

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA BIOMÉDICA

HIAGO AUGUSTO ZONATTO

**ANÁLISE DO POLIMORFISMO R577X DO GENE ALFA ACTINA 3  
COMO POSSÍVEL PREDITOR DE DESEMPENHO FÍSICO EM  
MULHERES ULTRAMARATONISTAS**

DISSERTAÇÃO

CURITIBA

2018

HIAGO AUGUSTO ZONATTO

**ANÁLISE DO POLIMORFISMO R577X DO GENE ALFA ACTINA 3  
COMO POSSÍVEL PREDITOR DE DESEMPENHO FÍSICO EM  
MULHERES ULTRAMARATONISTAS**

Dissertação de mestrado apresentada ao programa de Pós-graduação em Engenharia Biomédica da Universidade Tecnológica Federal do Paraná como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Engenharia Biomédica. Área de concentração: Biotecnologia.

Orientação Prof. Dr. Júlio Cesar Bassan

CURITIBA

2018

#### Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

Z87a Zonato, Hiago Augusto  
2018 Análise do polimorfismo R577X do gene alfa actina 3 como possível preditor de desempenho físico em mulheres ultramaratonistas / Hiago Augusto Zonato.-- 2018.  
62 f.: il.; 30 cm.

Disponível também via World Wide Web.  
Texto em português com resumo em inglês.  
Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica. Área de Concentração: Engenharia Biomédica.  
Linha de Pesquisa: Biotecnologia, Curitiba, 2018.  
Bibliografia: f. 41-55.

1. Polimorfismo (Genética). 2. Genes de actina. 3. Mulheres atletas - Aspectos fisiológicos. 4. Corridas de longa distância (Atletismo). 5. Desempenho. 6. Genética humana. 7. Aptidão física em mulheres - Testes. 8. Engenharia biomédica - Dissertações. I. Bassan, Júlio Cesar, orient. II. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-graduação em Engenharia Biomédica. III. Título.

CDD: Ed. 23 -- 610.28

**Biblioteca Central do Câmpus Curitiba – UTFPR**  
**Bibliotecária: Luiza Aquemi Matsumoto CRB-9/794**



Ministério da Educação  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Diretoria de Pesquisa e Pós-Graduação

## **TERMO DE APROVAÇÃO DE DISSERTAÇÃO Nº113**

A Dissertação de Mestrado intitulada “Análise do polimorfismo R577X do gene Alfa Actina 3 como possível preditor de desempenho físico em mulheres ultramaratonistas”, defendida em sessão pública pelo(a) candidato(a) Hiago Augusto Zonato, no dia 05 de setembro de 2018, foi julgada para a obtenção do título de Mestre em Ciências, área de concentração Engenharia Biomédica, e aprovada em sua forma final, pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica.

BANCA EXAMINADORA:

Julio Cesar Bassan, Dr – UTFPR

Julio Cesar Francisco, Dr – UP

Ricardo Corrêa da Cunha, Dr – UP

João Antônio Palma Setti, Dr – UTFPR

A via original deste documento encontra-se arquivada na Secretaria do Programa, contendo a assinatura da Coordenação após a entrega da versão corrigida do trabalho.

Curitiba, 05 de setembro de 2018.

Carimbo e Assinatura do(a) Coordenador(a) do Programa

## RESUMO

O sucesso esportivo de alto rendimento é resultado de fatores ambientais e genéticos. O componente genético parece explicar a melhor adaptação ao treinamento de alguns indivíduos em relação aos demais, possibilitando traçar características morfofisiológicas ideais para determinada modalidade. Um dos genes capazes de influenciar o desempenho atlético humano, o gene da  $\alpha$ -actina-3 (ACTN3), é investigado pela sua importante função estrutural no músculo esquelético, além de sua possível influência nas capacidades físicas de potência/força e resistência muscular. A proposta da presente pesquisa foi verificar a ocorrência do polimorfismo genético R577X do gene ACTN3 em atletas de ultra resistência. Fizeram parte da amostra 19 ultramaratonistas brasileiras do sexo feminino com experiência nacional e internacional na modalidade e idade média de  $41,2 \pm 6,1$  anos. A genotipagem do polimorfismo R577X ACTN3 foi realizada pelo método de reação em cadeia de polimerase (PCR), com DNA extraído via salivar, enquanto a composição corporal foi mensurada pelo método bioimpedância. As frequências genotípica e alélica das atletas foram avaliadas e comparadas com dados da população controle pelos testes: Equilíbrio de Hardy-Weinberg, Qui-quadrado de Pearson e Qui-quadrado com correção de Yates, já os dados envolvendo os componentes: massa magra e massa gorda foram verificadas pelo teste estatístico Kruskal-Wallis, sendo adotado como nível de significância  $p \leq 0,05$  para todos. Os resultados demonstram maior presença dos genótipos RX e XX para as atletas em comparação ao grupo controle, embora a diferença não seja significativa (RR=15,8%, RX=57,9%, XX=26,3% *versus* RR=40%, RX=46%, XX=14%). Quanto à distribuição alélica, foi verificada maior aparição do alelo não funcional no grupo estudado em relação ao controle (R=44,7%, X=55,3% *versus* R=63%, X=37%), com diferença significativa ( $p$ -valor=0,0350). Sobre a composição corporal não foi observada diferença entre os genótipos, sendo que a média de massa magra para as atletas do grupo RR foi de 86%, para o perfil RX=85,31% e para o XX=86,56%. Em conclusão, os dados reportados na presente pesquisa revelam relação entre o alelo X da ACTN3 e a condição atlética em ultramaratonistas brasileiras do sexo feminino, porém não foi verificada influência do polimorfismo R577X sobre a composição corporal das atletas.

**Palavras-chave:** Alfa actina 3. Ultramaratonistas. Desempenho esportivo. Genética.

## ABSTRACT

The elite athletic performance is a result of environmental and genetic factors. The genetic component seems to explain the better training adaptation some individuals show over others, making possible to estimate ideal morphophysiological characteristics for a specific sports modality. One of the genes that can have an effect on the human athletic performance is the  $\alpha$ -actin-3 (ACTN3), heavily researched due to its important structural function in the skeletal muscle, in addition to its possible influence over the physical capacities of power/strength and muscle resistency. The aim of this research was to verify the occurrence of the genetic polymorphism R577X of the gene ACTN3 in ultra-endurance athletes. The research sample was composed of 19 female Brazilian elite ultra-endurance runners with national and international experience in the category and average age of  $41,2 \pm 6,1$  years. The R577X ACTN3 polymorphism genotyping was performed by the Polymerase Chain Reaction (PCR), with extracted DNA from saliva, whereas the body composition was measured by bioimpedance analysis. The genotypic and allelic frequencies were analysed and compared with data from the control group by the following tests: Hardy-Weinberg equilibrium, Pearsons Chi-Square, Yates correction Chi-Square, and the data regarding the lean mass and fat mass component were statistically analysed by the Kruskal-Wallis test, considering  $p \leq 0,05$  as the value for statistical significance for all of the tests performed. The results have shown a higher frequency of the RX and XX genotypes for the athletes compared to the control group, although the difference is not significant (RR=15,8%, RX=57,9%, XX=26,3% versus RR=40%, RX=46%, XX=14%). Regarding the allelic distribution, it was observed a higher appearance of the non-functional allele on the studied group when compared with the control group (R=44,7%, X=55,3% versus R=63%, X=37%), with a significant difference ( $p$ -value=0.0350). Concerning the body composition it wasn't observed differences among the genotypes, considering that the mean lean mass for athletes on the group RR was 86%, RX=85,31% and XX=86,56%. In conclusion, the data reported in this research shows a correlation between the X allele from the ACTN3 gene and the athletic condition of female brazilian ultra-marathoners, however it was not noted an influence of the R577X polymorphism over the athlete's body composition.

**Key words:** Alfa actina 3. Ultra-marathoners. Athletic performance. Genetics.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Ilustração da localização da $\alpha$ actina no sarcômero.....	21
Figura 2 - Padrão para eletroforese referente aos genótipos da ACTN3.....	31
Figura 3- Foto padrão de eletroforese para os genótipos da ACTN3 .....	34

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Distribuição dos perfis genotípicos das 19 atletas.....	32
Tabela 2 – Distribuição alélica das 19 atletas de ultramaratona.....	33
Tabela 3- Composição corporal das atletas e seus respectivos perfis genotípicos para a ACTN3.....	34



## LISTA DE SIGLAS

ECA - Enzima Conversora de Angiotensina;

ACTN3 - Alfa-Actina 3;

BDKRB2 - Receptor  $\beta$ 2 de Bradicinina;

CK – *Creatine kinase* (Creatina Quinase);

NOS3 - Óxido nítrico sintase;

PPAR - *Peroxisome proliferator-activated receptors* (Receptor ativado por proliferador de peroxisoma);

PGH – Projeto Genoma Humano;

DNA - *Deoxyribonucleic acid* (Ácido desoxirribonucleico);

COI – Comitê Olímpico Internacional;

GH – *Growth hormone* (Hormônio do crescimento);

IGF-1 – *Insuline-like growth fator 1* (Fator de crescimento semelhante à insulina);

VEGF – *Vascular endothelial growth factor* (Fator de crescimento do endotélio vascular);

EPO – Eritropoetina;

PEPCK - *Phosphoenolpyruvate carboxykinase* (Fosforenolpiruvato Carboxiquinase);

HIF-1a - *Hypoxia-inducible factor 1* (Fator induzível pela hipóxia tipo 1);

DG – *Doping* genético;

ACE - *Angiotensin Converting Enzyme*;

CEP/CONEP – Comitê de ética em pesquisa envolvendo seres humanos;

TCLE - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido;

RFLP-PCR - Reação em Cadeia da Polimerase associada ao polimorfismo dos comprimentos dos fragmentos de restrição;

Rpm – rotações por minuto;

$\mu$ L – Microlitro.

## LISTA DE SÍMBOLOS

$\alpha$  – Letra grega alfa;

$^{\circ}\text{C}$  – graus Celcius.

## SUMÁRIO

1	Introdução.....	12
2	Problema.....	13
3	Objetivos.....	14
3.1	Objetivo geral.....	14
3.2	Objetivos específicos.....	14
4	Revisão de literatura.....	14
4.1	Provas de ultra resistência e corrida de montanha: suas demandas fisiológicas.....	14
4.2	Genética e desempenho físico humano.....	15
4.3	Alfa actina-3 e sua função estrutural musculoesquelética.....	19
4.4	Relação polimorfismo R577X actn3 e o desempenho esportivo.....	21
5	Metodologia.....	27
5.1	Tipo do estudo.....	27
5.2	Comitê de ética.....	27
5.3	Local.....	27
5.4	População e amostra.....	28
5.4.1	Critérios de inclusão.....	28
5.4.2	Critérios de exclusão.....	28
5.5	Delineamento experimental.....	28
5.5.1	Procedimentos.....	28
5.5.1.1	Questionário.....	29
5.5.1.2	Composição corporal.....	29
5.5.1.3	Coleta salivar para extração do DNA.....	30
5.5.1.4	Genotipagem do polimorfismo R577X do gene Alfa actina-3.....	30
5.5.1.5	Gel de agarose.....	31
5.6	Análise estatística.....	31
6	Resultados.....	32
7	Discussão.....	35
8	Conclusão.....	40
	Referências.....	41
	Apêndices.....	56

## 1 INTRODUÇÃO

A melhora do desempenho físico, no esporte de alto rendimento está cada vez mais vinculada com a predisposição genética, bem como fatores nutricionais, treinamento e perfil psicológico também são capazes de influenciá-la (AHMETOV et. al., 2016; YU & TRENT, 2010; JESSRI et. al., 2010; GINEVICIENE et. al., 2010; TAMSE et. al., 2010).

Há mais de uma década estudos tem mostrado que a genética parece explicar as diferentes respostas e o melhor desempenho, que alguns indivíduos apresentam em modalidades específicas em relação aos seus pares (HOPKINS, 2001; STEWART & RITTWEGGER, 2005; PITSILADIS et. al., 2013). Cabe enfatizar que fatores genéticos podem influenciar em até 50% as características fenotípicas envolvidas com a *performance*, treinamento e aptidão física do atleta de alto rendimento (HOPKINS, 2001; EYNON et. al, 2011).

Como muitos genes e áreas gênicas já foram relacionados com fenótipos de desempenho físico humano, a associação entre genética e perfil fenotípico, pode contribuir para traçar um atleta com características morfofisiológicas ideais para determinadas modalidades esportivas, tornando-o menos suscetível as lesões e com melhores respostas adaptativas aos treinamentos (AHMETOV et. al., 2016; MAFFULLI et. al., 2013; LIPPI et. al., 2010; BRAY et. al., 2009).

Dessa forma o estudo dos polimorfismos genéticos pode servir como prognóstico de *performance* física (AHMETOV et. al., 2008; DIAS et. al., 2007). Porém, ressalvas são efetuadas quando estudos atentam sobre a etnia e a raça da população estudada, pois efeitos fenotípicos de alguns polimorfismos podem expressar de maneiras diferentes em populações distintas (EYNON et al., 2011; CALÓ e VONA, 2008; AMIR et. al., 2007).

Para Ahmetov et al. (2016), Maffulli et al. (2013), Queiroz e Alves (2012) e Yang et al. (2003) os genes e seus polimorfismos genéticos associados ao sucesso esportivo, são aqueles que trazem respostas benéficas, principalmente, aos ganhos de resistência, força e potência muscular. Nesta linha pode-se citar o polimorfismo R577X do gene Alfa-Actina 3 (ACTN3), investigado pelo fato do mesmo estar associado em atividade que priorizam força, potência e resistência muscular (DIONÍSIO et. al., 2017; GINEVICIENE et. al., 2016; EYNON et. al., 2014; GARATACHEA et. al., 2014; MAFFULLI et. al., 2013; MA et. al., 2013).

Localizado no cromossomo 11q13-q14, sendo seu polimorfismo identificado

como R577X, essa variação genética é produto da troca de citosina por timina na posição 1747 do éxon 16, que resulta na troca de arginina (alelo R) por um stop códon (alelo X) prematuro no aminoácido 577, como consequência possibilita três genótipos: RR, RX e XX (VINCENT et. al., 2007; CALÓ e VONA, 2008).

A troca de arginina ou o alelo R representa a transcrição natural da proteína  $\alpha$  actina3 no músculo esquelético, enquanto o stop códon/alelo X, faz com que indivíduos homozigotos (genótipo XX) não produzam a  $\alpha$  actina3, acarretando em redução da área de secção transversa nos músculos compostos por fibras de predomínio tipo II e por consequência redução da massa muscular quando comparados aos genótipos RR e RX (NORTH et. al., 1999; VINCENT et. al. 2007; MACARTHUR et. al., 2008; CALÓ e VONA et. al., 2008; CIESZCZYK et al., 2012), no entanto, a inexpressividade da alfa actina 3 parece melhorar o metabolismo aeróbio, resultando num incremento da resistência muscular e cardiorrespiratória (MACARTHUR et. al., 2008; MACARTHUR et. al., 2007).

A interação da ACTN3 com o alto nível esportivo estão atrelados aos estudos que reportam maior presença do alelo X em atletas de resistência muscular (GREINDA et. al., 2014; BEN-ZAKEN et. al., 2015) ao passo que atletas orientados a força e potência muscular apresentam o alelo R como característica (MA et. al., 2013; PAPADIMITRIOU et. al., 2016; BEN-ZAKEN et. al., 2015).

Diante do que foi exposto até o momento, essa dissertação surge com o propósito de melhor compreender a interação do polimorfismo R577X do gene ACTN3 com o desempenho físico em mulheres ultramaratonistas no Brasil, uma vez que tal variação genética pode contribuir no rendimento físico das mesmas, além de ser uma análise inédita em praticantes dessa modalidade.

## **2 PROBLEMA**

O polimorfismo R577X do gene Alfa Actina 3 em atletas de ultra resistência pode sinalizar um fator determinante para o ótimo desempenho na modalidade? A frequência desse polimorfismo em atletas ultramaratonistas de alto nível se apresenta de maneira diferente à população não atleta?

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Identificar a interação do polimorfismo R577X do gene ACTN3 com o ótimo desempenho físico em atletas de ultramaratona em montanha do sexo feminino.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Analisar a frequência genotípica para o polimorfismo R577X do gene ACTN3 em atletas mulheres corredoras de ultramaratona em montanha;

Determinar a frequência alélica do polimorfismo R577X do gene ACTN3 em mulheres ultramaratonistas de montanha;

Relacionar o perfil genotípico do gene ACTN3 com a composição corporal das atletas;

Comparar os dados encontrados no grupo amostral com os da população não atleta.

### 4 REVISÃO DE LITERATURA

#### 4.1 PROVAS DE ULTRA RESISTÊNCIA E CORRIDA DE MONTANHA: SUAS DEMANDAS FISIOLÓGICAS

Destacam-se entre os eventos de ultra resistência, além da corrida de montanha, as provas em que os atletas correm 42.195 metros ou mais, o Ironman Triathlon (3,8 km de natação, 180 km de ciclismo e 42 km de corrida), provas com duração superior a 24 horas (Ultraman, que é composta por 10 km de natação, 421 km de ciclismo e 84 km de corrida), provas de Mountain Bike e as competições de ciclismo como o Tour de France e Giro de Itália que duram semanas (FERREIRA et. al., 2001; GLACE et. al., 2002; FERREIRA et. al., 2003; WU et. al., 2004; BURR et. al., 2014).

A corrida de montanha é uma das modalidades dos chamados eventos de ultra *endurance* que estão se tornando cada vez mais populares e despertando interesse científico nos últimos anos (ROBACH et. al., 2014; BURR et. al., 2014; DENHAM et. al., 2013). O ambiente da prova a torna um esporte de aventura, pois existem alguns fatores que levam risco aos atletas, como a temperatura ambiente, que oscila de 0°C a 60°C, aclives e declives de 3000 metros além das longas distâncias a serem percorridas com obstáculos naturais (COICEIRO e COSTA,

2010; BURR et. al., 2014).

Ao tratar do fornecimento energético durante o exercício físico, sabe-se que não é exclusivo de uma única via metabólica (ABREU et. al., 2017), embora tais eventos, como as ultramaratonas, sejam marcados pela provisão de energia aeróbia, ou seja, priorizam a metabolização lipídica como fonte energética (HELFENSTELLER et. al., 2011; REZENDE et. al., 2016). Porém, Powers e Howley (2009) descrevam a corrida de montanha como uma atividade de intensidade elevada, tornando necessária a oxidação de carboidratos concomitantemente à oxidação lipídica, dessa forma, se conclui que a corrida de montanha tem alto requerimento de energia aeróbia e contribuição anaeróbia intermitente para manter o desempenho durante a prova (MACDERMID e STANNARD, 2012).

A característica da corrida de montanha de cunho oxidativo e aporte glicolítico foram comprovadas por meio do acompanhamento da frequência cardíaca (DELMONEGO JÚNIOR et. al., 2008), glicose, lactato (HELFENSTELLER et. al., 2011; REZENDE et. al., 2016), e pela análise de componentes como a creatina quinase, mioglobina e proteína reativa C (SAUGY et. al., 2013).

Sustentado o conhecimento fisiológico sobre as características da modalidade, o treinamento aeróbio serve como base do planejamento dos ultramaratonistas. Tal metodologia de treino gera adaptações como: o aumento de número de capilares nas fibras musculares, adição de trocas gasosas, maior aporte de nutrientes para o tecido muscular, maior presença de mioglobina, aumento na densidade e número de mitocôndrias, assim como maior atividade enzimática são respostas do organismo frente a essa metodologia de treino (TOURINHO FILHO et. al., 2013; FLECK e KRAEMER, 1999; McCALL et. al., 1996).

Dessa maneira entende-se que o sucesso esportivo em provas de ultra *endurance* é dependente da alta capacidade de gerar energia via metabolismo aeróbio combinado à produção intermitente oriundo da glicólise (REZENDE et. al., 2016; MACDERMID e STANNARD, 2012).

#### 4.2 GENÉTICA E DESEMPENHO FÍSICO HUMANO

O estudo sobre a genética ganhou grande destaque com o início do Projeto Genoma Humano (PGH) por volta dos anos de 1990. O PGH tinha como objetivo aumentar o entendimento médico e mapear os genes responsáveis por características normais e patológicas através do sequenciamento do DNA humano

(McEWEN et. al., 2014; DAGFAL et. al., 2010; CORRÊA, 2002; ZATZ, 2000).

Com isso surge à terapia gênica, uma área de investigação da biomedicina que consiste na transferência vetorial de materiais genéticos para tecidos e células-alvo a fim de suprir os produtos de um gene com estrutura anormal (ARTIOLI et. al., 2007; NALDINI, 2015).

Embora o PGH visasse exclusivamente o sequenciamento e cura de genes com falhas estruturais, a descoberta de genes e áreas gênicas envolvidas com o desempenho esportivo também foi possível (YAMADA et. al., 2013). Sendo viável traçar correlações entre genética e aptidão física para modalidades esportivas específicas (RODRIGUES e FILLUS, 2015; FELIPE et. al., 2017), avaliar e quantificar os danos moleculares do DNA sob altas intensidades de exercício físico (MOTTA et. al., 2017), verificar o papel da tríade: herança genética, doenças cardíacas e exercício físico (STEIN et. al., 2017), além das descobertas envolvendo a área mais estudada entre a genética e o desempenho esportivo: os polimorfismos genéticos (DIAS et. al., 2007).

Polimorfismo genético se define como uma alteração na sequência de bases do DNA, que codifica uma proteína podendo influenciar sua expressão ou atividade estrutural orgânica de determinado gene (DIAS et. al., 2007), e ocorre estatisticamente numa frequência igual ou superior a 1% da população (HOUSMAN, 1995; BALASUBRAMANIAN et al., 2004).

Já é de conhecimento científico que mais de 200 genes desempenham funções envolvidas com o desempenho físico humano (YAMADA et. al., 2013; BRAY et. al., 2009), fato esse que pode contribuir na detecção e seleção de indivíduos predispostos a desenvolver alguma habilidade atlética e auxílio na prescrição do treinamento físico de forma individualizada, objetivando aperfeiçoar o processo de formação de atletas de alto rendimento (ARTIOLI e GUILHERME, 2015; YAMADA et. al., 2013), muito embora a etnia da população estudada possa interferir em determinados polimorfismos (EYNON et. al., 2011; CALÓ e VONA, 2008; AMIR et. al., 2007).

Tendo posse do conhecimento genético e sua influência no desempenho esportivo, nasce e o chamado *doping* genético (DG), uma variante da terapia gênica que consiste no uso não terapêutico de células, genes, elementos genéticos ou modulação da expressão gênica para potencializar características físicas e fisiológicas, buscando a excelência atlética (BOMTEMPO, 2016; BRZEZIAŃSKA et.



al., 2014; YAMADA et. al., 2013; WADA, 2008).

Os principais genes e polimorfismos candidatos dessa prática proibida pelo Comitê Olímpico Internacional (COI), são aqueles com potenciais de influenciar o sistema musculoesquelético e vascular (QUEIROZ e ALVES, 2012; ARTIOLI et. al., 2007), podendo destacar os seguintes: Alfa Actina 3 (ACTN3) e Enzima Conversora de Angiotensina (ECA) (BUENO JUNIOR e PEREIRA, 2010; DIAS, 2011). Hormônio do crescimento (GH), Fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1), Miostatina (GDF8), Fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF), Eritropoetina (EPO), Receptor ativado por proliferador de peroxissoma (PPAR- $\beta$ ), Fosforenolpiruvato Carboxiquinase (PCK1, PEPCK), Fator 1 induzível pela hipóxia (HIF-1a), Receptor B2 de Bradicinina (BDKRB2), Creatina Quinase (CK) e Óxido Nítrico (NOS3) (BRZEZIAŃSKA et. al., 2014; PETR et. al., 2014; EYNON et. al., 2013; QUEIROZ e ALVES, 2012; ARTIOLI et. al., 2007).

Também conhecida como *ACE (angiotensin converting enzyme)*, a Enzima Conversora de Angiotensina pertence a um complexo sistema atuante na homeostase cardiovascular e renal, (GALVÃO et al., 2015; PUTHUCHEARY et al., 2011). Seu polimorfismo descrito como inserção (alelo I) ou deleção (alelo D) de 287 pares de base, predispõe para níveis circulatórios de ECA maiores na corrente sanguínea, sendo a variante “I” associada aos eventos de resistência ao passo que o alelo “D” está orientado para as modalidades de força/potência muscular (MARTELLI et. al., 2013; PAPADIMITRIOU et. al., 2016; WOELLNER et. al., 2016; GINEVICIENE et. al., 2016; DIONÍSIO et. al., 2017).

Sobre o Hormônio do crescimento (GH) e Fator de crescimento semelhante à insulina (IGF1), cabe ressaltar que o GH tem sua principal função associada à reparação tecidual, dessa forma, sua ação possibilita no âmbito esportivo, menor tempo de recuperação e hipertrofia muscular, além de maior proliferação de células satélites (SOUZA et. al., 2015; HARRIDGE e VELLOSO, 2009). A ação do GH é mediada pelo IGF1, dessa forma a modulação desses genes acarretará em aumento de força e hipertrofia, auxiliando em atividades que requerem força muscular (MACHADO et. al., 2005; LEE et. al., 2004).

Uma das proteínas presentes na musculatura esquelética, a miostatina possui efeito inibidor da hipertrofia e força muscular além da diminuição do número de fibras musculares dessa característica (FEDORUK e RUPERT, 2008). Sua inibição favorece o crescimento muscular (hipertrofia), desejada em estímulos de força

(MAYNE et. al., 2008).

O fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF) possui importante ação sobre a angiogênese, fenômeno capaz de estimular a produção de novos vasos sanguíneos (HAISMA e HON, 2006). A maior expressão do VEGF possibilita uma maior distribuição dos nutrientes e oxigênio para os tecidos ativos, como a musculatura esquelética e cardíaca, acarretando em maior desempenho aeróbio (CARNEVALI JÚNIOR et. al., 2009).

No que diz respeito à Eritropoietina, é um hormônio conhecido por sua função reguladora e estimulante na produção de glóbulos vermelhos no sangue. No esporte, sua ministração auxilia na maior produção de hemoglobina e concomitantemente maior aporte de oxigenação para os tecidos ativos, beneficiando principalmente o desempenho aeróbio (SEGURA et. al., 2007; HAISMA e HON, 2006).

Sobre o receptor ativado por proliferador de peroxissoma (PPARs), elas compõem uma família de três isoformas que possuem ações nos mecanismos de regulação celular (CARNEVALI JÚNIOR et. al., 2009). Relacionada ao exercício físico, a isoforma PPAR- $\beta$  aumenta a disponibilidade e oxidação do tecido adiposo, além de aumentar o trabalho das fibras musculares tipo II, contribuindo assim para a *performance* em atividades de resistência aeróbia (AHMETOV et. al., 2006).

Simbolizado pela sigla PEPCK, o gene que expressa a enzima fosforenolpiruvato carboxiquinase no fígado e córtex renal, é responsável por regular o processo de gliconeogênese (TANG et. al., 2017). Dessa maneira sua contribuição estaria em maximizar o dispêndio de energia em atividades de longa duração (HAKIMI et. al., 2007).

Sobre as proteínas da família HIF (Fator 1 induzível pela hipóxia) elas regulam a transcrição de genes nas situações de hipóxia e suas ações têm como resultado final o aumento no número de hemácias sanguíneas (FLORA et. al. 2016; LINDHOLM e RUNDQVIST, 2016). Relacionado a *performance* esportiva, atua na melhora do suprimento de oxigênio e no desempenho aeróbio (BUENO JUNIOR e PEREIRA, 2010).

O receptor B2 de bradicinina faz parte de um complexo sistema chamado de (SCC) sistema caliceína cinina, responsável por um grande número de processos metabólicos, incluindo a vasodilatação arterial. Seu polimorfismo influencia a eficiência metabólica dos músculos esqueléticos, contribuindo assim, para um maior

desempenho aeróbio (WILLIAMS et. al., 2004).

Tratando sobre a Creatina Quinase, também conhecida como CK, é uma das enzimas atuantes durante o exercício físico, e sua liberação está associada ao estresse do tecido muscular, servindo como um marcador indireto de lesão do mesmo (KOCH et. al., 2014). Existem evidências que um dos genótipos do polimorfismo da CK contribua para o melhor desempenho aeróbio (BATAVANI et. al., 2017; EIDER et. al., 2015).

O óxido nítrico (NO) por sua vez, é um vasodilatador produzido endogenamente e está envolvido em importantes mecanismos fisiológicos cardiovasculares, musculares e inflamatórios. Seu polimorfismo influencia o desempenho aeróbio (SZEILID et. al. 2010). Visando combater o doping genético, a WADA agindo em conjunto com entidades internacionais, como a *Union Cycliste Internationale (UCI)* e Associação Internacional de Federações de Atletismo (IAAF), busca o desenvolvimento de métodos de detecção e atualização da lista de agentes proibidos, além do incentivo aos programas de conscientização sobre os efeitos adversos que o DG pode causar nos atletas (BRZEZIAŃSKA et. al., 2014).

Apesar de ser uma técnica reconhecida, a detecção da dopagem genética é um grande desafio, pois os métodos analíticos ainda não são capazes de revelar tal fraude (QUEIROZ e ALVES, 2012; BAIRROS et. al., 2011; DIAS, 2011; ARTIOLI et. al., 2007).

No entanto, em relação aos riscos que a ministração não terapêutica que elementos gênicos podem causar estão a possível transmissão de genes estrangeiros no genoma, causando interações entre genes e moduladores internos e ambientais (BRZEZIAŃSKA et. al., 2014), efeitos colaterais, principalmente respostas inflamatórias (LI e HUANG, 2006), replicação de material genético falho (HAISMA e HON, 2006) e, além disso, existem os riscos específicos que cada gene pode desencadear que ainda são desconhecidos (BRZEZIAŃSKA et. al., 2014; QUEIROZ e ALVES, 2012; ARTIOLI et. al., 2007).

#### 4.3 ALFA-ACTINA 3 E SUA FUNÇÃO ESTRUTURAL MUSCULOESQUELÉTICA

As proteínas denominadas  $\alpha$ -actinas formam uma família de quatro componentes: ACTN1, ACTN2, ACTN3 e ACTN4 (PASQUA et. al., 2011). Em humanos, apenas a ACTN2 e ACTN3 são encontradas nos músculos e possuem função relacionada à distrofina, importante papel na ancoragem e estrutura dos

filamentos musculares (MILLS et. al., 2001; AHMETOV et. al., 2011; GENTIL et. al., 2011).

A ACTN2 está presente em todas as fibras musculares esqueléticas e cardíacas, diferentemente da ACTN3, que por sua vez é expressa somente em fibras musculoesqueléticas do tipo II (YANG et. al., 2003; NORTH et. al., 1999). Presente internamente nas fibras musculares esqueléticas tipo IIb, responsáveis por contrações intensas e rápidas (NORMAN et. al., 2009), a proteína ACTN3 faz parte da estrutura das linhas Z, atuando sobre a estrutura do sarcolema, com grande importância no ancoramento e arranjo miofibrilar (BEGGS et. al., 1992; MILLS et. al., 2001) além disso, também regula a atividade/contração musculoesquelética (MACARTHUR & NORTH, 2004).

O gene ACTN3, responsável pela presença de  $\alpha$ -actina3, que se localiza no cromossomo 11q13-q14, foi clonado por Beggs et al. (1992), e anos mais tarde, descoberto seu polimorfismo por North et al. (1999). Tal polimorfismo, denominado R577X explica a troca de Citosina por Timina na posição 1747 do éxon 16, que por sua vez acarreta na substituição de Arginina (alelo R) por um *stop* códon (alelo X) no aminoácido 577 (NORTH et. al., 1999).

Esse polimorfismo possibilita os seguintes genótipos: RR, RX e XX, levando indivíduos homocigotos não funcionais (XX) a não produzirem a ACTN3 e por consequência, apresentarem redução da região transversa dos músculos compostos por fibras predominantemente do tipo II. Enquanto, indivíduos heterocigotos (RX) apresentam níveis inferiores de ACTN3 sintetizada nos músculos esqueléticos em relação ao genótipo RR (PASQUA et. al., 2011; MACARTHUR & NORTH, 2011).

Embora a ausência da proteína  $\alpha$ -actina3 seja total para os indivíduos XX, essa condição não implica em quadro patológico, fato esse que suporta a crença de que a isoforma ACTN2 possa compensar os efeitos da ACTN3 (NORTH et. al., 1999, MILLS et. al., 2001, MACARTHUR & NORTH, 2004). Estima-se que 16 a 21% da população sejam homocigotos para o polimorfismo não funcional da ACTN3, genótipo XX, no entanto esta suposição pode diferir entre populações distintas, pois um polimorfismo pode sofrer respostas diferentes em populações distintas (EYNON et. al., 2011; CALÓ e VONA, 2008; AMIR et. al., 2007; MORAN et. al., 2007; PAPANINI et. al., 2007).

A busca por resultados envolvendo as variantes genéticas da  $\alpha$ -actina3 com funcionalidade, foram testadas no estudo de Moraes et al. (2016) e Durmic et al.

(2016), onde os autores observaram dados referente à gordura corporal, força muscular e níveis de potência, capacidade aeróbica, flexibilidade e agilidade em mulheres idosas. Neste estudo foi verificado que as portadoras do genótipo XX apresentaram menores níveis de flexibilidade dos membros superiores e menor capacidade cardiorrespiratória (MORAES et. al., 2016). Também associado ao genótipo não funcional da alfa actina 3, está a maior incidência de quedas na população idosa (FRATTINI et. al., 2016). No mesmo ano, Durmic e seus colaboradores testaram a influência da alfa actina 3 sobre a pressão arterial e concluíram não haver relação do gene com tal resposta fisiológica (DURMIC et. al., 2016).

Estudos voltados à influência do polimorfismo R577X da ACTN3, que buscam sua relação com a funcionalidade física, como a análise de Zempo et al. (2010), comprovam menor área de secção transversa para os indivíduos portadores do genótipo XX quando comparados com aqueles possuintes de alelo R. Enquanto a presença do alelo R vem sendo associada a melhor *performance* em atividades que requerem força, velocidade e hipertrofia muscular (AHMETOV et. al., 2011; GENTIL et. al., 2011).

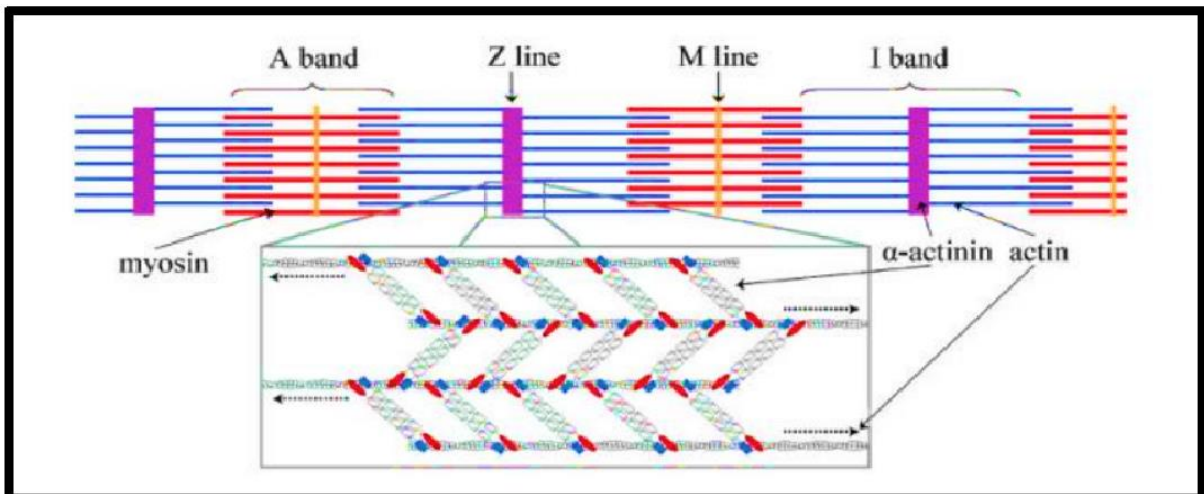


Figura 1 – Ilustração da  $\alpha$  actina no sarcômero. A  $\alpha$  actina localizada na linha Z (cor roxa), ligados aos filamentos finos de actina (cor azul).

Fonte: MACARTHUR e NORTH (2004).

#### 4.4 RELAÇÃO POLIMORFISMO R577X ACTN3 E O DESEMPENHO ESPORTIVO

Em busca da relação entre o polimorfismo R577X e o desempenho esportivo, alguns estudos evidenciam a possível influência dos genótipos da ACTN3 com fenótipos relacionados à ótima *performance* física. Estes resultados são suportados pela hipótese de que fatores genéticos influenciam diretamente os fenótipos

musculares, bem como interferem nas respostas ao treinamento (MACARTHUR & NORTH, 2005; NORMAN et. al., 2009; OGURA et. al., 2009).

Importante na conjectura da fibra muscular de contração rápida, a presença ou a deficiência da  $\alpha$ -actina3, pode predispor à determinada especificidade esportiva, ou seja, a presença do alelo funcional (R) induz para modalidades voltadas à força, potência, e hipertrofia muscular (YANG et. al., 2003; VINCENT et. al., 2007; DRUZHEVSKAYA et. al., 2008; GÓMEZ-GALLEGO et. al., 2009, GENTIL et. al., 2011; GUNEL et. al., 2014; YANG et. al., 2017). Já o alelo X, que expressa à mutação desse gene, está relacionado aos eventos com ênfase em resistência muscular, provas de *endurance* (YANG et. al., 2003; GUNEL et. al., 2014; GREINDA et. al., 2014).

Confirmando maior nível de potência/força, e maior aparição de fibras do tipo IIb, para indivíduos portadores do alelo R, Vincent et al. (2007) genotiparam 90 jovens saudáveis. Os dados apontam superioridade significativa para os níveis de força e torque de quadríceps, bem como maior presença da tipologia de fibra IIb para aqueles de genótipo RR em comparação ao XX.

Em dissociação com tarefas de força muscular, o genótipo ACTN3 577XX foi observado em estudo de Druzhevskaya e colaboradores, numa amostra russa de 486 atletas orientados a força muscular e 1197 controles. Os resultados significativamente menores para os atletas em relação aos não atletas sugerem que a presença da ACTN3 reflete em efeitos benéficos para a função do músculo esquelético em gerar contrações vigorosas. Apenas 3,4% dos atletas de elite voltados à força são do grupo XX (DRUZHEVSKAYA et. al., 2008).

Gómez-Gallego et al. (2009) fizeram uma associação genética envolvendo a ACTN3 em 46 ciclistas e fenótipos voltados à resistência. Foram encontrados valores superiores para os genótipos RR e RX, para as variáveis de potência de pico e ventilatória em relação ao XX. Tais valores demonstraram diferença significativa entre os genótipos funcionais da  $\alpha$ -actina 3 e o genótipo não funcional, levando os autores à associarem o polimorfismo ATCN3 R577X e o desempenho esportivo.

Tratando sobre os efeitos que o treinamento resistido pode acarretar em diferentes genótipos, Gentil et al. (2011) relataram, após 11 semanas de treino em 140 jovens, não existir influência do polimorfismo R577X na força muscular basal, nem mesmo na resposta da força muscular ao treinamento. Porém, portadores do alelo R foram os únicos a apresentarem aumento da espessura muscular. A

distribuição genotípica para essa amostra foi de: RR=34,4%, RX= 47% e XX=18,6%).

Atletas de elite de origem turca (n=37) foram investigados por Gunel et al. (2014), ao confrontar os dados, os autores observaram diferenças entre os atletas de elite e a população controle. Sendo que os indivíduos de genótipo XX no grupo controle representaram 10,81%, enquanto 35,14% dos atletas pertenciam a esse genótipo. A variante RR por sua vez foi identificada em apenas 2,7% do grupo controle e 10,81% dos atletas. Por fim, o mais comum dos genótipos desse estudo (RX), apresentou dados de 86,48% e 54,05% para controles e atletas de elite, respectivamente.

Em estudo buscando resultados conclusivos para o alelo R da ACTN3 e sua influência em eventos de *sprints*, e alelo X para provas de longa duração, Grenda et al. (2014), numa amostra de 196 nadadores de alto nível da Polônia, dividiram os atletas em grupos conforme a característica da prova (longas e curtas distâncias), e verificaram que apenas para o alelo X a hipótese foi confirmada. Dos 49 competidores de longa distância: 15 são RR, 27 RX e 7 XX. Em paralelo, 147 atletas de curta distância foram analisados e 71 pertencem ao grupo RR, 56 ao RX e 20 ao XX.

Yang et al. (2017) observaram a prevalência dos genótipos ACTN3 R577X numa amostra de atletas de atletismo de alto rendimento da China, deste grupo, 59 praticantes de provas de força/potência muscular, 44 de resistência e outros 50 indivíduos saudáveis como controle. O objetivo dos autores era avaliar qual genótipo estaria associado ao sucesso em provas de força de membros inferiores: Salto horizontal e salto vertical. Os achados demonstram superioridade para os genotipados RR, levando a conclusão de que o alelo funcional predispõe ao sucesso em provas de força e potência muscular.

Em outro estudo Ben-Zaken et al. (2015), este envolvendo corredores, nadadores e grupo controle, foi verificado que o genótipo RR e o alelo R diferiram significativamente para os corredores de curta em relação aos de longa distância (genótipo RR para curta distância = 40,3%, e para os de longa distância = 20%). Ainda sobre os atletas de corrida, o genótipo XX e o alelo X tiveram diferenças estatísticas em relação aos de longa e curta distância, sendo que 35,4% dos atletas que percorrem distâncias maiores pertencem ao genótipo não funcional, ao passo que 16,7% dos corredores de curta distância pertencem a esse perfil.

Porém, para os nadadores, as diferentes distâncias percorridas pelos atletas não acarretaram em diferenças significativas de genótipos, fato esse que levou o grupo de pesquisadores a concluir que o polimorfismo ACTN3 R577X pode distinguir praticantes de curtas e longas distâncias, mas sem diferença estatística entre os grupos (BEN-ZAKEN et. al., 2015).

Yvert et al. (2016) numa análise de 20 polimorfismos candidatos ao sucesso esportivo em atletas de resistência muscular, verificaram que a presença do alelo R parece estar ligada ao *status* de atleta de nível internacional. Essa conclusão foi possível após análise de 175 corredores de endurance (60 internacionais, 94 nacional e 21 regionais) e 649 controles na população japonesa, sendo que a presença do alelo R foi de 85% no grupo de atletas internacionais e de 73,6% para o controle.

Ao que alude às corridas de *endurance*, alguns estudos evidenciaram relações diretas entre as variantes da ACTN3 para com o sucesso esportivo (SHANG et. al., 2010), e dano muscular induzido pelo exercício. Em ambos os casos, os portadores de alelo não funcional da  $\alpha$ -actina3 apresentaram maiores danos musculares em comparação aos atletas com alelo R (DEL COSO et. al., 2017; BELLI et. al., 2017).

O genótipo e alelo não funcional da ACTN3 foram testados em atletas de ambos os sexos na China (n = 250), os resultados evidenciaram que no grupo feminino a presença do alelo X aumentou conforme o nível das atletas, ou seja, atletas de elite apresentam maior frequência do alelo X e também do genótipo XX em relação ao grupo controle. Esse fato sustentou a hipótese de que o perfil e alelo mutante do gene pode proporcionar vantagem para as atletas femininas de *endurance* na população chinesa (SHANG et. al., 2010).

Especificamente sobre o trabalho de Del Coso et al. (2017), analisaram 71 maratonistas experientes em períodos pré e pós prova para as concentrações de mioglobina e creatina quinase. Os dados revelam que os corredores portadores de alelo X tiveram, significativamente, maior aumento nas concentrações de mioglobina e creatina quinase em relação aos atletas homocigotos RR. Embasados nesses achados, se concluiu que o genótipo da ACTN3 pode interferir no desempenho físico de maratonistas, uma vez que o dano induz menor atividade muscular (DEL COSO et. al., 2017).

Sobre o experimento de Belli et al. (2017), envolvendo 20 atletas de ultra-



resistência, avaliou o comportamento da mioglobina, creatina quinase, lactato e aspartato aminotransferase para os diferentes genótipos da  $\alpha$ -actina3. A composição genotípica da amostra foi de 35% RR, 45% RX e 20% XX e as concentrações séricas para as variáveis em questão foram significativamente maiores para os genotipados XX. Com isso, o conceito de que a variação genética da ACTN3 contribui para a maior suscetibilidade ao dano muscular induzido pelo exercício foi estabelecido (BELLI et. al., 2017).

Outro estudo compreendendo maratonistas de origem europeia, divididos em elite e sub-elite de ambos os sexos, Herbert et al. (2016) confrontaram os dados desses dois grupos com uma população controle. Os resultados evidenciaram maior presença do alelo não funcional para os atletas de elite em relação aos sub-elite e grupo controle, embora tal disparidade não seja estatisticamente significativa para ambos os sexos. Os perfis genotípicos para os atletas foram para variante RR de 29,1%, RX = 50,6% e XX representando os outros 20,2% (HERBERT et. al., 2016).

Importante para classificar a capacidade física resistência, o teste de  $VO_2$  foi relacionado com os genótipos da ACTN3 em estudos envolvendo amostras de atletas de elite e não atletas (HOLDYS et. al., 2011; SILVA et. al., 2015; PIMENTA et. al., 2013).

Para Holdys et al. (2011), indivíduos de genótipo homocigoto não funcional possuem valores superiores de consumo máximo de oxigênio em relação aos genótipos RR e RX. Tal conclusão foi suportada após avaliação de 154 homens e 85 mulheres, sendo a amostra constituída tanto por atletas de nível nacional quanto indivíduos de baixo nível de atividade física.

Sobre o estudo de Silva et al. (2015), que envolveu um grupo de 206 policiais, o grupo amostral foi submetido a 18 semanas de treinamento de resistência (RR = 75, RX = 97 e XX = 33). Foi verificado que os indivíduos de perfil XX possuíram maiores níveis de  $VO_2$  máximo quando comparados com os perfis de alelo funcional.

Ainda sobre valores de  $VO_2$  máximo, em análise de duzentos jogadores de futebol de alto nível brasileiros, os mesmos foram testados para a relação genótipo da ACTN3 e tarefas de força/potência e resistência muscular. Além de associar o genótipo RR com atividades de força e potência muscular, os resultados da pesquisa reportaram que a diferença entre o genótipo recessivo da alfa actina 3 (XX) e o genótipo RR foi estatisticamente significativa para os testes de  $VO_2$  máximo, porém não diferiu para o perfil heterocigoto RX (PIMENTA et. al., 2013).

Embora a maioria dos estudos voltados ao polimorfismo R577X do gene da  $\alpha$ -actina 3 sejam conclusivos a favor da relação alelo R e força/potência muscular, e alelo X resistência muscular, existem relatos de dissociação da ACTN3 com o desempenho físico (SAUNDERS et. al., 2007), assim como a não relação entre a distribuição alélica com características esportivas (LUCIA et. al., 2006; AHMETOV et. al., 2008; DÖRING et. al., 2010; GINEVICIENE et. al., 2016).

Em pesquisa realizada por Saunders et al. (2007), por exemplo, com 457 triatletas sul-africanos os dados revelaram não existir diferença genotípica, tampouco de alelos para os atletas de elite da prova em relação aos de nível intermediário e iniciantes, nem mesmo para o grupo controle, sugerindo que para essa população, o polimorfismo da ACTN3 R577X, não seja um importante preditor de sucesso esportivo.

Buscando associação do alelo não funcional da  $\alpha$ -actina3 com o ótimo desempenho físico para modalidade remo, com predomínio de resistência muscular, Ahmetov et al. (2008) analisaram 456 atletas de elite da Rússia, e em apenas 33,2% da amostra o alelo X foi encontrado, sendo apenas 5,7% pertencentes ao genótipo XX. Tais resultados foram comparados aos do grupo controle da pesquisa, que por sua vez apresentaram genótipo RX para 39% dos avaliados e 14,5% para XX, dessa maneira, os autores concluíram não haver diferença estatística entre os atletas e o grupo controle, dissociando o alelo X com o desempenho físico voltado à resistência muscular.

Também atrás de resposta sobre a influência do alelo X sobre o alto desempenho em atividades de *endurance*, Lucia et al. (2006) avaliaram 50 ciclistas profissionais e 52 corredores de nível olímpico em contraste com a população controle. Os achados desvinculam o alelo não funcional do gene com a capacidade de resistência muscular e aeróbia, pois os atletas não apresentaram diferenças genotípicas em relação ao grupo controle.

Gineviciene et al. (2016), ao tratar do polimorfismo R577X numa população de atletas russos e lituanos, concluíram que o mesmo não está associado ao *status* de força e potência do grupo amostral, o qual faziam parte halterofilistas e lançadores. Tal conclusão foi suportada por não existir diferença significativa entre a população estudada e o grupo controle.

Da mesma maneira, Muniesa et al. (2010) analisaram 141 atletas orientados a capacidade física de resistência muscular (sendo 52 corredores de nível olímpico, 50

ciclistas e 39 remadores medalhistas mundiais) com alguns dos polimorfismos genéticos relacionados ao alto desempenho físico. Porém, seus dados revelam não existir relação com a variante R577X e ótima *performance* de maneira exclusiva, mas sim que o sucesso esportivo é resultado poligênico.

## 5 METODOLOGIA

### 5.1 TIPO DO ESTUDO

A presente pesquisa possui característica descritiva transversal, pois traça o perfil de uma determinada população, estabelecendo relações entre variáveis e fazendo uso de técnicas pré-determinadas (GIL, 1999).

### 5.2 COMITÊ DE ÉTICA

Os procedimentos metodológicos da pesquisa foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade Dom Bosco pelo sistema de registro de pesquisas envolvendo seres humanos (CEP/CONEP), conforme resolução nº 466/12, sob parecer nº 1.572.571 (anexo A).

### 5.3 LOCAL

Os dados foram coletados na Loja Território Mountain Shop, endereçada na Rua Vicente Machado, nº 2855, bairro Batel em Curitiba – Paraná – Brasil. As coletas ocorreram nos dias 13 e 14 de Julho de 2017 junto à retirada dos kits por parte das atletas para realização da prova. O evento por sua vez, foi realizado na cidade de Tijucas do Sul – Paraná, mais precisamente no Sítio Morro dos Perdidos, na BR 376, sentido Sul, km 662. Integraram o evento as provas de 13 km, 25 km, 45 km e 105 km, embora somente as atletas de 45 km tenham sido avaliadas. Quanto às especificações da prova de 45 km, ressaltam-se dados importantes como o desnível total de 5.800 m, sendo 2.900 de desnível positivo e outros 2.900 m de negativo, o terreno composto por cerca de 20% de estrada de chão, 20% de trilhas e 60% de trilha *single-track*. Com surgimento no ano de 2012, a Ultramaratona dos Perdidos *SkyMarathon* possuía percursos de 4 km e 13 km somente, no ano seguinte, as longas distâncias passaram a fazer parte do evento.

## 5.4 POPULAÇÃO E AMOSTRA

O grupo amostral da presente pesquisa foi composto por 19 das 34 atletas ultramaratonistas, do sexo feminino, participantes do evento. Com idade média de  $41,2 \pm 6,1$  anos, todas as atletas possuíam experiência nacional e internacional na modalidade praticada.

### 5.4.1 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Foram convidados a participar do estudo atletas do sexo feminino inscritas no Evento Ultramaratona dos Perdidos *SkyMarathon*, para a distância de 45 quilômetros. Possuir idade igual ou superior a 18 anos. Aos atletas participantes da prova de 45 km, pede-se experiência mínima de duas provas de 21 km e outra de 42 km na montanha, entre os anos de 2015 e 2016.

### 5.4.2 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Foram exclusas do experimento as atletas que não cumprirem as provas no tempo limite estipulada pela direção do evento, sendo de 11 horas para os corredores de 45 km. Além daquelas que não portaram ou não assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Apêndice A).

## 5.5 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Primeiramente foi contatado o diretor geral do evento Ricardo Tourinho Beraldi a fim de estabelecer os dias em que as coletas poderiam ser realizadas de forma que interferisse minimamente na rotina pré-competitiva das corredoras. Após a retirada dos kits por parte das atletas junto à direção da prova, as mesmas receberam o convite para participar da pesquisa, bem como o TCLE. Os dados foram coletados somente após o consentimento por parte das atletas. Os procedimentos ocorreram nos dias 13 e 14 de Julho de 2017.

### 5.5.1 PROCEDIMENTOS

A coleta de dados foi realizada na Loja Território Mountain Shop, composta por um questionário, avaliação da composição corporal e posteriormente coleta de material genético via salivar. Todas as etapas foram realizadas no mesmo período, sendo arquivados os questionários após preenchimento e os resultados referentes à composição corporal, enquanto o material genético foi armazenado em ambiente

resfriado. Tratando exclusivamente das amostras salivares, as mesmas foram levadas ao Laboratório de Genética da Universidade Unibrasil para a extração do DNA, e posteriormente realização da técnica RFLP-PCR (Reação em Cadeia da Polimerase associada ao polimorfismo dos comprimentos dos fragmentos de restrição).

#### 5.5.1.1 QUESTIONÁRIO

Compunham o questionário, perguntas acerca do tempo de experiência de corrida das atletas, englobando toda e qualquer prática de corrida, assim como de forma específica na modalidade de corrida de montanha. As atletas foram indagadas sobre as provas e nível competitivo que participam além de questões voltadas ao treinamento como: tempo de duração das sessões diárias, frequência semanal, suporte esportivo de outras modalidades e tempo de preparação específica para a prova da Maratona dos Perdidos *SkyMarathon* (Apêndice B).

#### 5.5.1.2 COMPOSIÇÃO CORPORAL

A composição corporal foi composta das seguintes variáveis: estatura, massa corporal total, massa gorda e massa magra. Para tanto foi utilizada um estadiômetro portátil (Seca®, Hamburgo, Alemanha) de precisão de 0,1 centímetros. Para medir a estatura das atletas foi pedido que no momento da medição as mesmas permanecessem descalças em posição ortostática, realizando inspiração máxima. A massa corporal total foi estabelecida por uma balança antropométrica estilo plataforma (Filizola®, Filizola SA, Brasil), com precisão de 100 gramas. Para essa variável as atletas permaneceram descalças e com roupas leves em posição ortostática. Tanto os dados de estatura quanto massa corporal total foram resultados da média aritmética de três medidas consecutivas, de acordo com o protocolo estabelecido por Lohman et al. (1988).

Em relação às variáveis: massa gorda e massa magra, as mesmas foram obtidas através do método bioimpedância, utilizando o aparelho BIA tetra polar de corpo inteiro Maltron modelo BF – 906 frequência elétrica de 50 kHz. A avaliação foi realizada com a avaliada deitada em decúbito dorsal com os eletrodos posicionados em locais pré-definidos após limpeza com álcool. Um eletrodo emissor foi colocado na mão direita e outro no arco distal da superfície do pé direito. Um eletrodo detector foi colocado entre as proeminências distais do rádio e da ulna do punho direito e

outro entre os maléolos medial e lateral do tornozelo direito conforme registro de Carvalho & Neto (1999).

#### 5.5.1.3 COLETA SALIVAR PARA EXTRAÇÃO DO DNA

A coleta salivar ocorreu por meio de um bochecho com 5ml de solução de glicose a 3%, esse líquido foi disposto em tubos tipo Falcon de 15ml rosqueáveis e autoclavados a 127°C durante 20 minutos. Após o bochecho, o líquido foi dispensado em copo plástico, e as atletas foram submetidas a uma raspagem da mucosa jugal com paletas de madeira, também autoclavadas. Em seguida a paleta utilizada foi lavada no copo em que o líquido foi depositado e, por fim, o material retornou aos tubos Falcon, devidamente identificados, já com a presença de material genético presente das células da mucosa jugal. O conteúdo coletado foi mantido devidamente resfriado por um período de 24 horas para que fossem centrifugados a 3000 rpm por dez minutos. Subsequente à centrifuga, o líquido sobrenadante foi desprezado e adicionado 1300mM de Tampão de Extração (Composto por 10mM de TRIS, 5mM de EDTA e 0,5% de SDS).

#### 5.5.1.4 GENOTIPAGEM DO POLIMORFISMO R577X DO GENE ALFA ACTINA 3

A técnica da RFLP-PCR foi utilizada para evidenciar os genótipos das atletas participantes da pesquisa. Conforme descrito, o polimorfismo R577X da ACTN3 se dá no éxon 15, que foi amplificado pelos iniciadores: *Forward* 5'-CTGTTGCCTGTGGTAAGTGGG-3' e *Reverse* 5'-TGGTCACAGTATGCAGGAGGG-3', conforme técnica apontada por Mills et al. (2001). Foi preparado um sistema reacional de 10µL, sendo 0,5 *primer Forward*, 0,5 *primer Reverse*, 0,5 de Taq, 1 de DNA genômico e 7,5 de Super Mix. A amplificação ocorreu por meio dos seguintes passos: 95°C por 5 minutos de desnaturação inicial e liberação da enzima, seguida de 30 ciclos de desnaturação a 94°C por 30 segundos, anelamento a 58°C por 30 segundos, extensão a 72°C por 30 segundos. Após 30 ciclos, houve 5 minutos de extensão final a 72°C. Posterior à amplificação, 10 µL do produto da PCR foram digeridos por 10 unidades da enzima Ddel por 4 horas em Banho-Maia a 37°C. Seguindo o estudo de Mills et al (2001), os alelos R e X foram distinguidos pela presença (577X) ou ausência (577R) do sítio de restrição da enzima enzima Ddel (5'-C↓TNA G-3'). A variante ACTN3 R577 gera fragmentos de 205 e 86 pares de base, já o alelo ACTN3 577X de 108, 97 e 86 pares de base (YANG et. al., 2003).

Os fragmentos de restrição foram separados através da eletroforese em gel agarose a 3% e visualizados com brometo de etídeo a 5µg/mL (figura 2).

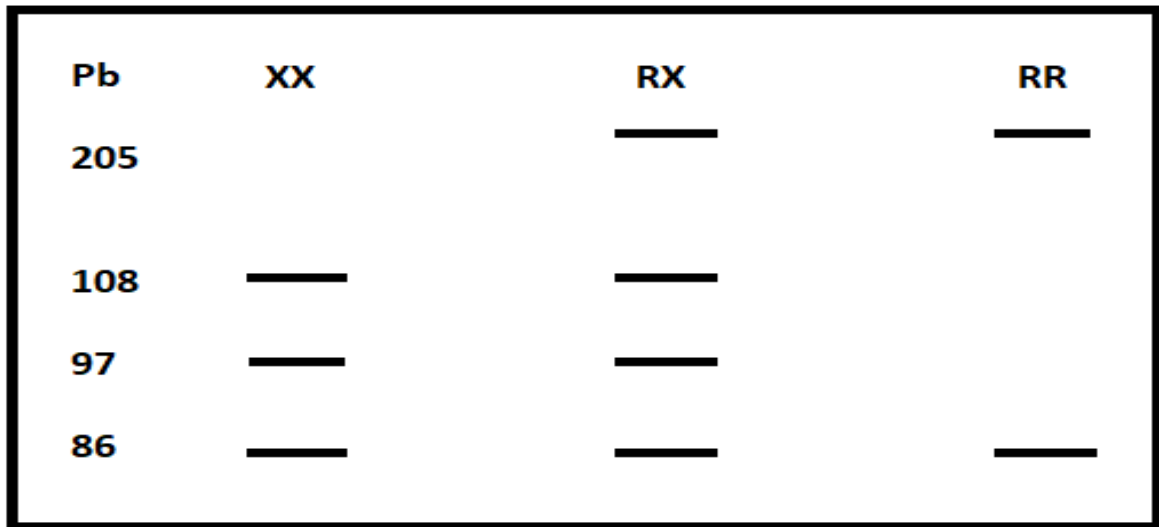


Figura 2 – Ilustração par o padrão da eletroforese referente aos genótipos da ACTN3.  
 Legenda = Pb - pares de bases; RR – genótipo ACTN3 RR577; RX – genótipo ACTN3 R577X; XX – genótipo ACTN3 577XX.  
 Fonte: O autor (2018).

#### 5.5.1.5 GEL DE AGAROSE

O gel de agarose é a estrutura que possibilita a visualização dos genótipos do gene ACTN3, sua composição parte de uma solução estoque de agarose 2.5:1 (3,7 g de agarose, 120 ml de TBE 1X). A solução tampão (TBE 1x) usada na cuba eletroforese foi preparada a partir de uma solução estoque (TBE 10x). Posteriormente, o gel foi submetido a 120 V, por cerca de 1 hora, ou até o corante atingir o final do gel. Removida a moldura do gel, o mesmo foi transferido para o tanque de Brometo de Etídio µl/ml que foi corado por 10 minutos para visualização das bandas no transiluminador.

#### 5.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As análises estatísticas foram iniciadas pelo teste de equilíbrio de Hardy-Weinberg para analisar a frequência genotípica das 19 ultramaratonistas da pesquisa. Secundariamente, os genótipos foram comparados entre o grupo amostral, assim como com estudos similares, utilizando o teste Qui-quadrado de Pearson. Em relação aos alelos, sua frequência foi analisada pelo teste Qui-quadrado com correção de Yates, tanto para as análises dos dados gerados pela presente pesquisa, quanto para comparar com dados de estudos similares. Para os

dados envolvendo a composição corporal, esses foram verificados de acordo com o teste de Kruskal-Wallis. A ferramenta de suporte para a execução dos testes foi o *software IBM SPSS Statistics 20*, exceto para a Lei de Hardy-Weinberg, que foi verificado pelo *software Bioestat versão 5.3*. Todas as análises tiveram como nível de significância  $p \leq 0,05$ .

## 6 RESULTADOS

Os resultados obtidos na pesquisa são apresentados e confrontados com estudos similares envolvendo atletas de elite internacional, atletas de modalidades semelhantes à ultramaratona, e também com a população brasileira (grupo controle).

A frequência genotípica das 19 ultramaratonistas da amostra se apresentou de acordo com o equilíbrio de Hardy-Weinberg, com p-valor de 0,4564. Ainda em relação com a distribuição dos genótipos da ACTN3, não foi observada diferença significativa (p-valor = 0,0647), assim como para a frequência alélica (p-valor = 0,5164).

A distribuição dos genótipos da ACTN3 encontrada na presente amostra, teve seus dados comparados com estudos similares: atletas de *endurance* do sexo feminino da China (SHANG et. al., 2010), e atletas de ambos os sexos com amostras de corredores de ultra resistência do Brasil (BELLI et. al., 2017), maratonistas europeus (HERBERT et. al., 2016), corredores de *endurance* (BENZAKEN et. al., 2015) e grupo controle (COELHO, 2011), na Tabela 1. Os resultados avaliados pelo teste Qui-Quadrado de Pearson apontaram não haver diferença estatística entre as 19 ultramaratonistas da presente pesquisa para com os demais grupos supracitados.

Tabela 1 – Distribuição dos perfis genotípicos das 19 atletas de ultramaratona em relação com atletas de provas de características semelhantes e grupo controle.

<i>Pesquisa (ano)</i>	<i>Grupo amostral (n)</i>	<i>RR (%)</i>	<i>RX (%)</i>	<i>XX (%)</i>	<i>p-valor</i>
Presente pesquisa (2018)	Ultramaratonistas (19)	3 (15,8)	11 (57,9)	5 (26,3)	0,0647
Shang et al. (2010)	Corredoras <i>endurance</i> (118)	22 (18,6)	71 (60,2)	25 (21,2)	0,8676
Belli et al.	Atletas ultra resistência	7 (35)	9 (45)	4 (20)	0,3893



(2017)	(20)				
Herbert et al. (2016)	Maratonistas (484)	141 (29,1)	245 (50,6)	98 (20,2)	0,4369
Ben-Zaken et al. (2015)	Corredores <i>endurance</i> (65)	13 (20)	29 (44,6)	23 (35,4)	0,5933
Coelho (2011)	Controle (100)	40 (40)	46 (46)	14 (14)	0,1013

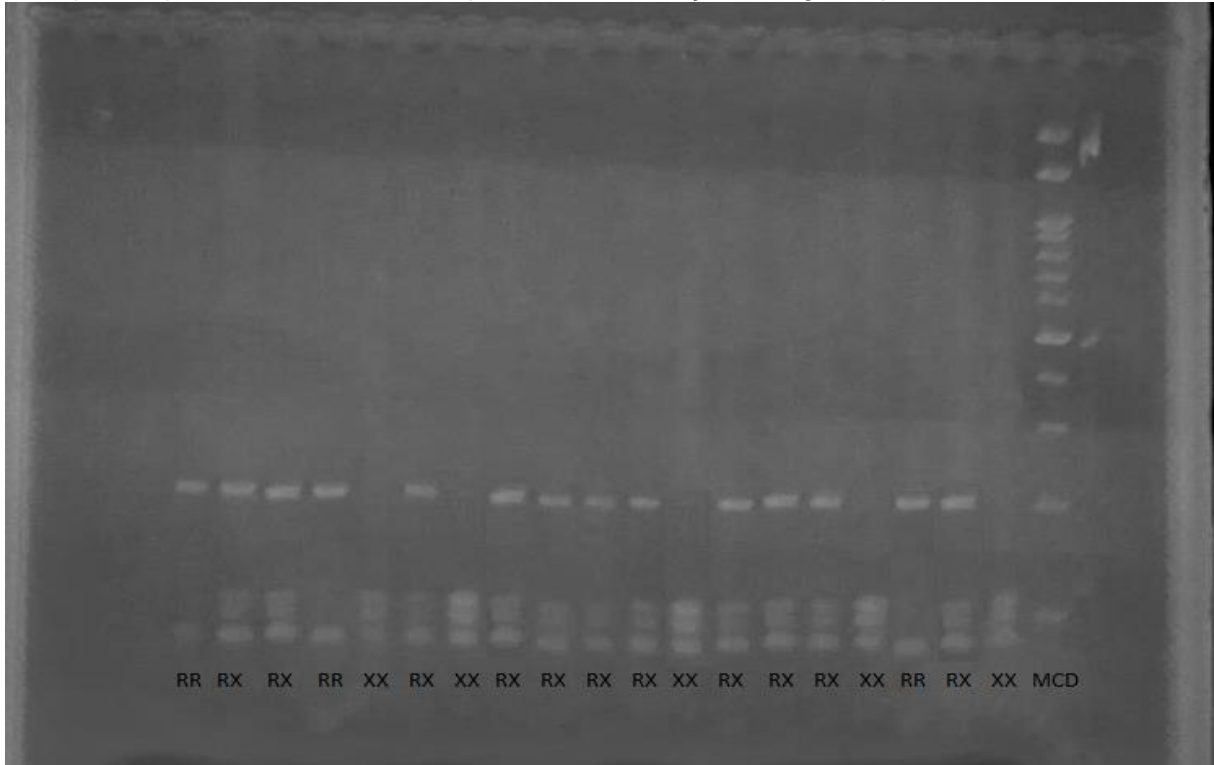
Na Tabela 2, se encontra a distribuição alélica das 19 atletas ultramaratonistas e sua comparação com atletas de *endurance* (SHANG et al., 2010; BEN-ZAKEN et al., 2015), ultra resistência (BELLI et al., 2017), maratonistas (HERBERT et al., 2016) e grupo controle (COELHO et al., 2011). Os dados analisados pelo teste Qui-Quadrado com correção de Yates apresentaram diferença significativa apenas para o grupo controle (COELHO, 2011), sendo o p-valor igual a 0,0350. Para os demais estudos (SHANG et al., 2010; BELLI et al., 2017; HERBERT et al., 2016; BEN-ZAKEN et al., 2015) os resultados oscilaram de 0,2389 a 0,7901, valores estes que não se diferem estatisticamente.

Tabela 2 – Distribuição alélica das 19 atletas de ultramaratona em relação com atletas de provas de características semelhantes e grupo controle.

<b>Pesquisa (ano)</b>	<b>Grupo amostral (n)</b>	<b>R (%)</b>	<b>X (%)</b>	<b>p-valor</b>
Presente pesquisa (2018)	Ultramaratonistas (19)	17 (44,7)	21 (55,3)	0,5164
Shang et al. (2010)	Corredoras <i>endurance</i> (118)	115 (48,7)	121 (51,3)	0,6476
Belli et al. (2017)	Atletas ultra resistência (20)	23 (57,5)	17 (42,5)	0,2596
Herbert et al. (2016)	Maratonistas (484)	527 (54,4)	441 (45,6)	0,2389
Ben-Zaken (2015)	Corredores <i>endurance</i> (65)	55 (42,3)	75 (57,7)	0,7901
Coelho (2011)	Controle (100)	126 (63)	74 (37)	0,0350

Os dados referentes às Tabelas 1 e 2 foram observados seguindo a Figura 3, abaixo:

Foto para o padrão de eletroforese para a determinação dos genótipos da ACTN3



Legenda= RR: genótipo RR para o polimorfismo do gene ACTN3; RX: genótipo RX para o polimorfismo do gene ACTN3, XX: genótipo XX para o polimorfismo do gene ACTN3, MCD: Marcador Ladder de 50 pares de base.

Na Tabela 3, os dados da composição corporal das 19 ultramaratonistas apresentam uma média geral de 85,96% de massa magra e 14,04% de massa gorda. Esses valores não sofreram alterações significativas em relação ao genótipo *versus* genótipo após serem avaliados pelo teste de Kruskal-Wallis, sendo o p-valor encontrado igual a 0,8204.

Tabela 3- Composição corporal das atletas e seus respectivos perfis genotípicos para a ACTN3.

	<b>Massa magra (%)</b>	<b>Massa gorda (%)</b>	<b>p-valor</b>
<b>RR</b>	86	14	
<b>RX</b>	85,31	14,69	
<b>XX</b>	86,56	13,44	
<b>Geral</b>	85,86	14,04	0,8204

## 7 DISCUSSÃO

O sucesso esportivo em alto nível é resultado de uma somatória de fatores, tais como a nutrição, treinamento e perfil psicológico, além do componente genético (AHMETOV et. al., 2016; YU & TRENT, 2010; JESSRI et. al., 2010; GINEVICIENE et. al., 2010; TAMSE et. al., 2010). Contudo, embora seja de conhecimento científico a contribuição genética para o desempenho atlético, a ação dos genes e seus polimorfismos associados ainda não estão totalmente esclarecidos, fato esse que estimula cada vez mais o estudo na área (RODRÍGUEZ-ROMO et. al., 2013).

Buscando compreender melhor a interação do polimorfismo R577X da ACTN3 em atletas ultramaratonistas no Brasil, o presente estudo se mostra inédito envolvendo tais variáveis. Na ultramaratona, os atletas dependem da geração de energia através do metabolismo aeróbio combinado à produção intermitente da glicólise (REZENDE et. al., 2016), ou seja, um esporte que requer efetividade do sistema oxidativo e constante aporte glicolítico, caracterizando-o como um exercício de fornecimento energético misto (ABREU et. al., 2017; MACDERMID e STANNARD et. al., 2012).

Por ter esse caráter misto, sugere-se que a maior frequência dos genótipos não funcionais (RX e XX) seja esperada nessa população. De fato os dados reportados confirmam essa teoria, sendo a maior presença do genótipo RX, totalizando 57,9% da amostra, seguido do perfil homozigoto não funcional (XX) com 26,3% e apenas 15,8% para o perfil genotípico RR, no entanto tais valores não apresentaram diferença estatística significativa, p-valor = 0,0647 (Tabela 1).

Tais resultados também não apresentaram diferenças estatísticas para a frequência dos genótipos em estudos semelhantes envolvendo atletas de *endurance* da China (SHANG et. al., 2010), e de Israel (BEN-ZAKEN et. al., 2015), corredores de ultra resistência do Brasil (BELLI et. al., 2017), maratonistas europeus (HERBERT et. al., 2016) e mesmo com grupo controle representando a população brasileira de maneira generalizada (COELHO et. al., 2011).

Ainda sobre a distribuição polimórfica R577X da ACTN3, os resultados reportados nessa análise atual retratam a não associação do genótipo com o desempenho atlético, assim como nos estudos conduzidos por Saunders et al. (2007) em amostra de triatletas sul africanos, Ahmetov et al. (2008) com atletas russos da modalidade de remo de elite, ciclistas e corredores europeus avaliados

por Lucia et al. (2006), Gineviciene et al. (2016) ao estudarem halterofilistas russos e lituanos, Rodríguez-Romo et al. (2013) com lutadores espanhóis, e os dados de Muniesa et al. (2010), envolvendo corredores, ciclistas e remadores de nível olímpico e medalhistas mundiais.

Essa dissociação entre os genótipos do gene da alfa actina 3 e o desempenho físico relacionado á eventos de força/potência, assim como para os de resistência muscular, pode ser justificado pelo baixo nível competitivo dos atletas, além do número reduzido de indivíduos avaliados (LUCIA et. al., 2006; HANSON et. al., 2010).

Contudo, a maioria dos achados na literatura, envolvendo atletas de alto rendimento, é favorável à associação genotípica da ACTN3 com o desempenho atlético, haja vista que Ben-Zaken et al. (2015) encontraram relação do genótipo RR com provas de força/potência muscular para corredores de curta distância, e maior presença do perfil XX para atletas de provas mais longas, ou seja, de resistência. Dados parecidos foram relatados por MacArthur et al. (2005) ao associarem o genótipo não funcional com o *status* de resistência atlética.

Outro exemplo é reportado por Yang et al. (2017) quando concluíram que o perfil RR577 foi estatisticamente mais frequente em atletas de elite em comparação com o grupo controle, julgando ser determinante para o sucesso na realização de eventos de força/potência muscular. De maneira similar, Kikuchi et al. (2015) verificaram um aumento do alelo R conforme o maior rendimento/nível dos atletas de para ambas as características de provas (força/potência e resistência).

Sugerindo que a presença da ACTN3 beneficia a função músculo esquelética na geração de contrações vigorosas, Druzhevskaya et al. (2008) verificaram que apenas 3,4% de atletas de elite orientados à força muscular pertencem ao genótipo XX. No ano seguinte, ao estudarem os efeitos sobre a potência de pico em ciclistas caracterizados como atletas de *endurance*, Gómez-Gallego et al. (2009) verificaram valores superiores para os genótipos RR e RX, em contraponto ao XX. Em ambos os estudos foi citada a importância do alelo R para otimizar a capacidade de gerar força e potência (DRUZHEVSKAYA et. al., 2008; GÓMEZ-GALLEGO et. al., 2009).

Em análise comparativa entre homens e mulheres, Shang et al. (2010) observaram que somente para o sexo feminino houve frequência superior do genótipo XX para as atletas em relação ao grupo controle sendo essa diferença comprovada com o p-valor de 0,02. Demonstrando que o alelo não funcional do

gene pode proporcionar vantagem para as mulheres praticantes de provas de *endurance*, o que está de acordo com os dados encontrados na presente pesquisa.

Tratando da frequência alélica do presente estudo, os resultados demonstram dessemelhança significativa apenas para o grupo controle, com p-valor = 0,0350 (COELHO et. al., 2011), enquanto para os achados de Belli et al. (2017) envolvendo atletas de ultra resistência, Herbert et al. (2016) com maratonistas, e nas amostras de Ben-Zaken et al. (2015) e Shang et al. (2010) com corredores de *endurance* as diferenças não foram significativas (Tabela 2).

Esses dados vão ao encontro de outros estudos realizados, podendo ser citado o trabalho de Shang et al. (2010), com amostra de atletas de elite da China, onde apenas para o grupo feminino a frequência do alelo X foi significativamente superior no grupo em relação ao controle. Na população polonesa também foi identificada a maior ocorrência do polimorfismo não funcional para atletas de alto nível praticantes de provas de longas distâncias (GRENDA et. al., 2014).

De maneira interessante, Ben-Zaken et al. (2015) apresentaram dados confirmando a hipótese de que a aparição do alelo X seria maior para atletas de longas distâncias contra os de curtas distâncias (corredores e nadadores), porém, somente para os atletas de corrida a diferença se mostrou significativa.

Os resultados de Shang et al. (2010), Grenda et al. (2014) e Ben-Zaken et al. (2015) reforçam a ideia de que o déficit de alfa actina 3 influencia a função muscular nas fibras rápidas, direcionando o metabolismo muscular para uma via aeróbia mais eficiente, resultando em melhora no desempenho de resistência (MACARTHUR et. al., 2007; MACARTHUR et. al., 2008), o que pode explicar a maior aparição do alelo X nas ultramatronistas de montanha avaliadas na atual pesquisa.

Nesta esteira, sobre a associação do polimorfismo não funcional da alfa actina 3 e a capacidade física voltada a resistência, cabe citar sobre a relação do genótipo XX e níveis superiores de  $VO_2$  máximo quando confrontados aos perfis funcionais da ACTN3, conforme foram encontrados em alguns estudos (HOLDYS et. al., 2011; SILVA et. al., 2015; PIMENTA et. al., 2013).

Dessa maneira, assim como os genótipos do polimorfismo R577X ACTN3, a distribuição alélica de atletas de elite sugere que o alelo funcional está mais presente para aqueles orientados aos eventos de força/potência enquanto o alelo mutante figura mais frequentemente para os de resistência muscular (YANG et. al., 2003; DRUZHEVSKAYA et. al., 2008; GUNEL et. al., 2014; GRENDA et. al., 2014;

YANG et. al., 2017).

Porém, existem dados que confrontam tal tese, como os achados por Yvert et al. (2016) que apontaram a presença do alelo R estar ligada ao *status* de atleta de elite de *endurance*, além dos resultados inconclusivos, e aqueles que desvinculam o poder influenciador sobre o desempenho físico do polimorfismo R577X da ACTN3 em atletas de alto rendimento de modalidades de força/potência ou de resistência muscular (SAUNDERS et. al., 2007; MUNIESA et. al., 2010; RODRÍGUEZ-ROMO et. al., 2013; GINEVICIENE et. al., 2016).

Ao tratar da composição corporal e sua relação com o polimorfismo R577X, os resultados encontrados estão de acordo com os reportados por Gentil et al. (2011), Moran et al. (2007), Clarkson et al. (2005) e Delmonico et al. (2008). Para todos esses autores, mesmo com a função estrutural muscular esquelética conferida à ACTN3, não foi verificada a influência genotípica da ACTN3 nas avaliações antropométricas de seus grupos amostrais (GENTIL et. al., 2011; MORAN et. al., 2007, CLARKSON et. al., 2005; DELMONICO et. al., 2008), reforçando a teoria de que a isoforma ACTN2 compensa a ausência da ACTN3 nos músculos esqueléticos (MILLS et. al., 2001, MACARTHUR & NORTH, 2004).

Sobre o estudo de Gentil et al. (2010), envolvendo a população brasileira não atleta, com amostra de 141 homens, sendo 50 deles genotipados ao perfil RR, 66 indivíduos do perfil heterozigoto RX, e outros 25 participantes para o genótipo XX, os autores reportaram não haver diferença na composição corporal entre os diferentes genótipos R577X, embora o aumento da massa muscular após 11 semanas de treinamento só foi possível para os portadores de alelo R, porém sem diferença significativa.

Na investigação de Moran et al. (2007) 992 adolescentes gregos saudáveis foram testados para o polimorfismo R577X e variáveis relacionadas ao desempenho e a saúde física geral. Os resultados mostraram que 34% da amostra era RR, 48% = RX e 18% ao genótipo não funcional XX. Após as análises, Moran e seus colaboradores concluíram que o alelo R está relacionado às atividades de potência muscular, porém o polimorfismo 577X não está associado aos fenótipos de aumento de massa gorda.

Clarkson et al. (2008) não encontraram diferença significativa para a espessura da área de secção transversa do músculo bíceps em 602 norte americanos (247 homens e 355 mulheres). Dado interessante desse estudo foi a

maior adaptação das mulheres homozigotas não funcionais (genótipo XX) para o aumento de força em relação às mulheres portadoras de alelo funcional (R), através de um programa de treinamento de 12 semanas.

Análises semelhantes envolvendo o tecido muscular foram ministradas por Delmonico et al. (2008) e Zempo et al. (2010) ao avaliarem a área de secção transversa do músculo quadríceps entre os diferentes genótipos da R577X. Os achados de Delmonico et al. (2010) revelam que as variantes polimórficas do gene ACTN3 não influenciam fenótipos relacionados com o músculo esquelético.

No entanto, Zempo et al. (2010), avaliaram 109 mulheres de origem japonesa com idade de  $64,1 \pm 6$  anos. A área seccional do músculo das portadoras de genótipo XX foi estatisticamente inferior aos resultados obtidos para aquelas de perfil RR ou RX, sugerindo que o polimorfismo R577X pode influenciar a massa muscular.

Nesse mesmo sentido, Walsh et al. (2008) verificaram em 848 voluntários adultos com idades entre 22 e 90 anos (454 homens e 394 mulheres) testaram a possível influência dos genótipos da ACTN3 sobre a composição corporal. Assim como no caso anterior, a massa magra para as mulheres do grupo XX foi menor, porém sem diferença estatística. Outro dado importante encontrado é que não houve diferença significativa relatada, tanto para homens quanto para as mulheres, na variável percentual de gordura entre os genótipos, corroborando com os achados atuais (WALSH et. al., 2008).

Similarmente ao presente estudo, Belli et al. (2017) avaliaram a frequência do polimorfismo R577X ACTN3 e a composição corporal de vinte atletas de ultra resistência. Além do propósito, outro ponto parecido das pesquisas foram os valores reportados, sendo a frequência genotípica: RR = 35%, RX = 45% e XX 20% e o percentual de gordura mensurado pelo método bioimpedância igual a 17,8% para os genótipos com alelo funcional, e 20,1% ao genótipo XX (BELLI et. al., 2017).

Por fim, os resultados reportados pela presente pesquisa em adição aos achados na literatura reforçam a tese de que a análise de um gene isoladamente não é determinante para o fenótipo de um atleta, pois muitos fatores biológicos e ambientais são capazes de influenciar o desempenho atlético (MACARTHUR et. al., 2007; MACARTHUR & NORTH, 2005; SAUNDERS et. al., 2007).

## 8 CONCLUSÃO

Os resultados do presente estudo, pode-se dizer ser pioneiro envolvendo a análise da alfa actina 3 em atletas brasileiras ultramaratonistas de montanha do sexo feminino, demonstram que os genótipos possuintes do alelo não funcional da ACTN3 estão presentes em 84,2% da amostra (genótipo RX ou XX), sugerindo uma predisposição genética para as atletas participantes da pesquisa.

Tratando exclusivamente da distribuição alélica, foi verificada diferença estatística para as ultramaratonistas em relação à população em geral, conferindo aparição do alelo X para 55,3% contra 37%, nesta ordem. Tais resultados suportam a hipótese de que o alelo não funcional da ACTN3 está associado ao sucesso esportivo de alto nível em mulheres de ultramaratona de montanha no Brasil.

Sobre a análise da composição corporal, foi verificado que, apesar de ser importante na função estrutural do músculo esquelético, as variantes R577X do gene ACTN3 não influenciou as variáveis massa magra e massa gorda das atletas, o que pode ser atribuído à hipótese de que a ACTN2 supre a ausência da ACTN3 na estrutura musculoesquelética.



## REFERÊNCIAS

ABREU P, LEAL-CARDOSO JH, CECCATTO VM. **Adaptation of skeletal muscle to physical exercise: molecular and energy considerations.** Rev. Bras. Med. Esporte. 2017; 23(1): 60-65.

AHMETOV II, EGOROVA ES, GABDRAKHMANOVA LJ, FETODOVSKAYA ON. **Genes and Athletic Performance: Na Update.** Med. Sport Sci. Basel, Karger. 2016; 61: 41-54.

AHMETOV II, DRUZHEVSKAYA AM, LYUBAEVA EV, POPOV DV, VINOGRADOVA OL, WILLIAMS AG. **The dependence of preferred competitive racing distance on muscle fibre type composition and ACTN3 genotype in speed skaters.** Exp Physiol. 2011 ; 96(12): 1302-10.

AHMETOV II, POPOV VD, ASTRATENKOVA VI, DRUZHEVSKAYA MA, MISSINA SS, VINOGRADOVA LO, et al. **The use of molecular genetic methods for prognosis of aerobic and anaerobic performance in athletes.** Human Physiology. 2008; 34(3): 338-342.

AHMETOV II, MOZHAYSKAYA IA, FLAVELL DM, ASTRATENKOVA IV, KOMKOVA AI, LYUBAEVA EV, et al. **PPAR $\alpha$  gene variation and physical performance in Russian athletes.** Eur. J. Appl. Physiological. 2006; 97(1): 103-108.

AMIR O, AMIR R, YAMIN C, ATTIAS E, EYNON N, SAGIV M, et al. **The ACE deletion allele is associated with Israeli elite endurance athletes.** Exp. Physiol. 2007; 92(5): 881-886.

ARTIOLI GG, GUILHERME JPLF. **Genetic Testing in Sport: a New Talent Prediction Model?.** Rev. Ciên. Saúde. 2015; 5(1): 2-5.

ARTIOLI GG, HIRATA RDC, LANCHETA JUNIOR AH. **Gene therapy, genetic doping and sport: fundamentals and implications for the future.** Rev. Bras. Med. Esporte. 2007; 13(5): 349-354.

BAIROS AV, PREVEDELLO AA, MORAES LDLS. **Gene doping and possible detection methodologies.** Rev. Bras. Ciênc. Esporte. 2011; 33(4): 1055-1069.

BALASUBRAMANIAN SP, COX A, BROWN NJ, REED MW. **Candidate gene polymorphisms in solid cancers.** Eur J Surg Oncol 2004; 30(6): 593-601.

BATAVANI MR; MARANDI SM; GHAEDI K, ESFARJANI F. **Comparison of Muscle-Specific Creatine Kinase (CK-MM) Gene Polymorphism (rs8111989) Among Professional, Amateur Athletes and Non-athlete Karatekas.** Asian J. Spor. Medicine, (In Press). 2017; 8(2): e43210.

BEGGS AH, BYERS TJ, KNOLL JH, BOYCE FM, BRUNS GA, KUNKEL LM. **Cloning and characterization of two human skeletal muscle alpha-actinin genes located on chromosomes 1 and 11.** J. Biol. Chem. 1992; 267(13): 9281-8.

BELLI T, CRISP AH, VERLENGIA R. **Greater muscle damage in athletes with ACTN3 R577X (RS1815739) gene polymorphism after an ultra-endurance race: a pilot study.** Biol Sport. 2017; 34(2): 105-110.

BEN-ZAKEN S, ELIAKIM A, NEMET D, RABINOVICH M, KASSEM E, MECKEL Y. **ACTN3 Polymorphism: Comparison Between Elite Swimmers and Runners.** Spor. Med. Open. 2015; 1(1):13.

BOMTEMPO TV. **Gene doping and eugenia: dialogues beyond sport.** Rev. Latino. Bioética. 2016; 16(2): 82-101.

BRAY MS, HAGBERG JM, PÉRUSSE L, RANKINEN T, ROTH SM, WOLFARTH B, et al. **The human gene map for performance and healthrelated fitness phenotypes: the 2006-2007 update.** Med. Sci. Spor. Exercise. 2009; 41(1): 34-72.

BRZEZIAŃSKA E, DOMAŃSKA D, JEGIER A. **Gene Doping in Sport – Perspectives and Risks.** Biol. Spot. 2014; 31(4): 251-259.

**BUENO JUNIOR CR; PEREIRA MG.** Biologia molecular como ferramenta no esporte de alto rendimento: possibilidades e perspectivas. **Rev. Bras. Cienc. Esporte.** 2010; 31(3): 231-249.

BURR JF, DRURY CT, PHILLIPS AA, IVEY A, KU J, WARBURTON DER. **Long-term ultra-marathon running and arterial compliance.** J. Sci. Med. Sport. 2014; 17(3): 322-325.

CALÓ, M.C; VONA, G. **Gene polymorphisms and elite athletic performance.** J. Anthropol. Sciences. 2008; 86: 113-131.

CARNEVALI JÚNIOR LC, SILVA JCP, EDER R, GONÇALVES DC, LIMA WP, SEELAENDER MCL. **Manipulation of genes and sports performance: Trend or Reality?.** Edu. Fís. Revista. 2009; 3.1.

CARVALHO RBA, NETO PSC. **Composição corporal através dos métodos da pesagem hidrostática e impedância elétrica em universitários.** Rev. Bras. Cineantr. Desemp. Humano. 1999; 1(1): 18-23.

CIESZCZYK P, SAWCZUK M, MACIEJEWSKA-KARLOWSKA A, FICEK K. **ACTN3 R577X polymorphism in top-level Polish rowers.** J. Exercise Science & Fitness. 2012, 10(1): 12-15.

COELHO Daniel Barbosa. **Determinação da frequência genotípica do ACTN3 e da sua relação com o desempenho físico, respostas hormonais e indicadores do dano muscular em jogadores de futebol.** 2011. 115 pg. Tese de doutorado - Programa de pós graduação em Ciências do Esporte da Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional da Universidade Federal de Minas Gerais. 2011.

CORRÊA MV. **O Admirável Projeto Genoma Humano.** Rev. Saúde Coletiva. Rio de Janeiro. 2002; 12(2): 277-299.

COICEIRO GA, COSTA VLM. **Ultramarathon: in search of the human limit.** Rev. Bras. Cien. Movimento. 2010; 18(3): 21-28.

DAGFAL MRB, ALVES FA, da SILVA ICM. **The transverse teaching of bioethic in the medical graduationcourse during the post-unraveltime of the human genome project.** Rev. Práxis. 2010; 2(3): 39-43.

DEL COSO J, VALERO M, SALINERO JJ, LARA B, DÍAZ G, GALLO-SALAZAR C, et al. **ACTN3 genotype influences exercise-induced muscle damage during a marathon competition.** Euro. J Appl. Physio. 2017; 117(3): 409-416.

DELMONEGO JÚNIOR JA, LIMA-SILVA AE, GRESS FAG, ZIMMERMANN AC. **Determinação da Intensidade da Corrida de Aventura a partir da Freqüência Cardíaca.** Rev. Mackenzie de Ed. Fís.e Esp. 2008; 7(1): 89-97.

DENHAM J, NELSONCP, O'BRIEN BJ, NANKERVIS SA, DENNIFF M, HARVEY JT, et al. **Longer Leukocyte Telomeres Are Associated with Ultra-Endurance Exercise Independent of Cardiovascular Risk Factors.** PLoS ONE. 2013; 8(7): e69377.

DIAS RG. **Genética, performance física humana e doping genético: o senso comum versus a realidade científica.** Rev. Bras. Med. Esporte. 2011; 17(1): 62-70.

DIAS RG, PEREIRA AC, NEGRÃO CE, KRIEGER JE. **Genetic polymorphisms determining of the physical performance in elite athletes.** Rev Bras Med Esporte. 2007; 13(3): 209-16.

DIONÍSIO TJ, THIENGO CR, BROZOSKI DT, DIONÍSIO EJ, TALAMONI GA, SILVA RB, et al. **The influence of genetic polymorphisms on performance and cardiac and hemodynamic parameters among Brazilian soccer players.** App. Phys. Nut. Metabolism, 2017, 42(6): 596-604.

DÖRING FE, ONUR S, GEISEN U, BOULAY MR, PÉRUSSE L, RANKINEN T. **ACTN3 R577X and other polymorphisms are not associated with elite endurance athlete status in the Genathlete study.** J. Sports Sciences. 2010; 28(12): 1355-1359.

DRUZHEVSKAYA AM, AHMETOV II, ASTRATENKOVA IV, ROGOZKIN VA. **Association of the ACTN3 R577X polymorphism with power athlete status in Russians.** Eur. J. Appl. Physiol. 2008; 103(6): 631-4.

DURMIC T, ATANASIJEVIC N, ZDRAVKOVIC M, DJELIC M, ANTIC M, GAVRILOVIC T, et al. **O-23 ACE and ACTN3 genes polymorphisms among elite male serbian athletes.** 2016; 50(1): A12-A13.

EIDER J, AHMETOV II, FEDOTOVSKAYA ON, MOSKA W, CIESZCZYK P, ZAREBSKA A, et al. **CKM gene polymorphism in Russian and Polish rowers.** Rus. J. Genetics. 2015; 51(3): 318–321.

EYNON N, BANTING LK, RUIZ JR, CIESZCZYK P, DYATLOV DA, MACIEJEWSKA-KARLOWSKA A, et al. **ACTN3 R577X polymorphism and team-sport performance: A study involving three European cohorts.** J. Sci. Med. Sport. 2014; 17(1): 102-106.

EYNON N, HANSON ED, LUCIA A, HOUWELING PJ, GARTON F, NORTH KN, et al. **Genes for Elite Power and Sprint Performance: ACTN3.** Leads the Way. 2013; 43(9): 803–817.

EYNON N, RUIZ JR, OLIVEIRA J, DUARTE JA, BIRK R, LUCIA A. **Genes and elite athletes: a roadmap for future research.** J Physiol. 2011; 589(13): 3063-3070.

FEDORUK MN, RUPERT JL. **Myostatin inhibition: a potential performance enhancement strategy?** Scand. J. Med. Sci. in Sports. Copenhagen. 2008; 18(2): 123-131.

FELIPE SMS, RIBEIRO JKC, PACHECCO C, CECCATTO VM, MARQUES LG, PESSOA CÔ. **Technological prospect: genetic tests applied to exercise and sport.** Rev. GEINTEC. 2017; 7(2): 3801-3811.

FERREIRA AMD, BARBOSA PEB, CEDDIA RB. **A influência da suplementação de triglicerídeos de cadeia média no desempenho em exercícios de ultra-resistência.** Rev Bras Med Esporte. 2003; 9(6): 413-419.

FERREIRA AMD, RIBEIRO BG, SOARES EA. **Consumo de carboidratos e lipídios no desempenho em exercícios de ultra-resistência.** Rev. Bras. Med. Esporte 2001; 7(2): 67-74.

FLECK SJ, KRAEMER WJ. **Fundamentos do Treinamento de Força Muscular.** 2 ed. Porto Alegre: Artmed, 1999.

FLORA R, ZULKARNAIN M, SORENA E, DEVA IDGS, WIDOWATI W. **Correlation Between Hypoxia Inducible Factor-1 $\alpha$  and Vesicular Endothelial Growth Factor**

in **Male Wistar Rat Brain Tissue After Anaerobic Exercise**. Trends in Med. Research. 2016; 11(1): 35-41.

FRATTINI IR, FERRARI GD, FERREZIN LP, HOTT SC, GOMES MM, BUENO JUNIOR CR. **Associação de polimorfismos genéticos da ECA e da ACTN3 com capacidade funcional e prevalência de quedas em mulheres no final da idade adulta e início da terceira idade**. J. Phys. Educ. 2016; 27(1): 1-12.

GALVÃO ALB, PALAZZO EL, PINTO ML, VIEIRA MC. **O SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA – REVISÃO**. Nucleus Animalium. 2015; 7(2): 7-16.

GARATACHEA N, VERDE Z, SANTOS-LOZANO A, YVERT T, RODRIGUEZ-ROMO G, SARASA FJ, et al. **ACTN3 R577X Polymorphism and Explosive Leg-Muscle Power in Elite Basketball Players**. Int. J. Spor. Physi. Performance. 2014; 9(2): 226-232.

GENTIL P, PEREIRA RW, LEITE TKM, BOTTARO M. **ACTN3 R577X polymorphism and neuromuscular response to resistance training**. J of Sports Science and Med. 2011; 10(2): 393-399.

GIL AC. **Métodos e técnicas de pesquisa social**. 5. ed. São Paulo: Atlas, 1999.

GINEVICIENE V, JAKAITIENE A, AKSENOV MO, AKSENOVA AV, DRUZHEVSKAYA AM, ASTRATENKOVA IV, et al. **Association analysis of ACE, ACTN3 and PPARGC1A gene polymorphisms in two cohorts of European strength and power athletes**. Biol Sport. 2016; 33(3): 199-206.

GINEVICIENE V, PRANCKEVICIENE E, MILASIUŠ K, KUCINSKAS V. **Relating Fitness Phenotypes to Genotypes in Lithuanian Elite Athletes**. ACTA MEDICA LITUANICA. 2010; 17(1-2): 1-10.

GLACE BW, MURPHY CA, McHUGH MP. **Food intake and electrolyte status of ultramarathoners competing in extreme heat**. J. Amer. Coll. Nutrition. 2002; 21(6): 553-559.

GÓMEZ-GALLEGO F, SANTIAGO C, GONZÁLEZ-FREIRE M, MUNIESA CA, FERNÁNDEZ DEL VALLE M, PÉREZ M, et al. **Endurance performance: genes or gene combinations?** Int. J. Sports Med. 2009; 30(1):66-72.

GREINDA A, LEOŃSKA-DUNIEC A, KACZMARCZYK M, FICEK K, KRÓL P, CIĘSZCZYK P, et al. **Interaction Between ACE I/D and ACTN3 R557X Polymorphisms in Polish Competitive Swimmers.** J. Hum. Kinet. 2014; 10(42): 127-36.

GUNEL T, GUMUSOGLU E, HOSSEINI MK, YILMAZYILDIRIM E, DOLEKCAP I, AYDINLI K. **Effect of angiotensin I-converting enzyme and  $\alpha$ -actinin-3 gene polymorphisms on sport performance.** Mol. Med. Rep. 2014; 9(4): 1422-6.

HAISMA HJ, de HON O. **Gene doping.** Int. J. Sports Med. 2006; 27: 257-66.

HANSON ED, LUDLOW AT, SHEAFF AK, PARK J, ROTH SM. **ACTN3 genotype does not influence muscle power.** Int. J. Sports Med. 2010; 31(11): 834-8.

HARRIDGE, S. D.; VELLOSO, C. P. **IGF-1 and GH: potential use in gene doping.** Growth Hormone and IGF Research, Aarhus. 2009; 19(4): 378-382.

HAKIMI P, YANG J, CASADESUS G, MASSILLON D, TOLENTINO-SILVA F, NYE CK, et al. **Overexpression of the Cytosolic Form of Phosphoenolpyruvate Carboxykinase (GTP) in Skeletal Muscle Repatterns Energy Metabolism in the Mouse.** THE J. OF BIOL. CHEMISTRY. 2007; 282(45): 32844-32855.

HELFENSTELLER MR, RUIZ MAC, LIBERALI R. **Corrida de Aventura: Comportamento do Lactato Sanguíneo, Glicemia e Escala de Borg Durante a Competição.** Rev. Bras. Pres. Fis. Exer. 2011; 5(27): 259-268.

HERBERT AJ, WILLIAMS AG, LOCKEY SJ, ERSKINE RM, HEFFERNAN SM, PEDLAR CR, et al. P-41 **ACTN3 R577x genotype is not associated with elite european caucasian marathon performance.** Bri. J. Sports Med. 2016; 50: A53-A54.

HOLDYS J, KRYŚCIAK J, STANISŁAWSKI D, GRONEK P. **Polymorphism of the  $\alpha$ -ACTN3 gene in individuals practising different sports disciplines.** Biology of Sport. 2011; 28(2): 101-106. DOI: 10.5604/942738.

HOPKINS WG. **Genes and training for athletic performance**. Sports Science. 2001; 5(1): 1-3.

HOUSMAN, D. **Molecular medicine, human DNA polymorphism**. N. Engl. J. Med. 1995; 2: 318–20.

JESSRI M, JESSRI M, RASHIDKHANI B, ZINN C. **Evaluation of Iranian college athletes sports nutrition knowledge**. Inter. J. Spor. Nut. Exer. Metabolism. 2010; 20: 257-263.

KOCH AJ, PEREIRA R, MACHADO M. **The creatine kinase response to resistance exercise**. J. Muscul. Neur. Interact 2014; 14(1): 68-77.

LEE S, BARTON ER, LEE S, FARRAR RP. **Viral expression of insulin-like growth factor I enhances muscle hypertrophy in resistance-trained rats**. J. Appl. Physiol. 2004; 96: 1097-104.

LI S-D, HUANG L. **Gene therapy progress and prospects: non-viral gene therapy by systematic delivery**. Gene Ther. 2006; 13: 1313-1319.

LIPPI G, LONGO GU, MAFFULLI N. **Genetics and sports**. British Medical Bulletin. 2010; 93(1): 27-47.

LINDHOLM ME; RUNDQVIST H. **Skeletal muscle hypoxia-inducible factor-1 and exercise**. Expe. Phys. 2016; 101(1): 28-32.

LOHMAN TG, ROCHE AF, MARTORELL R. **Anthropometric standardization reference manual**. Champaign, IL: Human Kinetics Books. 1998.

LUCIA A, GÓMEZ-GALLEGO F, SANTIAGO C, BANDRÉS F, EARNEST C, RABADÁN M, et al. **ACTN3 genotype in professional endurance cyclists**. Int. J. Sports Med. 2006; 27(11): 880-4.

MA F, YANG Y, LI X, ZHOU F, GAO C, LI M, GAO L. **The Association of Sport Performance with ACE and ACTN3 Genetic Polymorphisms: A Systematic Review and Meta-Analysis**. PLoS One. 2013; 8(1): e54685.



MACARTHUR DG, NORTH KN. **The ACTN3 Gene and Human Performance.** In:(Ed.). Genetic and Molecular Aspects of Sport Performance: Wiley-Blackwell. 2011. 204-214.

MACARTHUR DG, NORTH KN. **Genes and human elite athletic performance.** Hum Genet. 2005; 116: 331-339.

MACARTHUR DG; NORTH KN. **A gene for speed? The evolution and function of  $\alpha$ -actinin-3.** Bioessays. 2004; 26(7): 786-795.

MACARTHUR DG, SETO JT, CHAN S, QUINLAN KGR, RAFTERY JM, TURNER N, et al. **An Actn3 knockout mouse provides mechanistic insights into the association between alpha-actinin-3 deficiency and human athletic performance.** Hum. Mol. Genet. 2008;17:1076–86.

MACARTHUR DG, SETO JT, RAFTERY JM, QUINLAN KG, HUTTLEY GA, HOOK JW, et al. **Loss of ACTN3 gene function alters mouse muscle metabolism and shows evidence of positive selection in humans.** Nat. Genet. 2007; 39(10): 1261-5.

MACDERMID PW, STANNARD S. **Mechanical work and physiological responses to simulated cross country mountain bike racing.** J. Spor. Sci. 2012; 30(14): 1491-1501.

MACHADO MO, HIRATA RD, SELLITTI DF, IOTTI R, IOTTI A, CUSUMANO AM, et al. **Growth hormone promotes glomerular lipid accumulation in bGH mice.** Kidney Int. 2005; 68: 2019-28.

MAFFULLI N, MARGIOTTI K, LONGO UG, LOPPINI, M, FAZIO VM, DENARO V. **The genetics of sports injuries and athletic performance.** M.L.T.J. Musc. Lig. Tend. J. 2013; 3(3): 173-189.

MARTELLI A. **Sistema renal e sua influência no controle em longo prazo da pressão arterial.** Journal of Health Sciences. 2013; 15(1): 75-80.

MAYNE IP. **Gene Doping in the Olympics: a Race to the Bottom.** University of Toronto Medical Journal, 2008; 85(2): 82-86.

McCALL GE, BYRNES WC, DICKINSON A, PATTANY PM, FLECK SJ. **Muscle fiber hypertrophy, hyperplasia, and capillary density in college men after resistance training.** J. Appl. Physiol. J. Appl. Physiol. J. Appl. Physiol. 1996; 81(5): 2004-2012.

McEWEN JE, BOYER JT, SUN KY, ROTHENBERG KH, LOCKHART NC, GUYER MS. **The Ethical, Legal, and Social Implications Program of the National Human Genome Research Institute: Reflections on an Ongoing Experiment.** Rev. Gen. Hum. Genet. 2014; 15: 481-505.

MILLS M, YANG N, WEINBERGER R, VANDER WOUDE DL, BEGGS AH, EASTEAL S, et al. **Differential expression of the actin-binding proteins, alphaactinin-2 and -3, in different species: implications for the evolution of functional redundancy.** Hum Mol Genet. 2001; 1(13): 1335-1346.

MORAES VN, FERRARI GD, CHIARATTO T, FERREZIN LP, TRAPÉ ÁA, CANIVAROLO ABP, et al. **Association of genetic polymorphisms with physical capacities and body composition in older women.** Rev. Bras. Cineantropometria & Desempenho Humano. 2016; 18(1): 11-19.

MORAN CN, YANG N, BAILEY ME, TSIOKANOS A, JAMURTAS A, MACARTHUR DG, et al. **Association analysis of the ACTN3 R577X polymorphism and complex quantitative body composition and performance phenotypes in adolescent Greeks.** Eur. J. Hum. Genet. 2007; 15: 88-93.

MOTTA MT, LACERDA FFR, SANTOS ACN, LADEIA AMT, PETTO J. **Regular Practice Football: The High Performance of this Sport is Related to Genetic Damage?** Rev. Pesq. Fisio. 2017; 7(1): 36-45.

MUNIESA CA, GONZÁLEZ-FREIRE M, SANTIAGO C, LAO JI, BUXENS A, RUBIO JC, et al. **World-class performance in lightweight rowing: is it genetically influenced? A comparison with cyclists, runners and non-athletes.** Bri. J. Sports Medicine. 2010; 44: 898-901.

NALDINI L. **Gene therapy returns to centre stage.** Nature. 2015; 526: 351–360.

NORMAN B, ESBJÖRNSSON M, RUNDQVIST H, TESCH PA. **Strength, power, fiber types, and mRNA expression in trained men and women with different ACTN3 R577X genotypes.** American Physiological Society. 2009; 106(3): 959-965.

NORTH KN, YANG N, WATTANASIRICHAIGOON D, MILLS M, EASTEAL S, BEGGS AH. **A common nonsense mutation results in  $\alpha$ -actinin-3 deficiency in the general population.** Nature Genetics. 1999; 21(4): 353-354.

OGURA Y, NAITO H, KAKIGI R, AKEMA T, SUGIURA T, KATAMOTO S, AOKI J. **Different adaptations of alpha-actinin isoforms to exercise training in rat skeletal muscles.** Acta Physiol. 2009; 196(3): 341-349.

PAPADIMITRIOU ID, LUCIA A, PITSILADIS YP, PUSHKAREV VP, DYATLOV DA, OREKHOV EF, et al. **ACTN3 R577X and ACE I/D gene variants influence performance in elite sprinters: a multi-cohort study.** BMC Genomics. 2016; 17(285): 1-8.

PAPARINI A, RIPANI AM, GIORDANO GD, SANTONI D, PIGOZZI F, ROMANO-SPICA V. **ACTN3 Genotyping by Real-Time PCR in the Italian Population and Athletes.** Med. Sci. Sports Exerc. 2007; 39(5): 810-815.

PASQUA LA, ARTIOLI GG, PIRES FO, BERTUZZI RCM. **ACTN3 e desempenho esportivo: um gene candidato ao sucesso em provas de curta e longa duração.** Rev. Bras. Cineantropom. Desempenho Hum. 2011; 13(6):477-483.

PETR M, STASTNY P, PECHA O, SEDA O. **PPARA Intron Polymorphism Associated with Power Performance in 30-s Anaerobic Wingate Test.** 2014; 9(9): e107171.

PIMENTA EM, COELHO DB, VENEROSO CE, BARROS COELHO EJ, CRUZ IR, MORANDI RF, et al. **Effect of ACTN3 Gene on Strength and Endurance in Soccer Players.** J Streng Cond Research. 2013; 27(12): 3286-3292. DOI: 10.1519/JSC.0b013e3182915e66.

PITSILADIS Y, WANG G, WOLFARTH B, SCOTT R, FUKU N, MIKAMI E, et al. **Genomics of elite sporting performance: what little we know and necessary advances.** Bri. J. Sports Medicine. 2013; 47(9): 656-656.

POWERS SK, HOWLEY ET. **Fisiologia do exercício: Teoria e aplicação ao condicionamento e desempenho.** São Paulo: Manole, 2009.

PUTHUCHEARY Z, SKIPWORTH JRA, RAWAL J, LOOSEMORE M, SOMEREN KV, MONTGOMERY HE. **The ACE Gene and Human Performance: 12 Years On.** Sports Med. 2011; 41(6): 433-448.

QUEIROZ PRM, ALVES LS. **Doping genético: principais genes alvo, riscos associados e possíveis métodos de detecção.** Ensaios e Ciência: Ciên. Bio. Agra. Saú. 2012; 16(1): 177-193.

REZENDE PEN, SANTOS WS, SOUZA RF. **Corrida de Montanha: Resposta do Lactato em Diferentes Níveis de Dificuldade.** Ciên. Bio. Saúde Unit. 2016; 3(2): 111-118.

ROBACH P, BOISSON RC, VINCENT L, LUNDBY C, MOUTEREAU S, GERGELÉ L, et al. **Hemolysis induced by an extreme mountain ultra-marathon is not associated with a decrease in total red blood cell volume.** 2014; 24(1): 18-27.

RODRÍGUEZ-ROMO G, YVERT T, DIEGO A, SANTIAGO C, DURANA ALD, CARRATALÁ V, et al. **No Association between ACTN3 R577X Polymorphism and Elite Judo Athletic Status.** Inter. J. Sports Physi. Performance. 2013; 8(5): 579-81.

RODRIGUES CFA, FILLUS IC. **Correlação genética de aptidão para modalidades esportivas específicas: considerações bioéticas.** Rev. Bioét. 2015; 23 (2): 285-92.

SAUGY J, PLACE N, MILLET GY, DEGACHE F, SCHEHA F, MILLET GP. **Alterations of Neuromuscular Function after the World's Most Challenging Mountain Ultra-Marathon.** Plos One. 2013; 8(6): e65596.

SAUNDERS CJ, SEPTEMBER AV, XENOPHONTOS SL, CARILOU MA, ANASTASSIADES LC, NOAKES TD, et al. **No Association of the ACTN3 Gene R577X Polymorphism with Endurance Performance in Ironman Triathlons.** Annals of human genetics. 2007; 71(6): 777-781.

SEGURA J, FILLAT C, ANDREU D, LLOP J, MILLAN O, DE LA TORRE BG, et al. **Monitoring gene therapy by external imaging of mRNA: pilot study on murine erythropoietin.** Thera. Drug Monitoring. Toronto. 2007; 29(5): 612-618.

SILVA, MSM, BOLANI W, ALVES CR, BIAGI DG, LEMOS JR JR, SILVA JL, et al. **Elimination of Influences of the ACTN3 R577X Variant on Oxygen Uptake by Endurance Training in Healthy Individuals.** Inter J Sports Physi Perfor. 2015; 10(5): 636-64.

SHANG X, HUANG C, CHANG Q, ZHANG L, HUANG T. **Association between the ACTN3 R577X polymorphism and female endurance athletes in China.** Int. J. Sports Med. 2010; 31(12): 913-6.

SOUZA DK, OLIVEIRA JR, RODRIGUES H, COTA NB, CARVALHO MM, PRESTES J, et al. **Regulação e ativação das células satélites durante a regeneração muscular.** Rev. Bras. Ciên. Mov. 2015; 23.3: 170-180.

STEIN R, TRUJILLO JP, SILVEIRA AD, LAMOUNIER JÚNIOR A, IGLESIAS LM. **Avaliação genética, estudo familiar e exercício.** Arq. Bras. Cardiol. São Paulo. 2017; 108(3): 263-270.

STEWART C, RITTWEGER J. **Adaptive Processes in Skeletal Muscle: Molecular Regulators and Genetic Influences.** J. Musculoskeletal & Neuronal interactions. 2005; 6(1): 73-86.

SZELID Z, POKREISZ P, LIU X, VERMEERSCH P, MARSBOOM G, GILLIJNS H, et al. **Cardioselective nitric oxide synthase 3 gene transfer protects against myocardial reperfusion injury.** Basic Research in Cardiology. 2010; 105(2): 169-179.

TAMSE TR, TILLMAN MD, STOPKA CB, WEIMER AC, ABRAMS GL, ISSA IM. **Supervised Moderate Intensity Resistance Exercise Training Improves Strength in Special Olympic Athletes.** J. Strength and Conditioning Research. 2010; 24: 575-600.

TANG W, LI S, LIU Y, WU JC, PAN MH, HUANG MT, et al. **Anti-diabetic activities of cis- and trans-2,3,5,4' tetrahydroxystilbene 2-O- $\beta$ -glucopyranoside from**

**Polygonum multiflorum.** Molecular nutrition & food research. 2017. doi: 10.1002/mnfr.201600871.

TOURINHO FILHO H, PUGGINA EF, MARINI LL, MACHADO DRL, BARBANTI VJ, PIMENTEL GL. **Efeitos agudos do treinamento aeróbio sobre o desempenho da força muscular.** Pensar a Prática. 2013; 16(2): 451-468.

VINCENT B, DE BOCK K, RAMAEKERS M, EEDE EVD, LEEMPUTTE MV, HESPEL P, et al. **ACTN3 (R577X) genotype is associated with fiber type distribution.** Phys. Genomics. 2007; 32(1): 58-63.

WADA 2008. **O Código Mundial Antidoping: A Norma Internacional de Lista de Proibições de 2008.**

WALSH S, LIU D, METTER EJ, FERRUCCI L, ROTH SM. **ACTN3 genotype is associated with muscle phenotypes in women across the adult age span.** J Appl Physiol. 2008; 105(5): 1486-91.

WILLIAMS AG, DHAMRAIT SS, WOOTTON PTE, DAY SH, HAWE E, PAYNE JR, MYERSON SG, WORLD M, BUDGETT R, HUMPHRIES SE, MONTGOMERY HE. **Bradykinin receptor gene variant and human physical performance.** J. App. Physiology. 2004; 96(3): 938-942.

WOELLNER GN, GONÇALVES MAM, NETTO, ZO, SALGUEIROSA F, RIBAS MR, BASSAN JC. **Análise do Polimorfismo do Gene ACE em Atletas de Provas de Fundo e Potência no Atletismo.** Rev. UNIANDRADE. 2016; 17(2): 63-69.

WU H-J, CHEN K-T, SHEE B-W, CHANG H-C, HUANG Y-J, YANG R-S. **Effects of 24 h ultra-marathon on biochemical and hematological parameters.** World J. Gastroenterol. 2004; 10(18): 2711-2714.

YAMADA AK, BERTUZZI R, LEITE TC, PRESTES J, BUENO JÚNIOR CR. **Biomotricity Roundtable - Genômica e Fisiologia Molecular do exercício e do esporte.** Braz. J. Biomotricity. 2013; 7(4): 192-219.

YANG R, SHEN X, WANG Y, VOISIN S, CAI G, FU Y, et al. **ACTN3 R577X Gene Variant Is Associated With Muscle-Related Phenotypes in Elite Chinese Sprint/Power Athletes.** 2017; 31(4): 1107–1115.

YANG N, MACARTHUR DG, GULBIN JP, HAHN AG, BEGGS AH, EASTEAL S, et al. **ACTN3 genotype is associated with human elite athletic performance.** Am. J. Hum. Genet. 2003; 73(3): 627-631.

YVERT T, MIYAMOTO-MIKAMI E, MURAKAMI H, MIYACHI M, KAWAHARA T, FUKU N. **Lack of replication of associations between multiple genetic polymorphisms and endurance athlete status in Japanese population.** Physiol. Reports. 2016; 4(20): 1-8.

YU B, TRENT RJ. **Genetics of Athletic Performance.** In: eLS. John Wiley & Sons Ltd, Chichester. 2010 <http://www.els.net> [doi: 10.1002/9780470015902.a0022400].

ZATZ M. **Projeto Genoma Humano e Ética.** São Paulo Perspec. 2000; 14(3): 47-52.

ZEMPO H, TANABE K, MURAKAMI H, IEMITSU M, MAEDA S, KUNO S. **ACTN3 polymorphism affects thigh muscle área.** Int. J. Sports Med. 2010; 31(2): 138-42.

**APÊNDICE A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)**

*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, ou os demais pesquisadores envolvidos, Crystina Linhares Batista Pinheiros, Nelson Wasch Junior, Pamela Kao, Douglas Leonardo de Patrocínio e Hiago Augusto Zonatto. Se após a leitura deste documento concordar com os procedimentos metodológicos, pedimos sua assinatura ao final do documento e também 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 da 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 também 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), 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; 3) Coleta sanguínea para análise dos componentes eletroquímicos e ácido básico, sendo analisados os seguintes parâmetros: pH, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Lactato, glicose e HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>; 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 desconforto 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 você receberá os resultados dos genótipos para os genes ACTN3, ECA e CK, 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](mailto:cep@dombosco.sebsa.com.br). O Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) é um colegiado interdisciplinar e independente, com “munus 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: Crystina Linhares Batista  
Pinheiros, CPF - 027.978.839-85.

\_\_\_\_\_  
Pesquisador: Nelson Wasch Junior,  
CPF – 050.760.509-84.

\_\_\_\_\_  
Pesquisador: Pamela Kao,  
CPF – 067.455.739-54.

\_\_\_\_\_ Pesquisador: Douglas Leonardo de  
Patrocínio,  
CPF – 025. 903. 429-00.

\_\_\_\_\_ Pesquisador: Hiago Augusto Zonatto,  
CPF – 082.072.779-20.

\_\_\_\_\_ 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 B – Questionário**

NOME: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

EMAIL: \_\_\_\_\_ CELULAR \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

SEXO: ( ) Fem ( ) Mas

DATA NASCIMENTO:

\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_

RESIDE EM:

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.

**4. Participa de competições?**

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

**5. Treina outra modalidade esportiva?**

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

Outros: \_\_\_\_\_

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

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

**7. Qual a duração do treino do dia? (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.

**8. Qual a duração do treino do dia no final de semana? (Tempo médio da sessão por dia / sábado e/ou domingo)**

( ) até 1 hora ( ) 1 a 2 horas ( ) 2 a 3 horas ( ) mais de 3 horas.

**9. Quanto tempo você se preparou para essa prova?**

( ) 1 a 2 meses ( ) 2 a 3 meses ( ) 3 a 4 meses ( ) 6 meses ou mais.

**10. Treina com orientação de um profissional da área?**

( ) Sim ( ) Não.

## ANEXO A – Parecer consubstanciado do CEP

FACULDADE DOM BOSCO/ PR


**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**
**DADOS DA EMENDA**

**Título da Pesquisa:** ASSOCIAÇÃO ENTRE OS POLIMORFISMOS DOS GENES ACTN3, ACE ID, CK, AMPD1, e NOS NOS DIFERENTES ESPORTES INDIVIDUAIS E COLETIVOS

**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:** 2

**CAAE:** 51717515.5.0000.5223

**Instituição Proponente:** Faculdades Dom Bosco/ PR

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 1.572.571

**Apresentação do Projeto:**

Conforme parecer 1.424.895

**Objetivo da Pesquisa:**

Conforme parecer 1.424.895

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Conforme parecer 1.424.895

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

A emenda inclui um pesquisador ao projeto.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Não há.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Não há.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

**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:** csp@dombosco.sebsa.com.br