

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA INTERINSTITUCIONAL DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FISIOLÓGICAS - ASSOCIAÇÃO AMPLA UFSCar/UNESP**

Thiago José Dionísio

**POLIMORFISMOS GENÉTICOS E DESEMPENHO FÍSICO EM
JOGADORES DE FUTEBOL DAS CATEGORIAS DE BASE DO SÃO
PAULO FUTEBOL CLUBE**

São Carlos – SP

2014

Thiago José Dionísio

**POLIMORFISMOS GENÉTICOS E DESEMPENHO FÍSICO EM
JOGADORES DE FUTEBOL DAS CATEGORIAS DE BASE DO SÃO
PAULO FUTEBOL CLUBE**

Tese de doutorado apresentada como um dos requisitos para a obtenção do título de Doutor junto ao Programa Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, Associação ampla UFSCar/UNESP.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Sandra Lia do Amaral
Co-orientador: Prof. Dr. Carlos Ferreira dos Santos

São Carlos – SP
2014

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária/UFSCar**

D592pg

Dionísio, Thiago José.

Polimorfismos genéticos e desempenho físico em jogadores de futebol das categorias de base do São Paulo Futebol Clube / Thiago José Dionísio. -- São Carlos : UFSCar, 2014.

120 p.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2014.

1. Fisiologia do exercício físico. 2. Genética. 3. Mutação (Biologia). 4. Jogadores de futebol. 5. Testes de desempenho físico. 6. Parâmetros hemodinâmicos e cardíacos. I. Título.

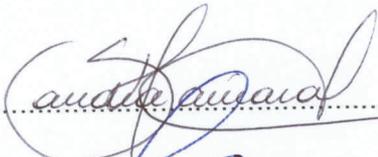
CDD: 612.04 (20^a)

Programa Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências
Fisiológicas
Associação Ampla UFSCar/UNESP

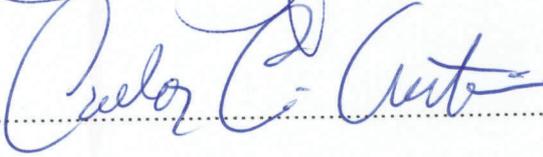
Folha de Aprovação

Tese de Doutorado de Thiago José Dionísio

Dia 26/09/2014

Prof.^a Dr.^a Sandra Lia do Amaral Cardoso.....

Prof.^a Dr.^a Lucimara Teixeira das Neves.....

Prof. Dr. Carlos César Crestani.....

Prof. Dr. Anderson Saranz Zago.....

Prof.^a Dr.^a Ana Claudia Garcia de Oliveira Duarte.....

Dedicatória

Dedico esta tese a minha família que sempre me guiou no caminho da justiça, harmonia e honestidade, e especialmente à minha filha Laura para quem não pouparei energia para guiá-la pelo mesmo caminho.

AGRADECIMENTOS

Ao departamento de Ciências Fisiológicas da Universidade Federal de São Carlos e a todos os professores e funcionários.

Ao secretário Alexandre por toda sua dedicação e disponibilidade.

Para não me esquecer de ninguém, agradeço aos amigos da Farmacologia da Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo (FOB/USP) pelas agradáveis horas que passamos juntos.

Aos amigos do LEFEx, do Departamento de Educação Física da Faculdade de Ciências da UNESP, campus de Bauru, por todo apoio e compreensão.

Ao São Paulo Futebol Clube pela oportunidade e toda a disposição. Em especial ao grande amigo Carlos Rogério que é um ser humano muito diferenciado, que não poupa energia para contribuir com a ciência. Muito obrigado, meu parceiro!

Ao meu amigo importado, Dan. Pessoa muito especial que está sempre disposto a ajudar. Muito obrigado por toda a ajuda.

A minha orientadora Sandra que proporcionou a realização de um dos meus maiores sonhos, ser Doutor. Acolheu-me desde a iniciação científica e hoje se encerra um ciclo e dá-se início a outro, o ciclo de colaboração. San, muito obrigado por tudo que fez por mim, e muito obrigado também pela oportunidade de desfrutar de sua sincera amizade.

Ao meu “irmão mais velho”, Dr. Carlos, um exemplo de vida, exemplo de integridade, honestidade e humildade. Além de mestre científico, é um mestre da vida, pois suas atitudes íntegras e polidas sempre visam o bem estar do próximo, atitude nobre, sinal de evolução. Nunca terei como agradecer tudo o que fez e faz por mim! Conte sempre com minha amizade!

Em memória à minha avó Tereza, que me criou com muito amor e carinho e certamente está muito orgulhosa por mais essa conquista.

Em memória aos meus avós Joaquim, Aurora e Wanderley, que sempre emanam muito amor e vibram com minhas conquistas.

Ao Seu José, Bete e Miria que me acolheram com muito amor, carinho e respeito.

À minha esposa Miliane. Mulher meiga, que ama, cuida, compreende, apoia, ou seja, é parceira na essência da palavra. Amo-a muito e tenho muito orgulho de você, minha linda!

À minha filha Laura, meu amor, que me dá inúmeros motivos diários para sorrir e amar a vida.

Ao meu irmão e amigo Evandro que muitas vezes se mostra mais maduro que eu! Admiro sua autenticidade, lealdade e amo tê-lo como irmão. Te amo muito e tenho muito orgulho de você, Vandão!

Aos meus pais Sílvia e Joaquim. Como encontrar palavras para agradecer-lhes?! Hoje sou pai e entendo o que sentem por mim! Vocês são a base de tudo! Sem vocês eu não estaria aqui! O amor, a dedicação e a educação de vocês me deram bases sólidas para conquistar o mundo. Pai e mãe, muito obrigado pelo exemplo de respeito, justiça e honestidade. Amo muito vocês!

RESUMO

Há relatos na literatura de que os polimorfismos genéticos podem determinar importantes modulações nos fenótipos dos atletas, como por exemplo, estatura, adaptações cardiovasculares, utilização dos substratos energéticos bem como balanço eletrolítico e hormonal. É possível que indivíduos que expressem o gene alfa actinina 3 (ACTN3; genótipos RR para homocigotos ancestrais ou RX para heterocigotos) possam apresentar vantagens em movimentos que exijam força e rápida contração muscular quando comparados aos indivíduos com genótipo XX. Isto pelo fato de a ACTN3 ser um componente da linha Z sarcomérica, o qual é importante para o ancoramento dos miofilamentos de actina e manutenção do arranjo miofibrilar. Com relação ao polimorfismo no gene AMP deaminase (AMPD1), tem sido relatado que os atletas que apresentam o alelo mutado (alelo T) possam apresentar desvantagens em atividades físicas intensas e repetitivas, uma vez que a enzima codificada por este gene é responsável pela ressíntese de ATP muscular após intensas contrações. Os polimorfismos nos genes da enzima conversora de angiotensina (ECA; alelo de deleção D) e angiotensinogênio (AGT; alelo T mutado) podem favorecer os atletas em atividades que requeiram força, isto por conta dos maiores níveis circulantes de Angiotensina (Ang) II. Este estudo investigou se os polimorfismos nos genes ACTN3, AMPD1, ECA e AGT, combinados ou não, podem influenciar nos parâmetros hemodinâmicos, cardíacos e no desempenho de jogadores de futebol em testes físico-motores tais como saltos, velocidade e endurance. Foi coletada a saliva de 220 jogadores jovens (14 a 20 anos) das categorias de base profissional do São Paulo Futebol Clube, Brasil. Em seguida, o DNA total foi extraído a partir da saliva e ensaios de reação em cadeia da polimerase (PCR) foram utilizados para a genotipagem dos atletas. Para conferir mais fidedignidade ao estudo, os atletas foram também separados de acordo com a idade. Antes desta separação, os atletas com a mutação no gene ACTN3 saltaram menos no teste *Squat Jump* (SJ) (RR/RX = $33,64 \pm 5,31$ vs XX = $30,81 \pm 4,51$ cm, $p = 0,007$), assim como nas categorias Sub-15 (RR/RX = $34,88 \pm 5,39$ vs XX = $30,59 \pm 4,07$ cm, $p = 0,04$) e Sub-17 (RR/RX = $35,82 \pm 4,35$ vs XX = $30,24 \pm 5,16$ cm, $p = 0,01$). No teste *Counter Movement Jump* (CMJ) os RR/RX saltaram $37,26 \pm 5,72$ cm e os XX $34,12 \pm 4,84$ cm ($p = 0,005$). Na categoria Sub-17, detectou-se que os RR/RX saltaram $38,56 \pm 5,69$ cm e os XX $32,90 \pm 6,06$ cm ($p = 0,02$). No teste *Counter Movement Jump* com os braços (CMJb), com todos os atletas, os RR/RX saltaram $43,85 \pm 6,38$ cm e os XX $40,61 \pm 5,06$ cm ($p = 0,009$). O teste de velocidade de deslocamento (30 m) revelou, na categoria Sub-17, que os RR/RX foram mais velozes que os atletas XX (RR/RX = $4,13 \pm 0,13$ vs XX = $4,27 \pm 0,17$ s, $p = 0,04$). Com relação ao gene AMPD1, nenhuma diferença significativa foi encontrada nos testes de saltos e endurance, porém no teste de velocidade de deslocamento (10 m), os atletas CC foram mais velozes comparados àqueles com

genótipos CT/TT (CC = $1,53 \pm 0,19$ vs CT/TT = $1,62 \pm 0,16$ s, $p = 0,04$). Atletas com o genótipo DD (ECA) saltaram significativamente mais alto no teste CMJb comparados aos ID/II (DD = $44,37 \pm 6,22$ vs ID/II $42,35 \pm 6,23$ cm, $p = 0,02$). Na categoria Sub-17, os atletas DD saltaram mais nos testes SJ (DD = $38,04 \pm 5,00$ vs ID/II = $33,16 \pm 4,11$ cm, $p = 0,01$), CMJ (DD = $41,03 \pm 5,64$ vs ID/II = $35,76 \pm 4,26$ cm, $p = 0,01$) e CMJb (DD = $48,62 \pm 5,98$ vs ID/II = $42,42 \pm 4,81$ cm, $p = 0,007$). No teste de endurance, atletas da categoria Sub-16 com os genótipos ID/II, percorreram maiores distâncias comparados aos DD (ID/II = $1.467 \pm 63,70$ vs DD = $1.244 \pm 64,25$ m, $p = 0,04$). O genótipo DD do gene da ECA também favoreceu os atletas no teste de velocidade (30 m), pois jogadores da categoria Sub-14 com o referido genótipo foram mais velozes comparados aos ID/II (DD = $4,29 \pm 0,19$ vs ID/II = $4,40 \pm 0,16$ s, $p = 0,02$). O mesmo pôde ser visto para a categoria Sub-17 (DD = $4,07 \pm 0,15$ vs ID/II = $4,20 \pm 0,13$ s, $p = 0,04$). O polimorfismo no gene AGT parece não influenciar o desempenho nos testes propostos, porém atletas com o genótipo mutado (TT) apresentaram maior hipertrofia do ventrículo esquerdo (VE; $114,6 \pm 105,2$ g/m² para TT; $92,16 \pm 18,88$ g/m² para MT e $94,78 \pm 21,08$ g/m² para MM, $p = 0,04$), sem qualquer outra alteração nos outros parâmetros cardíacos e hemodinâmicos. Maior hipertrofia do VE (DD = $96,95 \pm 19,96$; ID = $90,14 \pm 21,58$ e II = $91,67 \pm 21,09$ g/m², $p = 0,04$) e maior fração de ejeção (DD = $71,73 \pm 7,71$; ID = $69,48 \pm 6,51$ e II = $68,59 \pm 5,72$ %, $p = 0,02$) também foram encontradas nos atletas com o genótipo DD. A análise da combinação dos genes no desempenho dos atletas, quando se privilegiaram as características de força e explosão muscular no ranqueamento por escore, revelou que os atletas com os escores mais altos (5 a 8) saltaram mais comparados àqueles com escores mais baixos (1 a 4) no teste SJ (Escore 5 a 8 = $33,80 \pm 5,16$ vs Escore 1 a 4 = $31,60 \pm 5,22$ cm, $p = 0,01$) e no teste CMJ (Escore 5 a 8 = $43,90 \pm 6,85$ vs Escore 1 a 4 = $41,87 \pm 5,98$ cm, $p = 0,04$). Os resultados do presente estudo sugerem que os genótipos RR/RX (ACTN3), DD (ECA) e CC (AMPD1) podem beneficiar os jogadores de futebol em atividades que requeiram força e rápida contração muscular. Além disso, os genótipos ID/II parecem proporcionar mais resistência aos atletas em atividade de endurance. Para o futuro, serão necessárias organização, padronização e responsabilidade ética no manejo desses dados genéticos para a utilização no processo de formação de atletas.

Palavras chave: mutações genéticas; jogadores de futebol; testes de desempenho físico; parâmetros hemodinâmicos e cardíacos

ABSTRACT

Literature reports that genetic polymorphisms may determine important modulations on athletes' phenotypes, such as height, cardiovascular adaptations, use of energy substrates as well as electrolyte and hormonal balance. It is possible that individuals who express the alpha actinin 3 gene (ACTN3; ancestral homozygous RR or heterozygous RX) may offer advantages in movements that require strength and fast twitch compared with individuals with XX genotype. ACTN3 is a sarcomeric Z line component, which is important for the actin filaments anchorage and myofibrillar arrangement maintenance. Regarding AMP deaminase (AMPD1) polymorphism, it has been reported that athletes with the mutant allele (allele T) may present disadvantages in intense and repetitive physical activities, since the enzyme encoded by this gene is responsible for the ATP resynthesis after intense muscle contractions. Polymorphisms in the angiotensin converting enzyme gene (ACE; deletion allele D) and angiotensinogen (AGT; mutated allele T) may favor athletes in activities requiring strength, due to the fact of higher Angiotensin (Ang) II circulating levels. The present study investigated whether polymorphisms in ACTN3, AMPD1, ACE and AGT genes, alone or in combination, may influence the hemodynamic and cardiac parameters as well as soccer players' performance during physical tests such as jump, speed and endurance. Saliva from 220 young professional soccer players (14-20 years) from São Paulo Futebol Clube (Brazil) was collected. Then, total DNA was extracted from saliva and polymerase chain reaction (PCR) was used for genotyping of athletes. To provide more reliability to the study, athletes were also separated according to their age. Before this separation, the athletes with the mutation in the ACTN3 gene jumped lower heights in Squat Jump test (SJ) (RR/RX = 33.64 ± 5.31 vs XX = 30.81 ± 4.51 cm, $p = 0.007$), as well as in the Under (U)-15 (RR/RX = 34.88 ± 5.39 vs XX = 30.59 ± 4.07 cm, $p = 0.04$) and U-17 (RR/RX = 35.82 ± 4.35 vs XX = 30.24 ± 5.16 cm, $p = 0.01$) categories. In the Counter Movement Jump test (CMJ), RR/RX jumped 37.26 ± 5.72 cm and XX 34.12 ± 4.84 cm ($p = 0.005$). In the U-17 category, RR/RX jumped 38.56 ± 5.69 cm and XX 32.90 ± 6.06 cm ($p = 0.02$). In the Counter Movement Jump with arms (CMJb) test, with all athletes, RR/RX jumped 43.85 ± 6.38 cm and XX 40.61 ± 5.06 cm ($p = 0.009$). The speed test (30 m) showed in the U-17 category that RR/RX were faster than the XX athletes (RR/RX = 4.13 ± 0.13 vs XX = 4.27 ± 0.17 s, $p = 0.04$). Regarding AMPD1 gene, no significant difference was found in the jumps and endurance tests, but in the speed test (10 m), CC athletes were faster than those with CT/TT genotypes (CC = 1.53 ± 0.19 vs CT/TT = 1.62 ± 0.16 s, $p = 0.04$). Athletes with DD genotype (ACE) jumped significantly higher in CMJb test compared with ID/II (DD = 44.37 ± 6.22 vs ID/II = 42.35 ± 6.23 cm, $p = 0.02$). In the U-17 category, DD athletes jumped higher in SJ (DD = 38.04 ± 5.00 vs ID/II = 33.16 ± 4.11 cm, $p = 0.01$), CMJ (DD = 41.03 ± 5.64 vs ID/II = 35.76 ± 4.26 cm, $p = 0.01$) and CMJb (DD = 48.62 ± 5.98 vs ID/II = 42.42 ± 4.81 cm, $p = 0.007$). In the endurance test, athletes from U-16 category with genotypes ID/II, traveled greater

distances compared with DD (ID/II = 1.467 ± 63.70 vs DD = 1.244 ± 64.25 m, $p = 0.04$). The DD genotype also favored athletes in speed test (30 m), either for players from U-14 category (DD = 4.29 ± 0.19 vs ID/II = 4.40 ± 0.16 s, $p = 0.02$) or for the U-17 category (DD = 4.07 ± 0.15 vs ID/II = 4.20 ± 0.13 s, $p = 0.04$). AGT gene polymorphism did not influence the performance in the tests, but athletes with the mutant genotype (TT) showed greater left ventricle (LV) hypertrophy (114.6 ± 105.2 g/m² for TT, 92.16 ± 18.88 g/m² for MT and 94.78 ± 21.08 g/m² for MM, $p = 0.04$) without any change in cardiac and other hemodynamic parameters. Greater LV hypertrophy (DD = 96.95 ± 19.96 , ID = 90.14 ± 21.58 and II = 91.67 ± 21.09 g/m², $p = 0.04$) and higher ejection fraction (DD = 71.73 ± 7.71 , ID = 69.48 ± 6.51 and II = 68.59 ± 5.72 %, $p = 0.02$) were also found in the athletes with the DD genotype. The analysis of genes combination on athletic performance, when characteristics of strength and muscle fast twitch in the ranking by score were taken into account, showed that athletes with the highest scores (5-8) jumped higher than those with lower scores (1-4) in SJ test (score 5 to 8 = 33.80 ± 5.16 vs score 1 to 4 = 31.60 ± 5.22 cm, $p = 0.01$) and CMJ test (score 5 to 8 = 43.90 ± 6.85 vs score 1 to 4 = 41.87 ± 5.98 cm, $p = 0.04$). The present results suggest that RR/RX (ACTN3), DD (ACE) and CC (AMPD1) genotypes may benefit soccer players in activities requiring strength and fast twitch. In addition, ID/II genotypes seem to provide more resistance to athletes in endurance activity. In the future, the organization, standardization and ethical responsibility will be required in the management of these genetic markers for use in athletes' training process.

Keywords: genetic mutations; soccer players; physical performance tests; hemodynamic and cardiac parameters.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1:	Esquema do posicionamento dos sensores fotoelétricos para o teste de velocidade de deslocamento.	49
Figura 2:	Desempenho dos atletas no teste <i>Squat Jump</i> (cm) em função dos genótipos do gene ACTN3. Os dados foram coletados antes da subdivisão em categorias (Todos) e de acordo com as categorias: Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20.	57
Figura 3:	Desempenho dos atletas no teste <i>Counter Movement Jump</i> (cm) em função dos genótipos do gene ACTN3. Os dados foram coletados antes da subdivisão em categorias (Todos) e de acordo com as categorias: Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20.	58
Figura 4:	Desempenho dos atletas no teste <i>Counter Movement Jump</i> com os braços (cm) em função dos genótipos do gene ACTN3. Os dados foram coletados antes da subdivisão em categorias (Todos) e de acordo com as categorias: Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20.	59
Figura 5:	Desempenho dos atletas no teste de endurance (m) em função dos genótipos do gene ACTN3. Os dados foram coletados antes da subdivisão em categorias (Todos) e de acordo com as categorias: Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20.	60
Figura 6:	Desempenho dos atletas no teste de velocidade de deslocamento, distância de 1 m (s), em função dos genótipos do gene ACTN3. Os dados foram coletados antes da subdivisão em categorias (Todos) e de acordo com as categorias: Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20.	61
Figura 7:	Desempenho dos atletas no teste de velocidade de deslocamento, distância de 10 m (s), em função dos genótipos do gene ACTN3. Os dados foram coletados antes da subdivisão em categorias (Todos) e de acordo com as categorias: Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20.	61
Figura 8:	Desempenho dos atletas no teste de velocidade de deslocamento, distância de 20 m (s), em função dos genótipos do gene ACTN3. Os dados foram coletados antes da subdivisão em categorias (Todos) e de acordo com as categorias: Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20.	62

Figura 9:	Desempenho dos atletas no teste de velocidade de deslocamento, distância de 30 m (s), em função dos genótipos do gene ACTN3. Os dados foram coletados antes da subdivisão em categorias (Todos) e de acordo com as categorias: Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20.....	62
Figura 10:	Desempenho dos atletas no teste <i>Squat Jump</i> (cm) em função dos genótipos do gene AMPD1. Os dados foram coletados antes da subdivisão em categorias (Todos) e de acordo com as categorias: Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20.	64
Figura 11:	Desempenho dos atletas no teste <i>Counter Movement Jump</i> (cm) em função dos genótipos do gene AMPD1. Os dados foram coletados antes da subdivisão em categorias (Todos) e de acordo com as categorias: Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20.....	64
Figura 12:	Desempenho dos atletas no teste <i>Counter Movement Jump</i> com os braços (cm) em função dos genótipos do gene AMPD1. Os dados foram coletados antes da subdivisão em categorias (Todos) e de acordo com as categorias: Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20.	65
Figura 13:	Desempenho dos atletas no teste de endurance (m) em função dos genótipos do gene AMPD1. Os dados foram coletados antes da subdivisão em categorias (Todos) e de acordo com as categorias: Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20.	66
Figura 14:	Desempenho dos atletas no teste de velocidade de deslocamento, distância de 1 m (s), em função dos genótipos do gene AMPD1. Os dados foram coletados antes da subdivisão em categorias (Todos) e de acordo com as categorias: Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20.....	66
Figura 15:	Desempenho dos atletas no teste de velocidade de deslocamento, distância de 10 m (s), em função dos genótipos do gene AMPD1. Os dados foram coletados antes da subdivisão em categorias (Todos) e de acordo com as categorias: Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20.....	67
Figura 16:	Desempenho dos atletas no teste de velocidade de deslocamento, distância de 20 m (s), em função dos genótipos do gene AMPD1. Os dados foram coletados antes da subdivisão em categorias (Todos) e de acordo com as categorias: Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20.....	67

Figura 17: Desempenho dos atletas no teste de velocidade de deslocamento, distância de 30 m (s), em função dos genótipos do gene AMPD1. Os dados foram coletados antes da subdivisão em categorias (Todos) e de acordo com as categorias: Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20.....	68
Figura 18: Desempenho dos atletas no teste <i>Squat Jump</i> (cm) em função dos genótipos do gene da ECA. Os dados foram coletados antes da subdivisão em categorias (Todos) e de acordo com as categorias: Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20.	70
Figura 19: Desempenho dos atletas no teste <i>Counter Movement Jump</i> (cm) em função dos genótipos do gene da ECA. Os dados foram coletados antes da subdivisão em categorias (Todos) e de acordo com as categorias: Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20.....	70
Figura 20: Desempenho dos atletas no teste <i>Counter Movement Jump</i> com os braços (cm) em função dos genótipos do gene da ECA. Os dados foram coletados antes da subdivisão em categorias (Todos) e de acordo com as categorias: Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20.	71
Figura 21: Desempenho dos atletas no teste de endurance (m) em função dos genótipos do gene da ECA. Os dados foram coletados antes da subdivisão em categorias (Todos) e de acordo com as categorias: Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20.	71
Figura 22: Desempenho dos atletas no teste de velocidade de deslocamento, distância de 1 m (s), em função dos genótipos do gene da ECA. Os dados foram coletados antes da subdivisão em categorias (Todos) e de acordo com as categorias: Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20.....	72
Figura 23: Desempenho dos atletas no teste de velocidade de deslocamento, distância de 10 m (s), em função dos genótipos do gene da ECA. Os dados foram coletados antes da subdivisão em categorias (Todos) e de acordo com as categorias: Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20.....	73
Figura 24: Desempenho dos atletas no teste de velocidade de deslocamento, distância de 20 m (s), em função dos genótipos do gene da ECA. Os dados foram coletados antes da subdivisão em categorias (Todos) e de acordo com as categorias: Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20.....	73

Figura 25: Desempenho dos atletas no teste de velocidade de deslocamento, distância de 30 m (s), em função dos genótipos do gene da ECA. Os dados foram coletados antes da subdivisão em categorias (Todos) e de acordo com as categorias: Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20.....	74
Figura 26: Desempenho dos atletas no teste <i>Squat Jump</i> (cm) em função dos genótipos do gene AGT. Os dados foram coletados antes da subdivisão em categorias (Todos) e de acordo com as categorias: Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20.	75
Figura 27: Desempenho dos atletas no teste <i>Counter Movement Jump</i> (cm) em função dos genótipos do gene AGT. Os dados foram coletados antes da subdivisão em categorias (Todos) e de acordo com as categorias: Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20.....	76
Figura 28: Desempenho dos atletas no teste <i>Counter Movement Jump</i> com os braços (cm) em função dos genótipos do gene AGT. Os dados foram coletados antes da subdivisão em categorias (Todos) e de acordo com as categorias: Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20.	76
Figura 29: Desempenho dos atletas no teste de endurance (m) em função dos genótipos do gene AGT. Os dados foram coletados antes da subdivisão em categorias (Todos) e de acordo com as categorias: Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20.	77
Figura 30: Desempenho dos atletas no teste de velocidade de deslocamento, distância de 1 m (s), em função dos genótipos do gene AGT. Os dados foram coletados antes da subdivisão em categorias (Todos) e de acordo com as categorias: Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20.....	77
Figura 31: Desempenho dos atletas no teste de velocidade de deslocamento, distância de 10 m (s), em função dos genótipos do gene AGT. Os dados foram coletados antes da subdivisão em categorias (Todos) e de acordo com as categorias: Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20.....	78
Figura 32: Desempenho dos atletas no teste de velocidade de deslocamento, distância de 20 m (s), em função dos genótipos do gene AGT. Os dados foram coletados antes da subdivisão em categorias (Todos) e de acordo com as categorias: Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20.....	78

Figura 33: Desempenho dos atletas no teste de velocidade de deslocamento, distância de 30 m (s), em função dos genótipos do gene AGT. Os dados foram coletados antes da subdivisão em categorias (Todos) e de acordo com as categorias: Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20.....	79
Figura 34: Desempenho dos atletas no teste de endurance (metros). XX/II = homozigotos mutados para ACTN3 e genótipo de inserção para ECA; RR/DD = homozigotos ancestrais para ACTN3 e genótipo de inserção para ECA; Outros genótipos = todas as outras combinações possíveis de genótipos para os genes ACTN3 e ECA..	80
Figura 35: Desempenho dos atletas nos testes físicos que requerem força e explosão muscular de acordo com o escore atingido após a análise dos genótipos de todos os genes estudados. Foram adotados escore 2 para os genótipos RR (ACTN3), CC (AMPD1), DD (ECA) e TT (AGT); escore 1 para os heterozigotos para todos os genes, e escore 0 (zero) para os genótipos XX (ACTN3), TT (AMPD1), II (ECA) e MM (AGT).....	81
Figura 36: Desempenho dos atletas no teste de endurance de acordo com o escore atingido após a análise dos genótipos de todos os genes estudados. Foram adotados escore 2 para os genótipos XX (ACTN3), CC (AMPD1), II (ECA) e MM (AGT); escore 1 para os heterozigotos para todos os genes, e escore 0 (zero) para os genótipos RR (ACTN3), TT (AMPD1), DD (ECA) e TT (AGT).	82
Figura 37: Massa do Ventrículo Esquerdo (g/m^2), Diâmetro Diastólico Final (cm), Volume Diastólico Final (mL) e Fração de Ejeção do Ventrículo Esquerdo (%) de acordo com os possíveis genótipos do gene AGT.....	83
Figura 38: Pressão Arterial Sistólica (PAS, mmHg), Pressão Arterial Diastólica (PAD, mmHg), Pressão Arterial Média (PAM, mmHg), Frequência Cardíaca (FC, batimentos/min) e Oximetria – Saturação de Oxigênio (OX, %) de acordo com os possíveis genótipos do gene AGT.....	83
Figura 39: Massa do Ventrículo Esquerdo (g/m^2), Diâmetro Diastólico Final (cm), Volume Diastólico Final (mL) e Fração de Ejeção do Ventrículo Esquerdo (%) de acordo com os possíveis genótipos do gene da ECA.	84

Figura 40: Pressão Arterial Sistólica (PAS, mmHg), Pressão Arterial Diastólica (PAD, mmHg), Pressão Arterial Média (PAM, mmHg), Frequência Cardíaca (FC, batimentos/min) e Oximetria – Saturação de Oxigênio (OX, %) de acordo com os possíveis genótipos do gene da ECA.....	85
Figura 41: Massa do Ventrículo Esquerdo (g/m^2), Diâmetro Diastólico Final (cm), Volume Diastólico Final (mL) e Fração de Ejeção do Ventrículo Esquerdo (%) de acordo com as combinações dos genótipos dos gene da ECA e do AGT.....	86
Figura 42: Pressão Arterial Sistólica (PAS, mmHg), Pressão Arterial Diastólica (PAD, mmHg), Pressão Arterial Média (PAM, mmHg), Frequência Cardíaca (FC, batimentos/min) e Oximetria – Saturação de Oxigênio (OX, %) de acordo com as combinações dos genótipos dos gene da ECA e do AGT.....	86
Figura 43: Correlação entre a fração de ejeção do ventrículo esquerdo (%) e a massa do ventrículo esquerdo (g/m^2) dentre todos os atletas avaliados.....	87
Figura 44: Correlação entre a fração de ejeção do ventrículo esquerdo (%) e o desempenho no teste de endurance (m) para os atletas com o genótipo DD (genótipo de deleção para o gene ECA) e II/ID (genótipo de inserção e heterozigotos para o gene ECA).....	87

LISTA DE TABELAS

Tabela 1:	Composição de reagentes para uma reação em cadeia da polimerase (PCR) para identificação dos genótipos.....	44
Tabela 2:	Média e desvio padrão (DP) dos dados de peso (Kg), altura (m) e índice de massa corporal (IMC) dos atletas de acordo com as categorias: Sub-14 (atletas com até 14 anos), Sub-15 (atletas com até 15 anos), Sub-16 (atletas com até 16 anos), Sub-17 (atletas com até 17 anos) e Sub-20 (atletas com idade entre 18 e 20 anos).....	55
Tabela 3:	Distribuição genotípica, por idade, do gene ACTN3 dos atletas que realizaram os testes físicos.....	56
Tabela 4:	Distribuição genotípica, por idade, do gene AMPD1 dos atletas que realizaram os testes físicos.....	63
Tabela 5:	Distribuição genotípica, por idade, do gene da ECA dos atletas que realizaram os testes físicos.....	69
Tabela 6:	Distribuição genotípica, por idade, do gene AGT dos atletas que realizaram os testes físicos.....	75

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
1.1	Polimorfismo no gene Alfa Actinina 3 (ACTN3)	19
1.2	Polimorfismo no gene AMP Deaminase 1 (AMPD1).....	22
1.3	Polimorfismos no gene da Enzima Conversora de Angiotensina (ECA) e no gene do Angiotensinogênio (AGT)	25
2	HIPÓTESES	33
3	OBJETIVOS	37
4	MÉTODOS	41
4.1	Atletas	41
4.1.2	Critérios de inclusão	41
4.1.3	Critérios de exclusão	41
4.2	Coleta da saliva dos atletas.....	41
4.3	Extração de DNA a partir da saliva.....	42
4.4	Quantificação e qualificação do DNA	42
4.5	Genotipagem	43
4.6	Aferições da saturação de oxigênio, pulsação e da pressão arterial dos atletas	45
4.7	Ecocardiograma.....	46
4.8	Avaliações das capacidades físico-motoras dos atletas.....	46
4.8.1	Avaliação da força explosiva dos membros inferiores	47
4.8.2	Avaliação da velocidade de deslocamento (teste de velocidade)	49
4.8.3	Avaliação de endurance (teste do Yoyo)	50
4.9	Análises estatísticas	51

5	RESULTADOS	55
5.1	Frequência dos genótipos do gene ACTN3 e o desempenho motor dos atletas	56
5.2	Frequência dos genótipos do gene AMPD1 e o desempenho motor dos atletas	63
5.3	Frequência dos genótipos do gene da ECA e o desempenho motor dos atletas	68
5.4	Polimorfismo no gene AGT e o desempenho motor dos atletas	74
5.5	Combinações dos genótipos dos polimorfismos nos genes ACTN3, AMPD1, ECA e AGT e o desempenho dos atletas	79
5.6	Polimorfismos nos genes AGT e ECA e alguns parâmetros hemodinâmicos e cardíacos dos atletas.....	81
6	DISCUSSÃO	89
7	CONCLUSÃO	99
8	CONSIDERAÇÕES FINAIS	103
	REFERÊNCIAS	107
	ANEXOS	119

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

O desempenho esportivo é um fenômeno complexo que requer a combinação integrada de muitos fatores modificáveis ou não que culminarão em uma resposta de movimento mais efetiva. O desempenho esportivo representará uma sequência de fatores treináveis, assim como os fatores fisiológicos, psicológicos e biomecânicos, os fatores ensinados (táticos) e outros que estão fora do controle dos atletas e dos técnicos (genéticos e idade cronológica) (1). Atualmente, são muitos os trabalhos que tentam compreender os mecanismos responsáveis pelas respostas fisiológicas dos atletas, sugerindo a herança genética como um importante preditivo para o potencial atlético. Neste sentido, os autores atestam que as características antropométricas, cardiovasculares, composição de fibras musculares, capacidade de adaptação ao treinamento, captação máxima de oxigênio ($VO_2 \text{ max}$), utilização de substratos energéticos, equilíbrio eletrolítico e hormonal são diretamente influenciados pela herança genética dos indivíduos (2-5).

A genética e o ambiente (que envolve o descanso, a dieta e as oportunidades) bem como a interação entre ambos têm impacto importante sobre as variáveis fisiológicas e, conseqüentemente, no desempenho físico de cada indivíduo, já que diferenças no genótipo e no treinamento contribuem para as diferenças observadas em relação ao sucesso esportivo. Também se observa a existência de indivíduos que se adaptam bem ao estímulo do exercício e ao treinamento (indivíduos responsivos) e aqueles que não se adaptam ao exercício ou a um tipo específico de treinamento (não- responsivos) ou ainda aqueles que mesmo treinando melhoram pouco seu condicionamento físico (indivíduos pouco responsivos) (6). Os mecanismos responsáveis por estas diferentes respostas podem estar diretamente relacionados aos genótipos dos atletas, assim como as respostas autonômicas e regulação da pressão arterial e frequência cardíaca. Além disso, diferentes níveis de responsividade ao treinamento podem ser explicados pela presença de algumas patologias, como por exemplo, as cardiopatias e doenças respiratórias (7).

O genótipo representa toda combinação dos genes herdados pelo organismo que afetam o fenótipo, que, por sua vez, é a manifestação das características

anatômicas, bioquímicas, fisiológicas e comportamentais de um indivíduo. Exceto para gêmeos idênticos, monozigóticos, as pessoas variam em como seus genótipos são expressos em várias características como, por exemplo, força, peso corporal e pressão sanguínea e ainda na maneira destas características responderem ao treinamento, a uma dieta de baixa caloria, à medicação ou a outros fatores do ambiente (8).

Bouchard et al. (1992) e Rice et al. (1997) demonstraram que a herança genética tem impacto sobre altura, envergadura, estrutura muscular (tamanho dos músculos, tipo de fibras musculares), tamanho do coração, tamanho e volume dos pulmões, frequência cardíaca de repouso, força muscular, flexibilidade, capacidade aeróbia, pressão arterial, fluxo aéreo pulmonar, velocidade, potência anaeróbias, perímetro da cintura, atividades das enzimas musculares utilizadas na produção de energia, tempo de reação e precisão dos movimentos e ainda densidade de mitocôndrias. Estes autores ainda afirmam que cada variável fisiológica pode ter mais ou menos influência da herança genética e que quanto mais alto é o impacto da genética sobre uma determinada característica, menos treinável será esta característica (6, 9).

Polimorfismo genético é definido como alterações na sequência do DNA que modificam a função ou a expressão de uma proteína, ocorrendo na população com frequência igual ou superior a 1% (10). O estudo dos polimorfismos ganhou destaque na ciência do esporte, pois pesquisas científicas que relacionam polimorfismos de genes específicos com o desempenho esportivo de atletas têm sido desenvolvidas com grande êxito (1, 11-19).

Em relação ao desempenho atlético, tem sido demonstrado que os fatores genéticos podem determinar de 20 a 80 % as diversas variações encontradas (2). Nesse sentido, o uso de tecnologias avançadas e específicas favoreceu a compreensão das diferenças observadas no desempenho. Assim, alguns trabalhos foram realizados com o intuito de correlacionar alguns polimorfismos genéticos com o desempenho (1, 4, 16, 20-22). No entanto, os mecanismos envolvidos nestas respostas ainda não são totalmente conhecidos. Além disso, a maior parte dos trabalhos existentes na literatura correlaciona a frequência de determinados polimorfismos genéticos com diferentes modalidades esportivas individuais, tais

como o atletismo, natação e ciclismo (11, 20, 23-27) e poucos são os trabalhos que correlacionam polimorfismos genéticos com o desempenho dos atletas de modalidades esportivas coletivas (18, 19, 28).

Esportes coletivos são mais complexos no que se diz respeito ao estabelecimento dessas correlações, pois são vários os fatores que podem influenciar o desempenho do atleta perante sua equipe. Com relação ao futebol, especificamente, há trabalhos relatando a influência direta de polimorfismo genético no desempenho de jogadores (19, 29).

Dentre os esportes coletivos, o futebol pode ser utilizado para ilustrar sua complexidade. Os jogadores durante uma partida de futebol percorrem de 8 a 12 km (30, 31), sendo a maior parte desse percurso marcado por caminhadas ou leves trotes, o que requisita uma boa resistência aeróbia. Além disso, cerca de 20% dessa distância percorrida é caracterizada por corridas máximas ou próximas da máxima durante as fases decisivas da partida. Ainda durante uma partida de futebol, os jogadores saltam, chutam, disputam a bola corpo a corpo tanto no ataque como na defesa, ou seja, executam ações curtas e de alta intensidade, o que os obriga a terem força e velocidade (32). É importante ressaltar que estas capacidades serão mais ou menos requisitadas dependendo da situação do jogo, sendo que se sobressairá aquele atleta que apresentar as qualidades físicas necessárias. Os mecanismos responsáveis por esta eficiência têm sido alvo dos pesquisadores e fisiologistas dos grandes clubes e tem sido sugerido que os polimorfismos genéticos possuem grande contribuição.

1.1 Polimorfismo no gene Alfa Actinina 3 (ACTN3)

Um dos polimorfismos genéticos mais estudados e correlacionados com o desempenho é o polimorfismo do gene que codifica a produção da proteína alfa actinina 3 (ACTN3). A ACTN3 é um componente da linha Z sarcomérica (33), pertencente à família das proteínas ligantes da actina, importante no ancoramento dos miofilamentos de actina e manutenção do arranjo miofibrilar (14). Quatro genes para a ACTN3 foram descritos em humanos (ACTN1, 2, 3 e 4), sendo as isoformas 2

e 3 constituintes do citoesqueleto muscular (34). Sabe-se ainda que a isoforma ACTN3 é específica das fibras de contração rápida (tipo II) responsáveis pela geração de força contrátil em alta velocidade (5).

North e colaboradores (1999) identificaram a troca de um nucleotídeo (C → T) na posição 1.747 do éxon 16 no gene ACTN3, isto é, uma mutação resultante na conversão do aminoácido arginina em um *stop codon* prematuro no resíduo 577 (R577X) (35). Tem sido demonstrado que indivíduos homozigotos polimórficos (representados pela nomenclatura XX) não expressam a ACTN3 (36). Curiosamente, a deficiência da ACTN3 não resulta em um fenótipo patológico como distrofia muscular ou miopatias (35), sugerindo que a isoforma ACTN2 (81% de homologia na sequência de aminoácidos) poderia compensar a ausência da ACTN3 (36). Yang e colaboradores (2003) demonstraram haver associação entre os diferentes genótipos da ACTN3 e o desempenho em atletas de elite de atletismo. Se a ACTN3 desempenha importante função nas fibras musculares do tipo II (5), seria razoável prever diferenças na função muscular esquelética entre indivíduos com diferentes genótipos para ACTN3. É possível que indivíduos que expressam o gene ACTN3 (genótipos RR para homozigotos ancestrais ou RX para heterozigotos) possam apresentar vantagem em modalidades que exijam explosão e força muscular quando comparados com indivíduos com genótipo XX (33).

Para testar tal hipótese, Yang e colaboradores (2003) compararam os genótipos e a frequência dos alelos de 107 atletas de elite velocistas/força (72 homens e 35 mulheres), 194 atletas de elite de provas de resistência (122 homens e 72 mulheres) e 436 indivíduos saudáveis não atletas, todos genotipados para o gene ACTN3. Esses autores verificaram uma diferença significativa na frequência dos alelos entre os atletas velocistas/força e os indivíduos controles, tanto para o sexo masculino quanto para o feminino. Esses atletas, quando analisados no total (72 masculinos + 35 femininos = 107) apresentaram menor frequência do genótipo XX comparados aos indivíduos controles (6% vs 18%, respectivamente). Das 35 atletas velocistas/força, nenhuma apresentou genótipo XX. Além disso, apresentaram maior frequência do genótipo RR e menor frequência do genótipo RX (50 % e 45 %, respectivamente), quando comparados com grupo controle (39 % e 52 %, respectivamente). O que chamou a atenção foi a comparação entre atletas

velocistas/força e atletas de endurance, que mostraram frequência dos alelos em direções opostas, sendo os valores significativamente diferentes para ambos os sexos. A frequência do genótipo XX no sexo masculino foi de 20 % para atletas de endurance e 8 % para atletas de velocistas/força; no sexo feminino 29 % para atletas de resistência e 0 % para atletas velocistas/força. A frequência do genótipo RR no sexo masculino foi de 28 % para atletas de endurance e 53 % para atletas velocistas/força; no sexo feminino 36 % para atletas de resistência e 43 % para atletas de velocistas/força. O aparente benefício da presença do alelo R em atletas velocistas/força é consistente com a localização da ACTN3 em fibras da musculatura esquelética de rápida contração. Por outro lado, há pesquisadores que sugerem que a ausência da expressão do gene ACTN3 (genótipo XX) estaria relacionada à melhor desempenho em provas de endurance (33), isto devido ao fato de estudos em camundongos nocauteados para ACTN3 apresentarem provas de que a atividade mitocondrial encontra-se aumentada (37). No entanto, os mesmos autores alertam para o fato de que estudos de associação em genética apresentam limitações e que a interpretação da associação de um único gene com um determinado fenótipo deve ser cautelosa.

Moran *et al.* (2007) fizeram um grande estudo com 992 adolescentes (525 meninos e 467 meninas) correlacionando a presença ou não do polimorfismo do gene da ACTN3 com o desempenho na corrida em velocidade máxima de 40 m e salto vertical. Foi observado nesse estudo que somente os meninos com o genótipo RX ou RR foram mais rápidos no teste velocidade quando comparados aos indivíduos XX como esperado (38). Por outro lado, no trabalho de Santiago e colaboradores (2010) nenhuma correlação foi encontrada entre o polimorfismo do gene da ACTN3 e o desempenho de 217 jovens não atletas em saltos verticais e corridas máximas. Outro estudo mostra ainda que os diferentes genótipos para o polimorfismo da ACTN3 não influenciam no desempenho durante o teste de Wingate em sujeitos não atletas (39).

Vincent e colaboradores (2007) sugeriram em seu estudo que a integridade do gene da ACTN3, ou seja, sujeitos homocigotos ancestrais apresentam uma maior proteção ao músculo após contrações excêntricas quando comparados aos sujeitos XX. Esses autores verificaram uma tendência a uma maior atividade da creatina

quinase plasmática, maiores escores de dor e menor expressão de proteínas do metabolismo hipertrófico do músculo nos indivíduos XX quando comparados aos RR.

Poucos são os trabalhos que associaram os diferentes genótipos relacionados ao polimorfismo do gene da ACTN3 com jogadores de futebol (19, 29, 40). Santiago *et al.* (2008) mostraram que jogadores das 1^a e 2^a divisões do futebol espanhol apresentaram o seguinte genótipo: aproximadamente 50% dos atletas são RR, 40% são RX e 10% são XX. Esse quadro evidencia certa seleção natural aos sujeitos com o genótipo selvagem o que, em hipótese alguma, descarta a possibilidade de um jogador com genótipo polimórfico tenha sucesso como jogador de futebol. Vale lembrar que nesse estudo foi feita somente a distribuição da frequência genotípica do gene ACTN3, ou seja, não foi feita a associação dos diferentes genótipos da ACTN3 com desempenho dos jogadores de futebol.

Já no trabalho de Pimenta *et al.* (2013) foi demonstrado que jogadores de futebol brasileiros, que possuem o alelo R, apresentaram melhores rendimentos em testes de saltos e teste de velocidade quando comparados àqueles com genótipo XX. Neste mesmo estudo pôde-se observar ainda que jogadores com o genótipo XX apresentaram melhores rendimentos no teste de resistência aeróbia quando comparados aos atletas com genótipo RR.

1.2 Polimorfismo no gene AMP Deaminase 1 (AMPD1)

Outro polimorfismo muito investigado é o do gene da AMP Deaminase (AMPD1). Durante contrações musculares intensas e de curta duração, a súbita demanda de ATP excede a capacidade de resíntese da célula. Esta depleção do ATP pode atingir valores de aproximadamente 40% do normal (41, 42). O conseqüente aumento do ADP (queda na razão ATP/ADP) em atividade contrátil intensa é um fator inibidor do processo contrátil (43) e componente característico da fadiga muscular (44), entretanto, este processo é antagonizado por vias bioquímicas, mediadas por enzimas com atividade quinase e deaminase, na tentativa de manter as necessidades energéticas da célula. Neste sentido, a reação catalisada pela AMP

deaminase ($\text{AMP} \rightarrow \text{IMP} + \text{NH}_3$) minimiza indiretamente o acúmulo de ADP por remover o AMP e deslocar o equilíbrio da reação da adenilato quinase ($2\text{ADP} \rightarrow \text{ATP} + \text{AMP}$) (45). Essa reação catalisada pela AMP deaminase e ativada durante a atividade metabólica intensa no músculo esquelético é mediada pela isoforma M (mioadenilato deaminase) codificada pelo gene AMPD1, localizado no cromossomo 1 p13-p21 (46). Esta isoforma corresponde a mais de 95% do total de AMPD (47) e está presente principalmente em fibras musculares do tipo II (48). Uma mutação do tipo *nonsense*, transição do nucleotídeo C \rightarrow T na posição 34 do éxon 2 do gene AMPD1 (C34T), converte o códon CAA (glutamina) em um *stop codon* (TAA), resultando na interrupção prematura da síntese da proteína (43). Em consequência, indivíduos que apresentam a sequência polipeptídica mutante, homocigoto TT ou heterocigoto CT, apresentam, respectivamente, menor e intermediária atividade enzimática da mioadenilato deaminase, quando comparados com os indivíduos homocigotos CC (49).

Segundo alguns estudos (47, 50), parte da população que expressa o gene mutante (2% da população caucasiana é homocigota e aproximadamente 20% é heterocigota) é suscetível a sintomas de câimbras musculares, dores e fadiga prematura durante exercícios. De maneira geral, o motivo para a reduzida capacidade ao exercício em conexão com a deficiência de mioadenilato deaminase estaria fundamentada no acentuado acúmulo de ADP e AMP durante o exercício (45). Esta hipótese foi testada por alguns pesquisadores que utilizaram um teste com exercícios de curta duração e alta intensidade (Wingate) em 18 indivíduos não atletas com os diferentes genótipos para AMPD1. O teste de Wingate, teste de potência anaeróbia com duração de 30 s, induz expressiva ativação da AMP deaminase (51, 52). Nestes trabalhos não se verificou a diferença no pico de potência e na média da potência gerada durante os 30 s de teste entre os diferentes genótipos. Apesar da distribuição dos tipos de fibra entre os genótipos CC (wild-type), CT e TT (mutante) ser semelhante (51%, 48% e 62% de fibras do tipo II, respectivamente), foi verificada pronunciada diferença na atividade da enzima mioadenilato deaminase, com valores variando de 1.010 - 2.169 mmol/kg tecido seco/min para CC, 337-632 mmol/kg tecido seco/min para CT e 4-14mmol/kg tecido seco/min para TT. Homocigotos TT têm atividade da mioadenilato deaminase inferior a 1% da atividade enzimática encontrada nos indivíduos *wild-type* (45).

Na busca de associação entre o polimorfismo C34T da AMPD1 e fenótipos cardiorrespiratórios e de desempenho, indivíduos sedentários foram submetidos a um programa de treinamento físico aeróbio por 20 semanas. Neste estudo foi verificado que antes do início do treinamento, os indivíduos com genótipo TT apresentaram maiores valores de percepção de esforço (escala de Borg) comparados aos indivíduos dos genótipos CT e CC. Além disso, a carga absoluta de 50 W representava intensidade relativa de exercício 7 % superior nos indivíduos TT comparados aos indivíduos CT e CC. Após o período de treinamento, os valores de ventilação minuto máxima, VO_2 max e VCO_2 max eram menores nos indivíduos TT. Estes autores (53) sugeriram ainda que indivíduos sedentários e homozigotos TT apresentem capacidade reduzida ao exercício, além de menor adaptação ventilatória em resposta ao treinamento.

Um estudo feito com atletas poloneses que desempenham atividades que demandam força, tais como corredores e nadadores de curtas distâncias e levantadores de peso, revelou que estes não apresentaram o genótipo TT, ao passo que este genótipo foi identificado no grupo controle (54). Neste mesmo trabalho observou-se que 89 % dos atletas possuíam o genótipo CC e 10 % o genótipo CT, em contraste com 75 % e 23 %, respectivamente, no grupo controle. Estes dados nos levam a considerar a possibilidade da influência positiva do genótipo CC para atletas que desempenham provas que requeiram força.

Foi relatado por Rubio e colaboradores (2005) que 4,8 % dos atletas da elite espanhola em provas de endurance (ciclistas e corredores) possuem alelo T, enquanto que em indivíduos saudáveis não atletas a frequência foi de 8,5 % (~50 % superior). Entre os atletas, não foi verificada diferença no VO_2 max, limiar ventilatório e ponto de compensação respiratória entre os diferentes genótipos, sugerindo que estas variáveis fisiológicas não são influenciadas por este polimorfismo. Entretanto, pacientes com doença coronariana, portadores do genótipo TT ou CT e submetidos a treinamento aeróbio por três meses apresentaram menor ganho no VO_2 max quando comparados àqueles com genótipo CC (55).

Juffer e colaboradores (2009) verificaram a frequência dos diferentes genótipos do gene AMPD1 entre jogadores de futebol, corredores e não atletas. A distribuição do genótipo CT foi significativamente menor nos corredores quando

comparado aos jogadores de futebol e aos não atletas. Mais uma vez estes autores não associaram os diferentes genótipos ao desempenho dos atletas. Até o presente momento, não há relatos na literatura da associação entre os diferentes genótipos do gene da AMPD1 ao desempenho de jogadores de futebol. Baseado nos fatos supracitados é possível que se encontre menor desempenho nos atletas polimórficos para o teste de endurance e/ou velocidade.

1.3 Polimorfismos no gene da Enzima Conversora de Angiotensina (ECA) e no gene do Angiotensinogênio (AGT)

O sistema renina-angiotensina (SRA) é um complexo sistema endócrino, parácrino e autócrino, que tem o papel no controle da manutenção da homeostasia tanto cardiovascular como renal (56). Definido como sistema endócrino, tem a cascata bioquímica iniciada com a liberação da renina pelas células justaglomerulares renais e outros tecidos após queda do fluxo sanguíneo renal. A renina tem especificidade pelo seu substrato, o AGT, sintetizado principalmente no fígado, mas também sintetizado por diversos tecidos. Uma vez secretado, o substrato é clivado pela renina na circulação, ou localmente em tecidos distintos, formando o decapeptídeo angiotensina (Ang) I. Posteriormente, sob ação da ECA, a Ang I é convertida ao octapeptídeo Ang II, substância ativa responsável pelos principais efeitos fisiológicos associados ao SRA, atuando diretamente nos receptores AT1, AT2 e AT4 (57). Apesar da Ang II gerada por meio do SRA ter sido considerada classicamente um hormônio, outras evidências indicam a síntese dos componentes do SRA em células individuais ou tecidos, sugerindo que a ação da Ang II também pode ser autócrina ou intrácrina (58).

Na literatura, os polimorfismos dos genes da ECA e do AGT ganharam destaque nos estudos de associação entre genética e rendimento nos esportes individuais, tais como atletismo e natação, há pelo menos dez anos. O gene da ECA está presente no décimo sétimo par de cromossomos do genoma humano e o polimorfismo nesse gene encontra-se no íntron 16, caracterizado pela presença (inserção, alelo I) ou ausência (deleção, alelo D) de 287 pares de bases na sequência do DNA humano. O polimorfismo de inserção (II) está associado à baixa

produção de ECA tanto sistêmica como local, o que leva à diminuição da atividade do SRA (59). Assim, o polimorfismo ID está relacionado à moderada produção de ECA. Já o polimorfismo de deleção (DD) está associado ao grande aumento da síntese de ECA circulante e local (60, 61), o que confere maior ativação do SRA.

Estudos na literatura têm demonstrado relação entre o polimorfismo do gene da ECA e o rendimento esportivo em diferentes modalidades esportivas individuais (11, 23, 25, 59, 62).

Alguns estudos relacionando o polimorfismo do gene da ECA com o desempenho esportivo identificaram o alelo I como um fator genético de predisposição para o melhor rendimento em provas aeróbias. Gayagay e colaboradores (1998) demonstraram que remadores da seleção australiana convocada para os jogos olímpicos de Atlanta apresentavam, em sua maioria, genótipo II quando comparados aos indivíduos sedentários ou normalmente ativos. Foi observada também maior prevalência do alelo I em atletas de provas de média duração com variação entre 12 e 15 min (63). Já Myerson *et al.* (1999) e Woods *et al.* (2000) encontraram em corredores de elite relação direta entre aumento da frequência do alelo I e aumento das distâncias percorridas em suas respectivas provas.

Por outro lado, maratonistas japoneses com genótipo DD, especialistas em provas de 5.000 m, obtiveram melhores resultados quando comparados àqueles com genótipo II (64). Além disso, há um relato na literatura de que o genótipo DD, em relação ao ID e II, é mais expresso em nadadores caucasianos de curtas distâncias. Por outro lado, esta situação se inverte quando nadadores asiáticos foram estudados, ou seja, o genótipo II foi mais expresso nos nadadores de curtas distâncias (65). Estes fatos podem estar sinalizando para possíveis diferenças entre as influências dos polimorfismos entre diferentes raças humanas.

A associação do alelo I com a melhora do desempenho em provas aeróbias pode ser resultado de alterações, tais como aumento da oferta de substratos energéticos, da capilarização e densidade capilar nas fibras musculares, do estoque de ácido graxo intramuscular, da eficiência da utilização dos substratos pela fibra muscular, da densidade mitocondrial e mudança do tipo de fibra muscular, não

apresentando relação direta com a melhora do VO_2 pico (66).

Zhang e colaboradores (2003) estudaram a relação entre a proporção das fibras musculares de atletas e o polimorfismo da ECA na musculatura esquelética e demonstraram que indivíduos II apresentaram porcentagem significativamente maior para fibras do tipo I em relação aos indivíduos DD. No entanto, esse estudo não concluiu claramente sobre a participação do polimorfismo da ECA na diferenciação dos tipos de fibras musculares, ou seja, não se sabe se o genótipo II da ECA acarreta predisposição genética para a otimização da expressão de fibras musculares de contração lenta ou se o treinamento físico é o agente regulador da expressão desse tipo de fibra em indivíduos que apresentam o genótipo II.

Com relação ao alelo D, estudos demonstraram a associação positiva entre este e os níveis sistêmicos elevados da ECA (61). Além disso, há relatos de associação positiva entre o genótipo DD e rendimento em provas de força e velocidade (25, 63). Em indivíduos não atletas observou-se aumento significativo da força isométrica naqueles com o genótipo DD após nove semanas de treinamento de força quando comparados aos indivíduos II (67). Uma possível explicação para estas associações positivas seria a importância da Ang II no redirecionamento do fluxo sanguíneo para as fibras glicolíticas de contrações rápidas, as quais se encontram em maiores quantidades nos atletas que desempenham provas que requerem força muscular (68).

Um estudo pioneiro, que correlacionou a atividade plasmática da ECA com o desempenho de triatletas africanos, mostrou que os atletas que completaram a prova mais rapidamente apresentaram tendência a terem menor atividade desta enzima, ou seja, atletas com genótipo II (69). Como o triatlão requisita muita resistência por parte dos atletas, era de se esperar que o genótipo II de fato conferisse algum tipo de vantagem aos atletas durante a prova.

Além da aparente vantagem que o genótipo DD confere aos atletas que desempenham provas de força, este genótipo pode ainda promover proteção ao músculo esquelético após contrações excêntricas (70). Estes autores demonstraram que a atividade da creatina quinase, importante marcador de danos musculares, é duas vezes maior em indivíduos com o genótipo II quando comparados aqueles com

o genótipo DD após contrações musculares excêntricas.

Juffer *et al.* (2009) mostraram a distribuição genotípica do gene da ECA em jogadores de futebol e relataram menor e significativa frequência do alelo I nos jogadores de futebol, quando comparados aos corredores. Importante ressaltar que neste trabalho não houve qualquer associação entre os diferentes genótipos do gene da ECA com o desempenho de jogadores de futebol. Entretanto, há recentes estudos que mostraram que jogadores de futebol que possuem o genótipo ID apresentam melhores resultados em testes de saltos tais como *Squat* e *Counter Movement Jump* comparados aos jogadores com genótipo II (71).

Outro componente do SRA descrito como possível contribuinte para o desempenho de atletas é o gene que codifica a produção da proteína AGT. O polimorfismo do gene do AGT consiste na substituição do aminoácido metionina (M) para treonina (T) no códon 235. Dessa forma, os indivíduos podem ser classificados em homocigotos (MM e TT) ou heterocigotos (MT) para o polimorfismo M235T do AGT (72).

Até o momento não foram publicados trabalhos associando o polimorfismo M235T aos jogadores de futebol e poucos são os trabalhos na literatura associando este polimorfismo com o desempenho de atletas. Um estudo com atletas espanhóis (16) e outro com atletas poloneses (73), os quais desempenham provas que requerem força, mostraram que o genótipo TT para este polimorfismo encontra-se com maior frequência nestes atletas em comparação ao grupo controle e atletas de resistência, sugerindo que o referido genótipo TT pode beneficiar atletas que necessitem de força para suas atividades. Vale destacar que nestes estudos não foram feitas associações entre os genótipos e o desempenho dos atletas.

Tem sido relatado que o genótipo TT pode promover hipertrofia do ventrículo esquerdo em atletas (12, 74). A expectativa é que este polimorfismo possa favorecer a hipertrofia fisiológica e excêntrica do ventrículo esquerdo em resposta ao treinamento físico aeróbio, promovendo melhora do rendimento de atletas de endurance pela maior oferta de oxigênio resultante do maior débito cardíaco, embora nada ainda tenha sido provado.

Em animais de experimentação, a maior concentração de AGT também foi

associada ao desenvolvimento de hipertrofia cardíaca, com a utilização de um modelo de camundongos transgênicos normotensos que superexpressam AGT nos cardiomiócitos (75). Por outro lado, Diet *et.al.*, (2001), por meio da análise dos polimorfismos ID da ECA em humanos, M235T do AGT e A1166C do gene do receptor de angiotensina do tipo 1 (AT1), demonstraram que o grau de hipertrofia cardíaca promovida pelo treinamento físico aeróbio estava associado apenas à presença combinada dos polimorfismos DD da ECA e TT do AGT, o que não foi constatado quando os polimorfismos foram avaliados individualmente.

Com base nos dados da literatura, o polimorfismo do AGT pode ser um importante componente modulador da hipertrofia cardíaca induzida pelo treinamento físico aeróbio. Cabe ressaltar que a associação de diferentes polimorfismos, como, por exemplo, os polimorfismos do gene da ECA e o polimorfismo TT do gene AGT, resultam na melhora das respostas cardiovasculares de atletas de provas aeróbias, demonstrando que muito provavelmente o desempenho esportivo está relacionado a fatores multigênicos (13).

Como demonstrado até o momento, são poucos os trabalhos que evidenciam as correlações ou associações existentes entre os diversos polimorfismos genéticos e o desempenho de atletas de um modo geral. O que temos são, na maioria das vezes, correlações entre as frequências dos diferentes genótipos de determinados genes, com algumas modalidades esportivas. No caso em específico do futebol, só encontramos estudos desse tipo com atletas profissionais, sendo que nosso objetivo é avaliar a influência dos polimorfismos em jogadores de futebol em processo de formação, pois a tentativa será incrementar as ferramentas utilizadas neste importante e ainda obscuro processo.

A preparação física de atletas de modo geral já esgotou quase todas as estratégias existentes na busca da excelência. Cada ferramenta nova que surge nesse âmbito pode, por exemplo, tornar um atleta ou uma equipe campeã. A tecnologia atual nos permite avançar a territórios antes intocáveis, como a exploração das informações genéticas. Vale destacar que o objetivo deste trabalho não foi, em hipótese alguma, alimentar a idéia de promover seleção de atletas com base nas informações genéticas, mas sim, como dito anteriormente, suprir as comissões técnicas com novas informações visando à excelência no processo de

formação dos jogadores de futebol.

Tendo em vista esse panorama, faz-se jus a realização de um trabalho que contemple essa lacuna ainda existente nesse universo fisiológico e genético relacionado ao desempenho humano, no intuito de munir os preparadores físicos, visando sempre à criação de estratégias extras e eficazes na preparação física dos jogadores de futebol.

2 HIPÓTESES

2 HIPÓTESES

- 1) Os genótipos RR e RX do gene ACTN3, CC do gene AMPD1, o DD do gene da ECA e TT do gene do AGT, tanto individualmente quanto combinados, podem favorecer positivamente os jogadores de futebol em processo de formação em atividades que requeiram força e explosão muscular. Logo, esperam-se melhores desempenhos destes atletas nos testes de saltos e velocidade,
 - 2) Os genótipo XX do gene ACTN3 e II do gene da ECA, tanto individualmente quanto combinados, podem favorecer os atletas em atividades de endurance.
 - 3) O genótipo DD para ECA e/ou TT para AGT podem acarretar em um aumento da massa ventricular esquerda dos atletas. Além disso, estes genótipos podem influenciar outros parâmetros cardíacos (fração de ejeção, por exemplo). Logo, a expectativa é de que atletas com maior massa ventricular e fração de ejeção tenham mais sucesso nos testes de endurance.
-

3 OBJETIVOS

3 OBJETIVOS

- 1) Avaliar se os diferentes genótipos, agrupados ou não, dos polimorfismos dos genes ACTN3, AMPD1, ECA e AGT têm influência sobre o desempenho nos testes de saltos, velocidade e endurance em jogadores de futebol em processo de formação profissional.

- 2) Avaliar a influência dos polimorfismos nos genes da ECA e AGT nos seguintes parâmetros: pressão arterial, frequência cardíaca, saturação de oxigênio (oximetria), tamanho do ventrículo esquerdo, massa do ventrículo esquerdo, volume diastólico final e fração de ejeção do ventrículo esquerdo, e em seguida checar a associação entre estes parâmetros cardíacos e o desempenho dos atletas.

4 MÉTODOS

4 MÉTODOS

4.1 Atletas

Os 220 (duzentos e vinte) atletas participantes desta pesquisa são brasileiros das categorias de base de futebol do São Paulo Futebol Clube. Esses atletas possuíam entre 14 e 20 anos de idade e residiam no complexo esportivo do clube.

Todos os participantes da pesquisa, ou seus responsáveis, leram e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido elaborado conforme regulamento do Sistema Único de Saúde – REGSUS 2048-09. O processo metodológico foi submetido, analisado e aprovado pelo Comitê de Ética da Faculdade de Ciências da UNESP, Bauru (Processo nº 7181/46/01/11) (ANEXO 1).

4.1.2 Critérios de inclusão

Foram incluídos no estudo todos os atletas que residiam e treinavam no complexo esportivo do São Paulo Futebol Clube há pelo menos um ano. Neste ambiente os atletas receberam alimentação controlada e padronizada, acompanhamento médico, nutricional, odontológico, fisioterápico e psicológico, além de um programa de treinamento controlado e sistematizado de acordo com as faixas etárias.

4.1.3 Critérios de exclusão

Foram excluídos do estudo os atletas lesionados e com qualquer desordem metabólica ou de outra natureza diagnosticadas pelo médico do clube.

4.2 Coleta da saliva dos atletas

A saliva dos atletas foi coletada antes do café da manhã em tubos próprios (Oragene OG-500, DNA Genotek, Canadá) devidamente identificados. Os atletas

foram orientados a expectorar a saliva de forma natural, sem estimulação, até a marca de 1 mL estabelecida no frasco. Nestes tubos há uma solução conservante que permite o transporte da saliva em temperatura ambiente sem que haja prejuízos. Após o transporte, as salivas foram mantidas em geladeira (4 °C) até o momento da extração do DNA. Vale ressaltar que as amostras de saliva foram coletadas na sede do clube sob supervisão do funcionário responsável pelos atletas.

4.3 Extração de DNA a partir da saliva

Toda a parte laboratorial do projeto foi realizada no Laboratório de Farmacologia da Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo sob a supervisão do Prof. Dr. Carlos Ferreira dos Santos, co-orientador deste trabalho.

Para a extração de DNA a partir da saliva foi utilizado o QIAamp DNA Mini Kit (número de catálogo 51104, Qiagen®, Alemanha) conforme orientações do fabricante. Descrevendo brevemente, 200 µL da saliva misturada à solução estabilizante foram colocadas em contato com a solução de lise celular do kit, o que provocou a lise da membrana celular e nuclear, expondo o material genético. Em seguida, essa solução foi colocada na coluna de sílica do kit, a qual reteve o DNA e permitiu a passagem dos restos celulares. Após lavagens com as soluções do próprio kit, houve a eluição desse DNA com água ultra-pura em um novo tubo que foi armazenado a -20 °C.

4.4 Quantificação e qualificação do DNA

Essa etapa teve por objetivo quantificar e verificar a qualidade do DNA extraído. Foi utilizado um espectrofotômetro (Nanodrop 1000, Thermo Scientific®, Estados Unidos), que fornece os dados de absorbância em 230, 260 e 280 nm após o carregamento de 2 µL de amostra sem diluição. Este aparelho emite luz nos comprimentos de onda citados, e ao mesmo tempo detecta quanto dessa luz foi

absorvida pela amostra. No caso do DNA, há a absorção da luz no comprimento de 260 nm e o cálculo utilizado para a quantificação desse DNA foi:

[DNA] = Absorbância em 260 nm x fator de diluição x 50 (constante para o DNA).

De posse desses dados, o mesmo aparelho indicou a quantidade e a qualidade do DNA, o qual foi usado no estudo. A qualidade é expressa de acordo com a razão entre a absorbância em 260 nm e 280 nm (A260/A280) a qual deve estar entre 1,8 e 2,1.

4.5 Genotipagem

Para a discriminação dos diferentes genótipos dos genes em estudo, foi utilizado o sistema *Taqman*[®] em termociclador (Viia 7, Applied Biosystems[®], Estados Unidos) para a realização da reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real. Este aparelho foi obtido pelo co-orientador desta tese por meio de chamada “Equipamentos Multiusuários” da FAPESP (2009/53848-1).

Para a discriminação dos genótipos dos genes da ACTN3 (rs1815739) e do AGT (rs699) foram utilizados ensaios produzidos e validados pela empresa Applied Biosystems[®], com os seguintes números de catálogos respectivamente: C_590093_1 e C_1985481_20. Para a discriminação alélica do gene AMPD1 (rs17602729) foram utilizados os seguintes oligos: *Forward Primer* AGCAGTGATTAATAGCCACCATGA e *Reverse Primer* GATACTCTGACAAATGGCAGCAA na concentração de 0,4 µM, sonda com a sequência ancestral marcada com o fluoróforo FAM TGCAATACTCACGTTTCTCTTCAG e sonda com a sequência mutada marcada com o fluoróforo VIC AATGCAATACTCACATTTCTCTTCAG, ambas na concentração de 100 nM.

Esses ensaios consistem na presença de quatro oligonucleotídeos, sendo eles: o chamado primer *Forward*, que vai da posição 5' para a posição 3' do DNA, o

chamado primer *Reverse*, que vai da posição 3' para a posição 5' do DNA, e as Sondas, que também vão da posição 5' para a posição 3' do DNA.

Os primers *Forward* e *Reverse* flanqueiam a região do DNA que possui o polimorfismo e será amplificada por meio da técnica de PCR. As sondas anelarão exatamente na região do polimorfismo. A diferença é que uma delas possui as sequências de bases corretas e é marcada com o fluoróforo FAM. A outra sonda, marcada com o fluoróforo VIC, possui praticamente as mesmas sequências de bases, exceto uma que caracteriza o polimorfismo. Sendo assim, após o término do experimento pudemos ter a amplificação somente de fragmentos de DNA marcados com a sonda FAM, o que assinalou que o sujeito era homozigoto ancestral para o determinado gene. Tivemos também a amplificação de fragmentos de DNA somente marcados com a sonda VIC, o que caracterizou o sujeito como homozigoto polimórfico e por fim houve a possibilidade da amplificação de fragmentos de DNA de ambas as sondas, o que indicou sujeito heterozigoto.

Para a realização das reações de discriminação dos genótipos dos genes em estudo, além dos ensaios supracitados, foram utilizadas as amostras de DNA devidamente quantificadas e qualificadas e um reagente denominado *TaqMan® Genotyping Master Mix* (número de catálogo 4381656, Applied Biosystems®), o qual contém todos os reagentes necessários para a reação, dentre eles: Taq polimerase, cloreto de magnésio e bases nitrogenadas. Na Tabela 1 é possível observar a composição da mistura de reagentes necessária para as reações de discriminação alélica. Vale destacar que todos os ensaios foram feitos em duplicata.

Tabela 1: Composição de reagentes para uma reação em cadeia da polimerase (PCR) para identificação dos genótipos.

Reagentes	Quantidade em μL para uma reação
Amostra de DNA (10 ng/ μL)	2 μL
TaqMan® Genotyping Master Mix	5 μL
Primers (8 μM) + Sondas (2 μM)	0,5 μL
Água ultra pura	2,5 μL
Volume final	10 μL

Após a confecção dos ensaios na placa de 384 poços (número de catálogo 4343370, Applied Biosystems®), essa mesma placa foi colocada no termociclador supracitado e as seguintes condições de ciclagem foram utilizadas para a realização da PCR: temperatura inicial de 95 °C por 10 min para a ativação da Taq polimerase seguido de 45 ciclos de 95 °C por 15 s e 60 °C por 1 min.

Para a discriminação alélica para o gene da ECA (rs1799752), duas reações de PCR foram realizadas. Na primeira foram utilizados os oligos *Forward* GCCCTGCAGGTGTCTGCAGCATGT e *Reverse* GGATGGCTCTCCCCGCCTTGTCTC na concentração final de 0,8 µM, 0,35 U de Taq Polimerase (Invitrogen, Estados Unidos da América), 1,3 mM de cloreto de magnésio, 0,2 mM de dNTPs e 50 ng de amostra na seguinte condição de ciclagem térmica: 94 °C por minutos e em seguida 40 ciclos de 94 °C por 30 s, 56 °C por 55 s e 72 °C por 2 min com uma extensão final de 72 °C por 7 min em outro termociclador (Verit, Applied Biosystems). Um gel de agarose 2% foi preparado e em seguida foi feita eletroforese a 100 V por 1 hora em todas as amostras. Este gel foi corado com brometo de etídeo e exposto à luz ultravioleta, o que revelou bandas (marcações) de tamanhos distintos: 319 pb para os sujeitos com genótipo DD e 597 pb para os sujeitos II e ambas marcações para aqueles com genótipo ID. Por conta da preferência existente na amplificação do fragmento de 319 pb para aqueles com genótipo ID, uma segunda reação independente de PCR foi feita, a fim de discriminar corretamente os sujeitos DD e ID. Para esta segunda reação os *primers forward* TGGGACCACAGCGCCCGCCACTAC e *reverse* TCGCCAGCCCTCCCATGCCATAA foram utilizados nas mesmas condições citadas anteriormente, salvo a temperatura de anelamento, que foi de 67 °C.

4.6 Aferições da saturação de oxigênio, pulsação e da pressão arterial dos atletas

Para a aferição da pressão arterial (PA), pulsação e saturação de oxigênio dos atletas foi utilizado o aparelho Monitor Portal DX 2020 (Dixtal, Philips, Holanda). Para a coleta dos dados de saturação de oxigênio e pulsação, foi colocado no dedo indicador de cada atleta o oxímetro do aparelho. Como nenhum artefato foi

observado na pulsação dos atletas, este valor foi considerado como frequência cardíaca. Para a medida da PA, as condutas adotadas antes e durante a aferição foram condizentes com as IV Diretrizes Brasileiras de Hipertensão (76). Em suma, os atletas ficaram em repouso e sem conversar por 5 min em um ambiente calmo. Os atletas ainda deveriam estar com a bexiga vazia e sem terem feito atividades físicas nos últimos 60 min. Com relação ao posicionamento, eles ficaram sentados, de pernas descruzadas, com os pés apoiados no chão, dorso recostado na cadeira e relaxado. O braço foi posicionado na altura do coração (nível do ponto médio do esterno ou quarto espaço intercostal), apoiado no aparador de braço, com a palma da mão voltada para cima e o cotovelo ligeiramente fletido. O manguito foi escolhido de acordo com a circunferência do braço do atleta e posicionado, sem deixar folgas, 2 a 3 cm acima da fossa cubital, sendo o meio da parte compressiva do manguito colocado sobre a artéria braquial. Foram realizadas 3 aferições consecutivas e a pressão arterial considerada foi a média das duas últimas, sendo que não houve diferença maior que 4 mmHg entre as aferições.

4.7 Ecocardiograma

Os atletas do São Paulo Futebol Clube foram submetidos ao exame de ecocardiograma no Laboratório Delbone Auriemo, na cidade de São Paulo. De posse dos resultados destes exames foi possível avaliar a massa do ventrículo esquerdo corrigida pela superfície corporal, a fração de ejeção e os volumes (mL) e tamanhos (diâmetro em cm) do ventrículo esquerdo.

4.8 Avaliações das capacidades físico-motoras dos atletas

Para a realização das avaliações das manifestações da força explosiva dos membros inferiores e da velocidade de deslocamento, os jogadores foram submetidos a um conjunto de exercícios físicos padronizado, com 7 min de duração, composto de duas partes (aquecimento geral e específico), sendo a primeira etapa

composta por exercícios com baixa e moderada intensidade e a segunda parte por exercícios de alta intensidade.

Para o teste de endurance foram utilizados como atividade preparatória, os três primeiros estágios do próprio teste (Yo-yo Intermittent Recovery Test), de forma a propiciar os ajustes fisiológicos necessários e a familiarização dos jogadores aos sinais sonoros destinados à realização do mesmo.

Após a realização das atividades preparatórias, os jogadores tiveram 3 min de descanso para o início das avaliações das capacidades motoras.

Convém destacar que as avaliações das capacidades motoras foram realizadas 48 h após o término da última atividade com exercícios físicos, em duas sessões de treinamento distintas. A primeira foi destinada à avaliação da força explosiva dos membros inferiores e da velocidade de deslocamento e a segunda voltada à avaliação de endurance.

4.8.1 Avaliação da força explosiva dos membros inferiores

Para a realização da avaliação da força explosiva dos membros inferiores foi utilizado um tapete de contato e um software (Axon Jump 4.0, Buenos Aires, Argentina) e um microcomputador (LG, modelo R400, Manaus, Brasil).

Os jogadores foram submetidos a três testes distintos, de acordo com a sequência e a descrição abaixo. Cada atleta realizou três tentativas, em cada teste, com 10 s de intervalo entre elas, sendo considerado o melhor desempenho entre as três tentativas com critérios de avaliação. O tempo de descanso entre cada teste foi de no mínimo 3 min. Todas as avaliações foram realizadas com os jogadores calçando tênis.

Salto vertical com meio agachamento partindo de uma posição estática (*Squat Jump – SJ*)

Esse teste consistiu na realização de um salto vertical partindo de uma posição estática em meio agachamento com uma flexão de joelho em 90°. Foi

solicitado aos jogadores que se mantivessem na posição inicial por 5 s antes da realização do salto. Essa medida teve como finalidade minimizar a utilização do componente muscular elástico antes da realização do salto. O salto foi executado sem contramovimento prévio de qualquer segmento, com as mãos fixas próximas ao quadril, na região suprailíaca, o tronco posicionado na vertical, sem um adiantamento excessivo e os joelhos estendidos durante a fase de voo (77).

Salto vertical com contra movimento sem a contribuição dos membros superiores (*Counter Movement Jump – CMJ*)

Esse teste consistiu na realização de um salto vertical partindo de uma posição ereta, com os joelhos em extensão 180°. O salto foi executado com um contramovimento, ou seja, o jogador realizou a flexão do joelho até o ângulo de 90°, em seguida impulsionou corpo para o alto na vertical, com as mãos fixas próximas ao quadril, na região suprailíaca, mantendo o tronco na posição vertical sem um adiantamento excessivo e os joelhos estendidos durante a fase de voo. Este teste objetivou avaliar a participação do componente muscular elástico no desempenho do salto (77).

Salto vertical com contra movimento com a contribuição dos membros superiores (*Counter Movement Jump – CMJb*)

Esse teste consistiu na realização de um salto vertical partindo de uma posição ereta, com os joelhos em extensão 180°. O salto foi executado com um contra movimento, ou seja, o jogador realizou a flexão do joelho até o ângulo de 90°, em seguida impulsionou corpo para o alto e na vertical, mantendo o tronco na posição vertical sem um adiantamento excessivo e os joelhos estendidos durante a fase de voo. Este teste teve como objetivo avaliar a participação dos membros inferiores e superiores no desempenho do salto, pois o jogador ficou com as mãos livres, o que possibilitou o balanço dos braços durante a realização do salto (77).

4.8.2 Avaliação da velocidade de deslocamento (teste de velocidade)

Para a realização da avaliação do tempo de deslocamento foi utilizado o conjunto de sensores fotoelétricos (Cefise, modelo Speed Standard, São Paulo, Brasil), posicionados de acordo com a Figura 1.

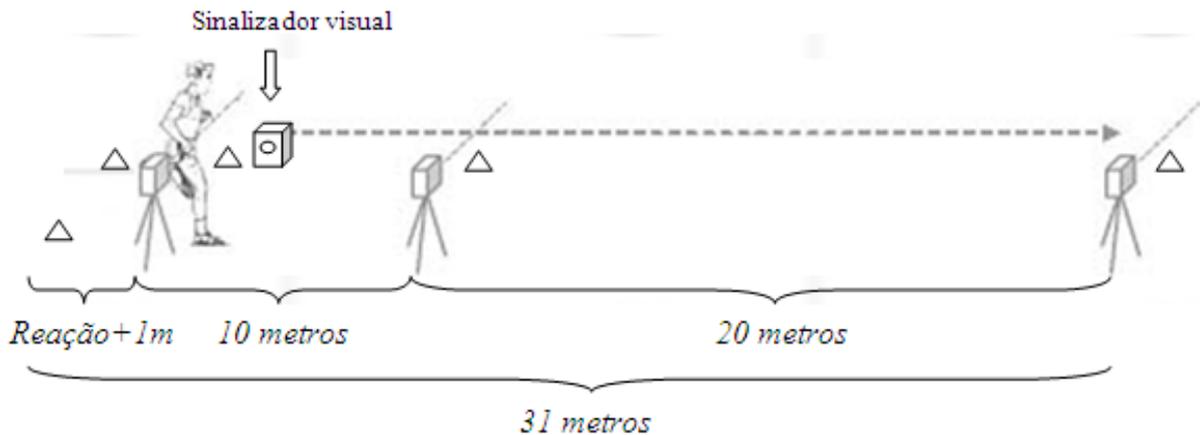


Figura 1: Esquema do posicionamento dos sensores fotoelétricos para o teste de velocidade de deslocamento.

O tempo de deslocamento foi mensurado por intermédio de um teste de corrida, no qual os jogadores realizaram individualmente um deslocamento, em linha reta, com o menor tempo possível, em um campo de grama natural calçando chuteiras.

Para a realização do teste, os jogadores se posicionaram em pé, com os membros inferiores em afastamento anteroposterior e com o pé anterior a 1 m atrás do primeiro sensor fotoelétrico. A corrida se iniciou a partir de um sinal visual emitido por um sinalizador, posicionado sobre o solo, a 2 m de distância da posição inicial do jogador em avaliação. Os jogadores foram orientados a iniciar a desaceleração após ultrapassarem o último sensor fotoelétrico (78, 79).

Durante as corridas foram medidos os tempos de deslocamento dos jogadores nas seguintes distâncias:

- 1- Entre o sinal visual e o primeiro sensor fotoelétrico (tempo de reação + 1 m);
- 2- Entre o primeiro e o segundo sensores fotoelétricos (10 m);
- 3- Entre o segundo e o terceiro sensores fotoelétricos (20 m);
- 4- Entre o primeiro e o terceiro sensores fotoelétricos (30 m);

Cada jogador realizou três corridas, com um período mínimo de descanso de 3 min entre as tentativas e o menor tempo alcançado foi considerado. Os jogadores correram em um campo de grama natural utilizando chuteiras como calçados.

4.8.3 Avaliação de endurance (teste do Yoyo).

Para a realização da avaliação de endurance, lançamos mão de um aparelho de som para a emissão dos sinais sonoros.

A avaliação foi feita por meio do YO-YO Intermittent Recovery Test, nível 1 (80, 81). O teste consistiu em corridas de 2 x 20 m em um percurso de 20 m entre a linha inicial e a linha de retorno. Entre as corridas de 2 x 20 m (vai e volta), os jogadores tiveram 10 s para recuperação ativa, esta consistindo de dois deslocamentos de 5 m de baixa intensidade. A velocidade do teste foi controlada por sinais sonoros emitidos por aparelho de som. O teste começou com quatro corridas de 2 x 20 m, com velocidades entre 10 – 13 km/h (0 – 160 m), na sequência foram realizadas sete corridas de 2 x 20 metros com velocidades entre 13,5 – 14 km/h (160 – 440 m), após os 440 m percorridos, cada estágio consistiu em 8 corridas de 2 x 20 m com incremento de 0,5 km/h até a exaustão. Quando os avaliados não foram capazes de percorrer o trajeto, por duas vezes consecutivas, dentro do tempo delimitado pelos sinais sonoros ou pela fadiga voluntária, o teste foi interrompido sendo considerada a distância percorrida total (em m) o desempenho final do teste (80, 81). Os jogadores realizaram este teste em grupos de atletas, em um campo de grama artificial calçando chuteiras.

4.9 Análises estatísticas

Para as análises estatísticas, os atletas foram separados ou não pela idade cronológica. Em seguida, os atletas foram subdivididos pelos diferentes genótipos de cada gene. No caso do polimorfismo no gene ACTN3, os atletas foram separados entre a combinação dos genótipos RR e RX versus o genótipo XX. Para o polimorfismo no gene AMPD1, genótipo CC versus genótipo CT e TT. Para o polimorfismo no gene da ECA, genótipo DD versus genótipos ID e II. E para o polimorfismo no gene AGT, genótipos TT/MT versus genótipo MM. Finalmente,

A distinção pela idade cronológica é necessária em função do cenário atual no futebol brasileiro, ou seja, os atletas são separados pela idade em categorias para as disputas de campeonatos. As categorias existentes no SPFC são: Sub 14 anos, sub 15 anos, sub 16 anos, sub 17 anos, sub 20 anos.

Na tentativa de se observar a influência da combinação entre todos os genótipos de todos os genes analisados nos testes físicos propostos, os atletas também foram ranqueados de acordo com os escores obtidos conforme explicado abaixo:

O ranqueamento privilegiando força e explosão muscular adotou escore 2 para os genótipos RR (ACTN3), CC (AMPD1), DD (ECA) e TT (AGT), escore 1 para os heterozigotos para todos os genes e escore 0 (zero) para os genótipos XX (ACTN3), TT (AMPD1), II (ECA) e MM (AGT). Já o ranqueamento privilegiando endurance adotou escore 2 para os genótipos XX (ACTN3), CC (AMPD1), II (ECA) e MM (AGT), escore 1 para os heterozigotos para todos os genes e escore 0 (zero) para os genótipos RR (ACTN3), TT (AMPD1), DD (ECA) e TT (AGT). Estes modelos de ranqueamentos foram adaptados de trabalhos previamente publicados (82, 83).

Ambos os ranqueamentos apresentaram atletas com um somatório de escore variando entre 1 e 8. Logo, dois grupos foram formados, ou seja, atletas com escore entre 1 e 4 e atletas com escore entre 5 e 8, os quais foram comparados entre si para os diferentes testes físicos propostos.

Como se obteve sempre a possibilidade de comparação entre dois grupos, o teste *t* de *student* não pareado foi utilizado nos grupos com distribuição normal. Já

para os grupos que não apresentaram distribuição normal, o teste de *Mann-Whitney* foi usado. O nível de significância adotado foi considerado quando maior que 95 % ($p < 0,05$).

Para as análises dos parâmetros hemodinâmicos e cardíacos, os atletas foram subdivididos de acordo com as três possibilidades de genótipos para cada gene. Logo, o teste ANOVA de um caminho com pós teste de Tukey (quando necessário) foi utilizado quando houve distribuição normal entre os grupos avaliados, e o teste Kruskal-Wallis com pós teste de Dunns (quando necessário) quando não houve distribuição normal entre os grupos avaliados. O nível de significância adotado foi considerado quando maior que 95 % ($p < 0,05$).

5 RESULTADOS

5 RESULTADOS

Os 220 atletas do estudo foram genotipados para os polimorfismos dos genes ACTN3, ECA, AGT e AMPD1, porém somente 175 fizeram todos os testes físicos. Os resultados expressos abaixo estão relacionados somente aos atletas que completaram todos os testes físicos propostos.

Os dados de peso corporal (kg), estatura (m) e índice de massa corporal ($\text{Peso}/\text{altura}^2$) foram coletados e podem ser visualizados na Tabela 2 de acordo com as categorias estabelecidas no presente estudo.

Tabela 2: Caracterização dos atletas de acordo com as categorias.

Categorias		Peso (kg)	Estatura (m)	IMC
Sub-14 (n = 59)	Média	58,33	1,68	20,20
	DP	9,36	0,09	3,20
Sub-15 (n = 36)	Média	65,08	1,76	20,88
	DP	7,42	0,06	1,74
Sub-16 (n = 41)	Média	67,51	1,78	21,33
	DP	9,13	0,08	1,70
Sub-17 (n = 28)	Média	69,80	1,78	22,11
	DP	8,07	0,06	1,84
Sub-20 (n = 11)	Média	72,46	1,79	22,58
	DP	4,79	0,07	1,54

Média e desvio-padrão (DP) dos dados de peso (kg), altura (m) e índice de massa corporal (IMC) dos atletas de acordo com as categorias: Sub-14 (atletas com até 14 anos), Sub-15 (atletas com até 15 anos), Sub-16 (atletas com até 16 anos), Sub-17 (atletas com até 17 anos) e Sub-20 (atletas com idade entre 18 e 20 anos).

5.1 Frequência dos genótipos do gene ACTN3 e o desempenho motor dos atletas

Dos 220 atletas participantes da pesquisa, 32 % são homozigotos ancestrais (RR), 53 % são heterozigotos (RX) e 15 % são homozigotos mutados (XX). Os genótipos dos 175 atletas que fizeram os testes físicos, após distribuição de acordo com as diferentes categorias, podem ser observados na Tabela 3.

Tabela 3: Distribuição genotípica por idade do gene ACTN3 dos atletas que realizaram os testes físicos.

ACTN3	Atletas que fizeram os testes	RR	RX	XX
Sub-14	59	19/59 (32 %)	30/59 (51 %)	10/59 (17 %)
Sub-15	36	11/36 (30 %)	18/36 (50 %)	7/36 (20 %)
Sub-16	41	12/41 (29 %)	22/41 (54 %)	7/41 (17 %)
Sub-17	28	10/28 (36 %)	12/28 (43 %)	6/28 (21 %)
Sub-20	11	4/11 (36 %)	7/11 (64 %)	0

Distribuição genotípica do polimorfismo no gene ACTN3 dos atletas subdivididos nas categorias Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20. RR = homozigotos ancestrais, RX = heterozigotos e XX = homozigotos mutados.

Com relação ao desempenho dos atletas nos testes físicos propostos, observou-se que aqueles com os genótipos RR/RX atingiram melhores amplitudes nos testes de saltos comparados aos atletas com o genótipo XX. No teste *Squat Jump* (SJ) antes da subdivisão de acordo com a idade, atletas com os genótipos RR/RX saltaram $33,64 \pm 5,31$ cm ao passo que os atletas com genótipo XX $30,81 \pm 4,51$ cm ($p = 0,007$). Nas categorias Sub-15 (RR/RX = $34,88 \pm 5,39$ cm vs XX = $30,59 \pm 4,07$ cm, $p = 0,04$) e Sub-17 (RR/RX = $35,82 \pm 4,35$ cm vs XX = $30,24 \pm 5,16$ cm, $p = 0,01$) o mesmo pôde ser observado. Nas outras categorias não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas.

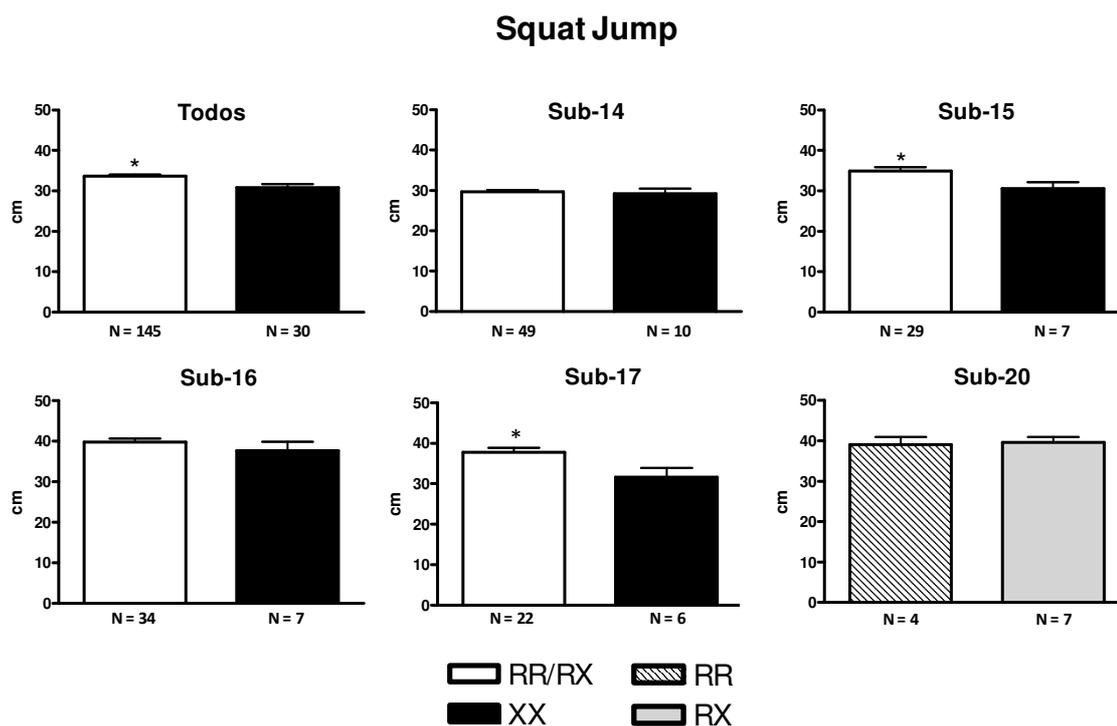


Figura 2: Desempenho dos atletas no teste *Squat Jump* (cm) antes da subdivisão em categorias (Todos) e de acordo com as categorias: Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20. RR/RX = atletas homozigotos ancestrais e heterozigotos para o gene ACTN3; XX = atletas homozigotos mutados para o gene ACTN3; RR = atletas homozigotos ancestrais para o gene ACTN3; RX = atletas heterozigotos para o gene ACTN3. * vs XX, $p < 0,05$.

Na figura 3 pode-se notar que os atletas homozigotos mutados (genótipo XX) para o gene da ACTN3 ainda saltaram significativamente menos no teste *Counter Movement Jump* (CMJ) comparados àqueles com os genótipos RR/RX. Antes da subdivisão por idade, os atletas com genótipos RR/RX saltaram em média $37,26 \pm 5,72$ cm, e os atletas com genótipo XX saltaram $34,12 \pm 4,84$ cm ($p = 0,005$). Na categoria Sub-17 detectou-se ainda que os atletas com genótipos RR/RX saltaram em média $38,56 \pm 5,69$ cm, e os atletas com genótipo XX $32,90 \pm 6,06$ cm ($p = 0,02$). Nas outras categorias nenhuma diferença estatisticamente significativa foi encontrada.

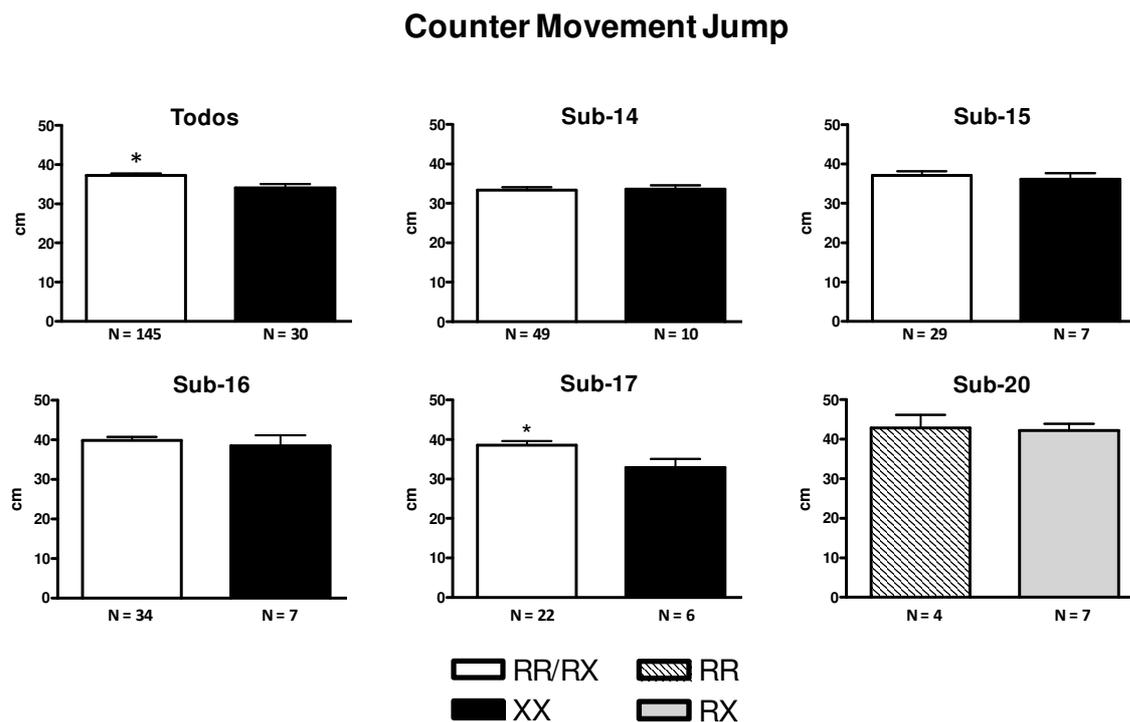


Figura 3: Desempenho dos atletas no teste *Counter Movement Jump* (cm) antes da subdivisão em categorias (Todos) e de acordo com as categorias: Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20. RR/RX = atletas homocigotos ancestrais e heterocigotos para o gene ACTN3; XX = atletas homocigotos mutados para o gene ACTN3; RR = atletas homocigotos ancestrais para o gene ACTN3; RX = atletas heterocigotos para o gene ACTN3. * vs XX, $p < 0,05$.

No teste *Counter Movement Jump* com os braços (CMJb) ainda pode-se notar que os atletas mutados saltaram significativamente menos (RR/RX = $43,85 \pm 6,38$ cm vs XX = $40,61 \pm 5,06$ cm, $p = 0,009$) (Figura 4). Diferenças estatísticas significativas não foram encontradas nas categorias de acordo com a idade.

Counter Movement Jump (com braços)

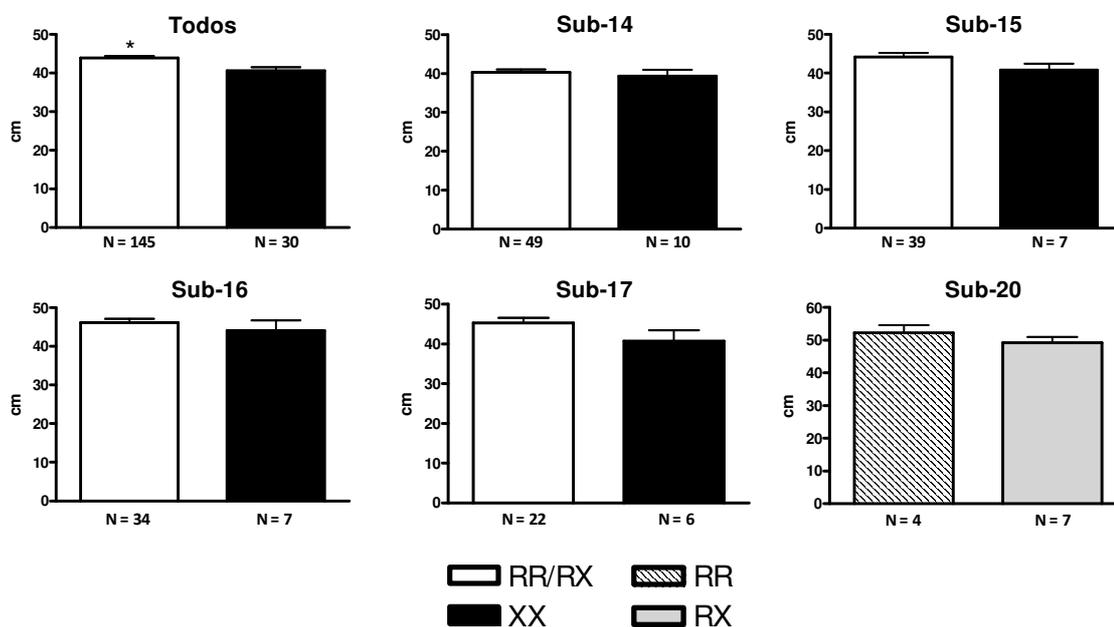


Figura 4: Desempenho dos atletas no teste *Counter Movement Jump* (cm) antes da subdivisão em categorias (Todos) e de acordo com as categorias: Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20. RR/RX = atletas homozigotos ancestrais e heterozigotos para o gene ACTN3; XX = atletas homozigotos mutados para o gene ACTN3; RR = atletas homozigotos ancestrais para o gene ACTN3; RX = atletas heterozigotos para o gene ACTN3. * vs XX, $p < 0,05$.

No teste de endurance não foi possível detectar diferenças significativas, embora, na categoria Sub-16, os atletas com o genótipo mutado (XX) tenham percorrido quase 300 m a mais comparados àqueles com os genótipos RR/RX ($p = 0,08$) (Figura 5).

Teste de Endurance

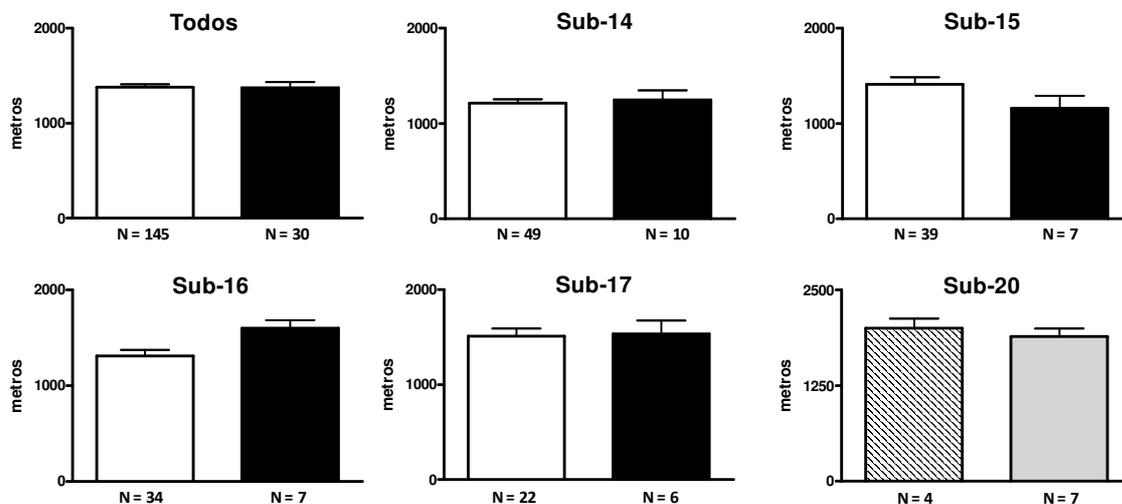


Figura 5: Desempenho dos atletas no teste de Endurance (Teste do yoyo - metros) antes da subdivisão em categorias (Todos) e de acordo com as categorias: Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20. RR/RX = atletas homozigotos ancestrais e heterozigotos para o gene ACTN3; XX = atletas homozigotos mutados para o gene ACTN3; RR = atletas homozigotos ancestrais para o gene ACTN3; RX = atletas heterozigotos para o gene ACTN3.

O teste de velocidade de deslocamento não revelou diferenças estatisticamente significativas entre os grupos avaliados nas distâncias de 1 m (Figura 6), 10 m (Figura 7) e 20 m (Figura 8). Por outro lado, no teste de velocidade de deslocamento na distância de 30 m percorridos, na categoria Sub-17, os atletas com os genótipos RR/RX foram mais velozes que os atletas com genótipo XX (RR/RX = $4,13 \pm 0,13$ s vs XX = $4,27 \pm 0,17$ s, $p = 0,04$) (Figura 9).

Teste de Velocidade 1 m

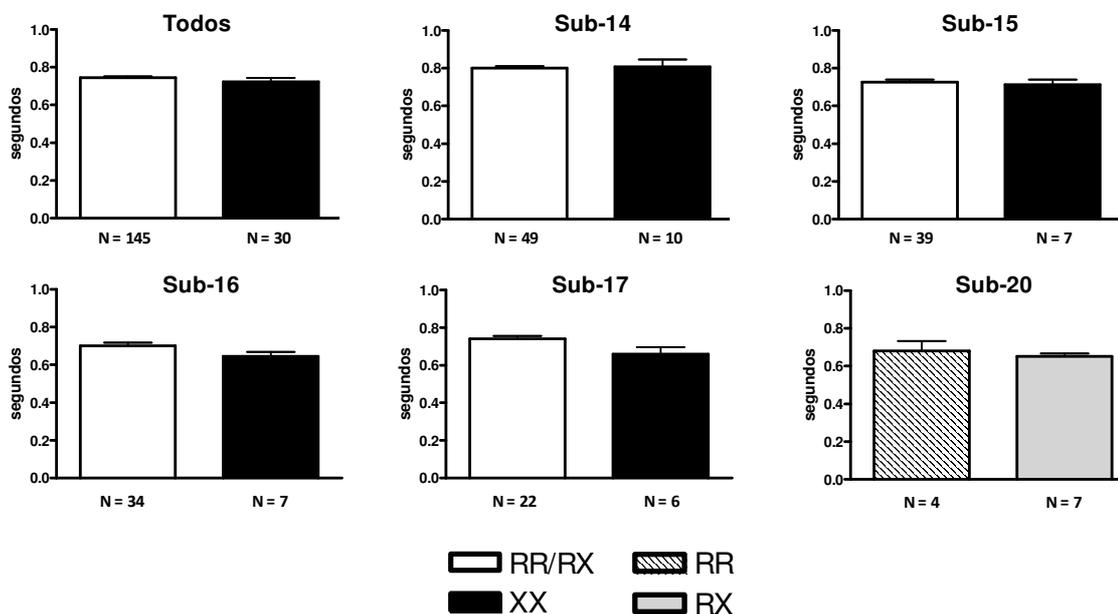


Figura 6: Desempenho dos atletas no teste de Velocidade de deslocamento (s), distância de 1 m, antes da subdivisão em categorias (Todos) e de acordo com as categorias: Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20. RR/RX = atletas homocigotos ancestrais e heterocigotos para o gene ACTN3; XX = atletas homocigotos mutados para o gene ACTN3; RR = atletas homocigotos ancestrais para o gene ACTN3; RX = atletas heterocigotos para o gene ACTN3.

Teste de Velocidade 10 m

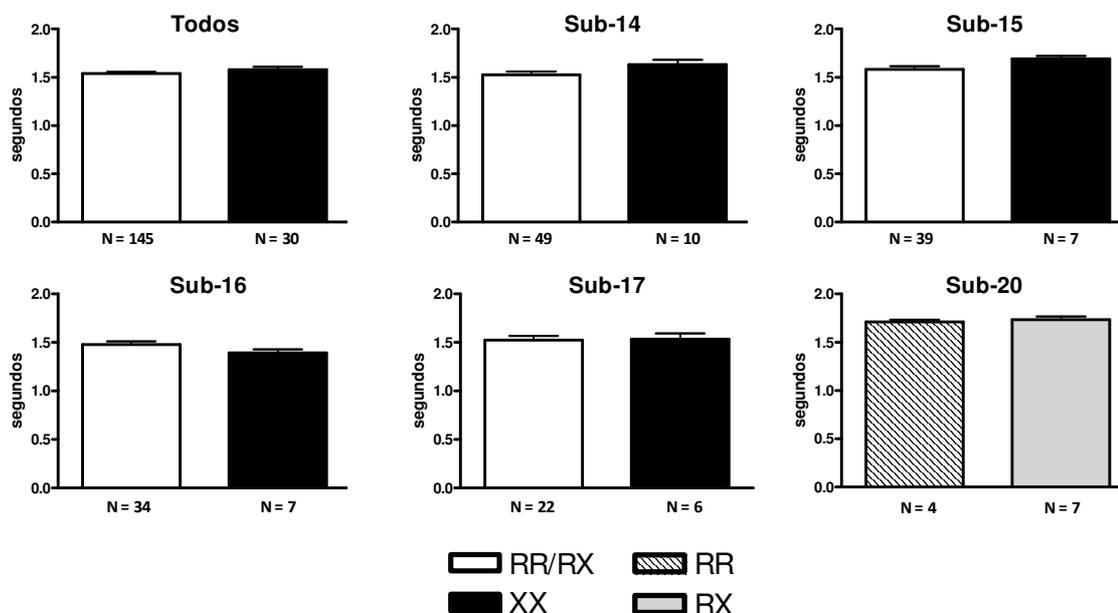


Figura 7: Desempenho dos atletas no teste de Velocidade de deslocamento (s), distância de 10 m, antes da subdivisão em categorias (Todos) e de acordo com as categorias: Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20. RR/RX = atletas homocigotos ancestrais e heterocigotos para o gene ACTN3; XX = atletas homocigotos mutados para o gene ACTN3; RR = atletas homocigotos ancestrais para o gene ACTN3; RX = atletas heterocigotos para o gene ACTN3.

Teste de Velocidade 20 m

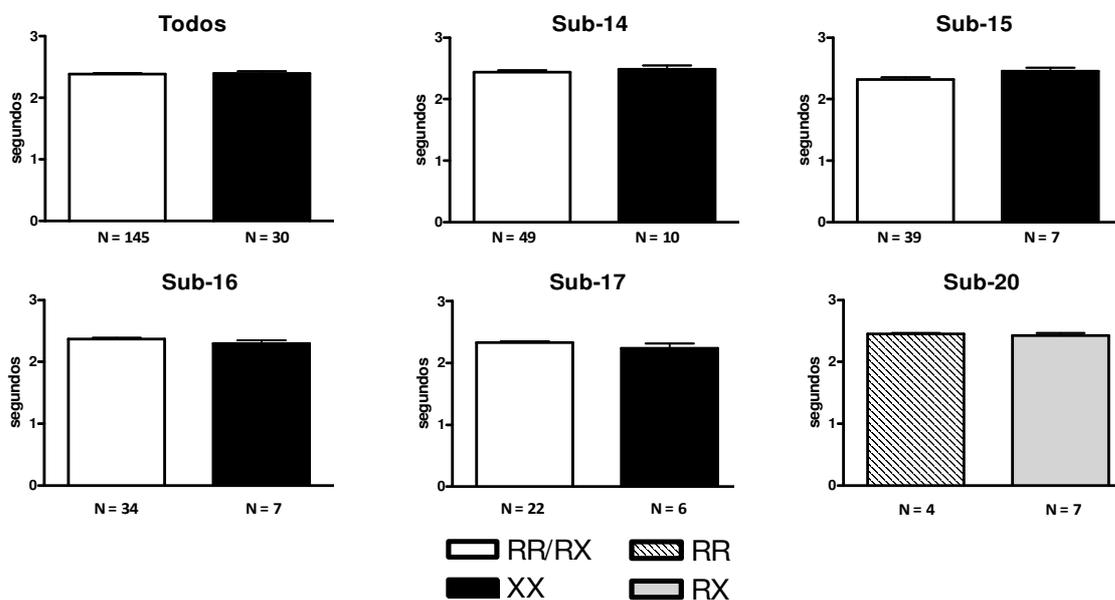


Figura 8: Desempenho dos atletas no teste de Velocidade de deslocamento (s), distância de 20 m, antes da subdivisão em categorias (Todos) e de acordo com as categorias: Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20. RR/RX = atletas homocigotos ancestrais e heterocigotos para o gene ACTN3; XX = atletas homocigotos mutados para o gene ACTN3; RR = atletas homocigotos ancestrais para o gene ACTN3; RX = atletas heterocigotos para o gene ACTN3.

Teste de Velocidade 30 m

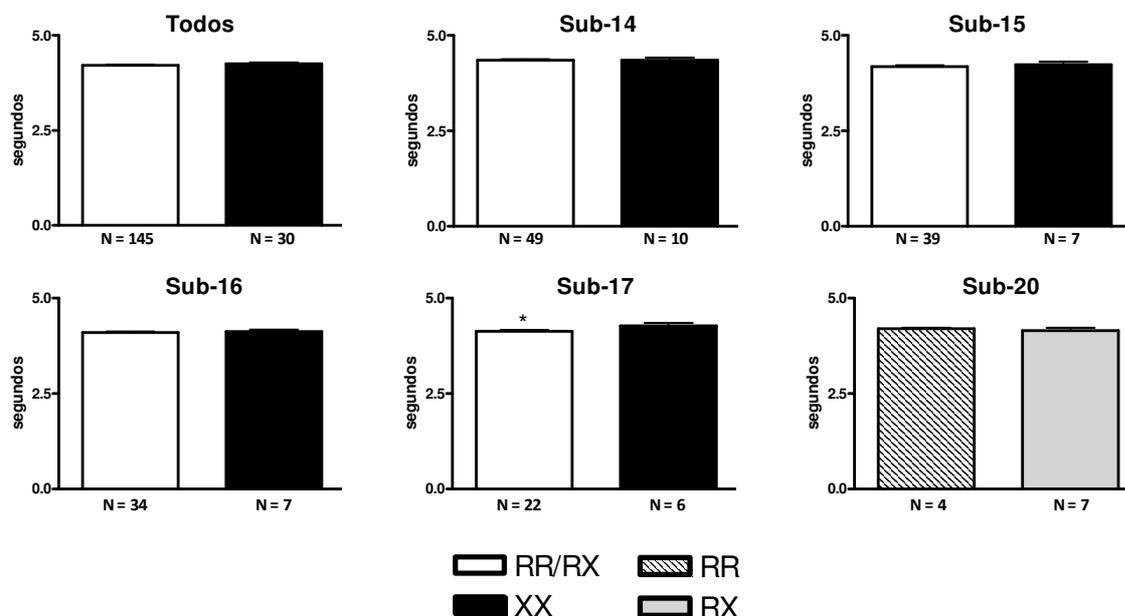


Figura 9: Desempenho dos atletas no teste de Velocidade de deslocamento (s), distância de 30 m, antes da subdivisão em categorias (Todos) e de acordo com as categorias: Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20. RR/RX = atletas homocigotos ancestrais e heterocigotos para o gene ACTN3; XX = atletas homocigotos mutados para o gene ACTN3; RR = atletas homocigotos ancestrais para o gene ACTN3; RX = atletas heterocigotos para o gene ACTN3. * vs XX, $p < 0,05$.

5.2 Frequência dos genótipos do gene AMPD1 e o desempenho motor dos atletas

O genótipo não mutado (CC) para o gene AMPD1 foi o mais encontrado dentre os 220 atletas avaliados com 85 %. Os heterozigotos (CT) foram 14 % e os mutados (TT) 1 %. Os genótipos dos 175 atletas que fizeram os testes físicos, após distribuição de acordo com as diferentes categorias, podem ser observados na Tabela 4.

Tabela 4: Distribuição genotípica por idade do gene AMPD1 dos atletas que realizaram os testes físicos.

AMPD1	Atletas que fizeram os testes	CC	CT	TT
Sub-14	59	52/59 (88 %)	7/59 (12 %)	0
Sub-15	36	33/36 (92 %)	3/36 (8 %)	0
Sub-16	41	33/41 (80 %)	8/41 (20 %)	0
Sub-17	28	20/28 (71 %)	6/28 (22 %)	2/28 (7 %)
Sub-20	11	9/11 (82 %)	2/11 (18 %)	0

Distribuição genotípica do polimorfismo no gene AMPD1 dos atletas subdivididos nas categorias Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20. CC = homozigotos ancestrais, CT = heterozigotos e TT = homozigotos mutados.

A possível associação existente entre o polimorfismo do gene AMPD1 e o desempenho dos atletas foi verificada neste estudo antes e depois da separação dos atletas nos grupos propostos de acordo com a idade. Após as análises dos resultados não foi possível detectar nenhuma diferença significativa nos testes de saltos como se pode observar nas figuras 10, 11 e 12.

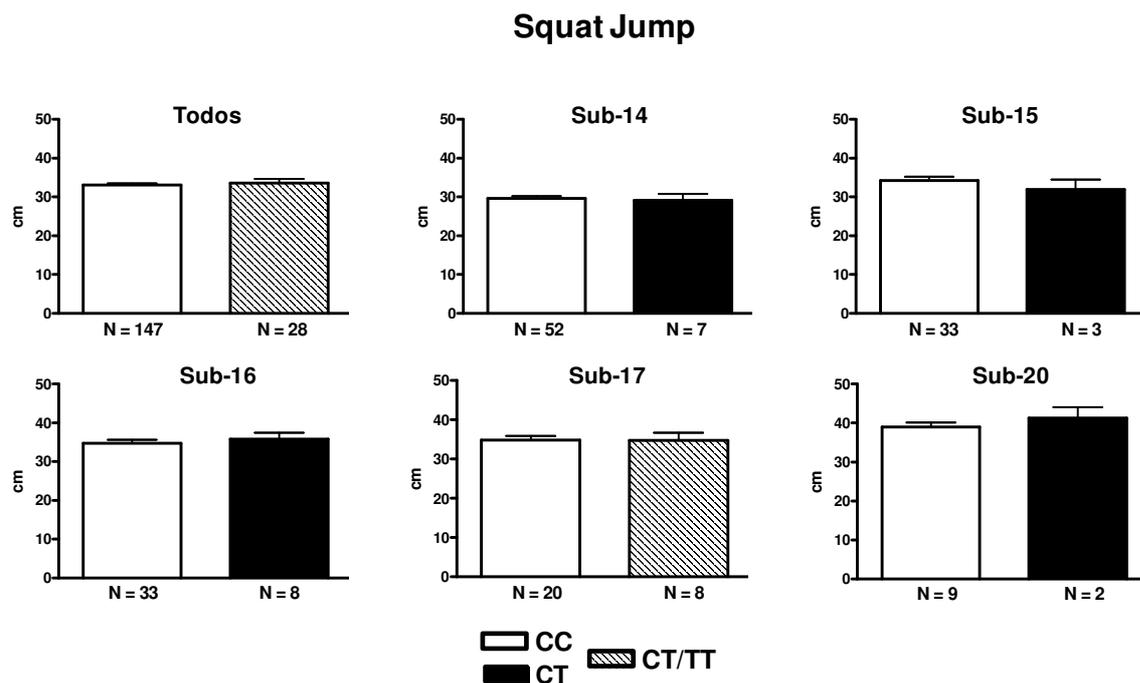


Figura 10: Desempenho dos atletas no teste *Squat Jump* (cm) antes da subdivisão em categorias (Todos) e de acordo com as categorias: Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20. CC = atletas homocigotos ancestrais para o gene AMPD1; CT = atletas heterocigotos para o gene AMPD1; CT/TT = atletas heterocigotos e homocigotos mutados para o gene AMPD1.

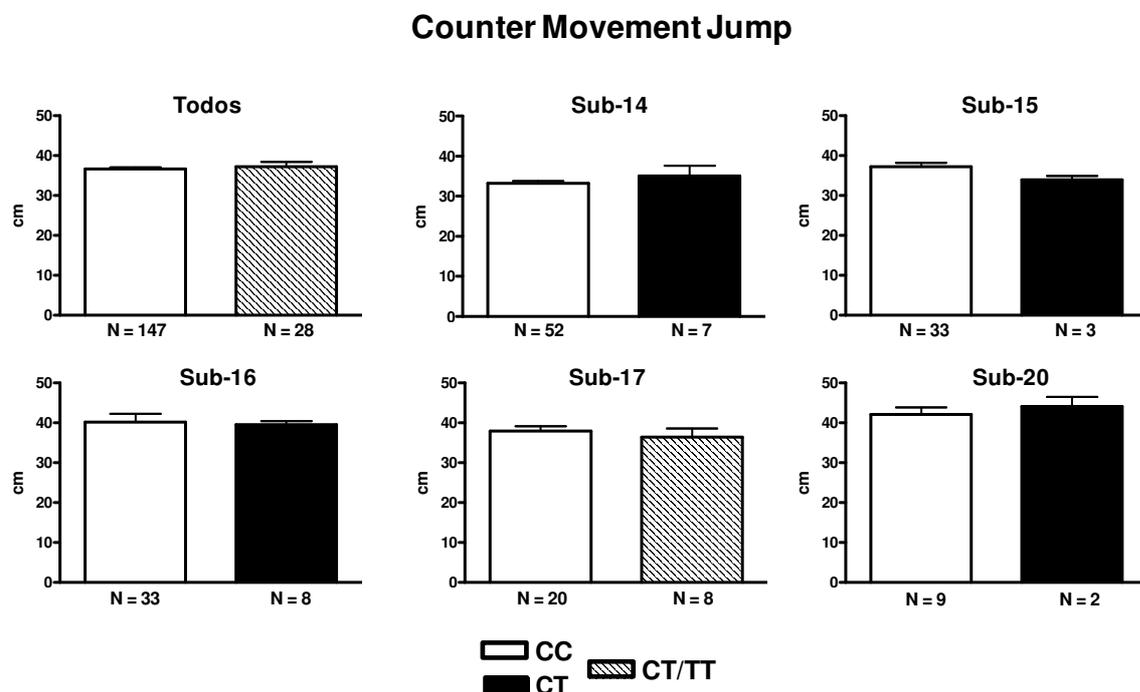


Figura 11: Desempenho dos atletas no teste *Counter Movement Jump* (cm) antes da subdivisão em categorias (Todos) e de acordo com as categorias: Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20. CC = atletas homocigotos ancestrais para o gene AMPD1; CT = atletas heterocigotos para o gene AMPD1; CT/TT = atletas heterocigotos e homocigotos mutados para o gene AMPD1.

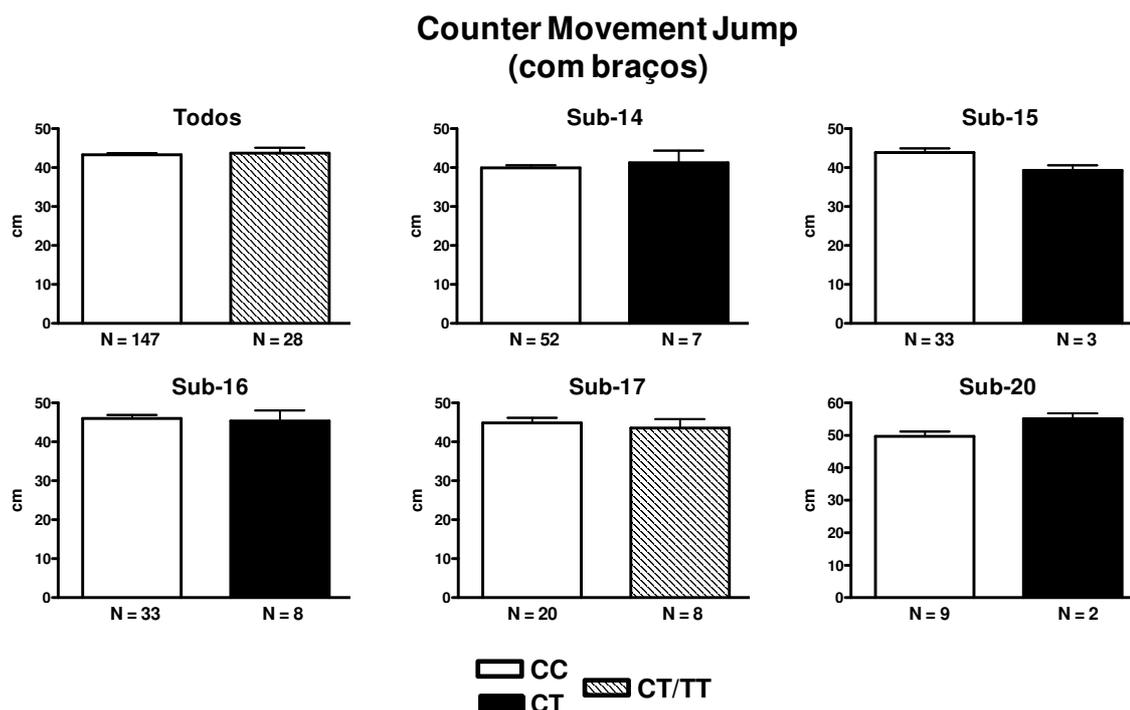


Figura 12: Desempenho dos atletas no teste *Counter Movement Jump* com os braços (cm) antes da subdivisão em categorias (Todos) e de acordo com as categorias: Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20. CC = atletas homocigotos ancestrais para o gene AMPD1; CT = atletas heterocigotos para o gene AMPD1; CT/TT = atletas heterocigotos e homocigotos mutados para o gene AMPD1.

Com relação ao teste de endurance, também não foram encontradas diferenças significativas (Figura 13). Porém, no teste de velocidade de deslocamento na distância de 10 m, os atletas que não possuem a mutação no gene AMPD1 (genótipo CC) foram mais rápidos comparados àqueles com genótipos CT/TT (CC = $1,53 \pm 0,19$ s vs CT/TT = $1,62 \pm 0,16$ s, $p = 0,04$) (Figura 15). Para todos os demais testes de velocidade nenhuma diferença significativa foi encontrada (Figuras 14, 16 e 17).

Teste de Endurance

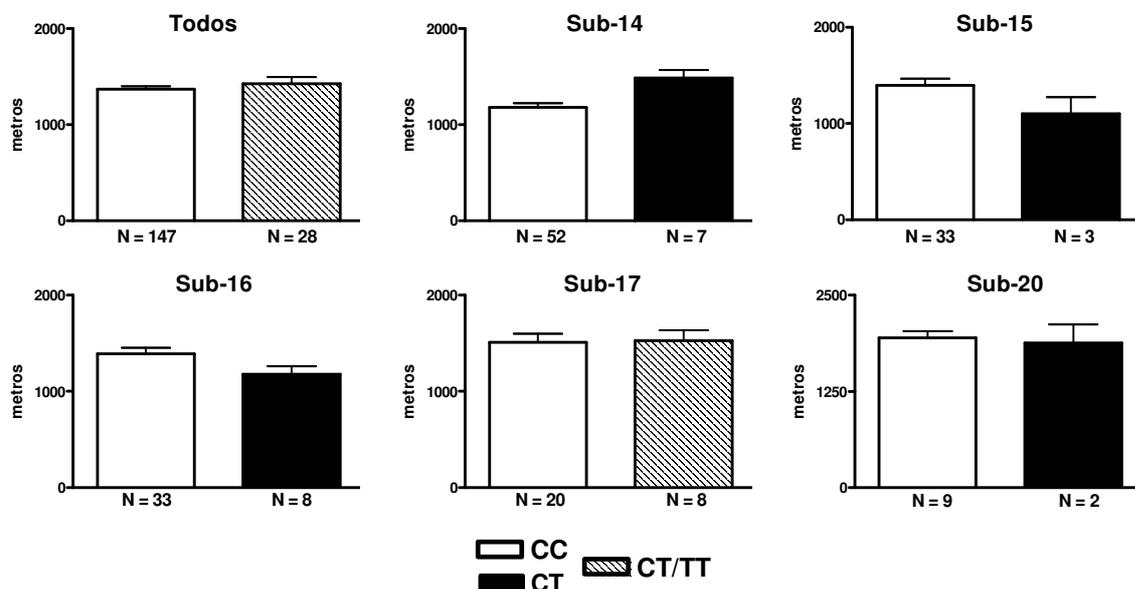


Figura 13: Desempenho dos atletas no teste de Endurance (Teste do yoyo - metros) antes da subdivisão em categorias (Todos) e de acordo com as categorias: Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20. CC = atletas homocigotos ancestrais para o gene AMPD1; CT = atletas heterocigotos para o gene AMPD1; CT/TT = atletas heterocigotos e homocigotos mutados para o gene AMPD1.

Teste de Velocidade 1 m

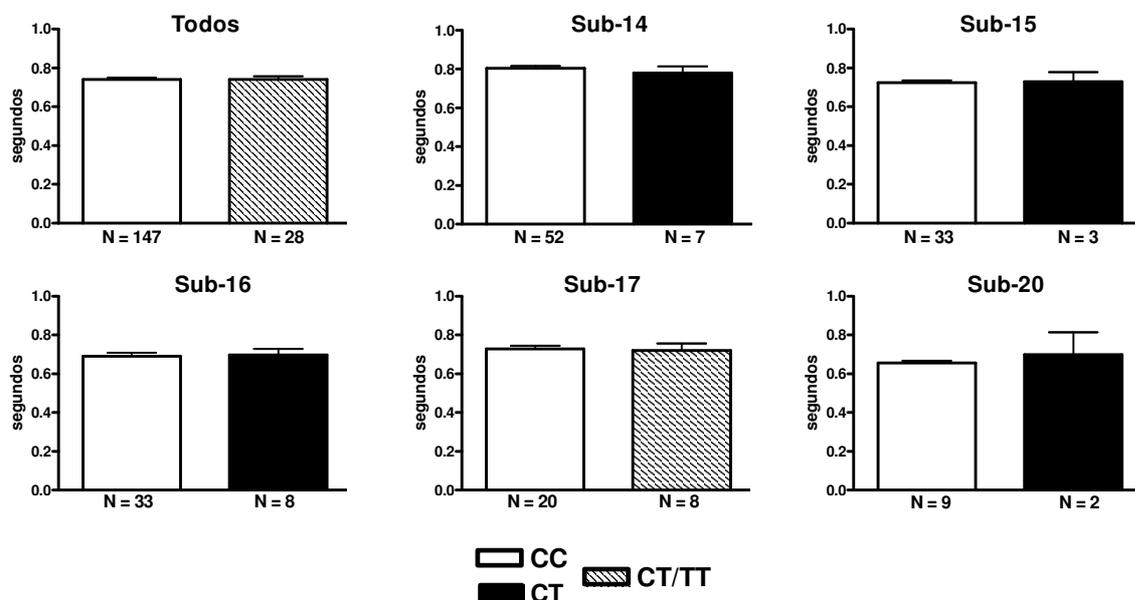


Figura 14: Desempenho dos atletas no teste de Velocidade de deslocamento (segundos), distância de 1 m, antes da subdivisão em categorias (Todos) e de acordo com as categorias: Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20. CC = atletas homocigotos ancestrais para o gene AMPD1; CT = atletas heterocigotos para o gene AMPD1; CT/TT = atletas heterocigotos e homocigotos mutados para o gene AMPD1.

Teste de Velocidade 10 m

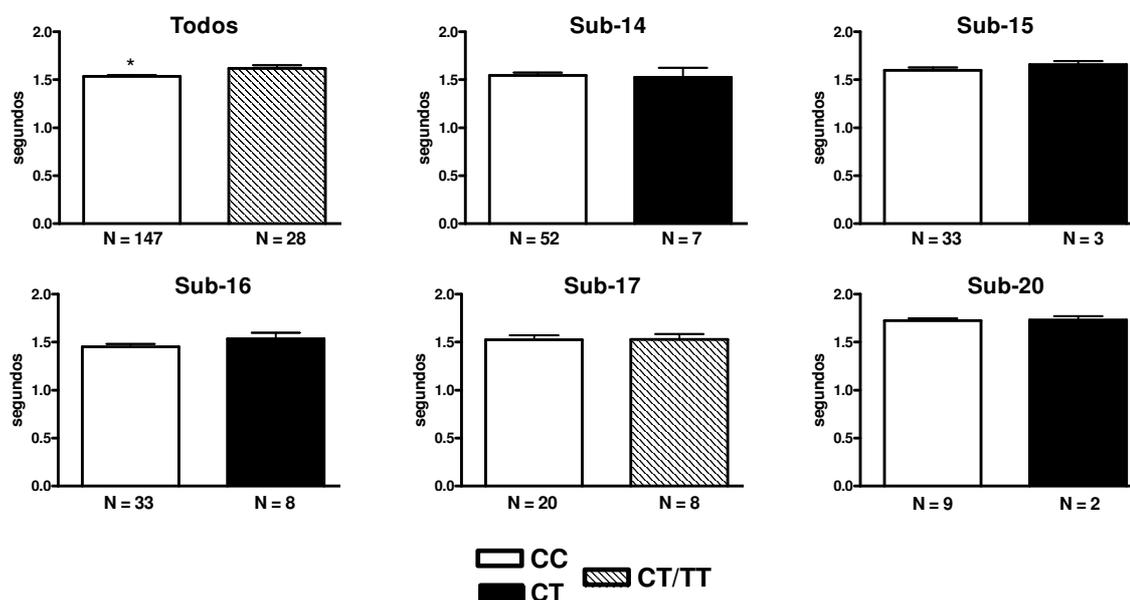


Figura 15: Desempenho dos atletas no teste de Velocidade de deslocamento (s), distância de 10 m, antes da subdivisão em categorias (Todos) e de acordo com as categorias: Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20. CC = atletas homocigotos ancestrais para o gene AMPD1; CT = atletas heterocigotos para o gene AMPD1; CT/TT = atletas heterocigotos e homocigotos mutados para o gene AMPD1. * vs CT/TT, $p < 0,05$.

Teste de Velocidade 20 m

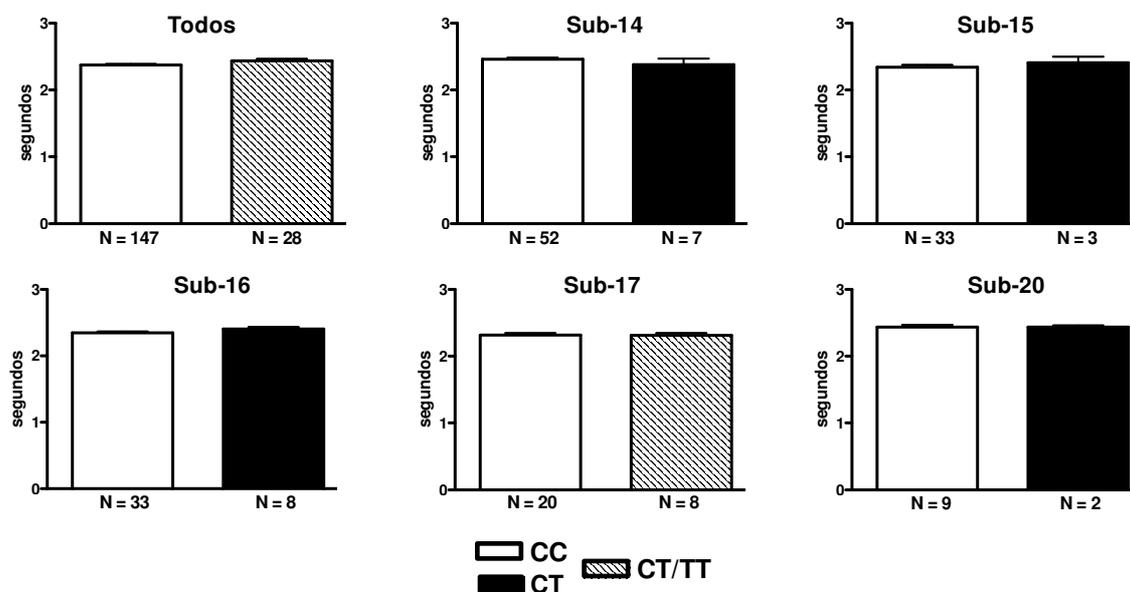


Figura 16: Desempenho dos atletas no teste de Velocidade de deslocamento (s), distância de 20 m, antes da subdivisão em categorias (Todos) e de acordo com as categorias: Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20. CC = atletas homocigotos ancestrais para o gene AMPD1; CT = atletas heterocigotos para o gene AMPD1; CT/TT = atletas heterocigotos e homocigotos mutados para o gene AMPD1.

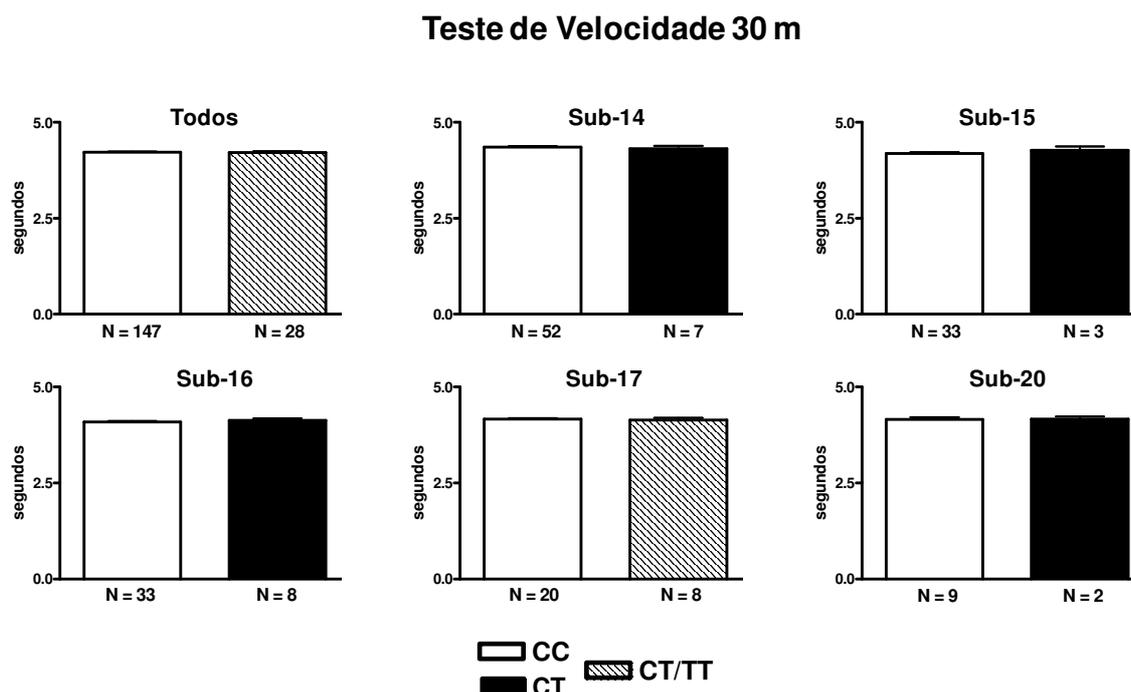


Figura 17: Desempenho dos atletas no teste de Velocidade de deslocamento (s), distância de 30 m, antes da subdivisão em categorias (Todos) e de acordo com as categorias: Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20. CC = atletas homozigotos ancestrais para o gene AMPD1; CT = atletas heterozigotos para o gene AMPD1; CT/TT = atletas heterozigotos e homozigotos mutados para o gene AMPD1.

5.3 Frequência dos genótipos do gene da ECA e o desempenho motor dos atletas

A distribuição genotípica referente ao gene da ECA dos 220 atletas revelou que 47 % possuem o genótipo de deleção (DD), 34 % são heterozigotos (ID) e 19 % possuem o genótipo de inserção (II). Os genótipos dos 175 atletas que fizeram os testes físicos, após distribuição de acordo com as diferentes categorias, podem ser observados na Tabela 5.

Tabela 5: Distribuição genotípica por idade do gene da ECA dos atletas que realizaram os testes físicos.

ECA	Atletas que fizeram os testes	DD	ID	II
Sub-14	59	27/59 (46 %)	20/59 (34 %)	12/59 (20%)
Sub-15	36	18/36 (50 %)	12/36 (33 %)	6/36 (17 %)
Sub-16	41	21/41 (51 %)	12/41 (29 %)	8/41 (20 %)
Sub-17	28	10/28 (35 %)	12/28 (43 %)	6/28 (22 %)
Sub-20	11	8/11 (72 %)	2/11 (18 %)	1/11 (10 %)

Distribuição genotípica do polimorfismo no gene da ECA dos atletas subdivididos nas categorias Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20. DD = genótipo de deleção, ID = heterozigotos e II = genótipo de inserção.

Após a análise dos resultados entre a associação do polimorfismo no gene da ECA e o desempenho dos atletas, foi possível detectar que aqueles com o genótipo DD saltaram significativamente mais alto no teste *Counter Movement Jump* com os braços comparados aos jogadores com os genótipos ID/II (DD = $44,37 \pm 6,22$ cm vs ID/II = $42,35 \pm 6,23$ cm, $p = 0,02$) (Figura 20). Já as análises realizadas após a subdivisão dos atletas de acordo com a idade revelaram que, na categoria Sub-17, os atletas com o genótipo DD saltam significativamente maiores alturas nos testes *Squat Jump* (DD = $38,04 \pm 5,00$ cm vs ID/II = $33,16 \pm 4,11$ cm, $p = 0,01$), *Counter Movement Jump* (DD = $41,03 \pm 5,64$ cm vs ID/II = $35,76 \pm 4,26$ cm, $p = 0,01$) e *Counter Movement Jump* com os braços (DD = $48,62 \pm 5,98$ cm vs ID/II = $42,42 \pm 4,81$ cm, $p = 0,007$) (Figuras 18, 19 e 20).

Durante o teste de endurance, somente os atletas da categoria Sub-16 e com os genótipos ID/II percorreram maiores distâncias comparados aos jogadores com o genótipo DD (ID/II = $1467 \pm 63,70$ m vs DD = $1244 \pm 64,25$ m, $p = 0,04$) (Figura 21).

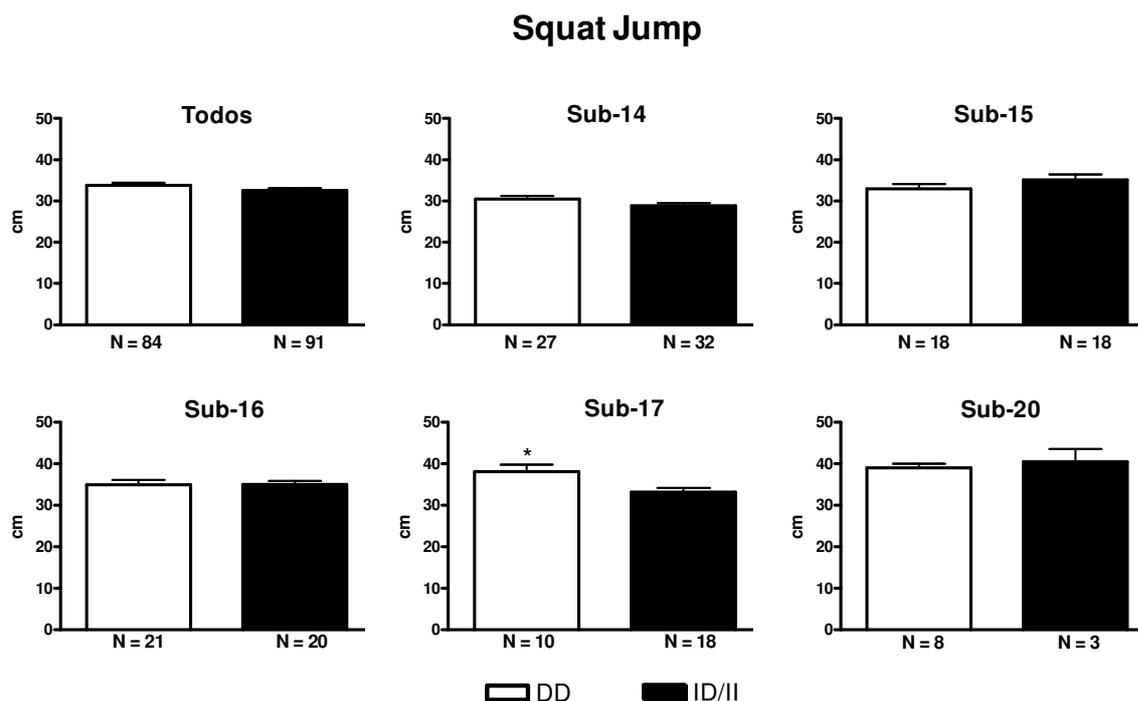


Figura 18: Desempenho dos atletas no teste *Squat Jump* (cm) antes da subdivisão em categorias (Todos) e de acordo com as categorias: Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20. DD = genótipo de deleção, ID = heterozigotos e II = genótipo de inserção. * vs ID/II, $p < 0,05$.

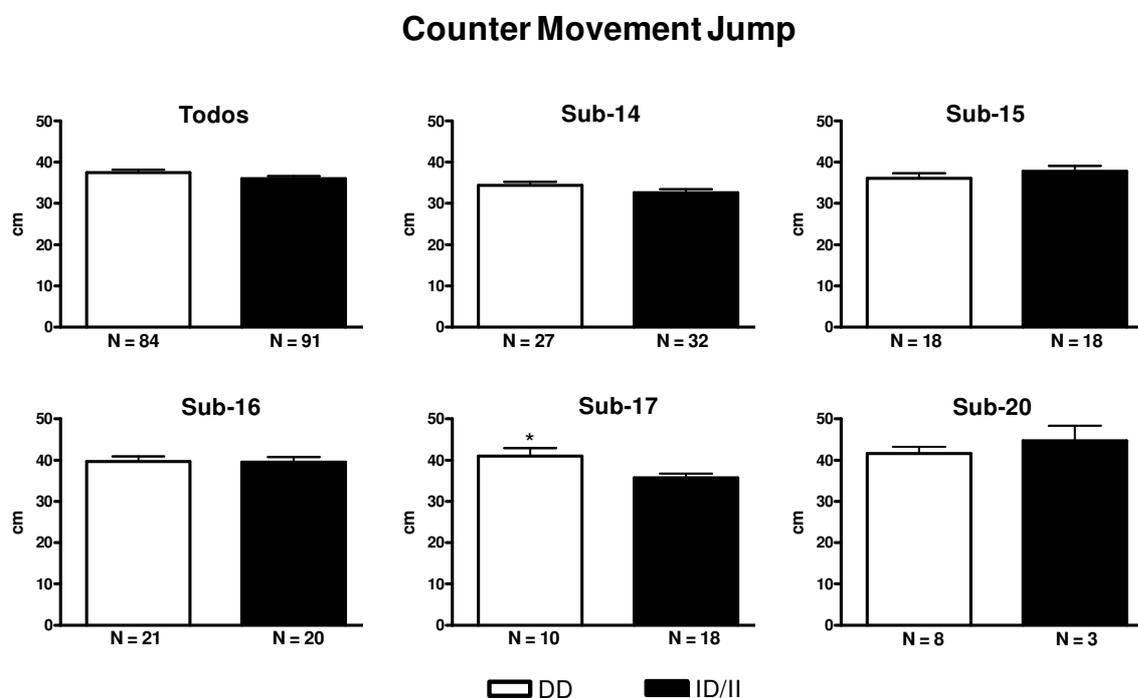


Figura 19: Desempenho dos atletas no teste *Counter Movement Jump* (cm) antes da subdivisão em categorias (Todos) e de acordo com as categorias: Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20. DD = genótipo de deleção, ID = heterozigotos e II = genótipo de inserção. * vs ID/II, $p < 0,05$.

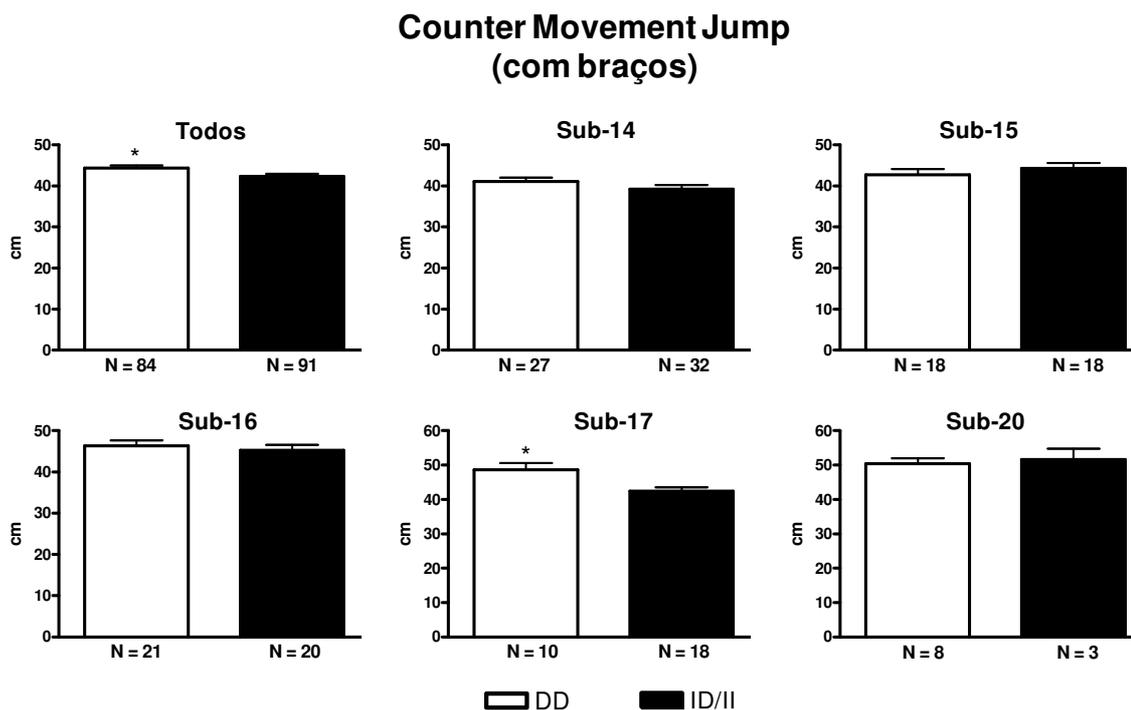


Figura 20: Desempenho dos atletas no teste *Counter Movement Jump* com os braços (cm) antes da subdivisão em categorias (Todos) e de acordo com as categorias: Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20. DD = genótipo de deleção, ID = heterozigotos e II = genótipo de inserção. * vs ID/II, $p < 0,05$.

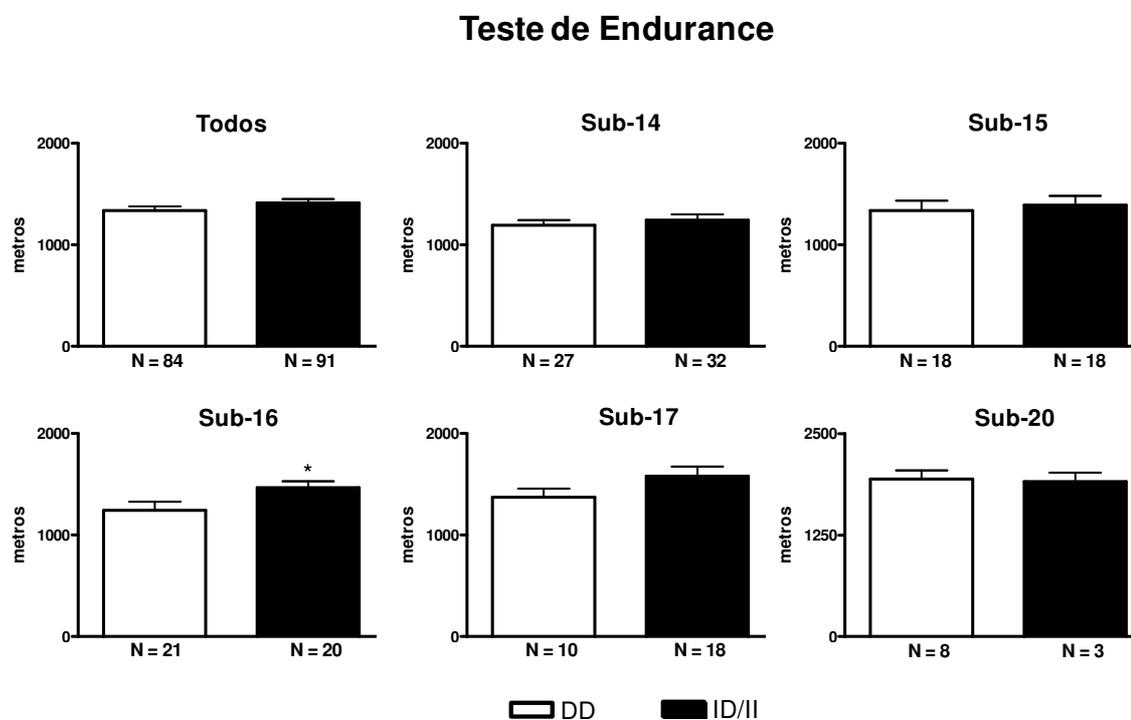


Figura 21: Desempenho dos atletas no teste de Endurance (m) antes da subdivisão em categorias (Todos) e de acordo com as categorias: Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20. DD = genótipo de deleção, ID = heterozigotos e II = genótipo de inserção. * vs DD, $p < 0,05$.

O genótipo DD do gene da ECA também favoreceu os atletas no teste de velocidade na distância de 30 m percorridos. Jogadores da categoria Sub-14 com o referido genótipo DD foram mais velozes comparados aos jogadores com os genótipos ID/II (DD = $4,29 \pm 0,19$ s vs ID/II = $4,40 \pm 0,16$ s, $p = 0,02$). O mesmo pôde ser visto para os atletas da categoria Sub-17 (DD = $4,07 \pm 0,15$ s vs ID/II = $4,20 \pm 0,13$, $p = 0,04$) (Figura 25). Para as outras distâncias também analisadas, nenhuma diferença significativa foi encontrada (Figuras 22, 23 e 24).

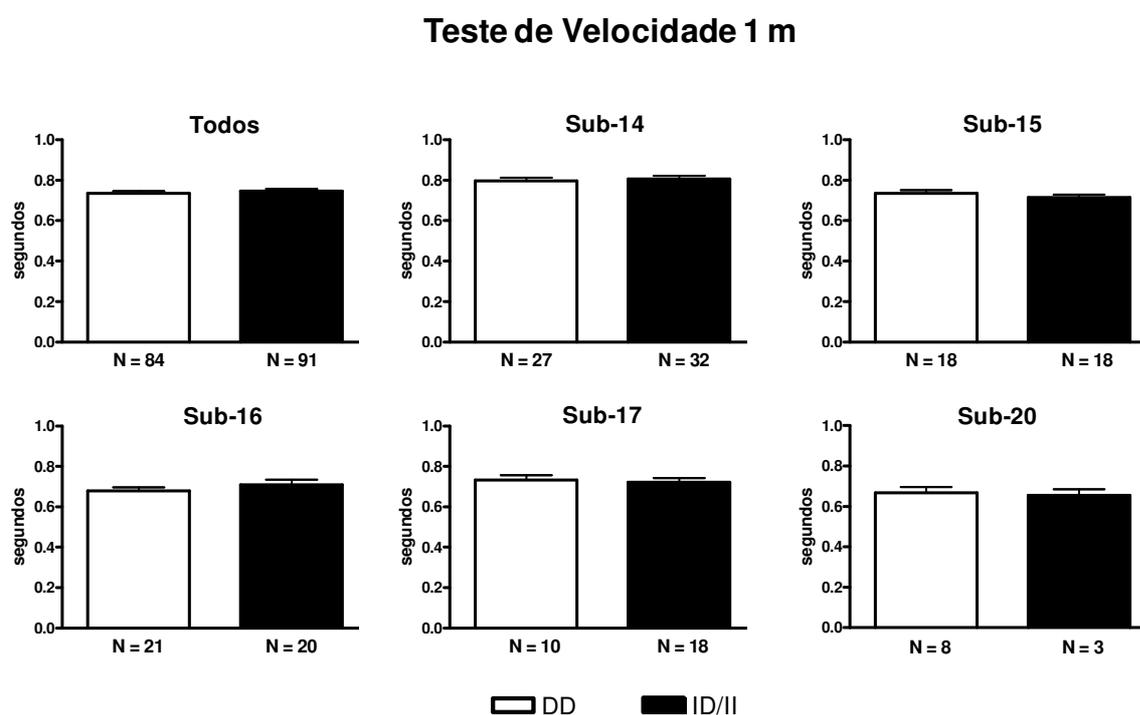


Figura 22: Desempenho dos atletas no teste de Velocidade de deslocamento (s), distância de 1 m, antes da subdivisão em categorias (Todos) e de acordo com as categorias: Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20. DD = genótipo de deleção, ID = heterozigotos e II = genótipo de inserção.

Teste de Velocidade 10 m

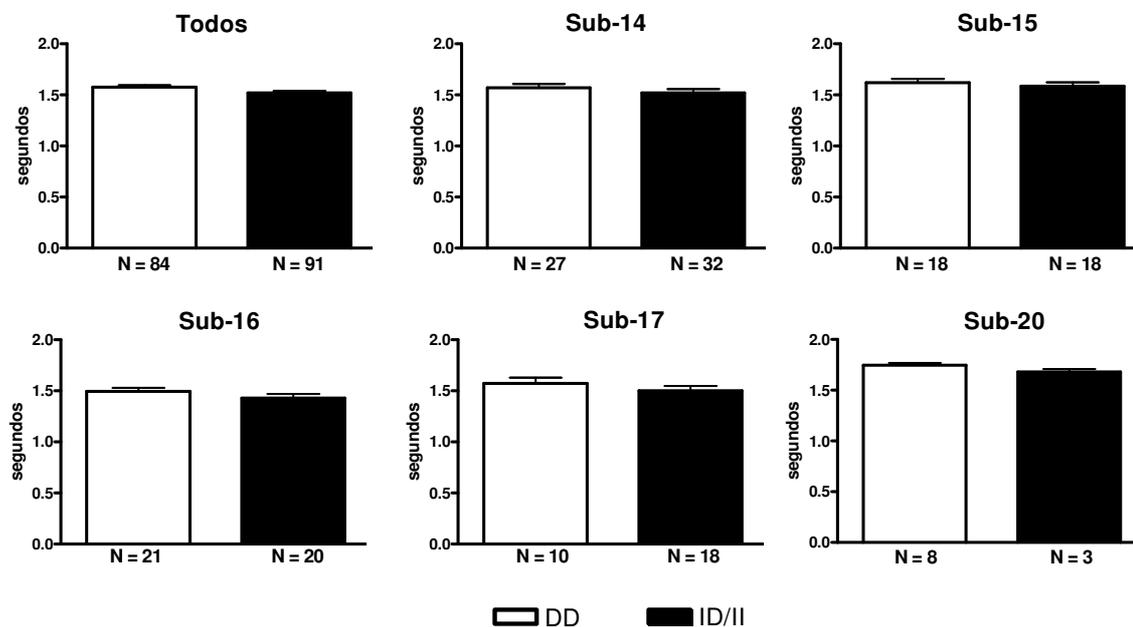


Figura 23: Desempenho dos atletas no teste de Velocidade de deslocamento (s), distância de 10 m, antes da subdivisão em categorias (Todos) e de acordo com as categorias: Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20. DD = genótipo de deleção, ID = heterozigotos e II = genótipo de inserção.

Teste de Velocidade 20 m

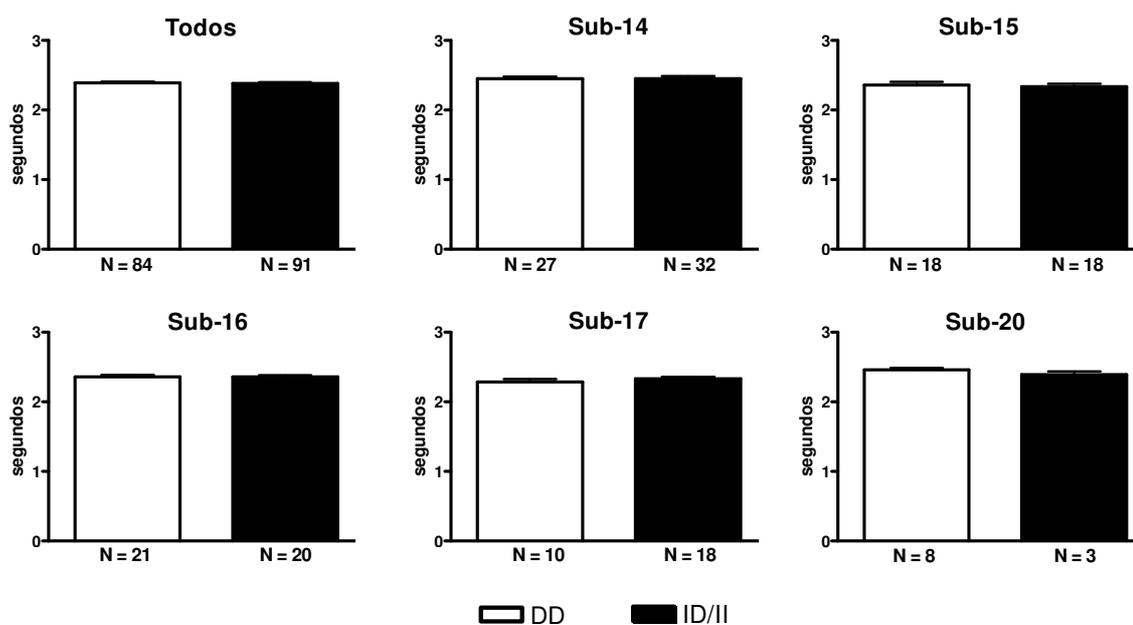


Figura 24: Desempenho dos atletas no teste de Velocidade de deslocamento (s), distância de 20 m, antes da subdivisão em categorias (Todos) e de acordo com as categorias: Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20. DD = genótipo de deleção, ID = heterozigotos e II = genótipo de inserção.

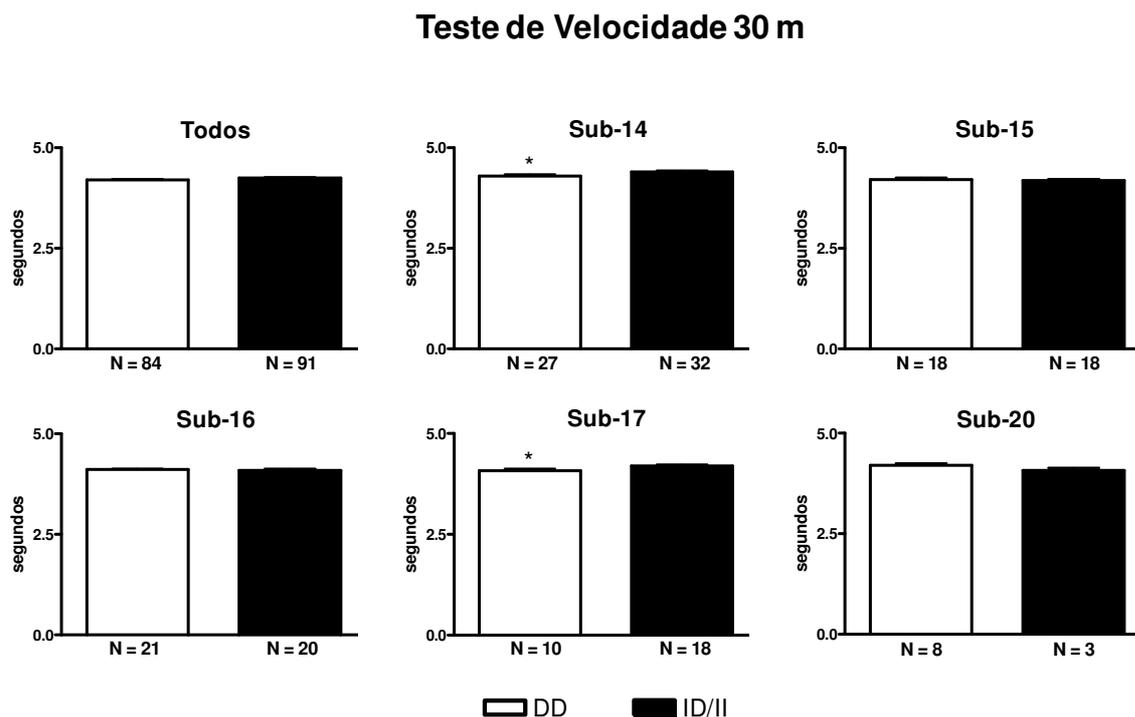


Figura 25: Desempenho dos atletas no teste de Velocidade de deslocamento (s), distância de 30 m, antes da subdivisão em categorias (Todos) e de acordo com as categorias: Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20. DD = genótipo de deleção, ID = heterozigotos e II = genótipo de inserção. * vs ID/II, $p < 0,05$.

5.4 Polimorfismo no gene AGT e o desempenho motor dos atletas

Dos 220 atletas genotipados para o polimorfismo do AGT, 28 % possuíam o genótipo MM, 52 % eram heterozigotos e 20 % possuíam o genótipo TT. Os genótipos dos 175 atletas que fizeram os testes físicos, após distribuição de acordo com as diferentes categorias, podem ser observados na Tabela 6.

Tabela 6: Distribuição genotípica por idade do gene AGT dos atletas que realizaram os testes físicos.

AGT	Atletas que fizeram os testes	MM	MT	TT
Sub-14	59	17/59 (29 %)	32/59 (54 %)	10/59 (17 %)
Sub-15	36	11/36 (31 %)	17/36 (47 %)	8/36 (22 %)
Sub-16	41	13/41 (32 %)	23/41 (56 %)	5/41 (12 %)
Sub-17	28	10/28 (36 %)	12/28 (43 %)	6/28 (21 %)
Sub-20	11	0	8/11 (72 %)	3/11 (28 %)

Distribuição genotípica do polimorfismo no gene AGT dos atletas subdivididos nas categorias Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20. MM = homocigotos ancestrais, MT = heterocigotos e TT = homocigotos mutados.

Como se pode observar, não foi possível detectar diferenças significativas entre os grupos analisados para todos os testes físicos realizados. Nem mesmo antes da subdivisão dos atletas nos subgrupos propostos detectou-se influência do polimorfismo do gene AGT nos testes de saltos, velocidade e endurance (Figuras de 26 a 33).

Squat Jump

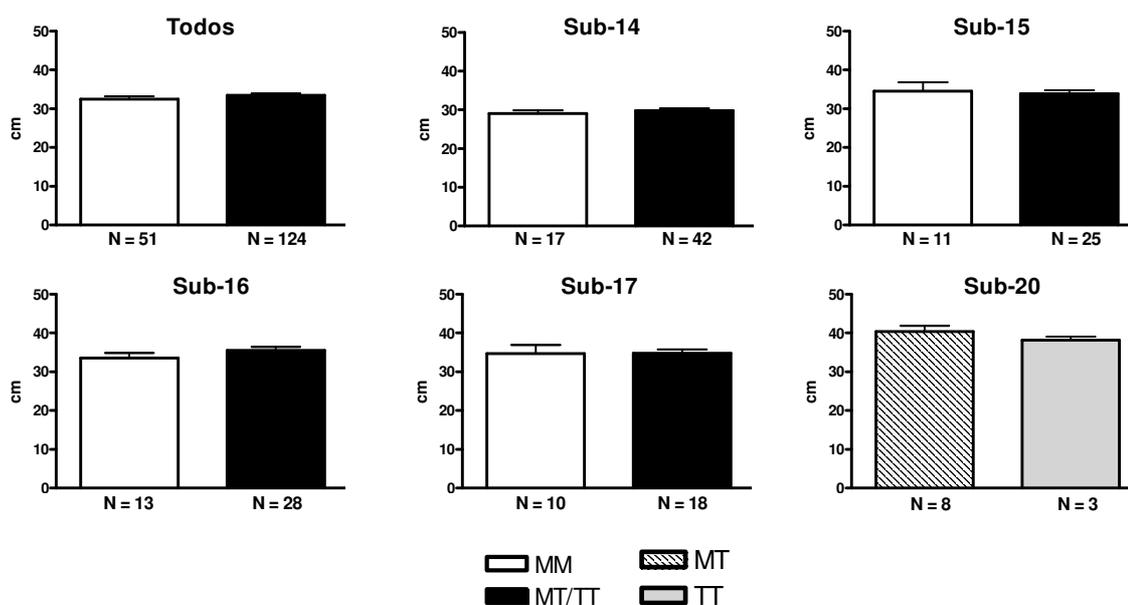


Figura 26: Desempenho dos atletas no teste *Squat Jump* (cm) antes da subdivisão em categorias (Todos) e de acordo com as categorias: Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20. MM = homocigotos ancestrais, MT = heterocigotos e TT = homocigotos mutados.

Counter Movement Jump

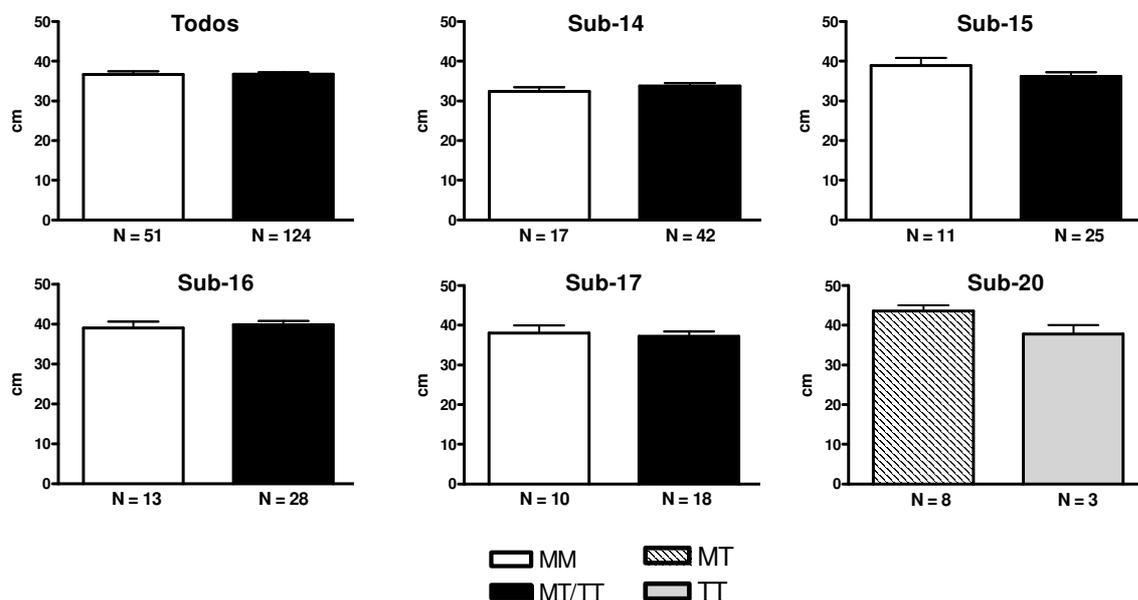


Figura 27: Desempenho dos atletas no teste *Counter Movement Jump* (cm) antes da subdivisão em categorias (Todos) e de acordo com as categorias: Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20. MM = homozigotos ancestrais, MT = heterozigotos e TT = homozigotos mutados.

Counter Movement Jump (com braços)

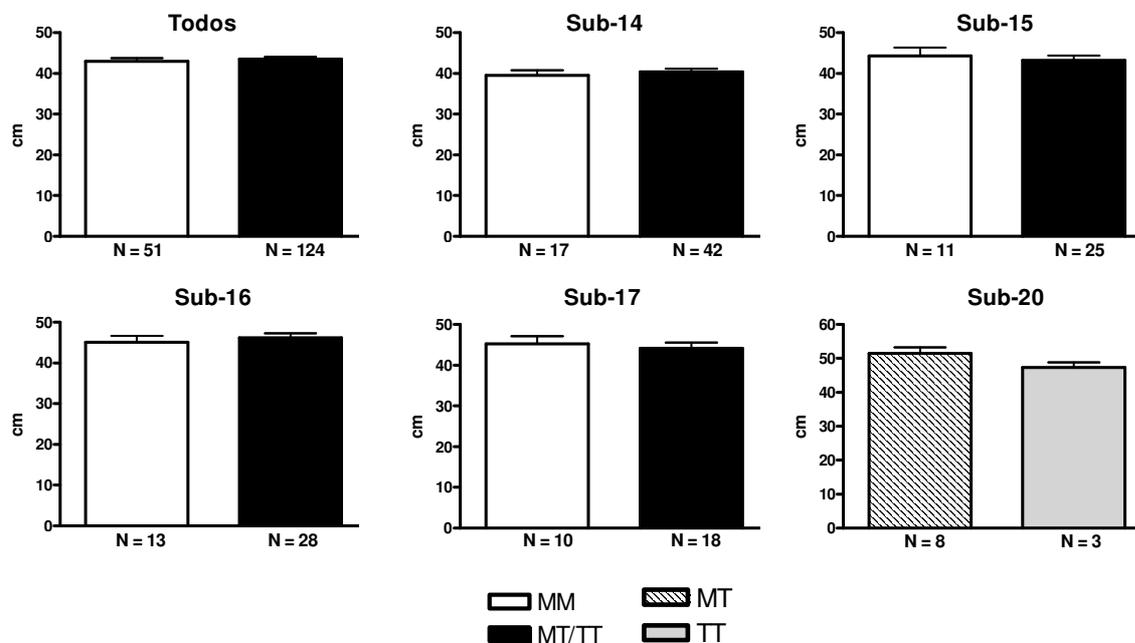


Figura 28: Desempenho dos atletas no teste *Counter Movement Jump* com os braços (cm) antes da subdivisão em categorias (Todos) e de acordo com as categorias: Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20. MM = homozigotos ancestrais, MT = heterozigotos e TT = homozigotos mutados.

Teste de Endurance

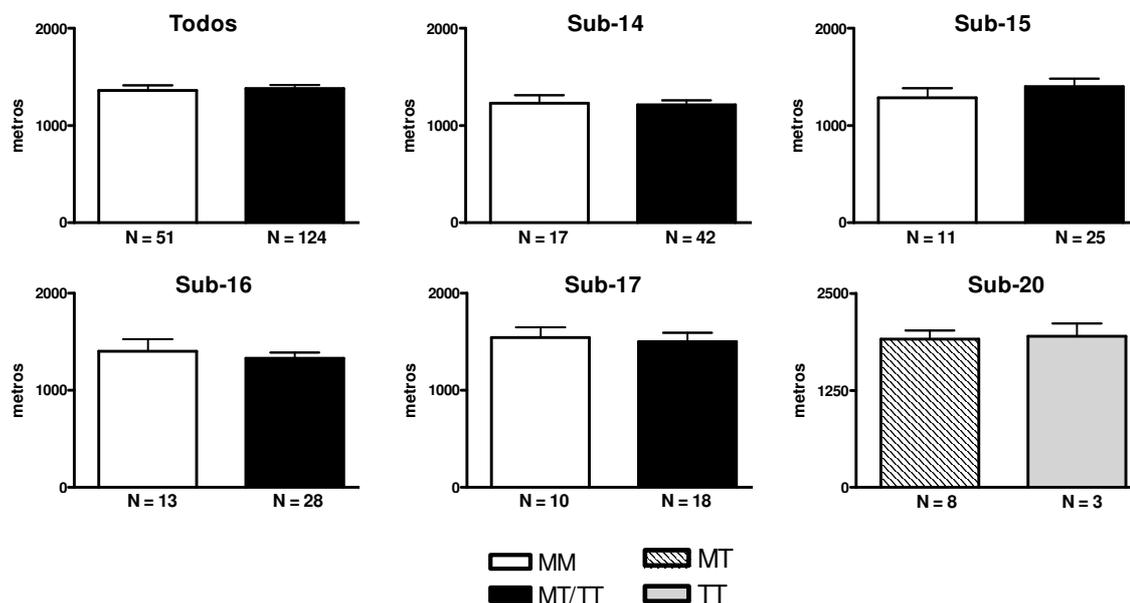


Figura 29: Desempenho dos atletas no teste de Endurance (m) antes da subdivisão em categorias (Todos) e de acordo com as categorias: Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20. MM = homozigotos ancestrais, MT = heterozigotos e TT = homozigotos mutados.

Teste de Velocidade 1 m

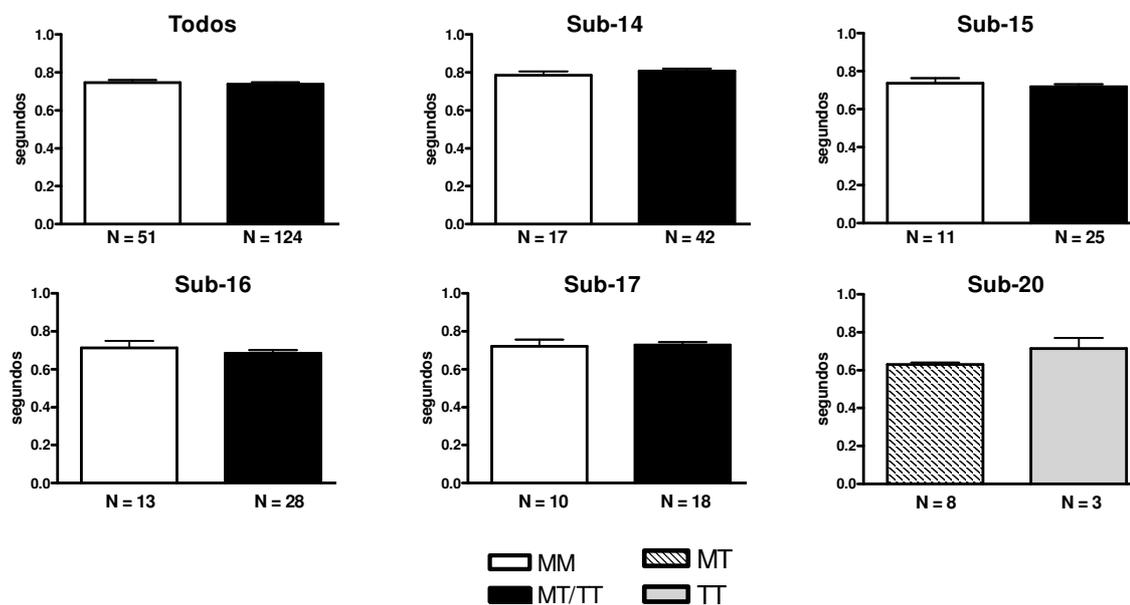


Figura 30: Desempenho dos atletas no teste de Velocidade de deslocamento (s), distância de 1 m, antes da subdivisão em categorias (Todos) e de acordo com as categorias: Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20. MM = homozigotos ancestrais, MT = heterozigotos e TT = homozigotos mutados.

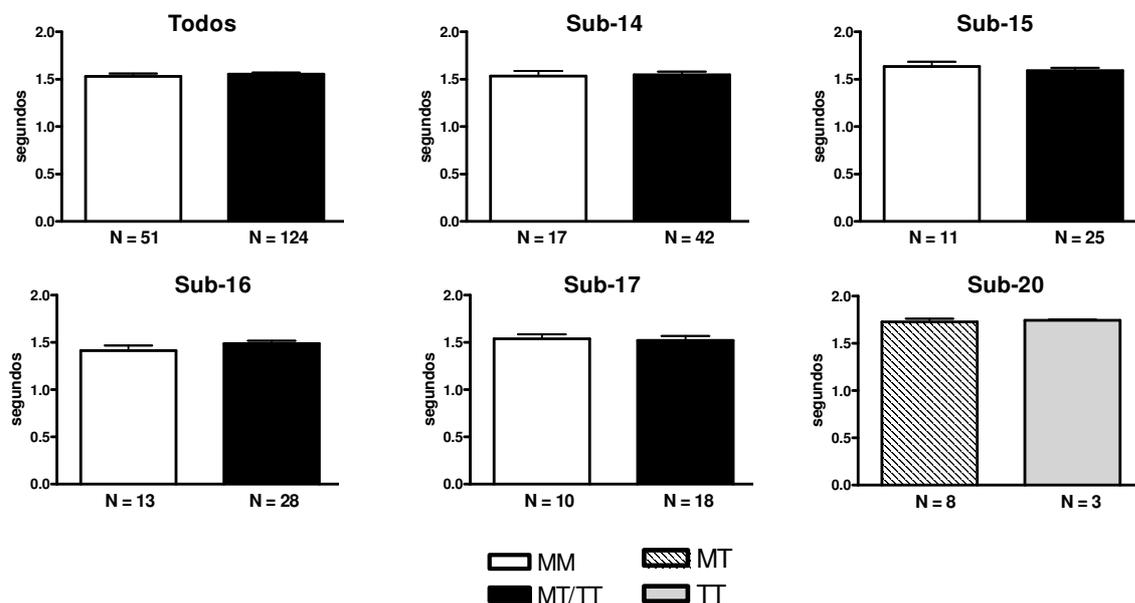
Teste de Velocidade 10 m

Figura 31: Desempenho dos atletas no teste de Velocidade de deslocamento (s), distância de 10 m, antes da subdivisão em categorias (Todos) e de acordo com as categorias: Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20. MM = homozigotos ancestrais, MT = heterozigotos e TT = homozigotos mutados.

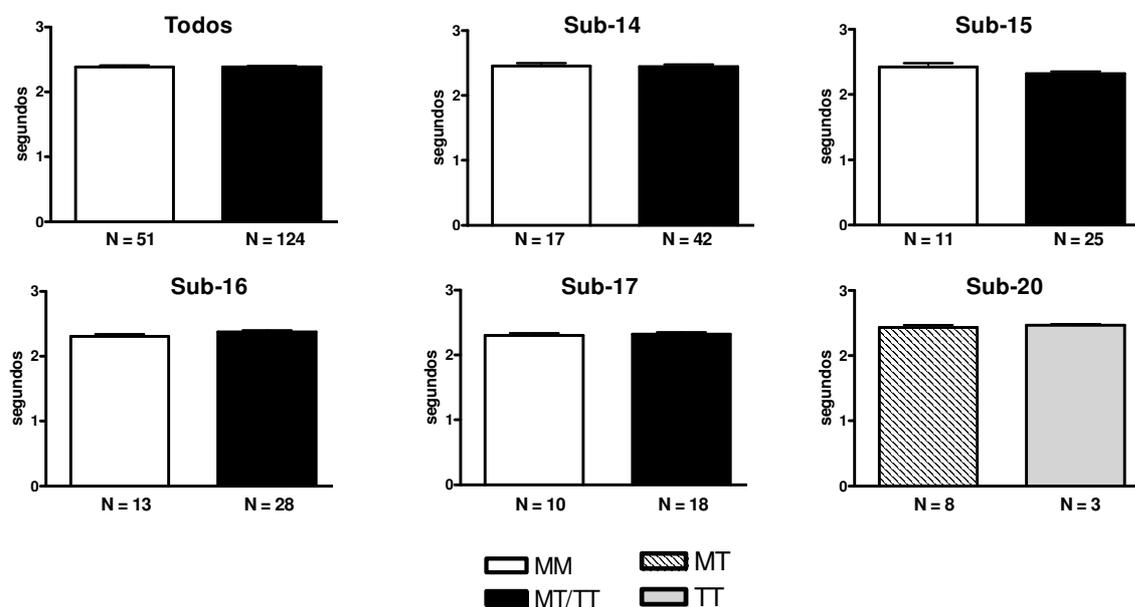
Teste de Velocidade 20 m

Figura 32: Desempenho dos atletas no teste de Velocidade de deslocamento (s), distância de 20 m, antes da subdivisão em categorias (Todos) e de acordo com as categorias: Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20. MM = homozigotos ancestrais, MT = heterozigotos e TT = homozigotos mutados.

Teste de Velocidade 30 m

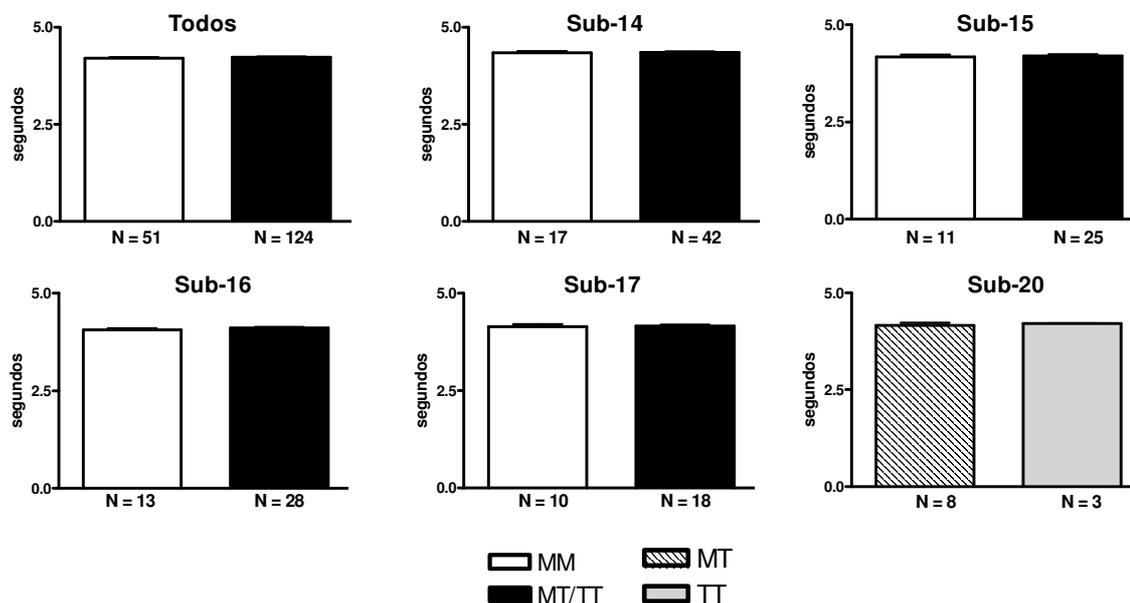


Figura 33: Desempenho dos atletas no teste de Velocidade de deslocamento (s), distância de 30 m, antes da subdivisão em categorias (Todos) e de acordo com as categorias: Sub-14, Sub-15, Sub-16, Sub-17 e Sub-20. MM = homozigotos ancestrais, MT = heterozigotos e TT = homozigotos mutados.

5.5 Combinação dos genótipos XX (ACTN3) e II (ECA) e desempenho dos atletas no teste de endurance

Como visto anteriormente, os genótipos XX e II podem favorecer os atletas em provas que demandam resistência aeróbia. Porém, após o agrupamento dos atletas com esta combinação genotípica, não se detectou diferença significativa após comparação com os atletas com os genótipos RR/DD ou atletas com todas as outras combinações genotípicas possíveis (Figura 34).

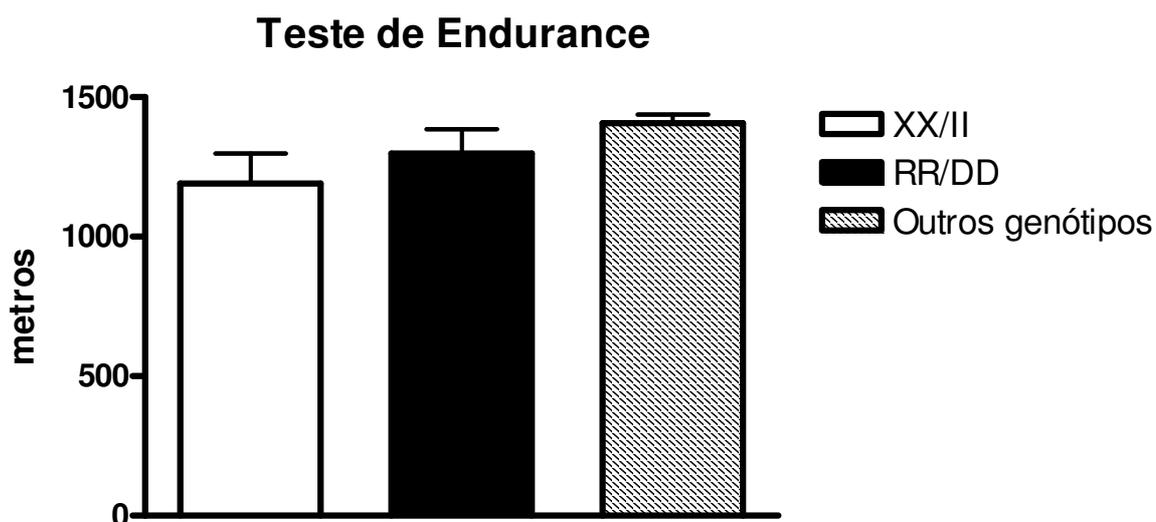


Figura 34: Desempenho dos atletas no teste de endurance (metros). XX/II = homozigotos mutados para ACTN3 e genótipo de inserção para ECA; RR/DD = homozigotos ancestrais para ACTN3 e genótipo de inserção para ECA; Outros genótipos = todas as outras combinações possíveis de genótipos para os genes ACTN3 e ECA.

5.6 Combinações dos genótipos dos polimorfismos nos genes ACTN3, AMPD1, ECA e AGT e o desempenho dos atletas

Previamente à separação dos atletas em grupos de acordo com a idade, o objetivo neste tópico foi tentar encontrar as possíveis associações entre os genótipos dos diferentes polimorfismos estudados com o desempenho. Para tanto, os atletas foram ranqueados de acordo com os genótipos apresentados para cada gene podendo obter escores entre 1 e 8. Feito isso, dois grupos foram gerados, ou seja, o grupo de atletas com escore entre 1 e 4 e o grupo formado por atletas com escore entre 5 e 8. Vale destacar que este escalonamento foi feito ora privilegiando as características de força e explosão muscular, ora as características de endurance.

Quando se privilegiaram as características de força e explosão muscular, foi possível detectar que os atletas com o escore entre 5 e 8 saltaram significativamente mais alto comparados ao grupo com escore entre 1 e 4 no teste *Squat Jump* (Escore 5 a 8 = $33,80 \pm 5,16$ cm vs Escore 1 a 4 = $31,60 \pm 5,22$ cm, $p = 0,01$) e no teste *Counter Movement Jump* (Escore 5 a 8 = $43,90 \pm 6,85$ cm vs Escore 1 a 4 = $41,87 \pm$

5,98 cm, $p = 0,04$). Para os outros testes não foram detectadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos avaliados (Figura 35).

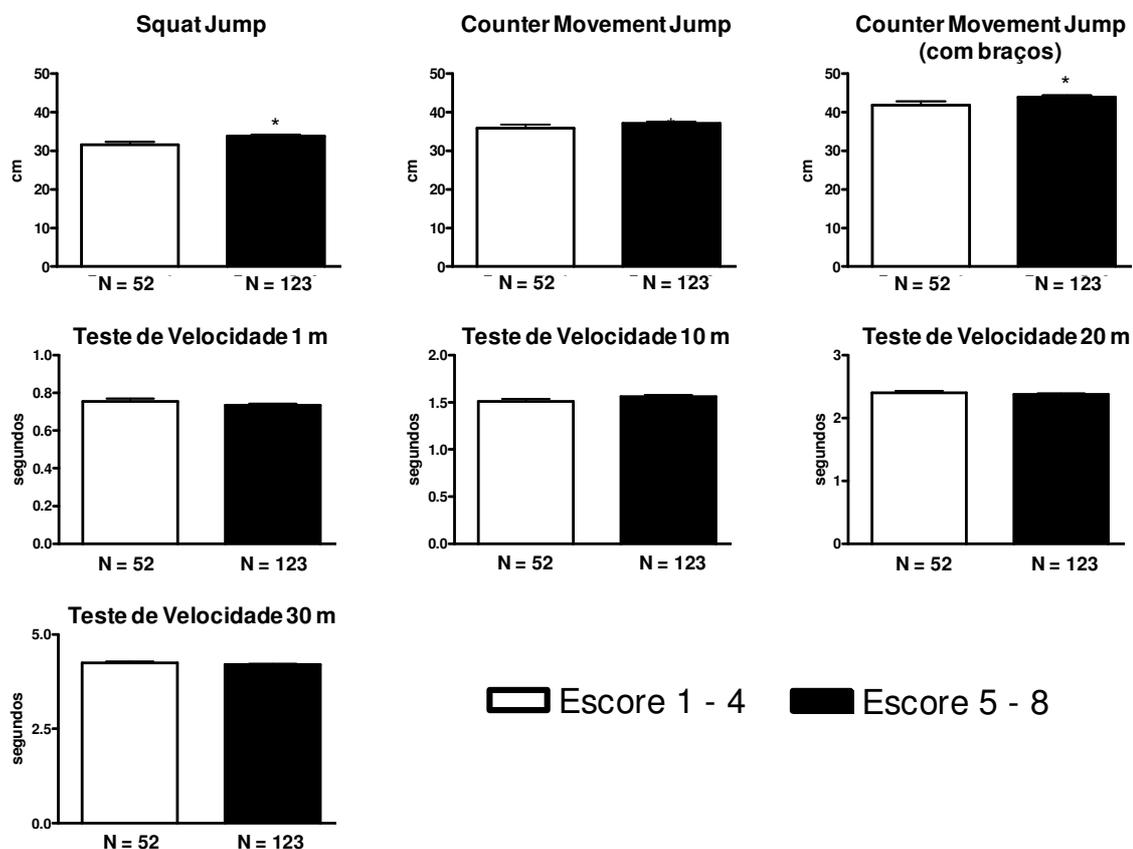


Figura 35: Desempenho dos atletas nos testes físicos que requerem força e explosão muscular de acordo com o escore atingido após a análise dos genótipos de todos os genes estudados. Foram adotados escore 2 para os genótipos RR (ACTN3), CC (AMPD1), DD (ECA) e TT (AGT); escore 1 para os heterozigotos para todos os genes, e escore 0 (zero) para os genótipos XX (ACTN3), TT (AMPD1), II (ECA) e MM (AGT). * vs escore de 1 a 4.

Quando se privilegiou a característica de endurance, não se observou diferença estatística durante o teste correspondente (Figura 36).

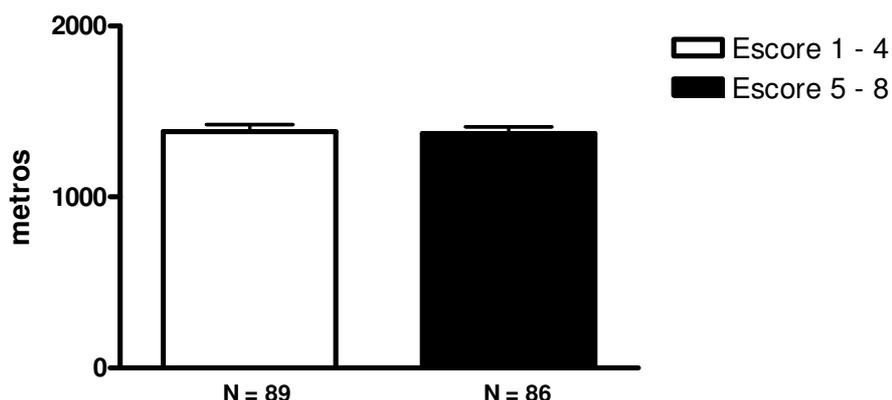


Figura 36: Desempenho dos atletas no teste de endurance de acordo com o escore atingido após a análise dos genótipos de todos os genes estudados. Foram adotados escore 2 para os genótipos XX (ACTN3), CC (AMPD1), II (ECA) e MM (AGT); escore 1 para os heterozigotos para todos os genes, e escore 0 (zero) para os genótipos RR (ACTN3), TT (AMPD1), DD (ECA) e TT (AGT).

5.7 Polimorfismos nos genes AGT e ECA e alguns parâmetros hemodinâmicos e cardíacos dos atletas

Após a análise dos polimorfismos separadamente em todos os atletas, notou-se que os atletas com o genótipo TT do gene AGT apresentaram massa do ventrículo esquerdo (VE) significativamente maior comparados aos atletas com genótipos MM ou MT (TT = $114,6 \pm 105,2$ vs $94,78 \pm 21,08$ e $92,16 \pm 18,88$ g/m² para MM e MT respectivamente, $p = 0,04$) (Figura 37). Para todos os outros parâmetros hemodinâmicos e cardíacos avaliados, o polimorfismo no gene do AGT não apresentou influência alguma (Figuras 37 e 38).

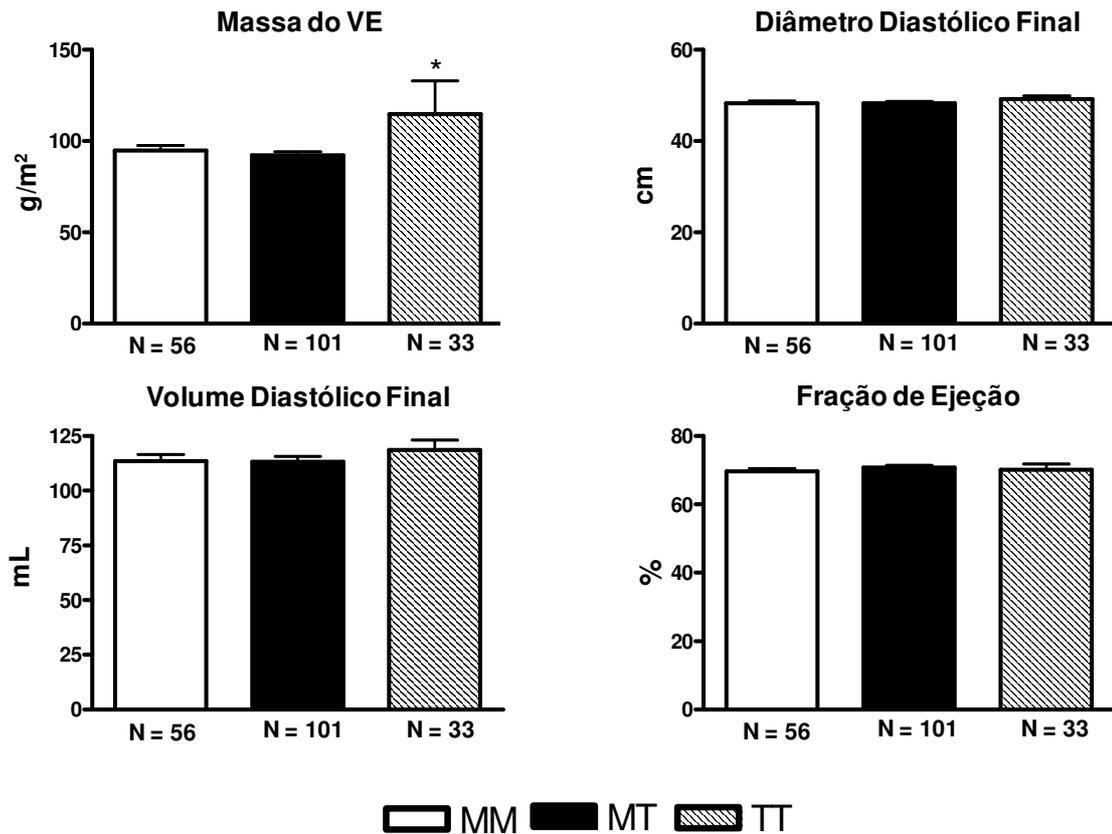


Figura 37: Massa do Ventrículo Esquerdo (g/m^2), Diâmetro Diastólico Final (cm), Volume Diastólico Final (mL) e Fração de Ejeção do Ventrículo Esquerdo (%) de acordo com os possíveis genótipos do gene AGT. MM = homocigotos ancestrais, MT = heterocigotos e TT = homocigotos mutados. * vs MM e MT.

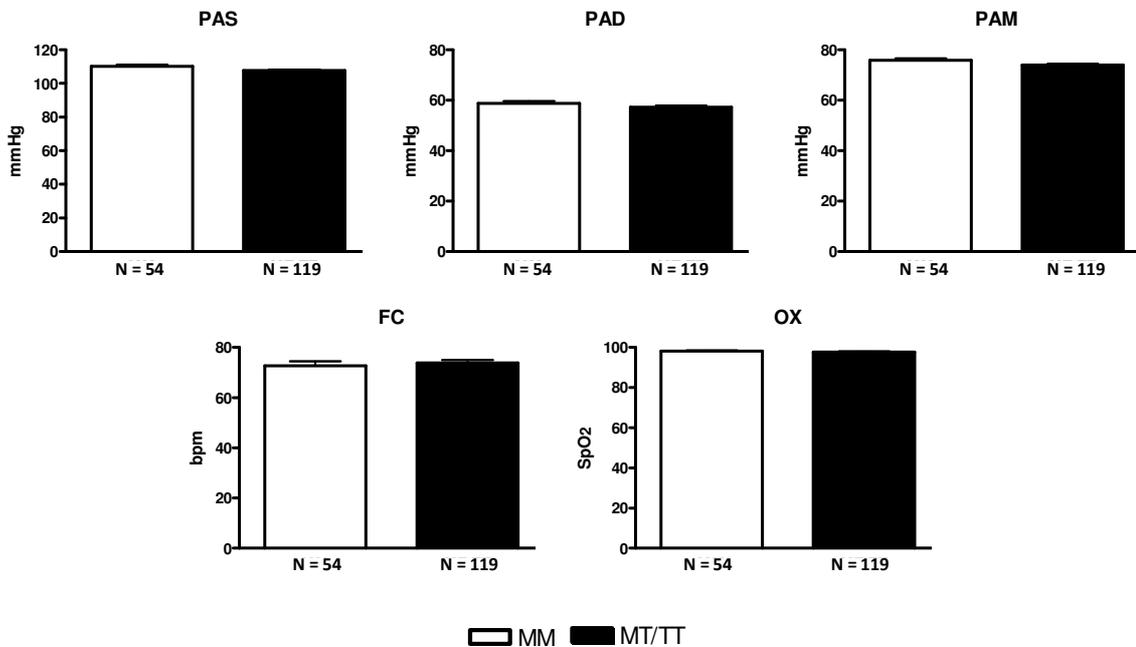


Figura 38: Pressão Arterial Sistólica (PAS, mmHg), Pressão Arterial Diastólica (PAD, mmHg), Pressão Arterial Média (PAM, mmHg), Frequência Cardíaca (FC, batimentos/min) e Oximetria – Saturação de Oxigênio (OX, %) de acordo com os possíveis genótipos do gene AGT. MM = homocigotos ancestrais, MT/TT = heterocigotos e homocigotos mutados.

Os atletas com o genótipo DD para o gene da ECA também apresentaram uma maior e significativa massa do VE comparados àqueles com genótipos II ou ID (DD = $96,95 \pm 19,96$ vs $91,67 \pm 21,09$ e $90,14 \pm 21,58$ g/m² para II e ID respectivamente, $p = 0,02$) (Figura 39). Além disso, a fração de ejeção nestes atletas com maior massa ventricular foi significativamente maior em comparação aos outros atletas com genótipos II ou ID (DD = $71,73 \pm 7,71$ vs $68,59 \pm 5,72$ e $69,8 \pm 6,51$ % para II e ID respectivamente, $p = 0,02$) (Figura 39). Para todos os outros parâmetros hemodinâmicos e cardíacos, não foi possível detectar diferenças significativas entre os grupos avaliados (Figuras 38 e 39).

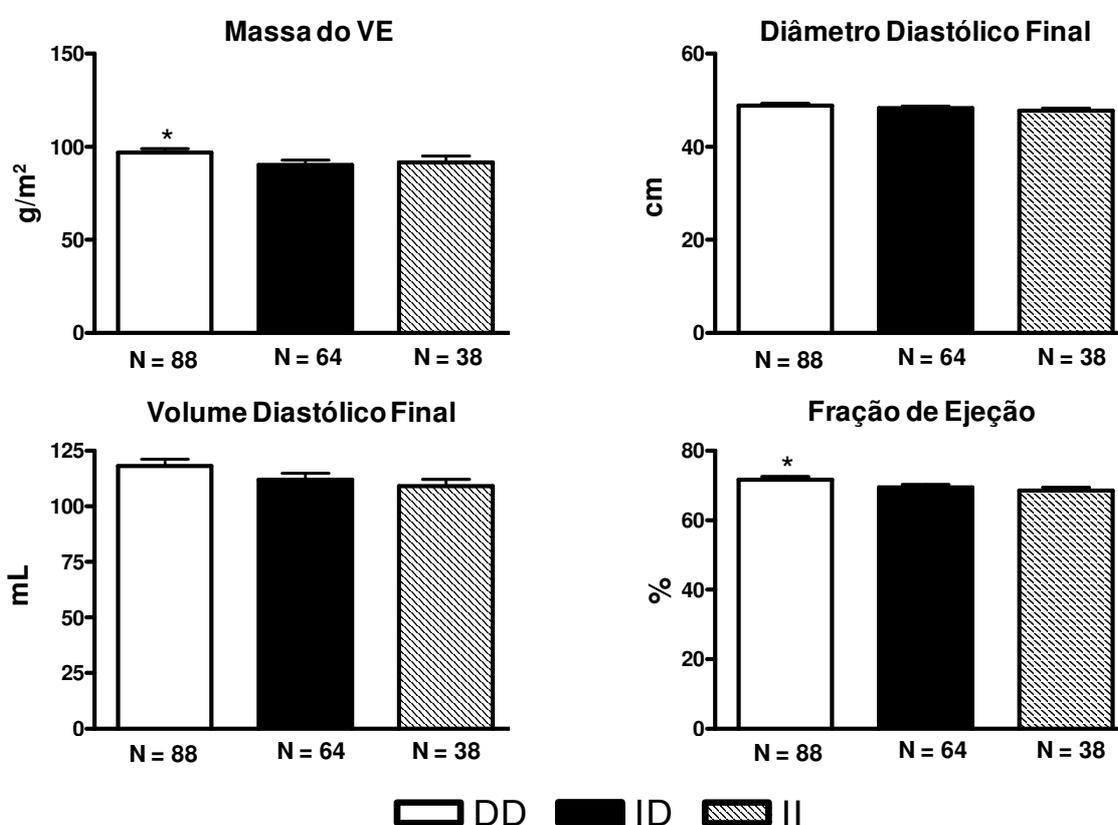


Figura 39: Massa do Ventrículo Esquerdo (g/m²), Diâmetro Diastólico Final (cm), Volume Diastólico Final (mL) e Fração de Ejeção do Ventrículo Esquerdo (%) de acordo com os possíveis genótipos do gene da ECA. DD = genótipo de deleção, ID = heterozigotos e II = genótipo de inserção. * vs II e ID.

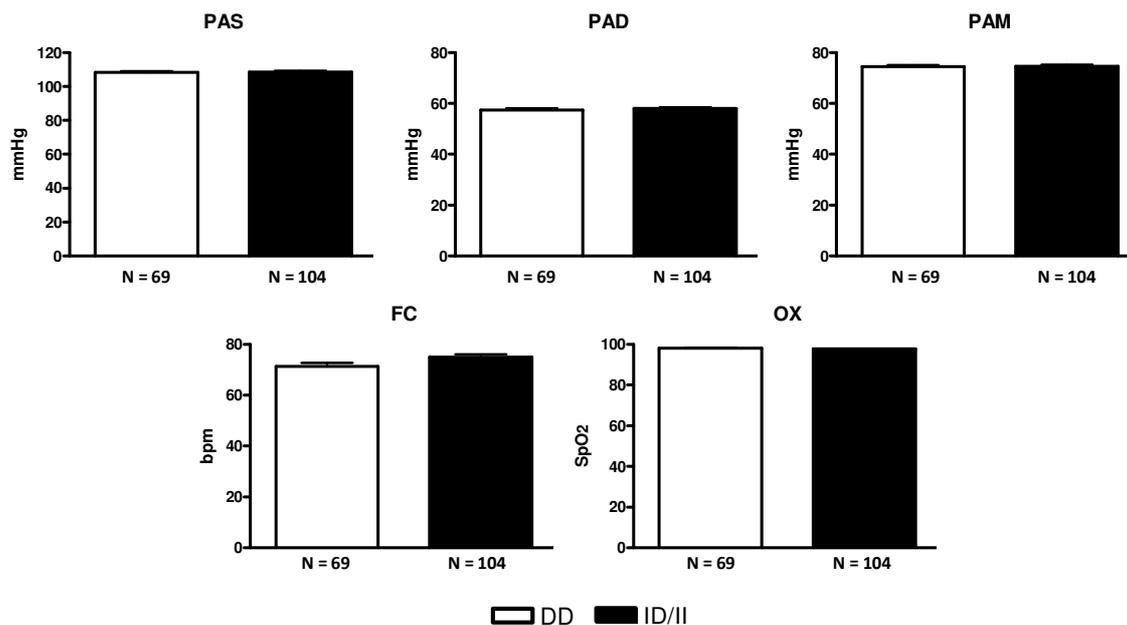


Figura 40: Pressão Arterial Sistólica (PAS, mmHg), Pressão Arterial Diastólica (PAD, mmHg), Pressão Arterial Média (PAM, mmHg), Frequência Cardíaca (FC, batimentos/min) e Oximetria – Saturação de Oxigênio (OX, %) de acordo com os possíveis genótipos do gene da ECA. DD = genótipo de deleção, ID/II = heterozigotos e genótipo de inserção.

Quando avaliados de forma conjunta, os genótipos DD da ECA e TT do AGT não acarretaram modificação na massa ventricular esquerda dos atletas comparados àqueles com os genótipos II/MM, e também comparados aos jogadores com todas as outras combinações de genótipos. O mesmo resultado pode ser observado para todos os outros parâmetros cardíacos e hemodinâmicos avaliados (Figuras 40 e 41).

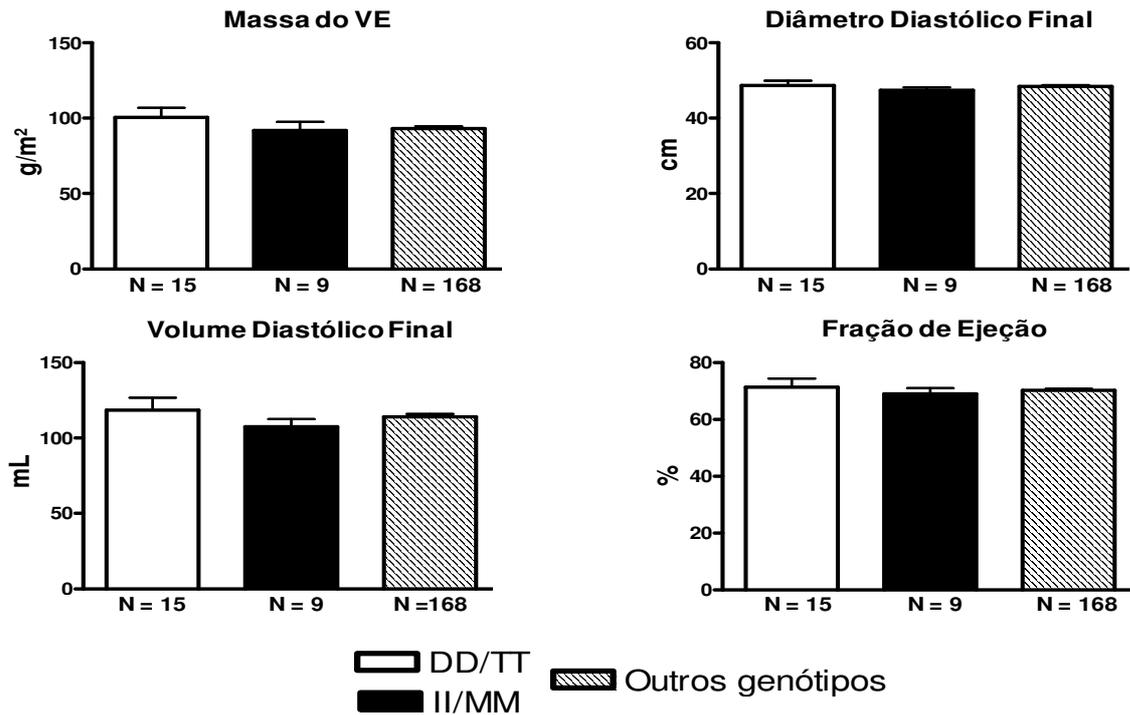


Figura 41: Massa do Ventrículo Esquerdo (g/m²), Diâmetro Diastólico Final (cm), Volume Diastólico Final (mL) e Fração de Ejeção do Ventrículo Esquerdo (%) de acordo com as combinações dos genótipos dos gene da ECA e do AGT. DD/TT = genótipo de deleção para o gene da ECA mais homocigotos mutados para o gene do AGT, II/MM = genótipo de inserção para o gene da ECA mais homocigotos ancestrais para o gene do AGT e Outros genótipos = todas as outras combinações genóticas possíveis entre os genes da ECA e AGT.

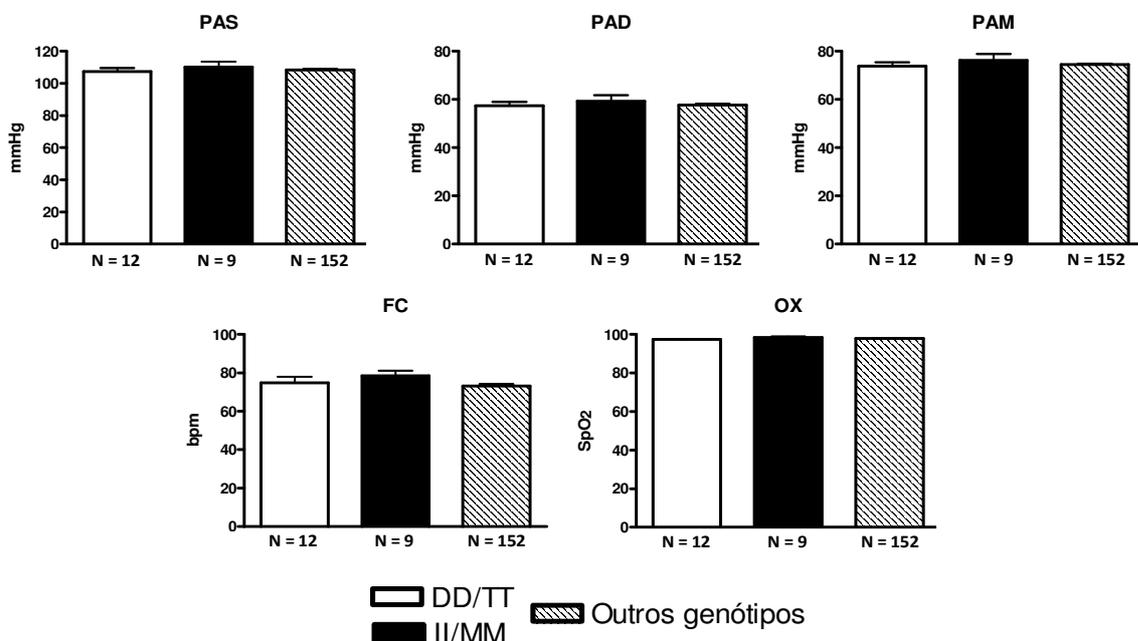


Figura 42: Pressão Arterial Sistólica (PAS, mmHg), Pressão Arterial Diastólica (PAD, mmHg), Pressão Arterial Média (PAM, mmHg), Frequência Cardíaca (FC, batimentos/min) e Oximetria – Saturação de Oxigênio (OX, %) de acordo com as combinações dos genótipos dos gene da ECA e do AGT. DD/TT = genótipo de deleção para o gene da ECA mais homocigotos mutados para o gene do AGT, II/MM = genótipo de inserção para o gene da ECA mais homocigotos ancestrais para o gene do AGT e Outros genótipos = todas as outras combinações genóticas possíveis entre os genes da ECA e AGT.

5.7 Correlação entre massa do ventrículo esquerdo e fração de ejeção

Os atletas com genótipo DD (ECA) apresentaram simultaneamente maior massa do VE e maior fração de ejeção. Contudo, após não foi possível detectar correlação entre estes dois parâmetros (Figura 43). Além disso, correlação alguma fora encontrada entre a fração de ejeção e o teste de endurance (Figura 44).

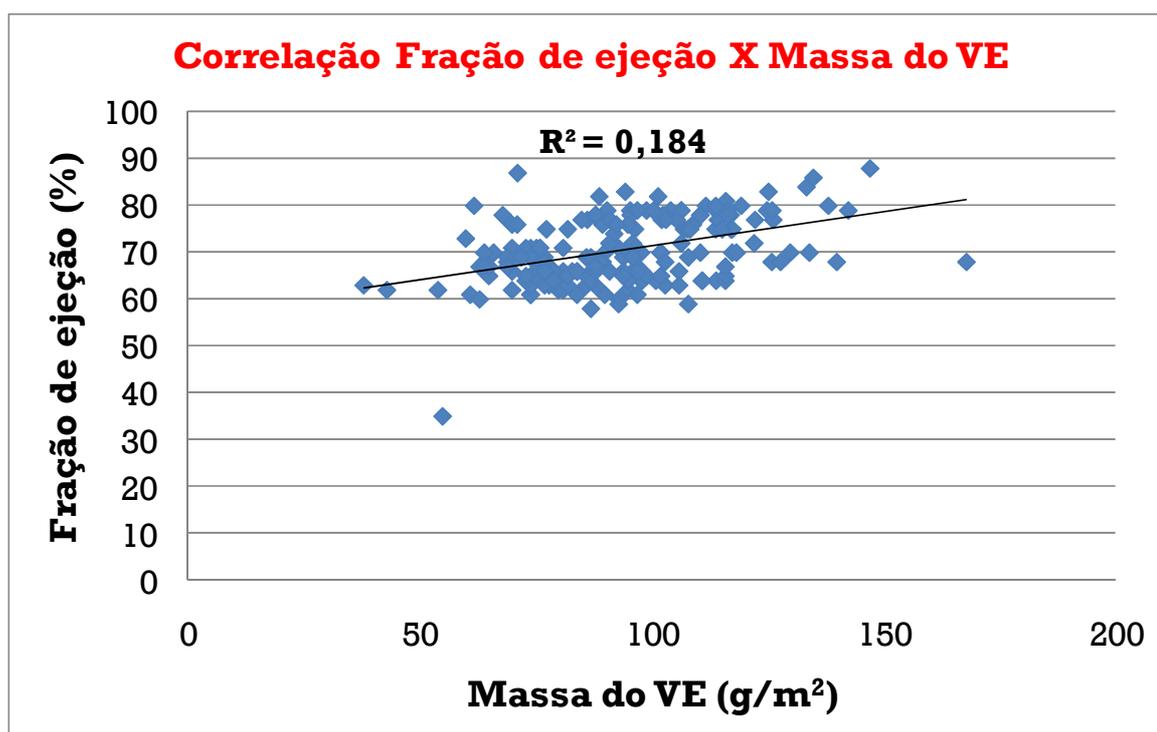


Figura 43: Correlação entre a fração de ejeção do ventrículo esquerdo (%) e a massa do ventrículo esquerdo (g/m^2) dentre todos os atletas avaliados.

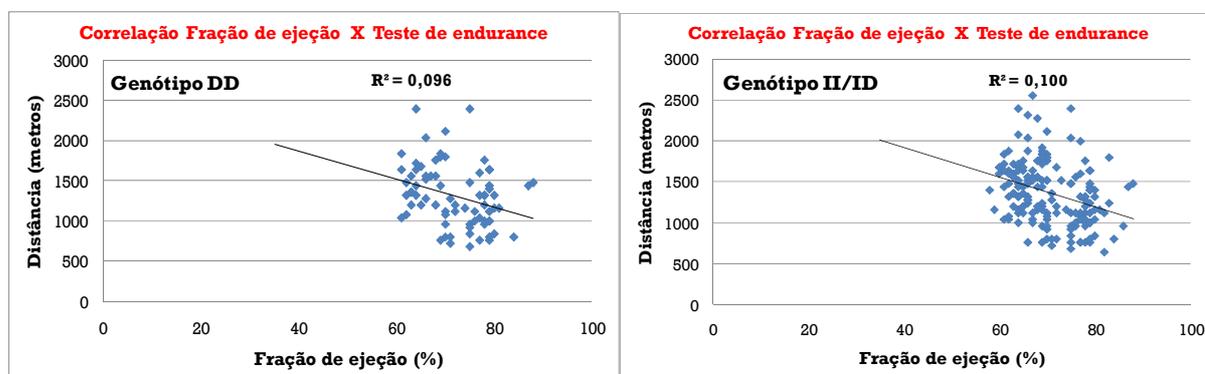


Figura 44: Correlação entre a fração de ejeção do ventrículo esquerdo (%) e o desempenho no teste de endurance (m) para os atletas com o genótipo DD (genótipo de deleção para o gene ECA) e II/ID (genótipo de inserção e heterozigotos para o gene ECA).

6 DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo permitem sugerir que as características genéticas podem contribuir para o desempenho humano. Fora aqui demonstrado que com relação ao polimorfismo no gene ACTN3, mesmo antes da subdivisão dos atletas em suas respectivas categorias, detectou-se que os atletas com os genótipos RR/RX apresentaram melhores desempenhos em todos os testes de saltos quando comparados aos atletas com genótipo XX. Estes resultados estão em concordância com os achados da literatura, uma vez que o gene ACTN3 codifica uma proteína de mesmo nome que é componente da linha Z sarcomérica do músculo, conferindo melhor ancoramento dos miofilamentos de actina, além de ajudar na manutenção do arranjo muscular (14, 33).

Com relação à modalidade esportiva futebol, este presente trabalho é um dos poucos estudos que associa o desempenho em testes físicos inerentes aos jogadores de futebol com polimorfismos genéticos. Santiago e colaboradores (2008) mostraram que dentre os jogadores da 1^a e 2^a divisões do futebol da liga espanhola, 50 % possuíam genótipo RR para ACTN3, 40 % RX e 10 % XX. No presente estudo, os jogadores de futebol das categorias de base do São Paulo Futebol Clube, se subdividem em 32 % com genótipo RR para ACTN3, 53 % RX e 15 % XX. Tendo em vista este cenário, é possível especular que há certa tendência dos jogadores de futebol apresentarem o alelo “R” para o gene ACTN3, o que faz sentido já que durante uma partida de futebol os atletas desempenham movimentos explosivos de curta duração tais como saltos, corridas rápidas de curto espaço, chutes, dentre outros (32, 84).

Pimenta e colaboradores (2013) relataram que jogadores de futebol profissionais brasileiros que possuem o alelo “R” saltam mais alto quando comparados aos atletas com o genótipo XX. Outro estudo mostrou ainda que atletas que executam atividades que necessitam de movimentos rápidos e explosivos, assim como saltos, tendem a possuir os genótipos RR ou RX para o gene ACTN3 (20). Além disso, há um trabalho recente que confirma a vantagem que o alelo “R”

confere aos atletas japoneses na produção de força comparados aos atletas com genótipo XX (85).

Os atletas com genótipos RR/RX para o gene da ACTN3 pertencentes à categoria Sub-17 apresentaram desempenhos superiores nos testes de saltos (SJ e CMJ) quando comparados aos atletas com genótipo XX para o gene da ACTN3. Assim como mostram alguns trabalhos da literatura, talvez uma explicação para os resultados obtidos, somente na categoria acima, seja a idade dos atletas, a qual parece estar relacionada ao melhor desempenho nas atividades de saltos mediante treinamento físico específico (86, 87). Era ainda esperado resultados semelhantes na categoria sub-20, porém nesta faixa etária grande parte dos atletas é negociada ou dispensada o que reduz o potencial de associação. Por outro lado, nem em jogadores de voleibol (espanhóis), e nem em jogadores de futebol (italianos), ambos adultos, detectaram-se diferenças significativas nos testes de saltos entre os diferentes genótipos para o gene ACTN3 (18, 40).

Com relação ao teste de velocidade, como em outros trabalhos (20, 38), na presente pesquisa notou-se que os atletas da categoria Sub-17 com genótipo RR/RX foram mais velozes que os XX na distância de 30 m, o que sugere que o genótipo “R” esteja relacionado ao desempenho em atividades que exigem contração muscular intensa.

Para o teste de endurance, foi observado que na categoria Sub-16, houve tendência ($p = 0,08$) dos atletas com genótipo XX para o gene ACTN3 percorrerem maior distância quando comparados aos RR/RX, o que estaria em concordância com outro trabalho da literatura, o qual sugere que os sujeitos com genótipo XX para ACTN3 podem apresentar vantagens nos testes ou atividades que requerem resistência nas provas de média e longa duração (33), embora haja um estudo que não compartilha desta idéia (88). O aumento na atividade enzimática mitocondrial, do estoque de glicogênio muscular e da capacidade glicolítica das células musculares podem ser possíveis explicações para esta provável vantagem dos atletas mutados para ACTN3 durante provas com características aeróbias (89). No trabalho de Pimenta e colaboradores (2013), jogadores de futebol com genótipo XX apresentaram melhor rendimento durante o teste de endurance, comparados aos atletas com genótipo RR.

Muito se comenta sobre a necessidade da averiguação das possíveis influências dos polimorfismos genéticos em população não atleta. Sabe-se que para conduzir estudos confiáveis deste tipo é preciso amenizar vários fatores que podem confundir os resultados tais como idade, sexo, tempo de sedentarismo, estímulos físicos prévios, alimentação, descanso e a própria vontade de realizar os testes dentre outros. O presente estudo não conta com estas análises, porém há relatos de que sujeitos não atletas mutados para o gene ACTN3 (genótipo XX) não sejam prejudicados em testes de saltos (22) tão pouco em testes isocinéticos e teste de Wingate (39).

O polimorfismo no gene AMPD1 é pouco encontrado na população, e neste estudo somente 2 atletas (1 %) apresentaram o genótipo TT, 1 % menor do que a frequência encontrada na população não atleta (90). Para se realizar um estudo mais conclusivo sobre a real influência deste polimorfismo no desempenho humano seria necessário um grande número de participantes, por conta do número reduzido de pessoas que possuem este polimorfismo.

No presente estudo somente foi possível encontrar vantagem para os atletas não mutados (genótipo CC) no teste de velocidade na distância de 10 m. Uma possível explicação para este resultado seria o fato de que para a aquisição destes dados, os atletas fizeram três vezes consecutivas o teste de velocidade. Como aqueles que possuem mutação no gene AMPD1 apresentam menor atividade da enzima miodenilato deaminase (49), eram esperadas ressíntese tardia de ATP muscular e queda no rendimento destes atletas.

Na literatura há indícios de que este polimorfismo (genótipo TT do polimorfismo no gene AMPD1) pode estar relacionado a piores resultados em atletas que desempenham atividades que requerem força e velocidade (54). Neste trabalho de Cieszczyk e colaboradores (2012) não foi possível encontrar o genótipo TT nos levantadores de peso e nadadores e corredores de curtas distâncias ao passo que no grupo controle 2 % possuíam tal genótipo.

Rubio e colaboradores (2005) demonstraram que 4,8 % dos ciclistas e corredores caucasianos apresentaram o alelo T para o polimorfismo no gene

AMPD1 e o grupo controle apresentou o dobro de pessoas com este alelo, o que indica o possível prejuízo no desempenho de atletas.

Com relação à frequência do polimorfismo no gene AMPD1 em jogadores de futebol, foi relatado que o alelo T está menos frequente em relação aos corredores (17). Assim como explicado anteriormente, é possível sugerir que de fato este genótipo polimórfico para o gene AMPD1 tende a prejudicar os jogadores de futebol, pois durante uma partida os atletas correm e saltam intensa e consecutivas vezes, necessitando de ressíntese adequada de ATP muscular, o que não acontece em sujeitos polimórficos.

Os polimorfismos no gene da ECA e AGT que afetam a produção de Ang II também estão sendo associados ao desempenho esportivo. Atletas com o genótipo II para o polimorfismo da ECA possuem menor atividade desta enzima, além de se favorecerem em provas de características aeróbias (11). Por outro lado, o genótipo DD, caracterizado por maior atividade enzimática da ECA nos atletas (61), parece favorecer aqueles que executam provas que exigem força muscular (25, 63).

Nos resultados do presente estudo pode-se notar que os jogadores de futebol com o genótipo DD, todos e na categoria sub 17, saltaram maiores alturas nos testes realizados comparados àqueles com genótipos II/ID. Além disso, jogadores ingleses de rúgbi com o genótipo DD saltaram mais alto no teste de CMJ comparados àqueles com genótipo ID (91). Uma possível explicação para este aparente benefício em teste que demanda força e explosão muscular seria o redirecionamento do fluxo sanguíneo para as fibras glicolíticas de contração rápida conferido pela Ang II, que se encontra em níveis elevados em sujeitos com o genótipo DD (68). Além disso, há relatos de que indivíduos com o genótipo DD possuem mais fibras musculares glicolíticas (68) e indivíduos com o genótipo II possuem mais fibras musculares oxidativas (21).

Baseado nos indícios supracitados, de fato o alelo I parece favorecer aos atletas em atividades aeróbias. No presente trabalho, os atletas da categoria Sub-16 com genótipos ID/II percorreram maiores distâncias no teste de endurance comparados aos jogadores com genótipo DD. Por outro lado, atletas das categorias Sub-14 e Sub-17 com o genótipo DD foram mais velozes no teste de velocidade

(distância de 30 m) comparados aos jogadores com genótipos ID/II. Resultados semelhantes foram observados no estudo de Bell e colaboradores (2010), que demonstraram que jogadores de rúgbi com o genótipo DD foram mais velozes em corridas de 30 m comparados aos atletas com genótipo ID.

Embora no presente estudo não tenha sido identificada nenhuma diferença significativa entre os genótipos do gene AGT durante os testes físicos, este polimorfismo tem sido associado ao desempenho físico de atletas, uma vez que quem possui o genótipo mutado para este gene (TT) apresenta maiores níveis de AGT circulante e, por conseguinte podem ser favorecidos em atividade que requerem força (16, 73). Por outro lado, assim como em outros trabalhos (12, 74), foi possível detectar, neste presente estudo, que os sujeitos com o genótipo TT apresentaram hipertrofia do ventrículo esquerdo. Entretanto, esta hipertrofia não culminou em maior fração de ejeção do VE, nem mesmo em benefícios nos testes físicos aplicados.

O genótipo DD do gene da ECA também pode influenciar na hipertrofia do ventrículo esquerdo (74) assim como mostrado no presente estudo. Além disso, o presente trabalho mostra pela primeira vez a maior fração de ejeção do VE nos atletas com genótipo DD comparados aos demais. A combinação destas adaptações cardíacas podem ser umas das explicações que levaram os atletas com genótipo DD a obterem melhores resultados no teste de velocidade, mas não no teste de endurance. Uma explicação palpável para estes resultados seria o fato dos maiores níveis de ECA circulantes, nos atletas com genótipo DD, culminarem em diminuição de bradicinina, a qual é um importante mediador para a captação de glicose muscular e cerebral por meio da translocação de GLUT4. Logo, atletas com menores níveis de ECA (genótipos II e ID) possuiriam maior disponibilidade de bradicinina e por consequência melhor captação de glicose prevenindo, assim, a fadiga e favorecendo os atletas nas provas de endurance, o que foi detectado no presente estudo. Por fim, a análise combinada dos genótipos do gene da ECA (DD) e AGT (TT) não representou nenhuma diferença significativa nos parâmetros cardíacos.

Além da análise da hipertrofia do VE e fração de ejeção do VE, avaliou-se neste estudo a possível influência dos genótipos dos polimorfismos no gene da ECA e AGT, de forma separada e combinada, com o diâmetro diastólico final, volume

diastólico final, pressão arterial, frequência cardíaca e saturação de oxigênio. Ainda que se tenha conhecimento sobre a real influência destes polimorfismos nos parâmetros hemodinâmicos supracitados, não foi possível detectar diferenças significativas, possivelmente pelo fato dos atletas estudados serem jovens, saudáveis e acompanhados por médicos periodicamente.

Na tentativa de avaliar as combinações de todos os genótipos estudados, um ranqueamento por escore, de acordo com os genótipos, foi promovido assim como em outros trabalhos já publicados (82, 83). Nestes dois trabalhos, quando os atletas foram ranqueados de acordo com as características de força e explosão muscular, os maiores escores ficaram com os corredores de curtas distâncias e saltadores em distância. No presente estudo, os atletas com maiores escores, ranqueados de acordo com as características de força e explosão muscular, obtiveram melhores desempenhos nos testes de SJ e CMJb. Contudo, quando os atletas foram ranqueados de acordo com características aeróbias, corredores de longas distâncias e ciclistas obtiveram os maiores escores (83). No trabalho atual, não foi possível detectar diferenças significativas no teste de endurance após ranqueamento similar.

A maior fração de ejeção do VE encontrada nos atletas com genótipo DD não se correlacionou com a também maior massa ventricular esquerda dos mesmos. A correlação entre esta fração de ejeção com o teste de endurance, nos atletas com os genótipos DD ou II/ID, também fora inexistente. A depleção de glicogênio muscular (92), a alta concentração de lactato sanguíneo (93) e a diminuição do pH muscular (94) seriam alguns fatores limitantes na execução de exercícios de longa duração.

Os resultados apresentados isoladamente não possuem fortes sustentações sobre as influências dos polimorfismos genéticos no desempenho de atletas, entretanto em conjunto com todos os trabalhos citados é inequívoco que os polimorfismos influenciam o desempenho humano e estes dados precisam ser trabalhados com responsabilidade para incrementar o processo de formação de atletas. Esta responsabilidade também tem que ser ética, já que há uma perversa tendência de haver seleção de atletas de acordo com as características genética, o que é totalmente rejeitado pelo nosso grupo de pesquisa. O que pregamos é que o sujeito escolha sua modalidade esportiva preferida e com base em suas informações genéticas, dentre outras, a comissão técnica conduzirá a preparação física

específica de cada modalidade para cada atleta. Acreditamos, ainda, que outros fatores tais como as características mentais e psicológicas, competência física e motora precisam ser bem entendidas e trabalhadas juntamente com estas novas informações genéticas para a programação de um plano de treinamento mais efetivo.

Por dificuldades operacionais, grande parte dos trabalhos publicados não avalia o desempenho dos atletas antes e/ou após um período sistematizado de treinamento físico para testar a responsividade de cada atleta ao treinamento de acordo com as características genéticas. Era proposta do presente estudo conduzir treinamentos físicos específicos aos jogadores de futebol de acordo com os genótipos apresentados para se avaliar a possível evolução física dos mesmos, porém os contratempos junto ao clube não permitiram a execução desta importante etapa do trabalho.

Vale destacar que este é um trabalho pioneiro no Brasil com uma característica muito peculiar, ou seja, a homogeneidade dos atletas, o que não se encontra em outros trabalhos. Serão naturais os aparecimentos das críticas, porém serão com elas que aprimoraremos as técnicas e as abordagens aos atletas e comissões técnicas. Será necessário daqui em diante organizar os estudos publicados, e aqueles que ainda serão, para que tenhamos um norte a seguir na preparação de atletas, pois não há padronização na execução destas investigações e há resultados divergentes entre os pesquisadores.

É importante ressaltar que somente os polimorfismos genéticos não explicam completamente o desempenho dos atletas, porém estes novos dados importantes para a preparação dos jogadores de futebol podem ser muito úteis se bem trabalhados. Talvez seja o momento de darmos mais importância a estas informações genéticas e colocá-las em prática durante o processo de formação de atletas, pois somente assim teremos a resposta se de fato os polimorfismos genéticos determinam, mesmo que parcialmente, benefícios ou malefícios aos atletas.

7 CONCLUSÃO

7 CONCLUSÃO

De maneira geral os genótipos RR/RX (ACTN3), DD (ECA) e de forma menos expressiva o genótipo CC (AMPD1) parecem favorecer os jogadores de futebol das categorias de base do SPFC em atividades que requerem força e explosão muscular (saltos e corridas máximas). Por outro lado, podemos sugerir que os genótipos XX (ACTN3) e ID/II (ECA) podem beneficiar os atletas em atividades de endurance.

O polimorfismo no gene AGT parece não influenciar o desempenho destes atletas nos testes físicos propostos, embora atletas com genótipo mutado TT apresentem maior massa ventricular esquerda, o que não culminou em uma maior fração de ejeção e nem mesmo em quaisquer outras mudanças nos parâmetros cardíacos e hemodinâmicos avaliados. Entretanto, atletas com o genótipo DD (ECA) apresentaram tanto maior massa ventricular esquerda, quanto maior fração de ejeção. Logo, as hipóteses apresentadas nesta tese foram parcialmente confirmadas, uma vez que:

- 1) Os genótipos RR/RX (ACTN3) favoreceram os jogadores de futebol das categorias de base do SPFC nos testes de saltos e velocidade (30 m);
 - 2) O genótipo CC (AMPD1) favoreceu os jogadores de futebol das categorias de base do SPFC no teste de velocidade (10 m);
 - 3) O genótipo DD (ECA) favoreceu os jogadores de futebol das categorias de base do SPFC nos testes de saltos e velocidade (30 m);
 - 4) Os genótipos ID/II (ECA) favoreceram os jogadores de futebol das categorias de base do SPFC no teste de endurance (categoria Sub-16);
 - 5) Os genótipos do gene AGT não influenciaram os testes físicos propostos.
 - 6) As combinações dos genótipos dos genes estudados revelaram que aqueles atletas com os melhores escores, baseados nas características de força e explosão muscular, obtiveram melhores resultados nos testes de *Squat Jump* e *Counter Movement Jump* com os braços;
 - 7) Os atletas com os genótipos DD (ECA) ou TT (AGT) apresentaram maior massa do VE;
-

- 8) Os atletas com os genótipos DD (ECA) apresentaram maior fração de ejeção do VE.

Portanto, os dados do presente trabalho nos permitem sugerir que os genes estudados possuem importante papel no desempenho físico dos jogadores das categorias de base do SPFC, assim como influencia os parâmetros cardíacos dos mesmos. De posse destes dados, juntamente com outros estudos e com muita responsabilidade, podemos pensar na possibilidade da aplicação deste conhecimento, em conjunto com outros, no processo de formação de atletas.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Grande parte dos trabalhos com dados genéticos adotam o sangue como material de partida para a extração do DNA, entretanto a saliva tem se mostrado um fluido com grande potencial para este fim, uma vez que a coleta não é invasiva. As células epiteliais descamadas e as do sistema imune presentes na boca são boas fontes de DNA genômico e há kits especializados para a extração do DNA com muita eficiência e qualidade. Isto pôde ser comprovado no presente estudo já que a qualidade do DNA extraído foi adequada (anexo 2) para as reações de genotipagem.

Tratando-se da genotipagem, vários são os trabalhos que utilizam a técnica de PCR-RFLP, que consiste na amplificação do fragmento do DNA contendo o polimorfismo e em seguida é utilizada uma enzima de restrição para clivagem ou não este fragmento, dependendo da presença ou ausência do polimorfismo. No presente trabalho foram utilizados ensaios de PCR pré-fabricados e validados por uma empresa de biotecnologia com a tecnologia da marcação por sondas, a qual é amplamente utilizada para genotipagem na atualidade.

Os atletas que participaram da pesquisa residiram na sede do clube por pelo menos um ano. No clube estes atletas treinavam sistematicamente, descansavam adequadamente e se alimentavam com acompanhamento de nutricionista, o que conferiu homogeneidade na amostra em estudo. Nenhum dos trabalhos citados nesta tese possui grupos de atletas padronizados, o que pode ser apontado com um ponto negativo, embora o número de participantes seja maior. O ideal é tentar associar os dois pontos levantados, o que muitas vezes se torna muito difícil, mas de qualquer forma os resultados aqui apresentados indicam os polimorfismos genéticos como um novo norte de investigação para o treinamento e formação de jogadores de futebol.

Vale destacar que há a consciência de nosso grupo de que os testes de saltos, velocidade e endurance aqui utilizados são influenciados por diversos fatores além dos genéticos. Os componentes elásticos dos músculos, o recrutamento de unidades motoras, o metabolismo mitocondrial, dentre outras, são algumas características que certamente interferem no desempenho dos testes. Este estudo

assim como outros (18, 19, 86), utilizaram destes testes para prever as capacidades físicas de diferentes atletas.

Futuramente, a idéia será prescrever e acompanhar o treinamento dos atletas, com o intuito de checar se os diferentes genótipos influenciam na progressão do desempenho dos atletas. Além disso, a coleta de sangue e biopsia muscular nos dará possibilidades de estudar o funcionamento dos genes, ou seja, verificar a produção de RNA mensageiro e proteínas musculares.

Além disso, vale pontuar a nobre tentativa do presente estudo, assim como outros poucos publicados, de se aventurar neste território ainda resistente, a formação de jogadores de futebol brasileiros, os quais podem se beneficiar destes novos e interessantes resultados.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

1. MacArthur DG, North KN. ACTN3: A Genetic Influence on Muscle Function and Athletic Performance. *Sport Sciences Reviews*. 2007;35(1):30-4.
 2. Bouchard C, Daw EW, Rice T, Perusse L, Gagnon J, Province MA, et al. Familial resemblance for VO₂max in the sedentary state: the HERITAGE family study. *Med Sci Sports Exerc*. 1998;30:252-58.
 3. Smith D. A framework for understanding the training process leading to elite performance. *Sports Med*. 2003;33:1103-26.
 4. de Groote P, Lamblin N, Helbecque N, Mouquet F, Hermant X, Amouyel P, et al. The impact of the AMPD1 gene polymorphism on exercise capacity, other prognostic parameters, and survival in patients with stable congestive heart failure: A study in 686 consecutive patients. *American Heart Journal*. 2006;152(4):736-41.
 5. Vincent B, De Bock K, Ramaekers M, den Eede EV, Leemputte MV, Hespel P, et al. ACTN3 (R577X) genotype is associated with fiber type distribution. *Physiol Genomics* 2007;32:58-63.
 6. Bouchard C, Dionne FT, Simoneau JA, Boulay MR. Genetics of aerobic and anaerobic performances. *Exerc Sport Sci Rev*. 1992;20:27-58.
 7. Mark DB, Lauer MS. Exercise capacity: the prognostic variable that doesn't get enough respect. *Circulation*. 2003;108:1534-6.
 8. Bouchard C, Lesage R, Lortie G, Simoneau JA, Hamel P, Boulay MR, et al. Aerobic performance in brothers, dizygotic and monozygotic twins. *Med Sci Sports Exerc*. 1986 Dec;18(6):639-46.
 9. Rice T, Daw EW, Gagnon J, Bouchard C, Leon AS, Skinner JS, et al. Familial resemblance for body composition measures: the HERITAGE Family Study. *Obes Res*. 1997;5(6):557-62.
 10. Housman D. Human DNA polymorphism. *N Engl J Med*. 1995;2:318-20.
 11. Gayagay G, Yu B, Hambly B, Boston T, Hahn A, Celermajer DS, et al. Elite endurance athletes and the ACE I allele – the role of genes in athletic performance. *Hum Genet*. 1998;103:48-50.
 12. Karjalainen J, Kujala U, Stolt A, Kontula K. Angiotensinogen gene M235T polymorphisms predicts left ventricular hypertrophy in endurance athletes. *J Am Coll Cardiol*. 1999;34(2):494-9.
 13. Diet F, Graf C, Mahnke N, Wassmer G, Predel HG, Palma-Hohmann I, et al. ACE and angiotensinogen gene genotypes and left ventricular mass in athletes. *Eur J Clin Invest*. 2001;31(10):836-42.
 14. Clarkson PM, Devaney JM, Gordish-Dressman H, Thompson PD, Hubal MJ, Urso M. ACTN3 genotype is associated with increases in muscle strength in response to resistance training in women. *J Appl Physiol*. 2005;99:154-63.
 15. Eynon N, Duarte JA, Oliveira J, Sagiv M, Yamin C, Meckel Y, et al. ACTN3 R577X Polymorphism and Israeli Top-level Athletes. *Int J Sports Med*. 2009;59(6):861-5.
 16. Gomez-Gallego F, Santiago C, Freire MG, Yvert T, Muniesa CA, Serratos L, et al. The C allele of the AGT Met235Thr polymorphism is associated with power sports performance. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2009;34:1108-11.
 17. Juffer P, Furrer R, González-Freire M, Santiago C, Verde Z, Serratos L, et al. Genotype Distributions in Top-level Soccer Players: A Role for ACE? *Int J Sports Med*. 2009;30:387-92.
 18. Ruiz JR, Fernández Del Valle M, Verde Z, Díez-Vega I, Santiago C, Yvert T, et al. ACTN3 R577X polymorphism does not influence explosive leg muscle power in elite volleyball players. *Scand J Med Sci Sports*. 2010.
 19. Pimenta EM, Coelho DB, Barros Coelho EJ, Cruz IR, Morandi RF, De Azambuja Pussieldi G, et al. Effect of Gene Actn3 on Strength and Endurance in Soccer Players. *J Strength Cond Res*. 2013 Mar 27.
 20. Yang N, MacArthur DG, Gulbin JP, Hahn AG, Beggs AH, Eastal S. ACTN3 genotype is associated with human elite athletic performance. *Am J Hum Genet*. 2003;73:627-31.
 21. Zhang B, Tanaka H, Shono N, Kiyonaga A, Saku K. The I allele of angiotensin-converting enzyme gene is associated with an increased percentage of slowtwitch type I fibers in human skeletal muscle. *Clin Gen*. 2003;63:139-44.
-
-

22. Santiago C, Rodriguez-Romo G, Gomez-Gallego F, Freire MG, Yvert T, Verde Z, et al. Is there an association between ACTN3 R577X polymorphism and muscle power phenotypes in young, non-athletic adults? *Scand J Med Sci Sports*. 2010;20(771-778).
23. Myerson S, Hemingway H, Budget R, Martin J, Humphries S, Montgomery H. Human angiotensin I-converting enzyme gene and endurance performance. *J App Phys*. 1999;87(4):1313-6.
24. Rankinen T, Wolfarth B, Simoneau J, Maier-Lenz D, Rauramaa R, Rivera MA, et al. No association between the angiotensin-converting enzyme ID polymorphism and elite endurance athlete status. *J Appl Physiol*. 2000;88:1571-5.
25. Woods D, Hickman M, Jamshidi Y, Brull D, Vassiliou V, Jones A, et al. Elite swimmers and the D allele of the ACE I/D polymorphism. *Hum Genet*. 2001;108:230-2.
26. Niemi AK, Majamaa K. Mitochondrial DNA and ACTN3 genotypes in Finnish elite endurance and sprint athletes. *Eur J Human Genet*. 2005;13:965-9.
27. Rubio JC, Martin MA, Rabadan M, Gomez-Gallego F, San Juan AF, Alonso JM. Frequency of the C34T mutation of the AMPD1 gene in world-class endurance athletes: does this mutation impair performance? *J App Physiol*. 2005;98:2108-12.
28. Santiago C, González-Freire M, Serratos L, Morate FJ, Meyer T, Gómez-Gallego F, et al. ACTN3 genotype in professional soccer players. *Br J Sports Med*. 2008;42:71-3.
29. Pimenta EM, Coelho DB, Cruz IR, Morandi RF, Veneroso CE, de Azambuja Pussieldi G, et al. The ACTN3 genotype in soccer players in response to acute eccentric training. *Eur J Appl Physiol*. 2012 Apr;112(4):1495-503.
30. Withers RT, Maricic Z, Wasilewski S. Match analyses of Australian professional soccer players. *J Human Mov Stud*. 1982;8:159-76.
31. Bangsbo J, Norregaard L, Thorso F. Activity profile of competition soccer. *Can J Sports Sci*. 1991;16:110-16

32. Shephard RJ. Biology and medicine of soccer: an update. *J Sports Sci*. 1999;17:757-86.
33. MacArthur DG, North KN. A gene for speed? The evolution and function of alphaactinin-3. *Bioessays*. 2004;26:786-95.
34. Blanchard A, Ohanian V, Critchley D. The structure and function of alpha-actinin. *J Muscle Res Cell Motil*. 1989;10:280-9.
35. 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. *Nat Genet*. 1999;21:353-4.
36. Mills M, Yang N, Weinberger R, Vander Woude DL, Beggs AH. Differential expression of the actin-binding proteins, alpha-actinin-2 and -3, in different species: implications for the evolution of functional redundancy. *Hum Mol Genet*. 2001;10:1335-46.
37. Berman Y, North KN. A gene for speed: the emerging role of alpha-actinin-3 in muscle metabolism. *Physiology (Bethesda)*. 2010 Aug;25(4):250-9.
38. 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 Jan;15(1):88-93.
39. Hanson ED, Ludlow AT, Sheaff AK, Park J, Roth SM. ACTN3 genotype does not influence muscle power. *Int J Sports Med*. 2010 Nov;31(11):834-8.
40. Massidda M, Corrias L, Ibba G, Scorcu M, Vona G, Calo CM. Genetic markers and explosive leg-muscle strength in elite Italian soccer players. *J Sports Med Phys Fitness*. 2012 Jun;52(3):328-34.
41. Cheatham ME, Boobis LH, Brooks S, Williams C. Human muscle metabolism during sprint running. *J Appl Physiol*. 1986;61:54-60.
42. Stathis CG, Febbraio MA, Carey MF, Snow RJ. Influence of sprint training on human skeletal muscle purine nucleotide metabolism. *J Appl Physiol*. 1994;76:1802-9.
43. Morisaki T, Gross M, Morisaki H, Pongratz D, Zollner N, Holmes EW. Molecular basis of AMP deaminase deficiency in skeletal muscle. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1992;89:6457-61.

44. Westerblad H, Dahlstedt AJ, Lannergren J. Mechanisms underlying reduced maximum shortening velocity during fatigue of intact, single fibres of mouse muscle. *J Physiol.* 1998;1(510):269-77.
45. Norman B, Sabina RL, Jansson E. Regulation of skeletal muscle ATP catabolism by AMPD1 genotype during sprint exercise in asymptomatic subjects. *J App Physiol.* 2001;91:258-64.
46. Sabina RL, Morisaki T, Clarke P, Eddy R, Shows TB, Morton CC. Characterization of the human and rat myoadenylate deaminase genes. *J Biol Chem.* 1990;265:9423-33.
47. Fishbein WN, Armbrustmacher VW, Griffin JL. Myoadenylate deaminase deficiency: a new disease of muscle. *Science.* 1978;200:545-8.
48. Van Kuppevelt TH, Veerkamp JH, Fishbein WN, Ogasawara N, Sabina RL. Immunolocalization of AMP-deaminase isozymes in human skeletal muscle and cultured muscle cells: concentration of isoform M at the neuromuscular junction. *J Histochem Cytochem.* 1994;42:861-8.
49. Norman B, Mahnke-Zizelman DK, Vallis A, Sabina RL. Genetic and other determinants of AMP deaminase activity in healthy adult skeletal muscle. *J Appl Physiol.* 1998;85:1273-8.
50. Kar NC, Pearson CM. Muscle adenylate deaminase deficiency. Report of six new cases. *Arch Neurol.* 1981;38:279-81.
51. Bogdanis GC, Nevill ME, Boobis LH, Lakomy HK, Nevill AM. Recovery of Power output and muscle metabolites following 30 s of maximal sprint cycling in man. *J Physiol.* 1995;482:467-80.
52. Hargreaves M, McKenna MJ, Jenkins DG, Warmington SA, Li JL, Snow RJ. Muscle metabolites and performance during high-intensity, intermittent exercise. *J Appl Physiol.* 1998;84:1687-91.
53. Rico-Sanz J, Rankinen T, Joannis DR, Leon AS, Skinner JS, Wimore JH. Associations between cardiorespiratory responses to exercise and the C34T AMPD1 gene polymorphism in the HERITAGE Family Study. *Physiol Genomics.* 2003;14:161-6.
54. Cieszczyk P, Ostanek M, Leonska-Duniec A, Sawczuk M, Maciejewska A, Eider J, et al. Distribution of the AMPD1 C34T polymorphism in Polish power-oriented athletes. *J Sports Sci.* 2012;30(1):31-5.
55. Thomaes T, Thomis M, Onkelinx S, Fagard R, Matthijs G, Buys R, et al. A genetic predisposition score for muscular endophenotypes predicts the increase in aerobic power after training: the CAREGENE study. *BMC Genet.* 2011;12:84.
56. Schmieder RE, Hilgers KF, Schlaich MP, Schmidt BM. Renin-angiotensin system and cardiovascular risk. *Lancet.* 2007;369(9568):1208-19.
57. Rush WE, Aultman CD. Vascular biology of angiotensin and the impact of physical activity. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2007;33(1):162-72.
58. Cook JL, Zhang Z, Re RN. In vitro evidence for an intracellular site of angiotensin action. *Circ Res.* 2001;89:1138-46.
59. Jones A, Woods DR. Skeletal muscle RAS and exercise performance. *Int J Biochem Cell Biol.* 2003;35(6):855-66.
60. Buikema H, Pinto YM, Rooks G, Grandjean JG, Schunkert H, van Gilst WH. The deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene is related to phenotypic differences in human arteries. *Eur Heart J.* 1996 May;17(5):787-94.
61. Rigat B, Hubert C, Alhenc-Gelas F, Cambien F, Corvol P, Soubrier F. An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. *J Clin Invest.* 1990 Oct;86(4):1343-6.
62. Woods DR, Humphries S, Montgomery H. The ACE I/D Polymorphism and Human Physical Performance. *Trends Endocrinol Metab.* 2000;11(10):416-20.
63. Nazarov I, Woods D, Montgomery H, Rogozkin V. The angiotensin converting enzyme I/D polymorphism in Russian athletes. *Eur J Hum Gen.* 2001;9:797-801.
64. Tobina T, Michishita R, Yamasawa F, Zhang B, Sasaki H, Tanaka H, et al. Association between the angiotensin I-converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism and endurance running speed in Japanese runners. *J Physiol Sci.* 2010 Sep;60(5):325-30.
65. Wang G, Mikami E, Chiu LL, A DEP, Deason M, Fuku N, et al. Association analysis of ACE and ACTN3 in elite Caucasian and East Asian swimmers. *Med Sci Sports Exerc.* 2013 May;45(5):892-900.

66. Montgomery H, Marshall R, Humphries SE. Human gene for physical performance. *Nature*. 1998;393:221-2.
 67. Folland J, Leach B, Little T, Kawker K, Jones D. Angiotensin converting enzyme genotype affects the response of human skeletal muscle to functional overload. *Exper Physiol*. 2000;95(5):575-9.
 68. Rattigan S, Dora KA, Tong AC, Clark MG. Perfused skeletal muscle contraction and metabolism improved by angiotensin II-mediated vasoconstriction. *Am J Physiol*. 1996 Jul;271(1 Pt 1):E96-103.
 69. Domingo R, Sturrock ED, Collins M. ACE activity and endurance performance during the South African Ironman triathlons. *Int J Sports Med*. 2013 May;34(5):402-8.
 70. Yamin C, Amir O, Sagiv M, Attias E, Meckel Y, Eynon N, et al. ACE ID genotype affects blood creatine kinase response to eccentric exercise. *J Appl Physiol*. 2007 Dec;103(6):2057-61.
 71. Micheli ML, Gulisano M, Morucci G, Punzi T, Ruggiero M, Ceroti M, et al. Angiotensin-converting enzyme/vitamin D receptor gene polymorphisms and bioelectrical impedance analysis in predicting athletic performances of Italian young soccer players. *J Strength Cond Res*. 2011 Aug;25(8):2084-91.
 72. Rauramaa R, Kuhanen R, Lakka T, Bouchard C. Physical exercise of blood pressure with reference to the angiotensinogen M235T polymorphism. *Physiol Genomics*. 2002;10:71-7.
 73. Zarebska A, Sawczyn S, Kaczmarczyk M, Ficek K, Maciejewska-Karlowska A, Sawczuk M, et al. Association of rs699 (M235T) polymorphism in the AGT gene with power but not endurance athlete status. *J Strength Cond Res*. 2013 Jan 2.
 74. Alves GB, Oliveira EM, Alves CR, Rached HR, Mota GF, Pereira AC, et al. Influence of angiotensinogen and angiotensin-converting enzyme polymorphisms on cardiac hypertrophy and improvement on maximal aerobic capacity caused by exercise training. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*. 2009 Aug;16(4):487-92.
 75. Mazzolai L, Pedrazzini T, Nicoud F, Gabbiani G, Brunner HR, Nussberger J. Increased cardiac angiotensin II levels induce right and left ventricular hypertrophy in normotensive mice. *Hypertension*. 2000;35:985-91.
 76. Agostinho Tavares AAB, Antonio Felipe Sanjuliani, Armando da Rocha Nogueira, Carlos Alberto Machado, Carlos E. Poli-de-Figueiredo, Carlos Eduardo Negrão, Celso , Amodeo CISR, Dante Marcelo Artigas Giorgi, Décio Mion Júnior, Denizar , Vianna FC-C, Fernando Antonio Almeida, Fernando Nobre, Frida , Liane Plavnik GF, Heno Lopes, Hilton Chaves, José Luiz Santello, José Márcio , Ribeiro KCO, Luiz Aparecido Bortolotto, Marco A. Mota Gomes, Marcus , Vinícius B. Malachias MECM, Maria Tereza Zanella, Mario Fritsch , et al. VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. *Arq Bras Cardiol*. 2010;95(1):1-51.
 77. Arruda M, Hespanhol JE. Saltos verticais. 1 ed: Phorte; 2007.
 78. Gissis I, Papadopoulos C, Kalapotharakos VI, Sotiropoulos A, Komsis G, Manolopoulos E. Strength and speed characteristics of elite, subelite, and recreational young soccer players. *Res Sports Med*. 2006;14 (3):205-14.
 79. Wong P, Wong SH. Physiological profile of Asian elite youth soccer players. *J Strength Cond Res*. 2009;23(5):1383-90.
 80. Krustup P, Mohr M, Amstrup T, Rysgaard T, Johansen J, Steensberg A, et al. The yo-yo intermittent recovery test: physiological response, reliability, and validity. *Med Sci Sports Exerc*. 2003;35(4):697-705.
 81. Krustup P, Mohr M, Nybo L, Jensen JM, Nielsen JJ, Bangsbo J. The Yo-Yo IR2 test: physiological response, reliability, and application to elite soccer. *Med Sci Sports Exerc*. 2006;38(9):1666-73.
 82. Ruiz JR, Arteta D, Buxens A, Artieda M, Gomez-Gallego F, Santiago C, et al. Can we identify a power-oriented polygenic profile? *J Appl Physiol* (1985). 2010 Mar;108(3):561-6.
 83. Ruiz JR, Gomez-Gallego F, Santiago C, Gonzalez-Freire M, Verde Z, Foster C, et al. Is there an optimum endurance polygenic profile? *J Physiol*. 2009 Apr 1;587(Pt 7):1527-34.
 84. Reilly T, Thomas V. A motion analysis of work-rate in different positional roles in professional football match-play. *J Human Mov Stud*. 1976;2:87-97.
-
-

85. Kikuchi N, Nakazato K, Min SK, Ueda D, Igawa S. The ACTN3 R577X Polymorphism Is Associated With Muscle Power in Male Japanese Athletes. *J Strength Cond Res.* 2014 Jul;28(7):1783-9.
 86. Santos E, Janeira M. The effects of resistance training on explosive strength indicators in adolescent basketball players. *J Strength Cond Res.* 2012;26(10):2641-7.
 87. Alvarez-San Emeterio C, Antuñano N, López-Sobaler A, González-Badillo J. Effect of strength training and the practice of Alpine skiing on bone mass density, growth, body composition, and the strength and power of the legs of adolescent skiers. *J Strength Cond Res.* 2011;25(10):2879-90.
 88. 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.
 89. 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 Oct;39(10):1261-5.
 90. Ensembl Bdd. database. www.ensembl.org. acessado no dia 06/08/2014.
 91. Bell W, Colley JP, Gwynne JR, Glazier P, Evans WD, Darlington SE. ACE ID genotype and leg power in Rugby Union players. *J Sports Med Phys Fitness.* 2010 Sep;50(3):350-5.
 92. Krstrup P, Mohr M, Steensberg A, Bencke J, Kjaer M, Bangsbo J. Muscle and blood metabolites during a soccer game: implications for sprint performance. *Med Sci Sports Exerc.* 2006 Jun;38(6):1165-74.
 93. Krstrup P, Christensen JF, Randers MB, Pedersen H, Sundstrup E, Jakobsen MD, et al. Muscle adaptations and performance enhancements of soccer training for untrained men. *Eur J Appl Physiol.* 2010 Apr;108(6):1247-58.
 94. Bishop D, Edge J, Goodman C. Muscle buffer capacity and aerobic fitness are associated with repeated-sprint ability in women. *Eur J Appl Physiol.* 2004 Aug;92(4-5):540-7.
-

ANEXOS

Anexos

Anexo 1



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Bauru



O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências da Universidade Estadual Paulista – UNESP, em sua 63ª Reunião Ordinária realizada no dia 17 de junho de 2011, no Prédio do STI da Faculdade de Ciências - UNESP, Campus de Bauru, às 09h00, após análise do parecer emitido pelo relator APROVA o projeto “Correlação entre polimorfismos genéticos e desempenho em jogadores de futebol de base do São Paulo Futebol Clube”, Processo nº 7181/46/01/11, sob responsabilidade da Professora Doutora Sandra Lia do Amaral.

Bauru (SP), 17 de junho de 2011



PROF. DR. ARI FERNANDO MAIA
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa

Anexo 2

Atletas	Concentração do DNA (ng/μL)	A260/A280	Atletas	Concentração do DNA (ng/μL)	A260/A280
1	25,9	1,97	111	64,8	1,83
2	40,6	2,05	112	92,8	1,80
3	34,2	1,96	113	80,0	1,84
4	29,6	2,02	114	58,5	1,86
5	11,1	2,11	115	67,4	1,82
6	49,1	2,01	116	52,9	1,84
7	54,6	1,97	117	57,6	1,86
8	46,5	2,02	118	60,8	1,83
9	35,5	1,90	119	47,5	1,78
10	13,1	2,11	120	43,7	1,74
11	41,8	2,07	121	49,5	1,76
12	22,9	2,14	122	55,3	1,80
13	71,7	2,01	123	51,3	1,85
14	50,7	2,07	124	61,7	1,85
15	45,1	2,02	125	41,2	1,79
16	34,6	1,99	126	33,7	1,76
17	31,6	1,95	127	95,7	1,82
18	22,3	1,97	128	93,8	1,83
19	52,5	2,00	129	84,8	1,81
20	12,5	2,17	130	84,8	1,79
21	58,4	1,99	131	29,8	1,84
22	62,7	2,01	132	24,1	1,83
23	66,3	2,02	133	43,0	1,76
24	83,6	1,95	134	55,6	1,77
25	51,2	1,96	135	45,6	1,92
26	63,3	1,85	136	54,5	1,89
27	25,2	1,90	137	36,0	1,99
28	34,6	1,95	138	39,2	1,88
29	133,8	1,90	139	40,1	1,85
30	31,4	1,98	140	31,6	1,95
31	49,6	1,99	141	22,3	1,97
32	103,4	1,97	142	52,5	2,00
33	73,7	2,02	143	12,5	2,17
34	53,1	2,05	144	58,4	1,99
35	76,2	2,04	145	42,7	2,01
36	24,2	1,86	146	76,3	2,02
37	25,8	2,11	147	73,6	1,95
38	35,6	2,06	148	61,2	1,96
39	61,0	2,04	149	53,3	1,85
40	17,7	1,99	150	25,2	1,90
41	48,0	2,03	151	25,9	1,97

42	36,7	2,03	152	40,6	2,05
43	21,7	2,18	153	34,2	1,96
44	39,9	2,01	154	29,6	2,02
45	24,0	2,11	155	11,1	2,11
46	28,0	2,02	156	49,1	2,01
47	129,0	1,98	157	54,6	1,97
48	62,3	1,91	158	46,5	2,02
49	58,1	1,91	159	35,5	1,90
50	48,9	1,94	160	13,1	2,11
51	62,9	1,96	161	41,8	2,07
52	47,0	1,99	162	22,9	2,14
53	27,9	2,06	163	71,7	2,01
54	69,4	1,97	164	50,7	2,07
55	74,7	2,09	165	45,1	2,02
56	51,0	1,96	166	34,7	1,99
57	72,1	2,01	167	31,7	1,95
58	57,8	1,99	168	30,5	1,90
59	40,9	1,91	169	13,6	1,90
60	38,3	1,97	170	61,8	1,96
61	13,6	1,88	171	53,1	2,00
62	66,7	1,97	172	96,1	2,00
63	41,2	1,94	173	68,7	1,95
64	65,9	1,95	174	31,1	2,07
65	55,3	2,01	175	24,5	2,12
66	27,3	2,07	176	55,2	2,01
67	17,3	2,06	177	10,2	1,81
68	25,0	1,98	178	12,6	1,91
69	39,3	2,05	179	21,7	1,78
70	30,5	1,90	180	32,5	1,93
71	13,6	1,90	181	74,6	2,04
72	61,8	1,96	182	24,9	1,91
73	53,1	2,00	183	12,5	2,17
74	96,1	2,00	184	58,4	1,99
75	68,7	1,95	185	62,7	2,01
76	31,1	2,07	186	66,3	2,02
77	24,5	2,12	187	83,6	1,95
78	55,2	2,01	188	51,2	1,96
79	10,2	1,81	189	63,3	1,85
79	12,6	1,91	190	25,2	1,90
80	21,7	1,78	191	34,6	1,95
81	32,5	1,93	192	133,8	1,90
82	74,6	2,04	193	31,4	1,98
83	24,9	1,91	194	49,6	1,99
84	53,0	2,04	195	103,4	1,97
85	32,7	1,97	196	73,7	2,02

86	24,6	1,95	197	53,1	2,05
87	69,2	1,97	198	76,2	2,04
88	30,9	1,96	199	24,2	1,86
89	66,7	1,94	200	25,8	2,11
90	30,0	2,12	201	35,7	2,06
91	58,5	1,95	202	61,7	2,04
92	13,4	1,92	203	17,7	1,99
93	49,7	1,91	204	48,3	2,01
94	29,1	1,88	205	36,7	2,00
95	21,7	1,98	206	21,8	1,84
96	19,0	1,92	207	40,0	1,85
97	31,2	1,79	208	24,7	1,89
98	46,6	1,92	209	28,5	1,82
99	64,4	1,89	210	88,3	1,81
100	25,3	1,99	211	62,3	1,81
101	35,1	1,88	212	58,2	1,87
102	40,1	1,85	213	48,9	1,94
103	21,2	1,86	214	63,0	1,96
104	22,4	1,87	215	45,0	1,88
105	31,9	1,91	216	28,0	1,88
106	27,0	1,85	217	69,4	1,86
107	34,8	1,83	218	74,7	1,87
108	36,5	1,82	219	51,0	1,98
109	30,9	1,83	220	72,1	1,99
110	33,0	1,88			

Anexo 2: Concentração (ng/ μ L) e razão entre a absorvância em 260 nm e 280 nm das amostras de DNA obtidas a partir da saliva total dos atletas.