTCACAGTATGCAGGAGGG 3' (Mills et al. 2001), foi ancorada nos íntrons adjacentes ao referido éxon.

O sistema reacional para amplificação do DNA teve um volume final de 20 microlitros (ul), nos quais foram utilizados os seguintes reagentes: tampão 10x (2 ul), MgCl 2,5mM (1,2 ul), dNTPs 2,5mM (1,6 ul), *primers* 10pmol (5 ul), enzima taq polimerase (0,3 ul) e DNA 10ng/ul (2,0 ul), para completar volume total utilizou-se 7,9 ul de água ultrapura.

Na amplificação do DNA foi programado no termociclador *mastercycler gradient personal eppendorf*, sob as seguintes condições: 95° C durante 5 minutos para a desnaturação; seguidos de 30 ciclos de anelamento a 94° C por 30 segundos, 58° C por 30

segundos e 72° C durante 30 segundos, com uma extensão final de 72° C durante 5 minutos.

Após a amplificação, os produtos da PCR foram digeridos com a endonuclease *DdeI* e analisada através da eletroforese em gel de agarose a 3%, corado com brometo de etídeo, visualizado no transiluminador de luz ultravioleta e em seguida fotografado. A reação teve um volume final de 15ul e foi composta por 1,5ul de tampão 10X, 0,3ul de BSA, 2U da enzima de digestão *DdeI* (promega) e 9ul do produto da PCR, o restante da reação foi completada com água destilada.

Foi possível distinguir os alelos 577R e 577X pela presença (577X) ou ausência (577R) de um sítio de restrição da *DdeI* (5'-C↓TNA G-3'). A Digestão dos produtos de PCR dos alelos 577X e 577R produz um polimorfismo de tamanho dos fragmentos de restrição, como apontam outros estudos da mesma linha os fragmentos RR (205 e 86 bp) RX (205, 108, 97 e 86 bp) e XX (108, 97 e 86 bp) (Fiuza-Luces et al., 2010). É válido ressaltar que os três polimorfismos podem aparecer no mesmo grupo de atletas.

A figura 3 traz uma breve ilustração dos locais onde estão posicionados os sítios de restrição para a enzima *DdeI*, e como esta cliva o gene liberando alguns fragmentos de tamanhos diferentes.

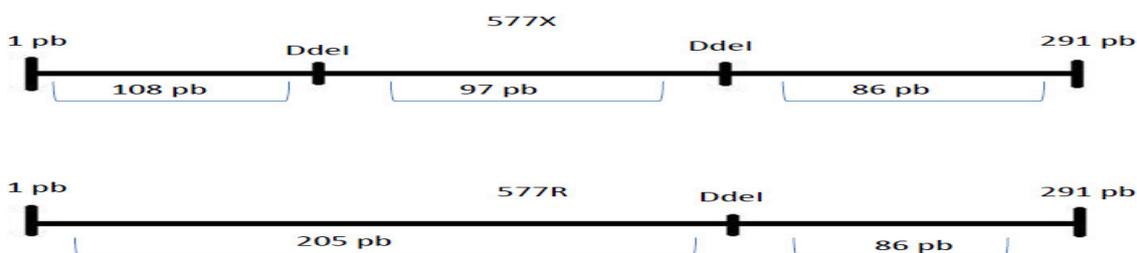


Figura 3. Ilustração dos sítios de restrição da enzima *DdeI*.

4.4 AVALIAÇÃO DO POLIMORFISMO (I/D) DO GENE DA ECA POR PCR

A amplificação do polimorfismo I/D do gene da ECA foi realizada pela técnica da Reação em Cadeia de Polimerase (PCR). Para a amplificação foram utilizados iniciadores diretos (5' CTGGAGAGCCACTCCCATCCTTTCT 3') e reversos (5' GATGTGGCCATCACATTCGTCAGAT 3') ancorados nas extremidades do íntron 16, pois de acordo com Rigat et al. (1990), essa região pode possuir uma deleção (D) ou inserção (I) de 287 pares de bases. De acordo com Salgueirosa (2013) o alelo D do gene ECA gera um amplicon de 191 pares de bases, enquanto o alelo I gera um amplicon de

478 pares de base, contendo a inserção de 287 pb. Dessa maneira, três possibilidades de genótipos podem ser identificadas nos atletas, bem como no grupo controle, sendo elas: D/D, I/D e I/I.

O sistema reacional para amplificação da região intrônica teve um volume final de 20 ul e foi composto por: Tampão 10x (2,0 ul), MgCl (1,2 ul), dNTP (1,6 ul), *Primer* Iniciador (2,0 ul), *Primer* Reverso (2,0 ul), enzima taq polimerase (0,3 ul), DNA (2,0 ul) e para completar o volume 8,9 ul de água ultrapura.

O programa de amplificação foi ajustado para: 95°C por 5 minutos de desnaturação inicial, seguida de 30 ciclos de desnaturação a 94°C por 30 segundos, anelamento a 50°C por 30 segundos e extensão a 72°C por 1 minuto. Terminados os 30 ciclos, houve 5 minutos de extensão final a 72°C. Os produtos da PCR foram visualizados e analisados através de eletroforese em gel de agarose a 2% e corado com brometo de etídeo.

Alguns autores apontam uma possível classificação errônea no que diz respeito ao genótipo ID, que pode aparecer como DD (Shanmugam et al., 1993 e Cam et al., 2005). A explicação para tal é que ocorre uma amplificação preferencial do alelo D em relação ao alelo I (Saber-Ayad et al., 2014). Dessa maneira, para a confirmação dos genótipos homozigotos de deleção uma segunda PCR foi realizada utilizando os seguintes *primers*: iniciador 5' – TGGGACCACAGCGCCCGCCACTAC – 3' e reverso 5' – TCGCCAGCCCTCCCATGCCCATAA – 3', com as condições similares a da primeira PCR que amplificou este gene, tendo como única modificação a temperatura de anelamento que nesta foi de 67° (Lindpaintner et al., 1995 e Ribichini et al., 1998). No entanto, não houve amplificação de nenhuma das amostras.

4.5 PROCEDIMENTOS ESTATÍSTICOS

A análise dos dados foi desenvolvida por meio de estatística descritiva. A distribuição dos genótipos em conformidade com o equilíbrio de Hardy-Weinberg e as frequências alélicas entre os grupos de atletas G1, G2, e seus respectivos subgrupos, foram comparados, e a sua significância foi avaliada pelo teste de qui-quadrado (χ^2) usando o software Statistical Package for Social Sciences (SPSS) versão 20.0. Os valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA

Dos 127 atletas inicialmente convidados a participar do estudo, foram encontrados resultados no que diz respeito a amplificação dos dois genes em 96 sujeitos. As características da amostra (somente dos 96 sujeitos incluídos), que envolvem: sexo, característica fisiológica da modalidade (aeróbia ou anaeróbia) e forma como compete (individual ou coletiva), são apresentadas na tabela 2, 3 e 4.

Tabela 2. Característica da Amostra

Sexo n (%)	Modalidade		Total n(%)
	G1 - Aeróbia n(%)	G2 - Anaeróbia n(%)	
Masculino 62 (65)	16 (17)	46 (48)	62 (65)
Feminino 34 (35)	10 (10)	24 (25)	34 (35)
Total 96 (100)	26 (27)	70 (73)	96 (100)

G1 = Grupo 1, G2 = Grupo 2.

As modalidades com predominância aeróbias (G1) foram aquelas em que os substratos energéticos são depletados através das vias oxidativas de ressíntese de ATP. Nestes a remoção de lactato quase sempre acompanha a sua produção, o que permite esforços mais prologandos.

Já as modalidades inclusas no grupo G2 (anaeróbias) são aquelas que exigem dos seus atletas, principalmente força e potência. A energia utilizada para a realização desses esforços é oriunda predominantemente das vias metabólicas fosfagênicas ou glicolíticas. Desta maneira, os atletas têm poucos segundos para recuperação dos substratos energéticos utilizados nas contrações musculares, bem como apresentam elevados valores do lactato acumulado.

Na tabela de contingência a seguir (tabela 3) é possível observar mais uma subdivisão da amostra com a formação subgrupos. As informações cruzadas compreendem as características fisiológicas das modalidades e a maneira na qual o atleta compete (individualmente ou coletivamente).

Foi possível observar que 71% da amostra são competidores de modalidades coletivas e apenas 29% são praticantes de modalidades individuais.

Tabela 3. Distribuição dos atletas de acordo com as peculiaridades das modalidades

		Característica		
		Coletiva n(%)	Individual n(%)	Total
Modalidade	Aeróbia	24 (25) _{aercol}	02 (2) _{aerind}	26 (27)
	Anaeróbia	44 (46) _{anacol}	26 (27) _{anaind}	70 (73)*
Total		68 (71)*	28 (29)	96

*Diferença de $p < 0,05$.

Aercol = aeróbio coletivo; anacol = anaeróbio coletivo; aerind = aeróbio individual e anaind = anaeróbio individual

É possível identificar na referida tabela diferenças significativas ($p < 0,05$) no que diz respeito ao total de atletas de modalidades anaeróbias ($p < 0,005$), bem como o total de atletas de modalidades coletivas ($p < 0,002$).

Na tabela 4 apresenta mais uma divisão da amostra, com a formação de oito subgrupos a partir das características das modalidades esportivas. A estratificação da amostra agora levou em consideração o sexo, a característica fisiológica da modalidade e a maneira como ela é praticada (coletiva ou individual).

Neste caso foi feita a divisão da seguinte maneira: os homens praticantes de modalidades aeróbias coletivas cumpuseram o subgrupo 1 (SG1), já aqueles praticantes de modalidades aeróbias individuais integraram o subgrupo 2 (SG2). No subgrupo 3 (SG3) os componentes foram os homens de modalidades anaeróbias coletivas e o subgrupo 4(SG4) foi formado por atletas do sexo masculino de modalidades anaeróbias individuais.

Em se tratando do sexo feminino, subgrupo 5 (SG5) e o subgrupo 6 (SG6) tiveram como componentes praticantes de modalidades aeróbias coletivas ou individuais, respectivamente. Já as atletas de modalidades anaeróbias coletivas e aquelas de modalidades anaeróbias individuais compuseram os subgrupos 7 (SG7) e 8 (SG8), respectivamente.

Neste caso constatou-se que tanto os atletas do sexo masculino, quanto aqueles do sexo feminino praticam modalidades com características fisiológicas preponderantemente anaeróbias. Dos 46 homens, 24 são de modalidades coletivas e 22 individuais. Em contrapartida, 20 mulheres (de um total de 24) são atletas de modalidades coletivas, enquanto apenas 4 são de modalidades individuais.

Verificou-se ainda um valor pouco expressivo de atletas praticantes de modalidades aeróbias individuais (1 homem e 1 mulher). Porém, a quantidade de praticantes de modalidades coletivas foi bem mais elevada (15 homens e 9 mulheres).

Tabela 4. Formação dos subgrupos de acordo com o sexo e característica da modalidade.

Sexo/Modalidade			
G1		G2	
Masculino/Aeróbia		Masculino/Anaeróbia	
Coletivas (SG1)	15	Coletivas (SG3)	24
Individuais (SG2)	01	Individuais (SG4)	22
Total	16	Total	46
Feminino/Aeróbia		Feminino/Anaeróbia	
Coletivas (SG5)	09	Coletivas (SG7)	20
Individuais (SG6)	01	Individuais (SG8)	04
Total	10	Total	24

SG1 = Subgrupo 1, SG2 = Subgrupo 2, SG3 = Subgrupo 3, SG4 = Subgrupo 4, SG5 = Subgrupo 5, SG6 = Subgrupo 6, SG7 = Subgrupo 7, SG8 = Subgrupo 8.

5.2 QUANTIFICAÇÃO DO DNA EM GEL DE AGAROSE

Após todos os procedimentos de extração e purificação, a quantificação do DNA foi realizada equipamento Nanodrop. As amostras de DNA foram analisadas por eletroforese em gel de agarose a 0,8%. O resultado deste procedimento pode ser visualizado na figura 4.

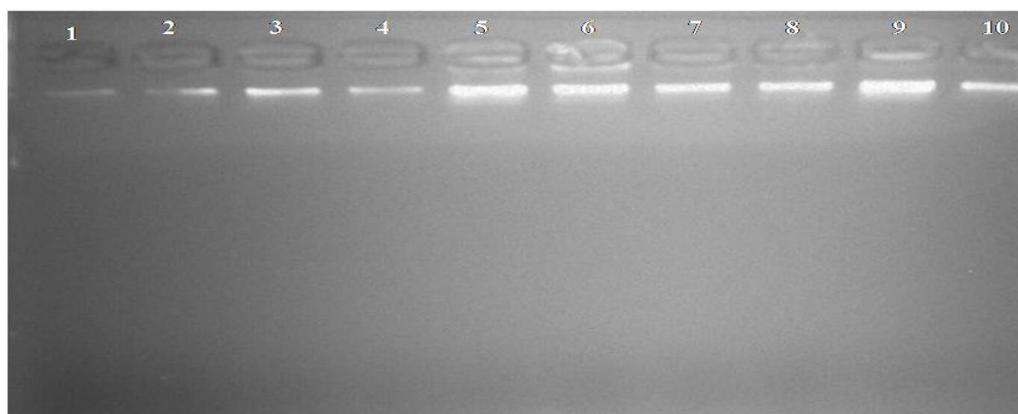


Figura 4. Perfil eletroforético das amostras de DNA purificadas

Nos poços de 1 a 5 foram utilizados DNA lambda como padrão nas concentrações de 10, 20, 30, 40 e 50ng, respectivamente. Nos poços 6 a 10 foram aplicadas 5ul de DNA diluído para 10ng/ul.

5.3 DETECÇÃO DA FREQUÊNCIA DOS GENÓTIPOS ACTN3

Após os procedimentos experimentais de amplificação do éxon 16 do gene ACTN3, seguidos de digestão com a enzima DdeI foi possível visualizar os 3 genótipos (RR, RX e XX) como mostra a figura 5.

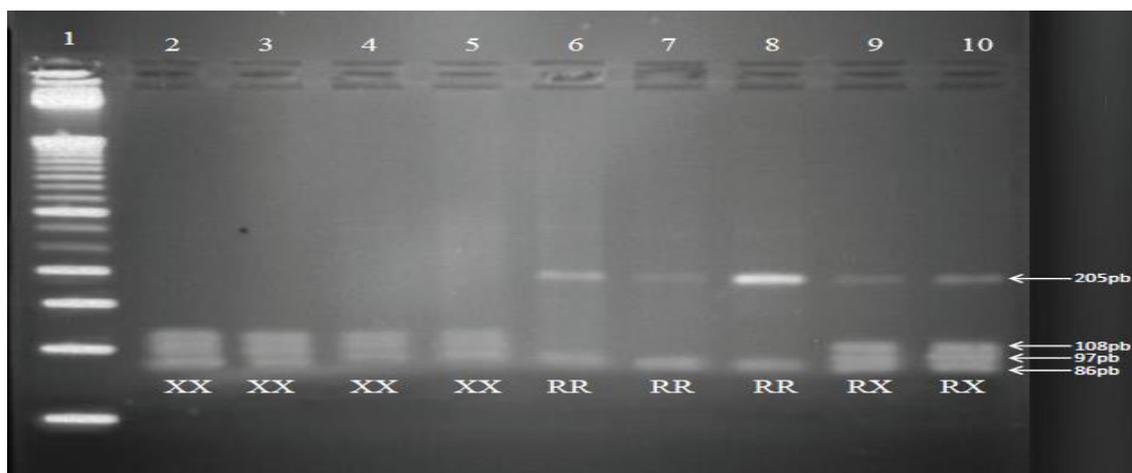


Figura 5. Análise dos produtos de digestão dos amplicons digeridos com DdeI por eletroforese em gel de agarose a 3%.

No poço 1 foram aplicados 5ul de marcador ladder com 50pb. Nos poços 2, 3, 4 e 5 foi identificado o polimorfismo homozigoto não funcional (genótipo XX), que não sintetiza a proteína alfa-actinina-3. Nos poços 6, 7 e 8 identificou-se o polimorfismo homozigoto funcional (genótipo RR) que sintetiza a alfa-actinina-3. Os poços 9 e 10 contiveram o polimorfismo heterozigoto, porém funcional (genótipo RX).

Após a análise do gene ACTN3 em todas as amostras, diagnosticou-se que o genótipo RR está presente em 15 sujeitos, o que corresponde a 16% da amostra. No entanto, o genótipo RX foi identificado em 45 atletas, este valor representa 47% da amostra. O genótipo XX está presente em 36 indivíduos, valor este que compreende a 37% da amostra. Esses dados podem ser visualizados na figura 6.

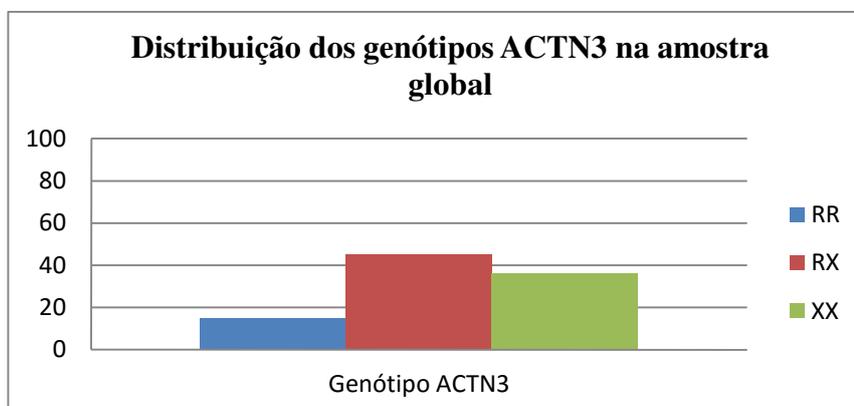


Figura 6. Distribuição do genótipo ACTN3 na amostra global do estudo.

RR = Homozigoto sem códon de parada prematuro, RX = Heterozigoto, XX = Homozigoto com dois códon de parada prematuro.

Esses resultados foram diferentes daqueles encontrados por Yang et al. (2003), que identificaram em atletas de nível olímpico a frequência de 38% RR, 45% de RX e 17% XX. Já Moran et al. (2007), verificaram em 992 jovem gregos, submetidos a um teste de velocidade de 40 metros, a frequência de: RR = 34%, RX = 48%, XX = 18%. Porém essas diferenças só são perceptíveis quando compara-se os genótipos homozigotos RR e XX, uma vez que o genótipo heterozigoto apresentou estreita similaridade nos três estudos. É importante ressaltar que esses valores são encontrados antes de se diferenciar os atletas por sexo e modalidade.

Este primeiro resultado contrapõe-se as informações disponíveis na literatura que apontam que cerca de 18% da população seja homozigota para a presença do *stop codon*, o que representa o genótipo XX (Berman e North, 2010).

Na tabela 5 estão apresentados os resultado referentes a distribuição genotípica do ACTN3 com a distinção do sexo.

Tabela 5. Distribuição dos genótipos ACTN3 para ambos os sexos.

ACTN3				
SEXO	RR n(%)	RX n(%)	XX n(%)	Total n(%)
Masculino	11 (18)	34 (55)	17 (27)	62 (65)
Feminino	4 (12)*	11 (32)	19 (56)	34 (35)
Total	15 (16)	45 (47)	36 (37)	96 (100)

*Diferença estatística de $p = 0,02$ em relação aos genótipos RX e XX.

RR = Homozigoto sem códon de parada prematuro, RX = Heterozigoto, XX = Homozigoto com dois códons de parada prematuro.

Os resultados obtidos apontaram a frequência relativa superior do genótipo RX (55%) para os homens, enquanto que o genótipo XX foi superior nas mulheres (56%). Em contrapartida, 27% dos homens apresentaram homozigose XX e 32% das mulheres foram portadoras do genótipo RX. Além disso, tanto o sexo masculino quanto o feminino apresentaram a frequência de genótipo RR inferior estatisticamente que os demais genótipos para ambos os sexos.

Esses dados também apresentaram diferença quando comparados com outros estudos de características semelhantes. No estudo de Yang et al. (2003) com atletas de nível olímpico ambos os gêneros tiveram a frequência de 14% o genótipo XX. Outro dado importante reflete a diferença nos valores encontrados para os homozigotos RR. A frequência de 18% e 12% deste genótipo para homens e mulheres, respectivamente, que treinam no Amazonas difere muito dos valores encontrados por Yang et al. (2003), no qual observaram que 40,5% dos homens e 39,5% das mulheres apresentaram o genótipo

RR. Essa diferença para o sexo masculino também pode ser observada quando se comparou com a frequência encontrada no trabalho de Salgueirosa (2013), que identificou entre futebolistas 45% de RR, 50% de RX e apenas 5% de XX.

Na figura 7 é possível observar a distribuição genotípica do ACTN3 nos grupos G1 (aeróbios) e G2 (anaeróbios). Os dados não apontaram diferença significativa de $p < 0,05$ para quando avaliados os genótipos encontrados em modalidades aeróbias. Os valores RR, RX e XX para este grupo foi 8 (31%), 8 (31%) e 10 (38%), respectivamente. No entanto, nos atletas de modalidades anaeróbias houve diferença significativa na distribuição genotípica. Os resultados apontaram que 7 (10%) da amostra são portadores do genótipo RR, 37 (53%) do genótipo RX e 26 (37%) são portadores do genótipo XX.

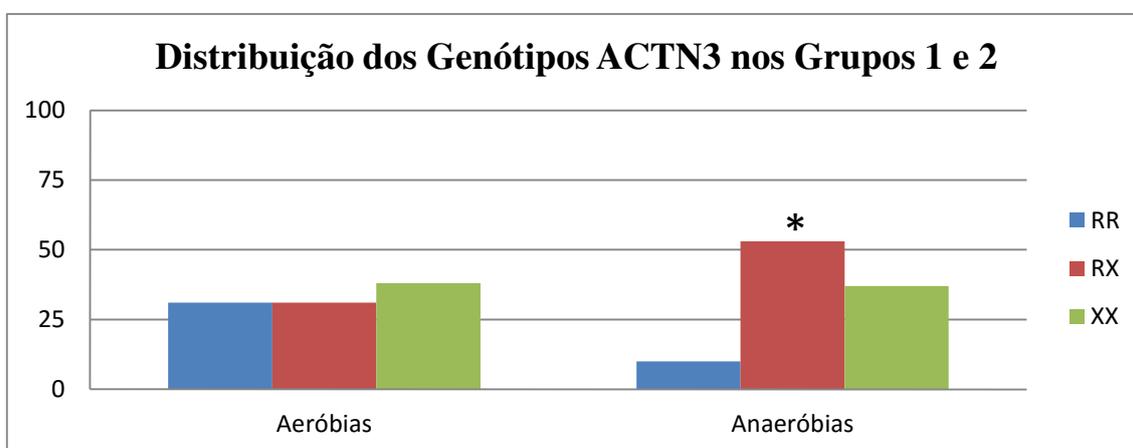


Figura 7. Distribuição do genótipo ACTN3 nos grupos compostos por modalidades aeróbias ou anaeróbias. RR = Homozigoto sem códon de parada prematuro, RX = Heterozigoto, XX = Homozigoto com dois códons de parada prematuro.

*Diferença estatística de $p = 0,027$ em relação ao genótipo RR.

Pode-se perceber que os resultados encontrados foram similares aos de outros autores. Pasqua (2013) identificou em um grupo de 150 sujeitos que aqueles com genótipo XX apresentaram maior predisposição aeróbia. Na presente pesquisa os atletas com genótipos XX, dentro das modalidades aeróbias (G1), foram os que apresentaram maior frequência relativa. Nieme e Majamaa (2005) também identificaram maior frequência do genótipo XX em atletas finlandeses de resistência. Além disso, pode-se perceber no estudo de Ahmetov et al. (2011) que os patinadores com melhores resultados em provas mais longas apresentaram maior frequência dos genótipos XX.

No que diz respeito aos resultados encontrados nos atletas de modalidades anaeróbias foram observadas respostas diferentes daquelas encontrados por Papadimitriou et al. (2008), Ciężczyk et al. (2011) e Bell et al. (2012). No presente estudo a frequência do genótipo RR em praticantes de modalidades esportivas anaeróbias

foi de 10%, enquanto que Papadimitriou et al. (2008), Ciężczyk et al. (2011) e Bell et al. (2012) identificaram 74%, 45% e 29%, respectivamente. Em contrapartida, o valor do genótipo XX neste estudo foi de 37%, enquanto Ciężczyk et al. (2011) e Bell et al. (2012) observaram 6% e 17%, respectivamente. É válido ressaltar que no estudo de Clarkson et al. (2005) os sujeitos com genótipo XX apresentaram melhores resultados nos testes de esforço anaeróbios.

Apesar da alta frequência do genótipo XX no presente estudo, é necessário salientar que basta um alelo R para a proteína alfa-actinina-3 ser expressa. Dessa maneira, foi observado que 61,5% dos atletas praticantes de modalidades aeróbias expressaram a proteína alfa-actinina-3, contra 38,5% que não a expressaram. Nos atletas de modalidades anaeróbias esses valores foram de 63% e 37% para os que expressaram e não expressaram a alfa-actinina-3, respectivamente. No estudo de Gentil et al. (2011) com 141 homens submetidos a treinamento resistido foi verificado que somente os portadores do alelo R apresentaram modificações na espessura muscular após 11 semanas de treinamento. Essa resposta pode ser importante, principalmente para as modalidades que exigem esforços intensos, pois normalmente o aumento do volume muscular acompanha ganhos significativos de força, e estes podem refletir em melhores resultados durante as competições.

A tabela 6 apresenta os dados referentes a frequência dos genótipos ACTN3 nos atletas dos grupos G1 (aeróbios) e G2 (anaeróbios), respectivamente. Além disso, a distribuição da frequência alélica (R ou X) em relação o equilíbrio de Hardy-Weinberg foi avaliada através da utilização do teste qui-quadrado (χ^2). As informações estão diferenciadas de acordo com os gêneros e as características da modalidades esportivas. Os valores estão na forma absoluta (n) e relativa (%).

Dos atletas de modalidades anaeróbias 5 (11%) apresentaram o genótipo RR, 29 (63%) o genótipo RX e 12 (26%) o genótipo XX. Por outro lado, a frequência dos genótipos RR, RX e XX nas modalidades aeróbias para o sexo masculino foram: 6 (37%), 5 (31%) e 5 (31%), respectivamente.

No que diz respeito ao sexo feminino, as frequências identificadas para modalidades anaeróbias foram: RR (2=8%), RX (8=33%) e XX (14=58%), respectivamente. Já os valores encontrados para as modalidades aeróbias são os seguintes: RR (2=20%), RX (3=30%) e XX (5=50%).

Quando ambos os sexos foram analisados em conjunto, com a separação apenas das modalidades, as frequências são: RR (7=10%), RX (37=53%) e XX (26=37%) para as modalidades anaeróbias e RR (8=31%), RX (8=31%) e XX (10=38%) para as modalidades aeróbias.

Tabela 6. Frequências genotípicas e distribuição alélica do gene ACTN3 em ambos os grupos.

Gênero/Modalidade	Genótipos ACTN3 n(%)			Frequências alélicas (%)	
	RR	RX	XX	R	X
Homens					
Anaeróbios (46)	5 (11)	29 (63)**	12 (26)	42	58
Aeróbios (16)	6 (37)	5 (31)	5 (31)	53	47
Mulheres					
Anaeróbios (24)	2 (8)	8 (33)	14 (58)	25	75
Aeróbios (10)	2 (20)	3 (30)	5 (50)	35	65
Total (96)					
Anaeróbios (70)	7 (10)	37 (53)*	26 (37)	36	64
Aeróbios (26)	8 (31)	8 (31)	10 (38)	46	54

**Diferença estatística em relação aos genótipos RR e XX da mesma linha.

* Diferença estatística em relação ao genótipo RR da mesma linha.

p = 0,012

RR = Homozigoto sem códon de parada prematuro, RX = Heterozigoto, XX = Homozigoto com dois códon de parada prematuro.

Após essa divisão os resultados diferiram daqueles reportados por Yang et al. (2003) e Druzhevskaya et al. (2008). A divisão da amostra apontou para valores elevados da frequência do genótipo XX, tanto nos homens de modalidades anaeróbias (26%) ou aeróbias (31%), quanto nas mulheres de modalidades anaeróbias (58%) ou aeróbias (50%). No estudo de Yang et al. (2003), por exemplo, nenhuma mulher do grupo de modalidades anaeróbias apresentou o genótipo XX. Enquanto que na investigação de Druzhevskaya et al. (2008), com atletas de potência as mulheres com genótipo XX representaram apenas 6,5%. Porém no estudo de Clarkson et al. (2005), foram verificadas alterações na força somente de mulheres com genótipo XX submetidas a 12 semanas de treinamento de força. Nas mulheres com genótipo RR e RX o aumento dessa capacidade física não foi significativo.

Quando foi levada em consideração a frequência do genótipo XX nos sujeitos do sexo masculino praticantes de modalidade aeróbias foi possível observar uma aproximação com parte da amostra do estudo de Lucia et al. (2006) que verificaram em

ciclistas e corredores de longas distâncias que as frequências do genótipo XX foram 26% e 17%, respectivamente.

Em relação aos homens de modalidade de força/potência Yang et al. (2003) e Druzhevskaya et al. (2008), encontraram as frequências de 53% e 37% para o genótipo RR, enquanto na presente pesquisa esta frequência foi de 11%. Nas mulheres que praticam essas mesmas modalidades, nesta investigação, o resultado foi de 8% para o genótipo RR. Em contrapartida, Yang et al. (2003) e Druzhevskaya et al. (2008) identificaram os seguintes valores: 43% e 45%, respectivamente. Esses dados apontam que há uma diferença considerável entre a distribuição dos genótipos ACTN3 desta investigação quando comparados com os resultados de outros estudos.

A figura 8 apresenta os dados referentes ao genótipo ACTN3 e sua distribuição nos subgrupos formados a partir das características das modalidades. Sendo assim: “aercol” = aeróbio coletivo; “anacol” = anaeróbio coletivo; “aerind” = aeróbio individual e “anaind” = anaeróbio individual.

É possível observar que nas modalidades aeróbias coletivas não há diferenças entre os genótipos uma vez que os valores absolutos para RR, RX e XX foram 7, 8 e 9 sujeitos, respectivamente. No entanto, nas modalidades anaeróbias coletivas houve um percentual muito baixo do genótipo RR. É válido ressaltar que os genótipos RX e XX tiveram frequência muito similares, 19 atletas RX e 20 atletas XX. Porém, a maior diferença observada se apresentou nas modalidades anaeróbias individuais. Nestas a frequência de RX foi de 18, enquanto que de RR e XX foram de 2 e 6 atletas, respectivamente.

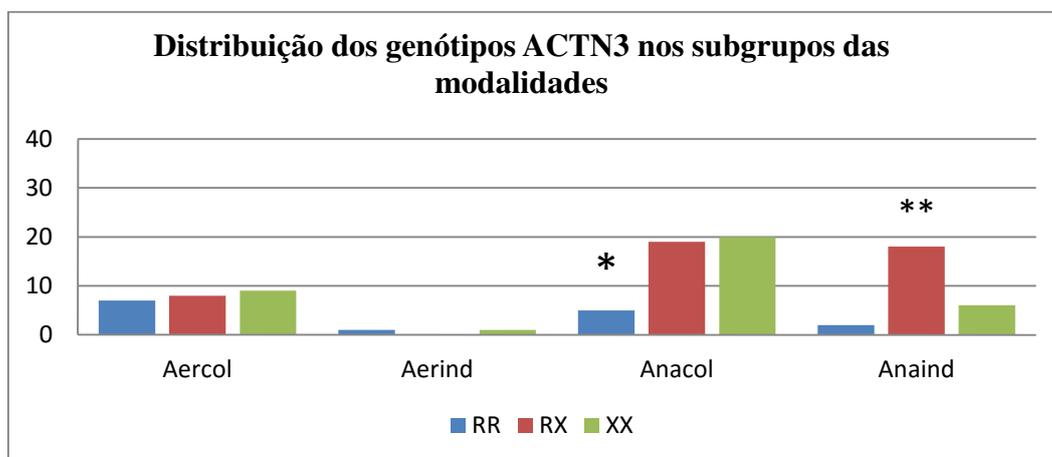


Figura 8. Distribuição dos genótipos ACNT3 nos subgrupos das modalidades.

“aercol” = aeróbio coletivo; “anacol” = anaeróbio coletivo; “aerind” = aeróbio individual e “anaind” = anaeróbio individual.

*Diferença em relação aos genótipos RX e XX. **Diferença em relação aos genótipos RR e RX. $p = 0,044$.

Após a divisão da amostra em subgrupos pode-se perceber que não houve diferença para as três possibilidades genótípicas nas modalidades consideradas como aeróbias coletivas. Neste grupo foram incluídos 24 futebolistas de ambos os sexos. As frequências de 29% RR, 33% RX e 38% XX, foram diferentes das encontradas nos estudos de Santiago et al. (2007) que observaram em 60 futebolistas as seguintes frequências: 48% RR, 37% RX e 15% XX. Coelho (2011) também verificou menor frequência do genótipo XX em jogadores profissionais de futebol, enquanto que o genótipo RX foi muito superior na amostra estudada. Posteriormente, Salgueirosa (2013) avaliou a frequência dos genótipos ACTN3 em 40 futebolistas e identificou 45% dos sujeitos com genótipo RR, 50% com genótipo RX e 5% com genótipo XX. É válido ressaltar que apesar das diferenças nas distribuições genótípicas, os testes de esforço realizados nos três estudos utilizados para comparação não indicaram superioridade na capacidade aeróbia e nem na potência muscular.

Esses dados mostram que em futebolistas a presença (RR ou RX) ou ausência (XX) da alfa-actinina-3 não confere melhoras expressivas no condicionamento anaeróbio ou aeróbio, respectivamente. Talvez, estes resultados possam ser explicados pelo fato de que o futebol é uma modalidade coletiva na qual há uma variabilidade muito grande nas características dos atletas de acordo com suas posições.

Outro fato interessante encontrado na presente pesquisa reside na frequência dos genótipos das modalidades anaeróbias coletivas, uma vez que apenas 11% apresentaram o genótipo RR, contra 43% que apresentaram o genótipo RX e 46% portadores do genótipo XX. O percentual encontrado para o genótipo RR revela uma frequência muito abaixo daquela encontrada em outros estudos (Yang et al., 2003; Urban et al., 2011; Cięszczyk et al. 2011; Norman et al., 2014 e Ahmetov et al., 2014). Já o genótipo XX, que teve elevada frequência neste estudo, foi pouco identificado nos estudos supracitados.

Nas modalidades anaeróbias individuais o genótipo RX apresentou considerável frequência, quando comparado com os outros dois (RR = 8%, RX = 69 e XX = 23%). Norman et al. (2014) encontraram a frequência de 36% de RR, 43% de RX e 21% XX. Já Ruiz et al. (2010), observaram em saltadores e velocistas espanhóis a frequência de: 13,2% XX, 43,4 % RX e 43,4% RR.

É possível verificar nos dois estudos utilizados para comparação que houve similaridade entre as frequências do genótipo XX, porém isso só foi possível devido a um valor relativamente alto da frequência do genótipo heterozigoto (RX) no presente estudo,

uma vez que este compensou a baixa frequência do genótipo RR, fato não observado nos estudos de Ruiz et al. (2010) e Norman et al. (2014).

Oliveira (2013) encontrou uma associação similar para o genótipo RX (50%) quando avaliou praticantes de artes marciais. No entanto, as frequências dos genótipos RR e XX foram de 33% e 17%, respectivamente. Isso indica que a avaliação dos genótipos homozigotos RR e XX variaram inversamente na amostra deste estudo quando comparados com as demais investigações. Essa relação dos genótipos RR e XX também contrariou as investigações de Sauders et al. (2007), Moran et al. (2007) e Papadimitriou et al. (2008).

Apesar da frequência do genótipo RR ter apresentado inferioridade em relação aos estudos utilizados para a comparação dos resultados, foi observado que em todos os grupos houve um maior percentual de sujeitos que expressam a proteína alfa-actinina-3. Esse resultado corrobora com outros achados da literatura como nos estudos de Yang et al. (2003), San Juan et al. (2006), Santiago et al. (2007), Gentil et al. (2011), Coelho (2011), Pimenta (2012), Salgueirosa (2013), Oliveira (2013) e Norman et al. (2014).

Na figura 9 é possível observar a frequência de atletas que expressam a proteína alfa-actinina-3 em suas fibras musculares do tipo 2.

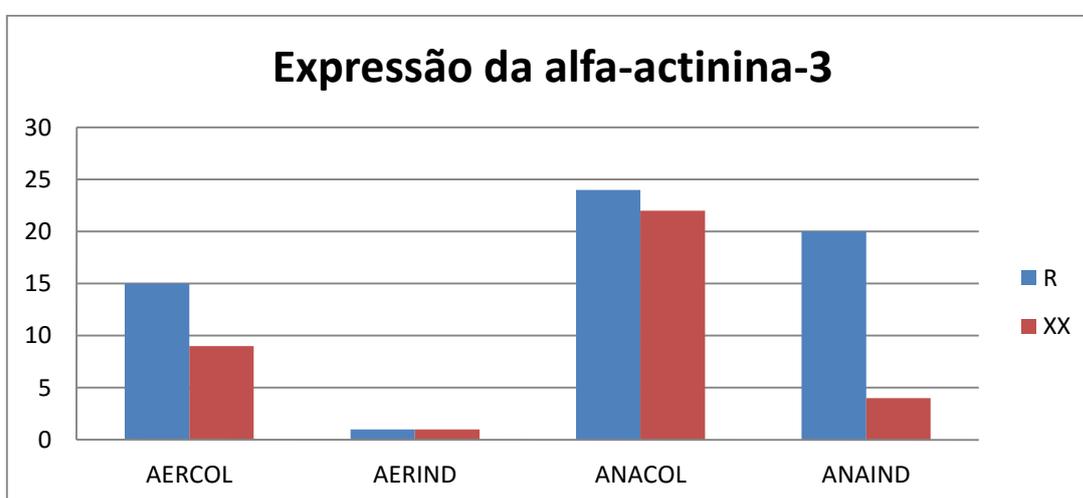


Figura 9. Expressão da proteína alfa-actinina-3 nos subgrupos das modalidades.

R = expressão da proteína; XX = não expressão da proteína.

“AERCOL” = aeróbio coletivo; “ANACOL” = anaeróbio coletivo; “AERIND” = aeróbio individual e “ANAIND” = anaeróbio individual.

$p = 0,304$

Ao analisar a figura 9 é possível verificar que exceto para o subgrupo AERIND, em todos os outros houve maior número de atletas que expressaram a alfa-actinina-3 em

relação aqueles que apresentaram deficiência para essa proteína (AERCOL: 15 contra 9; ANACOL: 24 contra 22; ANAIND: 20 contra 04).

É interessante observar que a maior diferença na frequência dos portadores da alfa-actinina-3 (alelo R) foi identificada no subgrupo que correspondeu a modalidades anaeróbias individuais. Talvez o fato de nessas modalidades o resultado esportivo depender apenas de um único atleta, e não de um grupo de atletas, faça com que ocorra uma seleção do natural daqueles praticantes. Em diversos estudos que avaliaram atletas de modalidades individuais o mesmo resultado foi identificado (Yang et al., 2003, Moran et al., 2007, Papadimitriou et al., 2008 e Ciężczyk et al., 2011).

Além disso, é sugerido que em modalidades aeróbias individuais haja uma maior frequência de atletas que não expressem a alfa-actinina-3, quando comparado com as demais modalidades, como pode ser verificado por Niemi & Majamaa (2005), Lucia et al. (2006), Sauders et al. (2007) e Ahmetov et al. (2011).

Quando verificada a expressão da proteína com a divisão pelo gênero chegou-se ao seguinte resultado: 45 (73%) homens expressaram a proteína alfa-actinina-3, contra 17 (27%) que não a expressaram. Já no sexo feminino verificou-se um resultado bem diferente: 15 (44%) expressaram a proteína, contra 19 (56%) que apresentaram a deficiência. Estes resultados estão ilustrados na figura 10.

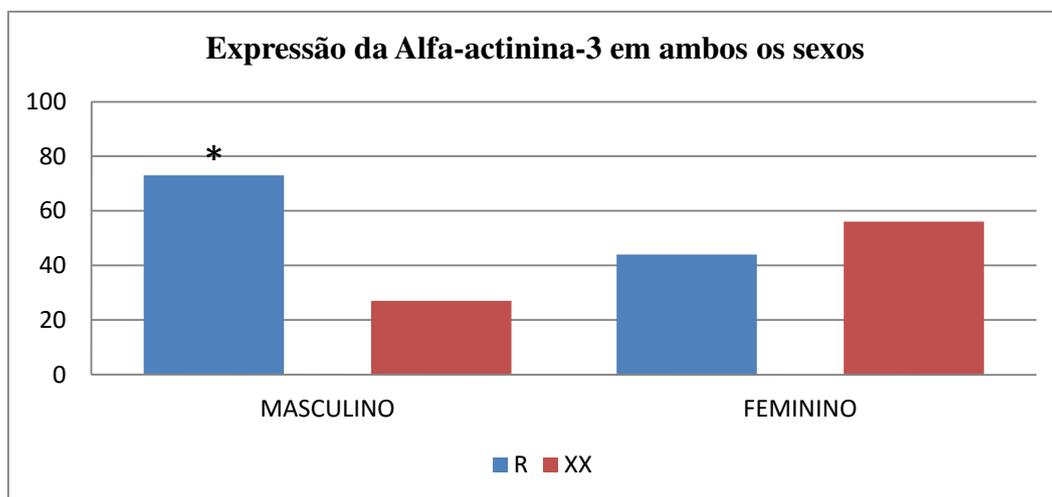


Figura 10. Expressão da proteína alfa-actinina-3 em ambos os sexos. R = expressão da proteína; XX = não expressão da proteína.

*Diferença significativa. $p = 0,006$ em relação aos homens que não expressam a alfa-actinina-3 e em relação ao sexo feminino.

Pode-se observar que 73% dos homens expressam a referida proteína, enquanto que nas mulheres não houve diferença estatística entre as que sintetizam e as que não

sintetizam a alfa-actinina-3. É importante salientar que Yang et al. (2003) encontraram a incidência desta proteína em 86 do homens investigados. Salgueirosa (2013) verificou que 95% da amostra do seu estudo apresentaram alfa-actinina-3, contra apenas 5% que não apresentaram. Oliveira (2013) também observou que a frequência de sujeitos que expressam a alfa-actinina-3 foi bastante superior em relação aos que não expressam: 83% contra 17%, respectivamente.

5.3 ANÁLISE DA FREQUÊNCIA DOS GENÓTIPOS ECA I

A amplificação do íntron 16 do gene da ECA I revelou tanto atletas com os polimorfismos homocigotos (inserção ou deleção), bem como os atletas com polimorfismos heterocigotos.

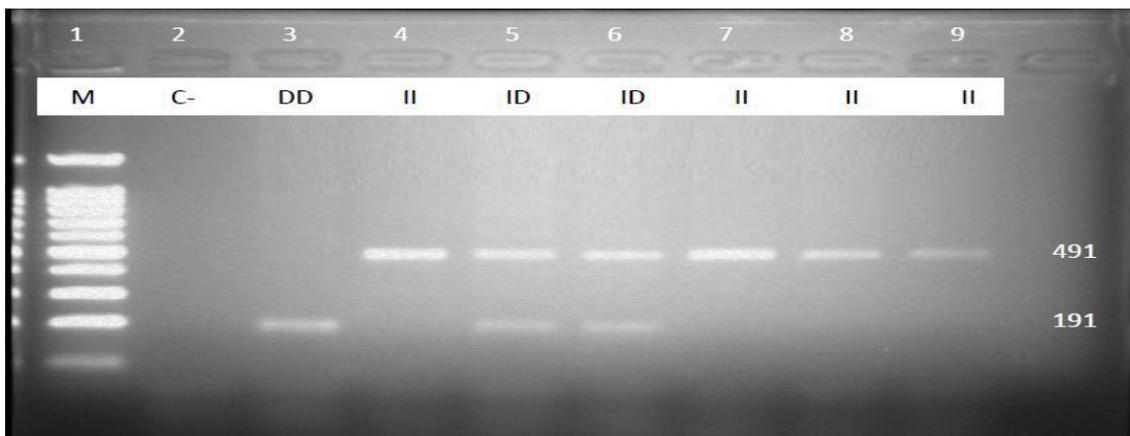


Figura 11. Visualização dos polimorfismos do gene da ECA I em gel de agarose a 2%.

A letra “M” simboliza o marcador com 100pb, o c- é o controle negativo. No 3º poço foi identificado um polimorfismo homocigoto de deleção (191pb), nos poços de número 4, 7, 8 e 9 verificou-se um polimorfismo homocigoto de inserção (490pb) e nos poços 5 e 6 foi possível visualizar o polimorfismo heterocigoto (191 e 490pb), respectivamente se a contagem for de baixo para cima.

Na análise do gene da enzima conversora de angiotensina I na amostra global do trabalho apresentou os seguintes resultados absolutos e relativos, respectivamente: 42 (44%) atletas são portadores do genótipo II, 49 (51%) apresentaram o genótipo heterocigoto ID e 5 (5%) sujeitos apresentaram o genótipo DD. Esses valores podem ser observados na figura 12.

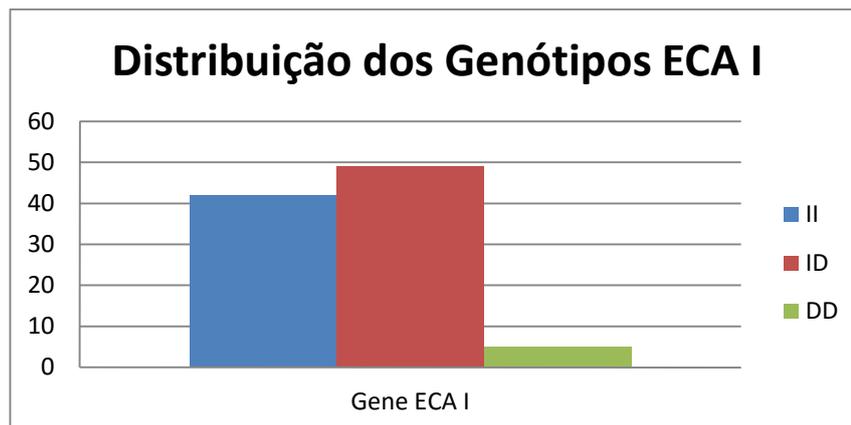


Figura 12. Distribuição dos genótipos da ECA I na amostra global.

II = Polimorfismo de homocigoto de inserção; ID = Polimorfismo heterocigoto; DD = Polimorfismo homocigoto de deleção.

Esses resultados do gene da ECA I diferiram daqueles encontrados por Cam et al. (2005), Matos (2006), Amir et al. (2007), Almada et al. (2010), Almeida et al. (2012) e Salgueirosa (2013). Porém foram similares às frequências encontradas por Gayagay et al. (1998), Montgomery et al. (1998), Lee e Tsai (2002), Freitas et al. (2006), Park et al. (2009) Chiu et al. (2012).

As frequências genotípicas encontradas na amostra total deste estudo foram de: 49% II, 51% ID e 5% DD. Enquanto Cam et al. (2005) identificou em 88 atletas turcos, submetidos a um teste de esforço anaeróbio (corrida de 60 metros) e outro aeróbio (corrida de 2000 metros), a frequência de 20% II, 41% ID e 39% DD. Os autores verificaram que os portadores do genótipo DD obtiveram melhores resultados em ambos os testes, o que indicou que variação genotípica pode conferir vantagem em exercícios anaeróbios ou aeróbios de média duração.

Comparando os dados deste estudo com os resultados obtidos por Amir et al. (2007), ao avaliarem atletas israelenses, foi possível identificar nos sujeitos daquele país uma frequência bem inferior de genótipos II e muito superior de genótipos DD (12% II, 36% ID e 52% DD).

Com base nas informações dos dois trabalhos supracitados é possível identificar uma significativa superioridade frequência do genótipo DD em relação ao presente estudo. É válido ressaltar que este genótipo possui relação direta com a expressão mais alta da enzima conversora de angiotensina e isto pode conferir maior força muscular para os portadores desse genótipo (Lee e Tsai, 2002).

Porém, os resultados encontrados na presente pesquisa foram similares ao encontrado por Freitas et al. (2006) que avaliou um grupo de habitantes não atletas em

um município do interior do Amazonas. Neste caso, os autores observaram as frequências de II = 67%, ID = 25% e DD = 8%.

Na investigação de Park et al. (2009) também pode-se notar semelhança na distribuição genotípica, uma vez que 17,5% da amostra era portadora do genótipo DD, 45% do ID e 37,5 do genótipo II.

Na tabela 7 os dados são referentes a frequência dos genótipos da ECA I em ambos os sexos.

Tabela 7. Distribuição dos genótipos da ECA I para ambos os sexos.

ECA I				
SEXO	II n(%)	ID n(%)	DD n(%)	Total n(%)
Masculino	29 (47)	29 (47)	4 (6)	62 (65)
Feminino	13 (38)	20 (59)	1 (3)	34 (35)
Total	42 (44)	49 (51)	5 (5)	96 (100)

II = Polimorfismo homocigoto de inserção; ID = Polimorfismo heterocigoto; DD = Polimorfismo homocigoto de deleção.

$$p = 0,470$$

No que diz respeito à distribuição genotípica após a divisão da amostra de acordo com o sexo foram ainda menores os percentuais do genótipo DD (6% no sexo masculino e 3% no sexo feminino). Em contrapartida no sexo masculino tanto o genótipo II, quanto o ID representaram 47% do total. Já as mulheres apresentaram as frequências de 38% e 59% para os genótipos II e ID, respectivamente.

Esses resultados se assemelharam bastante com aqueles encontrados por Chiu et al. (2012) ao avaliarem 170 mulheres de Taiwan (7% DD, 44% ID e 49% II). Valores próximos também foram identificados por Wang et al. (2012) quando avaliaram nadadores do sexo masculino de curta (9,6% DD, 34,9% ID e 55,4% II) e média distância (7,5% DD, 49,4% ID e 43,1% II) do continente asiático. Porém, esses mesmos autores verificaram em nadadores europeus de curta e média distância (até 400 metros) a frequência de 49,7% DD, 39,8% ID e 19,5% II, enquanto que os nadadores de longa distância (acima de 500 metros) 28,8 DD, 47% ID e 24,2% II.

Em outro estudo com europeus Sgourou et al. (2012) encontrou resultados bem diferentes aos identificados neste estudo, porém bem similares aos dados fornecidos por Wang et al. (2012) quando avaliou nadadores europeus. De acordo com Sgourou et al.

(2012) atletas do sexo masculino apresentaram 7% II, 59% ID e 34% DD. Já nas atletas do sexo feminino foram observadas 18% II, 34% ID e 48% DD.

Esses dados dão indicações de que o polimorfismo I/D do gene da ECA I, pode apresentar frequências diferenciadas de acordo com o local de origem dos sujeitos.

Quando comparados os dados encontrados por Sgourou et al. (2012), Chiu et al. (2012) e Wang et al. (2012) com os da presente pesquisa percebe-se maior semelhança entre os genótipos dos atletas amazonenses com aqueles identificados nos asiáticos. Porém há larga diferença com o estudo realizado em nadadores europeus.

A figura 13 apresenta a distribuição genotípica da ECA I, diferenciando a amostra somente pelas características das modalidades, sendo as aeróbias integrantes do grupo 1 (G1) e as anaeróbias integrantes do grupo 2 (G2). Os dados revelam que o genótipo homozigoto de deleção (DD) apresentou a frequência mais baixa em ambos os grupos (1 atleta do G1 e 4 atletas do G2). No que diz respeito aos demais genótipos os resultados foram os seguintes para G1: 16 atletas, que correspondem a 61% apresentaram o o genótipo ID, enquanto que 9 (35%) atletas foram genotipados para II.

Já nos praticantes de modalidades anaeróbias também não houve significância nas diferentes frequências entre os genótipos. 33 atletas apresentaram o genótipo homozigoto de inserção (II) e o mesmo valor foi identificado no portadores do genótipo heterozigoto (ID).

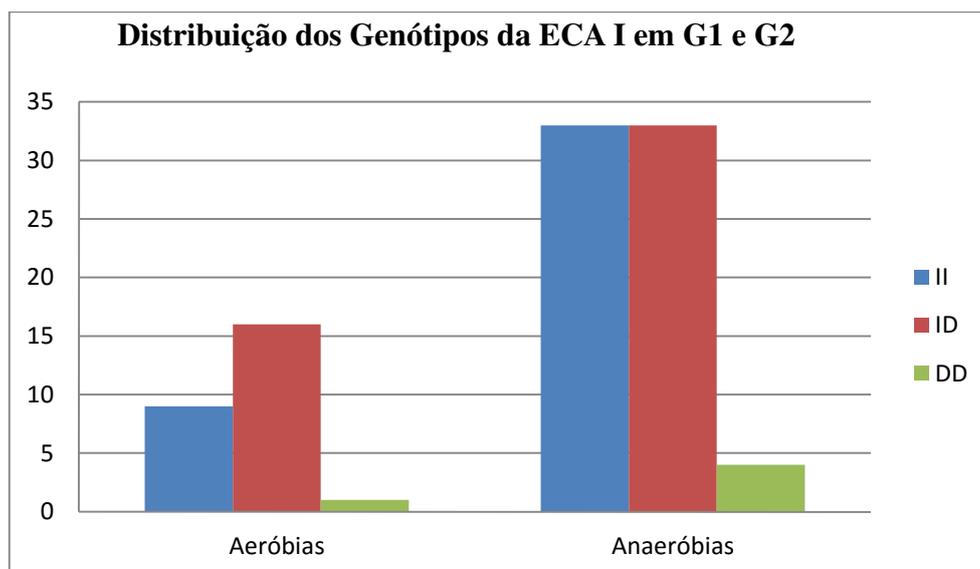


Figura 13. Distribuição do gene da ECA I nos grupos das modalidades aeróbias ou anaeróbias. II = Polimorfismo de homozigoto de inserção; ID = Polimorfismo heterozigoto; DD = Polimorfismo homozigoto de deleção.
 $p = 0,455$

Pode-se perceber nestes resultados, que mais uma vez uma baixa frequência do genótipo DD em relação aos demais (4% nos atletas de modalidades aeróbias e 1% nos de esportes anaeróbios) genótipos. Montgomery et al. (1998) também observaram em alpinistas a frequência do genótipo homozigoto de deleção mais baixa, além disso, identificaram que todos aqueles que conseguiam superar a altitude superior que 8.000 metros eram homozigotos para o polimorfismo de inserção (homozigotos II). Estes mesmos autores verificaram em recutas do exército do Reino Unido portadores dos genótipos II e ID respostas mais significativas na resistência muscular dos flexores do cotovelo, quando comparados com aqueles portadores do genótipo DD.

Tanto os dados desta pesquisa, quanto os de Montgomery et al. (1998) diferiram bastante dos dados encontrados por Gomes (2013) em sua investigação com futebolistas, uma vez que estes autores identificaram a frequência de 31% do genótipo DD na amostra avaliada. Ginevičienė et al. (2011) encontraram para atletas de resistência as frequências de 27% II, 42% ID e 31% DD e para os atletas de potência a distribuição foi de 26% II, 49% ID e 25% DD. Esses valores são bem diferente daqueles encontrados neste estudo, porém em ambos percebe-se que o genótipo DD apresentou menor frequência nas modalidades de potência, diferentemente do estudo realizado por Amir et al. (2007) em que o genótipo DD representou mais de 50% da amostra.

Na tabela 8 é possível observar os valores encontrados após a amostra ter sido dividida de acordo com a modalidade e sexo. Após a divisão da amostra foi verificada a distribuição alélica (I/D) com o equilíbrio de Hardy-Weinberg através do teste qui-quadrado.

Os genótipos homozigos de inserção (II), heterozigotos (ID) e homozigotos de deleção (DD) apresentaram as seguintes frequências nos homens praticantes de modalidades anaeróbias respectivamente: 23 (50%), 20 (44%), e 3 (6%). No que diz respeito a fração da amostra representada pelos homens de modalidades aeróbias os resultados encontrados foram os seguintes II (6=37%), ID (9=56%) e DD (1=6%).

No sexo feminino os resultados encontrados para atletas de modalidades anaeróbias foram: II (10=42%), ID (12=50%) e DD (2=8%), enquanto que os praticantes de modalidades aeróbias apresentaram os seguintes genótipos: II (3=30%), ID (7=70%) e DD (0).

Quando ambos os sexos foram agrupados, os resultados para modalidades anaeróbias foram II (33=47%), ID (32=46%) e DD (2=9%) e os das modalidades aeróbias seguiram esta sequência: II (9=35%), ID (16=61%) e DD (1=4%).

Tabela 8. Frequência genotípica e distribuição alélica do gene da ECA I em ambos os grupos.

Gênero/Modalidade	Genótipos ECA I n (%)			Frequências alélicas (%)	
	II	ID	DD	I	D
Homens					
Anaeróbios (46)	23 (50)	20 (44)	3 (6)	72	28
Aeróbios (16)	6 (37)	9 (56)	1 (6)	66	34
Mulheres					
Anaeróbios (24)	10 (42)	13 (54)	1 (4)	67	33
Aeróbios (10)	3 (30)	7 (70)	0 (0)	65	35
Total (96)					
Anaeróbios (70)	33 (47)	33 (46)	4 (7)	70	30
Aeróbios (26)	9 (35)	16 (62)	1 (4)	65	35

II = Polimorfismo homocigoto de inserção; ID = Polimorfismo heterocigoto; DD = Polimorfismo homocigoto de deleção.

p = 0794

Foi possível verificar, após essa divisão, que nos homens das modalidades anaeróbias apresentaram a seguinte variação II>ID>DD, já os representantes das aeróbias foram ID>II>DD. Em ambas as situações notou-se menor frequência do genótipo DD, antagonicamente aos achados de Costa et al. (2009) que identificou em atletas de força/potência a maior frequência do alelo D. No entanto, os mesmos autores identificaram valores superiores do genótipo heterocigoto, em relação ao DD, quando as modalidades tinham características de endurance. Apesar dessa transição da frequência genotípica de acordo com o tipo das modalidades, a relação ainda foi ID>DD>II.

As mulheres desta investigação apresentaram a seguinte relação: ID>II>DD, para ambas as características das modalidades (anaeróbias e aeróbias). Porém é válido ressaltar que nenhuma mulher de modalidade aeróbia apresentou o genótipo DD. Esses dados se assemelham com diversas afirmações presentes na literatura que apontam menor frequência do genótipo DD e do alelo D em modalidade de endurance (Gayagay et al., 1998, Folland et al., 2000, Dias et al., 2007 e Zhang et al., 2013).

No estudo de Costa et al. (2009) foi verificado que as mulheres que disputavam as provas de média distância tinham menor frequência do genótipo DD que aquelas que competiam em distâncias menores (38% e 50%, respectivamente). Sendo que tanto

homens quanto mulheres competidores nas provas curtas (distância inferior a 200 metros) apresentaram ausência do homozigoto II.

O estudo realizado por Ruiz et al. (2010) obteve a relação II>ID>DD tanto para atletas de endurance, quanto para os de força/potência em atletas espanhóis. Apesar de os percentuais do genótipo homozigoto de deleção nos espanhóis terem sido maiores que no desta investigação (20% endurance e 11% força/potência dos espanhóis contra 4% endurance e 7% força/potência dos amazonenses), pode-se perceber que certa similaridade nas relações das frequências genotípicas.

A próxima análise se refere a distribuição dos genótipos da ECA I nas modalidades, que agora estão fragmentadas de acordo com as características fisiológicas e também da maneira como elas são praticadas (coletivas ou individuais).

Os dados apontam que o subgrupo composto por atletas de modalidades aeróbias coletivas apresentaram os seguintes genótipos: 9 (37,5%) II, 15 (62,5%) ID e nenhum DD. Nos atletas do subgrupo aeróbio individual foram identificados 1 (50%) DD e 1 (50%) ID.

A avaliação dos atletas de modalidades anaeróbias coletivas evidenciou que 24 (54,5) atletas são II, 18 (41%) são ID e apenas 2 (4,5) são DD. Já nas modalidades anaeróbias individuais a distribuição genotípica encontrada apontou para 9 (35%) II, 15 (58) ID e 2 (8%) DD.

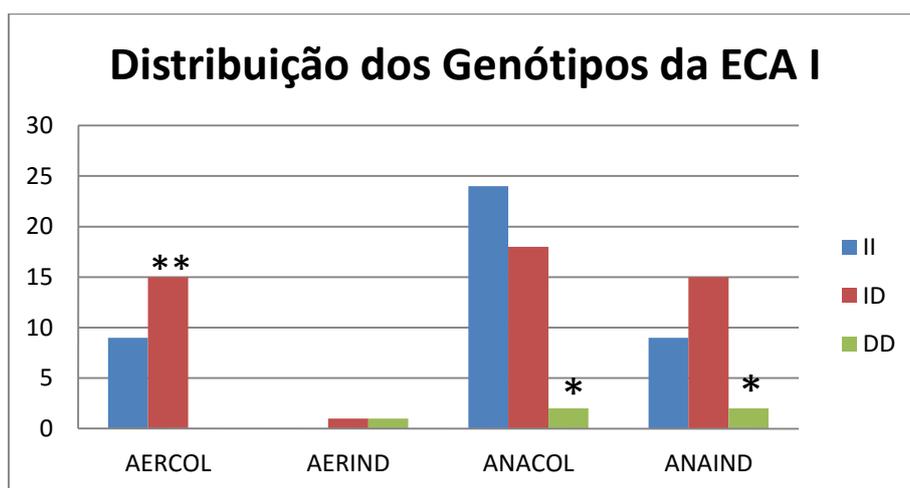


Figura 14. Distribuição dos genótipos da ECA I nos subgrupos das modalidades. “AERCOL” = aeróbio coletivo; “ANACOL” = anaeróbio coletivo; “AERIND” = aeróbio individual e “ANAIND” = anaeróbio individual.

*Diferença em relação aos genótipos II e ID do mesmo grupo.

** Diferença em relação aos genótipos DD do mesmo grupo

p<0,05

A ausência do genótipo DD em modalidades aeróbias coletivas reforça a superioridade da relação entre o alelo I do gene da enzima conversora de angiotensina com a performance da resistência cardiovascular na amostra estudada. No entanto, esses resultados diferiram bastante daqueles identificados por Salgueirosa (2013) que ao avaliar 40 futebolistas do sexo masculino identificou que 30% apresentavam o genótipo DD, 57,5% o genótipo ID e 12,5 o genótipo II. Em outro estudo que também avaliou futebolistas, Massida et al. (2012) identificaram em 30 atletas da elite italiana as seguintes frequências: 60% DD, 30% ID e 10% II.

Quando é feita a comparação da frequência alélica entre os estudos percebe-se que neste estudo proporção do alelo I é de 69% e do alelo D é de 31%. Já no estudo de Salgueirosa (2013) a proporção foi de 59% DD e 41 % II. No que diz respeito à distribuição alélica, foi observado por Massida et al. (2012) que 25% da amostra apresenta o alelo I, enquanto que 75% apresentam o alelo D.

Essas informações dão conta de que há bastante antagonismo entre os resultados encontrados nesta pesquisa, quando comparados com os estudos com outras populações praticantes da mesma modalidade.

No que diz respeito às modalidades individuais de endurance, espera-se de fato a sobreposição do alelo I em relação ao alelo D. Na investigação realizada por Alemida et al. (2012) pode-se notar que sujeitos portadores do genótipo II ou ID apresentaram o $VO_{2\max}$ superior aos sujeitos genotipados como DD.

Tendo em vista a maior associação do alelo D com os eventos de força/potência, poderia se esperar que este alelo apresentasse uma proporção significativamente maior nos atletas de modalidade anaeróbias tanto coletivas, quanto individuais, porém o mesmo não ocorreu. Os dados encontrados neste estudo apontam valores significativamente maiores para os genótipos II e ID em relação DD nas modalidades coletivas e do genótipo II em relação ao DD nas individuais.

Enquanto Massida et al. (2012) identificou em corredores que disputam provas de até 400 metros os genótipos DD (50%) e ID (50%), mas não encontrou nenhum atleta II. No mesmo, mas agora avaliando ginastas, as frequências foram as seguintes: DD = 55%, ID = 35% e II = 10%. Cam et al. (2005) também encontraram respostas similares para a relação da força muscular com alelo D.

É válido ressaltar que alguns estudos disponíveis na literatura reportam maior frequência do I e dos genótipos II e ID nos eventos de força/potência. Ginevičienė et al. (2011), que avaliaram a força de preensão manual e força de salto de atletas da Lituânia, identificaram que os portadores do alelo I tiveram respostas mais significativas em relação aos homozigotos DD.

Apesar da frequência genotípica da amostra investigada por Chiu et al. (2012) ter apresentado semelhança com a do presente estudo, as portadoras do genótipo DD tiveram resultados superiores, em comparação com as II ou ID, nos testes de esforço anaeróbios.

Já no estudo de Pereira et al. (2013), 139 mulheres foram genotipadas em DD (37,4%), ID (37,4%) e II (25,2) e submetidas a 12 semanas de treinamento resistido. Foram observados ganhos significativos de força nas mulheres portadoras dos genótipos DD e ID, mas não nas portadoras do genótipo II.

5.4 ANÁLISE DA FREQUÊNCIA DOS GENÓTIPOS ACTN3 E ECA I AGRUPADOS

A figura 15 apresenta o resultado após o agrupamento dos genótipos RR+RX+DD ou XX+II+ID. Na figura esses genótipos estarão distribuídos de acordo com as modalidades anaeróbias ou aeróbias. Pode-se perceber que, dos 37 sujeitos que obtiveram uma das duas combinações, apenas 3 (8%) apresentaram a variação RR+RX+DD (1 do grupo das modalidades anaeróbias e 2 do composto por modalidades aeróbias) que é considerada ótima para as modalidades de força/potência, enquanto que 34 (92%) sujeitos apresentaram a variação XX+II+ID classificada como a mais indicada para modalidades de endurance.

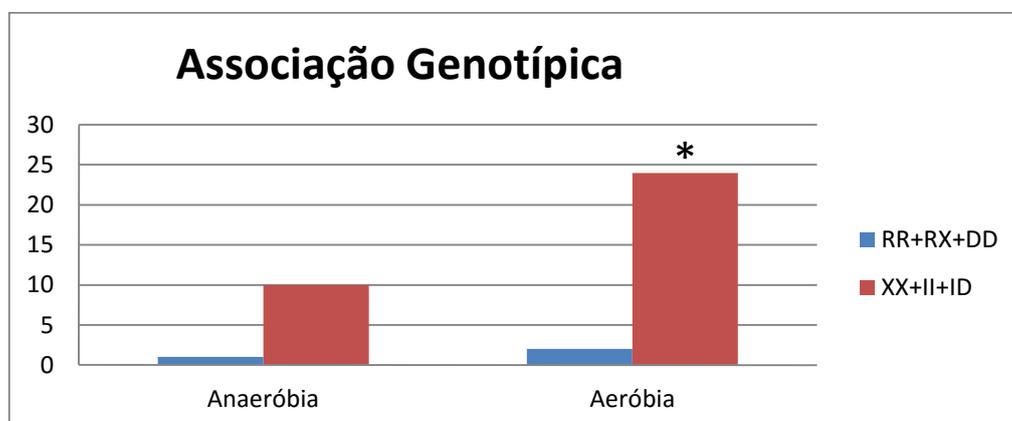


Figura 15. Distribuição dos genótipos agrupados. RR+RX+DD = maior predisposição pra modalidades anaeróbias; XX+II+ID = maior predisposição para modalidades aeróbias.

*Diferença significativa de $p < 0,05$.

Diversos estudos fazem a avaliação de genes isolados em uma população específica, porém poucos são estudo que propuseram realizar associações poligênicas com o desempenho esportivo (Ruiz et al., 2010, Ginevičienė et al., 2011, Chiu et al., 2012, Pereira et al., 2013 e Salgueirosa et al., 2013).

Nesta pesquisa foi possível observar que apenas 37 sujeitos obtiveram as repostas poligênicas consideradas ótimas pela literatura tanto pra modalidades aeróbias, quanto pra modalidades anaeróbias. É válido ressaltar que esta classificação se refere somente a esses dois genes, caso algum outro gene fosse avaliado seriam necessárias mais associações pra identificar a combinação mais próxima da perfeita.

Salgueirosa (2013) verificou que 25% dos 40 futebolistas apresentaram a combinação RR+RX+DD, enquanto que os outros 75% apresentaram combinações diferentes. É válido ressaltar que o grupo com o genótipo caracterizado como ideal para o desenvolvimento da força/potência não apresentou resultados diferentes dos demais grupos nos testes aeróbios nem nos anaeróbios.

Neste estudo 38,5% da amostra apresentou uma combinação ideal para força/potência ou resistência. Se for levado em consideração o total de sujeitos com as combinações preconizadas como ótimas (RR+RX+DD ou XX+II+ID), apenas em 3 sujeitos que equivalem 8% da amostra foi identificada a associação gênica RR+RX+DD. Outros 34 atletas (92%) foram classificados como XX+II+ID.

Na investigação realizada por Pereira et al. (2013) as duas combinações foram formadas e verificou-se que das 139 avaliadas, 82 apresentaram pelo menos uma das combinações. Os autores verificaram que 31 avaliadas eram XX+II+ID, enquanto que 51 eram RR+RX+DD, esses valores correspondem a: 38% e 62%, respectivamente. Ainda neste estudo foi confirmado que o grupo RR+RX+DD apresenta maior predisposição para o desenvolvimento da força muscular, uma vez que após 12 semanas de treinamento com pesos esse grupo apresentou ganhos estatísticos significativos, em relação ao grupo XX+II+ID, em todas variáveis avaliadas.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Após a análise e discussão de todos os resultados encontrados, pode-se afirmar que os polimorfismos R577X do gene ACTN3, bem como o polimorfismo I/D do gene da enzima conversora de angiotensina I (ECA I) estão distribuídos nos atletas amazonenses de maneira diferente de muitos estudos realizados em outras regiões do país, bem como em estudos realizados no continente europeu. No entanto, foi possível identificar determinada semelhança entre a frequência do gene da ECA I com estudos realizados no continente asiático.

É importante frisar que de acordo com os dados apontados pela literatura uma fração considerável da amostra apresenta grande potencial para o desenvolvimento da resistência aeróbia. Apesar disso, foi verificado que mais de 60% dos atletas desenvolvem a proteína alfa-actinina-3. No entanto, em diversos estudos com metodologias semelhantes têm-se identificado valores próximos de 80% de sujeitos que sintetizam a alfa-actinina-3.

Como este estudo limitou-se a diagnosticar a frequência dos genes ACTN3 e ECA I nos atletas locais, fica evidente a necessidade de mais estudos com amostras maiores, inclusão de pessoas compondo o grupo controle, bem como a realização de testes de esforço para verificar como os atletas genotipados responderiam a estes estímulos.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AHMETOV, I. I.; DRUZHEVSKAYA, A. M.; LYUBAEVA, E. V.; POPOV, D. V.; VINOGRADOVA, O. L. e WILLIAMS, A. G. The dependence of preferred competitive racing distance on muscle fibre type composition and *ACTN3* genotype in speed skaters. **Experimental Physiology**, vol. 96, nº12 p. 1302–1310, 2011.
2. AHMETOV, I. I.; DONNIKOV, A. E.; TROFIMOV, D. Y. *ACTN3* genotype is associated with testosterone levels of athletes. **Biology of Sport**, V. 31, N. 2, 2014.
3. ALFRED, T.; BEN-SHLOMO, Y.; COOPER, R.; HARDY, R.; COOPER, C.; DEARY, I. J.; GUNNELL, D.; HARRIS, S. E.; KUMARI, M.; MARTIN, R. M.; MORAN, C. N.; PITSILADIS, Y. P.; RING, S. M.; SAYER, A. A.; SMITH, G. D.; STARR, J. M.; KUH, D.; Day, I. N.M. e HALCyon study team. *ACTN3* Genotype, Athletic Status, and Life Course Physical Capability: Meta-Analysis of the Published Literature and Findings from Nine Studies. **Human mutation**, Vol. 32, No. 9, 1008–1018, 2011.
4. ALLEN, D. L.; LEINWAND, L. A. Intracellular calcium and myosin isoform transitions. Calcineurina and calcium-calmodulin kinase pathways regulate preferential activation of the myosin heavy chain promoter. **Journal Biology Chemistry**, v. 277, p. 45323-45330, 2002.
5. ALMEIDA, J. A.; BOULLOSA, D. A.; PARDONO, E.; LIMA, R. M.; MORAIS, P. K.; DENADAI, B. S.; SOUZA, V. C.; NÓBREGA, O. T.; CAMPBELL, C. S. G.; SIMÕES, H. G. A Influência do Genótipo da ECA sobre a Aptidão Cardiovascular de Jovens do Sexo Masculino Moderadamente Ativos. **Arquivo Brasileiro Cardiologia**, (on line), vol.98, n.4, p. 315-320, 2012.
6. ALVES, G. B. Influência do polimorfismo do gene da ECA e do angiotensinogênio na hipertrofia miocárdica e melhoria da capacidade funcional provocados pelo treinamento físico. São Paulo, 2007. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.
7. AMIR, O. AMIR, R., YAMIN, C., ATTIAS, E., EYNON, N., SAGIV, M., SAGIV, M. e MECKEL, Y. The ACE deletion allele is associated with Israeli elite endurance athletes. **Experimental Physiology**, Vol. 92, nº 5, p 881-6, 2007.

8. AUWETER, S. D. e ALLAIN, F. H.-T. Structure-function relationships of the polypyrimidine tract binding protein. **Cellular and Molecular Life Sciences**, Volume 65, nº 4, p 516-527, 2007.
9. BEGGS, A. H.; BYERS, T. J.; KNOLL, J. H. M.; BOYCE, F. M.; BRUNS, G. A. P.; e KUNKEL, L. M. Cloning and characterization of two human skeletal muscle alpha-actinin genes located on chromosomes 1 and 11. **Journal Biology Chemistry**, v. 267, n. 13, p. 9281-8, 1992.
10. BERGAMO, F. C. **Influência do gene da enzima conversora de angiotensina sobre as respostas metabólicas induzida pelo treinamento físico aeróbio em camundongos diabéticos**. 2010. 84 f. Dissertação (Mestrado em Educação Física) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.
11. BERMAN, Y. e NORTH, K. N., - A gene for speed: the emerging role of actinin-3 in muscle metabolism. **Fisiologia** 25: 250-259, 2010; doi: 10.1152/physiol.00008.2010.
12. BERNADEZ-PEREIRA, S.; SANTOS, P. C. J. L.; KRIEGER, J. E.; MANSUR, A. J.; PEREIRA, A. C. ACTN3 R577X polymorphism and long-term survival in patients with chronic heart failure. **Biomed Central Cardiovascular Disorders**, V. 14, N, 90, ano, 2014.
13. BRAY, M. S.; HAGBERG, J. M.; PÉRUSSE, L.; RANKINEN, T.; ROTH, S.M.; WOLFARTH, B.; e BOUCHARD, C. The human gene map for performance and health-related fitness phenotypes: the 2006-2007 update. *Medicine Science Sports Exercise*. 2009 Jan; 41 (1) :35-73.
14. BREWSTER, U. C.; PERAZELLA, M. A. The renin-angiotensin-aldosterone system and the kidney: effects on kidney disease. *The American Journal of medicine*, vol. 116, n. 4, p. 263-72, ano 2004.
15. BROOS S, MALISOUX L, THEISEN D, FRANCAUX M, DELDICQUE L, et al. (2012) Role of Alpha-actinin-3 in Contractile Properties of Human Single Muscle Fibers: A Case Series Study in Paraplegics. **PLoS ONE** 7(11): e49281. doi:10.1371/journal.pone.0049281.
16. BRUTSAERT, T. D.; PARRA, E. J. What makes a champion? Explaining variation in human athletic performance. **Respiratory Physiology & Neurobiology**; Vol.151, p. 109-123, 2006.

17. BUENO-JUNIOR, C. R. e PEREIRA, M. G. Biologia molecular como ferramenta no esporte de alto rendimento: possibilidades e perspectivas. **Rev. Bras. Ciências e Esporte, Campinas, v. 31, n. 3, p. 231-249, maio 2010.**
18. CAM, F. S.; COLAKOGLU, M.; SEKURI, C.; COLAKOGLU, S.; SAHAN, Ç.; e BERDELI, A. (2005). Association between the ACE I/D gene polymorphism and physical performance in a homogeneous non-elite cohort. **Can. J. Appl. Physiol. 30(1): 74-86.**
19. CARDON, L. R.; PALMER, L. J.; Population stratification and spurious allelic association. **THE LANCET Vol 361 February 15, 2003.**
20. CAREY, R. M.; SIRAGY, H. M. Newly recognized components of the renin-angiotensin system: potential roles in cardiovascular and renal regulation. *Endocrine Reviews*, v. 24, n. 3, p. 261-71, 2003.
21. CIĘSZCZYK, P., EIDER, J., OSTANEK, M., ARCZEWSKA, A., LEOŃSKA-DUNIEC, A., SAWCZYN, S. e KRUPECKI, K. (2011). Association of the ACTN3 R577X polymorphism in Polish power-orientated athletes. *Journal of human kinetics*, **28, 55-61.**
22. CHARBONNEAU, D. E.; HANSON, E. D.; LUDLOW, A. T.; DELMONICO, M. J.; HURLEY, B. F.; e ROTH, S. M. ACE Genotype and the Muscle Hypertrophic and Strength Responses to Strength Training. *Med Sci Sports Exerc.* **2008 April ; 40(4): 677–683.**
23. CHIN, E. R.; OLSON, E. N.; RICHARDSON, J. A.; YANG, Q.; HUMPHRIES, C.; SHELTON, J. M.; Wu, H.; Zhu, W.; Bassel-Duby, R.; Williams, S. A calcineurin-dependent transcriptional pathway controls skeletal muscle fiber type. **Genes Development, n. 12, v.16, p. 2499-509, 1998.**
24. CHIU, L. L.; CHEN, T. W.; HSIEH, S. S. e HSIEH, L. L. ACE I/D, ACTN3 R577X, PPARG T294C and PPARGC1A Gly482Ser polymorphisms and physical fitness in Taiwanese late adolescent girls. **J Physiol Sci (2012) 62:115–121.**
25. CLARK, K. A.; McELHINNY, A. S.; BECKERLE, M. C. e GREGORIO, CAROL, C. Striated muscle cytoarchitecture: An Intricate Web of Form and Function. **Annu. Rev. Cell Dev. Biol. 2002. 18:637–706.**
26. CLARKSON, P. M., DEVANEY, J. M., GORDISH-DRESSMAN, H., THOMPSON, P. D., HUBAL, M. J., URSO, M e HOFFMAN, E. P. ACTN3 genotype is associated with increases in muscle strength in response to resistance training in women. **Journal of Applied Physiology, 99(1), 154-163, 2005.**

27. COATES D. The angiotensin converting enzyme (ACE). **Int J Biochem Cell Biol.**2003;**35:769-73.**
28. COELHO, B. D. **Determinação da frequência genotípica do ACTN3 e da sua relação com o desempenho físico, respostas hormonais e indicadores do dano muscular em jogadores de futebol.** 2011. 115 f. Tese (Doutorado em Ciências do Esporte) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011.
29. COSTA, A. M.; SILVA, A. J.; GARRIDO, N.; LOURO, H.; MARINHO, D.A.; CARDOSO MARQUES, M.; BREITENFELD, L. Angiotensin-converting enzyme genotype affects skeletal muscle strength in elite athletes. **Journal Sports Science Medicine**, v. 8, p. 410-8, 2009.
30. CRISAN, D e CARR, J. Angiotensin I–converting enzyme: genotype and disease associations. **J Mol Diagn**, v. 2, n. 3, Aug, p. 105-15. 2000.
31. CURI, R., LAGRANHO, C. J., JUNIOR, J. R. G., CURI, T. C. P., LANCHA JUNIOR, A. H. PELLEGRINOTTI, I. L. e PROCOPPIO, J. Ciclo de Krebs como fator limitante na utilização de ácidos graxos durante o exercício aeróbico. **Arq Bras Endocrinol Metab** vol 47 nº 2 Abril 2003.
32. DANTAS, E. H. M. – **A Prática da Preparação Física** – 5ª Ed. – Rio de Janeiro: Shape, 2003.
33. DELMONICO, M. J., KOSTEK, M. C., DOLDO, N. A., HAND, B. D., WALSH, S., CONWAY, J. M., CARIGNAN, C. R., ROTH, S. M.& HURLEY, B. F. (2007). Alpha-actinin-3 (ACTN3) R577X polymorphism influences knee extensor peak power response to strength training in older men and women. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*, **62(2)**, 206-212.
34. De ROBERTIS, E. M. F. E HIB, J. **Bases da Biologia Celular e Molecular.** 4ª ed. -Guanabara Koogan - Rio de Janeiro, 2012.
35. DIAS, R. G., PEREIRA, A. C., NEGRÃO, C. E., KRIEGER, J. E. - Polimorfismos genéticos determinantes da performance física em atletas de elite. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte** – vol 13. Nº3 maio/junho, 2007.
36. DRAGOVIC T, MINSHALL R, JACKMAN HL, WANG LX, ERDOS EG. Kininase II-type enzymes. Their putative role in muscle energy metabolism. **Diabetes.** 1996;**45(Suppl 1):S34-7.**
37. DRUZHEVSKAYA, A. M., AHMETOV, I. I., ASTRATENKOVA, I. V., e ROGOZKIN, V. A. Association of the ACTN3 R577X polymorphism with power

athlete status in Russians. *European journal of applied physiology*, **103(6)**, 631-634, 2008.

38. EYNON, N.; RUIZ, J. R.; OLIVEIRA, J.; DUARTE, J. A.; BIRK, R. e LUCIA, A. Genes and elite athletes: a roadmap for future research. *J Physiol* **589.13** (2011) pp 3063–3070.

39. EYNON, N.; RUIZ, J. R.; FEMIA, P.; PUSHKAREV, V. P.; CIESZCZYK, P.; MACIEJEWSKA-KARLOWSKA, A.; SAWCZUK, M.; DYATLOV, D. A.; LEKONTSEV, E. V.; KULIKOV, L. M.; BIRK, R.; BISHOP, D. J. e LUCIA, A. The ACTN3 R577X Polymorphism across Three Groups of Elite Male European Athletes. *PLoS ONE* **7(8)**: e43132 (2012). doi:10.1371/journal.pone.0043132.

40. FATTAHI, Z. e NAJMABADI, H. Prevalence of ACTN3 (the athlete gene) R577X polymorphism in Iranian population. *Iran Red Crescent Med J* **2012; 14(10):617 - 622**.

41. FIUZA-LUCES. C.; RUIZ J.R.; RODRÍGUEZ-ROMO, G.; SANTIAGO, C.; GÓ MEZ-GALLEGO, F. Are ‘Endurance’ Alleles ‘Survival’ Alleles? Insights from the ACTN3 R577X Polymorphism. *PLoS ONE* **6(3)**: e17558. doi:10.1371/journal.pone.0017558, 2011.

42. FOLLAND, J., LEACH, B., LITTLE, T., HAWKER, K., MYERSON, S., MONTGOMERY, H., e JONES, D. Angiotensin-converting enzyme genotype affects the response of human skeletal muscle to functional overload. *Exp Physiol* **85**: 575–579, 2000.

43. FOSCHINI, D.; PRESTES, J.; CHARRO, M. A. Relação entre exercício físico, dano muscular e dor muscular de início tardio. *Revista brasileira de cineantropometria e desempenho humano*, v. 9, n. 1, p. 101-106, 2007.

44. FRANKEN, R. A.; BELLESSO, M.; CAVAZIN, A. M.; POLÔNIO, I. B. MATTHEUCCI, E. e VARGA, J. Associação do polimorfismo do gene da enzima conversora da angiotensina com dados ecocardiográficos em jovens normotensos filhos de hipertensos. *Rev Assoc Med Bras* **2004; 50(1)**: 62-7.

45. FREITAS, S. R. S., CABELLO, P. H., MOURA-NETO, R. S., DOLINSKY, L. C., & BÓIA, M. N. (2007). Análise combinada de fatores genéticos e ambientais na hipertensão essencial em um município da região Amazônica. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, **88(4)**, 447-451.

46. FREY, N., RICHARDSON, J. A. e OLSON, E. N. Calsarcins, a novel family of sarcomeric calcineurin-binding proteins. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 97, n. 26, p. 14632-14637, 2000.
47. FRIEDLANDER, S.M.; HERRMANN A.L.; LOWRY; D.P., MEPHAM, E.R.; LEK M, et al. ACTN3 Allele Frequency in Humans Covaries with Global Latitudinal Gradient. **PLoS ONE 8(1): e52282. doi:10.1371/journal.pone.0052282. 2013.**
48. GARATACHEA, N.; FIUZA-LUCES, F.; TORRES-LUQUE, G.; YVERT, T. SANTIAGO, C.; GOMEZ-GALLEGO, F.; RUIZA, J. R. e LUCIA, A. Single and combined influence of ACE and ACTN3 genotypes on muscle phenotypes in octogenarians. **European Journal Appl Physiol (2012) 112:2409–2420.**
49. GAYAGAY, G.; YU, B.; HAMBLY, B. Elite endurance athletes and the ACE I allele--the role of genes in athletic performance. **Human Genetics**, v. 103, n. 1, p. 48-50, ano, 1998.
50. GENTIL, P. Bases científicas do treinamento de hipertrofia. Rio de Janeiro: Sprint, 2005.
51. GENTIL, P. R. V. **Adaptações neuromusculares do exercício resistido: influência da variação R577x do gene alfa actina 3.** Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade de Brasília. Brasília 2010.
52. GENTIL, P. R. V.; PEREIRA, R. W.; LEITE, T. K. M. E BOTTARO, M. ACTN3 R577X polymorphism and neuromuscular response to resistance training. **Journal of Sports Science and Medicine**, v. 10, n. 2, p. 7, 2011.
53. GINEVIČIENĖ, V.; PRANCULIS, A.; JAKAITIENĖ, A.; MILAŠIUS, K.; e KUČINSKAS, V. Genetic Variation of the Human ACE and ACTN3 Genes and Their Association With Functional Muscle Properties in Lithuanian Elite Athletes. **Medicina (Kaunas) 2011;47(5):284-90.**
54. GOMES, E. B. Análise do polimorfismo ace i/d em jogadores de futebol e sua relação com a performance. Dissertação apresentada, no Departamento de Educação Física, Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná. Paraná – 2013.
55. GUYTON, A. C.; e HALL, J. E. Tratado de Fisiologia Médica. 11ª ed. Rio de Janeiro, Elsevier Ed., 2006.

56. HAGBERG, J. M.; FERRELL, R. E.; McCOLE, S. D.; WILUND, K. R.; MOORE, G.E. VO₂ max is associated with ACE genotype in postmenopausal women. **J Appl Physiol.** 1998;**85**: 1842-6.
57. HENESY, M. B.; BRITAIN, A. L.; ZHU, B.; AMABLE, L.; HONKANEN, R.E.; CORBIN, J.D.; FRANCIS, S. H.; RICH, T. C. Calcineurin regulates homologous desensitization of natriuretic peptide receptor-A and inhibits ANP-induced testosterone production in MA-10 cells. **PLoS One**, n. 7, v. 8, 2012.
58. HOFFEE, P. A. Genética Médica Molecular. 1ª ed – Guanabara Koogan – Rio de Janeiro, 2000.
59. HOUSTON, M. E. Princípios de bioquímica para a ciência do exercício. 3ª ed – São Paulo: Roca, 2008.
60. HUMPHRIES, S. E.; MONTGOMERY, H. E. The ACE gene and muscle performance. **Nature, London**, v. 403, p. 614, 2000.
61. IDE, B. N., LOPES, C. R., SARRAIPA, M. F. Fisiologia do treinamento esportivo. – São Paulo: Phorte, 2010.
62. JONSSON, J. R.; GAME, P. A.; HEAD, R. J.; FREWIN, D. B. The expression and localization of the angiotensin-converting enzyme mRNA in human adipose tissue. **Blood Press.** 3:72-5, 1994.
63. LEE, Y. J., e TSAI, J. C. ACE gene insertion/deletion polymorphism associated with 1998 World Health Organization definition of metabolic syndrome in Chinese type 2 diabetic patients. **Diabetes care**, 25(6), 1002-1008, 2002.
64. LEMES, V. A.; NEVES, A. L.; GUAZZELLI, I. C.; FRAZZATTO, E.; NICOLAU, C.; CORRÊA-GIANNELLA, M. L.; VELHO, G. e VILLARES, S. M. Angiotensin converting enzyme insertion/deletion polymorphism is associated with increased adiposity and blood pressure in obese children and adolescents. **Gene** 532 (2013) 197–202.
65. LIMA, J. M., SERAFIM, P. V. P., SILVA, I. D. C. G. e FORONES, N. M.. Estudo do polimorfismo genético no gene p53 (códon 72) em câncer colorretal. **Arq. Gastroenterol.** [online]. 2006, vol.43, n.1, pp. 8-13. ISSN 0004-2803.
66. LINDPAINNER, K., PFEFFER, M. A., KREUTZ, R., STAMPFER, M. J., GRODSTEIN, F., LAMOTTE, F., BURING, J. e HENNEKENS, C. H. 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.

67. LÚCIA, A., GÓMEZ GALEGO, F., SANTIAGO, C., BANDRÉS, F., EARNEST, C., RABADÁN, M., ALONSO, M., HOYOS, J., CÓRDOVAS, A., VILLA, G. & FOSTER, G. ACTN3 genotype in professional endurance cyclists. **Int J Sports Med** 2006; 27: 880 – 884.

68. MA, F., YANG, Y., LI, X., ZHOU, F., GAO, C., et al. (2013) The Association of Sport Performance with ACE and ACTN3 Genetic Polymorphisms: A Systematic Review and Meta-Analysis. **PLoS ONE** 8(1): e54685. doi:10.1371/journal.pone.0054685.

69. MACARTHUR, D. G., SETO, J. T., RAFTERY, J. M., QUINLAN, K. G., HUTTLEY, G. A., HOOK, J. W. e NORTH, K. N. Loss of ACTN3 gene function alters mouse muscle metabolism and shows evidence of positive selection in humans. **Nature genetics**, 39(10), 1261-1265, 2007.

70. MacARTHUR D. G., TYLER-SMITH, C. Loss-of-function variants in the genomes of healthy humans. *Human Molecular Genetics* Oct 15;19(R2):R125-30. doi: 10.1093/hmg/ddq365. Epub Aug 30, 2010.

71. MASSIDDA, M.; CORRIAS, L.; SCORCU, L.; VONA, G. e CALÒ, M. C. ACTN-3 and ACE genotypes in elite male Italian athletes. **Anthropological Review** • Vol. 75 (1), 51–59 (2012).

72. MATOS, M. F. D. Polimorfismos dos genes da ECA, angiotensinogênio e do receptor tipo 1 da angiotensina II e pressão arterial. Rio de Janeiro: UFRJ/ Faculdade de Medicina, 2006.

73. McARDLE, W. D.; KATCH, F. I. & KATCH, V. L.; *Fisiologia do Exercício, Energia, Nutrição e Desempenho Humano*. 5ª Ed. – Guanabara Koogan – Rio de Janeiro, 2008.

74. McGIVNEY, B. A.; McGETTIGAN, P. A.; BROWNE, J. A.; EVANS, A. C.O.; FONSECA, R. G.; LOFTUS, B. J.; LOHAN, A.; MAcHUGH, D. E.; MURPHY, B. A. KATZ, L. M. e HILL, E. W. RCharacterization of the equine skeletal muscle transcriptome identifies novel functional responses to exercise training. **BMC Genomics** 2010, 11:398.

75. MILLS, M.; YANG, N.; WEINBERGER, R.; WOUDE, D. L. V. BEGGS, A. H.; EASTEAL, S.; e NORTH, K. Differential expression of the actin-binding proteins, alpha-actinin-2 and -3, in different species: implications for the evolution of functional redundancy. **Human Molecular Genetics**, v. 10, n. 13, p. 1335-46, ano 2001.

76. MONTENEGRO, R. C., PAZ, C. R., MONTENEGRO NETO, A. N., ARAÚJO FILHO, V. S., FERNANDES, P. R., & FERNANDES FILHO, J. Desempenho anaeróbico e ACTN3 em crianças. *Motricidade*, v. 9, n. 4, p. 47-53, ano 2013.
77. MONTGOMERY, H. E.; MARSHALL, R.; HEMINGWAY, H.; MYERSON, S.; CLARKSON, P.; DOLLERY, C.; HAYWARD, M.; HOLLIMAN, D. E.; JUBB, M.; WORLD, M.; THOMAS, E. L.; BRYNES, A. E.; SAEED, N.; BARNARD, M.; BELL, J. D.; PRASAD, K.; RAYSON, M.; TALMUD, P. J.; e HUMPHRIES, S. E. Human gene for physical performance. *Nature*, **1998**, **Vol.393(6682)**, pp.221-222.
78. MOOREN, F.; VOLKER, K. Fisiologia do Exercício Molecular e Celular. São Paulo: Santos, 2012.
79. MORAN, C. N.; YANG, N.; BAILEY, M. E. S.; TSIOKANOS, A.; JAMURTAS, A.; MacARTHUR, D. G.; NORTH, K.; PITSILADIS, Y. P e WILSON, R. H. Association analysis of the ACTN3 R577X polymorphism and complex quantitative body composition and performance phenotypes in adolescent Greeks. *European Journal of Human Genetics* (2007) **15**, 88–93.
80. MYERSON, S.; HEMINGWAY, H.; BUDGET, R. Human angiotensin I-converting enzyme gene endurance performance. *J. Appl. Physical*, **1999**. **87:1313-16**.
81. NAPOLES, O.C.; CASTELLANOS, M. S.; LEAL, L.; CASALVILLA, R.; CAMACHO, H.; FERRER, A.; CINTADO, A.; VILLAREAL, A.; BENITEZ, J. V.; NAZABAL, M.; VELASCO, J. G. P.; CABALE, B.; NOVOA, L. I.; e DUENAS, M. ACE I/D polymorphism study in a Cuban hypertensive population. *Clinica Chimica Acta* **378** (2007) **112–116**.
82. NIEMI, A. K., MAJAMAA, K. Mitochondrial DNA and ACTN3 genotypes in Finnish elite endurance and sprint athletes. *European Journal European Genetics*. v. **13**, n. **8**, p. **965-9**, ano **2005**.
83. NORMAN, B., ESBJÖRNSSON, M., RUNDQVIST, H., ÖSTERLUND, T., GLENMARK, B. e JANSSON E. ACTN3 genotype and modulation of skeletal muscle response to exercise in human subjects. *J Appl Physiol* **116: 1197–1203**, 2014.
84. NORTH, K. N.; YANG, N.; WATTANASIRICHAIGOON, D.; MILLS, M.; EASTEAL, S.; e BEGGS, A. A common nonsense mutation results in a-actinin-3 deficiency in the general population. *nature genetics volume 21 april 1999*.

85. NORTH, K. N. Why is α -Actinin-3 Deficiency So common in the General Population? The Evolution of Athletic Performance. **Twin Research and Human Genetics Volume 11 Number 4 pp. 384–394**. January, 2008.

86. NIEMI, A.K. & MAJAMAA, K. Mitochondrial DNA and ACTN3 genotypes in Finnish elite endurance and sprint athletes - **European Journal of Human Genetics (2005) 13, 965–969**.

87. OLIVEIRA, C. E. **Análise comparativa entre indicadores de desempenho e a variação R577X do gene da alfa actinina-3 (ACTN3) em lutadores de artes marciais mistas**. 2013. 56 f. Dissertação (de Mestrado em Educação Física) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

88. OLIVEIRA, E. M.; ALVES, G. B.; BARAUNA, V. G. Sistema renina-angiotensina: interação gene–exercício. **Revista Brasileira de Hipertensão**, v. 10, p. 125-129, 2003.

89. PARK, E. Y.; AHN, H.; LEE, J. A. e HONG, Y. M. Insertion/deletion polymorphism of angiotensin converting enzyme gene in Korean hypertensive adolescents. **Heart Vessels (2009) 24:193–198**.

90. PARKER K. C., KONG S. W., WALSH R. J., SALAJEGHEH M., MOGHADASZADEH B., AMATO A. A., NAZARENO R., LIN Y. Y., KRASTINS B., SARRACINO D. A., BEGGS A. H., PINKUS J. L., GREENBERG S. A. Fast-twitch sarcomeric and glycolytic enzyme protein loss in inclusion body myositis. **Muscle & nerve**, v. 39, n. 6, p. 739-753, ano 2009.

91. PASQUA, A. L.; ARTIOLI, G. G.; PIRES, O. F.; BERTUZZI, R. ACTN3 e desempenho esportivo: um gene candidato ao sucesso em provas de curta e longa duração. **Revista Brasileira de Cineantropometria e Desempenho Humano**, v. 13, n. 6, p. 477-483, ano 2011.

92. PASQUA, L. A. **Associação entre o polimorfismo de nucleotídeo único no gene ACTN3, variáveis fisiológicas e parâmetros neuromusculares em relacionados à aptidão aeróbia**. 2013. 71 f. Dissertação (Mestrado em Estudo do Esporte) – Escola de Educação Física e Esporte, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

93. PAPADIMITRIOU, I. D., PAPADOPOULOS, C., KOUVATSI, A., e TRIANTAPHYLLIDIS, C. (2008). The ACTN3 gene in elite Greek track and field athletes. *International journal of sports medicine*, (29), 352-5.

94. PEREIRA, A.; COSTA, A. M.; IZQUIERDO, M.; SILVA, A. J.; BASTOS, E. E MARQUES, M. C. ACE I/D and ACTN3 R/X polymorphisms as potential factors in modulating exercise-related phenotypes in older women in response to a muscle power training stimuli. *AGE*, v. **35**, n. **5**, p. **1949–1959**, ano 2013.
95. PIMENTA, E. M.; COELHO, D. B.; CRUZ, I. R.; MORANDI, R. F; VENEROSO, C. E.; PUSSIELDI, G. A.; CARVALHO, M. R.; SILAMI-GARCIA, E. DE PAZ FERNÁNDEZ, J. A. The ACTN3 genotype in soccer players in response to acute eccentric training. *European Journal Applied Physiology*, v. 112, p. 1495–1503, ano 2012.
96. POWERS S. K. & HOWLEY, E. T. – *Fisiologia do Exercício: teoria e aplicação ao condicionamento e ao desempenho* – 5ª ed. – Manole – Barueri, SP, 2005.
97. QUINLAN G.R.K; SETO T.J; TURNER N; VANDEBROUCK A; FLOETENMEYER M; MACARTHUR G. D; RAFTERY M.J; LEK M; YANG N; PARTON G.R; COONEY J.G; NORTH N.K. a-Actinin-3 deficiency results in reduced glycogenphosphorylase activity and altered calcium handling in skeletal muscle. **Human Molecular Genetics**, 2010, Vol. **19**, No. **7** 1335–1346.
98. RANKINEN, T.; PERUSSE, L.; GAGNON, J.; CHAGNON, Y.C.; LEON, A.C.; SKINNER, J.S.; WILMORE, J. H.; RAO, D. C.; e BOUCHARD, C.. Angiotensin-converting enzyme ID polymorphism and fitness phenotype in the HERITAGE Family Study. *J Appl Physiol*. 2000;88:1029-35.
99. RIEGEL, R. E. *Bioquímica do músculo e do exercício físico*. 3ª ed. São Leopoldo, ed. Unisinos, 2006.
100. RIBICHINI, F., STEFFENINO, G., DELLAVALLE, A., MATULLO, G., COLAJANNI, E., CAMILLA, T., VADO, A., BENETTON, G., USLENGHI, E. e PIAZZA, A. Plasma activity and insertion/deletion polymorphism of angiotensin I-converting enzyme: A major risk factor and a marker of risk for coronary stent restenosis. **Circulation**. 97: 147–154, 1998.
101. RIGAT, B.; HUBERT, C.; ALHENC-GELAS, F.; CAMBIEN, F.; CORVOL, P. e SOUBIER, F. An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. **J Clin Invest**, v. **86**, n. **4**, p. **1343-6**, Oct 1990.
102. ROTH, S. M.; WALSH, S.; LIU, D.; METTER, E. J.; FERRUCCI, L.; HURLEY, B. F. The ACTN3 R577X nonsense allele is underrepresented in elite-level strength athletes. **European Journal of Human Genetics**, v. 16, p. 391–394, ano, 2008.

103. RUIZ J. R., ARTETA D., BUXENS A., ARTIEDA M., GÓMEZ-GALLEGO F., SANTIAGO C., YVERT T., MORÁN M. e LUCIA A. Can we identify a poweroriented polygenic profile? **J Appl Physiol** 108: 561–566, 2010.

104. RUIZ, J. R., GÓMEZ-GALLEGO, F., SANTIAGO, C., GONZÁLEZ-FREIRE, M., VERDE, Z., FOSTER, C., LUCIA, A. Is there an optimum endurance polygenic profile? **J Physiol.** **2009 Apr 1;587(Pt 7):1527-34. doi: 10.1113/jphysiol.2008.166645. Epub 2009.**

105. SABER-AYAD, M. M. NASSAR, Y. N. e LATIF, I. A. Angiotensin-converting enzyme I/D gene polymorphism affects early cardiac response to professional training in young footballers. *Journal of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System*, **Vol. 15(3) 236 – 242, 2014.**

106. SALGUEIROSA, F. M. **Influência do polimorfismo do ACTN3 e ACE I/D em indicadores de performance em atletas profissionais de futebol.** Tese de Doutorado apresentada, no Departamento de Educação Física, Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná. Paraná – 2013.

107. SANTIAGO, C.; FREIRE, G.; SERRATOSA, L.; MORATE, FJ.; MEYER, T.; GALLEGO, G. & LÚCIA, A. – ACTN3 genotype in professional soccer players. **Br J Sports Med.** **2008, 42:71-73 doi: 10.1136/bjism.2007.039172.**

108. SAN JUAN, A. F., GOMEZ-GALLEGO, F., CAÑETE, S., SANTIAGO, C., PÉREZ, M., LUCIA, A. Does complete deficiency of muscle α -actinin-3 alter functional capacity in elderly women? A preliminary report. **Br J Sports Med** **2006;40:e1 doi: 10.1136/bjism.2005.019539.**

109. SAUNDERS, C. J., SEPTEMBER, A. V., XENOPHONTOS, S. L., CARILOU, M. A., ANASTASSIADES, L. C., NOAKES, T. D., COLLINS, M. No association of the ACTN3 gene R577X polymorphism with endurance performance in Ironman Triathlons. *Ann Hum Genet* 2007 Nov;71(Pt 6):777-81. Epub 2007 Jul 12.

110. SAYED-TABATABAEI, F. A., OOSTRA B. A., ISAACS A, VAN DUJIN C. M., WITTEMAN J. C. ACE Polymorphisms. **Circulation Research** **2006;98:1123-33.**

111. SCHNEIDER, C. D. e OLIVEIRA, A. R. Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico. **Revista Brasileira de Medicina no Esporte**, v. 10, n. 4, p. 308-13, 2004.

112. SCHUNKERT, H., *et al.* Association between a deletion polymorphism of the angiotensin converting-enzyme gene and left ventricular hypertrophy. **N Engl J Med**, v.330, n.23, Jun 9, p.1634-8. 1994.

113. SETO, J. T.; LEK, M.; QUILAN, K. G.; HOUWELING, P. J.; ZHENG, X. F.; GARTON, F.; MacARTHUR, D. G.; RAFTERY, J. M.; GARVEY, S. M.; HAUSER, M. A.; YANG, N.; HEAD, S. I.; and NORTH, K. N. Deficiency of alpha-actinin-3 is associated with increased susceptibility to contraction induced damage and skeletal muscle remodeling. **Human Molecular Genetics**, v. 20, n. 15, p. 2914-27, ano 2011.

114. SGOUROU, A.; FOTOPOULOS, V.; KONTOS, V.; PATRINOS, G. P. E PAPACHATZOPOULOU, A. Association of genome variations in the renin-angiotensin system with physical performance. **Human Genomics**, 6:24, p. 2-7, 2012.

115. SHANG, X.; ZHANG, F.; ZHANG, L.; HUANG, H. ACTN3 R577X polymorphism and performance phenotypes in young Chinese male soldiers. **Journal of Sports Sciences**, n. 30, v. 3, p. 255–260, 2012.

116. SHANMUGAM, V., SELL, K.W., e SAHA, B.K. Mistyping ACE heterozygotes. **PCR Methods Appl.** 3: 120-121, 1993.

117. THOMAES T; THOMIS M; ONKELINX S; FAGARD R; MATTHIJS G; BUYS R; SCHEPERS D; CORNELISSEN V; VANHEES L. A genetic predisposition score for muscular endophenotypes predicts the increase in aerobic power after training: the CAREGENE study. **Thomaes et al. BMC Genetics 2011, 12:84.**

118. TIRET, L.; RIGAT, B.; VISVIKIS, S.; BREDA, C.; CAMBIEN, F.; CORVOL, P.; CAMBIEN, F.; e SOUBRIERT, F. Evidence, from combined segregation and linkage analysis, that a variant of the angiotensin I-converting enzyme (ACE) gene controls plasma ACE levels. **Am J Genet 1992; 51:197-205.**

119. URBAN R.J. Growth hormone and testosterone: anabolic effects on muscle. **Hormone Research in Paediatrics**, n. 76, vol 1, p. 81-83, 2011.

120. VINCENT, B.; DE BOCK, K.; RAMAEKERS, M.; VAN DEN EEDE, E.; VAN LEEMPUTTE, M.; HESPEL, P; e THOMIS, M. A. ACTN3 (R577X) genotype is associated with fiber type distribution. **Physiology Genomics** v. 32, p. 58–63, ano, 2007.

121. VINCENT, B.; WINDELINCKX, A.; VAN PROEVEN, K.; MASSCHELEIN, E.; NIELENS, H.; RAMAEKERS, M.; VAN LEEMPUTTE, M.; HESPEL, P.; THOMIS, M. Alpha-actinin-3 deficiency does not significantly alter

oxidative enzyme activity in fast human muscle fibres. **Acta Physiology**, v. 204, n. 4, p. 555-61, ano, 2011.

122. WALPOLE, B., NOAKES, T. D. E COLLINS, M. Growth hormone 1 (GH1) gene and performance and postrace rectal temperature during the South African Ironman triathlon. **Br J Sports Med** 2006;**40:145–150. doi: 10.1136/bjism.2005.020669.**

123. WANG, G., E. MIKAMI, L.-L. CHIU, A. DE PERINI, M. DEASON, N. FUKU, M. MIYACHI, K. KANEOKA, H. MURAKAMI, M. TANAKA, L.-L. HSIEH, S. S. HSIEH, D. CAPOROSI, F. PIGOZZI, A. HILLEY, R. LEE, S. D. R. GALLOWAY, J. GULBIN, V. A. ROGOZKIN, I. I. AHMETOV, N. YANG, K. N. NORTH, S. PLOUTARHOS, H. E. MONTGOMERY, M. E. S. BAILEY, and Y. P. PITSILADIS. Association Analysis of ACE and ACTN3 in Elite Caucasian and East Asian Swimmers. **Med. Sci. Sports Exerc., Vol. 45, No. 5, pp. 892–900, 2013.**

124. WEINECK, J. – Treinamento Ideal – 1ª Ed. – Manole, 2003.

125. WILLIAMS, A. G., DHAMRAIT, S. S., WOOTTON, P. T., DAY, S. H., HAWE, E., PAYNE, J. R. e MONTGOMERY, H. E. Bradykinin receptor gene variant and human physical performance. *Journal of applied physiology*,96(3), 938-942, **2004.**

126. WILMORE, J. H., COSTILL, D. L. e KENNEY, W. L. Fisiologia do Esporte e do Exercício. Barueri, SP: Manole, 2010.

127. WOLFARTH, B., BRAY, M. S., HAGBERG, J. M., PÉRUSSE, L., RAURAMAA, R., RIVERA, M. A., ROTH, S. M., RANKINEN, T. e BOUCHARD C. The human gene map for performance and fitness phenotypes related to health: the 2004 update. **Medicine Science sports and exercise**, v. 37, n. 6, p, 881-903, ano 2005.

128. XI, B.; RUITER, R.; CHEN, J.; PAN, H.; WANG, Y.; MI, J. The ACE insertion/deletion polymorphism and its association with metabolic syndrome. **Metabolism – clinical and experimental**, v. 61, n. 6, p. 891-897, ano 2012.

129. YANG, N., MACARTHUR, D. G., GULBIN, J. P., HAHN, A. G., BEGGS, A. H., SIMON, E. & NORTH, K. - ACTN3 genotype is associated with Human Elite Athletic Performance. **The American Journal of Human Genetics**, v. 73, p. 627–631, ano, 2003.

130. ZHANG, B.; MIURA, S.; KIYONAGA, A. TANAKA, H. SHINDO, M.; SAKU, K. Association of angiotensina-cinverting-enzyme gene polymorphism with the depressor response to mild exercise therapy in patients with mild to moderate essential hypertension. **Clinical Genetics**, v. 62, p. 328-33, ano 2002.

131. ZHANG, B.; TANAKA, H.; SHONO, N.; MIURA, S.; KIYONAGA, A.; SHINDO, M.; e SAKU, K. The I allele of the angiotensin-converting enzyme gene is associated with an increased percentage of slow-twitch I fibers in human skeletal muscle. **Clin Genet Feb 2003, 63 (2) :139-44.**

132. ZOLL, J.; MONASSIER, L.; GARNIER, A.; N'GUESSAN, B.; METTAUER, B.; VEKSLER, V.; PIQUARD, F.; VENTURA-CLAPIER, R.; GENY, B. ACE inhibition prevents myocardial infarction-induced skeletal muscle mitochondrial dysfunction. **Journal of Applied Physiology**. Vol. 101 n. 2, 385-391, 2006.

APÊNDICE

APENDICE 1



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS PROGRAMA MULTI-INTITUCIONAL DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Convidamos o (a) Sr (a) para participar da Pesquisa “AVALIAÇÃO DE GENES RELACIONADOS AO DESEMPENHO ESPORTIVO EM ATLETAS DO ESTADO DO AMAZONAS”, sob a responsabilidade do pesquisador Agnelo Weber de Oliveira Rocha, a qual pretende avaliar a influência dos genes, ACTN3 e ECA I/D nos atletas da Fundação Vila Olímpica de Manaus-AM.

Sua participação é voluntária e se dará por meio de coleta de 5 ml sangue realizada por um técnico especializado que utilizará equipamentos descartáveis, tais como luvas, agulhas e seringas.

O risco decorrente de sua participação na pesquisa é um mínimo desconforto que está relacionado à dor durante a perfuração do braço para a coleta de sangue. No entanto, desaparece após poucos minutos da realização da coleta. Se você aceitar participar, estará contribuindo para conhecimentos das suas informações genéticas, no que diz respeito à influência dos genes ACTN3 e ECA I/D no seu aproveitamento esportivo, além de auxiliá-lo em seus treinamentos.

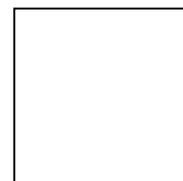
Se depois de consentir em sua participação o Sr (a) desistir de continuar participando, tem o direito e a liberdade de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, seja antes ou depois da coleta dos dados, independente do motivo e sem nenhum prejuízo a sua pessoa. O (a) Sr (a) não terá nenhuma despesa e também não receberá nenhuma remuneração. Os resultados da pesquisa serão analisados e publicados, mas sua identidade não será divulgada, sendo guardada em sigilo. Para qualquer outra informação, o (a) Sr (a) poderá entrar em contato com o pesquisador no endereço Rua 31, nº 1254, Parque Dez de Novembro, pelo telefone (92) 9239-9600, ou poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa – CEP/UFAM, na Rua Teresina, 495, Adrianópolis, Manaus-AM, telefone (92) 3305-5130.

Consentimento Pós-Informação

Eu, _____, fui informado sobre o que o pesquisador quer fazer e porque precisa da minha colaboração, e entendi a explicação. Por isso, eu concordo em participar do projeto, sabendo que não vou ganhar nada e que posso sair quando quiser. Este documento é emitido em duas vias que serão ambas assinadas por mim e pelo pesquisador, ficando uma via com cada um de nós.

_____ Data: ___/___/_____
Assinatura do participante

Assinatura do Pesquisador Responsável



Impressão do dedo polegar
Caso não saiba assinar

APENDICE 2

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PROGRAMA MULTI-INTITUCIONAL DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
BIOTECNOLOGIA

Dados de Identificação do Pesquisador

Título do Projeto: AVALIAÇÃO DE GENES RELACIONADOS AO DESEMPENHO ESPORTIVO EM ATLETAS DO ESTADO DO AMAZONAS.

Pesquisador Responsável: Agnelo Weber de Oliveira Rocha **CREF:**
002200G/AM

Instituição a que pertence o Pesquisador Responsável: Universidade Federal do Amazonas

Telefones para contato: (92) 9239-9600

Dados de Identificação do Voluntário

Nome do voluntário: _____

Idade: _____ anos

Modalidade Praticada: _____

Nível das Competições nos últimos 2 anos

Estadual Nacional Internacional