

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA ELÉTRICA E
INFORMÁTICA INDUSTRIAL**

MARCELO ROMANOVITCH RIBAS

**ANÁLISE DOS PARÂMETROS BIOMOLECULARES EM CORREDORES DE
ULTRAMARATONA**

CURITIBA

2023

MARCELO ROMANOVITCH RIBAS

**ANÁLISE DOS PARÂMETROS BIOMOLECULARES EM CORREDORES DE
ULTRAMARATONA**

Analysis of biomolecular parameters in ultramarathon runners

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica e Informática Industrial (CPGEI) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) como requisito à obtenção do título de "Doutor em Ciências" - Área de concentração: Engenharia Biomédica.

Orientador: Prof. Dr. Fábio Kurt Schneider.
Coorientador: Prof. Dr. Júlio Cesar Bassan.

CURITIBA

2023



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, para fins não comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es) e que licenciem as novas criações sob termos idênticos. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.



MARCELO ROMANOVITCH RIBAS

ANÁLISE DOS PARÂMETROS BIOMOLECULARES EM CORREDORES DE ULTRAMARATONA.

Trabalho de pesquisa de doutorado apresentado como requisito para obtenção do título de Doutor Em Ciências da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Área de concentração: Engenharia Biomédica.

Data de aprovação: 10 de Novembro de 2023

Dr. Fabio Kurt Schneider, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Dr. Andre Eugenio Lazzaretti, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Dr. Elto Legnani, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Dr. Raul Osiecki, Doutorado - Universidade Federal do Paraná (Ufpr)

Dr. Zair Candido De Oliveira Netto, Doutorado - Universidade Positivo (Up)

AGRADECIMENTOS

A vida corre veloz, e o tempo é o recurso mais valioso e irreversível. Agradeço sinceramente a todas as pessoas que, de maneira direta ou indireta, dedicaram seu tempo precioso para me auxiliar nesta jornada.

Agradeço a Deus pelos dons que me concedeu, tornando possível alcançar esta etapa tão significativa em minha vida e por todas as conquistas até o momento.

À minha família, que sempre me apoiou e esteve ao meu lado nos momentos alegres, tristes, nervosos, ansiosos e esperançosos, demonstrando uma paciência infinita ao longo dessa trajetória.

Ao meu orientador, Professor Doutor Fábio Kurt Schneider, e ao coorientador e amigo, Professor Doutor Júlio Cesar Bassan, expresso minha gratidão pelo conhecimento e experiência compartilhados comigo, orientando-me no desenvolvimento deste trabalho.

Agradeço ao Professor e amigo Doutor Elto Legnani por sua valiosa contribuição e pelo tempo dedicado à leitura e à indicação da revista científica para a publicação do artigo derivado dos dados desta tese.

À minha irmã, Professora Doutora Danieli Isabel Romanovitch Ribas, manifesto meu agradecimento pelo conhecimento, experiência e apoio prestados no desenvolvimento desta pesquisa.

Aos meus amigos Douglas do Patrocínio, Cristyna Linhares, Nelson Wasch Junior e Pamela Kao, que possibilitaram e se dedicaram a este trabalho junto aos atletas, assim como a todos os acadêmicos que integraram a equipe de coleta de dados, deixo meu registro de apreço. Destaco também a valiosa ajuda e proatividade do Doutorando e amigo André Domingues Lass.

A todos os atletas que participaram das coletas de dados para a realização desta pesquisa, meu sincero reconhecimento.

Por último, mas não menos importante, à minha esposa maravilha, Priscila Fernandes, agradeço o apoio, a dedicação e a infinita paciência. Aos meus filhos, Gabriel Fernandes Ribas e Camila Fernandes Ribas, meus maiores motivadores para nunca desistir.

“O preço de qualquer coisa é a quantidade de
vida que você troca por isso”.
(Thoreau, 1854).

RESUMO

Apesar dos efeitos conhecidos dos polimorfismos *ACTN3 R577X*, *ACE I/D* e *CK MM A/G NcoI* nas proteínas musculares, seu impacto nas variáveis eletroquímicas, distúrbios ácido-base, composição corporal e desempenho em corredores de ultramaratona de montanha de 105 km ainda não é compreendido. Este estudo teve como objetivo investigar o impacto dos polimorfismos *ACTN3 R577X*, *ACE I/D* e *CK MM A/G NcoI* nas variáveis eletroquímicas, dos distúrbios ácido-básico, bem como nas mudanças nas variáveis antropométricas e no tempo de corrida de corredores de ultramaratona de montanha de 105 km, nos quais 22 atletas de elite brasileiros do sexo masculino ($35,9 \pm 6,5$ anos) foram avaliados. A composição corporal foi determinada por meio da bioimpedância no equipamento Maltron modelo BF – 906. As análises sanguíneas foram realizadas no equipamento GEM Premier 3000 Gasometry. A genotipagem dos polimorfismos *R577X* (RR, RX e XX), *ACE I/D* (DD, ID e II) e *CK MM A/G NcoI* (AA, AG e GG) foi realizada usando a técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR-RFLP) com DNA extraído da saliva. Os resultados revelaram uma menor perda de massa corporal total, IMC e massa isenta de gordura, associadas ao menor tempo de corrida (Rs 0,52; $p=0,01$; 0,53; $p=0,01$; 0,47; $p=0,02$ nesta ordem). Foram observadas diferenças de massa corporal total pré e pós-corrida em atletas com o genótipo AA vs. AG ($p = 0,02$; $p = 0,02$). O genótipo RR apresentou uma correlação entre o IMC e o tempo de corrida ($R = 0,97$; $p = 0,004$). O genótipo II mostrou uma correlação com % de gordura e massa de gordura em relação ao tempo de corrida ($R = 0,91$; $p = 0,003$; $R = 0,99$; $p < 0,0001$). Em relação ao Hct, o genótipo XX vs. RX evidenciou maiores valores pós-corrida ($p=0,03$). Em relação ao pH, o genótipo II vs. ID mostrou valores maiores pós-corrida ($p=0,02$). A PCO_2 apresentou valores menores para o genótipo II vs. ID no período pós-corrida ($p=0,01$). Conclui-se que os polimorfismos *ACTN3 R577X*, *ACE I/D* e *CK MM A/G NcoI* influenciam variáveis cruciais no desempenho de corredores de ultramaratona de 105 km na montanha.

Palavras - chave: polimorfismo; genética; performance atlética.

ABSTRACT

Despite the known effects of the *ACTN3 R577X*, *ACE I/D*, and *CK MM A/G NcoI* polymorphisms on muscle proteins, their impact on electrochemical variables, acid-base disturbances, body composition, and performance in 105 km mountain ultramarathon runners is not yet fully understood. This study aimed to investigate the influence of these polymorphisms on electrochemical variables, acid-base disturbances, anthropometric changes, and running time in 22 male Brazilian elite mountain ultramarathon runners (35.9 ± 6.5 years). Body composition was determined using bioimpedance with the Maltron BF-906 device, while blood analyses were performed on the GEM Premier 3000 Gasometry equipment. Genotyping for *R577X* (RR, RX, and XX), *ACE I/D* (DD, ID, and II), and *CK MM A/G NcoI* polymorphisms was performed via Polymerase Chain Reaction–Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP) using DNA extracted from saliva. Results indicated a lower total body mass loss, BMI, and fat-free mass associated with shorter running times (Rs 0.52; $p=0.01$; 0.53; $p=0.01$; 0.47; $p=0.02$, respectively). Pre- and post-race weight differences were observed in athletes with the AA genotype vs. AG genotype ($p = 0.02$; $p = 0.02$). The RR genotype exhibited a correlation between BMI and running time ($R = 0.97$; $p = 0.004$). Genotype II showed a correlation with % body fat and fat mass in relation to running time ($R = 0.91$; $p = 0.003$; $R = 0.99$; $p < 0.0001$). Regarding Hct, the XX genotype of *ACTN3 R577X* displayed higher post-race values compared to the RX genotype ($p=0.03$). In terms of pH, the II genotype of *ACE I/D* showed higher post-race values than the ID genotype ($p=0.02$). PCO_2 values were lower for the II genotype compared to the ID genotype post-race ($p=0.01$). In conclusion, the *ACTN3 R577X*, *ACE I/D*, and *CK MM A/G NcoI* polymorphisms have a significant impact on key performance-related variables in 105 km mountain ultramarathon runners.

Keywords: polymorphism; genetic; athletic performance; marathon.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Polimorfismo de nucleotídeo único	25
Figura 2 - Interpretação da gasometria sanguínea	32
Figura 3 - O equilíbrio ácido-base é mantido por mecanismos homeostáticos renais e respiratórios eficazes	35
Figura 4 - Localização da α -actinina no músculo esquelético	37
Figura 5 - Representação da localização e estrutura do gene da <i>ACTN3</i>	38
Figura 6 - Representação esquemática da localização e estrutura do gene da <i>ACE</i>	41
Figura 7 - Representação da localização e estrutura do gene da <i>CK MM</i>	44
Figura 8 - Locais de realização da pesquisa	50
Figura 9 - Resultados da análise do polimorfismo do gene <i>ACTN3 R577X</i>	56
Figura 10 - Resultados da análise do polimorfismo do gene <i>CK MM A/G NcoI</i>	57
Figura 11 - Resultados da análise do polimorfismo do gene <i>ACE (I/D)</i>	58
Figura 12 - Determinação visual da segunda reação em cadeia da polimerase (PCR) utilizando um primer de inserção específico para o alelo I.....	59
Quadro 1 - Valores de normalidade da gasometria arterial	32
Quadro 2 - Etapas de coletas	51
Quadro 3 - Iniciadores utilizados nas reações PCR para os polimorfismos dos genes <i>ACTN3; CK MM; ACE</i>	54
Quadro 4 - Indicador específico utilizado nas reações PCR para o polimorfismo do gene <i>ACE</i>	58
Quadro 5 - Análise, métodos estatísticos e justificativa de utilização.	61

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Variáveis antropométricas dos 22 atletas ultramaratonistas de 105 km na montanha.....	63
Tabela 2 – Correlação entre tempo de corrida e composição corporal para a amostra do estudo (n=22).....	64
Tabela 3 – Variáveis eletroquímicas e dos distúrbios acidobásicos dos 22 atletas ultramaratonista de 105 km na montanha.....	65
Tabela 4 – Correlação entre tempo de corrida e variáveis eletroquímicas e dos distúrbios ácidobásico para a amostra do estudo (n=22)	65
Tabela 5 – Análise comparativa da distribuição genotípica e alélica dos polimorfismos, <i>ACTN3 R577X</i> , <i>ACE I/D</i> e <i>CK MM A/G NcoI</i> dos 22 atletas ultramaratonistas de 105 km na montanha.....	67
Tabela 6 – Análise comparativa entre às variáveis de composição corporal pré e pós-corrida relacionadas aos genótipos do polimorfismo <i>ACTN3 R557X</i> na amostra do estudo (n=22).....	69
Tabela 7 – Análise comparativa entre às variáveis de composição corporal pré e pós-corrida relacionadas aos genótipos do polimorfismo <i>ACE I/D</i> e <i>CK MM A/G NcoI</i> para a amostra do estudo (n=22)	71
Tabela 8 – Relação entre as variáveis de composição corporal do genótipo <i>ACTN3 R577X</i> e tempo de corrida para a amostra do estudo (n=22).	72
Tabela 9 – Relação entre as variáveis de composição corporal do genótipo <i>ACE I/D</i> e tempo de corrida para a amostra do estudo (n=22).....	73
Tabela 10 – Relação entre as variáveis de composição corporal do genótipo <i>CK MM A/G NcoI</i> e tempo de corrida para a amostra do estudo (n=22)	73
Tabela 11 – Comparação do Tempo de Corrida entre Diferentes Genótipos dos polimorfismos <i>R577X</i> , <i>ID</i> e <i>NcoI</i> da amostra do estudo (n =22).....	74
Tabela 12 – Relação entre às variáveis bioquímicas pré e pós-corrida e os genótipos do polimorfismo <i>ACTN3 R557X</i> , para a amostra do estudo (n=22) ..	75
Tabela 13 –Relação entre às variáveis bioquímicas pré e pós-corrida e os genótipos dos polimorfismos <i>ACE I/D</i> e <i>CK MM NCoI</i> para a amostra estudada (n=22).....	77

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACE	Enzima conversora de angiotensina
ACTN2	Alfa actinina 2
ACTN3	Alfa actina 3
ATP	Adenosina Trifosfato
BE	Excesso de base
BIA	Bioimpedância
Ca ²⁺	Íons cálcio
CK – MM	Enzima creatina quinase MM
CK	Creatina quinase
CKB	Creatina quinase cerebral
CKM	Creatina quinase muscular
CNVs	Variantes de números de Cópias
CO ₂	Dióxido de carbono
DEXA	Densitometria óssea
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EAB	Equilíbrio acidobásico
ES	Tamanho do efeito
ESTT	Estatura total
H ⁺	Íons de hidrogênio
H ₂ CO ₃	Ácido Carbônico
H ₂ O	Água
HCO ₃ ⁻	Íon bicarbonato
Hct	Hematócritos
INDELS	Inserções ou deleções
K ⁺	Íons potássio
Lac ⁻	Lactato
MCT	Massa corporal total
MCT1	Monocarboxilatos 1
mEq/l	Miliequivalentes por litro
mg/dL	Miligramas por decilitro
mmHg	Milímetros de mercúrio

mmol/l	Milimol por litro
Na ⁺	Íons sódio
O ₂	Oxigênio
OBLA	Ponto de acúmulo de lactato
Pb	Pares de bases
pCO ₂	Pressão parcial do dióxido de carbono
PCR	Reação em cadeia de polimerase
% G	Percentual de gordura
pH	Potencial de Hidrogênio
pO ₂	Pressão parcial de oxigênio
RFLP-PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
RS	Correlação de Spearman
SNPs	Nucleotídeo único
µg/mL	Micrograma por mililitro
µL	Microlitros

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
1.1 Objetivos	15
1.1.1 Objetivo Geral	15
1.1.2 Objetivos Específicos	15
1.2 Justificativa	16
1.3 Problema	18
1.4 Hipóteses	18
1.5 Estrutura da Tese	18
2 REFERENCIAL TEÓRICO	20
2.1 Composição corporal de corredores de ultramaratona em montanha	20
2.2 Mutação e Polimorfismo: Qual é a diferença?	23
2.3 Atletas de elite de esportes de Endurance	25
2.4 Exigências fisiológicas decorrentes de corridas de ultramaratonas em montanhas	27
2.5 Perfil eletroquímico de competidores de provas de ultrarresistência	29
2.6 Índices de equilíbrio acidobásico em esportes de endurance	31
2.7 Alfa Actina 3 e o desempenho em esportes aeróbios	36
2.8 O Polimorfismo ID do gene ACE e o desempenho em esportes aeróbios	40
2.9 Polimorfismo do gene da <i>CK MM A/G NcoI</i> e desempenho em esportes aeróbios	42
2.10 Associação genética com a composição corporal	45
3 METODOLOGIA	48
3.1 Tipologia da Pesquisa	48
3.1.1 Comitê de Ética em Pesquisa	48
3.1.2 Fatores de Inclusão e Exclusão	48
3.1.2.1 Fatores de Inclusão	49
3.1.2.2 Fatores de Exclusão.....	49
3.2 Amostra	49
3.3 Locais da Realização da Pesquisa	50
3.4 Procedimentos	51
3.4.1 Desenho do Estudo	51
3.5 Divisão dos Grupos	51
3.6 Descrição dos Instrumentos de Pesquisa	51
3.6.1 Entrevista estruturada	51

3.6.2 Avaliação antropométrica	52
3.6.2.1 <u>Bioimpedância</u>	<u>52</u>
3.6.3 Coleta de Sangue.....	52
3.6.4 Coleta de saliva	53
3.6.4.1 <u>No local da coleta</u>	53
3.6.4.2 <u>No laboratório</u>	53
3.7 Extração do DNA.....	54
3.7.1 Genotipagem de alelos do Polimorfismo do gene ACTN3; CK MM; ECA	54
3.7.2 Genotipagem do polimorfismo <i>R577X</i> no gene <i>ACTN3</i>	55
3.7.3 Genotipagem do polimorfismo <i>CK MM A/G NcoI</i> do éxon 8 e íntron 7, do gene CK	56
3.7.4 Genotipagem do polimorfismo I/D do íntron 16 do gene <i>ACE</i>	57
3.8 Análise Estatística.....	59
4 RESULTADOS.....	63
5 DISCUSSÃO	78
6 CONCLUSÕES	89
6.1 Limitações da Pesquisa.....	90
6.2 Aplicação Prática da Pesquisa.....	91
6.3 Trabalhos Futuros	92
REFERÊNCIAS	94
APÊNDICE A – Questionário de Pesquisa	109
APÊNDICE B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	113
APÊNDICE C – Parecer Consubstanciado do CEP	116
APÊNDICE D – Carta de Autorização de Uso do Laboratório de Genética	120
APÊNDICE E – Termo de Autorização de Realização de Pesquisa Científica	123
APÊNDICE F – Artigo Publicado da Tese	124
APÊNDICE G – Metodologia para as coletas em campo	126

1 INTRODUÇÃO

Corridas de ultrarresistência em montanhas consistem em correr ou caminhar em trilhas irregulares, com acíves e declives e acúmulo de elevação, por distâncias superiores às maratonas tradicionais (42,195 km), com considerável ganho acumulativo de elevação (até 25.000 m) (Saugy *et al.*, 2013; Fornasiero *et al.*, 2018; Chiu *et al.*, 2019; Scheer *et al.*, 2020). Durante as provas, a sobrecarga no organismo do atleta acontece por meio da atividade prolongada de trabalhos musculares concêntricos, contra a gravidade, durante as subidas e trabalhos musculares excêntricos durante as descidas (Vernillo *et al.*, 2015; Chiu *et al.*, 2019).

Em decorrência das exigências fisiológicas e biomecânicas geradas pela ultramaratona em montanha, os atletas que competem nesse tipo de prova pertencem a um grupo seleto de atletas de elite (Ma *et al.*, 2013), que atingiram a excelência no desempenho físico humano (Guilherme *et al.*, 2018). Cabe enfatizar que o desempenho em desportos de resistência aeróbia está associado a um fenótipo influenciado por fatores, como características físicas, biomecânicas, fisiológicas, metabólicas, comportamentais, psicológicas, antropométricas e sociais (Guilherme *et al.*, 2018). Tais características podem estar relacionadas com a genética, e assim o desempenho desportivo pode ser definido como uma característica poligênica (Lippi *et al.*, 2010).

Percebe-se que diversos elementos podem afetar o desempenho em corredores de longa distância e, tratando-se da antropometria, essa, embora dependa da distância percorrida, é uma variável que pode contribuir para a melhora do desempenho do atleta (Knechtle e Rosemann, 2010). Nessa mesma linha, o estudo de Belli *et al.* (2016) observou que atletas em provas de 217 km, com maiores acúmulo de gordura corporal concentrados nos membros inferiores e na região abdominal, apresentaram um impacto negativo no desempenho dos atletas. Níveis mais baixos de gordura corporal ($\leq 12\%$) parecem proporcionar vantagens para uma corrida mais rápida (Chisthou *et al.*, 2021).

Sobre as alterações fisiológicas, as corridas de ultrarresistência desencadeiam várias adaptações no organismo dos competidores, como respostas ventilatórias, desregulações no equilíbrio ácido-base, mudanças nos níveis de eletrólitos, glicose e lactato. Estudo realizado por Waskiewicz *et al.* (2012) destacou

que essas provas extremamente desafiadoras também podem resultar em distúrbios ácido-base, evidenciados por variações nos valores de potássio plasmático, cálcio livre, pH, pO₂, pCO₂, HCO₃⁻ e excesso de base (BE), os quais podem impactar negativamente o desempenho dos atletas durante a competição, como observado em pesquisas anteriores (Hamilton *et al.*, 2017; Mueller *et al.*, 2013a; Brown *et al.*, 2006).

Tais ajuste fisiológicos levam à conclusão de que competir em eventos de ultrarresistência impõe uma complexa interação entre o sistema respiratório e metabólico, que desencadeia respostas cardiovasculares e respiratórias agudas para garantir o fornecimento adequado de oxigênio ao corpo, a fim de manter o desempenho atlético e a saúde do atleta (Waskiewicz *et al.*, 2012).

A respeito da genética no esporte, mais de 350 variações genéticas foram associadas ao desempenho físico dos atletas nos mais específicos esportes (Sarynski *et al.*, 2016). Dando destaque aos genes alfa actina-3 (*ACTN3*), enzima conversora de angiotensina (*ACE*) e enzima creatina quinase (*CK MM*) e seus polimorfismos *R577X*, *I/D*, *A/G NcoI* respectivamente. Esses genes e seus polimorfismos desempenham papéis significativos no entendimento do desempenho esportivo e suas implicações genéticas (Norman *et al.*, 2009; Jones *et al.*, 2002; Echegaray e Rivera, 1997a; Silva *et al.*, 2022; Pasqualetti *et al.*, 2022).

Além disso, esses genes são analisados para identificar atletas mais fortes, mais rápidos e mais resistentes, e altamente reativos e adaptáveis a diferentes estímulos de treino e competição (Lippi *et al.*, 2010; Tharabenjasin *et al.*, 2019; Végh *et al.*, 2022). Estudos realizados com atletas brasileiros (Belli *et al.* 2017; Ribas *et al.*, 2017); Ribas *et al.* (2020); Salgueirosa *et al.* (2017) e Oliveira *et al.* (2018)) mostraram o favorecimento genético da força e resistência dos atletas estudados. Outros estudos, (Bell *et al.*, 2012; Kim *et al.*, 2014; Wei, 2012) mostraram a influência genético sobre as variáveis da composição corporal.

No entanto, nenhum estudo avaliou a relação entre a presença de polimorfismos em genes moduladores da performance muscular e as variáveis eletroquímicas e dos distúrbios acidobásicos em atletas de ultramaratona de 105 km na montanha, bem como pesquisas que exploraram a composição corporal de corredores de ultramaratona de montanha, juntamente com a análise dos polimorfismos genéticos. No entanto, é conhecido que diferentes atletas podem apresentar concentrações variadas de elementos eletroquímicos, distúrbios ácido-

base e composição corporal, dependendo de fatores como sexo, nível de treino, modalidade desportiva e intensidade de esforço (Hinzpeter *et al.*, 2014).

Considerando a lacuna na literatura em estudos que envolvam atletas de alto rendimento e sua relação com as variáveis eletroquímicas dos distúrbios acidobásicos e composição corporal, especialmente em relação a genes associados ao desempenho físico, como *ACTN3*, *ACE* e *CK MM*, este estudo teve como objetivo investigar o impacto dos polimorfismos *ACTN3 R577X*, *ACE I/D* e *CK MM A/G NcoI* nas variáveis eletroquímicas, dos distúrbios acidobásico, bem como nas mudanças nas variáveis antropométricas e no tempo de corrida de corredores de ultramaratona de montanha de 105 km.

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo Geral

Investigar o impacto dos polimorfismos *ACTN3 R577X*, *ACE I/D* e *CK MM A/G NcoI* nas variáveis eletroquímicas, dos distúrbios acidobásicos, bem como nas mudanças na composição corporal e no tempo de corrida de corredores de ultramaratona de montanha de 105 km.

1.1.2 Objetivos Específicos

- Mensurar as variáveis antropométricas dos corredores brasileiros de ultramaratona de montanha de alto rendimento em prova de 105 km.
- Correlacionar os tempos de prova com as antropométricas dos corredores brasileiros de ultramaratona de montanha de alto rendimento em prova de 105 km.
- Correlacionar os tempos de prova com as variáveis eletroquímicas e dos distúrbios acidobásicos dos corredores brasileiros de ultramaratona de montanha de alto rendimento em prova de 105 km.
- Determinar a distribuição genotípica e alélica dos polimorfismos dos genes *ACTN3 R577X*, *ACE I/D* e *CK MM A/G NcoI* em corredores brasileiros de ultramaratona de montanha de alto rendimento em prova de 105 km.

- Relacionar os genótipos dos polimorfismos do gene *ACTN3 R577X*, *ACE I/D* e *CK MM A/G NcoI* com as variáveis antropométricas pré e pós-corrida, dos corredores brasileiros de ultramaratona de montanha de alto rendimento em prova de 105 km.
- Determinar a influência dos polimorfismos *ACTN3 R577X*, *ACE I/D* e *CK MM A/G NcoI* nas alterações das variáveis antropométricas e o tempo de corrida em corredores brasileiros de ultramaratona de montanha de alto rendimento em provas de 105 km.
- Relacionar os genótipos dos polimorfismos do gene *ACTN3 R577X*, *ACE I/D* e *CK MM A/G NcoI* com os tempos de prova, dos corredores brasileiros de ultramaratona de montanha de alto rendimento em prova de 105 km.
- Analisar as diferenças pré e pós-corrida nas variáveis eletroquímicas correlacionadas com o genótipo dos polimorfismos do gene *ACTN3 R577X*, *ACE I/D* e *CK MM A/G NcoI*, dos corredores brasileiros de ultramaratona de montanha de alto rendimento em prova de 105 km.

1.2 Justificativa

Um movimento mundial e crescente por exercícios ao ar livre, como as ultramaratonas de montanhas, vem ganhando a cada década mais adeptos (Rezende *et al.*, 2016). Tal modalidade é classificada como uma corrida de ultrarresistência. Ela é disputada em distâncias de 42,2 a 350 km, sobre trilhas irregulares na montanha, correndo ou andando, em condições ambientais adversas, como aclives e declives positivos e negativos, com inclinações entre 5% até 20% em altitudes de 3.000 m (Coiceiro e Costa, 2010; Saugy *et al.*, 2013; Fornasiero *et al.*, 2018; CHIU *et al.*, 2019; Scheer *et al.*, 2020).

Sabe-se que, nesse tipo de modalidade de corrida, os atletas ficam expostos aos mais diferentes agentes estressores (Millet e Millet, 2012). Cabe observar que, durante as provas, as sobrecargas dos exercícios prolongados acontecem em uma alternância de trabalhos concêntricos contra a força da gravidade durante as subidas e trabalhos excêntricos durante as descidas (Vernillo *et al.*, 2015).

Estudos de Saugy *et al.* (2013); Millet *et al.* (2011); Ramos-Campos *et al.* (2016); Vitiello *et al.* (2013); Zanchi *et al.* (2017) e Wuthrich *et al.* (2015), sinalizam para diferentes malefícios para a saúde geral do ultracorredores de montanha. Assim,

acredita-se que, para competir nesse tipo de provas, o atleta precisa estar muito preparado e pertencer a um grupo seleto de atletas de elite. Entende-se por atletas de elite, aqueles que, ao longo de suas carreiras esportivas, competem ou competiram em eventos nacionais ou internacionais (Ma *et al.*, 2013). Esse especializado grupo figura entre os poucos atletas que atingiram a excelência no desempenho físico humano. Tais indivíduos conseguiram associar o genótipo com o fenótipo (Guilherme *et al.*, 2018).

A respeito dos fatores genéticos, esses desempenham um papel fundamental no sucesso para o desempenho atlético e nos fenótipos relacionados, como potência, força, capacidade aeróbia, flexibilidade e coordenação (Ahmetov *et al.*, 2016). Em se tratando da genética no esporte, a literatura mostra uma relação de mais de 350 variações genéticas, associados ao desempenho físico de atleta nos mais específicos esportes (Sarzynski *et al.*, 2016).

Assim, vislumbra ser a genética no esporte, uma possibilidade para identificar os atletas mais fortes, velozes e resistentes, com a maior capacidade responsiva e adaptativa, aos diferentes estímulos de treinos, competições e com menores chances de se lesionarem (Lippi *et al.*, 2010). Embora exista uma influência genética considerável no desempenho dos atletas, os fatores ambientais também são importantes. Um atleta de elite é fruto de 50% das características genéticas herdadas e 50% fruto do seu ambiente (Yan *et al.*, 2016).

A respeito dos fatores ambientais, como treinamento Dias (2011), umidade relativa do ar, temperatura e qualidade do ar Zhou *et al.* (2019) e nutrição Panza *et al.* (2007) podem influenciar a performance esportiva. Porém, deve-se evidenciar que embora as adaptações morfofuncionais e fisiológicas ocorram devido aos estímulos ambientais, tais níveis de adaptações dependerão de fatores psicológicos como motivação, ansiedade, concentração e confiança (Souza *et al.*, 2013), mesmo que, para melhorar o desempenho, exista a necessidade das interações entre os múltiplos genes e, esses, por sua vez, modulados por múltiplas variantes genéticas (Dias, 2011).

No entanto, poucos estudos com corredores de ultramaratona (Belli *et al.*, 2017) lutadores brasileiros (Ribas *et al.*, 2017), jogadores de futebol profissional (Salgueirosa *et al.*, 2017), lutadores de artes marciais mistas (Oliveira *et al.*, 2018), no campo da genética do esporte foram realizados com atletas brasileiros de rendimento. Outros estudos (Bell *et al.*, 2012; Kim *et al.*, 2014; Wei, 2012) mostraram a influência

genética sobre as variáveis da composição corporal. Porém, nenhum estudo avaliou a relação entre a presença de polimorfismos em genes moduladores da performance muscular e as variáveis eletroquímicas e dos distúrbios acidobásicos em atletas de ultramaratona 105 km na montanha, bem como pesquisas que exploraram a composição corporal de corredores de ultramaratona de montanha, juntamente com a análise dos polimorfismos genéticos.

1.3 Problema

Qual é a relação entre os polimorfismos *R577X* no gene *ACTN3*, *ID* no gene *ACE* e *A/G NcoI* no gene *CK MM* e as variáveis eletroquímicas, dos distúrbios acidobásico, composição corporal e o tempo de corrida em atletas de elite que competem em provas de corrida de ultrarresistência de 105 km em montanhas?

1.4 Hipóteses

HO: Os polimorfismos *ACTN3 R577X*, *ACE I/D* e *CK MM A/G NcoI* dos genes *ACTN3*, *ACE* e *CK MM* podem não influenciar as variáveis eletroquímicas, dos distúrbios acidobásico, composição corporal e o tempo de corrida em atletas de elite que competem em corridas de ultrarresistência de 105 km na montanha.

H1: Os polimorfismos *ACTN3 R577X*, *ACE I/D* e *CK MM A/G NcoI* dos genes *ACTN3*, *ACE* e *CK MM* podem influenciar as variáveis eletroquímicas, dos distúrbios acidobásico, composição corporal e o tempo de corrida em atletas de elite que competem em corridas de ultrarresistência de 105 km na montanha.

1.5 Estrutura da Tese

Esta tese está organizada em seis capítulos. O primeiro apresenta a introdução ao estudo, onde se procura elucidar a relevância e as lacunas do assunto abordado, delimitando-o e apresentando o problema, as hipóteses e os objetivos que norteiam o estudo. No capítulo 2, faz-se uma revisão da literatura sobre a composição corporal de corredores de ultramaratona em montanha; diferença entre polimorfismo e mutação; atleta de elite de esportes de endurance; exigências fisiológicas decorrentes das corridas de ultramaratonas em montanhas. Ainda nesse capítulo, faz-

se um levantamento sobre o perfil eletroquímico de competidores de provas de ultrarresistência; dos índices de equilíbrio acidobásico em esportes de endurance; uma revisão a respeito do gene da alfa actinina 3, o seu polimorfismo *R577X* e o desempenho em esportes aeróbios; o polimorfismo ID do gene *ACE* e o desempenho em esportes aeróbios; o polimorfismo do gene da *CK MM A/G NcoI* e o desempenho em esportes aeróbios; e a associação genética com a composição corporal.

No capítulo 3, é descrita a metodologia proposta e as ferramentas utilizadas para a análise dos dados. No capítulo 4 relatam-se os resultados obtidos. Eles são apresentados na forma descritiva.

O capítulo 5, por sua vez, apresenta a discussão dos resultados, traçando um quadro comparativo dos resultados desta pesquisa com aspectos importantes de outras pesquisas realizadas neste campo. Por fim, o capítulo 6 apresenta as conclusões e sugestões para trabalhos futuros.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

Neste capítulo, são apresentadas as questões teóricas que embasam o estudo.

2.1 Composição corporal de corredores de ultramaratona em montanha

Pesquisas a respeito das características físicas dos corredores de ultramaratona são escassas. A maioria dos dados a respeito dessas características físicas são de mais de duas décadas atrás e realizadas com poucos atletas de elite, antes da popularidade das ultramaratonas em montanha (Hoffman, 2008). Vários fatores podem afetar o desempenho em corredores de longa distância e a antropometria que, embora dependa da distância percorrida, está relacionada ao desempenho (Knechtle e Rosemann, 2010).

Belli *et al.* (2016), ao analisar indicadores antropométricos associados à composição corporal de dez atletas brasileiros que competiram em uma prova de 217 km, mostraram uma perda de massa corporal total (MCT) da condição pré para o pós-corrida, porém a diminuição ocorreu nos primeiros 84 km da corrida e se mantiveram até os 217 km ($72,3 \pm 3,1$ kg; $69,5 \pm 3,0$ kg; $p = <0,0001$). Os pesquisadores, observaram que a variação percentual da MCT, representou em média -3,5% (-1,5 a -6,4%) em 84 km e -3,9% (-2,0 a -6,4%) em 217 km, e o atleta com maior redução foi o terceiro mais rápido entre os avaliados, e ficou entre os 10 primeiros da prova.

Ao investigar 219 corredores masculinos em uma prova de ultramaratona de 100 km, Knechtle *et al.* (2012) revelaram que os finalistas bem-sucedidos tinham pré-corrida $75,0 \pm 9,4$ kg e pós-corrida $73 \pm 1 \pm 9,3$ kg. Esses atletas perderam 1,9 kg de massa corporal ($p < 0,001$), 0,7 kg de massa muscular esquelética prevista ($p < 0,001$), 0,2 kg de massa gorda prevista ($p < 0,05$) e 0,9 L de água corporal total prevista ($p < 0,001$). Expresso em porcentagem, os atletas perderam 2,5 % de massa corporal.

A mudança na massa corporal total foi significativa e positivamente relacionada à mudança na massa magra esquelética prevista ($r = 0,21$, $p = 0,0017$) e à mudança na massa gorda prevista ($r = 0,41$, $p < 0,0001$). Além disso, a mudança na massa corporal foi significativa e negativamente relacionada à velocidade de corrida. As mudanças na massa gorda prevista, massa muscular esquelética prevista e água corporal total prevista não mostraram nenhuma associação com a velocidade de

corrida ($p > 0,05$). Portanto, a perda de massa corporal total deveu-se mais à perda de massa sólida do que à perda de fluido.

Em pesquisa realizada por Hoffman (2008), foram relatadas as características físicas de 392 (310 homens, 82 mulheres) que iniciaram a prova e dos 270 (216 homens, 54 mulheres) que finalizaram a 2007 *Western States Endurance Run*. O autor mostrou correlações negativas significativas entre massa corporal total e velocidade de corrida para homens e mulheres. Evidenciou-se que corredores mais leves tendem a correr mais rápido que corredores mais pesados, com 5% da variação na velocidade de corrida para os homens e 18% para as mulheres, sendo contabilizados pela massa corporal.

Em outro estudo, Hoffman *et al.* (2010) avaliaram as características antropométricas de 72 corredores iniciantes (17 mulheres, 55 homens) em uma prova de 161 km. O IMC para os homens foi de $24,8 \pm 2,7$ kg/m² (variação de 19,1-32,2) e, para as mulheres, de $21,2 \pm 2,1$ kg/m² (variação de 18,1-26,7). Entre os três corredores mais rápidos, os valores de IMC variaram de 22,1 a 23,4 para homens e 21,5 a 22,9 para mulheres. Os valores percentuais de gordura corporal para homens e mulheres foram de 17 ± 5 kg/m² (intervalo 5-35) e 21 ± 6 kg/m² (intervalo 10-29). Houve correlação positiva significativa ($r(2) = 0,23$; $p = 0,0025$) entre o percentual de gordura corporal e o tempo de término para os homens, mas não para as mulheres. Os valores percentuais de gordura corporal foram menores para os finalistas do que para os não finalistas para os homens ($p = 0,03$) e mulheres ($p = 0,04$).

Ao investigar 23 atletas em uma ultramaratona de 12 horas, e 33 atletas em uma maratona de 24 horas, Kao *et al.* (2008) mostrou que, nas corridas de 12 e 24 horas, que a massa corporal total/desidratação diminuiu acentuadamente nas 8 horas iniciais, com os decréscimos mais rápidos aparentes nas primeiras 4 horas. A variação média da massa corporal total relativa após a corrida de 12 horas foi de $-2,89 \pm 1,56\%$, variando de 0 a 6,5%. A variação média massa corporal total relativa após a corrida de 24 horas foi de $-5,05 \pm 2,28\%$, variando de -0,77% a -11,40%. Os pesquisadores, ainda mostraram que os corredores da corrida de 24 horas que tiveram maior perda de massa corporal total apresentaram melhor desempenho. Todos os corredores com perda de massa corporal total superior a 7% correram mais de 200 km nas 24 horas.

Sharwood *et al.* (2004) investigaram a perda de massa corporal total em triatletas que realizaram os dois primeiros triatlos oficiais sul-africanos de Ironman, realizados durante 2000 e 2001, mostrando uma fraca correlação inversa ($r = 0,23$; $p <$

0,0001; N = 736) entre a perda percentual de massa corporal durante a corrida e o tempo de corrida, de modo que os atletas que perderam mais massa corporal total completaram a corrida nos tempos mais curtos. Além disso, os indivíduos com as maiores alterações de massa corporal total perderam cerca de 6% do sua massa corporal total durante a corrida (intervalo de 5,0 a 10,7%). Parece que a manutenção da massa corporal total, não é crítica para o desempenho em eventos de resistência extrema (Kao *et al.*, 2008).

As diretrizes de hidratação encontradas na literatura científica, geralmente, aconselham que as perdas de massa corporal além de 2% devem ser evitadas durante o exercício. Todavia, Hoffman *et al.* (2018) demonstraram que essas diretrizes não são aplicáveis ao exercício prolongado de várias horas, em que a perda de massa corporal não reflete uma perda equivalente de água corporal, devido aos efeitos da mudança de massa corporal, do uso do substrato, liberação de água ligada ao glicogênio muscular e hepático e produção de água durante o metabolismo. Perdas de massa corporal total entre 1,9-5% parecem aconselháveis para manter o equilíbrio hídrico corporal e manter a euidratação durante ultramaratonas com duração aproximada de 25-30h.

Nessa linha, Mueller *et al.* (2013b) demonstraram que a perda de massa corporal total após um *Ironman* deveu-se a uma perda de 4,5% na massa gorda em kg e uma perda de 2,4% na massa corporal magra em kg, sendo a última atribuível a uma perda de glicogênio, como combustível para a produção de energia e a correspondente à perda de água corporal.

Referente ao IMC, Knechtle *et al.* (2012), em sua pesquisa, mostrou que os atletas possuíam um IMC de $23,4 \pm 2,2$ kg/m². Passaglia *et al.* (2013) avaliaram 20 corredores de uma ultramaratona de 24 h, em que o IMC desses atletas pré pós-corrida eram $26 \pm 2,6$ kg/m², $25,1 \pm 2,44$ kg/m² ($p < 0,001$). Em outro estudo, Hoffman (2008) revelou em sua investigação que nos 5 primeiros colocados, os valores médios de IMC foram de $23,2$ kg/m² (variação de $22,4$ a $24,7$ kg/m²) para os homens e de $19,8$ kg/m² (variação de $17,3$ a $21,1$ kg/m²) para as mulheres.

O estudo mostrou que a velocidade média de corrida e o IMC correlacionaram-se negativamente tanto para homens ($r(2) = 0,11$, $p < 0,0001$) quanto para mulheres ($r(2) = 0,10$, $p = 0,02$). A partir dessa análise, o pesquisador concluiu que atletas que participam de ultramaratonas podem variar muito em características físicas com valores de IMC que classificariam alguns indivíduos como abaixo da massa corporal

total e outros como sobrepeso. O IMC variou consideravelmente mesmo entre os primeiros colocados, mas valores mais baixos de IMC foram associados a tempos de corrida mais rápidos.

A respeito da massa magra, Beli *et al.* (2015), ao analisar indicadores antropométricos associados à composição corporal de dez atletas com média de idade de $42,8 \pm 3,5$ anos; estatura de $171,4 \pm 1,9$ cm; massa corporal de $70,7 \pm 3,1$ kg e 15 ± 3 anos de treino de corrida, durante a prova, verificaram possíveis relações com o desempenho de atletas em uma ultramaratona de 217 km. O estudo mostrou que a massa magra diminui nos primeiros 84 km da corrida e se mantém até os 217 km ($62,4 \pm 2,2$ kg – $60,5 \pm 1,8$ kg; $p = 0,02$). Os pesquisadores concluíram que maiores depósitos de gordura corporal concentrados nos membros inferiores e na região abdominal podem ter um impacto negativo no desempenho dos atletas em ultramaratona de 217 km.

Na investigação de Knechtle *et al.* (2012), com atletas de ultramaratona de 100 km, foi encontrado uma massa gorda pré-corrida de $8,8 \pm 4,7$ kg e pós-corrida de $8,6 \pm 4,2$ kg, mostrando uma perda relativa de 1,4% da massa gorda. Em outro estudo, Passaglia *et al.* (2013), mostrou que o percentual de gordura dos atletas pré e pós-corrida foi de $8,95 \pm 4,66\%$ e $6,61 \pm 4,22\%$ nessa ordem. Sobre o percentual de gordura, baixas quantidades de gordura corporal (13%-17%) parecem ser vantajosas para os corredores correrem mais rápido (Barandun *et al.*, 2012).

Ao considerar esses resultados em conjunto, eles sugerem que essas características corporais podem ser valiosas para ultramaratonistas que se deslocam em terrenos acidentados, como estradas de terra, bem como para fornecer-lhes uma importante substrato de energia para corridas mais longas (Beli *et al.*, 2015).

2.2 Mutação e Polimorfismo: Qual é a diferença?

O DNA atua como o principal centro de comando, determinando todos os processos ou respostas celulares, sejam aqueles associados à fisiologia celular normal ou associados a diversas condições fisiopatológicas. Ele é responsável por todo o fenótipo conhecido e expresso, incluindo a cor do cabelo, pele e olhos, vulnerabilidade a várias doenças, resposta a várias drogas e resposta imune a vários patógenos e vacinas (Sameer *et al.*, 2021).

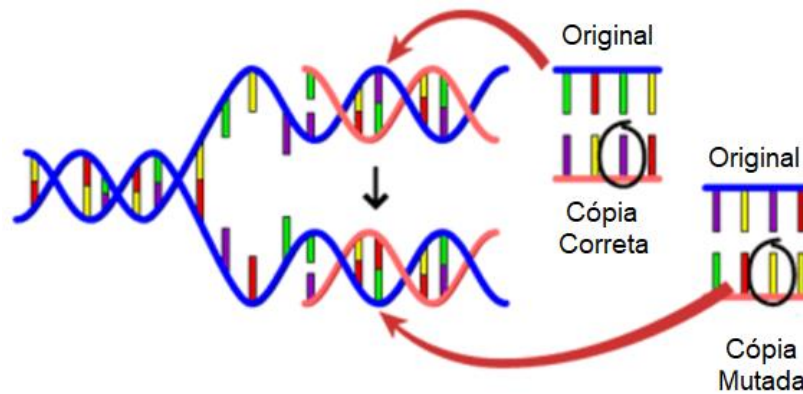
O Projeto do Genoma Humano estabeleceu que o DNA humano contém 100.000 genes e, cerca de 3 bilhões de pares de bases, que estão presentes em todas as células humanas (Lander *et al.*, 2001). A respeito do genoma humano, exibe uma variação dinâmica entre diferentes indivíduos e entre diferentes populações geográficas e ou étnicas raciais. No entanto, essa variação genética é responsável por apenas 0,1-0,4% do DNA genômico total (Kaki *et al.*, 2015). Essas variações genéticas são geralmente descritas em termos de mutação e polimorfismo genético (Sameer *et al.*, 2021).

O polimorfismo apresenta quatro tipos diferentes de variações genéticas e incluem polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs), variantes de número de cópias (CNVs), inserções ou deleções (INDELs) e variantes estruturais (Srinivasan *et al.*, 2016). De todas as variações genéticas presentes no genoma humano, o polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) representa o tipo mais comum de variação de sequência, sendo responsável por mais de 90% de todas as variações genética humana (ORR e CHANOCK, 2008) (Figura 1). Por definição, entende-se o polimorfismo como a presença de duas ou mais formas alternativas de um alelo no genoma de qualquer indivíduo, o que resulta em fenótipos indistintos na mesma população (Singh e Kulathinal, 2013).

Em complemento, o polimorfismo representa uma mutação neutra ou inofensiva presente em uma população com uma frequência de 1% ou mais (Karki *et al.*, 2015). Pensando no desempenho esportivo, tais alterações podem promover vantagens em esportes orientados para força e potência muscular ou resistência aeróbia (Woellner *et al.*, 2016).

A respeito da Mutação (mudanças), são os eventos básicos, responsáveis pela geração de quase todas as variações genéticas. Em sua definição a mutação é definida como a variação irreversível da sequência no DNA que engloba essencialmente todos os tipos de variações que ocorrem no genoma humano de forma espontânea ou não (Den Dunnen e Antonarakis, 2000). Uma mutação geralmente representa uma rara alteração na sequência do gene, variações presentes em uma população com uma frequência de <1%, que se manifesta no atributo causador de doenças (Karki *et al.*, 2015).

Figura 1 - Polimorfismo de nucleotídeo único



Fonte: (www.ib.usp.br)

2.3 Atletas de elite de esportes de Endurance

Atletas de elite são os que ao longo de suas carreiras esportivas competem ou competiram em eventos nacionais ou internacionais, independente do esporte praticado (Ma *et al.*, 2013). Esse grupo seletivo figura entre os poucos atletas que atingiram a excelência no desempenho físico humano. Para se atingir tal status, é necessário realizar interações ambientais, biomecânicas e fisiológicas complexas que incluam associações genótipo-fenótipo (Guilherme *et al.*, 2018).

As associações genótipo-fenótipo consideram que os fatores genéticos desempenham um papel fundamental no sucesso para o desempenho atlético e nos fenótipos relacionados, como potência, força, capacidade aeróbia, flexibilidade e coordenação (Ahmetov *et al.*, 2016). As primeiras tentativas documentadas para identificar marcadores genéticos para o desempenho esportivo datam dos Jogos Olímpicos de 1968, no México e de 1976 em Montreal e, foram baseadas em marcadores genéticos sanguíneos comuns (Rankinen *et al.*, 2016).

Em se tratando da genética no esporte, a literatura mostra uma relação de mais de 350 variações genéticas, associadas ao desempenho físico de atleta nos mais específicos esportes (Sarzynski *et al.*, 2016). Tal condição vislumbra ser a genética no esporte uma possibilidade para identificar os atletas mais fortes, velozes e resistentes, com a maior capacidade responsiva e adaptativa aos diferentes estímulos de treinos, competições e com menores chances de lesionarem (Lippi *et al.*, 2010).

Estudos de associação comparando atletas de elite com controles sedentários relataram uma série de genes que podem estar relacionados ao status de atleta, sugerindo que os fatores hereditários influenciam em média 66% na variância do

estado atlético (De Moor *et al.*, 2007). Embora exista uma influência genética considerável, os fatores ambientais também são importantes. Um atleta de elite é fruto de 50% das características genéticas herdadas e 50% fruto do seu ambiente (Yan *et al.*, 2016).

No entanto, é amplamente reconhecido que existem muitos genes envolvidos nos fenótipos do desempenho físico e, portanto, é oportuno que as pesquisas genéticas testem múltiplos genes simultaneamente (Pitsiladis *et al.*, 2013). Em relação ao desempenho físico, os genótipos *I/D* da *ACE* foram associados a uma ampla gama de fenótipos. Atletas de endurance têm sido associados com o genótipo *ACE II*. Esse genótipo mostra melhorias na economia de corrida e capacidade de sustentar ritmo submáximo com menor consumo de oxigênio. Além disso, o alelo *I* associa-se aos ganhos de resistência muscular decorrentes do treinamento, o que pode estar relacionado à maior preponderância de fibras musculares do tipo *I* (contração lenta) (Montgomery *et al.*, 1998). Corredores portadores do genótipo *II* possuem uma melhor função cardiovascular, o que favorece a prática de esportes aeróbios de longa duração (Muniesa *et al.*, 2010).

Em relação ao polimorfismo *ACTN3 R577X*, Pasqua *et al.* (2016) mostraram uma vantagem para o genótipo *RX*, para a economia de corrida mais eficiente em comparação aos corredores com genótipo *XX* ou *RR*. Os autores concluem, em sua pesquisa, que o genótipo *RX* para corredores seria um padrão ouro, pois teriam resistência e força muscular, importantes características para conseguirem êxito em esportes de endurance.

Outro gene candidato a modular o desempenho humano e o gene *CK – MM* e seu polimorfismo *CK MM A/G NcoI*. Tal gene pode ter efeitos positivos no consumo de $VO_2Máx$, auxiliando em esportes de endurance e regulando o pH devido ao consumo de próton para se ligar com a creatina fosfato, situação que diminui as concentrações de H^+ dentro da célula muscular (Dias *et al.*, 2007). A respeito do polimorfismo *CK MM A/G NcoI*, o alelo *A* está associado com um melhor desempenho em provas de resistência, e o alelo *G*, a um melhor desempenho em esportes de força e potência muscular (Heled *et al.*, 2007; Zhou *et al.*, 2006).

Todavia, esses efeitos devem ser validados em outras coortes independentes. Nessa linha, na população brasileira torna-se interessante de se investigar os polimorfismos relacionados ao desempenho, uma vez que sua composição resulta do cruzamento de três continentes europeus, africanos e ameríndios brasileiros (Kehdy

et al., 2015). Ademais, a influência polimórfica de determinados genes pode diferenciar entres as diferentes populações (Eynon *et al.*, 2011).

2.4 Exigências fisiológicas decorrentes de corridas de ultramaratonas em montanhas

A condição mais expressiva para a humanidade continuar a sua existência ao longo dos anos foi o ato de correr. Executada de maneira rápida, nos mais diferentes terrenos, para realizar as mais diferentes atribuições (Mei Dan e Carmont, 2013). Com os avanços tecnológicos e o aumento das atividades sedentárias, à habilidade de correr foi sendo deixada de lado pela sociedade. Porém, observa-se um movimento mundial e crescente na população por exercício físico ao ar livre, como, por exemplo, as ultramaratonas de montanhas (Rezende *et al.*, 2016).

A respeito de tal modalidade, essa é oriunda do atletismo, e classificada pelos especialistas como uma corrida de ultrarresistência. Provas em montanha são disputadas em diferentes distâncias de 42,2 a 350 km, em percursos sobre trilhas irregulares na montanha. Os atletas correm ou andam em adversas condições ambientais, como aclives e declives positivos e negativos, com inclinação entre 5% até 20% em altitudes de 3.000m. Cabe enfatizar que, em competições mais extremas, existe a possibilidade de atingir ganhos acumulativos de elevação de aproximadamente 25.000m (Coiceiro e Costa, 2010; Saugy *et al.*, 2013; Fornasiero *et al.*, 2018).

Dadas as particularidades desses tipos de modalidade esportiva, os atletas, no desenvolvimento de suas provas, expõem-se aos mais diferentes agentes estressores, sejam eles internos ou externos aos seus organismos, hora variações de temperaturas e altitudes, hora sobrecargas de exercícios extenuantes (Millet e Millet, 2012). Sobrecargas de exercícios durante as provas são resultantes de uma alternância nos trabalhos prolongados, que hora são concêntricos contra a força da gravidade durante as subidas e hora são excêntricos durante as decidas (Vernillo *et al.*, 2015).

Devido ao nível metabólico e fisiológico exigido dos atletas para completar esse tipo de prova de corridas, pesquisas têm encontrado diferentes malefícios para a saúde geral dos competidores de montanha, como lesões musculares e fadigas neuromusculares (Saugy *et al.*, 2013; Millet *et al.*, 2011; Ramos-Campos *et al.*, 2016);

danos no miocárdio e disfunções cardíacas (Vitiello *et al.*, 2013); desidratações severas com alterações no balanço hídrico cerebral (Zanchi *et al.*, 2017) e comprometimento das funções pulmonares (Wuthrich *et al.*, 2015).

Sobre o comportamento fisiológico dos sistema cardiovascular e respiratório, Clemente-Suarez (2015) e Ramos-Campo *et al.* (2016), em provas de 54 km, com tempo de duração de 14h e 7 h respectivamente, observaram que a intensidade da frequência cardíaca varia entre 64% até 82% da FC máx. Em outra investigação, Fornasiero *et al.* (2018), ao monitorarem os atletas em uma prova de 65 km, mostraram que os competidores realizam a prova em uma intensidade abaixo do primeiro limiar ventilatório, uma zona tolerável para que se possa completar a prova em 10h.

Quanto ao perfil bioquímico, após provas de ultrarresistência na distância de 54 km, Ramos-Campos *et al.* (2016) verificaram aumento das plaquetas, glóbulos brancos e troponina I de 23,7%, 180,6% e 49% nessa ordem, demonstrando um processo inflamatório e isquemia temporária. Em uma prova de 200 km ao nível do mar, Kim *et al.* (2007) encontraram aumentos pré e pós-prova para creatinafosfoquinase de 90 vezes, para a lactatodesidrogenase de 3,7 vezes, aspartato aminotransferase de 15 vezes e a alanina aminotransferase de 3,9 vezes. Tais respostas bioquímicas transitórias seguem um padrão conforme a distância e a intensidade realizada. Quanto mais vigorosos os exercícios físicos, maiores serão as respostas bioquímicas (Bird *et al.*, 2014).

Logo, controlar o ritmo da corrida torna-se de fundamental importância. Corredores de montanha estão mais suscetíveis a episódios de fadiga precoces. Em particular, a fadiga em competições de longa duração na montanha podem ocorrer devido às condições climáticas (Nebot *et al.*, 2015). Essas, aliadas ao exercício prolongado, convergem para desidratação (Costa *et al.*, 2014) que, por sua vez, dificulta a termorregulação, culminando em riscos para a saúde e diminuição do desempenho do atleta (Silva *et al.*, 2011).

Em complemento, um processo de desenvolvimento da desidratação fica mais prevalente em climas quentes e úmidos, pois a maior vasodilatação cutânea transfere grande parte do fluxo sanguíneo para a periferia, em vez da musculatura esquelética, ocasionando importantes reduções da pressão arterial, do retorno venoso e do débito cardíaco (Hernandez e Nahas, 2009).

O desempenho físico aeróbio do atleta diminui com a desidratação, devido as alterações cardiovasculares agudas, como a diminuição do volume de ejeção ventricular e o aumento da frequência cardíaca comprometerem as vias de fornecimento de energia dependentes de oxigênio. Essa situação altera a produção de adenosina trifosfato (ATP), para uma via anaeróbia para tentar manter o padrão de contração muscular. Essa condição aumenta a acidose metabólica, interferindo no padrão da ação muscular, conduzindo a uma fadiga periférica e central para que ocorra a interrupção do exercício físico (Proia *et al.*, 2016).

Sobre a fadiga, essa é entendida como um processo multifatorial, que tem início com o aumento da intensidade do exercício e o predomínio da via glicolítica do fornecimento de energia. Esse processo faz com que os níveis de íons de hidrogênio (H^+) aumentem e, por sua vez, o pH dentro da célula diminua, retardando a glicólise, interferindo na liberação de cálcio do retículo endoplasmático e na ligação de íons cálcio (Allen *et al.*, 2008; Mero *et al.*, 2013). Em linhas gerais, a fadiga é entendida como a incapacidade do músculo de manter um padrão de ação muscular, ocasionado pela queda no pH e aumento exponencial do H^+ , oriundas da atividade do sistema glicolítico para gerar ATP (Allen *et al.*, 2008). Os mecanismos de tamponamento do organismo, bicarbonato e hemoglobina tornam-se ineficientes e o processo de fadiga é instaurado (McNaughton *et al.*, 1997).

2.5 Perfil eletroquímico de competidores de provas de ultrarresistência

Competir em eventos de ultrarresistência impõe um estresse metabólico severo e provoca respostas cardiorrespiratórias agudas, para garantir o fornecimento adequado de oxigênio ao corpo (Waskiewicz *et al.*, 2012). A respeito dos efeitos maléficos gerados à saúde pelas corridas de longas distâncias, estudos revelaram enrijecimento da parede das artérias (O'Keefe *et al.*, 2012), fibrilação atrial (Mascia *et al.*, 2013), danos musculares e reações inflamatórias sistêmicas aos seus praticantes (Klapcińska *et al.*, 2013).

Corridas de ultrarresistência provocam respostas ventilatórias, mudanças no equilíbrio acidobásico, nos níveis de eletrólitos, glicose e lactato nos competidores desse tipo de prova (Waskiewicz *et al.*, 2012). Sobre os eletrólitos, ao pesquisar sete corredores poloneses do sexo masculino durante uma prova de 48 horas em uma pista oval plana, Klapcińska *et al.* (2013) mostraram a diminuição progressiva do sódio

sanguíneo (Na^+) durante a prova, caindo transitoriamente abaixo da faixa normal apenas em dois corredores. Ainda no estudo, foi diagnosticado hipercalemia em um número crescente de participantes ao longo da realização da prova, uma situação que revelou que o potássio (K^+) teve correlação positiva com a distância da prova ($R=0,52$ $p<0,01$) e com a velocidade real de corrida ($R=0,55$ $p <0,05$).

O estudo também apresentou um decréscimo progressivo no nível de cálcio (Ca^{2+}) durante a corrida, que se correlacionou com a distância total percorrida ($R= -0,47$ $p<0,05$), mas apenas um corredor experimentou uma hipocalcemia limítrofe ($\text{Ca}^{2+} =1,12$ mmol/L) no final da competição, que se dissolveu durante as próximas 24 horas. Quanto aos níveis de glicose e lactato, esses não apresentaram mudanças consideráveis durante todo o período de observação.

No estudo de Knechtle *et al.* (2012), foram investigados 219 corredores de ultramaratona na distância de 100 km. Os autores mostraram um comportamento para o Na^+ de $137,7\pm 2,3$ mmol/L e $138,6\pm 2,7$ mmol/L na condição pré e pós-corrida nessa ordem ($p<0,05$). Os hematócritos (Hct) diminuíram da condição pré e pós-corrida ($p<0,001$), 45,1% e 43,9% nessa ordem. Quedas nos Hct demonstram um quadro clínico de anemia esportiva transitória. O quadro clínico acontece devido à destruição gerada em eritrócitos mais velhos (Yusof *et al.*, 2007). Essa anemia acontece por dois motivos, hemólise devido à trauma mecânico e lesões oxidativas dos eritrócitos (Wu *et al.*, 2004).

Distúrbios associados ao exercício na concentração plasmática de Na^+ são associados a distúrbios do balanço hídrico. O sódio é o principal cátion do líquido extracelular, que impulsiona a tonicidade do plasma e as alterações associadas no tamanho celular (Hew-Butler *et al.*, 2015). Quedas nos níveis plasmáticos de $\text{Na}^+ < 135$ mmol/L é um distúrbio eletrolítico intitulado hiponatremia (Hew-Butler *et al.*, 2015). No entanto, o aumento nas concentrações de $\text{Na}^+ > 145$ mmol/L é um quadro conhecido como hipernatremia (Lee *et al.*, 2004).

Em investigação realizada por Lebus *et al.* (2010), com 45 corredores de ultramaratona de 161 km, os pesquisadores mostraram que a hiponatremia ocorreu em mais da metade dos finalistas 51,2%. Cairns e Hew-Butler (2016) avaliaram 15 atletas em prova de 104 km e verificaram que 67% dos ultracorredores apresentaram hiponatremia. Menos comuns são os desequilíbrios associados ao exercício com as concentrações plasmática do potássio K^+ . Esse é o principal cátion do líquido intracelular. Quedas $< 3,5$ mmol/L de K^+ plasmático desenvolvem quadro de

hipocalemia, uma situação comum após exercícios de resistência prolongada. Porém, hipercalemia acontece quando o K^+ sanguíneo está $> 5,0\text{mmol/L}$, uma condição observada após exercício gerador de alta lesão do músculo esquelético (Viera e Wouk, 2015). Desequilíbrios no plasma K^+ resultam em câibras e arritmias cardíacas (Rigato *et al.*, 2010; Ringer e Pulfrey, 2014).

Sobre o lactato (Lac^-), a literatura tem apontado que as corridas acontecem abaixo do ponto de acúmulo de lactato (OBLA) ($4,0\text{ mmol}$) (Ramos-Campos *et al.*, 2016). Diferentes pesquisas (Clemente-Suárez, 2011; Jastrzebski *et al.*, 2015; Clemente-Suárez, 2015) realizados com ultracorredores de montanha apresentaram valores para o lactato sanguíneo de $2,8 \pm 0,3\text{ mmol/L}$. Percebe-se que tal modalidade de corrida não permite que os seus participantes imponham um ritmo muito forte durante a prova, fazendo com que essas provas sejam sustentadas pelo metabolismo aeróbio, fato que não permite que os níveis de lactato aumentem exponencialmente (Clemente-Suárez, 2015).

2.6 Índices de equilíbrio acidobásico em esportes de endurance

Manter o equilíbrio acidobásico (EAB) em normalidade é necessário para que o pH^1 celular mantenha-se em níveis compatíveis com a vida dentro das células. Assim, ao avaliar a condição acidobásica do sangue, fornece-se um perfil da função respiratória e da perfusão do O_2 tecidual (Évora e Garcia, 2008). A respeito dos distúrbios acidobásicos, esses são problemas que envolvem processos metabólicos e ou respiratórios (Hamilton *et al.*, 2017).

A abordagem fisiológica dos distúrbios acidobásicos considera o pH sanguíneo determinado pelos níveis predominantes de ácido carbônico (pCO_2 , o componente respiratório) e a concentração plasmática de bicarbonato (HCO_3^- , o componente metabólico), conforme estipulado por Henderson. Os quatro distúrbios acidobásicos incluem os distúrbios respiratórios (acidose e alcalose) e, os distúrbios metabólicos (acidose e alcalose). Enquanto os distúrbios respiratórios são expressos como alterações primárias na pCO_2 , os distúrbios metabólicos são expressos como alterações primárias no plasma HCO_3^- (Adrogué e Madias, 2010).

¹ Entende-se por pH a medida das concentrações de H^+ (Berend *et al.*, 2014).

Em termos fisiológicos, o distúrbio acidobásico pode ser interpretado por meio dos valores de $p\text{CO}_2$, HCO_3^- e excesso de base (BE) (Hamilton *et al.*, 2017). Em relação a $p\text{CO}_2$, quando essa é superior a 45 mmHg, existe uma ineficiência respiratória e queda do pH tornando o meio celular ácido (Mueller *et al.*, 2013a). No entanto, quando a $p\text{CO}_2$ está abaixo de 35 mmHg, acontece hiperventilação e o pH aumenta, estabelecendo um processo de alcalose (Brown *et al.*, 2006). Um BE ou HCO_3^- a um valor de -2 mEq/L e <22 mEq/L, nessa ordem, mostra que o pH está ácido. Um aumento no BE e HCO_3^- superior a 2 mEq/L, e 22 mEq/L, respectivamente, indica que o pH dentro da célula está alcalino (Sánchez *et al.*, 2015).

Cabe enfatizar que uma redução induzida pela atividade do pH intracelular, limita o exercício, porque inibe a glicogenólise e a glicólise (Hollidge-Horvat *et al.*, 2000), aumenta a liberação muscular de K^+ (Évora e Garcia, 2008) e inibe a liberação sarcoplasmática de Ca^{2+} (Lannergren *et al.*, 1991). Além disso, induz uma acidose metabólica que pode prejudicar a função muscular e comprometer o desempenho (Andrade Junior *et al.*, 2014).

Sobre o diagnóstico das alterações do EAB, ele é feito pela análise dos valores obtidos pela gasometria sanguínea. No (Quadro 1), são apresentados os parâmetros dos valores normais da gasometria arterial e venosa (Furoni *et al.*, 2010).

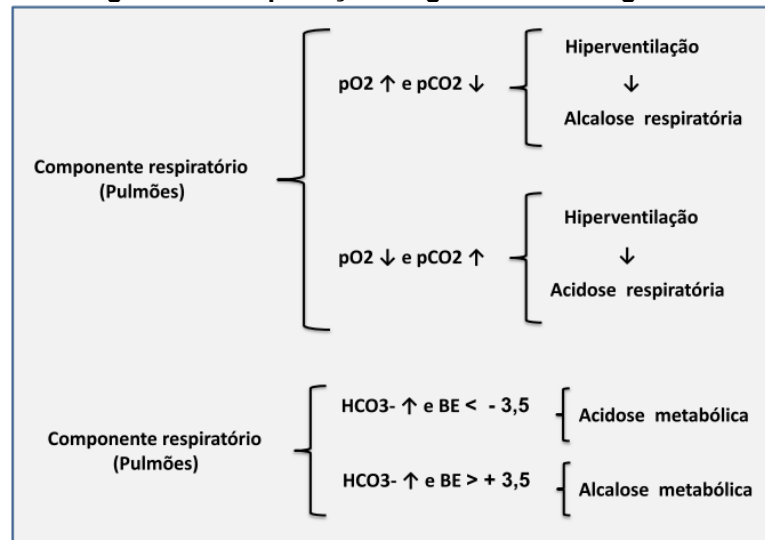
Quadro 1 - Valores de normalidade da gasometria arterial

Parâmetros	Arterial	Venoso
pH	7,35 – 7,45	0,05 unidade menor
$p\text{O}_2$	80 – 100 mmHg	50% menor
$p\text{CO}_2$	35 – 45 mmHg	6 mmHg maior
HCO_3^-	21 – 28 mmol/L	21 – 28 mmol/L
BE	-2 a + 3 mEq/L	-3,9 a + 1,0 mEq/L
Saturação O_2	93,5 – 98,1%	65 – 85%

Fonte: Riella apud Furoni *et al.* (p. 5, 2010)

Entende-se que a manutenção do pH é fundamental para a continuidade de processos fisiológicos, como a síntese de proteínas, o metabolismo intermediário da glicose, o crescimento e a reprodução celular (Seifter e Chang, 2017). Desta maneira, saber interpretar a gasometria sanguínea (Figura 2) é de sua importância para os profissionais da saúde (Évora *et al.*, 1999).

Figura 2 - Interpretação da gasometria sanguínea



Fonte: Évora *et al.* (p. 304, 1999)

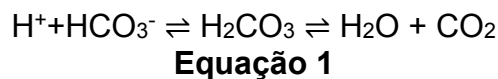
A capacidade de ler de maneira rápida e eficiente uma gasometria sanguínea, especialmente em referência à medicina de pacientes internados, é fundamental para a qualidade do atendimento ao paciente (Hopkins e Sharma, 2019).

1. Olhe o pH.
2. Decida se é ácido, alcalino ou dentro da faixa fisiológica.
3. O nível de pCO_2 determina a contribuição respiratória; um nível alto significa que o sistema respiratório está diminuindo o pH e vice-versa.
4. O nível de HCO_3^- denota efeito metabólico/renal. Um HCO_3^- elevado aumenta o pH e vice-versa.
5. Se o pH é ácido, procure o número que corresponde a um pH mais baixo. Se for uma acidose respiratória, o CO_2 deve ser alto. Se o indivíduo está compensando metabolicamente, o HCO_3^- também deve ser alto. Uma acidose metabólica será descrita por baixos valores de HCO_3^- .
6. Se o pH for alcalino, determine novamente qual valor está causando isso. Uma alcalose respiratória significará que o CO_2 é baixo; uma alcalose metabólica deve emprestar um alto teor de HCO_3^- . Compensação com qualquer um dos sistemas será refletida de forma oposta; para uma alcalose respiratória, a resposta metabólica deve ser baixa em HCO_3^- e, para alcalose metabólica, a resposta respiratória deve ser alta em CO_2 .
7. Se o nível de pH estiver na faixa fisiológica, mas a pCO_2 e / ou HCO_3^- não estiverem dentro dos limites normais, provavelmente haverá um distúrbio misto. Além disso, a

compensação nem sempre ocorre; isto é, quando a informação clínica se torna primordial.

Nesta linha, para manter o pH em condição de neutralidade, o organismo humano utiliza-se dos chamados sistemas-tampões (Évora e Garcia, 2008). Existem muitos sistemas tampões diferentes no corpo, porém o mais importante para entender a maioria das desordens acidobásicas é o sistema do bicarbonato extracelular. Formado pelo íon bicarbonato HCO_3^- , que se combina com o íon hidrogênio (H^+), gerando o ácido carbônico (H_2CO_3), que por sua vez se dissocia na água (H_2O) e no CO_2 (Hamilton *et al.*, 2017; Fores-Novales *et al.*, 2016). A equação geral para representar o sistema compreende um ácido fraco, o H_2CO_3 , e sua base conjugada, o HCO_3^- , que existem em um equilíbrio dinâmico, conforme Equação 1 (Hamilton *et al.*, 2017).

Equação 1 - Equação Geral do sistema tampão



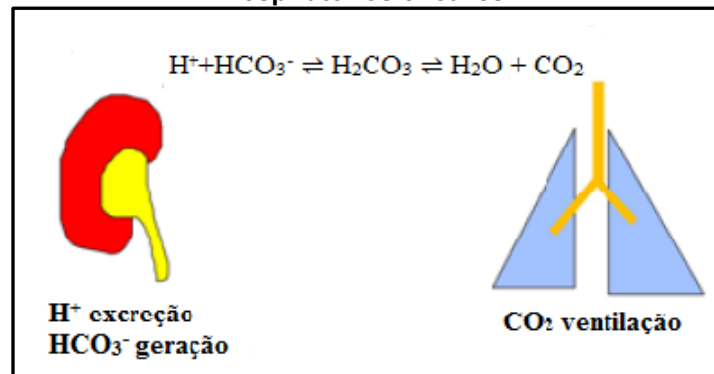
Fonte: Hamilton *et al.* (2017).

No sistema isohídrico do HCO_3^- , os ácidos doam, e as bases recebem H^+ , minimizando alterações no pH. Esse sistema tampão tem por objetivo deslocar a reação para maior produção de CO_2 e H_2O , que podem ser eliminados pela respiração (Furoni *et al.*, 2010). Desta forma, alterações na pressão parcial do dióxido de carbono (pCO_2) causam uma resposta secundária “adaptativa” na concentração de HCO_3^- e vice-versa; outras mudanças no CO_2 ou HCO_3^- refletem mudanças adicionais no estado acidobásico (Berend *et al.*, 2014).

A respeito do H^+ , suas concentrações normais no plasma são de 36-43 mmol/l e, monitorar estes valores torna-se importante devido ao poderoso efeito que esses íons têm sobre a função celular (Fores-Novales *et al.*, 2016) Em uma pessoa saudável, o pH do sangue varia dentro de uma margem muito estreitas de $7,40 \pm 0,02$ (Fores-Novales *et al.*, 2016). Manter o pH em valores normais, não permitindo quedas abruptas é função dos tampões, para evitar desequilíbrios nas funções celulares (Maughan, Shirreffs e Leiper, 2007). Logo, com um aumento na concentração de íons de hidrogênio, esperava-se que o ambiente celular ficasse mais ácido. No entanto, o sistema resiste a essa mudança, porque o excesso H^+ consome HCO_3^- , e qualquer

alteração na acidez é minimizada. Desta maneira, esse processo requer um suprimento adequado de HCO_3^- , fornecido pelos rins, órgãos vitais no equilíbrio acidobásico, pois ambos podem gerar um novo tampão de bicarbonato e recuperar o bicarbonato filtrado nos túbulos proximais (Hamilton *et al.*, 2017) (Figura 3).

Figura 3 - O equilíbrio ácido-base é mantido por mecanismos homeostáticos renais e respiratórios eficazes



Fonte: Hamilton *et al.* (p. 162, 2017)

Cabe evidenciar que a concentração de H^+ aumenta em dois ambientes: um aumento na pCO_2 ou uma redução no HCO_3^- plasmático. Uma das funções da ventilação é a eliminação do CO_2 durante a exalação. Uma concentração aumentada de H^+ , ou seja, uma acidose, estimula o centro respiratório a aumentar a taxa de respiração, exalando mais CO_2 . Esse mecanismo é outra resposta fisiológica importante que ajuda a manter o equilíbrio acidobásico (Hamilton *et al.*, 2017).

Em relação aos esportes de endurance, mais especificamente as ultramaratonas, poucos estudos se propuseram a pesquisar a homeostasia e a homeostase H^+ (Waskiewicz *et al.*, 2012). Em estudo realizado por Klapcinka *et al.* (2013), com sete corredores poloneses do sexo masculino em uma prova de 48 horas em uma pista oval plana, os pesquisadores revelaram que a hiperventilação relacionada à corrida levou a declínios significativos na pCO_2 e na relação $\text{pCO}_2/\text{HCO}_3^-$ (de $1,643 \pm 0,036$ para $1,408 \pm 0,103$). Ainda no mesmo estudo, o pH sanguíneo teve um aumento significativo do momento pré para o pós-prova de $7,394 \pm 0,011$ para $7,462 \pm 0,023$ nessa ordem. Os autores também verificaram que tanto a pCO_2 como o pH tiveram correlação com a distância percorrida ($R = -0,58$ $p < 0,01$, e $R = 0,79$ $p < 0,001$, respectivamente).

Os pesquisadores Waskiewicz *et al.* (2012) mostraram em sua investigação com 14 corredores amadores do sexo masculino com idade média de $43,0 \pm 10,8$ anos, durante 24 horas em uma pista oval plana, que os gases sanguíneos capilares e os

índices de equilíbrio acidobásico em repouso estavam dentro dos limites normais, mas, com o progresso da corrida, sofreram alterações. A alcalose respiratória progressiva contribuiu para um aumento significativo no pH de 0,067 unidades, do pré para o pós-competição. Foi verificada uma hipocapnia significativa resultante de uma diminuição de 23% na pressão do CO₂.

Todo o comportamento da hipocapnia foi acompanhado por um aumento progressivo na pO₂ de cerca de 11 mmHg, saturação de oxigênio e potássio plasmático, e uma tendência para menor cálcio livre (ionizado), enquanto a concentração de sódio no plasma permaneceu inalterada. Cabe lembrar que reduções induzidas pela hiperventilação nas concentrações plasmáticas de CO₂, H⁺ e cálcio disponível atuam como vasodilatadores durante o exercício, uma condição que limita a liberação de O₂ ao músculo esquelético, produzindo constrição vascular e redução do fluxo sanguíneo, contribuindo com o processo de fadiga (Chin *et al.* 2007; Green *et al.*, 2011; Broch-Lips *et al.*, 2012).

2.7 Alfa Actina 3 e o desempenho em esportes aeróbios

Existem duas isoformas sarcoméricas musculares de α -actinina; α -actinina-2 e α -actinina-3, que são codificadas pelos genes *ACTN2* e *ACTN3*, nessa ordem (Beggs *et al.*, 1992). A proteína alfa – actina 3 (*ACTN3*) é uma isoforma presente apenas nas fibras do Tipo II, enquanto a *ACTN2* é expressa de maneira onipresente em todos os tipos de fibras musculares (Mills *et al.*, 2001). A proteína α -actinina-2 desempenha um papel central no sarcômero para todos os tipos de atividades e deslocamentos locomotores (Ribeiro Ede *et al.*, 2014).

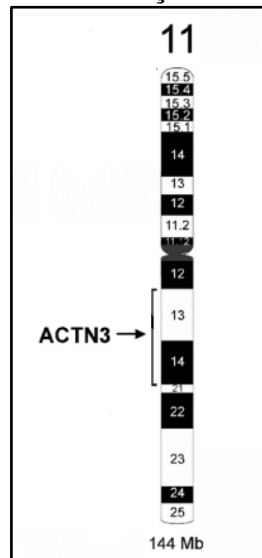
Enquanto o papel da α -actinina-3 pode estar mais relacionado à geração de força muscular rápida e, portanto, para a produção de movimentos rápidos e explosivos (Mills *et al.*, 2001; Yang *et al.*, 2003; Norman *et al.*, 2009; Ahmetov *et al.*, 2011). Ainda, a *ACTN3* tem sido correlacionada com a capacidade para modular a resposta ao treinamento, à recuperação após o dano muscular, induzido pelo exercício e o risco de lesão associado ao exercício (Pickering e Kiely, 2017). O gene *ACTN3* codifica uma proteína de ligação, a actinina na linha Z do sarcômero das fibras musculares de contração rápida e glicolíticas do músculo esquelético (North *et al.*, 1999; Mills *et al.*, 2001) (Figura 4).

Figura 4 - Localização da α -actinina no músculo esquelético

Fonte: Baltazar-Martins *et al.* (p.6, 2020)

Referente ao gene *ACTN3* e o seu polimorfismo *R577X*, este se localiza no cromossomo 11q13-q14 (Beggs *et al.*, 1992). Em complemento, este polimorfismo realiza a troca de Citosina por Timina na posição 1747 do exón 16. Tal alteração promove a substituição da Arginina (alelo R) selvagem por um stop códon (alelo X) mutante no aminoácido 577 (North *et al.*, 1999) (Figura 5).

Figura 5 - Representação da localização e estrutura do gene da ACTN3



Fonte: Bray *et al.* (p.35, 2009)

Quando os indivíduos monozigóticos expressam o genótipo mutante XX do polimorfismo R577X, eles não produzem a ACTN3 no músculo esquelético, condição, que acarreta diminuição da massa muscular magra, força e o diâmetro da fibra de contração rápida, mas aumenta a proporção de fibras musculares de contração lenta (Macarhur *et al.*, 2008; Ahmetov *et al.*, 2011; Del Coso *et al.*, 2019). Caso os indivíduos sejam heterozigoto RX para o polimorfismo R577X, esses apresentaram quantidades ~50% da proteína ACTN3 (Del Coso *et al.*, 2019). Por fim, um genótipo RR do polimorfismo R577X apresenta níveis elevados de ACTN3, mas fibras musculares esqueléticas (Pasqua *et al.*, 2011; Del Coso *et al.*, 2019).

Estima-se que a frequência do genótipo ACTN3 577XX varie em 25% nas populações asiáticas a <1% em uma população africana Bantu; a frequência nos caucasianos é de 18%. Isso levanta a possibilidade de que o genótipo do polimorfismo R577X da proteína ACTN3 confere aptidão diferencial em humanos sobre certas condições ambientais (Yang *et al.*, 2003). No entanto, não expressar essa proteína não traz malefícios para os sujeitos, pois sua ausência, em partes, pode ser compensada pela ACTN2, outra isoforma presente nas fibras de humanos (Caló; Vona, 2008). Porém, o alto grau de conservação evolutiva da ACTN3 sugere funções independentes da ACTN2, o que pode influenciar o desempenho físico (Yang *et al.*, 2003). Os mesmos autores encontraram frequências significativamente mais altas do alelo R em atletas de elite do que nos controles. O alelo X não funcional, que leva à deficiência de α -actinina-3, suporta uma melhor capacidade de resistência.

Ao investigar 633 atletas do sexo masculino caucasianos, espanhóis, russos e poloneses, divididos em (278 atletas de resistência e 355 atletas de potência), Eynon *et al.* (2012) mostraram que os atletas de endurance tinham 1,88 vezes mais chances de possuir o genótipo ACTN3 XX, e sua prevalência foi ~3,7 maior em atletas de endurance de nível mundial em comparação com atletas de nível nacional.

Em outro estudo, com patinadores russos, Ahmetov *et al.* (2011) verificaram que o polimorfismo ACTN3 R577X estava associado com a distância de corrida e a composição da tipologia da fibra muscular. O estudo mostrou que as fibras lentas possuíam uma frequência para o alelo RR de 12,8%, RX de 13,2% e XX de 16,3% - situação que sugere que os atletas com maiores percentuais de fibras do Tipo I terão sucesso ao competirem em provas mais longas.

Nessa linha, Shang *et al.* (2010) estudaram 250 atletas chineses de resistência de nível regional e nacional e 450 controles. Os pesquisadores mostraram que o genótipo ACTN3 XX (21,2 vs. 15,8%; $p = 0,02$) e o alelo X (51,3 vs. 41,1%; $p = 0,019$) foram maiores em atletas de endurance do sexo feminino, em comparação com controles. Além disso, a frequência do genótipo ACTN3 XX (28,6%) foi a mais alta no grupo de atletas de elite em comparação com outros grupos - condição que sustenta a hipótese de que a ausência de α -actinina-3 proporciona algum tipo de vantagem para atletas de endurance. Os resultados do referido estudo indicaram que o polimorfismo ACTN3 R577X foi associado ao desempenho de resistência em atletas do sexo feminino, mas não em atletas masculinos na China.

Ao avaliar 316 atletas de resistência de elite caucasianos, Döring *et al.* (2010), reportaram que a prevalência do genótipo homozigoto R577X foi semelhante em atletas de endurance e controles, 20% e 17,5%, nessa ordem. Os autores concluíram que o polimorfismo ACTN3 R577X não era um determinante genético do desempenho de resistência em homens caucasianos.

Na investigação conduzida por Ahmetov *et al.* (2010), com 456 atletas russos orientados para a resistência na modalidade de remo de longa distância, aproximadamente 6 km, os pesquisadores apresentaram frequências do genótipo ACTN3 577XX de (5,7% vs. 14,5%; $p < 0,0001$) e do alelo 577X (33,2% vs. 39,0%; $p = 0,0025$) menores em atletas orientados para endurance em comparação com os controles, e nenhum dos atletas de elite tinham o genótipo 577XX. Os remadores do sexo masculino com o genótipo ACTN3 577RR apresentaram melhores resultados 11s em remada de longa distância do que os portadores do genótipo 577XX 10s

($p=0,016$). Para os mesmos autores, além da capacidade de resistência, é necessário que os componentes de potência e velocidade sejam bem-sucedidos em diferentes eventos esportivos voltados para a resistência.

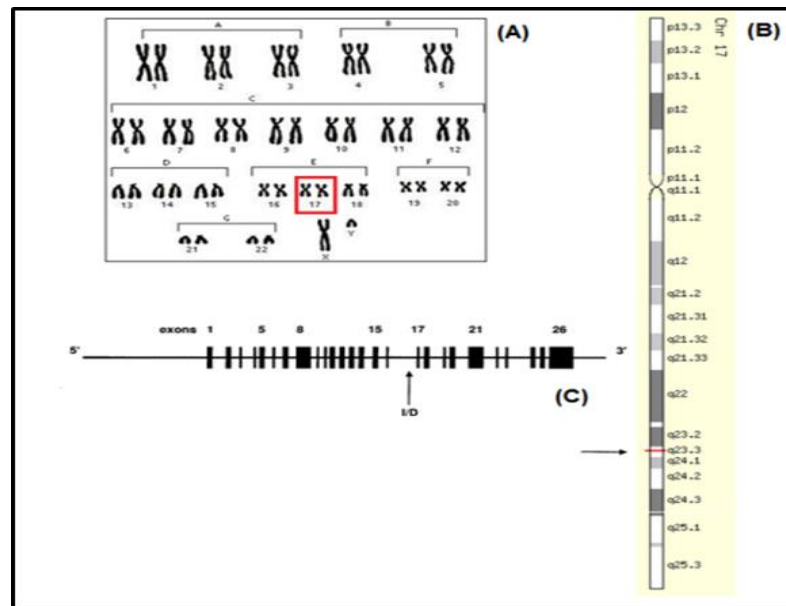
Em complemento, os corredores de endurance, quenianos e etíopes, altamente bem-sucedidos nas competições, apresentam a frequência do genótipo XX muito baixa, 8% para (etíopes) e de 1% para (quenianos) (Yang *et al.*, 2007). Como tal, o consenso é que o alelo ACTN3 X provavelmente não modifica o status de atleta de resistência de elite (Vancini *et al.*, 2014).

2.8 O Polimorfismo ID do gene ACE e o desempenho em esportes aeróbios

A associação do gene da ACE (enzima conversora de angiotensina) e os seus alelos específicos com o desempenho físico começaram a ser investigados após a descoberta de que um alelo do gene estava associado à hipertrofia ventricular esquerda induzida pelo exercício (Jones *et al.*, 2002). A ACE regula a função cardiovascular e os processos metabólicos nos músculos. O ACE catalisa a conversão da angiotensina I em angiotensina II fisiologicamente ativa, o que causa vasoconstrição e, por meio da liberação de aldosterona, influencia a retenção ou liberação do sódio e da água pelos rins. A ACE reduz o efeito vasodilatador da bradicinina, causando um aumento na pressão arterial (Jones *et al.*, 2002).

Em relação a sua localização, está no cromossomo 17q23, sendo composta de 26 éxons (Montgomery *et al.*, 1997). O polimorfismo funcional da ACE I/D humana está relacionado com a presença (inserção, alelo I) ou ausência (deleção, alelo D) de um segmento de 287 pares de bases (pb) no íntron 16 (Mägi *et al.*, 2016) (Figura 6).

Figura 6 - Representação esquemática da localização e estrutura do gene da ACE



Fonte: Alonso (p. 34, 2012)

O alelo I do polimorfismo *ACE I/D* tem sido associado a um melhor desempenho de resistência e ao alelo D com maior atividade da ACE e maior resistência e desempenho de Sprint (Thompson *et al.*, 2006). Em relação aos possíveis genótipos do polimorfismo *ACE ID* para o gene da ACE, este pode ser (II, ID, DD), estando também associados com diferentes respostas do organismo ao desempenho esportivo. O genótipo II é mais evidente em atletas de esportes de resistência, que possuem predominância de fibras do tipo I e maiores níveis de $VO_2\text{máx}$ (Zang *et al.*, 2003). No outro viés, o genótipo DD, predominante em atletas que praticam esportes de velocidade e força, apresentam um predomínio de fibras do tipo IIb (Bueno *et al.*, 2013).

Sobre a distribuição dos percentuais das fibras musculares, Zang *et al.* (2003) examinaram a associação entre os genótipos do polimorfismo *ACE I/D* e fibras musculares esqueléticas em 41 voluntários saudáveis jovens não treinados (31 homens, 10 mulheres, idade 24 ± 3 anos). Os indivíduos que possuíam o genótipo ACE II tinham maiores porcentagens de fibras do tipo I ($50,1 \pm 13,9\%$ vs $30,5 \pm 13,3\%$) e menores porcentagens das fibras do tipo IIb ($16,2 \pm 6,6\%$ vs $32,9 - 7,4\%$) quando comparados como o genótipo ACE DD.

Na metanálise realizada por Ma *et al.* (2013), para o polimorfismo *ACE I/D*, foram reveladas associações significativas do genótipo ACE II com melhor desempenho de resistência. Em pesquisa realizada por Mägi *et al.* (2016) com 58

esquiadores (41 homens e 17 mulheres) de 15 a 19 anos da Estônia, os investigadores mostraram uma frequência do genótipo *ACE I/D* em esquiadores jovens do sexo masculino em comparação com controles maior ($t = 3,940$, $p = 0,047$).

Em outro estudo, Myerson *et al.* (1999) encontraram uma frequência crescente do alelo I com distância percorrida [0,35, 0,53 e 0,62 para ≤ 200 m ($n = 20$), 400-3,000 m ($n = 37$) e ≥ 5.000 m ($n = 34$), respectivamente ($p = 0,009$) para tendência linear. Os autores mostraram também uma frequência maior do alelo D entre os velocistas olímpicos dos 200 m ou menos. Tsianos *et al.* (2004) analisaram a frequência do polimorfismo *I/D* do *ACE* entre 35 nadadores de longa distância de elite, classificados como os melhores em corridas de 1 a 10 km ou melhores em corridas de 25 km. No grupo de longa distância, a porcentagem de nadadores que possuía o alelo I era significativamente maior do que no grupo de menor distância.

Embora numerosos estudos tenham mostrado uma correlação do polimorfismo *ACE I/D* do gene *ACE* com o melhor desempenho físico, Taylor *et al.* (1999) investigaram 120 atletas australianos caucasianos de várias modalidades esportivas, classificadas por um alto nível de aptidão aeróbia. No entanto, os autores não encontraram nenhuma diferença no genótipo do polimorfismo *ACE I/D* e a frequência alélica do genótipo DD, em que 30% estava presente em atletas e 29% no grupo controle, e a frequência do genótipo II de 22,5 e 22%, respectivamente.

Em estudo mais recente, Papadimitriou *et al.* (2018), ao coletar e genotipar o polimorfismo *ACE I/D* em 698 atletas de endurance masculino e feminino caucasianos de seis países (Austrália, Grécia, Itália, Polônia, Rússia e Reino Unido), com seus melhores tempos para as distâncias de 1500, 3000, 5000m e maratona concluíram ser improvável que o genótipo II forneça uma vantagem nas corridas de endurance. Assim, tem sido sugerido que as modificações epigenéticas relacionadas ao gene *ACE* também podem ter um papel a desempenhar nesses achados discrepantes (Raleigh *et al.*, 2012).

2.9 Polimorfismo do gene da *CK MM A/G NcoI* e desempenho em esportes aeróbios

O fornecimento rápido e constante da adenosina trifosfato (ATP) para a ação muscular é um dos fatores que determinam o desempenho atlético. Dessa maneira, encontrar marcadores genéticos específicos que melhoram a eficiência da via de

ressíntese da ATP é uma das tendências prioritárias para fisiologistas e geneticistas. Entende-se que, para alcançar o status de atletas de elite, esses indivíduos devam ter certas qualidades físicas dependentes muito das características genéticas (Fedotovskaya *et al.*, 2012).

Nessa linha, a creatina quinase (CK) é uma importante enzima para o metabolismo energético, pois tem um papel importante para manter a homeostase na produção de energia nas células musculares (Field *et al.*, 2006). Tal enzima tem a função de catalisar a fosforilação da creatina em fosfocreatina, molécula que tem como função armazenar energia e realizar ressíntese da ATP (Yamashita e Yoshioka, 1991). O alto nível celular de creatina quinase com alta demanda de energia, na musculatura esquelética, permite uma rápida regeneração dos suprimentos de ATP, fonte básica de energia nos processos bioquímicos (Gronek *et al.*, 2013).

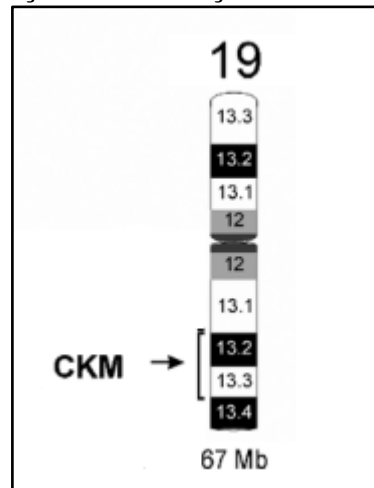
Por meio de testes bioquímicos, existe a possibilidade de quantificar o nível sanguíneo de creatina quinase pós-exercício, um indicativo da extensão do dano das fibras musculares, ou seja, da intensidade do exercício. Em relação à atividade da CKMM nas fibras musculares esqueléticas de tipo I (contração lenta) e fibras do tipo II (contração rápida) mostraram-se diferentes em suas atividades, em que fibras tipo I possuem pelo menos uma atividade de CKMM duas vezes menor (Yamashita e Yoshioka, 1991).

A partir do entendimento de que a atividade da enzima é maior nas fibras de contração rápida, pode-se intercorrer que a baixa atividade da creatina quinase será característica do atleta do tipo endurance (Gronek *et al.*, 2013). Em humanos, existem cinco tipos de isoenzima CK. A subunidade CKM do tipo muscular e a subunidade CKB do tipo cérebro formam homodímeros CKMM e CKBB ou um heterodímero CKMB. Sua expressão é específica do tecido, e sua atividade depende da demanda de estruturas individuais no citoplasma: a proteína CKMM e pequenas quantidades de CKMB são encontradas nos músculos; o CKMB é mais ativo no coração, enquanto a proteína CKBB é ativa no cérebro e, até certo ponto, no músculo (Wallimann *et al.*, 1992).

Sobre o gene da creatina quinase, específico do músculo CK MM e, o seu polimorfismo *CK MM A/G NcoI*, este localiza-se no cromossomo 19 19q13.2-q13.3, e consiste em mais de 17,5 kpb, 8 éxons e 7 íntrons (Figura 7). Ele está associado com a capacidade de fornecer energia para as fibras musculares esqueléticas, situação

que permite uma maior tolerância ao dano do músculo esquelético (Rivera *et al.*, 1997a).

Figura 7 - Representação da localização e estrutura do gene da CK MM



Fonte: Bray *et al.* (p. 35, 2009)

A proteína CKMM está localizada na linha M do sarcômero, uma das meromiosinas pesadas perto da ATPase da miosina e da membrana externa e vesículas do retículo sarcoplasmático, o que pode alterar a recomposição do Ca^{2+} e a potência muscular (Rossi *et al.*, 1990). Dessa maneira, grandes quantidades de ATP gerados perto das cabeças da miosina são devido à atividade CKMM (Rivera *et al.*, 1997a).

Na investigação realizada por Fedotovskaya *et al.* (2012), os autores genotiparam 384 atletas de ambos os sexos para diferentes esportes aeróbios e anaeróbios, e mostraram uma maior incidência do alelo A e o genótipo AA do polimorfismo *CK MM A/G NcoI* nos atletas de resistência. Verificou-se também que tal perfil genético pertencia aos atletas com maiores valores de VO_2 máx. Assim, os pesquisadores concluíram que o gene da creatina quinase específico do músculo CK MM está correlacionado com o desempenho atlético, e o genótipo *CK MM AA* é considerado um dos marcadores genéticos associados à predisposição para esportes de endurance. O alelo A do polimorfismo *CK MM A/G NcoI* influencia a expressão gênica, resultando em uma diminuição na isoforma muscular da atividade da creatina quinase nos miócitos, levando a uma ativação aumentada da fosforilação oxidativa e da resistência muscular.

Além disso, o genótipo GG do polimorfismo *CK MM A/G NcoI* tem uma frequência maior em atletas de potência e força (He *et al.*, 2016). Porém, em se

tratando do genótipo A/G, as pesquisas apresentam até o momento são controversas, quanto à influência no desempenho humano para este genótipo. Estudos como de Ruiz *et al.* (2009); He *et al.* (2016) encontraram uma associação positiva com atletas de resistência e potência. Contudo, pesquisas com de Eider *et al.* (2015); Grealy *et al.* (2015); Rivera *et al.* (1997a), não encontraram qualquer associação. Todavia, acredita-se que uma predisposição genética para a baixa atividade da CK MM poderia ser uma vantagem para ótimos desempenhos em provas de resistência (Rivera *et al.*, 1997a).

Cabe enfatizar, que os estudos que investigam a CK MM como um gene candidato a alta performance não são recentes. A mais de 20 anos pesquisas tem analisado por eletroforese as variações das suas proteínas (BOUCHARD *et al.*, 1989). Assim, estudos nas mais diferentes populações têm sido realizados e a frequência do alelo A do polimorfismo *CK MM A/G NcoI* do gene *CK MM* determinados, podendo citar a população chinesa com variação em 86% Zhou *et al.* (2005) americanos brancos 68% Rivera *et al.* (1997b), e caucasianos entre 65-71% (HELED *et al.*, 2007).

2.10 Associação genética com a composição corporal

O status de atleta de elite é uma característica parcialmente hereditária, assim como muitos dos traços fisiológicos, antropométricos e psicológicos subjacentes que contribuem para o desempenho da elite. Em se tratando dos genes, esses são parcialmente responsáveis por determinar as características antropométricas, físicas e fisiológicas necessárias para alcançar o desempenho atlético. Embora muitos dos nucleotídeos únicos (SNPs), atualmente estabelecidos associados ao status de atleta de elite, estejam associados a características fisiológicas, como capacidade aeróbia, força muscular ou velocidade, outros SNPs exercem um efeito menos direto, mas não menos importante, na obtenção do desempenho esportivo de atleta de elite (Pickering *et al.*, 2019).

Nessa linha, tanto a estatura Silventoinen *et al.* (2003), quanto o índice de massa corporal Elks *et al.* (2012) são altamente hereditários e bem provável ambos contribuem para detectar talentos nos mais diferentes esportes (Pickering *et al.*, 2019). Em geral, existem poucos estudos que consideraram a relação entre o polimorfismo *ACTN3* e fenótipos de composição corporal em atletas masculinos ou femininos (Bell *et al.*, 2012).

Ao realizar a associação do genótipo *ACTN3 R577X* com fenótipos de força muscular e massa corporal em homens e mulheres ao longo da idade adulta, Walsh *et al.* (2008) genotiparam 848 voluntários adultos. As mulheres homozigotas XX apresentaram níveis mais baixos de massa magra ($38,9 \pm 0,5$ vs. $40,1 \pm 0,2$ kg, $p = 0,04$) e massa magra de membros inferiores ($11,9 \pm 0,2$ vs. $12,5 \pm 0,1$ kg, $p = 0,04$) em comparação com as mulheres RX + RR. Porém, não foram observadas diferenças relacionadas à massa livre de gordura corporal nos homens. Parece que o genótipo *ACTN3 XX* tem sido relacionado à menor massa corporal e menor massa magra (Walsh *et al.*, 2008), provavelmente devido a uma redução na massa muscular como resultado do menor tamanho de fibra do tipo rápido (Broos *et al.*, 2016).

Na pesquisa de Kim *et al.* (2014), foi examinada a associação da composição corporal, como os polimorfismos *ACE ID*, *ACTN3 R577X*. Para tanto, foram avaliadas 97 bailarinas coreanas com idades entre 18 e 39 anos. O genótipo *ACTN3 XX* apresentou menor massa corporal total e menor massa magra do que o genótipo RR e RX ($p < 0,005$). Essa situação se explica, porque o genótipo XX não expressão α actinina 3 nas fibras de contração rápida e sim α actinina 2, condição que faz com que o tamanho do músculo rápido e a massa livre de gordura sejam diminuídos (Kim *et al.*, 2014).

No estudo de Bell *et al.* (2012), foram avaliados 102 jogadores de *Rugby* para identificar a distribuição e explorar a relação entre os genótipos do polimorfismo *ACTN3 R577X* e os fenótipos de potência e composição corporal. O genótipo RR mostrou correlação negativa da gordura absoluta (kg) e relativa (%) com a potência relativa ($-0,72$, $p < 0,05$ e $-0,73$, $p < 0,05$, respectivamente) e velocidade ($-0,71$, $p < 0,05$ e $-0,69$, $p < 0,05$, respectivamente). Os valores indicam que as relações com a gordura foram negativas, mostrando que, à medida que a gordura aumenta, a potência e a velocidade diminuem de forma linear. Para o genótipo RX, os pesquisadores encontraram que a massa gorda (kg) está negativamente correlacionada com a potência ($-0,43$, $p < 0,05$), enquanto o tecido magro, a massa livre de gordura e a massa corporal subtotal estão positivamente relacionados à potência ($0,80$, $p < 0,01$, $0,79$, $p < 0,01$, $0,72$, $p < 0,01$, respectivamente), ou seja, à medida que esses tecidos aumentam, a potência também aumenta linearmente, já que a natureza dos três tecidos é essencialmente a mesma.

O estudo de Bell *et al.* (2012) revelou que todos os genótipos do gene *ACTN3*, os fenótipos de composição corporal, geralmente interagiram negativamente com

deslocamento e velocidade. No genótipo XX, a gordura absoluta (kg) correlacionou-se com deslocamento (20,80, $p < 0,01$) e gordura relativa (%) (20,82, $p < 0,01$, respectivamente). As relações com a velocidade foram de magnitude semelhante (20,86, $p < 0,01$ e 20,88, $p < 0,01$).

Em relação ao polimorfismo *ACE I/D*, Kim *et al.* (2014) avaliaram as bailarinas e indicaram que o genótipo *ACE DD* foi associado à maior gordura corporal e percentual de gordura corporal do que os genótipos *ACE II* e *ID* ($p < 0,05$). Tal situação ocorre, porque a atividade da proteína ACE é alta no genótipo *DD*, fazendo com que os portadores desse genótipo tenham um fator de risco para a obesidade. A alta atividade da ECA traz a alteração da angiotensina I e angiotensina II na SRA (sistema renina-angiotensina) e, assim, mantém alto nível de atividade no sangue e no tecido, especialmente o nível de angiotensina II, que não é apenas a SRA circulatória, mas também o tecido tópico que é rico em tecido adiposo, aumenta o acúmulo de gordura (Viniciu *et al.*, 2013).

Ao explorar os efeitos dos polimorfismos dos genes *ACE I/D* e *ACTN3 R577X* sobre variáveis quantitativas específicas, como estatura e massa corporal total em 243 atletas chineses de remo, Wei (2021) revelou uma diferença significativa na massa corporal total em atletas do sexo masculino para os genótipos *II – ID – DD* ($84,8 \pm 10,8$; $76,7 \pm 11,2$; $90,8 \pm 5,9$ kg respectivamente), porém na regressão linear, não foi identificada uma relação com o genótipo da *ACE* ($p > 0,05$), o que sugere que o alelo da ECA I pode não ter efeito genético sobre a massa corporal total em homozigotos ou heterozigotos.

3 METODOLOGIA

Neste capítulo, são apresentados os procedimentos para a pesquisa quantitativa descritiva, assim como a estruturação das etapas.

3.1 Tipologia da Pesquisa

A presente pesquisa caracteriza-se como sendo transversal, do tipo quantitativa descritiva (Lakatos e Marcone, 2003; Gil, 2002), realizada durante a Ultramaratona dos Perdidos SkyMarathon®, prova de 105 km, um evento no estilo das ultramaratonas mais difíceis do mundo, com muitos desníveis acumulados. A Largada do Sítio Morro dos Perdidos teve no percurso terrenos como: estradas de chão, trilhas *single track*, campos de altitude, dois cumes de montanha, Morro dos Perdidos (1440m) e Araçatuba (1675m), travessia de rios, cachoeiras, subidas e descidas muito íngremes. A prova aconteceu na segunda semana do mês de julho de 2017, no Município de Tijucas do Sul, Paraná – Brasil.

3.1.1 Comitê de Ética em Pesquisa

A presente pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Centro Universitário UNIDOMBOSCO, conforme parecer 2.275.040, estando de acordo com a Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde. Cabe frisar que esta pesquisa pertence a um projeto integrador desenvolvido junto à equipe de pesquisadores da Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR. Este projeto de pesquisa resultou em uma tese, quatro dissertações, dois trabalhos de pós-graduação *lato sensu* e um trabalho de conclusão de curso de graduação.

3.1.2 Fatores de Inclusão e Exclusão

A fim de deixar a amostra de corredores de ultramaratona de montanha mais homogêneas, alguns fatores de inclusão e exclusão foram determinados.

3.1.2.1 Fatores de Inclusão

Os critérios de inclusão exigiam que fossem atletas: a) do sexo masculino; b) com experiência em pelos (2) duas provas acima de 21 km e 1 (uma) prova acima de 42 km entre 2015 e 2016; c) não apresentaram relatos de doenças crônicas degenerativas não transmissíveis; d) realizaram exame cardiorrespiratório para avaliar o funcionamento cardiovascular atestado por um cardiologista.

3.1.2.2 Fatores de Exclusão

Foram excluídos da pesquisa atletas que: a) não assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido; b) não realizaram uma das duas etapas de coletas de dados; c) demonstram interesse em retirar o seu livre consentimento esclarecido.

3.2 Amostra

A população utilizada nesta pesquisa foi composta por um grupo de atletas brasileiros de elite, corredores de ultramaratona de montanha na distância de 105 km do sexo masculino. Dos 36 atletas que competiram na prova de 105 km, 22 atletas com idade média de $35,9 \pm 6,5$ anos, 173 cm e percentual de gordura de 11% fizeram parte da amostra. Desses atletas, 31,8% possuíam experiências nacionais e 68,2% tinham experiências internacionais. Em relação à região do país, 64% eram da Região Sudeste, 27% da Região Sul e 9% pertenciam às Regiões Centro-Oeste e Nordeste.

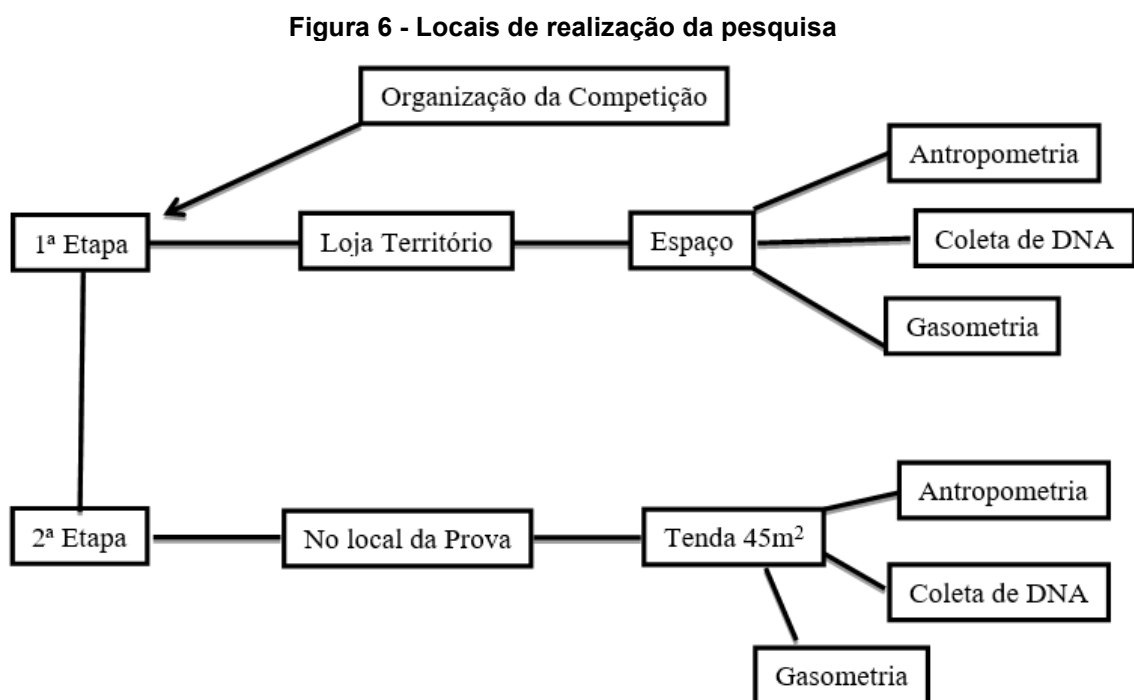
A respeito do perfil de treinamento, 95,4% dos corredores treinavam entre 5 e 7 vezes na semana, 72,7% treinavam de 1 a 2 horas de segunda a sexta-feira e 72,7% dos atletas treinavam mais de 3 horas nos finais de semana. Sobre a preparação para a prova, 45,5% dos atletas realizaram uma preparação de 6 meses ou mais, e 45,5% entre 3 e 4 meses. Embora tais atletas praticassem corrida a mais de 5 anos, 32% da presente amostra competia na modalidade de montanha a mais de 5 anos, 27% de 3 a 4 anos, 32% de 2 a 3 anos e 9% de 1 a 2 anos.

Cabe reforçar duas situações a respeito da amostra: 1) os atletas pertencem a um grupo que possui em média $43,3 \pm 8,2$ atletas brasileiros que competem neste tipo de prova no território nacional; 2) os corredores tiveram acesso livre a alimentos

e líquidos, mas a ingestão real de alimentos não foi registrada, o que é uma limitação deste estudo.

3.3 Locais da Realização da Pesquisa

Para a realização da pesquisa, foi utilizado, na primeira etapa das coletas, um espaço na loja que estava patrocinado o evento, montado para atender os atletas que participaram da pesquisa. Nessa etapa, os atletas preencheram um questionário (Apêndice B), a fim de verificar informações sobre a rotina de treinamento na modalidade e realizaram: avaliação da composição corporal, extração de saliva para genotipagem do DNA, um exame de gasometria basal para determinar as concentrações dos elementos eletroquímicos e do distúrbio acidobásico o qual a pesquisa se propôs a estudar e uma avaliação antropométrica. Cabe enfatizar que tal espaço forneceu a infraestrutura necessária para que as coletas fossem realizadas. Na Figura 6, encontra-se a apresentação das etapas.



Fonte: Autoria própria (2023)

Para a genotipagem do DNA, foi utilizado o Laboratório de Genética e de Imunológica Clínica da Universidade Positivo (Curitiba – PR), que forneceu toda a

infraestrutura necessária (bancadas, banquetas, balança, centrífuga, vórtex, cuba de eletrofluorese, freezer, geladeira, termociclador, micropipetas, nanodropen em um espaço de 45 m²).

A segunda etapa das coletas aconteceu no local da prova de 105 km. Para tanto, os organizadores da prova disponibilizaram um local em conjunto com a tenda médica, no pé do Morro dos Perdidos, com toda a infraestrutura necessária para a reavaliação da composição corporal e da gasometria basal para determinar as concentrações dos elementos eletroquímicos e do distúrbio acidobásico e da antropometria dos atletas com segurança.

3.4 Procedimentos

3.4.1 Desenho do Estudo

Os corredores brasileiros de ultramaratona de montanha na distância de 105 km que fizeram parte da amostra do presente estudo foram submetidos a duas etapas de coletas, a saber (Quadro 2):

Quadro 2 - Etapas de coletas

Coleta 1	<ul style="list-style-type: none"> • Um dia antes da competição: • Mensuração de massa corporal total, estatura, composição corporal por bioimpedância, preenchimento de um questionário, coleta sanguínea por meio de sangue venoso capilarizado e coleta de células da mucosa bucal.
Coleta 2	<ul style="list-style-type: none"> • Após o término da corrida: • Coleta sanguínea por meio de sangue venoso capilarizado. • Mensuração de massa corporal total, estatura, composição corporal por bioimpedância

Fonte: Autoria própria (2023)

3.5 Divisão dos Grupos

Todos os 22 corredores participaram das duas etapas de dados pré e pós-competição.

3.6 Descrição dos Instrumentos de Pesquisa

3.6.1 Entrevista estruturada

A entrevista (questionário para os atletas) (Apêndice A) foi composta por 10 questões fechadas relacionadas a questões pessoais e inerentes ao exercício físico. Para participar da pesquisa, os corredores que competiriam na prova de 105 quilômetros foram recrutados por meio de e-mails fornecidos pela organização oficial do evento.

3.6.2 Avaliação antropométrica

A avaliação antropométrica foi composta por medidas de massa corporal total (MCT), estatura total (ESTT), percentual de gordura (%G), massa gorda (MG), massa magra (MM). A MCT foi aferida em uma balança antropométrica tipo plataforma (Filizola®, Filizola S.A., Brasil) com precisão de 100 gramas, e a ESTT foi determinada com estadiômetro portátil (Seca®, Hamburgo, Alemanha) com precisão de 0,1cm, considerando como valor final a média aritmética de três medidas consecutivas (Lohman *et al.*, 1988).

3.6.2.1 Bioimpedância

O % G, MG, MM foram determinados utilizando o aparelho BIA tetrapolar de corpo inteiro *Maltron* modelo BF – 906, frequências elétricas de 50 Hz. Embora a bioimpedância seja um procedimento duplamente indireto, possui correlações com métodos considerados padrão-ouro, tais como o DEXA (Lohman *et al.*, 1988) e a pesagem hidrostática (Isjwra *et al.*, 2007). A avaliação foi realizada com o atleta deitado em decúbito dorsal com os eletrodos colocados em locais pré-definidos após limpeza com álcool. Um eletrodo emissor foi colocado próximo à articulação metacarpo-falangeano, da superfície dorsal da mão direita e o outro distal do arco transversal da superfície superior do pé direito. Um eletrodo detector foi colocado entre as proeminências distais do rádio e da ulna do punho direito, e o outro entre os maléolos, medial e lateral do tornozelo direito (Kyle *et al.*, 2004).

3.6.3 Coleta de Sangue

As amostras de sangue venoso em tempo real foram coletadas por meio de sangue capilarizado, mediante técnica de pulsão da polpa de um dos dedos da mão

por coleta (Bishop; Martino, 1993). A pele foi limpa com álcool 70° e secada para evitar mistura com suor ou água. Evitando a pressão do local, a gota grossa de sangue foi recolhida utilizando capilar com capacidade de 200µL (*Capillary Tubes 250 Roche®*), tratado com heparina. Todo o procedimento foi realizado por um profissional especializado. Para realizar a análise de sangue, foi utilizado o equipamento de Gasometria *GEM Premier 3000*, e foram utilizados os parâmetros de potencial hidrogeniônico (pH), sódio (Na⁺), potássio (K⁺), cálcio (Ca²⁺), Glicose (Glu), pressão parcial de gás carbônico (pCO₂), pressão parcial de oxigênio (pO₂), Lactato (Lac⁻), hematócrito (Hct) e bicarbonato (HCO₃⁻). A amostra sanguínea foi processada logo em seguida de sua coleta, garantindo a confiabilidade e obtendo resultados logo após a coleta. Os resultados foram obtidos em aproximadamente 85 segundos após a introdução da amostra no aparelho de gasometria (Bénéteau-Burnat *et al.*, 2004).

3.6.4 Coleta de saliva

3.6.4.1 No local da coleta

A coleta da saliva foi realizada um dia antes da realização da prova, em uma sala de apoio aos atletas, com os participantes selecionados sentados em uma cadeira com os pés apoiados. Inicialmente, foi depositada uma solução de glicose 3% na boca dos participantes e foi solicitado a eles que fizessem bochechos por dois minutos. Após, os participantes cuspiram o líquido em um recipiente plástico de tamanho reduzido. O pesquisador, com o auxílio de uma espátula de madeira, raspou a mucosa jugal e lavou a espátula no copo onde estava a solução cuspidada. Em seguida, transferiu todo o conteúdo para um tubo falcon de 15 ml.

Após a coleta, as amostras foram levadas em um isopor com placas de gelo ao Laboratório de Genética e Biologia Molecular da instituição de ensino superior privada, onde foram centrifugadas a 3000 rpm por 10 minutos. Na sequência, o líquido sobrenadante foi descartado, o precipitado foi mantido, e foram acrescentados 1300 µL de tampão de extração (TRIS 10 mM, EDTA 5 mM, SDS 0,5%, pH=8). A mistura foi congelada a -20°C (Trevilatto e Line, 2000).

3.6.4.2 No laboratório

Após descongelar totalmente as amostras de saliva, foi acrescentado 10 µL de proteinase K (*BioLabs, New England*) em cada tubo de extração e mantido em banho-maria 65° *overnight*.

Ao retirar as amostras do banho-maria, foram agitadas delicadamente e transferidas para um *ependorf* de 2mL, acrescentados 500 µL de acetato de amônio (8mM de acetado, 1mM EDTA) e agitado em vórtex por cinco minutos. Em seguida, foram centrifugadas a 13000 rpm por 16 minutos e separadas em dois *ependorf* de 1,5 mL (900 µL em cada *ependorf*), desprezando-se o *pellet* depositado no fundo do tubo, e acrescentado 540 µL de isopropanol invertido, delicadamente, em torno de 20 vezes, para a visualização do DNA.

O conteúdo contendo o DNA foi centrifugado a 13000 rpm por sete minutos, descartado o isopropanol, acrescentado 1mL de etanol 70% e centrifugado novamente a 13.000 rpm por sete minutos, descartado o sobrenadante e mantido em temperatura ambiente para a secagem. O DNA foi ressuspendido em aproximadamente 50µL de TE (TRIS 10mM, 1mM EDTA, pH = 7,76) e mantido em temperatura ambiente por 24 horas. Após esse período, as amostras foram guardadas por dois dias na geladeira e estocadas em - 20 °C (Trevilatto e Line, 2000).

3.7 Extração do DNA

3.7.1 Genotipagem de alelos do Polimorfismo do gene *ACTN3*; *CK MM*; *ECA*

A genotipagem dos alelos (*R577X*; *A/G NcoI*; *ACE I/D*) foram realizadas pela técnica da PCR (Reação em Cadeia da Polimerase). Para isso, foram utilizados iniciadores específicos (Quadro 3).

Quadro 3 - Iniciadores utilizados nas reações PCR para os polimorfismos dos genes *ACTN3*; *CK MM*; *ACE*

Gene	Primer Direito	Primer Reverso	Número de acesso
<i>ACTN3</i>	5'-CTGTTGCCTGTGGTAAGTGGG-3'	5'-TGGTCACAGTATGCAGGAGGG-3'	89
<i>ACE</i>	5'TGGGACCACAGCGCCCGCCACTA C-3'	5'CTGGAGACCACTCCCATCCTTT CT-3'	1636
<i>CKMM</i>	5'-GTGCGGTGGACACAGCTGCCG-3'	5CAGCTTGGTCAAAGACATTGAGG-3	1158

Autoria própria (2023).

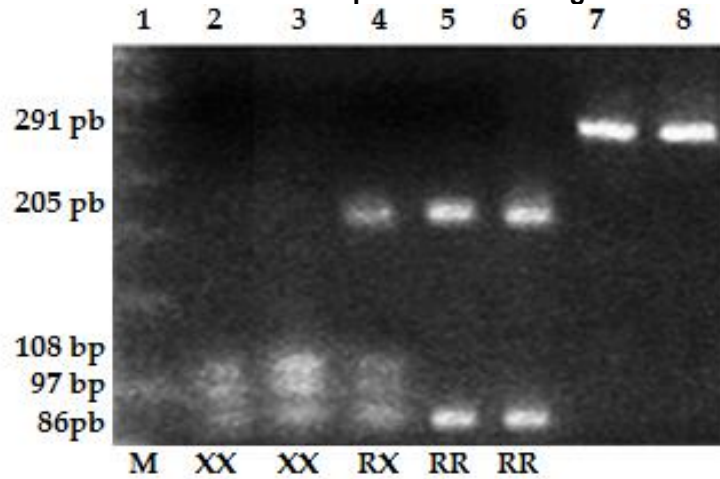
3.7.2 Genotipagem do polimorfismo *R577X* no gene *ACTN3*

A genotipagem do polimorfismo *R577X* do gene *ACTN3* foi realizada pela técnica RFLP-PCR (Reação em Cadeia da Polimerase associada ao polimorfismo dos comprimentos dos fragmentos de restrição). Os atletas foram divididos em grupos de mesmo genótipo: RR, RX e XX. O éxon 15 do gene *ACTN3*, onde se encontra o polimorfismo, foi amplificado, utilizando os iniciadores do Quadro 1, ancorados nas sequências intrônicas adjacentes (Mills *et al.*, 2001). As reações foram realizadas com volume final de 10 μ L em um tubo *ependorf*, contendo 1 μ L (50 ng) de DNA, 0,5 μ L (10 pmol) de cada *primer* iniciador específico, 0,5 μ L de enzima Taq polimerase (INVITROGEN, Waltham, Massachusetts, USA) e quantidade necessária de supermix (INVITROGEN, Waltham, Massachusetts, USA) para completar o volume final.

As PCRs foram realizadas no termociclador *Maxygen* (Axygen, California, USA), com o seguinte programa de amplificação: a) 95°C por 5 min.; b) 94°C por 30 seg.; c) 58° por 30 seg.; d) 72°C por 30 seg.; e) repetição por 30 vezes dos passos b ao d; f) 72°C por 5 min. (extensão final). Posterior à amplificação, 10 μ L do produto da PCR foram submetidos à digestão com 10 unidades de enzima de restrição Ddel (SIGMA Aldrich, MO, EUA) e incubadas por 4 horas em banho-maria a 37°C.

Os alelos R ou X (códon CGA e TGA) foram distinguidos pela presença (*577X*) ou ausência (*577R*) do sítio de restrição da enzima Ddel (5'-C↓TNA G-3') (Mills *et al.*, 2001). Os fragmentos de restrição foram separados por eletroforese em gel de agarose a 3% e revelados com brometo de etídeo a 5 μ g/mL. A variação heterozigota RX resultou em fragmentos de 205, 108, 97 e 86 pares de bases (pb); a digestão do alelo homozigoto RR resultou em fragmentos de 205 e 86 pb; e a digestão do alelo homozigoto mutante XX, que não expressa *ACTN3*, resultou em fragmentos de 108, 97 e 86 pb. (Yang *et al.*, 2003). Marcador linha 1; Linhas 2 e 3 (XX homozigoto); Linha 4 (heterozigoto RX); Linhas 5 e 6 (homozigoto RR); Linha 7 e 8 Produto PCR sem digestão (Figura 9).

Figura 7 - Resultados da análise do polimorfismo do gene *ACTN3 R577X*



Fonte: Autoria própria (2023)

3.7.3 Genotipagem do polimorfismo *CK MM A/G NcoI* do éxon 8 e íntron 7, do gene CK

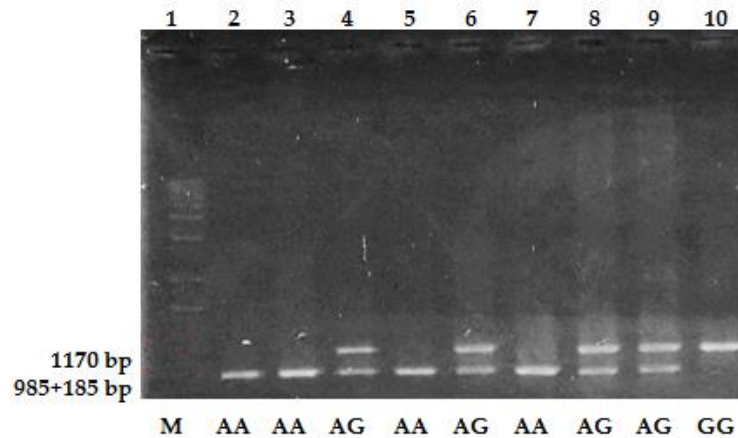
A genotipagem do polimorfismo *CK MM A/G NcoI* do gene da CK foi realizada pela técnica RFLP – PCR (Reação em Cadeia da Polimerase associada ao polimorfismo dos comprimentos dos fragmentos de restrição). Os atletas foram divididos em grupos de mesmo genótipo: GG, AG e AA. O éxon 8 e o íntron 7 do gene CK, onde se encontra o polimorfismo, foi amplificado utilizando os indicadores do (Quadro 1). As reações foram realizadas com volume final de 10 µL em um tubo eppendorf, contendo 1 µL (50 ng) de DNA, 0,5 µL (10 pmol) de cada primer iniciador específico, 0,5 µL de enzima Taq polimerase (INVITROGEN, Waltham, Massachusetts, USA) e quantidade necessária de supermix (INVITROGEN, Waltham, Massachusetts, USA) para completar o volume final.

O programa de amplificação foi composto dos seguintes passos: 1) um ciclo de desnaturação a 95 ° C durante 5 min; 2) 30 ciclos de desnaturação a 95° C durante 30 s, emparelhamento a 60 ° C durante 30 s e extensão a 72 ° C durante 45 s; e 3) um ciclo de alongamento final de 5 min a 72° C. Medidas preventivas de contaminação foram tomadas pela inclusão de mistura de reação PCR sem DNA (controle negativo) em cada corrida de amplificação (Rivera, *et al.*, 1997a).

Após cada amplificação, o produto de PCR foi digerido com 10 U da enzima de restrição *NcoI* (SIGMA Aldrich, MO, EUA). Conforme o que recomenda o fabricante da enzima. Os fragmentos resultantes foram separados por eletroforese horizontal em

gel de agarose 3%. Cada gel foi corrido, durante 60 min a 150 mA enquanto refrigerada a 10 ° C, corado com brometo de etídeo a 5 µg/mL e fotografado sob luz UV transmitida. A variação heterozigota AG resultou em fragmentos de 1170, 985 pares de bases (pb). O alelo sem a *NcoI* sítio de restrição foi designado como alelo GG de 1170 pb (mutante, raro), enquanto o alelo com a polimórfica *NcoI* sítio foi designado como alelo AA 985 pb (selvagem). Marcador linha 1; Linhas 2, 3, 5 e 7 (homozigoto AA); Linhas 4, 6, 8 e 9 e 7 (AG heterozigoto); Linha 10 (GG homozigoto). (Figura 10) (Rivera, *et al.*, 1997a).

Figura 8 - Resultados da análise do polimorfismo do gene *CK MM A/G NcoI*



Fonte: Autoria própria (2023)

3.7.4 Genotipagem do polimorfismo I/D do íntron 16 do gene *ACE*

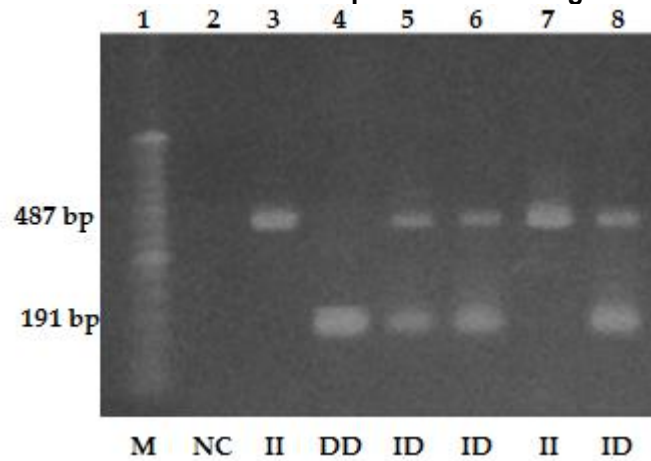
A genotipagem do polimorfismo I/D do gene *ACE* foi realizada pela técnica de PCR (Reação em Cadeia da Polimerase). Os atletas foram divididos em grupos de mesmo genótipo: DD, ID e II. O polimorfismo I/D do gene *ACE* consiste na ausência (deleção ou alelo “D”) ou presença (inserção ou alelo “I”) de 287 pares de base no íntron 16. Dessa forma, parte do íntron 16 foi amplificada utilizando os iniciadores do quadro 1 (Rigat *et al.*, 1992).

As reações foram realizadas com volume final de 10 µL em um tubo eppendorf, contendo 1 µL (50 ng) de DNA, 0,5 µL (10 pmol) de cada primer iniciador específico, 0,5 µL de enzima Taq polimerase (INVITROGEN, Waltham, Massachusetts, USA) e quantidade necessária de supermix (INVITROGEN, Waltham, Massachusetts, USA) para completar o volume final. O programa de amplificação foi composto dos seguintes passos: 95°C por 5 minutos de desnaturação inicial e liberação da enzima, seguida de 30 ciclos de desnaturação a 94°C por 30 segundos,

anelamento a 57°C por 1 minuto, extensão a 72°C por 1 minuto. Terminados os 30 ciclos, houve 5 minutos de extensão final a 72°C.

Os fragmentos foram separados por eletroforese em gel de agarose a 3% e revelados com brometo de etídeo a 5 µg/mL. O alelo D do gene ACE gerou um fragmento de 191 pares de bases, enquanto o alelo I gera um fragmento de 478 pares de base, contendo a inserção de 287 pb. Marcador linha 1; Controle negativo linha 2; Linhas 3 e 7 (homozigoto II); Linha 4 (DD homozigoto); Linhas 5, 6 e 8 (heterozigoto ID). (Figura 11).

Figura 9 - Resultados da análise do polimorfismo do gene ACE (I/D)



Fonte: Autoria própria (2023)

De acordo com a literatura, a classificação errônea de heterozigotos ID como sendo homozigotos DD pode ocorrer devido à amplificação preferencial do alelo D e ineficiência de amplificação do alelo I (Shanmugam *et al.*, 1993). Portanto, para aumentar a especificidade da genotipagem, as amostras que apresentarem genótipo D/D foram reavaliadas por uma nova PCR utilizando um iniciador direto específico para a inserção e o iniciador reverso 5'-3'. (Shanmugam *et al.*, 1993) (Quadro 4):

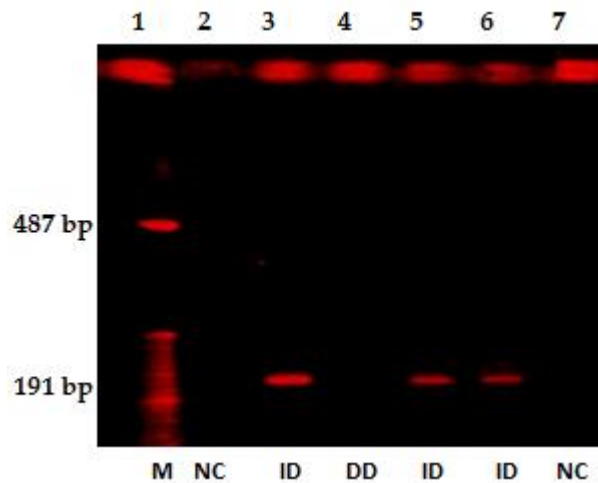
Quadro 4 - Indicador específico utilizado nas reações PCR para o polimorfismo do gene ACE

Polimorfismo	Sequência
ACE I/D	direito 5' TTTGAGACGGAGTCTCGCTC `3 reverso 5' GATGTGGCCATCACATTTCGT CAGAT `3

Fonte: Autoria própria (2023)

A reação adicional (específica para a inserção) teve as mesmas concentrações dos reagentes da primeira PCR. O programa de amplificação foi: 95°C por 5 minutos de desnaturação inicial e liberação da enzima, seguida de 35 ciclos de desnaturação a 94°C por 30 segundos, anelamento a 56°C por 1 minuto, extensão a 72°C por 1 minuto. Terminados os 35 ciclos, houve 5 minutos de extensão final a 72°C. Os resultados foram visualizados após eletroforese em gel de agarose a 3% e revelados com brometo de etídeo a 5 µg/mL. O aparecimento de uma banda de 408 pares de base é indicativo da presença do alelo I, ou seja, as amostras anteriormente genotipadas como D/D passaram a ser classificadas como I/D. Marcador de linha 1, Controles negativos das linhas 2 e 7, Linhas 3, 5 e 6 (ID heterozigoto) e Linhas 4 (homozigoto DD). (Figura 12). Amostras classificadas como I/D ou I/I na primeira reação foram utilizadas como controle positivo da reação específica para a inserção.

Figura 10 - Determinação visual da segunda reação em cadeia da polimerase (PCR) utilizando um primer de inserção específico para o alelo I



Fonte: Autoria própria (2023)

3.8 Análise Estatística

Os dados foram analisados por meio de estatística descritiva (média, desvio padrão e porcentagens), no *software* R versão 4.0.5 (R Core Team, 2020). As variáveis de composição corporal, eletroquímicas e do distúrbio ácido-base (pré e pós-corrida), foram inicialmente analisadas para o padrão de normalidade, utilizando o teste de Shapiro-Wilk, que mostrou a normalidade dos dados ($p > 0,05$). Foram aplicados métodos paramétricos nas análises subsequentes. Teste T amostras pareadas (Shapiro e Wilk, 1965; Bussab e Morettin, 2010). A magnitude do tamanho do efeito

(ES) entre os grupos foi calculada usando o *d* de Cohen com intervalo de confiança de 95% (IC) (Sawilowsky, 2009). A correlação das variáveis antropométricas, dos elementos eletroquímicos (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Glicose, Lactato e Hct) e do distúrbio acidobásico (pH, pCO_2 , pO_2 e HCO_3^-) com o tempo de corrida foi avaliada pelo teste não paramétrico do coeficiente de correlação de Spearman (*R_s*) (Bussab e Morettin, 2010). A distribuição dos genótipos dos polimorfismos (*ACTN3 R577X*, *ACE I/D*, *CK MM A/G NcoI*) sobre a população normal foi verificada pelo teste de equilíbrio de Hardy-Weinberg (Oliveira *et al.*, 2021).

A distribuição dos genótipos do polimorfismo *ACTN3 R577X* (RR – RX – XX); do polimorfismo *I/D da ECA* (DD – ID – II) e do polimorfismo *CK MM A/G NcoI* (AA – AG – GG), bem como as frequências alélicas foram comparadas pelo teste qui-quadrado de Pearson com correção de Yates (Shapiro e Wilk, 2010). Quando a incidência foi menor que cinco, foi aplicado o teste exato de Fisher (Bussab e Morettin, 2010). A magnitude do tamanho do efeito entre os grupos foi calculada pelo *V* de Cramer. Foi utilizado o ponto de corte (0,06 – 0,17 = pequeno; 0,18 – 0,29 = médio e 0,3 = alto) sugerido por Cohen (Cohen, 1988). A comparação entre os genótipos dos polimorfismos estudados com os tempos de execução da corrida, foram inicialmente analisados para o padrão de normalidade, utilizando o teste de Shapiro-Wilk, seguido do Teste T de Amostras Independentes (Shapiro e Wilk, 1965; Bussab e Morettin, 2010). A magnitude do tamanho do efeito (ES) entre os grupos foi calculada usando o *g* de Hedges com intervalo de confiança de 95% (IC) (Sawilowsky, 2009).

A comparação das variáveis da composição corporal (pré e pós-corrida) entre os genótipos dos polimorfismos (*ACTN3 R577X*, *ACE I/D*, *CK MM A/G NcoI*), foram inicialmente analisadas para o padrão de normalidade, utilizando o teste de Shapiro-Wilk, seguido do Teste T de Amostras Independentes (Shapiro e Wilk, 1965; Bussab e Morettin, 2010). A magnitude do tamanho do efeito (ES) entre os grupos foi calculada usando o *g* de Hedges com intervalo de confiança de 95% (IC) (Sawilowsky, 2009).

A influência dos polimorfismos *ACTN3 R577X*, *ACE I/D* e *CK MM A/G NcoI* e seus genótipos nas variáveis eletroquímicas e distúrbio ácidobase e antropométricas para os momentos (pré e pós-corrida), foi verificada pelo Teste T de Amostras Independentes (Bussab e Morettin, 2010). A magnitude do tamanho do efeito (ES) entre os grupos foi calculada usando o *g* de Hedges com intervalo de confiança (IC) de 95%. Para classificar o efeito de tamanho de Hedges foi utilizado o ponto de corte

((0,01) = muito pequeno, (0,2) = pequeno, (0,5) = médio, (0,8) = grande, (1,2) = muito grande, e (2,0) enorme)) como sugerido por Sawilowsk (2009).

A correlação das variáveis antropométricas dos polimorfismos estudados e seus genótipos com o tempo de corrida foi avaliada usando regressão linear simples e categorizada da seguinte forma: correlação fraca (0,20–0,39), correlação moderada (0,40–0,59), correlação forte (0,60–0,79) e correlação muito forte (0,80–1,0). A fim de minimizar o erro do Tipo I, foi utilizada a correção de Bonferroni, ajustando o nível de significância com base no número de testes realizados (Conagin, 1998). O cálculo do tamanho da amostra foi realizado usando software de análise de potência estatística (GPower, Versão 3.1.9.2, Aichach, Alemanha), adotando uma diferença padronizada de 0,7, com $\alpha = 0,05$ e poder = 0,8 para ser considerado significativo. A análise de potência sugeriu que encontrar uma diferença significativa nas medidas exigiria um tamanho total de amostra de 19 sujeitos. Para todos os procedimentos estatísticos, foi adotado um nível de significância de $p \leq 0,05$ (Quadro 5).

Quadro 5 - Análise, métodos estatísticos e justificativa de utilização

Análise	Método Estatístico	Justificativa	Referência
Normalidade das Variáveis estudadas	Teste de Shapiro-Wilk	Sensibilidade a desvios da normalidade, robustez para amostras pequenas, essencial para validade nas análises	(SHAPIRO e WILK, 1965; BUSSAB e MORETTIN, 2010)
Comparação Pré e Pós-Corrída	Teste T Amostras Pareadas	Avaliação de diferenças dentro do mesmo grupo, considerando dependência entre observações em pares	(SHAPIRO e WILK, 1965; BUSSAB e MORETTIN, 2010)
Comparação Pré e Pós-Corrída	d de Cohen	Avaliação crítica do poder estatístico e relevância clínica das diferenças	(SAWILOWSKY, 2009)
Correlação Eletroquímicas e tempo de corrida	Coefficiente de Spearman (Rs)	Robustez para relações não lineares e outliers	(BUSSAB e MORETTIN, 2010)
Distribuição Genotípica com a população normal	Teste de Hardy-Weinberg	Avaliação de equilíbrio genético na população	(OLIVEIRA <i>et al.</i> , 2021)
Distribuição Genotípica e Alélica	Teste qui-quadrado (Pearson χ^2 / correção de Yates, Fisher)	Controle de erro Tipo I em distribuições genotípicas e ajuste para amostras pequenas	(BUSSAB e MORETTIN, 2010)
Distribuição Genotípica e Alélica	V de Cramer	Métrica adicional para quantificar associação	(COHEN, 1988)

Comparação Genótipos e Tempo de Corrida	Teste T Amostras Independentes	Análise robusta das diferenças no tempo de corrida	(SHAPIRO e WILK, 1965; BUSSAB e MORETTIN, 2010)
Comparação Composição Corporal e polimorfismos	Teste T Amostras Independentes	Avaliação de diferenças nas médias entre genótipos	(SHAPIRO e WILK, 1965; BUSSAB e MORETTIN, 2010)
Comparação Composição Corporal e polimorfismos	g de Hedges	Correção de viés amostral em amostras pequenas para estimativa precisa do tamanho do efeito	(SAWILOWSKY, 2009)
Influência Polimorfismos nas variáveis eletroquímicas e do distúrbio acidobásico	Teste T Amostras Independentes	Identificação de diferenças estatisticamente significativas	(SHAPIRO e WILK, 1965; BUSSAB e MORETTIN, 2010)
Influência Polimorfismos nas variáveis eletroquímicas e do distúrbio acidobásico	g de Hedges	Correção de viés amostral para estimativa robusta do tamanho do efeito	(SAWILOWSKY, 2009)
Correlação das variáveis antropométricas, genótipos com tempo de Corrida	Regressão Linear Simples	Modelagem da relação linear entre genótipo e tempo de corrida	(MARTINS, 2019)
Correlação das variáveis antropométricas, genótipos e tempo de Corrida	Bonferroni	Controle de erro Tipo I em múltiplos testes	(CONAGIN, 1998)

Fonte: Autoria própria (2023)

4 RESULTADOS

A Tabela 1 apresenta os valores médios e desvios padrão das variáveis de composição corporal. Observou-se uma perda média de 2 kg na Massa Corporal Total (MCT) do momento pré-corrída para o pós-corrída ($p=0,0001$), com um tamanho de efeito d Cohen caracterizado como pequeno (0,32). O Índice de Massa Corporal (IMC) diminuiu $0,7 \text{ kg/m}^2$, também do pré para o pós-corrída ($p=0,001$), com um efeito d Cohen classificado como pequeno (0,33). O percentual de gordura apresentou uma perda média de 15,5% ($p=0,01$), com um tamanho de efeito d Cohen considerado grande (0,87). A massa gorda (MG) teve uma redução média de 17,7% ($p=0,003$), com um tamanho de efeito d Cohen classificado como grande (0,90). Por outro lado, a massa magra (MM) não apresentou uma perda significativa ($p=0,22$), e o tamanho do efeito d Cohen foi caracterizado como pequeno (0,13).

Tabela 1 – Variáveis antropométricas dos 22 atletas ultramaratonistas de 105 km na montanha.

Variáveis	Pré-Corrída média \pm DP	Pós-Corrída média \pm DP	p-valor	Perda %	Tamanho do efeito d Cohen	IC 95%
Estatura	173 \pm 5,8	173 \pm 5,8	1,00	-	0,00	-0,42 – 0,44
MCT(kg)	72,7 \pm 6,4	70,7 \pm 6,0	0,0001*	2,8	0,32	-0,11- 0,74
IMC (kg/m ²)	24,3 \pm 2,3	23,6 \pm 2,0	0,001*	2,9	0,33	-0,10 – 0,74
% G	10,9 \pm 2,2	9,2 \pm 1,7	0,01*	15,6	0,87	0,38 – 1,26
MG (kg)	7,9 \pm 1,8	6,5 \pm 1,3	0,003*	17,2	0,90	0,41 – 1,34
MM (kg)	65,0 \pm 6,5	64,2 \pm 5,5	0,22	1,2	0,13	-0,29 – 0,56

* $p \leq 0,05$; MCT= massa corporal total; IMC= Índice de massa corporal; %G = percentual de gordura; MG = massa gordura; MM = massa magra.

Fonte: Autor (2023)

A Tabela 2 resume as correlações entre o tempo de corrida, medido em minutos, e as médias e desvios padrão das variáveis de composição corporal. Os resultados revelam associações significativas entre as variáveis antropométricas e o tempo de corrida, como evidenciado pelas seguintes observações: a MCT pré-corrída (72,7 \pm 6,4 kg) em comparação com o pós-corrída (70,7 \pm 6,0 kg) apresentou uma correlação positiva ($R_s=0,52$, $p=0,01$). Isso sugere que à medida que a perda de MCT aumenta, o tempo de corrida diminui, indicando que uma maior perda de massa corporal total está associada a tempo de corrida mais curtos. O IMC pré-corrída (24,3 \pm 2,3 kg/m²) em comparação com o pós-corrída (23,6 \pm 2,0 kg/m²) também exibiu

uma correlação positiva significativa com o tempo de corrida ($R_s=0,53$, $p=0,01$). Isso implica que quanto menor o IMC, menor é o tempo de corrida, indicando que atletas com IMC mais baixo tendem a apresentar tempos de corrida mais curtos. A MM pré-corrida ($65,0\pm 6,5$ kg) em comparação ao pós-corrida ($64,2\pm 5,5$ kg) também demonstrou uma correlação positiva ($R_s=0,47$, $p=0,02$), sugerindo que uma diminuição na MM está associada a tempo de corrida mais curtos.

Tabela 2 - Correlação entre tempo de corrida e composição corporal para a amostra do estudo (n=22).

Variáveis	Pré-corrida	Pós-corrida	Tempo de corrida (Rs)	p-valor
Estatura	173 \pm 5,8	173 \pm 5,8	0,00	0,99
MCT (kg)	72,7 \pm 6,4	70,7 \pm 6,0	0,52	0,01*
IMC (kg/m²)	24,3 \pm 2,3	23,6 \pm 2,0	0,53	0,01*
% G	10,9 \pm 2,2	9,2 \pm 1,7	0,063	0,775
MG (kg)	7,9 \pm 1,8	6,5 \pm 1,3	0,26	0,230
MM (kg)	65,0 \pm 6,5	64,2 \pm 5,5	0,47	0,02*

* $p\leq 0,05$. MCT= massa corporal total; IMC= Índice de massa corporal; %G = percentual de gordura; MG = massa gordura; MM = massa magra

Fonte: Autor (2023)

A Tabela 3 exibe as médias e desvios padrão das variáveis eletroquímicas e do distúrbio acidobásico. Foi observada uma significativa perda média de 1,3% no nível de Na^+ do pré-corrida para o pós-corrida ($p=0,01$), acompanhado de um tamanho de efeito d Cohen classificado como grande (0,67). O K^+ diminuiu notavelmente em 18,9% da condição pré para pós-corrida ($p\leq 0,0001$), com um tamanho de efeito d Cohen categorizado como muito grande (2,22). O Ca^{2+} teve uma redução de 8,4% do pré para o pós-corrida ($p\leq 0,0001$), apresentando um efeito d Cohen classificado como moderado (0,33). A pCO_2 registrou uma diminuição notável de 16,8% do pré para o pós-corrida ($p\leq 0,0001$), com um tamanho de efeito d Cohen caracterizado como muito grande (2,73). Por fim, o HCO_3^- apresentou uma redução marcante de 16,9% do pré para o pós-corrida ($p\leq 0,0001$), com um efeito d Cohen igualmente classificado como muito grande (2,27).

Tabela 3 - Variáveis eletroquímicas e dos distúrbios acidobásicos dos 22 atletas ultramaratonista de 105 km na montanha.

Variáveis	Pré-Corrída média ± DP	Pós-Corrída média ± DP	p-valor	Perda %	Tamanho do efeito d Cohen	IC 95%
Na ⁺ (mmol/L)	141,8±1,7	140±3,7	0,01*	1,3	0,67	0,20 – 1,09
K ⁺ (mmol/L)	5,3±0,6	4,3±0,3	<0,0001*	18,9	2,22	1,44 – 2,82
Ca ²⁺ (mmol/L)	1,2±0,1	1,1±0,5	<0,0001*	8,4	0,33	-0,10 – 0,75
Glu (mg/dL)	94,8±9,8	98,3±18,1	0,41	3,6	0,25	-0,17 – 0,67
Lac (mmol/L)	2,2±0,8	2,7±1,0	0,07	1,2	0,56	0,11 – 0,97
Hct (%)	46,7±2,4	45,3±3,3	0,06	3,0	0,49	0,05 – 0,91
pH	7,4±0,0	7,4±0,0	0,93	0,0	-	-
pCO ₂ (mmHg)	40,0±3,1	33,3±1,8	<0,0001*	16,8	2,73	1,82 – 3,43
pO ₂ (mmHg)	67,6±6,0	66,4±9,4	0,51	1,8	0,19	-0,23 – 0,62
HCO ₃ ⁻ (mmol/L)	26,1±1,8	21,7±1,5	<0,0001*	16,9	2,27	1,77 – 3,34

*p≤0,05. sódio (Na⁺), potássio (K⁺), cálcio (Ca²⁺), Glicose (Glu), Lactato (Lac⁻), hematócrito (Hct) potencial hidrogeniônico (pH), pressão parcial de gás carbônico (pCO₂), pressão parcial de oxigênio (pO₂) e bicarbonato (HCO₃⁻), milímetros de mercúrio (mmHg), milimoles por litro (mmol/L).

Fonte: Autor (2023)

A Tabela 4 apresenta as correlações entre o tempo de corrida dos atletas em minutos e as médias com desvio padrão das variáveis eletroquímicas e distúrbio acidobásico. Os resultados revelam as seguintes observações: não houve correlações significativas entre as variáveis eletroquímicas e o tempo de corrida em minutos, com exceção da correlação do Ca²⁺ pré-corrída (1,25±0,09 mmol/L) em comparação com o Ca²⁺ pós-corrída (1,13±0,04 mmol/L) que apresentou uma correlação positiva significativa (Rs=0,35, p=0,01). Isso sugere que à medida que a perda de Ca²⁺ aumenta, o tempo de corrida diminui.

Tabela 4 - Correlação entre tempo de corrida e variáveis eletroquímicas e dos distúrbios acidobásico para a amostra do estudo (n=22)

Variáveis	Valores de Referência	Pré-corrída	Pós-corrída	Tempo de corrida (Rs)	p-valor
pH	7,38 – 7,44	7,42±0,02	7,42±0,03	0,018	0,728
pCO ₂ (mmHg)	38 – 42	40,05±3,09	33,36±1,81	- 0,15	0,493
pO ₂ (mmHg)	80 – 100	67,64±1,28	66,45±9,42	-0,22	0,161
Na ⁺ (mmol/L)	136 – 145	141,82±1,74	140,04±3,74	0,10	0,386
K ⁺ (mmol/L)	3,5 – 5,0	5,39±0,67	4,35±0,35	0,20	0,156
Ca ²⁺ (mmol/L)	1,12 – 1,23	1,25±0,09	1,13±0,04	0,35	0,01*
Glu (mg/dL)	70 – 99	94,86±9,84	98,31±18,10	-0,085	0,136
Lac (mmol/L)	0,7 – 2,1	2,26±0,86	2,78±1,02	0,15	0,672
Hct (%)	42% - 50%	46,73±2,43	45,36±3,34	0,38	0,121
HCO ₃ ⁻ (mmol/L)	23 – 26	26,16±1,77	21,77±1,52	- 0,063	0,891

*p≤0,05. potencial hidrogeniônico (pH), pressão parcial de gás carbônico (pCO₂), pressão parcial de oxigênio (pO₂), sódio (Na⁺), potássio (K⁺), cálcio (Ca²⁺), Glicose (Glu), Lactato (Lac⁻), hematócrito (Hct) e bicarbonato (HCO₃⁻), milímetros de mercúrio (mmHg), milimoles por litro (mmol/L).

Fonte: Autor (2023)

A distribuição genotípica e a frequência alélica dos polimorfismos ACTN3 R577X, ACE I/D e CK MM A/G Ncol estão resumidas na Tabela 5. Ao analisar esses

polimorfismos, notou-se a predominância de genótipos mistos para força, potência e resistência (RX, ID, AG) entre os participantes (RX=54,4%; ID=63,6%; AG=50%; χ^2 com correção de Yates = 7,23; $p=0,0001$; $p=0,0001$ e $p=0,007$, respectivamente). Os genótipos RX, ID e AG apresentaram um efeito de tamanho alto (1,12; 0,98; 0,62). A distribuição genotípica está em equilíbrio de Hardy-Weinberg ($p>0,05$).

Quanto à frequência alélica absoluta e relativa, observou-se que o polimorfismo ACE I/D possui uma predominância significativa do alelo I, com uma frequência de 63,6% (χ^2 com correção de Yates = 13,72; $p=0,0002$). O efeito de tamanho do alelo I foi calculado como alto (0,58). Embora o polimorfismo CK MM Ncol não tenha apresentado diferença significativa para o alelo A (58,8%; χ^2 com correção de Yates = 3,17; $p=0,07$), o efeito de tamanho do alelo A foi considerado médio (0,28).

Tabela 5 – Análise comparativa da distribuição genotípica e alélica dos polimorfismos, *ACTN3 R577X*, *ACE I/D* e *CK MM A/G NcoI* dos 22 atletas ultramaratonistas de 105 km na montanha

Polimorfismo	Genótipo	n	Frequência genotípica (%)	p valor	V Cramer	Alelo	n	Frequência alélica(%)	p valor	V Cramer
<i>ACTN3 R577X</i>	RR	5	22,7	0,0001*	1,12	R	22	50	ns	-
	RX	12	54,5			X	22	50		
	XX	5	22,7							
<i>ACE I/D</i>	DD	1	4,5	0,0001*	0,98	D	16	36,4	0,0002*	0,58
	ID	14	63,6			I	28	63,6		
	II	7	31,8							
<i>CK MM A/G NcoI</i>	AA	7	31,8	0,007*	0,62	A	19	43,2	0,07	0,28
	AG	11	50			G	25	56,8		
	GG	4	18,2							

*p≤0,05; RR=funcional/funcional; RX=funcional/não funcional; XX=não funcional/não funcional; DD=deleção/deleção; ID=inserção/deleção; II=inserção/inserção; GG=restrição/restrição; AG=inserção/restrição; AA=inserção/inserção.

Fonte: Autor (2023)

A Tabela 6 apresenta os resultados das análises comparativas entre diferentes genótipos do polimorfismo *ACTN3 R577X* para cada variável antropométrica, antes e depois da corrida. Os resultados são organizados de acordo com as comparações de genótipos RR vs. RX, RX vs. XX e RR vs. XX. Após a avaliação dos valores médios pré e pós-corrida das variáveis antropométricas em relação aos genótipos do polimorfismo *ACTN3 R577X*, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas ($p > 0,05$).

Tabela 6 – Análise comparativa entre às variáveis de composição corporal pré e pós-corrida relacionadas aos genótipos do polimorfismo ACTN3 R557X na amostra do estudo (n=22)

Polimorfismo ACTN3 R557X	Comparação Genotípica							
	RX (n=12) vs. RR (n=5)				RX (n=12) vs. XX (n=5)			
Variáveis	Pré	p- valor	g Hedges	95% CI	Pós	p- valor	g Hedges	IC 95%
MCT (kg)	72,0±6,1 – 70,7±6,8	0,71	0,2	0,80 – 1,19	70,5±5,4 – 69,5±6,9	0,73	0,16	-0,83 – 1,15
IMC (kg/m ²)	24,5±1,8 – 22,8±2,6	0,18	0,79	-0,24 – 1,81	23,9±1,5 – 22,4±2,7	0,17	0,75	-0,27 – 1,77
%G	11,2±2,7 – 9,9±2,0	0,28	0,49	-0,52 – 1,49	9,6±1,8 – 8,8±1,9	0,42	0,42	-0,58 – 1,42
MG (kg)	8,1±1,7 – 6,9±1,2	0,2	-0,84	-1,87 – 0,19	6,8±1,5 – 6,0±1,2	0,34	0,53	-0,47 – 1,54
MM (kg)	64,0±5,6 – 63,8±6,9	0,93	0,05	-0,94 – 1,04	63,7±4,6 – 63,4±7,0	0,9	0,05	-0,94 – 1,04
RR (n=5) vs. XX (n=5)								
Variáveis	Pré	p- valor	g Hedges	95% CI	Pós	p- valor	g Hedges	IC 95%
MCT (kg)	72,0±6,1 – 75,5±7,8	0,33	-0,5	-1,51 – 0,50	70,5±5,4 – 72,6±7,6	0,53	-0,33	-1,33 – 0,67
IMC (kg/m ²)	24,5±1,8 – 25,5±2,7	0,38	-0,46	-1,46 – 0,55	23,9±1,5 – 23,9±1,1	0,94	0	-0,99 – 0,99
%G	11,2±2,7 – 11,1±2,5	0,95	0,04	-0,95 – 1,03	9,6±1,8 – 8,8±1,1	0,38	0,46	-0,54 – 1,46
MG (kg)	8,1±1,7 – 8,7±2,4	0,57	-0,3	-1,29 – 0,70	6,8±1,5 – 6,4±2,2	0,58	0,22	-0,77 – 1,21
MM (kg)	64,0±5,6 – 68,8±8,0	0,18	-0,72	-1,74 – 0,30	63,7±4,6 – 66,2±7,0	0,40	-0,44	-1,45 – 0,56
RR (n=5) vs. XX (n=5)								
Variáveis	Pré	p- valor	g Hedges	95% CI	Pós	p- valor	g Hedges	IC 95%
MCT (kg)	70,7±6,8 – 75,5±7,8	0,33	0,59	-0,56 – 1,74	69,5±6,9 – 72,6±7,6	0,53	0,39	0,75 – 1,52
IMC (kg/m ²)	22,8±7,2 – 25,5±2,7	0,16	0,32	-0,80 – 1,45	22,4±2,7 – 23,9±1,1	0,41	0,66	-0,50 – 1,81
%G	9,9±2,0 – 11,1±2,5	0,40	0,48	-0,66 – 1,62	8,8±1,9 – 8,8±1,1	0,85	0	-1,12 – 1,12
MG (kg)	6,9±1,2 – 8,7±2,4	0,19	0,86	-0,32 – 2,04	6,0±1,2 – 6,4±2,2	0,75	0,2	-0,92 – 1,33
MM (kg)	63,8±6,9 – 68,8±8,0	0,32	0,6	-0,55 – 1,76	63,4±7,0 – 66,2±7,0	0,46	-0,36	-1,49 – 0,77

p>0,05. MCT = massa corporal total; IMC = índice de massa corporal; %G = porcentagem de gordura corporal; MG = massa gordura; MM = massa magra.

Fonte: Autor (2023)

A Tabela 7 apresenta os resultados das análises comparativas entre diferentes genótipos dos polimorfismos *ACE I/D* e *CK MM A/G NcoI* para cada variável antropométrica, tanto antes quanto depois da corrida. Os genótipos são categorizados como ID vs II para *ACE I/D* e AA vs. AG, AA vs. GG e GG vs. AG para *CK MM A/G NcoI*. Após avaliar os valores médios das variáveis antropométricas pré e pós-corrida em relação aos genótipos dos polimorfismos *ACE I/D* e *CK MM A/G NcoI*, a análise estatística revelou que o polimorfismo *CK MM A/G NcoI* (AA vs. AG) apresentou diferenças significativas para MCT e MM ($p \leq 0,05$). Isso indica que indivíduos com o genótipo AA apresentaram MCT e MM mais elevados em comparação com aqueles com o genótipo AG antes e depois da corrida. Os demais polimorfismos não mostraram diferenças significativas para as variáveis estatísticas.

Tabela 7 - Análise comparativa entre às variáveis de composição corporal pré e pós-corrida relacionadas aos genótipos do polimorfismo ACE I/D e CK MM A/G Ncol para a amostra do estudo (n=22)

Polimorfismo ACE I/D		Comparação Genotípica ID (n=14) vs II (n=7)							
Variáveis	Pré	p- valor	g Hedges	95% CI	Pós	p- valor	g Hedges	IC 95%	
MCT (kg)	71,6±5,9 - 74,2±7,5	0,37	-0,39	-1,27 - 0,49	69,6±5,0 - 72,1± 7,7	0,37	-0,40	-1,28 - 0,48	
IMC (kg/m ²)	24,5±2,2 - 24,1±2,6	0,68	0,16	-0,71 - 1,04	23,7±1,9 - 22,9±2,1	0,36	0,99	-0,49 - 1,27	
%G	10,9±2,7 - 10,4±1,6	0,66	-0,24	-1,11 - 0,64	9,2±1,5 - 9,3±2,3	0,86	-0,05	-0,92 - 0,82	
MG (kg)	7,8±2,1 - 7,8±1,5	0,99	0,00	-0,87 - 0,87	6,4±1,0 - 6,7±2,0	0,57	-0,21	-1,08 - 0,67	
MM (kg)	63,9±5,4 - 67,2±8,2	0,26	-0,49	-1,38 - 0,39	63,2±4,9 - 65,3±6,7	0,43	-0,36	-1,24 - 0,51	
Polimorfismo CK MM A/G Ncol		Comparação Genotípica AA (n=7) vs AG (n=11)							
Variáveis	Pré	p- valor	g Hedges	95% CI	Pós	p- valor	g Hedges	IC 95%	
MCT (kg)	77,1± 5,9 - 69,9±5,7	0,02*	1,19	0,20 - 2,17	74,6±5,6 - 68±5,1	0,02*	1,19	0,21 - 2,17	
IMC (kg/m ²)	25,6±2,3 - 23,9±2,0	0,13	0,76	-0,17 - 1,70	24,4±2,0 - 23,3±1,8	0,27	0,56	-0,36 - 1,48	
%G	10,5±1,8 - 11,2±2,8	0,56	-0,27	-1,18 - 0,64	9,4±2,4 - 9,1±1,4	0,75	0,16	-0,75 - 1,06	
MG (kg)	8,2±1,3 - 7,9±2,4	0,79	0,14	-0,76 - 1,04	7,0±1,8 - 6,2±1,0	0,12	0,56	-0,36 - 1,48	
MM (kg)	70,3±6,9 - 62,1±4,2	0,006*	1,45	0,43 - 2,47	67,7±5,5 - 61,9±4,8	0,03*	1,09	0,12 - 2,06	
		AA (n=7) vs GG (n=4)							
Variáveis	Pré	p- valor	g Hedges	95% CI	Pós	p- valor	g Hedges	IC 95%	
MCT (kg)	77,1±5,9 - 71,6±6,8	0,19	0,81	-0,36 - 1,98	74,6±5,6 - 70,9±6,8	0,35	0,56	-0,59 - 1,71	
IMC (kg/m ²)	25,6±2,3 - 23,2±2,4	0,14	0,94	-0,25 - 2,13	24,4±2,0 - 23,0±2,5	0,33	0,59	-0,56 - 1,74	
%G	10,5±1,8 - 10,6±1,5	0,96	0,05	-1,07 - 1,18	9,4±2,4 - 9,1±1,3	0,78	0,13	-0,99 - 1,26	
MG (kg)	8,2±1,3 - 7,5±1,0	0,41	0,53	-0,62 - 1,67	7,0±1,8 - 6,5±1,4	0,61	0,27	-0,86 - 1,40	
MM (kg)	70,3±6,9 - 64,0±6,5	0,17	0,85	-0,33 - 2,03	67,7±5,5 - 64,4±5,6	0,37	0,55	-0,60 - 1,69	
		GG (n=4) vs AG (n=11)							
Variáveis	Pré	p- valor	g Hedges	95% CI	Pós	p- valor	g Hedges	IC 95%	
MCT (kg)	71,6±6,8 - 69,9±5,7	0,62	0,27	-0,81 - 1,35	70,9±6,8 - 68,0±5,1	0,42	0,49	-0,60 - 1,58	
IMC (kg/m ²)	23,2±2,4 - 23,9±2,0	0,57	0,31	0,77 - 1,40	23,0±2,5 - 23,3±3,5	0,78	0,09	-0,99 - 1,16	
%G	10,6±1,5 - 11,2±2,8	0,66	0,22	-0,86 - 1,30	9,1±1,3 - 9,1±1,4	0,92	0,00	-1,08 - 1,08	
MG (kg)	7,5±1,0 - 7,9±2,4	0,66	0,17	-0,90 - 1,25	6,5±1,4 - 6,2±1,2	0,74	0,23	-0,85 - 1,31	
MM (kg)	64,0±6,5 - 62,1±4,2	0,50	0,37	-0,71 - 1,46	64,4±5,6 - 61,9±4,8	0,41	0,47	-0,62 - 1,56	

*p≤0,05. MCT = massa corporal total; IMC = índice de massa corporal; %G = porcentagem de gordura corporal; MG = massa gordura; MM = massa magra.

Fonte: Autor (2023)

Os resultados da Tabela 8 fornecem uma visão geral das análises de regressão linear simples estabelecendo relações entre as variáveis antropométricas e o impacto do genótipo *ACTN3 R577X* no tempo de corrida em minutos para a amostra do estudo. Os atletas com o genótipo RR apresentaram uma forte correlação com o IMC em comparação com o tempo de corrida ($R=0,97$; $p=0,004$). Os genótipos RX e XX não demonstraram correlação entre as variáveis antropométricas e o tempo de corrida ($p>0,05$).

Tabela 8 – Relação entre as variáveis de composição corporal do genótipo *ACTN3 R577X* e tempo de corrida para a amostra do estudo (n=22).

Genótipo	Variáveis	R	R ²	R Ajustado	Erro padrão	p- value	p-valor Ajustado
RR (n=5)	MCT(kg)	0,56	0,31	0,08	9,4	0,32	1,6
	IMC (kg/m ²)	0,97	0,95	0,94	6,1	0,004	0,004*
	%G	0,20	0,04	-0,27	40,7	0,74	3,7
	MG (kg)	0,54	0,29	0,06	55,2	0,34	1,7
	MM (kg)	0,46	0,21	-0,04	10,6	0,43	2,15
RX (n=12)	MCT (kg)	0,32	0,10	0,01	9,4	0,29	3,48
	IMC (kg/m ²)	0,03	0,00	-0,09	64,5	0,90	10,8
	%G	0,18	0,03	-0,06	28,4	0,55	6,6
	MG (kg)	0,24	0,06	-0,03	33,2	0,44	5,28
	MM (kg)	0,30	0,09	0,00	11,2	0,34	4,08
XX (n=5)	MCT (kg)	0,63	0,40	0,20	10,2	0,25	1,25
	IMC (kg/m ²)	0,83	0,69	0,59	25,3	0,07	0,35
	%G	0,07	0,00	-0,32	87,8	0,90	4,5
	MG (kg)	0,30	0,09	-0,21	87,0	0,61	3,05
	MM (kg)	0,63	0,40	0,21	11,1	0,24	1,2

* $p\leq 0,05$. MCT = massa corporal total; IMC = índice de massa corporal; %G = porcentagem de gordura corporal; MG = massa gordura; MM = massa magra.

Fonte: Autor (2023)

Os resultados da Tabela 9 fornecem uma visão geral das análises de regressão linear simples que avaliaram as relações entre as variáveis antropométricas do genótipo *ACE I/D* e o tempo de corrida para a amostra do estudo. O genótipo II mostrou uma forte correlação significativa com várias medidas de composição corporal, incluindo % de gordura e MG, em relação ao tempo de corrida. Esses achados sugerem que esse genótipo pode ter uma influência significativa na relação entre a composição corporal e o tempo de corrida. O genótipo ID não apresentou correlação entre as variáveis antropométricas quando comparado com o tempo de corrida ($p>0,05$). Os resultados do genótipo DD não foram apresentados porque apenas um atleta foi genotipado com esse genótipo no presente estudo.

Tabela 9 - Relação entre as variáveis de composição corporal do genótipo ACE I/D e tempo de corrida para a amostra do estudo (n=22)

Genótipo	Variáveis	R	R ²	R Ajustado	Erro padrão	p- valor	p-valor Ajustado
ID (n=14)	MCT (kg)	0,47	0,22	0,15	9,6	0,08	1,12
	IMC (kg/m ²)	0,44	0,19	0,12	25,4	0,11	1,54
	%G	0,24	0,06	-0,01	35,3	0,38	5,32
	MG (kg)	0,47	0,22	0,15	46,5	0,08	1,12
	MM (kg)	0,38	0,14	0,07	10,2	0,17	2,38
II (n=7)	MCT (kg)	0,63	0,40	0,28	6,28	0,12	0,84
	IMC (kg/m ²)	0,82	0,67	0,61	17,02	0,02	0,14
	%G	0,91	0,84	0,81	10,7	0,003	0,003*
	MG (kg)	0,99	0,99	0,98	3,08	<0,0001	<0,0001*
	MM (kg)	0,43	0,18	0,02	8,46	0,33	2,31

*p<0,05. MCT = massa corporal total; IMC = índice de massa corporal; %G = porcentagem de gordura corporal; MG = massa gordura; MM = massa magra.

Fonte: Autor (2023)

A Tabela 10 resume as análises de regressão linear simples entre as variáveis antropométricas e o genótipo *CK MM A/G Ncol* em relação ao tempo de corrida. Os genótipos AA, AG e GG não apresentaram correlação entre as variáveis antropométricas e o tempo de corrida (p>0,05).

Tabela 10 - Relação entre as variáveis de composição corporal do genótipo CK MM A/G Ncol e tempo de corrida para a amostra do estudo (n=22)

Genótipo	Variáveis	R	R ²	R Ajustado	Erro Padrão	p- valor	p-valor Ajustado
AA (n=7)	MCT (kg)	0,09	0,00	-0,18	10,5	0,83	5,81
	IMC (kg/m ²)	0,63	0,39	0,27	22,9	0,12	0,84
	%G	0,15	0,02	-0,17	24,2	0,35	2,45
	MG (kg)	0,15	0,02	-0,17	32,5	0,73	5,11
	MM (kg)	0,15	0,02	-0,17	10,5	0,74	5,18
AG (n=11)	MCT (kg)	0,68	0,46	0,40	8,9	0,02	0,22
	IMC (kg/m ²)	0,58	0,34	0,27	27,1	0,05	0,55
	%G	0,08	0,00	-0,10	43,0	0,80	8,8
	MG (kg)	0,21	0,04	-0,05	56,5	0,52	5,72
	MM (kg)	0,67	0,45	0,39	9,5	0,02	0,22
GG (n=4)	MCT (kg)	0,90	0,82	0,73	9,5	0,09	0,36
	IMC (kg/m ²)	0,72	0,52	0,28	42,2	0,27	1,08
	%G	0,68	0,47	0,21	82,6	0,31	1,24
	MG (kg)	0,85	0,72	0,59	54,6	0,14	0,56
	MM (kg)	0,88	0,78	0,67	12,8	0,11	0,44

p>0,05. MCT = massa corporal total; IMC = índice de massa corporal; %G = porcentagem de gordura corporal; MG = massa gordura; MM = massa magra.

Fonte: Autor (2023)

A Tabela 11 Analisa a relação entre os genótipos dos polimorfismos *ACTN3 R577X*, *ACE I/D* e *CK MM A/G Ncol* com a média e o desvio padrão dos tempos de corrida em minutos, foi possível observar que os genótipos dos polimorfismos do gene *ACTN3 RR* (965±138,8 min.) do gene *ACE I/D*, II (1034,4±142,2 min.) e do gene *CK*

MM, GG (1028,7±218,9 min.), embora apresentem valores médios mais baixos em relação aos demais genótipos, esta diferença não é significativa ($p>0,05$).

Tabela 11 - Comparação do Tempo de Corrida entre Diferentes Genótipos dos polimorfismos *R577X*, *ID* e *NcoI* da amostra do estudo (n =22)

Polimorfismos	Genótipo	Tempo (min)	p-valor	g Hedges	IC 95%
<i>ACTN3 R577X</i>	RR – RX	965±138,8 – 1135,7±171,7	0,06	0,99	-0,05 – 2,04
	RR – XX	965±138,8 – 1135,2±175,5	0,12	0,97	-0,23 – 2,17
	RX – XX	1135,7±171,7 – 1135,2±175,5	0,99	0,00	-1,12 – 1,12
<i>ACE ID</i>	ID – II	1125,5±191,3 – 1034,4±142,2	0,28	-0,49	-0,39 – 1,38
<i>CK MM AG NcoI</i>	AA – AG	1124,4±132,6 – 1104±190,6	0,88	-0,11	-1,02 – 0,79
	AA – GG	1124,4±132,6 – 1028,7±218,9	0,38	0,53	-0,62 – 1,67
	AG – GG	1104±190,6 – 1028,7±2018,9	0,52	0,36	-0,73 – 1,44

Teste T de Amostras Independentes $p>0,05$.

Fonte: Autor (2023)

A Tabela 12 apresenta os resultados da análise das variáveis bioquímicas relacionadas aos genótipos do polimorfismo *ACTN3 R577X*. Os resultados indicaram que atletas com genótipo RR tinham valores maiores em comparação aos atletas com genótipo RX para a variável K^+ antes da corrida, indicando possíveis diferenças na homeostase do potássio. Na condição pós-corrida, os atletas com genótipo XX tinham valores maiores de Hct ao serem comparados com os atletas com genótipo RX, sugerindo melhor capacidade de oxigenação sanguínea desses atletas. Para as demais variáveis bioquímicas analisadas, como pO_2 , Na^+ , Ca^{2+} , Glu, Lac e HCO_3^- , não foram encontradas diferenças significativas ($p>0,05$).

Tabela 12 – Relação entre às variáveis bioquímicas pré e pós-corrida e os genótipos do polimorfismo *ACTN3 R557X*, para a amostra do estudo (n=22)

Polimorfismo ACTN3 R577X	Comparação Genotípica RR(n=5) vs. RX(n=12)									
	Variáveis	Pré	p- valor	g Hedges	IC 95%	Pós	p- valor	g Hedges	IC 95%	
pH	7,42±0,04	7,43±0,02	0,75	0,35	-0,64 – 1,35	7,43±0,05	7,42±0,04	0,55	0,22	-0,77 – 1,21
pCO ₂	41±3,94	39,75±3,05	0,48	0,36	-0,64 – 1,36	34,20±1,30	32,75±1,71	0,73	0,85	-0,18 – 1,89
K ⁺	5,92±0,56	5,08±0,60	0,01*	1,35	0,26 – 2,44	4,18±0,29	4,40±0,32	0,20	0,67	-0,89 – 1,68
Hct	47,80±1,92	45,92±2,50	0,15	0,76	-0,27 – 1,78	45,20±2,59	44,25±2,80	0,52	0,33	-0,67 – 1,32
RR (n=5) vs. XX (n=5)										
Variáveis	Pré	p- valor	g Hedges	IC 95%	Pós	p- valor	g Hedges	IC 95%		
pH	7,42±0,04	7,41±0,01	0,62	0,31	-0,82 – 1,44	7,43±0,05	7,42±0,02	0,36	0,24	-0,89 – 1,36
pCO ₂	41±3,94	39,80±2,77	0,59	0,32	0,81 – 1,45	34,20±1,30	34±2,24	0,22	0,10	-1,02 – 1,22
K ⁺	5,92±0,56	5,60±0,62	0,41	0,49	-0,65 – 1,63	4,18±0,29	4,44±0,51	0,35	0,57	-0,58 – 1,71
Hct	47,80±1,92	47,60±2,41	0,88	0,08	-1,04 – 1,20	45,20±2,59	48,20±4,09	0,20	0,79	-0,38 – 1,96
RX (n=12) vs. XX (n=5)										
Variáveis	Pré	p- valor	g Hedges	IC 95%	Pós	p- valor	g Hedges	IC 95%		
pH	7,43±0,02	7,41±0,01	0,55	1,06	0,01 – 2,11	7,42±0,04	7,42±0,02	0,35	0,00	-0,99 – 0,99
pCO ₂	39,75±3,05	39,80±2,77	0,97	0,02	39,75±3,05	32,75±1,71	34±2,24	0,26	0,63	-0,39 – 1,64
K ⁺	5,08±0,60	5,60±0,62	0,12	0,82	5,08±0,60	4,40±0,32	4,44±0,51	0,84	0,10	-0,89 – 1,09
Hct	45,92±2,50	47,60±2,41	0,22	0,64	-0,37 – 1,66	44,25±2,80	48,20±4,09	0,03*	1,17	0,11 – 2,24

Unidades de medida para pCO₂ = mmHg; K⁺ = mmol/L; Hct = %. * Teste T de amostras independentes p≤0,05.

Fonte: Autor (2023)

A Tabela 13 apresenta a média e o desvio padrão das variáveis bioquímicas antes e depois da corrida em relação aos genótipos dos polimorfismos *ACE I/D* e *CK MM NcoI*. No polimorfismo *ACE I/D*, não foram observadas diferenças significativas nas variáveis eletroquímicas e nos distúrbios acidobásicos pesquisadas entre os genótipos ID vs. II antes da corrida. No entanto, após a corrida, observou-se uma diferença significativa na variável pH entre esses genótipos. Além disso, a variável pCO₂ também mostrou uma diferença significativa após a corrida entre esses genótipos, sugerindo que atletas com genótipo II são menos susceptíveis à acidose metabólica. Atletas com o genótipo AG do polimorfismo *CK MM A/G NcoI* apresentaram níveis de Hct maiores em comparação aos atletas com genótipo AA antes da corrida, sugerindo potencial capacidade de transporte de oxigênio melhorada nesse grupo. A Tabela também revela que atletas com o genótipo GG tinham valores mais elevados de K⁺ e Hct quando comparados com os atletas com genótipo AA, indicando possíveis diferenças na homeostase do potássio e na capacidade de oxigenação sanguínea desses atletas. Após a corrida, não foram encontradas diferenças significativas nas variáveis eletroquímicas e nos distúrbios acidobásicos entre os genótipos AA vs. AG; AA vs. GG e AG vs. GG. Para as demais variáveis bioquímicas analisadas, como pO₂, Na⁺, Ca²⁺, Glu, Lac e HCO₃⁻, não foram encontradas diferenças significativas tanto para os genótipos dos polimorfismos *ACE I/D* quanto *CK MM A/G NcoI* (p>0,05).

Tabela 13 - Relação entre às variáveis bioquímicas pré e pós-corrida e os genótipos dos polimorfismos ACE I/D e CK MM Ncol para a amostra estudada (n=22)

Polimorfismo ACE I/D		Comparação Genotípica ID (n=14) vs. II (n=7)								
Variáveis	Pré		p- valor	g Hedges	IC 95%	Pós		p- valor	g Hedges	IC 95%
pH	7,43±0,02	7,43±0,01	0,75	0,00	-0,87 – 0,87	7,41±0,03	7,45±0,04	0,02*	1,15	0,21 – 2,08
pCO ₂	40,21±2,72	38,71±2,69	0,24	0,53	-0,35 – 1,42	33,93±1,59	32±1,63	0,01*	1,16	0,22 – 2,09
K ⁺	5,26±0,59	5,60±0,85	0,28	0,48	-0,40 – 1,36	4,45±0,36	4,27±0,27	0,26	0,52	-0,37 – 1,40
Hct	46,50±2,03	46,71±3,15	0,85	0,08	-0,79 – 0,95	44,93±3,50	45,71±3,15	0,62	0,22	-0,65 – 1,90
Polimorfismo CK MM A/G Ncol		Comparação Genotípica AA (n=7) vs. AG (n=11)								
Variáveis	Pré		p- valor	g Hedges	IC 95%	Pós		p- valor	g Hedges	IC 95%
pH	7,42±0,02	7,43±0,02	0,47	0,48	-0,44 – 1,39	7,44±0,04	7,41±0,04	0,10	0,71	-0,22 – 1,65
pCO ₂	39,43±2,37	40,55±2,94	0,41	0,39	-0,52 – 1,30	32,86 ±2,41	33,45±1,57	0,53	0,29	-0,62 – 1,20
K ⁺	5,01±0,40	5,42±0,70	0,18	0,65	-0,28 – 1,57	4,27±0,27	4,45±0,40	0,30	0,48	-0,44 – 1,40
Hct	45±1,53	47,45±2,58	0,03*	1,04	0,08 – 2,00	44,29±3,15	45,91±3,48	0,33	0,46	-0,46 – 1,37
		AA (n=7) vs. GG (n=4)								
Variáveis	Pré		p- valor	g Hedges	IC 95%	Pós		p- valor	g Hedges	IC 95%
pH	7,42±0,02	7,41±0,05	0,63	0,28	-0,85 – 1,40	7,44±0,04	7,43±0,04	0,67	0,23	-0,90 – 1,36
pCO ₂	39,43±2,37	39,75±4,99	0,88	0,08	-1,04 – 1,21	32,86 ±2,41	34±1,41	0,41	0,49	-0,65 – 1,63
K ⁺	5,01±0,40	5,98±0,67	0,01*	1,75	0,41 – 3,09	4,27±0,27	4,25±0,41	0,91	0,06	-1,07 – 1,18
Hct	45±1,53	47,75±2,06	0,03*	1,46	0,18 – 2,74	44,29±3,15	45,76±3,77	0,50	0,40	-0,74 – 1,53
		AG (n=11) vs. GG (n=4)								
Variáveis	Pré		p- valor	g Hedges	IC 95%	Pós		p- valor	g Hedges	IC 95%
pH	7,43±0,02	7,41±0,05	0,36	0,63	-0,47 – 1,73	7,41±0,04	7,43±0,04	0,34	0,47	-0,62 – 1,56
pCO ₂	40,55±2,94	39,75±4,99	0,70	0,21	-0,87 – 1,29	33,45±1,57	34±1,41	0,55	0,34	-0,75 – 1,42
K ⁺	5,42±0,70	5,98±0,67	0,19	0,76	-0,35 – 1,87	4,45±0,40	4,25±0,41	0,39	0,47	-0,62 – 1,56
Hct	47,45±2,58	47,75±2,06	0,84	0,11	-0,96 – 1,19	45,91±3,48	45,76±3,77	0,94	0,04	-1,12 – 1,04

Unidades de medida para pCO₂ = mmHg; K⁺ = mmol/L; Hct = %. * Teste T de amostras independentes p≤0,05.

Fonte: Autor (2023)

5 DISCUSSÃO

Para reiterar o objetivo do presente estudo, visou-se investigar o impacto dos polimorfismos *ACTN3 R577X*, *ACE I/D* e *CK MM A/G NcoI* nas variáveis eletroquímicas, dos distúrbios acidobásico, bem como nas mudanças nas variáveis antropométricas e no tempo de corrida de corredores de ultramaratona de montanha de 105 km.

O desempenho de corredores de longa distância pode ser influenciado por diversos fatores. A composição corporal, embora dependente da distância da corrida, está relacionada ao desempenho do atleta (Knechtle e Romann, 2010; Marínez-Navarro *et al.*, 2021). Além disso, estudos anteriores forneceram *insights* valiosos sobre como a massa corporal total e outras características físicas podem impactar o desempenho em corridas de longa distância. Belli *et al.* (2016) analisaram indicadores antropométricos associados à composição corporal de dez atletas brasileiros que competiram em uma prova de 217 km, revelando que esses atletas perderam 3,9% massa corporal total durante a corrida. Kao *et al.* (2008) conduziram um estudo sobre corridas de 12 e 24 horas, observando que a massa corporal total e o grau de desidratação diminuíram significativamente nas 8 horas iniciais, com as maiores reduções ocorrendo nas primeiras 4 horas. A variação média massa corporal total relativo após a corrida de 12 horas foi de $-2,89 \pm 1,56\%$, variando de 0 a 6,5%, resultados que estão alinhados com nossas descobertas.

Em um estudo envolvendo corredores masculinos em uma ultramaratona de 100 km, Knechtle *et al.* (2012) revelaram que os finalistas bem-sucedidos tinham uma massa corporal total média de $75,0 \pm 9,4$ kg antes da corrida, que diminuiu para $73,1 \pm 9,3$ kg após. Esses atletas perderam 1,9 kg de massa corporal total ($p < 0,001$), 0,7 kg de massa magra ($p < 0,001$) e 0,2 kg de massa gorda ($p < 0,05$). Os autores também destacaram que a mudança na massa corporal total estava relacionada à velocidade de corrida. Hoffman (2008) mostrou que corredores mais leves tendem a apresentar velocidades mais rápidas do que corredores mais pesados, com uma variação de 5% na velocidade de corrida observada nos homens. Esses achados, destacam a importância da relação entre variáveis antropometria e desempenho em corridas de longa distância.

Referente ao IMC, pesquisas têm examinado a associação entre medidas antropométricas e o desempenho dos corredores, revelando uma correlação entre a

diminuição do índice de massa corporal e a perda de massa corporal total com tempos de corrida mais rápidos em atletas de ultramaratona (O'Loughlin *et al.*, 2019; Coates *et al.*, 2021). Knechtle *et al.* (2012), em sua pesquisa, evidenciou que os atletas possuíam um IMC de $23,4 \pm 2,2 \text{ kg/m}^2$. Passaglia *et al.* (2013) avaliaram 20 corredores de uma ultramaratona de 24 h, na qual o IMC desses atletas pré e pós-corrida foram $26 \pm 2,6 \text{ kg/m}^2$, $25,1 \pm 2,44 \text{ kg/m}^2$ ($p < 0,001$). Hoffman (2008) expôs em sua investigação que os 5 primeiros colocados tinham valores médios de IMC de $23,2 \text{ kg/m}^2$ (variação de $22,4$ a $24,7 \text{ kg/m}^2$). O estudo mostrou ainda que a velocidade média de corrida e o IMC correlacionaram-se negativamente ($r(2) = 0,11$, $p < 0,0001$), sinalizado que IMC com valores mais baixos são associados a tempos de corrida mais rápidos.

Em outro estudo, Hoffman *et al.* (2010) avaliaram as características antropométricas de 72 corredores iniciantes (17 mulheres, 55 homens) em uma prova de 161 km. Os investigadores revelaram que os valores % G foram menores para os finalistas do que para os não finalistas ($p = 0,03$). Cabe enfatizar que o vencedor da prova de 105 km, do presente estudo ficou entre os dez atletas que mais perderem em % G. Baixas quantidades de gordura corporal (13%-17%) parecem ser vantajosas para os corredores correrem mais rápido (Barandun *et al.*, 2012). No entanto, Christou *et al.* (2021) mostraram que níveis gordura corporal ($\leq 12\%$) parecem proporcionar vantagens para uma corrida mais rápida.

A respeito da massa magra, Belli *et al.* (2016) verificaram possíveis relações com o desempenho de atletas em uma ultramaratona de 217 km. O estudo exibiu que a massa magra diminuiu nos primeiros 84 km da corrida e se mantiveram até os 217 km ($62,4 \pm 2,2 \text{ kg} - 60,5 \pm 1,8 \text{ kg}$; $p = 0,02$). Os pesquisadores concluíram que maiores depósitos de gordura corporal concentrados nos membros inferiores e na região abdominal podem ter um impacto negativo no desempenho dos atletas em ultramaratona de 217 km.

Em relação à análise bioquímica pré- pós-corrida dos atletas da atual pesquisa, verifica-se que esse tipo de prova provoca resposta ventilatória, mudanças no equilíbrio acidobásico, nos níveis de eletrólitos, glicose e lactato dos competidores (Waskiewicz *et al.*, 2012). Sobre os eletrólitos, e corroborando a atual investigação ao pesquisar sete corredores poloneses do sexo masculino durante uma prova de 48 horas em uma pista oval plana, Klapcinka *et al.* (2013) mostraram a diminuição progressiva do Na^+ pré-corrida de $141 \pm 2 \text{ mmol/L}$ e pós-corrida $138 \pm 1 \text{ mmol/L}$. Quedas

de sódio a valores séricos inferiores a 135 mmol/L levam a um quadro de hiponatremia (Scotney e Reid, 2015).

Referente à hiponatremia, dois atletas da presente amostra (7,14%) apresentaram o quadro clínico. Tal quadro ocorre devido à ingestão excessiva de líquidos. Fatores de risco para esse estado incluem desempenho de resistência de longa a muito longa duração e, condições climáticas extremas. Embora a hiponatremia associada ao exercício leve não desenvolva sintomas clínicos, hiponatremia grave devido ao edema cerebral pode levar a déficits neurológicos e até a morte (Knechtle *et al.* 2019).

Na pesquisa de Page *et al.* (2007), com 123 corredores ultrarresistência de montanha, na distância de 60 km, verificou-se que 4% dos atletas apresentaram um quadro leve de hiponatremia, números que corroboram a presente pesquisa. Valores diminuídos de Na^+ podem contribuir para o início da fadiga, um processo multifatorial, que interfere na liberação de cálcio do retículo endoplasmático e na ligação de íons cálcio (Allen *et al.*, 2008; Mero *et al.*, 2013). Uma vez que o estímulo para a ação muscular é eletroquímico, quedas de Na^+ e acúmulo de K^+ na membrana externa acabam por gerar uma despolarização na membrana levando a um bloqueio do potencial de ação, inibindo por sua vez a liberação de Ca^{2+} (Allen *et al.*, 2008).

No que diz respeito ao K^+ , esse manteve-se dentro de um intervalo de normalidade, 5 – 5,1 mmol/L (Wu, 2006). Embora existam evidências da diminuição dos valores pré- pós-competição. Tal condição justifica-se por uma melhor regulação da bomba Na^+/K^+ que melhora da recaptção de K^+ plasmático. A melhora na regulação deve-se em partes pelo aumento do Na^+ intracelular (Clausen, 2010). Quedas $<3,5\text{mmol/L}$ de K^+ plasmático é indicativo de hipocalemia, uma situação comum após exercícios de resistência prolongada. Porém, hipercalemia acontece quando o K^+ sanguíneo está $> 5,0\text{mmol/L}$, uma condição observada após exercício gerador de alta lesão do músculo esquelético (Viera e Wouk, 2015). Desequilíbrios no plasma K^+ resultar em câimbras e arritmias cardíacas (Rigato *et al.*, 2010; Ringer e Pulfrey, 2014).

Acerca do Ca^{2+} Shin *et al.* (2012), avaliaram 20 corredores do sexo masculino, que competiram em uma prova de 308 km e foi evidenciada uma diminuição de 98,1% dos níveis de cálcio ao final da prova. Durante exercícios intensos, como os exercícios excêntricos, o corpo pode liberar hormônios do estresse, como o cortisol, em resposta ao esforço físico. Esse hormônio pode afetar o equilíbrio de minerais, como o cálcio,

no corpo. Essa mudança fisiológica, juntamente com um aumento no *turnover* do metabolismo ósseo, pode alterar o uso de cálcio como fontes de energia (Shin *et al.*, 2012).

Em relação ao Lac^- a literatura tem apontado que as corridas acontecem abaixo do OBLA (4,0 mmol) (RAMOS-CAMPOS *et al.*, 2016). Diferentes pesquisas Clemente-Suarez (2011), Jastrzebski *et al.* (2015), Clemente-Suárez (2015) realizados com ultracorredores de montanha apresentaram valores para o lactato sanguíneo de $2,8 \pm 0,3$ mmol/L, valores que corroboram com a atual investigação. Percebe-se que tal modalidade de corrida, não permite que os seus participantes imponham um ritmo muito forte durante a prova, fazendo com que estas provas sejam sustentadas pelo metabolismo aeróbio, fato que não permite que os níveis de lactato aumentem exponencialmente (Clemente-Suárez, 2015).

Atividades com predomínio do metabolismo aeróbio possuem uma capacidade ótima para a liberação de Lac^- para a corrente sanguínea. Graças à eficiência dos monocarboxilatos MCT1, o metabólito é transportado para fora do miócito, podendo ser utilizado como fonte de energia pela musculatura esquelética, coração e o cérebro quando a disponibilidade de oxigênio é adequada (Adeva-Andany *et al.*, 2014; Proia *et al.*, 2016).

Sobre o equilíbrio acidobásico, os corredores de montanha da atual investigação apresentaram valores para o pH dentro dos valores de normalidade tanto na condição pré como pós-competição, considerado ligeiramente alcalino e dentro da faixa normal do corpo humano que é 7,35 a 7,45 (Brown *et al.*, 2006). A pesquisa de Klacinka *et al.* (2013) ao analisar o pH apontou um aumento significativo do momento pré para o pós-prova de $7,39 \pm 0,01$ para $7,46 \pm 0,02$ nesta ordem. Waskiewicz *et al.* (2012) mostraram em sua investigação com 14 corredores amadores do sexo masculino com idade média de $43,0 \pm 10,8$ anos, que competiram durante 24 horas, uma alcalose respiratória progressiva, que contribuiu para um aumento significativo no pH de 0,067 unidades, do pré- para o pós-competição.

No que diz respeito a pCO_2 , a presente pesquisa mostrou uma queda da condição pré- pós-competição de 16,8%. Quando a pCO_2 está abaixo de 35 mmHg, acontece hiperventilação e o pH aumenta, estabelecendo um processo de alcalose respiratória (Brown *et al.*, 2006). No estudo de Klacinka *et al.* (2013), foi revelado que a hiperventilação relacionada à corrida levou a declínios significativos na pCO_2 e na relação $\text{pCO}_2/\text{HCO}_3^-$ (de $1,643 \pm 0,036$ para $1,408 \pm 0,103$). Em outro estudo,

Waskiewicz *et al.* (2012), mostraram uma hipocapnia significativa resultante de uma diminuição de 23% na $p\text{CO}_2$. Todo o comportamento da hipocapnia foi acompanhado por um aumento progressivo na $p\text{O}_2$ de cerca de 11 mmHg.

Referente à análise do HCO_3^- , ele apresentou uma queda significativa do pré-para o pós-competição de 16,9%. Cabe enfatizar que o objetivo desse tampão é buscar a homeostasia do pH produzindo maior quantidade de CO_2 e H_2O , que podem ser eliminados pela respiração (Furoni *et al.*, 2010). Assim, verifica-se que o HCO_3^- foi consumido pelo excesso de H^+ a fim de minimizar o processo de acidose metabólica (Adrogué e Madias, 2010; Hamilton *et al.*, 2017). Ao avaliar o equilíbrio acidobásico e a pressão parcial dos gases sanguíneos de 14 corredores durante uma corrida de 100 km, Jastrzebski *et al.* (2015) encontraram uma diminuição significativa nos valores médios do HCO_3^- repouso $23,13 \pm 1,21$ mmol/L para o final dos 100 km $22,02 \pm 1,79$ mmol/L. Os pesquisadores sugeriram problemas ventilatórios ou deficiências de difusão com os atletas durante a prova.

Quanto à correlação das variáveis eletroquímicas e do distúrbio acidobásico com o tempo de corrida, o Ca^{2+} apresentou correlação com o tempo de prova, indicando que quanto maior a perda de Ca^{2+} , menor o tempo de corrida. Vale ressaltar que os quatro melhores resultados da corrida de 105 km na amostra atual apresentaram uma diminuição média percentual de 43,8%, com um desvio padrão de 13,8% nos níveis de Ca^{2+} . Ao pesquisar sete corredores poloneses do sexo masculino durante uma corrida de 48 horas em uma pista oval plana Kłapcińska *et al.* (2013), foi relatada uma diminuição progressiva nos níveis de Ca^{2+} durante a corrida, associada à distância total percorrida ($R = -0,47$; $p < 0,05$), em concordância com o presente estudo. A causa mais provável da queda progressiva nos níveis de cálcio parece estar relacionada ao estado de alcalose respiratória aguda, que contribui para o aumento do pH (Waskiewicz *et al.*, 2012).

Tratando-se da genética, a expressão do genótipo XX do polimorfismo *R577X* causa a não produção do *ACTN3*, aumentando a capacidade de resistência. O genótipo heterozigoto RX produz menores quantidades de *ACTN3*, contribuindo para um perfil misto de resistência, força e potência muscular. O genótipo RR apresenta níveis elevados de *ACTN3*, favorecendo aumento de massa magra, força e potência muscular (Ahmetov *et al.*, 2011).

A respeito do alelo I do polimorfismo *ACE I/D*, este também tem sido associado ao aumento do desempenho de resistência, enquanto o alelo D está

relacionado ao aumento da atividade de *ACE*, de força e potência muscular (Thompson *et al.*, 2006; Flück *et al.*, 2019; Chiu *et al.*, 2019).

Sobre o polimorfismo *CK MM A/G Ncol*, os atletas que expressam o genótipo AA apresentam predisposição para esportes de endurance, maior ativação da fosforilação oxidativa e da resistência muscular (Fedotovskaya *et al.*, 2012; Balberova *et al.*, 2021), enquanto os genótipos GG e AG melhoram a potência e a resistência muscular, respectivamente (HE *et al.*, 2016; BALBEROVA *et al.*, 2021). Assim, atletas que apresentam predomínio dos genótipos *ACTN3 XX*, *ACE II* e *CK MM AA*, com distribuição alélica dos alelos X, I e A, são geneticamente favorecidos para a prática de esportes que exigem resistência muscular.

Porém, ao analisar os resultados da presente pesquisa, a amostra expressou os genótipos *ACTN3 RX*, *ACE ID* e *CK MM AG*, revelando que esses atletas possuem fenótipos intermediários associados à força e resistência muscular, características importantes para o êxito em esportes de endurance (Hogarth *et al.*, 2016). Cabe enfatizar que o campeão da prova da presente pesquisa expressou os genótipos (RX; ID e AG), condição que pode vislumbrar ser a genética uma variável a ser considerada, no momento da escolha de potenciais atletas para competirem em provas de 105 km na montanha, uma vez que esses fenótipos favorecem a economia de energia durante a corrida e promovem a locomoção por maior tempo (Pasqua *et al.*, 2016).

Ao analisar as distribuições alélicas, não foram encontradas diferenças significativas para os alelos R e X do polimorfismo *R577X*. Tais resultados devem ser interpretados com cautela, pois podem ser influenciados e limitados por muitos fatores, como a recuperação, nutrição, habilidades psicológicas, adaptações ao calor e altitude (Eider *et al.*, 2015; Mujika *et al.*, 2018).

Em relação à distribuição alélica do polimorfismo *ACE I/D*, a amostra do estudo apresentou predomínio do alelo I, que está associado a um melhor desempenho de resistência. Estudos realizados por Myerson *et al.* (1999) e Nazarov *et al.* (2001) também observaram correlação entre distância da prova e o alelo I. Myerson *et al.* (1999) avaliaram corredores olímpicos britânicos e verificaram que atletas que corriam ≥ 5.000 metros apresentavam frequência de 62% do alelo I. Nazarov *et al.* (2001) avaliaram 217 atletas russos de resistência (nadadores, esquiadores, triatletas e praticantes de atletismo) e mostraram que os atletas que praticavam provas em um intervalo de 1 a 20 minutos tinham 63% de alelos I. Yang

et al. (2023) relataram que atletas de futebol de nível nacional apresentaram uma frequência de 65,8% para o alelo I. Em outro estudo, Eroğlu *et al.* (2018) mostraram que atletas turcos (em corridas de curta, média e longa distância) tinham 52% de alelos I. Ambos os estudos estão de acordo com o nosso.

Para a distribuição alélica do polimorfismo *CK MM Ncol*, o alelo G apresentou predomínio em relação ao alelo A, também predispondo a amostra do estudo a esportes de endurance, de acordo com o estudo de Fedotovskaya *et al.* (2012) que, ao investigar 384 atletas de ambos os sexos de diferentes esportes aeróbios e anaeróbios, encontraram maior incidência do alelo A e do genótipo AA nos atletas de resistência. Segundo os mesmos autores, o alelo *CK MM A* influencia a expressão gênica, resultando em diminuição na isoforma muscular da atividade da creatina quinase nos miócitos, levando à maior ativação da fosforilação oxidativa e da resistência muscular. A metanálise de estudos de caso-controle realizada por Chen *et al.* (2017) sobre os polimorfismos do gene CKM mostrou que a frequência do genótipo GG e do alelo G era maior em atletas orientados para a força do que nos controles. De acordo com os mesmos autores, o alelo G está associado a um mecanismo de proteção contra a fadiga muscular durante o esforço, indicando, assim, resultados semelhantes aos deste estudo.

Sobre a genética e as variáveis antropométricas, os genes são parcialmente responsáveis por determinar as características antropométricas, necessárias para alcançar o desempenho atlético (Pickering *et al.*, 2019; Wei *et al.*, 2021). Entende-se que vários fatores possam afetar o desempenho e a antropometria em corredores de longa distância. Embora isso dependa da distância percorrida, pode estar relacionado com o desempenho final da competição (Martínez-Navarro *et al.*, 2021). Em relação à composição corporal, ao comparar a perda de massa corporal total pré e pós-corrida no genótipo AA-GG do polimorfismo *CK MM A/G Ncol*, o presente estudo mostrou que os atletas com o genótipo AA-AG perderam (3,2-2,7%), respectivamente. Belli *et al.* (2016) mostraram que, após uma ultramaratona de 217 km, os atletas perderam 3,9% de sua massa corporal total após o término da corrida. Martínez-Navarro *et al.* (2021), ao avaliar a perda de massa corporal total em uma corrida de montanha de 107 km, demonstraram que os atletas do sexo masculino perderam $4,37 \pm 1,77\%$ de sua massa corporal total até o final do evento. Segundo os mesmos autores, maiores perdas de massa corporal poderiam ser esperadas entre os corredores mais rápidos e durante os trechos mais rápidos em corridas de ultramaratona de montanha.

Ao comparar a massa magra pré e pós-corrida nos genótipos AA-AG do polimorfismo *CK MM A/G NcoI*, o presente estudo mostrou uma perda de 3,7% nos atletas com o genótipo AA e 0,32% naqueles com o genótipo AG ao final da corrida. Belli *et al.* (2016) verificaram possíveis relações entre a diminuição da massa magra e o desempenho dos atletas na ultramaratona de 217 km, com uma perda de 3,04% sendo relatada. Mueller *et al.* (2013) relataram que a perda de massa corporal total após um Ironman Triathlon se deveu a uma perda de 4,5% na massa gorda e uma perda de 2,4% na massa magra, esta última atribuída à perda de glicogênio como combustível para a produção de energia e à correspondente perda de água corporal. Em complemento, variações no Gene *CK MM*, como o polimorfismo *CK MM A/G NcoI*, podem afetar a capacidade da enzima de se regenerar após o exercício. Isso, por sua vez, pode impactar a disponibilidade de energia muscular durante atividades prolongadas, como corridas de longa distância, influenciando a capacidade do corpo de suportar o esforço prolongado e a recuperação pós-exercício (Balberova *et al.*, 2021). Por outro lado, as demais variáveis antropométricas não revelaram diferenças estatisticamente significativas quando analisadas de acordo com os diferentes genótipos dos polimorfismos estudados.

Ao correlacionar as variáveis antropométricas com o tempo de corrida, os atletas com o genótipo RR do polimorfismo *ACTN3 R577X* demonstraram uma correlação positiva com o IMC em relação ao tempo de corrida, indicando que os atletas com o genótipo RR apresentaram os menores tempos de corrida e os menores valores de IMC. Essa conexão destaca a inter-relação entre genética, composição corporal e desempenho em corridas de montanha. A presença do genótipo RR desse polimorfismo está associada à expressão completa da proteína alfa-actinina-3 em fibras musculares de contração rápida, uma característica crucial para atividades de longa duração e alta intensidade, como ultramaratonas de montanha (Végh *et al.*, 2022). A correlação com o IMC pode sugerir que atletas com esse genótipo tendem a ter maior massa muscular, podem lidar de forma mais eficaz com as demandas da corrida de montanha, onde a força muscular e a resistência são vitais (Bell *et al.*, 2012; Domanska-Senderowska *et al.*, 2019). O genótipo RR pode favorecer a capacidade de gerar contrações musculares fortes e vigorosas, uma habilidade importante que aumenta a velocidade de corrida e, conseqüentemente, influencia a locomoção (Tharabenjasin *et al.*, 2019). Além disso, o genótipo RR também pode favorecer a

capacidade de resistir a danos musculares induzidos pelo exercício (Del Coso *et al.*, 2019).

No presente trabalho, a análise das variáveis antropométricas, do polimorfismo *ACE I/D* e do tempo de corrida, mostrou que atletas com o genótipo II do polimorfismo *ACE I/D* demonstraram correlações com a %G e a massa gorda quando comparados com o tempo de corrida, antes e depois da corrida, os quais apresentaram uma redução de 10,5% e 14,1%, respectivamente. No entanto, os outros genótipos não apresentaram correlações entre a composição corporal e o tempo de corrida. O alelo I do polimorfismo *ACE I/D* está relacionado com uma maior porcentagem de fibras musculares do tipo I e disciplinas de resistência, a níveis mais baixos da enzima *ACE*, e níveis aumentados de bradicinina, aumentando, assim, a concentração local de óxido nítrico no músculo esquelético, melhorando a eficiência respiratória mitocondrial e a função contrátil do músculo esquelético para melhorar o desempenho de resistência humana e a oxidação de gordura (Yang *et al.*, 2003). Isso poderia favorecer um melhor equilíbrio entre resistência muscular e composição corporal, contribuindo para um desempenho mais eficaz em corridas de longa distância (Chiu *et al.*, 2019). Por fim, as demais variáveis antropométricas e os genótipos estudados não revelaram diferenças estatisticamente significativas quando comparados como tempo de corrida.

Ao avaliar do tempo de corrida e os polimorfismos e seus genótipos estudados na presente pesquisa, foi evidenciada uma similaridade entre os genótipos dos genes *ACTN3 R577X*, *ACE I/D* ou *CK MM AG Ncol*. Belli *et al.* (2017) investigaram vinte ultracorredores de corrida de aventura, em relação ao desempenho em corrida de aventura e o polimorfismo *ACTN3 R577X*, o tempo mediano de corrida (tempos mínimo - máximo de corrida) foram semelhante ($p = 0,33$) entre os grupos de genótipos: 9 h e 50 min (9 h e 25 min–10 h e 14 min) e 9 h e 16 min (8 h e 54 min–10 h e 2 min) para portadores do genótipo XX e RX/RR, respectivamente.

Contudo, em um estudo realizado por Ahmetov *et al.* (2011), com 456 atletas de remo de longa distância russos do sexo masculino, remadores com o genótipo *ACTN3 577RR* mostraram melhores resultados no remo de longa distância em comparação com aqueles com o genótipo *577XX*. Segundo os autores, além da capacidade de resistência, os atletas devem possuir componentes de potência e velocidade para obter sucesso em diferentes competições esportivas com foco na resistência.

Os diferentes genótipos do polimorfismo *R577X* do gene *ACTN3* podem modificar o funcionamento do músculo esquelético durante o exercício, causando alterações estruturais, metabólicas ou de sinalização em humanos. Como já mencionado no texto, o genótipo *ACTN3* RR pode favorecer a capacidade de gerar contrações musculares fortes e vigorosas, uma habilidade importante que aumenta a velocidade de corrida e, conseqüentemente, influencia a locomoção (Tharabenjasin *et al.*, 2019). Além disso, o genótipo RR também pode favorecer a capacidade de resistir ao dano muscular induzido pelo exercício (Del Coso *et al.*, 2019). Na pesquisa de Chiu *et al.* (2019), corredores com o polimorfismo D (I/D e D/D) mostraram uma tendência de melhor desempenho na ultramaratona de 100 km (medida pelo tempo de conclusão em minutos, $p=0,036$). Em outro estudo, de Papadimitriou *et al.* (2018), não houve associação entre o genótipo *ACTN3 R577X*, *ACE I/D* ou *CK MM AG NcoI* e o desempenho de corrida em qualquer distância em homens ou mulheres.

Ao considerar a modulação genotípica nas concentrações eletroquímicas e no distúrbio ácido-base, os valores de Hct foram os menos afetados para o genótipo XX quando comparados ao RX do gene *ACTN3*. Um estudo de Sierra *et al.* (2019), com 81 maratonistas brasileiros, mostraram que a maratona tradicional causa hemólise e dano oxidativo às hemácias, facilitando a diminuição do Hct. Níveis dentro de uma faixa de 40% a 50% para o hematócrito melhoram a viscosidade sanguínea e o transporte de oxigênio no nível macrocirculatório, de modo que os valores do hematócrito estão associados a melhorias ou reduções acentuadas no estado de saúde dos indivíduos (Reinhart, 2016; Arango-Granados *et al.*, 2021).

Portanto, atletas com genótipo XX são menos suscetíveis à hemólise por trauma mecânico e lesões oxidativas dos eritrócitos, melhorando o transporte de oxigênio, sugerindo que o genótipo XX modula a função vascular e a estrutura vascular (Kishimoto *et al.*, 2020). Tais fatores aumentam a capacidade de resistir à fadiga e melhoram o estado geral de saúde (Rubio-Arias *et al.*, 2019).

Ao analisar os níveis de pH, pode-se observar que o genótipo II do gene da *ACE* apresentou modulação do pH. Atletas com genótipo II apresentaram níveis de pH mais elevados quando comparados ao genótipo ID, refletindo diretamente no tempo de corrida; os atletas com genótipo II tiveram tempos de corrida menores quando comparados ao genótipo ID. Níveis mais baixos de pH causam acidose metabólica, que pode prejudicar a função muscular e comprometer o desempenho (Baranaukas *et al.*, 2020). Então, é essencial manter a faixa normal de pH para

garantir a continuidade dos processos fisiológicos, como síntese de proteínas, metabolismo intermediário da glicose, crescimento celular e reprodução (Seifter, 2019).

Além de influenciar o pH, o genótipo ACE II mostrou que atletas com esse fenótipo, quando expostos aos esforços da corrida, apresentavam alcalose respiratória. Tal fenômeno ficou evidente ao verificar valores significativamente menores de $p\text{CO}_2$, quando comparados ao genótipo ID. Como já mencionado, valores de $p\text{CO}_2$ abaixo de 35 mmHg causam hiperventilação e o pH aumenta, estabelecendo um processo de alcalose (Quade *et al.*, 2021). Níveis elevados de $p\text{CO}_2$ interferem na produção de energia e contribuem para o aumento da acidose metabólica, reduzindo a capacidade do atleta de continuar na corrida.

6 CONCLUSÕES

A presente pesquisa, tinha como hipótese testar se os polimorfismos *ACTN3 R577X*, *ACE I/D* e *CK MM A/G NcoI* dos genes *ACTN3*, *ACE* e *CK MM* poderiam influenciar as variáveis eletroquímicas, dos distúrbios acidobásico, composição corporal e o tempo de corrida em atletas de elite que competem em corridas de ultrarresistência de 105 km na montanha. Todavia, essa hipótese foi parcialmente respondida, uma vez que nem todas as variáveis eletroquímicas dos distúrbios acidobásico, composição corporal e o tempo de corrida tiveram influência dos polimorfismos estudados.

Os resultados obtidos neste estudo pioneiro mostraram que o grupo de atletas de ultratramaratona de montanha na distância de 105 km avaliados tiveram um impacto significativo na sua composição corporal, que resultou em uma perda substancial de massa corporal total, massa gorda e percentual de gordura. Tais alterações refletem o desafio extremo imposto ao organismo do atleta durante a prova. Ao analisar a composição corporal e o tempo de corrida, foi observada uma correlação positiva entre a perda de massa corporal total, o IMC e o tempo de corrida. Isso indica que atletas que perderam mais massa corporal total e tinham um IMC mais baixo tendiam a apresentar tempos de corrida melhores. Esses resultados sugerem que uma composição corporal mais leve pode estar associada a um melhor desempenho em corridas de longa distância.

A respeito das variáveis eletroquímicas e dos distúrbios acidobásico, os corredores mostraram alterações significativas nas variáveis como Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , pCO_2 e HCO_3^- , após a corrida. Essas condições que refletem as demandas fisiológicas extremas impostas pelo desgaste da prova de longa duração e que podem, inclusive, impactar a saúde dos atletas. O presente estudo revelou uma distribuição genotípica mista de genótipos relacionados à força, potência e resistência muscular para os atletas investigados. Isso indica uma diversidade genética na amostra, o que leva a evidenciar as diferentes capacidades atléticas específicas para competir em uma prova de ultramaratona de 105 km na montanha.

Os resultados sugerem que os genótipos dos polimorfismos genéticos estudados não mostraram uma correlação direta com o desempenho dos atletas na corrida. No entanto, a pesquisa mostrou que alguns genótipos investigados foram

associados a diferenças nas variáveis antropométricas, como massa corporal total e massa magra, antes e depois da corrida.

Sobre a relação entre genótipo e composição corporal, o genótipo *CK MM A/G NcoI* mostrou diferenças na composição corporal, com o genótipo AA apresentando uma maior massa corporal total e massa magra em comparação com o genótipo AG antes e depois da corrida, sugerindo uma possível influência genética na composição corporal dos atletas.

Ao comparar genótipo e variáveis eletroquímicas e dos distúrbios ácido-base, o polimorfismo *ACTN3 R577X* o genótipo XX mostrou uma modulação com Hct, após a corrida para a amostra dos ultramaratonistas de montanha. Esses achados podem sugerir uma melhora na oxigenação do sangue dos atletas com este genótipo. Ao avaliar os genótipos do polimorfismo *ACE I/D*, o genótipo II apresentou uma modulação com pH e pCO₂ após a corrida. Essas descobertas indicam que atletas com o genótipo II parecem ser menos susceptíveis à acidose metabólica após o esforço físico prolongado. Em resumo, este estudo inovador e pioneiro destaca a complexa relação entre composição corporal, padrões bioquímicos, genética e performance de um seleto grupo de corredores classificados para provas de ultramaratona de 105 km na montanha.

6.1 Limitações da Pesquisa

Esta tese apresentou limitações: Embora o tamanho da amostra sido calculado, *a priori* o resultado em um alto poder (0,80) mesmo com apenas 22 atletas do sexo masculino, a perda de amostra e dados é um fato a se observar, bem como, refletir para um grupo controle. Todavia a presente amostra foi testada para três polimorfismos, que conforme a literatura apresentavam indícios de serem genes candidatos a alta performance.

O controle da ingestão alimentar e suplementação de sal mineral durante a corrida podem ter contribuído para alterações nos marcadores eletroquímicos e distúrbios acidobásico, porém, não comprometem a validade do estudo, pois a realização deste mostrou a relação entre os polimorfismos estudados e as variáveis eletroquímicas. No entanto, ao considerar a literatura revisada pelo autor deste estudo, constatou-se que ele é pioneiro, com um grupo de atletas de alto rendimento, cujas avaliações foram realizadas em tempo real em ambiente competitivo.

Apesar das limitações identificadas, este estudo apresenta pontos fortes notáveis que reforçam sua robustez científica.

1. **Tamanho da Amostra Adequado:** Apesar das limitações, o estudo teve um tamanho de amostra calculado *a priori*, garantindo um alto poder estatístico (0,80), mesmo com um número relativamente pequeno de 22 atletas do sexo masculino. Isso fortalece a robustez estatística dos resultados obtidos.
2. **Enfoque em Genes Candidatos:** A escolha de estudar três polimorfismos conhecidos por serem genes candidatos à alta performance, de acordo com a literatura, destaca a relevância e a fundamentação científica por trás da seleção desses marcadores genéticos.
3. **Realização em Tempo Real e Ambiente Competitivo:** O estudo foi pioneiro ao realizar avaliações em tempo real durante competições de ultramaratona de montanha. Isso confere uma abordagem mais prática e realista, fornecendo *insights* valiosos sobre como os polimorfismos genéticos podem influenciar atletas de alto rendimento em condições competitivas reais.
4. **Relevância para Atletas de Alto Rendimento:** O estudo concentrou-se em atletas de alto rendimento, proporcionando *insights* específicos para esse grupo, o que pode ter implicações práticas significativas para a identificação de marcadores genéticos associados ao desempenho em ultramaratonas de montanha.
5. **Demonstração de Relações entre Polimorfismos e Variáveis Eletroquímicas:** Apesar da falta de controle na ingestão alimentar e suplementação durante a corrida, o estudo conseguiu estabelecer relações significativas entre os polimorfismos estudados e as variáveis eletroquímicas, fortalecendo a validade das descobertas.

6.2 Aplicação Prática da Pesquisa

Este estudo sobre os polimorfismos genéticos e suas relações com variáveis eletroquímicas em corredores de ultramaratona de montanha pode ter várias aplicações práticas:

1. **Seleção de Atletas:** Os resultados podem contribuir para a identificação de atletas com predisposição genética para melhor desempenho em

ultramaratonas de montanha, possibilitando uma seleção mais direcionada em equipes esportivas.

2. **Otimização do Treinamento:** Compreender como os polimorfismos genéticos estão relacionados com variáveis eletroquímicas pode ajudar a personalizar programas de treinamento para atletas, visando maximizar seu potencial genético.
3. **Aconselhamento Esportivo:** Os resultados podem ser utilizados por profissionais de saúde e treinadores para fornecer aconselhamento personalizado sobre nutrição, hidratação e estratégias de treinamento específicas para indivíduos com determinados perfis genéticos.
4. **Prevenção de Lesões:** Entender como os genes influenciam variáveis relacionadas ao desempenho pode contribuir para o desenvolvimento de estratégias de prevenção de lesões específicas para atletas de ultramaratona.

6.3 Trabalhos Futuros

A continuidade de pesquisa na linha proposta é de grande valia para a literatura nacional e internacional. Sabe-se que existem muitos genes envolvidos nos fenótipos do desempenho físico e, portanto, é oportuno que as pesquisas genéticas testem múltiplos genes simultaneamente. Na população brasileira, torna-se interessante investigar os polimorfismos relacionados ao desempenho, uma vez que sua composição resulta do cruzamento de três origens: europeus, africanos e ameríndios brasileiros – a influência polimórfica de determinados genes pode diferenciar entre as diferentes populações.

Sugere-se extensão de estudos em:

1. Ampliação da amostra de atletas;
2. comparação com outros atletas que competem em outras quilometragens de provas de montanha;
3. comparações genéticas e de composição corporal entre atletas que correm em altitudes elevadas e ao nível do mar;
4. incluir as medidas de circunferência da cintura dos atletas, a fim de aprofundar o conhecimento sobre como os genes influenciam a adaptabilidade e o desempenho em ultramaratonas de montanha de 105 km.
5. ampliação da quantidade de polimorfismos a serem investigados;

6. inclusão de mais coletas sanguíneas pós-competição como 12h, 24h e 48h após a competição;
7. incluir marcadores bioquímicos como a creatinaquinase para avaliar danos musculares;
8. avaliar nos atletas plaquetas, glóbulos brancos e troponina I para verificar processos inflamatórios e de isquemias temporárias e correlacionar os valores com genes candidatos a alta performance.
9. construção de um equipamento de baixo custo para monitorar pH, pCO₂, pO₂, HCO₃⁻.
10. Construir um equipamento de baixo custo para genotipar em tempo real os genótipos dos genes candidatos a alta performance.

REFERÊNCIAS

- ADROGUÉ, H.J and MADIAS, N.E. Secondary responses to altered acid-base status: the rules of engagement. **J Am Soc Nephrol**, Washington, v. 21, n.6, p. 920-923, 2010.
- ADEVA-ANDANY, M.; *et al.* Comprehensive review on lactate metabolism in human health. **Mitochondrion**. Alabama, n. 17, p. 76 - 100, 2014.
- AHMETOV, I.I.; *et al.* The ACTN3 R577X polymorphism in Russian endurance athletes. **British Journal of Sports Medicine**, London, v. 44, p. 649-652, 2010.
- AHMETOV, I.I.; *et al.* The dependence of preferred competitive racing distance on muscle fiber type composition and ACTN3 genotype. **Exp Physiol**, London, v. 96, n.12, p. 1302-1310, 2011.
- AHMETOV, I.I.; *et al.* Genes and athletic performance: An update. **Medicine and Sport Science**, Basel, v. 61, p. 41–54, 2016.
- ALLEN, D.G.; Lamb, G.D.; Westerblad, H. Skeletal Muscle Fatigue: Cellular Mechanisms. **Physiol Rev**, Washington, v. 88, p. 287-232, 2008.
- ALONSO, Kátia Cristina. **Polimorfismo do Gene da Enzima Conversora de Angiotensina em indivíduos do sul do Brasil**. Orientador: Viviane Nogaroto Vicari. 2012. 120f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa – PR, 2012.
- ANDRADE JUNIOR, C.D.; *et al.* Comportamento eletroquímico em nadadores candidatos às olimpíadas de 2016. XXIV CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA BIOMÉDICA – CBEB. 2014, Uberlândia, **Anais [...]** Uberlândia: UFU, 2014, p. 346-349.
- ARANGO-GRANADOS, M.C.; *et al.* Impact of red blood cell transfusion on oxygen transport and metabolism in patients with sepsis and septic shock: a systematic review and meta-analysis. **Rev bras ter intensive**, São Paulo, v. 33, n. 1 p. 154-166, 2021.
- BALBEROVA, O.V.; *et al.* Candidate Genes of Regulation of Skeletal Muscle Energy Metabolism in Athletes. **Genes**, Basel, v. 12, n. 11, p. 1682, 2021.
- BALTAZAR-MARTINS, G.; *et al.* Effect of ACTN3 Genotype on Sports Performance, Exercise-Induced Muscle Damage, and Injury Epidemiology. **Sports**, Basel, v.8, n.7, p. 99, 2020.
- BARANAUSKAS, M.; *et al.* Dietary Acid-Base Balance in High-Performance Athletes. **Int J Environ Res Public Health**, Basel, v.17, n.15, p. 5332, 2020.
- BARANDUN U.; *et al.* Running speed during training and percent body fat predict race time in recreational male marathoners. **J Sports Med**, Long Beach, v. 2, n. 3, p. 51-58, 2012.

- BEGGS, A.H.; *et al.* Cloning and characterization of two human skeletal muscle alpha-actinin genes located on chromosomes 1 and 11. **J Biol Chem**, Rockville, v. 267, n.23, p. 9281-9288, 1992.
- BELL, W.; *et al.* ACTN3 genotypes of Rugby Union players: distribution, power output and body composition. **Ann Hum Biol**, London, v. 39, n.1, p.19-27, 2012.
- BELLI, *et al.* Somatotype, body composition and performance in ultramarathon. **Rev Bras Cineantropom Desempenho Hum**, Florianopolis, v. 18, n. 2, p.127-135. 2016.
- BELLI, T.; CRISP, A.H.; VERLENGIA, R. Greater muscle damage in athletes with ACTN3 R577X (RS1815739) gene polymorphism after an ultra-endurance race: a pilot study. **Biol Sport**, Warsaw, v. 34, n. 2, p. 105-110, 2017.
- BÉNÉTEAU-BURNAT, B.; *et al.* Evaluation of the blood gas analyzer Gem PREMIER 3000. **Clin Chem Lab Med**, Berlin, v. 42, n. 1, p. 96-101, 2004.
- BEREND, K.; DE VRIES A.P.J.; GANS, R.O.B. Physiological approach to assessment of acid–base disturbances. **N Engl J Med**, Waltham, v. 371, n. 15, p. 1434-1445, 2014.
- BIRD, S.R.; LINDEN, M.; HAWLEY, J.A. Acute changes to biomarkers as a consequence of prolonged strenuous running. **Ann Clin Biochem**, Kingdom, v.51, n. 2, p.137-150, 2014.
- BISHOP, P.E.; MARTINO, M. Blood lactate measurement in recovery as adjunct to training: practical considerations. **Sports Medicine**, Gewerbestrasse, v. 16, n. 1, p. 5-13, 1993.
- BOUCHARD, C.; *et al.* Muscle genetic variants and relationship with performance and trainability. **Med Sci Sports Exerc**, Indianapolis, v. 21, n.1, p. 71-77, 1989.
- BRAY, M.S.; *et al.* The human gene map for performance and health-related fitness phenotypes: the 2006-2007 update. **Med Sci Sports Exerc**, Indianapolis, v. 41, n.1, p. 34-72, 2009.
- BROCH-LIPS, M.; *et al.* Commentaries on viewpoint: maximal Na⁺ - K⁺ - ATPase activity is upregulated in association with muscle activity. **J Appl Physiol**, Rockville, v. 112, n. 12, p. 2124-2126, 2012.
- BROOS, S.; *et al.* Evidence for ACTN3 as a speed gene in isolated human muscle fibers. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 11, n. 3, e0150594, 2016.
- BROWN, B.; EILERMAN, B. Understanding Blood Gas Interpretation. **Newborn and Infant Nursing Reviews**, Cincinnati, v. 6, n. 2, p. 57-62. 2006.
- BUENO, S.; *et al.* Relação entre o polimorfismo da eca e aptidão aeróbia. **Rev Acta Brasileira do Movimento Humano**, São Paulo, v. 3, n. 2, p. 43-57, 2013.
- BUSSAB, W. DE O.; MORETTIN, P. A. **Estatística básica**. 6ª ed, São Paulo, Saraiva, 2010.

- CAIRNS, R.S.; HEW-BUTLER, T. Proof of concept: hypovolemic hyponatremia may precede and augment creatine kinase elevations during an ultramarathon. **Eur J Appl Physiol**, Stockholm, v. 116, n. 3, p. 647-655, 2016.
- CALÓ, M.C.; VONA, G. Gene polymorphisms and elite athletic performance. **J of anthrop Sciences**, Roma, v. 86, p. 113-131, 2008.
- CHEN, C.; SUN, Y.; LIANG, H.; YU, D.; HU, S. A meta-analysis of the association of CKM gene rs8111989 polymorphism with sport performance. **Biol Sport**. Warsaw, v. 34, n. 4, p. 323-330, 2017.
- CHIN, L.M.K.; *et al.* Hyperventilation-induced hypercapnic alkalosis slows the adaptation of pulmonary O₂ uptake during the transition to moderate-intensity exercise. **J Physiol**, London, v. 583, n.1, p. 351-364, 2007.
- CHIU, Y.H.; *et al.* Impact of angiotension I converting enzyme gene I/D polymorphism on running performance, lipid, and biochemical parameters in ultra-marathoners. **Medicine (Baltimore)**, Bethesda, v. 98, n. 29, p. e16476, 2019.
- CHRISTOU, G.A.; PAGOURELIAS, E.D.; DELIGIANNIS, A.P.; KOUIDI, E.J. Exploring the Anthropometric, Cardiorespiratory, and Hematological Determinants of Marathon Performance. **Front Physiol**, Lausanne, v.12, p. 693733, 2021.
- CLAUSEN, T. Hormonal and pharmacological modification of plasma potassium homeostasis. **Fundam Clin Pharmacol**. United Kingdom, v. 24, n. 5, p. 595-605. 2010.
- CLEMENTE-SUÁREZ, V.J. Modificaciones de parámetros bioquímicos después de una maratón de montaña. **Motri Eur J Hum Movement**. Alicante, v. 27, p. 75-83, 2011.
- CLEMENTE-SUÁREZ, V.J. Psychophysiological response and energy balance during a 14-h ultraendurance mountain running event. **Appl Physiol Nutr Metab**, Ontário, v. 40, n. 3, p. 269-273, 2015.
- COATES, A.M.; BERARD, J.A.; KING, T.J.; BURR, J.F. Physiological determinants of ultramarathon trail-running performance. **Int J Sports Physiol Perform**, Hanover, v.16, n. 10, p.1454–1461, 2021.
- COHEN, J. **Statistical power analysis for the behavioral sciences**. 2^a ed. New York: Routledge, 1988.
- COICEIRO, G.A.; COSTA, V.L.M. Ultramaratona: em busca do limite humano. **Rev Bras Ci Mov**, São Paulo, v, 18, n. 3, p. 21-28, 2010.
- CONAGIN, A. Discriminative power of the modified Bonferroni's test. **Rev Agricultura**, Piracicaba, v. 73, p. 31-46, 1998.
- COSTA, H.Á.; *et al.* Desidratação e balanço hídrico em meia maratona. **Rev Bras Ciênc Esporte**, Distrito Federal, v. 36, n. 2, p. 341-51, 2014.
- CUPEIRO, R.; *et al.* MCT1 genetic polymorphism influence in high intensity circuit training: a pilot study. **J Sci Med Sport**, Melbourne, v. 13, n. 5, p. 526-30, 2010.

- DEL COSO, J.; *et al.* More than a 'speed gene': ACTN3 R577X genotype, trainability, muscle damage, and the risk for injuries. **Eur J Appl Physiol**, Stockholm, v.119, n. 1, p. 49-60. 2019.
- DE MOOR, M.H.; *et al.* Genome-wide linkage scan for athlete status in 700 British female DZ twin pairs. **Twin Res Hum Genet**, Cambridge, v.10, n. 6, p. 812-820, 2007.
- DEN DUNNEN, J.T.; ANTONARAKIS, S.E. Mutation nomenclature extensions and suggestions to describe complex mutations: a discussion. **Hum Mutat**, Wiley-Liss, 2000, v.15, n.1, p. 7–12. 2000.
- DIAS, R.G.; *et al.* Polimorfismos genéticos determinantes da performance física em atletas de elite. **Rev Bras Med Esporte**, São Paulo, v. 13, n. 3, p. 209-216, 2007.
- DIAS, R.G. Genetics, human physical performance and gene doping: the common sense versus the scientific reality. **Rev Bras Med Esporte**, São Paulo, v. 17, n. 1, p. 62-70, 2011.
- DOMANSKA-SENDEROWSKA, D.; *et al.* Relationships between the Expression of the ACTN3 Gene and Explosive Power of Soccer Players. **J Hum Kinet**, Warsaw, v. 69, p. 79–87, 2019.
- DÖRING, F.E.; *et al.* ACTN3 R577X and other polymorphisms are not associated with elite endurance athlete status in the Genathlete study. **J Sports Sci**, London, v. 28 n. 12, p. 1355-1359. 2010.
- ECHEGARAY, M.; RIVERA, M.A. Role of creatine kinase isoenzymes on muscular and cardiorespiratory endurance: genetic and molecular evidence. **Sports Med**, Switzerland, v. 31, n. 13, p. 919-934, 2001.
- EHRSTRÖM, S.; *et al.* Acute and Delayed Neuromuscular Alterations Induced by Downhill Running in Trained Trail Runners: Beneficial Effects of High-Pressure Compression Garments. **Front Physiol**, Lausanne, v. 9, p. 1627, 2018.
- EIDER, J.; *et al.* CKM gene polymorphism in Russian and Polish rowers. **Genetika**, Switzerland, 2015; v.51, p. 389-392, 2015.
- ELKS, CE.; *et al.* Variability in the heritability of body mass index: A systematic review and meta-regression. **Front Endocrinol**. Lausanne, v.3, n. 29, p. 1-16. 2012.
- EROĞLU, O.; ZILELI, R.; NALBANT, M.A.; ULUCAN, K. Prevalence of alpha actinin-3 gene (ACTN3) R577X and angiotensin converting enzyme (ACE) insertion / deletion gene polymorphisms in national and amateur Turkish athletes. **Cell Mol Biol**, Noisy-le-grand, v.30, n. p. 24-28. 2018.
- EVORA, P.R.B.; *et al.* Distúrbios do equilíbrio hidroeletrólítico e do equilíbrio acidobásico – Uma revisão prática. **Medicina**, Ribeirão Preto, v. 32, n. 4, p. 451-469, 1999.
- ÉVORA, PRB.; GARCIA, L.V. Equilíbrio ácido-base. **Medicina**, Ribeirão Preto, 2008; v. 41, n. 3, p. 301-311, 2008.
- EYNON, N.; *et al.* Genes and elite athletes: a roadmap for future research. **J Physiol**, London, v. 589, n. 13, p. 3063-3070, 2011.

EYNON, N.; *et al.* The ACTN3 R577X polymorphism across three groups of elite male European athletes. **PLoS One**, San Francisco, v. 7, n. 8, p. e43132, 2012.

FEDOTOVSKAYA, O.N.; *et al.* Association of muscle-specific creatine kinase (CKMM) gene polymorphism with physical performance of athletes. **Human Physiol**, Switzerland, v. 38, p. 89-93, 2012.

FIELD, M.L.; *et al.* Functional compartmentation of glycogen phosphorylase with creatine kinase and Ca²⁺ ATPase in skeletal muscle. **Journal of theoretical biology**, London, v. 238, p. 257-268, 2006.

FLÜCK, M.; *et al.* Cellular Aspects of Muscle Specialization Demonstrate Genotype - Phenotype Interaction Effects in Athletes. **Front Physiol**, Lausanne, v.10, p. 526, 2019.

FORES-NOVALES, B.; DIEZ-FORES, P.; AGUILERA-CELORRIO, L.J. Assessment of acid-base balance. Stewart's approach. **Rev Esp Anesthesiol Reanim**, España, v. 63, n. 4, p. 212-219, 2016.

FORNASIERO, A.; *et al.* Physiological intensity profile, exercise load and performance predictors of a 65-km mountain ultra-marathon. **J Sports Sci**, London, v. 36, n. 11, p. 1287-1295, 2018.

FURONI, R.M.; *et al.* Distúrbios do equilíbrio ácido-básico. **Rev Fac Ciênc Méd**, São Paulo, v. 12, n. 1, p. 5 -12, 2010.

GIL, A.C. **Como Elaborar Projetos de Pesquisa**. 4. ed. Atlas, 2002.

GREALY, R.; *et al.* Evaluation of a 7-Genetic Profile for Athletic Endurance Phenotype in Ironman Championship Triathletes. **PLoS One**, San Francisco, v. 10, n.12, p. 0145171, 2015.

GREEN, H.J.; *et al.* Muscle fatigue and excitation-contraction coupling responses following a session of prolonged cycling. **Acta Physiologiae Plantarum Journal**, Berlin, v. 203, n. 4, p. 441-455, 2011.

GRONEK, P.; *et al.* CKM Gene G (Ncol-) Allele Has a Positive Effect on Maximal Oxygen Uptake in Caucasian Women Practicing Sports Requiring Aerobic and Anaerobic Exercise Metabolism. **J Hum Kinet**, Warsaw, v. 39, p. 137-145, 2013.

GUILHERME, J.P.L.F.; *et al.* Analysis of sports-relevant polymorphisms in a large Brazilian cohort of top-level athletes. **Ann Hum Genet**, London, v. 82, n. 5, p. 254-264, 2018.

HAMILTON, P.K.; *et al.* Understanding Acid-Base Disorders. **Ulster Med J**, Bethesda; v. 86, n. 3, 161-166, 2017.

HE, E.; *et al.* Association of CKMM gene A/G polymorphism and athletic performance of Uyghur nationality. **Chinese journal of applied physiology**, Taiwan, v. 32, n.1, p.82-86, 2016.

HELED, Y.; *et al.* CK-MM and ACE genotypes and physiological prediction of the creatine kinase response to exercise. **J Appl Physiol**, Rockville, v. 103, p. 504–510, 2007.

HERNANDEZ, A.J.; NAHAS, R.M. Modificações dietéticas, reposição hídrica, suplementos alimentares e drogas: comprovação de ação ergogênica e potenciais riscos para a saúde. **Rev Bras Med Esporte**, São Paulo, v. 15, n. 3, p. 1-12, 2009.

HEW-BUTLER, T.; *et al.* Statement of the Third International Exercise-Associated Hyponatremia Consensus Development Conference, Carlsbad, California. **Br J Sports Med**, London, v. 49, n. 22, p. 1432-1436, 2015.

HINZPETER, J.; *et al.* Effect of active versus passive recovery on performance during intrameet swimming competition. **Sports Health**, Rosemont, v. 6, n. 2, p.119-121, 2014.

HOFFMAN, M.D. Anthropometric characteristics of ultramarathoners. **Int J Sports Med**, New York, v. 29, n.10, p. 808-811, 2008.

HOFFMAN, M.D.; *et al.* Body composition of 161-km ultramarathoners. **Int J Sports Med**. New York, v. 31, n. 2, p.106-109. 2010.

HOFFMAN, M.D.; GOULET, E.D.B.; MAUGHAN, R.J. Considerations in the Use of Body Mass Change to Estimate Change in Hydration Status During a 161-Kilometer Ultramarathon Running Competition. **Sports Med**, Switzerland, v. 48, n. 2, p. 243–250, 2018.

HOGARTH, M.W.; *et al.* Analysis of the ACTN3 heterozygous genotype suggests that α -actinin-3 controls sarcomeric composition and muscle function in a dose-dependent fashion. **Hum Mol Genet**, Oxford, v. 25, n. 5, p. 866-877, 2016.

HOLLIDGE-HORVAT, MG.; *et al.* Effect of induced metabolic alkalosis on human skeletal muscle metabolism during exercise. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, Rockville, v. 278, n. 2, p. 316-329, 2000.

HOPKINS, E.; SHARMA, S. **Physiology, Acid Base Balance**. Stat Pearls [Internet]. Treasure Island (FL): Stat Pearls Publishing; 2019.

ISJWARA, I.R.; LUKITO, W.; SCHULTINK, W.J. Comparison of body compositional indices assessed by underwater weighing, bioelectrical impedance and anthropometry in Indonesian adolescent's girls. **Asia Pac J Clin Nutr**, Dubai, v. 16, n. 4, p. 641-648, 2007.

JASTRZEBSKI Z.; *et al.* Changes in the acid-base balance and lactate concentration in the blood in amateur ultramarathon runners during a 100-km run. **Biol Sport**, Warsaw, v. 32 n.3, p. 261-265, 2015.

JONES, A.; MONTGOMERY, H.E.; WOODS, D.R. Human performance: a role for the ACE genotype? **Exerc Sport Sci Rev**, Indianapolis, 30, n. 4, p. 184–190, 2002.

KAO, W. F.; *et al.* Athletic performance and serial weight changes during 12- and 24-hour ultra-marathons. **Clin J Sport Med**, Long Beach, v.18 n. 2, p.155-158, 2008.

KARKI, R.; *et al.* Defining "mutation" and "polymorphism" in the era of personal genomics. **BMC Med Genomics**. Switzerland, v. 8, n. 37, p. 1-7, 2015.

KEHDY, F.S.; *et al.* Origin and dynamics of admixture in Brazilians and its effect on the pattern of deleterious mutations. **Proc Natl Acad Sci USA**, Washington, v. 112, n. 28, p. 8696-8701, 2015.

KIM, H.J.; LEE, C.K. Biomarkers of muscle and cartilage damage and inflammation during a 200 km run. **Eur J Appl Physiol**, Stockholm, v. 99, n. 9, 443-447, 2007.

KIM, J.H.; *et al.* Genetic associations of body composition, flexibility and injury risk with ACE, ACTN3 and COL5A1 polymorphisms in Korean ballerinas. **J Exerc Nutrition Biochem, Seoul**, v. 18, n. 2, p. 205-214, 2014.

KISHIMOTO, S.; *et al.* Hematocrit, haemoglobin and red blood cells are associated with vascular function and vascular structure in men. **Sci Rep**, Switzerland, v. 10, n. 1, p. 11467, 2020.

KLAPCIŃSKA, B., *et al.* Metabolic responses to a 48-h ultra-marathon run in middle-aged male amateur runners. **Eur J Appl Physiol**, Stockholm, v. 113, n. 11, 2781-2793, 2013.

KNECHTLE, B.; KNECHTLE, P.; ROSEMANN, T. Race performance in male mountain ultra-marathoners: anthropometry or training? **Percept Mot Skills**, Thousand Oaks, v. 110, n.3, p. 721-735, 2010.

KNECHTLE, B.; *et al.* A faster running speed is associated with a greater body weight loss in 100-km ultra-marathoners. **J Sports Sci**, London, v. 30, n. 11, p. 1131–1140, 2012.

KNECHTLE, B.; CHLÍBKOVÁ, D.; NIKOLAIDIS, P.T. Exercise-Associated Hyponatremia in Endurance Performance. **Praxis**. Göttingen, v. 108, n.9, p. 615-632, 2019.

KOSIBOROD, M.; *et al.* The relationship between anemia, change in hematocrit over time and change in health status in patients with heart failure after myocardial infarction. **J Card Fail**, Philadelphia, v. 14, n. 1, p. 27-34, 2008.

KYLE, U.G.; *et al.* Bioelectrical impedance analysis - part I: review of principles and methods. **Clin Nutr**, Oxford, v. 23, p. 1226-1246, 2004.

LAKATOS, E.M.; MARCONE, M.A. **Fundamentos de Metodologia Científica**. 5. ed. Atlas, 2003.

LANDER, E.S.; *et al.* Initial sequencing and analysis of the human genome. **Nature**, Switzerland, v. 409, n. 6822, p. 860–921, 2001.

LANNERGREN, J.; WESTERBLAD, H. Force decline due to fatigue and intracellular acidification in isolated fibers from mouse skeletal muscle. **J Physiol**. London, v. 434, p. 307-322, 1991.

LEE, S.; *et al.* A case of acute renal failure, rhabdomyolysis and disseminated intravascular coagulation associated with severe exercise-induced hypernatremic dehydration. **Clin Nephrol**, Rockledge, v. 62, n. 5, p. 401-403, 2004.

LEBUS, D.K.; *et al.* Can changes in body mass and total body water accurately predict hyponatremia after a 161-km running race? **Clin J Sport Med**, Long Beach, v. 20, n. 3, p. 193-199, 2010.

LIPPI, G.; LONGO, G.U.; MAFFULLI, N. Genetics and sports. **Br Med Bull**, Oxford, v. 93, n. 1, p. 27–47, 2010.

LOHMAN, G.T.; ROCHE, F.A.; MARTORELL, R. **Anthropometric standardization reference manual**. Illinois: Champaign; 1988.

MA, F.; *et al.* The Association of Sport Performance with ACE and ACTN3 Genetic Polymorphisms: A Systematic Review and Meta-Analysis. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 8, n. 1, p. e54685, 2013.

MACARTHUR, D.G.; *et al.* An Actn3 knockout mouse provides mechanistic insights into the association between alpha-actinin-3 deficiency and human athletic performance. **Hum Mol Genet**, Oxford, v. 17, n. 8, p. 1076-1086, 2008.

MÄGI, A.; *et al.* The Association Analysis between ACE and ACTN3 Genes Polymorphisms and Endurance Capacity in Young Cross-Country Skiers: Longitudinal Study. **J Sports Sci Med**, London, v. 15, n. 2, p. 287-294, 2016.

MARTÍNEZ-NAVARRO, I.; *et al.* Pacing and Body Weight Changes During a Mountain Ultramarathon: Sex Differences and Performance. **J Hum Kinet**, Warsaw, v. 80, p. 71–82, 2021.

MARTINS, E.G.M. Regressão linear simples, **Rev. Ciência Elem**, Lisboa, v. n. 3, p. 045, 2019.

MASCIA, G.; *et al.* Atrial fibrillation in athletes. **Int J Sports Med**, New York, v. 34, n. 5, p. 379-384, 2013.

MAUGHAN, R.J.; SHIRREFFS, S.M.; LEIPER, J.B. Errors in the estimation of hydration status from changes in body mass. **J Sports Sci**, London, v. 25, p. 797-804, 2007.

MCNAUGHTON, L.R.; FORD, S.; NEWBOLD, C. Effect of sodium bicarbonate ingestion on high intensity exercise in moderately trained women. **J Strength Cond Res**, Philadelphia, v. 11, n. 2, p. 98–102, 1997.

MEI-DAN, O.; CARMONT, M.R. **Adventure and Extreme Sports Injuries: Epidemiology, Treatment, Rehabilitation and Prevention**, London; New York: Springer; 2013.

MERO, A.A.; *et al.* Effect of sodium bicarbonate and beta-alanine supplementation on maximal sprint swimming. **J Int Soc Sports Nutr**, London, v. 10, n. 52, p. 1-9, 2013.

MILLET, G.Y.; *et al.* Neuromuscular consequences of an extreme mountain ultramarathon. **PLoS One**, San Francisco, v. 6, n. 2, p. e17059, 2011.

MILLET, G.P.; MILLET, G.Y. Ultramarathon is an outstanding model for the study of adaptive responses to extreme load and stress. **BMC Medicine**, Switzerland, v. 10, n. 77, p. 1-3, 2012.

MILLS, M.; *et al.* Differential expression of the actin-binding proteins, alpha-actinin-2 and -3, in different species: implications for the evolution of functional redundancy. **Hum Mol Genet**, Oxford, 2001, v. 1, n. 13, p. 1335-1346, 2001.

MONTGOMERY, H.E.; *et al.* Association of angiotensin-converting enzyme gene I/D polymorphism with change in left ventricular mass in response to physical training. **Circulation**, Dallas, v. 96, n. 3, p. 741-747, 1997.

MONTGOMERY, H.E.; *et al.* Human gene for physical performance. **Nature**, Switzerland, p. 393, n. 6682, p. 221-222, 1998.

MUELLER, S.M.; *et al.* Multiday acute sodium bicarbonate intake improves endurance capacity and reduces acidosis in men. **J Int Soc Sports Nutr**, London, v. 10, n. 16, p. 1-9, 2013a.

MUELLER, S.M.; *et al.* Changes in body composition in triathletes during an Ironman race. **Eur J Appl Physiol**. 2013, Stockholm, v. 113, n. 9, p. 2343-2352, 2013.

MUJIKKA, I.; *et al.* An Integrated, Multifactorial Approach to Periodization for Optimal Performance in Individual and Team Sports. **Int J Sports Physiol Perform**, Hanover, v. 13, n. 5, p. 538-61, 2018.

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

MYERSON, S.; *et al.* Human angiotensin I-converting enzyme gene and endurance performance. **J Appl Physiol**, Rockville, v. 87, n. 4, p. 1313-1316, 1999.

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

NEBOT, V.; *et al.* Efectos de la ingesta voluntaria de líquidos (agua y bebida deportiva) en corredores por montaña amateurs. **Nutr Hosp**, Madrid, v. 32, n. 5, p. 2198-3007, 2015.

NORMAN B, *et al.* Strength, power, fiber types, and mRNA expression in trained men and women with different ACTN3 R577X genotypes. **J Appl Physiol**, Rockville, v. 106, n. 3, p. 959-965, 2009.

NORTH, K.N.; *et al.* A common nonsense mutation results in α -actinin-3 deficiency in the general population. **Nature Genetics**, Switzerland, v. 21, n. 4, p. 353-54, 1999.

NUSSBAUN, R.L.; MCINNES, R.R.; HUNTINGTON, F.W. Thompson & Thompson **Genética Médica**. 8ª. ed. São Paulo: Elsevier, 2016.

O'KEEFE, J.H.; *et al.* Potential adverse cardiovascular effects from excessive endurance exercise. **Mayo Clin Proc**, Rochester, v. 87, n. 6, p. 587-595, 2012.

OLIVEIRA, E.C.; *et al.* Effect of ACTN3 R577X genotypes on muscle strength and power in brazilian mixed martial arts athletes. **JEPonline**, Minnesota, v. 21, n. 2, p. 202-213, 2018.

OLIVEIRA, V. F.; *et al.* O equilíbrio de Hardy-Weinberg no sistema sanguíneo ABO: um estudo de caso em Engenheiro Coelho – SP. **Ciência e Natura**, Santa Maria, v. 43, n.16, p. 1-20, 2021.

O'LOUGHLIN, E.; NIKOLAIDIS, P.T.; ROSEMANN, T.; KNECHTLE, B. Different predictor variables for women and men in ultra-marathon running—the Wellington Urban Ultramarathon 2018. **Int J Environ Res Public Health**, Basel, v.16, n. 10, p. 1844. 2019.

ORR, N.; CHANOCK, S. Common genetic variation and human disease. **Adv Genet**, Amsterdam, v. 62, p. 1–32, 2008.

PAGE, A.J.; REID, S.A.; SPEEDY, D.B.; MULLIGAN, G.P.; THOMPSON, J. Exercise-associated hyponatremia, renal function, and nonsteroidal antiinflammatory drug use in an ultraendurance mountain run. **Clin J Sport Med**. Long Beach, v. 17, n. 1, p. 43-48. 2007.

PAPADIMITRIOU, I.D.; *et al.* No association between ACTN3 R577X and ACE I/D polymorphisms and endurance running times in 698 Caucasian athletes. **BMC Genomics**, Switzerland, v. 19, n. 13, p. 1-9, 2018.

PANZA, V.P.; *et al.* Consumo alimentar de atletas: reflexões sobre recomendações nutricionais, hábitos alimentares e métodos para avaliação do gasto e consumo energéticos. **Rev Nutr**, Campinas, v. 20, n. 6, p. 681-692, 2007.

PASQUA, A.L.; *et al.* ACTN3 gene and sports performance: a candidate gene to success in short and long duration events. **Rev Bras Cineantropom. Desempenho Hum**. Florianópolis, v. 13, n. 6, p. 477-483, 2011.

PASQUA, L.A, *et al.* The genetics of human running: ACTN3 polymorphism as an evolutionary tool improving the energy economy during locomotion. **Ann Hum Biol**. London, v. 43, n. 3, p. 255-260, 2016.

PASQUALETTI, M. *et al.* The Relationship between ACE, ACTN3 and MCT1 Genetic Polymorphisms and Athletic Performance in Elite Rugby Union Players: A Preliminary Study. **Genes**, Basel, v.13, n. 6, p. 969, 2022.

PASSAGLIA, D.G.; *et al.* Efeitos Agudos do Exercício Físico Prolongado: Avaliação Após Ultramaratona de 24 Horas. **Arq Bras Cardiol**. Rio de Janeiro, v. 100, n. 1, p. 21-28. 2013.

PICKERING, C.; KIELY, J. ACTN3: More than Just a Gene for Speed. **Front Physiol**, Lausanne, v. 8, p. 1080, 2017.

PITSILADIS, Y. Genomics of elite sporting performance: what little we know and necessary advances. **Br J Sports Med**, California, v. 47, n. 9, p. 550-555, 2013.

PROIA, P.; *et al.* Lactate as a Metabolite and a Regulator in the Central Nervous System. **Int J Mol Sci**, Basel, v. 17. n. 9, p. e1450, 2016.

QUADE, B.N.; PARKER, M.D.; OCCHIPINTI, R. The therapeutic importance of acid-base balance. **Biochem Pharmacol**, Kansas, v. 183: p. 114278, 2021.

RALEIGH, S.M. Epigenetic regulation of the ACE gene might be more relevant to endurance physiology than the I/D polymorphism. **J Appl Physiol**, Rockville, v. 112, n. 6, p.1082-1083. 2012.

RAMOS-CAMPOS, D.J.; *et al.* Muscle damage, physiological changes and energy balance in ultra-endurance mountain event athletes. **Appl Physiol Nutr Metab**, Ontario, v. 41, n. 8, p. 872-878, 2016.

RANKINEN, T.; *et al.* No evidence of a common DNA variant profile specific to world class endurance athletes. **PLoS One**, San Francisco, v. 11, n. 1, p. e0147330, 2016.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2020. URL <https://www.R-project.org/>

REINHART. W.H. The optimum hematocrit. **Clin Hemorheol Microcirc**, Amsterdam, v. 64, n. 4, p. 575-585, 2016.

REZENDE, P.E.N.; *et al.* Corrida de montanha: resposta do lactato em diferentes níveis de dificuldade. **Caderno de Graduação-Ciências Biológicas e da Saúde-UNIT**, Sergipe, v. 3, n. 2, p. 111-118.

RIBAS, M.R.; *et al.* Association of ACTN3 R577X and ACE I/D Polymorphisms in Brazilians Wrestlers. **Rev Bras Med Esporte**, São Paulo, v. 23, n. 6, p. 469-472, 2017.

RIBAS, M.R.; *et al.* R577X of the ACTN3 gene as predictor of physical performance in ultramarathon runners. **Rev Bras Med Esporte**, São Paulo, v. 26, n. 6, p. 523-526, 2020.

RIBEIRO EDE, A, Jr.; *et al.* The structure and regulation of human muscle α -actinin. **Cell**. Switzerland, v. 159, n. 6, p. 1447-1460, 2014.

RIELLA, M.C. **Princípios de nefrologia e distúrbios hidroeletrólíticos**. 4ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2003.

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

RIGATO, I.; BLARASIN, L.; KETTE, F. Severe hypokalemia in 2 young bicycle riders due to massive caffeine intake. **Clin J Sport Med**, Philadelphia, v. 20, n. 2, p. 128-130, 2010.

RINGER, I.; PULFREY, S. Runner's new diet, his collapse, and his ECG: when a rapid ECG diagnosis can save the day. **Can Fam Physician**, Ontario, v. 60, n. 4, p. 340-344, 2014.

RIVERA, M.A.; *et al.* Muscle-specific creatine kinase gene polymorphism and VO₂max in the Heritage Family Study. **Med Sci Sports Exerc**, Indianapolis, v. 29, n. 10, p. 1311-1317, 1997a.

RIVERA, M.A.; *et al.* Muscle-specific creatine kinase gene polymorphisms in elite endurance athletes and sedentary controls. **Med Sci Sports Exerc**, Indianapolis, v. 29, n. 11, p. 1444-1447, 1997b.

ROSSI, A.M.; *et al.* Muscle-type MM creatine kinase is specifically bound to sarcoplasmic reticulum and can support Ca^{2+} uptake and regulate local ATP/ADP ratios. **J Biol Chem**, Rockville, v. 265, n. 9, p. 5258-5266, 1990.

RUBIO-ARIAS, J.Á.; *et al.* Muscle damage and inflammation biomarkers after two ultra-endurance mountain races of different distances: 54 km vs 111 km. **Physiol Behav**, Zurich, v. 205, p. 51-57, 2019.

RUIZ, J.R.; *et al.* Is there an optimum endurance polygenic profile? **J Physiol**, London, v. 587, n.7, p. 1527-1534, 2009.

SALGUEIROSA, F.M.; *et al.* ACTN3 R577X and ACE I/D Genotype Frequencies of Professional Soccer Players in Brazil. **JEPonline**, Minnesota, v. 20, n. 6, p. 129-138, 2017.

SAMEER, A.S.; BANDAY, M.Z; NISSAR, S. (2021). Mutations and Polymorphisms: What Is The Difference? **Pharmacol Rev**. Switzerland, v.73, n. 1, p. 89 – 119, 2021.

SÁNCHEZ, S.M.; *et al.* Alteraciones del metabolismo ácido base: alcalosis. **Medicine**, Madri, v. 11, n. 79, p. 4759-4767, 2015.

SARZYNSKI, M. A.; *et al.* Advances in Exercise, Fitness, and Performance Genomics in 2015. **Med Sci Sports Exerc**, Indianapolis, v. 48, n. 10, p.1906-1916, 2016.

SAUGY, J.; *et al.* Alterations of neuromuscular function after the world's most challenging mountain ultra-marathon. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 8, n. 6, p. e65596, 2013.

SAWILOWSKY, S.S. New Effect Size Rules of Thumb. **Journal of Modern Applied Statistical Methods**, Detroit, v. 8, n. 2, p. 597-599, 2009.

SCHEER, V. *et al.* Defining Off-road Running: A Position Statement from the Ultra Sports Science Foundation. **Int J Sports Med**. New York, v. 41, n. 5, p. 275-284, 2020.

SCOTNEY, B.; and REID, S. Body Weight, Serum Sodium Levels, and Renal Function in an Ultra-Distance Mountain Run. **Clin J Sport Med**. Long Beach v. 25, n. 4, p. 341-346, 2015.

SEIFTER, J.L.; CHANG, H.Y. Extracellular Acid-Base Balance and Ion Transport Between Body Fluid Compartments. **Physiology (Bethesda)**, Rockville, 2017, v. 32, n. 5, p. 367-379, 2017.

SEIFTER, J.L. Body Fluid Compartments, Cell Membrane Ion Transport, Electrolyte Concentrations, and Acid-Base Balance. **Semin Nephrol**, Philadelphia, p. 39, n. 4, p. 368-379, 2019.

SIERRA, A.P.R.; *et al.* Association Between Hematological Parameters and Iron Metabolism Response After Marathon Race and ACTN3 Genotype. **Front Physiol**, Lausanne, p. 11, n. 10, p. 697, 2019.

SILVA, F.I.C.; *et al.* A importância da hidratação hidroeletrólítica no esporte. **R Bras Ci Mov**, São Caetano do Sul, v. 19, n. 3, p. 120-128, 2011.

SILVENTOINEN, K.; *et al.* Heritability of adult body height: A comparative study of twin cohorts in eight countries. **Twin Res**, Cambridge, v. 6, n. 5, p. 399–408, 2003.

SINGH, R.S.; KULATHINAL, R.J.; Polymorphism. In: MALOY, S.; HUGHES, K.; (eds) **Brenner's encyclopedia of genetics**. 2nd edn. Academic Press, San Diego, p. 398–399. 2013.

SHANG, X.; *et al.* Association between the ACTN3 R577X polymorphism and female endurance athletes in China. **Int J Sports Med**, New York, v. 31, n.12, p. 913-916, 2010.

SHANMUGAM, V.; SELL, K.W.; SAHA, B.K. Mistyping ACE heterozygotes. **PCR Methods Appl**, New York, v. 3, n. 2, p. 120-121, 1993.

SHAPIRO, S.S.; WILK, M.B. An analysis of variance test for normality (complete samples). **Biometrika**, New York, v. 52, n. 3-4, p. 591-611, 1965.

SHARWOOD, K.A.; *et al.* Weight changes, medical complications, and performance during an Ironman triathlon. **Br J Sports Med**, London, v. 38, n. 6, p. 718-724, 2004.

SHIN, K.A.; *et al.* Effect of Ultra-marathon (308 km) Race on Bone Metabolism and Cartilage Damage Biomarkers. **Ann Rehabil Med**, Seoul, 2012 v. 36, n. 1, p. 80- 87, 2012.

SOUZA, P.L.; *et al.* Fatores psicológicos que interferem no desempenho competitivo de judocas de alto nível. **Rev Bras Pres Fis Exercício**, Brasil, v. 7, n. 40, p. 320-328, 2013.

SRINIVASAN, S.; CLEMENTS, J.A.; BATRA, J. Single nucleotide polymorphisms in clinics: fantasy or reality for cancer? **Crit Rev Clin Lab Sci**, London, v. 53. n. 1, p. 29–39, 2016.

THARABENJASIN, P.; PABALAN, N.; JARJANAZI, H. Association of the ACTN3 R577X (rs1815739) polymorphism with elite power sports: A meta-analysis. **PLoS One**, San Francisco, v. 14, n. 5, p. e0217390, 2019.

TAYLOR, R.R.; *et al.* Elite athletes and the gene for angiotensin-converting enzyme. **J Appl Physiol**, Rockville, v. 87, n. 3, p. 1035-1037, 1999.

THOMPSON, P.D.; *et al.* Angiotensin-converting enzyme genotype and adherence to aerobic exercise training. **Preventive Cardiology**, Amsterdam, v. 9, n. 1, p. 21-24, 2006.

TREVILATTO, P.C.; LINE, S.R. Use of buccal epithelial cells for PCR amplification of large DNA fragments. **J Forensic Odontostomatol**, Bethesda, v. 18, n. 1, p. 6-9, 2000.

TSIANOS, G.; *et al.* The ACE gene insertion/deletion polymorphism and elite endurance swimming. **Eur J Appl Physiol**, Stockholm, v. 92, n. 3, p. 360-362, 2004.

VANCINI, R.L.; *et al.* Genetic aspects of athletic performance: the African runners phenomenon. **J Sports Med**, London, v. 5, p. 123-127, 2014.

- VÉGH, D.; *et al.* The Effect of Selected Polymorphisms of the ACTN3, ACE, HIF1A and PPARA Genes on the Immediate Supercompensation Training Effect of Elite Slovak Endurance Runners and Football Players. **Genes**, Basel, v.13, n.9, p.1525, 2022.
- VERNILLO, G.; *et al.* Energy cost and kinematics of level, uphill and downhill running: Fatigue-induced changes after a mountain ultramarathon. **J Sports Sci**, London, v. 33, n. 19, p. 1998-2005.
- VIERA, A.J.; WOUK, N. Potassium Disorders: Hypokalemia and Hyperkalemia. **Am Fam Physician**, Bethesda, v. 92, n. 6, p. 487- 495, 2015.
- VINICIU A.F.; *et al.* Angiotensin converting enzyme insertion/deletion polymorphism is associated with increased adiposity and blood pressure in obese children and adolescents. **Gene**, Switzerland, v. 532, n.2, p. 197–202, 2013.
- VITIELLO, D.; *et al.* Myocardial damages and left and right ventricular strains after an extreme mountain ultra-long duration exercise. **Inter J Cardiology**, Amsterdam, v. 165, n. 2, p. 391-392, 2013.
- WALLIMANN, T.; *et al.* Intracellular compartmentation, structure and function of creatine kinase isoenzymes in tissues with high and fluctuating energy demands: the 'phosphocreatine circuit' for cellular energy homeostasis. **Biochem J**, London, v. 281, n. 1, p. 21-40, 1992.
- WALSH, S.; *et al.* ACTN3 genotype is associated with muscle phenotypes in women across the adult age span. **J Appl Physiol**, Rockville, v.105, n. 5, p. 1486-1491. 2008.
- WASKIEWICZ, Z.; *et al.* Acute metabolic responses to a 24-h ultra-marathon race in male amateur runners. **Eur J Appl Physiol**, Stockholm, v. 112, n. 5, p.1679-1688, 2012.
- WEI, Q. ACE and ACTN3 Gene Polymorphisms and Genetic Traits of Rowing Athletes in the Northern Han Chinese Population. **Front Genet**, Lausanne, v. 12, p. 1 – 12. 2021.
- WOELLNER, GN.; *et al.* Análise do Polimorfismo do Gene ACE em Atletas de Provas de Fundo e Potência no Atletismo. **Revista Uniandrade**, Curitiba, v. 17, n. 2, p. 63-69, 2016.
- WU, H.J.; *et al.* Effects of 24 h ultra-marathon on biochemical and hematological parameters. **World J Gastroenterol**, Pleasanton, v.10, n. 18, p. 2711-2714, 2004.
- WU, A.H.B. **Tietz clinical guide to laboratory tests**. 5th edition. Saunders, St. Louis. 2006.
- WUTHRICH, T.U.; *et al.* Aspects of respiratory muscle fatigue in a mountain ultramarathon race. **Med Sci Sports Exerc**, Indianapolis, v. 47, n. 3, p. 519-527, 2015.
- YAMASHITA, K.; YOSHIOKA, T. Profiles of creatine kinase isoenzyme compositions in single muscle fibres of different types. **J Muscle Res Cell Motil**, Switzerland, v. 12, n. 1, p. 37-44, 1991.

- YAN, X.; *et al.* Nature versus Nurture in Determining Athletic Ability. **Med Sport Sci**, Basel, v. 61, p. 15-28, 2016.
- YANG, N.; *et al.* ACTN3 genotype is associated with human elite athletic performance. **American Journal of Human Genetics**. Philadelphia, v. 73, n. 3, p. 627-631, 2003.
- YANG, N.; *et al.* The ACTN3 R577X polymorphism in East and West African athletes. **Med Sci Sports Exerc**. Indianapolis, v. 39, p. 1985–1988, 2007.
- YANG, S.; *et al.* Association between ACE and ACTN3 genes polymorphisms and athletic performance in elite and sub-elite Chinese youth male football players. **Peer J**, Bethesda, v. 11, e14893, 2023.
- YUSOF, A.; *et al.* Exercise-induced hemolysis is caused by protein modification and most evident during the early phase of an ultraendurance race. **J Appl Physiol**, Rockville, v. 102, n. 2, p. 582-586, 2007.
- ZANCHI, D.; *et al.* Extreme Mountain ultra-marathon leads to acute but transient increase in cerebral water diffusivity and plasma biomarkers levels changes. **Front Physiol**, Lausanne, v. 7, n. 664, p. 1-10, 2017.
- ZHANG, B.; *et al.* The I allele of the angiotensin-converting enzyme gene is associated with an increased percentage of slow-twitch type I fibers in human skeletal muscle. **Clin Genet**, New York, v. 63, n. 2, p.139-144, 2003.
- ZHOU, C.; *et al.* Match Performance of Soccer Teams in the Chinese Super League-Effects of Situational and Environmental Factors. **Int J Environ Res Public Health**, Basel, v. 16, n. 21, p. e4238, 2019.
- ZHOU, D.Q.; *et al.* An A/G polymorphism in muscle-specific creatine kinase gene in Han population in northern China. **Yi Chuan**, Beijing, v. 27, p. 535-538, 2005.
- ZHOU, D.Q.; *et al.* Muscle-specific creatine kinase gene polymorphism and running economy responses to an 18-week 5000-m training programme. **Br J of Sports Med**, London, v. 40, n. 12, p. 988-991, 2006.

APÊNDICE A – Questionário de Pesquisa

Questionário Para os Atletas

Prova: 105 K

Nº INSCRIÇÃO

QUESTIONÁRIO IDENTIFICAÇÃO

Nome: _____

e-mail: _____

Celular/Whats: _____

Sexo: () Fem. () Mas. Data de
Nascimento: _____

Cidade: _____ Estado: _____

País: _____

1. Há quanto tempo você pratica a corrida (incluindo todas as categorias: rua, trilha, pista, montanha)?

() 1 a 2 anos () 2 a 3 anos () 3 a 4 anos () 5 anos ou mais

2. Há quanto tempo você pratica apenas CORRIDA DE MONTANHA?

() 1 a 2 anos () 2 a 3 anos () 3 a 4 anos () 5 anos ou mais

3. Qual seu nível competitivo?

() Amador () Elite

Qual é o nível de competição que costuma competir?

() Municipal () Estadual () Nacional () Internacional

4. Treina outra modalidade esportiva?

() Musculação () Pilates () Crossfit () Ciclismo

Outros: _____

5. Treina quantas vezes durante a semana (segunda a domingo)?

() 2 vezes () 3 a 4 vezes () 5 a 6 vezes () 7 ou mais

6. Quanto tempo dura a sua sessão de treino? (Tempo médio da sessão por dia/ segunda a sexta-feira).

até 1 hora 1 a 2 horas 2 a 3 horas mais de 3 horas

7. Quanto tempo dura a sua sessão de treino no final de semana? (Tempo médio da sessão por dia/ sábado e domingo).

até 1 hora 1 a 2 horas 2 a 3 horas mais de 3 horas

8. Quanto tempo você se preparou para esta prova?

1 a 2 meses 2 a 3 meses 3 a 4 meses 6 meses ou mais

9. Treina com orientação de um profissional formado na área?

Sim Não

APÊNDICE B - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Por favor, leia com atenção as informações contidas abaixo antes de dar o seu consentimento para participar deste estudo. Este é um convite formal para que você participe voluntariamente da pesquisa intitulada: **Estudo da correlação de parâmetros biomoleculares em corredores de longas distâncias**. As informações presentes neste documento são para que você entenda os objetivos e saiba sobre sua participação na pesquisa. Esclarecimentos e eventuais dúvidas durante a leitura do documento, assim como antes, durante e após o término do estudo consulte o pesquisador responsável Marcelo Romanovitch Ribas. Se após a leitura deste documento concordar com os procedimentos metodológicos, pedimos sua assinatura ao final do documento e sua rubrica em todas as páginas do mesmo.

Favor verificar se você se enquadra nos critérios de inclusão do presente estudo: participante de Corrida de Montanha com experiência de duas (2) provas acima de 21 km e uma (1) acima de 42 km entre os anos de 2015 e 2016, e possuir idade igual ou superior a 18 anos. Como critérios de exclusão, serão adotados os seguintes: a) atletas que não assinem o termo de consentimento livre e esclarecido; b) atletas que não completarem a prova no tempo limite de 11h00min; c) não realizar a coleta de sangue pré e pós prova; d) apresentar alguma patologia.

Esta pesquisa se justifica pelo fato de a corrida de montanha estar ganhando novos adeptos diariamente, tanto para a prática recreacional quanto de rendimento. No entanto estudos que podem trazer novas informações sobre o perfil dos praticantes da modalidade, não acompanham esta demanda. Sabendo que o sucesso esportivo é resultado do treinamento, nutrição, fatores psicológicos e atributos genéticos, a presente pesquisa tem por objetivo traçar o perfil genotípico para os genes: Alfa Actina 3 (*ACTN3*), Enzima Conversora de Angiotensina (*ECA*) e Creatina Quinase (*CK MM*), além de verificar as alterações agudas eletroquímicas e do distúrbio ácido básico em corredores de montanha de longa distância. Dessa maneira, a pesquisa colaborará com o conhecimento científico servindo como referência para futuras pesquisas na corrida de montanha.

Caso tenha interesse em participar da pesquisa, você será submetido a duas coletas de dados em momentos distintos, sendo uma pré e outra após a corrida. A primeira coleta será realizada dois dias antes da competição e contará com os seguintes passos: 1) Preenchimento de um questionário; 2) Coleta salivar, método

para determinação do genótipo para os genes *ACTN3*, *ECA* e *CK MM*; 3) Coleta sanguínea para análise dos componentes eletroquímicos e ácido básico, sendo analisados os seguintes parâmetros: pH, pCO₂, pO₂, Na⁺, K⁺, Ca²⁺, Lactato, glicose, excesso de base, hematócrito e HCO₃⁻; 4) Avaliação antropométrica, sendo mensurada massa corporal, estatura e composição corporal por meio da bioimpedância. Já a segunda coleta de dados, que será feita logo após o término da prova, contará com: 1) Avaliação antropométrica e 2) Coleta sanguínea.

Fui alertado que, da pesquisa a ser realizar, é possível desconforto ou risco como: Uma leve picada no dedo para coletar o meu sangue, bem como risco de infecções. Porém para evitar tais desconfortos e risco todos os dados serão coletados por enfermeiras capacitados e será usado material estéril descartável, fato que minimiza os riscos de infecções. Em relação aos benefícios gerados receberei os resultados dos genótipos para os genes *ACTN3*, *ECA* e *CK MM*, dados pré e pós-competição dos marcadores bioquímicos e da composição corporal que serão investigados. Tais dados podem auxiliar no planejamento do treinamento físico. No que diz respeito aos benefícios gerados para os acadêmicos, a pesquisa contribuirá não apenas para conhecimento científico, mas também para a elaboração de programas de promoção a saúde desta população. Embora, muitas vezes o participante voluntário da pesquisa não seja beneficiado diretamente com os resultados obtidos, seus dados serão importantes para o avanço científico.

Caso queira entrar em contato com o comitê de ética, responsável pela aprovação desta pesquisa, poderá contatar o Comitê de Ética e pesquisa da Faculdade Dom Bosco pelo telefone (41) 3218-5582, e-mail: cep@dombosco.sebsa.com.br. O Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) é um colegiado interdisciplinar e independente, com “múnus público”, que existe nas instituições que realizam pesquisas envolvendo seres humanos no Brasil, criado para defender os interesses dos participantes da pesquisa em sua integridade e dignidade e para contribuir no desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos (Normas e Diretrizes Regulamentadoras da Pesquisa Envolvendo Seres Humanos - Res. CNS n.º 466/12).

A sua participação neste estudo é voluntária. Contudo, se você não quiser mais fazer parte da pesquisa tem liberdade para aceitar ou recusar a participação, agora, ou em qualquer momento, e poderá solicitar de volta o termo de consentimento livre esclarecido assinado. Caso você sofra qualquer tipo de dano resultante da

metodologia apresentada nesta pesquisa, prevista no Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, você terá direito à indenização prescrita por lei. As despesas necessárias para a realização da pesquisa, não são de sua responsabilidade e pela sua participação no estudo você não receberá qualquer valor em dinheiro.

As informações relacionadas ao estudo poderão ser inspecionadas pelos responsáveis que executam a pesquisa e pelas autoridades legais. No entanto, se qualquer informação for divulgada em relatório ou publicação, isto será feito de maneira codificada, para que sua privacidade seja respeitada, ou seja, seu nome ou qualquer outro dado ou elemento que possa, de qualquer forma, lhe identificar, será mantido em sigilo, a fim de evitar tipo de discriminação e/ou estigmatização, individual ou coletiva.

Eu, _____, portador do CPF _____, declaro que li o texto acima e compreendi a natureza e objetivo do estudo do qual fui convidado a participar. A explicação que recebi menciona os riscos e benefícios do estudo. Eu entendi também que sou livre para interromper a investigação do projeto e para encerrar a minha própria participação no estudo a qualquer momento, sem precisar justificar minha decisão. Eu **CONCORDO VOLUNTARIAMENTE** em participar deste estudo.

Curitiba, ____ de _____ de 20 ____.

Pesquisador: Marcelo Romanovitch Ribas, CPF – 018.791.059-69.

OBS: este documento deve conter duas vias iguais, sendo uma pertencente ao pesquisador e outra ao participante de pesquisa.

APÊNDICE C – Parecer Consubstanciado do CEP

FACULDADE DOM BOSCO/ PR



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Estudo da correlação de parâmetros biomoleculares em corredores de longas distâncias

Pesquisador: MARCELO ROMANOVITCH RIBAS

Área Temática: Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP;);

Versão: 1

CAAE: 74718717.0.0000.5223

Instituição Proponente: Faculdades Dom Bosco/ PR

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.275.040

Apresentação do Projeto:

As corridas em montanha estão se tornando cada vez mais populares e atraindo mais adeptos. Os corredores brasileiros de ultramaratona de montanha que faram parte da amostra do presente estudo, serão submetidos a duas etapas de coletas, a saber: Dois dias antes da competição: Mensuração de massa corporal, estatura, composição corporal por bioimpedância, preenchimento de questionário, coleta sanguínea por meio de sangue capilar e coleta de células da mucosa bucal; Após o término da corrida: Mensuração de massa corporal, composição corporal por bioimpedância, coleta sanguínea por meio de sangue capilar.

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar a distribuição genotípica e alélica dos genes, alfa actina 3, da enzima conversora de angiotensina, da enzima creatina quinase M em corredores brasileiros de ultramaratona de montanha de alto rendimento. e propor instrumentação para a medição descentralizada de parâmetros biomoleculares para atletas

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: Os riscos presentes na realização deste estudo estão relacionados à coleta da amostra sanguínea, tais como sensação de dor moderada no local da punção, sangramento excessivo e

Endereço: Rua Paulo Martins, 332

Bairro: Mercês

CEP: 80.710-010

UF: PR

Município: CURITIBA

Telefone: (41)3218-5582

Fax: (41)3218-5559

E-mail: cep@dombosco.sebsa.com.br

FACULDADE DOM BOSCO/ PR



Continuação do Parecer: 2.275.040

baixo risco de infecção, os quais são passíveis de controle por meio de medidas preventivas, para isso serão utilizados materiais esterilizados e descartáveis para a punção (agulhas, seringas e luvas), assepsia prévia do local a ser puncionado por meio da utilização de álcool 70%. Para prevenção da formação de hematoma todos os indivíduos terão o local da punção comprimido de forma adequada ao ser retirada a agulha.

Benefícios: Por meio da realização deste estudo o participante terá acesso a genotipagem dos genes candidatos que foram estudados para a variável força, potência e resistência e receberam os resultados pré-competição e pós-competição com os marcadores bioquímicos, que poderão auxiliar o atleta a aperfeiçoar seu planejamento de treino e competição.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa apresenta relevância científica.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos de apresentação obrigatória foram apresentados e seguem a resolução vigente.

Recomendações:

Recomenda-se a aprovação do projeto.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Verificar comentários acima, todos os itens obrigatórios foram apresentados e seguem a resolução vigente.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_986492.pdf	28/08/2017 20:25:38		Aceito
Folha de Rosto	folhaderosto2808.docx	28/08/2017 20:25:09	MARCELO ROMANOVITCH RIBAS	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	autorizacao2708.docx	27/08/2017 20:04:37	MARCELO ROMANOVITCH RIBAS	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	cartaaautorizacao2708.docx	27/08/2017 20:03:27	MARCELO ROMANOVITCH RIBAS	Aceito

Endereço: Rua Paulo Martins, 332

Bairro: Mercês

CEP: 80.710-010

UF: PR

Município: CURITIBA

Telefone: (41)3218-5582

Fax: (41)3218-5559

E-mail: cep@dombosco.sebsa.com.br

FACULDADE DOM BOSCO/ PR



Continuação do Parecer: 2.275.040

TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	tcle2708.docx	27/08/2017 20:00:57	MARCELO ROMANOVITCH RIBAS	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projetodoutorado2207.docx	27/08/2017 19:59:43	MARCELO ROMANOVITCH RIBAS	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

CURITIBA, 14 de Setembro de 2017

Assinado por:
RENATA WASSMANSDORF
(Coordenador)

Endereço: Rua Paulo Martins, 332**Bairro:** Mercês**CEP:** 80.710-010**UF:** PR**Município:** CURITIBA**Telefone:** (41)3218-5582**Fax:** (41)3218-5559**E-mail:** cep@dombosco.sebsa.com.br

APÊNDICE D – Carta de Autorização de Uso do Laboratório de Genética



CARTA DE AUTORIZAÇÃO

Eu, **Zair Candido de Oliveira Netto**, coordenador do curso de Educação Física na **Universidade Positivo**, portador do CPF: 539.807.789-91, tenho ciência e autorizo a realização da pesquisa intitulada **ESTUDO DA CORRELAÇÃO DE PARÂMETROS BIOMOLECULARES EM CORREDORES DE LONGA DISTÂNCIA**, sob a responsabilidade do pesquisador Fábio K. Schneider do Doutorando Marcelo Romanovitch Ribas. Para tanto será disponibilizada, toda a infraestrutura de laboratório e reagentes para a realização da genotipagem dos genes ACTN-3, ECA e CK de atletas de corridas de longas distâncias.

Curitiba, 23 de maio de 2017.



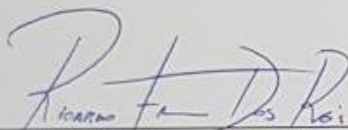
APÊNDICE E – Termo de Autorização de Realização de Pesquisa Científica

TERMO DE AUTORIZAÇÃO DE REALIZAÇÃO DE PESQUISA CIENTÍFICA**TERMO DE AUTORIZAÇÃO DE REALIZAÇÃO DE PESQUISA CIENTÍFICA**

Pedimos a **Ricardo Franco dos Reis**, gerente da Território Mountain Shop, permissão para realizar nas dependências da loja situada na Rua Vicente Machado nº 2855 – Centro – Curitiba/PR, no dia 13 de julho do corrente, das 13:00 às 20:00 horas, uma pesquisa intitulada: **"Estudo da correlação de parâmetros biomoleculares em corredores de longas distâncias"** cujo objetivo é Avaliar a distribuição genotípica e alélica dos genes, alfa actina 3, da enzima conversora de angiotensina, da enzima creatina quinase M em corredores brasileiros de longas distâncias de alto rendimento. Sob a responsabilidade do pesquisador Fábio K. Schneidere do Doutorando Marcelo Romanovitch Ribas. Autorizo a pesquisa e seu devido orientador citado abaixo para a realização da pesquisa. Para tanto será disponibilizada, a infraestrutura para realizar as avaliações.

Curitiba, 07 de junho de 2017.

Assinatura:

RG: 10.260.375-3CPF: 068.851.969-59**Professor MSc. Marcelo Romanovitch Ribas**

CPF: 018.791.059-69

APÊNDICE F – Artigo Publicado da Tese

Article

Genetic Polymorphisms and Their Impact on Body Composition and Performance of Brazilians in a 105 Km Mountain Ultramarathon

Marcelo Romanovitch Ribas ¹, Fábio Kurt Schneider ¹ , Danieli Isabel Romanovitch Ribas ²,
André Domingues Lass ³, Georgian Badicu ^{4,*}  and Júlio Cesar Bassan ⁵ 

- ¹ Postgraduate Program in Electrical Engineering and Industrial Informatics, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba 80230901, Brazil; mromanovitch@yahoo.com.br (M.R.R.); fabiok@utfpr.edu.br (F.K.S.)
² Human Genetics Laboratory, Centro Universitário Autônomo do Brasil (UniBrasil), Curitiba 82821020, Brazil; danieliribas@yahoo.com.br
³ Laboratory of Exercise Biochemistry in Health, Graduate Program in Health Sciences, School of Medicine, Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba 80215901, Brazil; andrelass0974@gmail.com
⁴ Department of Physical Education and Special Motricity, Faculty of Physical Education and Mountain Sports, Transilvania University of Braşov, 500068 Braşov, Romania
⁵ Postgraduate Program in Physical Education, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba 81310900, Brazil; jcbassan@utfpr.edu.br
 * Correspondence: georgian.badicu@unitbv.ro



Citation: Ribas, M.R.; Schneider, F.K.; Ribas, D.I.R.; Lass, A.D.; Badicu, G.; Bassan, J.C. Genetic Polymorphisms and Their Impact on Body Composition and Performance of Brazilians in a 105 Km Mountain Ultramarathon. *Eur. J. Investig. Health Psychol. Educ.* **2023**, *13*, 1751–1761. <https://doi.org/10.3390/ejihpe13090127>

Academic Editors: María del Mar Molero Jurado, África Martes Martínez, María del Mar Simón Márquez, Ana Belén Barragán Martín and Samuel Fernández-Salmero

Received: 1 August 2023

Abstract: Although the studied polymorphisms affect muscular proteins, aerobic adaptations, and recovery, their influence on the anthropometric variables and performance in ultramarathon runners is still poorly understood. This study aimed to determine the influence of *ACTN3 R577X*, *ACE I/D*, and *CK MM A/G NcoI* polymorphisms on the changes in the anthropometric variables and running time of 105 km mountain runners, in which 22 male Brazilian elite athletes (35.9 ± 6.5 years) were evaluated. Genotyping of the *R577X* (RR, RX, and XX), *ACE I/D* (DD, ID, and II), and *CK MM A/G NcoI* (AA, AG, and GG) polymorphisms was performed using the Polymerase Chain Reaction–Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR–RFLP) technique with DNA extracted from saliva. Body composition was determined via bioimpedance. Pre- and post-race weight differences were observed on athletes with the AA genotype (77.1 ± 5.9 kg; 74.6 ± 5.6 kg) compared with those with the AG genotype (74.5 ± 8.0 kg; 68 ± 5.1 kg) ($p = 0.02$; $p = 0.02$). The RR genotype showed a correlation between BMI and running time ($R = 0.97$; $p = 0.004$). The genotype II showed a correlation with % fat and fat mass concerning running time ($R = 0.91$; $p = 0.003$; $R = 0.99$; $p < 0.0001$). The AA genotype was associated with post-race weight and lean mass loss, while the RR genotype correlated with BMI, and the genotype II correlated with % body fat and fat mass in relation to times in the 105 km mountain ultramarathon.

Keywords: polymorphism; genetic; athletic performance; marathon; running

APÊNDICE G – Metodologia para as coletas em campo

Um mês antes da realização da prova, foi conduzido um processo de recrutamento e treinamento envolvendo 20 acadêmicos, com o propósito de capacitá-los para a execução das coletas de dados do estudo. O treinamento visou prepará-los para trabalhar em duplas e realizar diversas atividades, incluindo o preenchimento de questionários sobre a rotina de treinamento dos atletas, a leitura e assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido, além da realização de avaliações físicas, como a mensuração da massa corporal, estatura, teste de bioimpedância, teste de coleta de amostra sanguínea e de material genético por meio da saliva.

No dia da coleta, foram estabelecidas estações de avaliação para otimizar o processo e evitar filas, oferecendo uma experiência mais eficiente para os atletas. Cada atleta, foi recepcionado por três acadêmicos que conduziram o processo, iniciando com a entrega de um envelope de documentos contendo uma folha de rosto para informações pessoais, seguido pelo termo de consentimento, questionário sobre a rotina e formulários para anotar dados como massa corporal, estatura, percentual de gordura, massa magra, massa gorda, indicadores bioquímicos e dados de coleta de material genético.

Durante a coleta de material genético, as amostras foram armazenadas em um recipiente com nitrogênio e, quando cheio, levado para o laboratório para processamento. Todos os documentos, foram marcados para garantir que os atletas passassem por todas as estações. Os acadêmicos encarregados de recepcionar e entregar os documentos também verificavam se os atletas passaram por todas as etapas.

No dia da prova, a equipe foi dividida para otimizar o processo. Seis acadêmicos foram responsáveis por avisar a equipe na tenda sobre a chegada dos atletas para a coleta, identificados pelos números pintados. Outros seis acadêmicos recepcionaram os atletas na linha de chegada, encaminhando-os para a tenda para a segunda etapa da coleta. Antes das medições, quatro acadêmicos realizaram a limpeza dos atletas, enquanto outros quatro conduziram as avaliações físicas.

Obs.: Uma vez que o gasômetro é ligado e calibrado não pode mais ser desligado. Caso ele desligue perde-se o pack que realiza o exame de sangue. Por isso a necessidade de um nobreak, para suportar uma queda de energia, bem como para transportar o gasômetro para o local da prova.

Para as medições, foram utilizados diversos materiais:

1. Dez pranchetas.
2. Vinte canetas.
3. Dez canetas fluorescentes.
4. Quatro baterias para o aparelho de bioimpedância.
5. Quatro adaptadores para tomada.
6. Uma extensão.
7. Cem enxovais para anotação dos dados dos atletas.
8. Duas bobinas de papel para o registro do exame de sangue.
9. Quinhentos capilares de 200 microlitros.
10. Vinte crachás para identificar os acadêmicos.
11. Vinte jalecos.
12. Um aparelho de gasometria.
13. Um nobreak para o gasômetro.
14. Um aparelho de bioimpedância.
15. Uma balança.
16. Um estadiômetro.
17. Quatro recipientes com álcool 70%.
18. Uma caixa de luva P, M e G.
19. Uma caixa com quinhentas lancetas de 1.8 mm.
20. Um rolo de algodão.
21. Um rolo de esparadrapo.
22. Duas tesouras.
23. Dois estiletes.
24. Seis cadeiras.
25. Seis mesas.
26. Uma maca.
27. Dois biombos.
28. Dois grampeadores.
29. Duas caixas de grampos.
30. Duas caixas de perfuro cortantes.
31. Pilhas extras para o rádio.
32. Duas caixas grandes organizadoras.
33. Uma pasta tipo organizadora.

34. 300 copos plásticos.
35. 100 tubos Falcon.
36. Duas lanternas.
37. Dois rolos de papel toalha para macas.
38. Quatro colchonetes.
39. 200 palitos de coleta de saliva.
40. Dois rolos de fita crepe.
41. Dois Walk talk.
42. Dois pacotes de saco de lixo 15l.
43. Papel higiênico 04 rolos.
44. Lencinho Umedecido.
45. Seis paletes.

Extração do DNA

Como a extração do DNA não foi realizado por Kit de extração, às soluções foram preparadas, uma semana antes das coletas do material genético. Abaixo são apresentadas às soluções com os respectivos produtos e quantidades.

Soluções Extração do DNA

1) EDTA 1 M

14,89 g EDTA.

40 ml de H₂O destilada.

2) TKM1

5 ml TRIS- HCl, pH 7.6, 10 M.

5 ml MgCl, 1,0 M.

10 ml EDTA, 0,1 M.

q.s.p 500 ml H₂O bidestilada.

3) TKM2

0,5 ml TRIS HCl, pH 7,6, 1,0 M.

0,5 ml KCl, 1,0 M.

0,5 ml $MgCl_2$, 1,0 M.

20 ml NaCl, 1.0 M.

4) SDS 10%

50g de Lauril Sulfato de Sódio.

500 ml de H_2O destilada.

5) NaCl (6 M)

87,66 g de NaCl.

250 ml de H_2O destilada.

6) ETANOL 70%

754,3 ml de álcool 92,8%.

245,7 ml de H_2O destilada.

7) TE (10X) – 100 mM TRIS/10mM EDTA

500 μ l TRIS-HCl 2M.

200 μ l EDTA 0,5 M.

9,3 ml de H_2O destilada.

8) TE (1X) – 10 mM TRIS/1mM EDTA

50 μ l TRIS – HCl 2M.

20 μ l EDTA 0,5 M.

9,93 ml de H_2O destilada.

9) EDTA 1M (Cálculo para EDTA hidratado)

14,89 g EDTA

40 ml de H_2O destilada q.s.p.

Filtrar.

10) TBE (10X)

108 g TRIS base (Trizma).

55 g Ácido Bórico.

7,44 g de EDTA.

Completar para 1000 ml de H₂O destilada.

Filtrar em nitrocelulose.

11) TBE 5X

54 g de TRIS.

27,5 g de Ácido Bórico.

20 ml de EDTA 0,5 M, pH 8,0.

12) Solução PCR

Super Mix

22 mM TRIS-HCl, pH 8,4.

55 mM KCl, 1,65 mM MgCl₂.

220 µM dATP.

220 µM dTTP.

220 µM dCTP.

0,5 de TAC polimerase.

13) Corante SSCA

4,75 ml de formamida.

0,0125 g de xilenocianol.

0,0125 g de azul de bromofenol.

125 µl de EDTA 0,4 M.

16,7 µl de NaOH 3M.

108,3 µl de H₂O destilada.

14) Solução de gel de Agarose 2%

5 g de agarose.

250 ml de TBE 1X.

15) Solução de TBE (1X)

TBE 5X

→ Volume desejado/pela quantidade de TBE.

= TBE 1X \rightarrow 100 ml/5 = 200 ml.

200 ml de TBE 5X + 800 H₂O destilada = 1000 ml de TBE 1X

TBE 10X

\rightarrow Volume desejado/pela quantidade de TBE.

= TBE 1X \rightarrow 1000/10 = 100 ml.

100 ml de TBE 10X +900 ml H₂O destilada = 1000 ml TBE 1X.

16) Solução de glicose 3%

3g de glicose.

500 ml de H₂O destilada.