



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOQUÍMICA E FISIOLOGIA

RAFAEL BANDEIRA BORBA

O POLIMORFISMO DA REGIÃO 577 DO GENE DA ACTN3 E A INCIDÊNCIA DE
LESÕES MUSCULARES EM ATLETAS DE FUTEBOL AMERICANO E TRIATLO

Recife
2020

RAFAEL BANDEIRA BORBA

O POLIMORFISMO DA REGIÃO 577 DO GENE DA ACTN3 E A INCIDÊNCIA DE
LESÕES MUSCULARES EM ATLETAS DE FUTEBOL AMERICANO E TRIATLO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Fisiologia da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Bioquímica e Fisiologia.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Maria Tereza dos Santos Correia

Coorientador: Prof^o. Dr^o. Vanduir Soares de Araújo Filho

Recife

2020

Catálogo na Fonte:
Bibliotecário Bruno Márcio Gouveia, CRB-4/1788

Borba, Rafael Bandeira

O polimorfismo da região 577 do gene da ACTN3 e a incidência de lesões musculares em atletas de futebol americano e triatlo / Rafael Bandeira Borba. - 2020.

37 f. : il.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria Tereza dos Santos Correia.

Coorientador: Prof. Dr. Vanduir Soares de Araújo Filho.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-graduação em Bioquímica e Fisiologia, Recife, 2020.

Inclui referências.

1. Genética. 2. Polimorfismo (Genética). 3. Lesões esportivas. I. Correia, Maria Tereza dos Santos (orientadora). II. Araújo Filho, Vanduir Soares de (coorientador). III. Título.

576

CDD (22.ed.)

UFPE/CB-2020-091

RAFAEL BANDEIRA BORBA

O POLIMORFISMO DA REGIÃO 577 DO GENE DA ACTN3 E A INCIDÊNCIA DE LESÕES MUSCULARES EM ATLETAS DE FUTEBOL AMERICANO E TRIATLO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Fisiologia da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Bioquímica e Fisiologia.

Aprovada em: ____ / ____ / ____.

BANCA EXAMINADORA

Profª Drª Maria Tereza dos Santos Correia
Universidade Federal de Pernambuco

Profª. Drª. Luana Cassandra Breitenbach Barroso Coelho
Universidade Federal de Pernambuco

Profª. Drª. Marcia Vanusa da Silva
Universidade Federal de Pernambuco

Profª. Drª. Maria Betania Melo de Oliveira
Universidade Federal de Pernambuco

Dedico esse trabalho ao meu co-orientador Professor Doutor Vanduir Soares de Araújo Filho por estarmos caminhando juntos desde meados de 2012 e por ter sido peça chave na minha decisão de ingressar no Mestrado em Bioquímica e Fisiologia na Universidade Federal de Pernambuco.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus. Santo dos santos, criador de todas as coisas, rei do universo, maravilhoso conselheiro, Deus forte, pai ta eternidade, príncipe da paz. Sem Ele eu nada seria e tudo que faço é para Sua honra e Sua glória.

Agradeço a minha mãe, Vanderlita Bandeira, pela criação, por todos os conselhos, por todo o cuidado, por todo incentivo dado, pelos puxões de orelha que me edificaram e me mantiveram firmes a seguir em busca dos meus objetivos.

Agradeço ao meu pai, Raul Borba, pelos conselhos dados e que, mesmo um pouco mais distante do que eu gostaria, por circunstâncias da vida, tem todo o meu amor, respeito e admiração.

Agradeço a minha esposa, Mariana Borba, por estar sempre ao meu lado seja na alegria, seja na tristeza, por ter suportado todo o meu mau humor durante muitas etapas desses dois anos de Mestrado, por ter me suportado no sentido de me ajudar nas minhas falhas e limitações, por ter cuidado de mim em vários aspectos, por ser quem ela é da forma que Deus a trouxe para mim.

Agradeço ao meu filho, Miguel Borba, um presente de Deus, que me ensinou muito em seus três anos de vida. Foi extremamente difícil ter que passar algumas semanas em Recife, longe dele, devido as obrigações com o Mestrado, mas Deus sabe todas as coisas com todos os seus propósitos e permissões.

Agradeço ao meu co-orientador, Vanduir Filho, por ter me abraçado e ter topado andar junto comigo desde meados de 2012, ainda no segundo período da graduação em Educação Física. Foi ele quem me fez apaixonar pela Bioquímica com toda sua inteligência e didática durante as disciplinas de Bioquímica 1 e Bioquímica do Exercício. Ele é muito mais que meu professor e orientador, ele é sem dúvidas um PAI que a vida me deu.

Agradeço a minha querida orientadora, Maria Tereza, que topou fazer parte, como cabeça, desse desafio junto conosco. Super atenciosa, simpática, solícita e prestativa. Um exemplo de eficácia e maestria naquilo que faz e gosta de fazer.

Agradeço a Grazi, parceira de longos anos de monitorias, projetos de pesquisas, cursos, reuniões, várias idas e vindas à UFPE e que também me ajudou bastante com as coletas das amostras.

Agradeço a todos os professores, de uma maneira geral, que tive a satisfação em ter durante todo o meu percurso de disciplinas. Aproveito também para agradecer a todos os alunos que pagaram disciplinas comigo, aprendi muito com cada um deles.

Por fim, agradeço a CAPES e ao CNPq pela bolsa de fomento dada, que foi de extrema importância para viabilizar a minha continuidade no curso.

Meus irmãos, tenham por motivo de grande alegria o fato de passarem por várias provações, sabendo que a provação da fé que vocês têm produz perseverança. Ora, a perseverança deve ter ação completa, para que vocês sejam perfeitos, e íntegros, sem que lhes falte nada. (Bíblia sagrada, Capítulo 1 de Tiago, versos 2 ao 4 - Versão NAA)

RESUMO

Nas últimas décadas a ciência vem se concentrando cada vez mais em tentar entender a influência dos genes no desempenho esportivo, conhecidos como genes candidatos. Um dos genes candidatos mais promissores é o que codifica a isoforma 3 da proteína α -actinina (ACTN3), que apresenta relação com desempenho no que diz respeito à adaptação ao exercício, recuperação e risco de lesões. O objetivo deste estudo é verificar se o genótipo XX da região 577 do gene da ACTN3 está associado a uma maior incidência de lesões musculares em atletas de triatlo e futebol americano. Participaram da pesquisa 49 jogadores de futebol americano e 15 atletas de triatlo. Foi feita, com uso de *swabs* estéreis, a coleta das células da mucosa oral dos participantes e, posteriormente, a investigação do gene da ACTN3 por meio da PCR em tempo real. A análise dos dados foi feita através da estatística descritiva de médias e desvios padrões de lesões por ano de prática e a inferencial com o teste de *Mann-Whitney* para comprovar ou não diferenças significativas. Foram encontrados 20,41% dos genótipos RR, 57,14% RX e 22,45% XX no futebol americano e 40% RR, 40% RX e 20% XX nos atletas de triatlo. De acordo com nossos dados, não existem diferenças significativas para incidência de lesões musculares entre os RR e RX no futebol americano ($P=0,2999$) e no triatlo ($P=0,1818$). Em contrapartida há diferença significativa entre os XX (maior acometimento de lesões por ano de prática) e os RR+RX tanto no futebol americano ($P<0,0001$), quanto no triatlo ($P=0,0088$). De acordo com os dados, sugere-se que a configuração do polimorfismo da região 577 do gene da ACTN3 pode influir sobre a incidência de lesões musculares. Indivíduos homozigotos para o alelo X, por possuírem um aparato contrátil menos estável, mostraram-se mais suscetíveis a lesões musculares do que os indivíduos que apresentam o alelo R em sua configuração genotípica. Como há um número muito reduzido de publicações sobre o tema, justifica-se a necessidade da realização de novos experimentos.

Palavras-chave: ACTN3. Lesões musculares. Polimorfismo.

ABSTRACT

In recent decades, science has been increasingly focusing on trying to understand the influence of genes on sports performance, known as candidate genes. One of the most promising candidate genes is the one that encodes protein-actinin isoform 3 (ACTN3), which is related to performance with regard to adaptation to exercise, recovery and risk of injury. The objective of this study is to verify whether genotype XX of region 577 of the ACTN3 gene is associated with a higher incidence of muscle injuries in triathlon and football players. 49 football players and 15 triathlon athletes participated in the research. With the use of sterile swabs, the oral mucosa cells were collected from the participants and, subsequently, the investigation of the ACTN3 gene through real-time PCR. Data analysis was performed using descriptive statistics of injury averages and standard deviations per year of practice and the inferential one with the Mann-Whitney test to prove or not significant differences. 20.41% of the RR genotypes, 57.14% RX and 22.45% XX were found in American football and 40% RR, 40% RX and 20% XX in triathlon athletes. According to our data, there are no significant differences in the incidence of muscle injuries between RR and RX in American football ($P = 0.2999$) and in triathlon ($P = 0.1818$). On the other hand, there is a significant difference between the XX (greater involvement of injuries per year of practice) and the RR + RX both in American football ($P < 0.0001$) and in triathlon ($P = 0.0088$). According to the data, it is suggested that the configuration of the polymorphism of region 577 of the ACTN3 gene may influence the incidence of muscle injuries. Individuals homozygous for the X allele, because they have a less stable contractile apparatus, showed to be more susceptible to muscle injuries than the individuals that present the R allele in its genotypic configuration. As there is a very small number of publications on the subject, the need for new experiments is justified.

Palavras-chave: ACTN3. Muscle Injuries. Polymorphism.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO DA LITERATURA	13
3 METODOLOGIA	22
3.1 TIPO DE ESTUDO.....	22
3.2 SUJEITOS.....	22
3.3 INSTRUMENTOS.....	22
3.4 ÉTICA.....	22
3.5 PROCEDIMENTO DE COLETAS.....	23
3.6 ANÁLISE DO DNA.....	23
3.7 ANÁLISE DE DADOS.....	24
4 RESULTADOS	25
5 DISCUSSÃO	30
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	33
REFERÊNCIAS	34

1 INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas a ciência vem se concentrando cada vez mais em tentar entender a influência dos genes no desempenho esportivo, conhecidos como genes candidatos. Esta busca incessante levou à identificação de alguns destes genes que podem modificar a forma de descobrir novos talentos, como também de elaborar sessões adequadas de treinamento físico individualizadas em periodização, volume e intensidade, ou seja, o treinamento adequado às necessidades e limitações de cada atleta. Um dos genes candidatos mais promissores é o que codifica a isoforma 3 da proteína α -actinina (ACTN3), que apresenta relação, segundo várias pesquisas, com desempenho no que diz respeito à adaptação ao exercício, recuperação e risco de lesões. (YANG et al, 2003; PICKERING & KIELY, 2017; MASSIDA et al, 2017).

Neste estudo iremos estudar o risco de lesões musculares e o polimorfismo da região 577 do gene da ACTN3 em atletas de alto rendimento em dois esportes com características de predominância energéticas distintas, são eles o triatlo e o futebol americano.

O triatlo é uma modalidade predominantemente aeróbia que exige elevada capacidade de resistência muscular, tolerância à fadiga e economia de movimento. (EPIPHANIO & AMATUZZI, 1997; MACHADO et al, 2010; WERNECK et al, 2014).

O futebol americano é caracterizado por ações repetidas de máxima intensidade e curta duração, que demandam um alto nível de força, potência, velocidade e agilidade, compostas de movimentos explosivos, com rápidas e frequentes mudanças de direções, uma modalidade essencialmente anaeróbia. (COMACHIO et al, 2015; CONDELLO, SCHULTZ & TESSITORE, 2013; HOFFMAN, 2008; RODRIGUES, 2015).

Sabe-se que o treinamento e a nutrição adequados são fatores primordiais para um bom desempenho físico e desportivo no alto rendimento. A configuração genética também deve ser favorável às características associadas a cada modalidade. Segundo Kim, Song e Kim (2014) os fatores genéticos têm influência na potência, força e velocidade. Isto ratifica a necessidade de realizar análises desses fatores genéticos. (PASQUA et al, 2011; WOLFARTH et al, 2014).

Polimorfismos genéticos são diferenças na sequência de bases nitrogenadas do DNA que podem exercer influência na síntese das proteínas, modificando suas

estruturas primárias e, conseqüentemente, todos os outros níveis estruturais (secundário, terciário e quaternário) ou aumentando sua produção, acarretando modificações funcionais no organismo. (KIKUCHI et al, 2014; PASQUA et al, 2011).

O gene da ACTN3 é responsável pela codificação de uma proteína estrutural presente nas fibras de contração rápida da musculatura esquelética. Um dos polimorfismos da ACTN3, conhecido como R577X, nesta região, indivíduos homocigotos e heterocigotos para o alelo R expressam a forma funcional da proteína, já os indivíduos homocigotos para o alelo X expressam a forma não funcional, uma deficiência não patológica, supostamente compensada pela isoforma α -actinina2. Esta deficiência é provocada por uma mutação sem sentido na qual o nucleotídeo C é trocado pelo T na posição 1.747 do éxon 16, que ocasiona uma parada prematura na estrutura da proteína. (BERMAN E NORTH, 2010; MONTENEGRO et al, 2013; PASQUA et al, 2011).

Diversos estudos sugerem que indivíduos que apresentam o alelo R em seu genótipo possuem uma predisposição aos esportes de alta intensidade e curta duração, ou seja, essencialmente anaeróbios. (BERMAN E NORTH, 2010; COELHO et al, 2014; GREALY et al, 2015; KIKUCHI et al, 2014; KIM, SONG e KIM, 2014; NIRENGI et al, 2016; PASQUA et al, 2011; WOLFARTH et al, 2014; YANG et al 2003).

Em um trabalho publicado por Yang et al (2003) foi observada a ausência da configuração 577XX em atletas olímpicos em modalidades essencialmente anaeróbias. Oriskay (2014) sugere que a ACTN3 exerce um papel significativo na determinação de fenótipos de atletas de elite na Polônia, através de um estudo realizado com 200 atletas de diferentes modalidades desportivas (vôlei, natação, hóquei no gelo e canoagem). Pimenta et al (2013) aponta em sua pesquisa com atletas de futebol, que homocigotos para o alelo R são mais rápidos em distâncias curtas e apresentam melhor potencial para o salto e jogadores XX possuem maior capacidade aeróbia.

O objetivo deste estudo é verificar se o genótipo XX da região 577 do gene da ACTN3 está associado a uma maior incidência de lesões musculares em atletas de triatlo e futebol americano.

2 REVISÃO DA LITERATURA

As α -actininas são proteínas estruturais de ligação do filamento de actina, com múltiplas funções em diferentes tipos celulares. Devido ao processo de *splicing alternativo* existem pelo menos quatro isoformas encontradas em humanos: duas isoformas (α -actinina1 - ACTN1 e α -actinina4 - ACTN4) não musculares do citoesqueleto que ligam a actina à membrana celular; uma isoforma (α -actinina2 - ACTN2) presente no músculo esquelético, cardíaco e liso que ancoram os filamentos de actina na linha Z do sarcômero; uma isoforma (α -actinina3 - ACTN3) presente apenas nas fibras de contração rápida do músculo esquelético (em todas as fibras tipo 2X e em menor quantidade nas fibras tipo 2A) com a mesma função da α -actinina2. (BERMAN E NORTH, 2010; MASSIDA et al, 2017; MILLS et al 2001).

No polimorfismo R577X da ACTN3, em média 18% da população mundial sofre uma mutação que tem como resultado a produção de α -actininas3 não funcionais, ou seja, proteínas inativas que não conseguem exercer a sua função de ligação da actina à linha Z sarcomérica. Esse problema de variação genética não é patológico, tendo em vista que as funções parecem ser compensadas por uma maior expressão da α -actinina2 e de outras proteínas estruturais da região. (Yang et al, 2001; Yang et al, 2003)

Considerando que todos nós temos duas estruturas para cada gene, uma herdada do pai e outra da mãe, existem três possibilidades de genótipos: 577RR que são aqueles indivíduos que expressam apenas as proteínas ativas; 577RX que são os que produzem tanto ACTN3 ativa quanto inativa; 577XX que são aquelas pessoas que sintetizam apenas as proteínas na sua forma inativa. (MILLS et al, 2001; SETO et al, 2011).

Essa mutação no gene ACTN3 é dada pela substituição de uma citosina por uma timina na posição 1747 do éxon 16, logo o códon que daria origem ao aminoácido arginina acaba formando um códon que sinaliza a parada prematura da síntese proteica (*stop códon*). Essa parada prematura cria uma proteína truncada, incapaz de exercer suas funções na linha Z do sarcômero. (YANG et al 2001; BERMAN & NORTH, 2010).

Não há como iniciar a revisão da literatura que aborda o polimorfismo da região 577 do gene da ACTN3 sem citar o grupo de estudos da Nan Yang, que em 2001 publicou um artigo mostrando as diferenças existentes entre as α -actininas2 e

3 em diferentes espécies e as implicações para a evolução da redundância funcional. Notaram que mesmo com a ausência das α -actininas³ e uma super expressão das α -actininas², a compensação não era completamente sobreposta, ou seja, ainda assim existiam diferenças no que diz respeito ao desempenho entre indivíduos que apresentavam o alelo R e os que eram homozigotos em X (estes achados foram corroborados pelo grupo de pesquisa de Jane Seto, em 2011).

Já em 2003, Yang et al, dando continuidade à investigação, publicaram um estudo clássico mostrando que para se chegar a níveis olímpicos em esportes com predominância de característica energética anaeróbia se fazia necessária a produção de ACTN3 funcionais, ou seja, teria que expressar o alelo R (nenhum atleta olímpico XX foi encontrado em esportes de curta duração e alta intensidade). Esta descoberta foi replicada várias vezes em atletas de velocidade, potência e força (Druzhevskaya et al., 2008; Roth et al., 2008; Eynon et al., 2009; Ahmetov et al., 2011; Cieszczyk et al., 2011; Kikuchi et al., 2016; Papadimitriou et al., 2016; Weyerstraß et al., 2017; Yang et al., 2017).

Alguns artigos de revisão também surgiram para corroborar e fortalecer cada vez mais a aceitação da importância do alelo R para o desempenho em modalidades mais voltadas para a força e potência, com uma predominância da anaerobiose. (EYNON et al, 2013; MA et al, 2013; AHMETOV & FEDOTOVSKAYA, 2015).

Estando comprovado que é necessário sintetizar a ACTN3 funcional para alcançar um desempenho satisfatório em alto rendimento nos esportes com predominância anaeróbia, alguns trabalhos começaram a aparecer com o objetivo de analisar e provar que os acometidos pela mutação (577XX) não parecem ter vantagem em modalidades oxidativas (de maior duração). No próprio estudo clássico da Yang et al (2003), já supracitado, encontram-se genótipos RR e RX entre os atletas olímpicos em provas de endurance. Outra explicação cabível é o fato de que os atletas quenianos e etíopes sempre se destacaram e se destacam em maratonas e provas mais longas, de resistência aeróbia, e Yang et al (2007) analisou a frequência genotípica dos africanos, com um resultado surpreendente de apenas 8% da população da Etiópia e 1% da população de Quênia são homozigotos para o alelo X. Vancini et al (2014) também lançou um achado corroborando com esses dados e mostrando que não há nada que impeça os genótipos RX e RR de alcançarem um bom desempenho no alto rendimento em esportes de endurance.

Berman e North, em 2010, colaboraram com uma publicação de uma meta-análise na qual foram citados 82 artigos que dissertavam sobre a influência do gene da ACTN3 e seus polimorfismos na função metabólica do músculo humano. Notaram que a deficiência da ACTN3 resultaria em uma mudança fundamental no metabolismo, afastando-se da via anaeróbia em direção às vias oxidativas. Esse achado talvez forneça uma explicação para a associação entre indivíduos XX (que produzem apenas a forma truncada da proteína) com um pior desempenho em provas de potência e um desempenho mais aprimorado em provas de resistência.

No ano seguinte, em 2011, Judson e colaboradores trouxeram uma associação nova, apresentando que o genótipo XX representa um fator genético de risco aumentado para queda em mulheres idosas. Ainda discutiram a possibilidade de existir, em idosas com a presença do alelo R, uma maior velocidade de reação e processamento para evitar tais acidentes.

No mesmo ano de 2011, Seto e sua equipe de estudos apresentaram um trabalho que fizeram com camundongos *knockouts* para o ACTN3 mostrando a remodelação das proteínas da linha Z do sarcômero. Na ausência da ACTN3 foi observada uma maior expressão tanto de α -actinina2 quanto de outras proteínas estruturais associadas ao disco Z (g-filamina, miotilina, desmina, $\alpha\beta$ -cristalina e ZASP) assim como genes associados ao crescimento e regeneração muscular.

É interessante destacar também que uma regulação positiva na miotilina acarreta no aumento da expressão de desmina e g-filamina (mas não de α -actinina2), então esse mesmo grupo de pesquisadores testou uma super expressão da miotilina (em camundongos transgênicos) e não obteve uma maior suscetibilidade ao dano excêntrico. Ou seja, esta maior suscetibilidade a danos não pode ser atribuída à maior expressão dessas proteínas isoladamente e torna-se sugestivo que a ausência da ACTN3 e/ou a subsequente maior expressão da α -actinina2 são necessárias para alterar a estabilidade da linha Z (parece ser um elo mecanicista fundamental na associação entre o genótipo ACTN3 e as lesões musculares). Outro ponto que merece alerta é que a regulação positiva da α -actinina2 para manutenção do *pool* total de α -actininas sarcoméricas não pareceu suficiente para compensar a ausência da ACTN3, como já havia dito Yang et al (2001).

Em 2012, Pimenta e colaboradores mostraram que em uma amostra com 37 jogadores profissionais de futebol de campo, os que apresentavam genótipo XX tinham índices séricos maiores de marcadores de danos musculares (como a

creatina quinase e α -actina) comparados aos demais genótipos (RR e RX). Mesmo sendo uma amostra pequena e havendo a necessidade de mais estudos para fortalecer os resultados, é um achado que corrobora com o apresentado acima (SETO, 2011) no que diz respeito a maior incidência de danos na musculatura dos indivíduos 577XX. O grupo de Seto demonstrou danos após contrações excêntricas em camundongos e o grupo de Pimenta demonstrou danos após treinamento excêntrico em atletas profissionais de futebol.

Com o achado sobre o aumento da expressão das α -actininas2 na musculatura esquelética como resposta a ausência das α -actininas3, oriunda do polimorfismo na região 577 do gene da ACTN3, o mesmo grupo de Seto e colaboradores investigou, em 2013, a atividade da calcineurina em ratos *knockouts* para ACTN3 e em humanos XX. A calcineurina é uma molécula sinalizadora importante que, quando ativada, resulta em uma transição da musculatura esquelética para a contração lenta, ou seja, para o metabolismo energético oxidativo.

Descobriram, nesse estudo, que as α -actininas2 competem com a calcineurina pela ligação à calsarcina2 (um inibidor da calcineurina), ou seja, quanto mais α -actinina2 nas fibras musculares, mais calcineurina livre, portanto a atividade de sinalização da calcineurina mostrou-se bem maior tanto nos ratos *knockout* como nos humanos 577XX, podendo ter sido identificado um dos mecanismos para a redução das características de força e potência nessa população. Tradicionalmente as α -actininas sarcoméricas tem sido classificadas como proteínas estruturais, mas a ciência mostra cada vez mais que elas também possuem papéis significativos na regulação das vias metabólicas e sinalização. As quantidades de α -actinina2 e 3 nas células musculares podem influenciar nas características dessas fibras no que diz respeito ao perfil metabólico, propriedades contráteis e especificação do tipo de fibra. (SETO et al, 2013).

Seguindo uma ordem cronológica, em 2014 um grupo de pesquisadores japoneses encabeçados por Naoki Kikuchi, avaliaram 144 atletas do sexo masculino com a aplicação do teste de resistência anaeróbia de *Wingate* e perceberam um melhor desempenho daqueles que possuíam o alelo R para o gene da ACTN3.

Posteriormente, em 2015, Silva et al examinaram o impacto do polimorfismo na magnitude da melhorias do VO₂ após sessões de treinamento de 60 minutos de corrida com policiais. Os valores de VO₂ antes das sessões de treino eram maiores nos genótipos XX, sendo essa diferença eliminada após o treino, ou seja, é

sugestivo que os participantes com alelo R tiveram uma maior adaptação ao treino de resistência.

A luz da ciência já notava-se que o gene da ACTN3 não poderia mais ser chamado apenas de “o gene da potência” ou “o gene da velocidade”, novos achados viriam mostrar muito mais que isso. A partir de então, em meados de 2013, começaram a surgir os primeiros trabalhos buscando relação dos genótipos com o aparecimento de lesões. Deuster e colaboradores publicaram um artigo mostrando que pessoas com o genótipo XX tiveram 2.97 vezes mais chances de serem casos de rabdomiólise (síndrome de destruição do músculo esquelético com vazamento do conteúdo muscular) do que os RR e RX, assim como o número de pacientes XX foi significativamente maior do que o grupo controle. Os primeiros a plantarem essa semente de que poderia existir alguma relação com danos lesivos na musculatura.

Em 2014, Kim e a sua equipe elaboraram um estudo com 97 bailarinas e 203 mulheres no grupo controle, todas coreanas, trazendo como resultado que a ACTN3 pode estar relacionada à lesão muscular, uma vez que as participantes com genótipo XX apresentaram um risco quatro vezes maior de lesão no tornozelo durante o balé em comparação aos demais genótipos.

Shang e colaboradores (2015), um grupo de pesquisa chinês, genotiparam 142 soldados da China, e compararam com um grupo controle de 280 homens com o intuito de associar o polimorfismo da região 577 do gene da ACTN3 com entorses agudas, sem contato, de tornozelo. Seus resultados sugerem que os participantes com genótipo RR estariam em menor risco de entorses agudas do tornozelo, e, em contrapartida, os XX estariam com maior risco, e discutem propondo que pode ser devido a uma maior força e capacidade muscular para estabilizar os movimentos articulares do tornozelo nos planos sagital, transversal e frontal, dos que possuem o alelo R. É mais um estudo que tenta relacionar este polimorfismo com a incidência de lesões, mas apresenta algumas limitações (coorte amostral inadequada, as entorses provavelmente influenciadas por fatores ambientais e poligênicos e as circunstâncias das lesões para estipular um fator limitante de resposta neuromuscular ou de força muscular), como relatam os próprios autores.

No ano subsequente, em 2016, Qi, Liu e Liu analisaram 100 pacientes com entorse de tornozelo e compararam com 100 pessoas saudáveis sem histórico de lesões no tornozelo. Como resultados trouxeram que a frequência do genótipo RR nos pacientes foi de 12%, significativamente menor que os 24% do grupo controle,

assim como a distribuição das frequências apenas do alelo R nos pacientes foi de 68,5% versus 56,7% do grupo controle. Sugerem na conclusão que, de acordo com os resultados obtidos, o polimorfismo R577X está associado a entorse de tornozelo na população chinesa.

Em 2017, um grupo de estudiosos dos Estados Unidos com uma coorte de 1696 casos de lesões no tornozelo, buscou replicar a associação da mutação R577X feita por Shang et al (2015), mas não obtiveram resultados com diferenças significativas entre os genótipos. Alegaram que uma explicação para as divergências nos achados possa ser pela diferença no fenótipo da lesão (entorses, distensões e ruturas vs. entorse aguda), pela raça (maioria europeia vs. chineses) ou população (população geral vs. soldados). (KIM et al, 2017).

Como ficou claro nos estudos de Yang et al (2001 e 2003) e de Seto et al (2011 e 2013) para que a importância da presença do alelo R seja notada é preciso levar a musculatura a exaustão. Os seis estudos acima que tentaram encontrar alguma associação da presença ou não da proteína ACTN3 funcional utilizaram coortes aleatórias em suas amostras, o que provavelmente torna os resultados duvidosos, ainda que coerentes com a nossa hipótese de que os indivíduos 577XX possam ter uma maior susceptibilidade de serem acometidos por lesões na musculatura esquelética.

O primeiro estudo realizado com atletas de alto rendimento parece ter sido o nosso, em 2016, no qual trouxemos como conclusão através dos dados obtidos que, tanto no futebol americano como no triatlo, os homozigotos XX apresentavam mais lesões musculares do que os demais genótipos (RX e RR). Esse estudo, apresentado na conclusão do curso de Educação Física, serviu como piloto para essa dissertação de Mestrado, corrigindo e melhorando algumas limitações encontradas.

Em 2017, exatamente um ano após a banca do TCC que foram apresentados nossos dados iniciais, foi publicado o primeiro artigo com um grupo amostral compatível com alto rendimento. Massida e colaboradores avaliaram 169 atletas de futebol de campo, todos italianos. Foram realizadas as genotipagens deles para a região 577 da ACTN3 e associadas ao histórico de lesões musculares em 5 temporadas de treinamento e competição. Como resultado observou-se que os homozigotos XX apresentaram uma possibilidade 2,66 vezes mais alta de incidência

de lesões e 2,13 vezes mais alta de gravidade dessas lesões em comparação com os RR.

Com esse achado de Massida et al, La Montagna e o seu grupo de pesquisadores, em 2019, realizaram um trabalho com 30 jogadores da equipe do Nápoli, de futebol de campo profissional da serie A da Itália. Selecionaram cinco genes (ACTN3, COL5A1, MCT1, VEGF e HFE) e realizaram uma triagem com todos os atletas. Encontraram um percentual de 31,2% de atletas homozigotos XX para o gene da ACTN3, o que representaria um alto risco de lesão muscular. Com o domínio da informação a equipe multidisciplinar conseguiu minimizar pelo menos em partes o que seria um entrave, através de um programa de treinamento e nutrição bem elaborados, de forma personalizada e individual de acordo com o perfil genético de cada um. Alguns atletas tiveram cuidados especiais durante as sessões de treinamento e atenção especial cada vez que entrava em campo. A equipe desenvolveu um programa de prevenção de lesões com intervenções terapêuticas direcionadas. Essa abordagem teve uma utilidade potencial de acordo com os dados ao fim da temporada que mostraram e classificaram o Nápoli como a equipe europeia com a menor média de lesões por partidas disputadas. Publicação que mostra a importância de se saber quais atletas merecem maiores cuidados baseado em seus perfis genéticos.

No mesmo ano de 2019 surgiu uma replicação do achado de Massida et al (2017). Um grupo de estudos da Espanha, Clos e colaboradores, genotiparam 43 atletas profissionais de futebol de campo do Barcelona e associaram os genótipos com a média de lesões musculares. Apresentaram como resultados da pesquisa que os 577XX tiveram a maior taxa de lesões (2,78), seguidos pelos RR (1,51) e RX (0,83). Poucos estudos encontrados, mas os resultados corroborados nos fazem pensar na possibilidade existente de estarmos talvez descobrindo um biomarcador novo que indique níveis diferentes de suscetibilidade a lesões no tecido muscular.

Em janeiro de 2020, Moreno e colaboradores publicaram um estudo no qual investigaram 139 maratonistas amadores. Realizaram a genotipagem do ACTN3 e associaram com o número total de lesões durante um ano anterior à participação em uma determinada maratona competitiva. Encontraram como resultado que os 577RR tiveram 1,88 vezes mais chances de sofrer uma lesão qualquer relacionada ao treinamento ou corrida de resistência, quando comparados aos portadores do alelo X. Por outro lado, quando isolou-se apenas as lesões musculares, 577XX

apresentou 2,86 mais chances de sofrer lesões do tipo muscular do que os portadores do alelo R, corroborando com os resultados encontrados por Massida et al, 2017.

No final do ano de 2019, um grupo de cientistas brasileiros de São Paulo (Bottura et al) trouxe um achado novo. Submeteram 23 voluntários a quatro horas em uma câmara de hipóxia normobárica, simulando 4500 metros de altitude e analisaram os dados através de coleta sanguínea imediatamente antes, e a cada hora passada dentro da câmara. Apresentaram como resultados uma associação entre os sintomas da doença aguda da montanha (AMS) e a presença do alelo R do polimorfismo R577X, concluindo que esses indivíduos (RR e RX) parecem ser mais suscetíveis aos efeitos da hipóxia durante o processo de aclimatação, podendo desenvolver os sintomas da AMS. Podemos relacionar esse artigo e seus resultados com os de Seto et al (2013), que mostra a competição entre a α -actinina2 e a calcineurina pela ligação a calsacina2 (inibidor da calcineurina), explicando uma possível sinalização maior para a via metabólica oxidativa quando não se produz ACTN3 (devido a tentativa de compensação do organismo, super expressando α -actinina2 e obtendo um número maior de calcineurina livre).

Como pode-se notar a investigação a respeito do gene da ACTN3 e seus polimorfismos é relativamente nova, tendo início a menos de 20 anos atrás, em 2001. Em 2003 surgiu o estudo clássico mostrando a frequência dos genótipos em atletas olímpicos e a partir daí várias réplicas corroborando o achado. Em 2011, em um experimento com camundongos, Seto e colaboradores mostraram uma possibilidade de danos musculares aumentados em indivíduos XX e a partir de então alguns estudos, mesmo que com cortes amostrais inadequadas (por não levarem a musculatura ao extremo), começaram a associar os genótipos com a suscetibilidade de lesões musculares. Apenas em 2016 com um estudo nosso que foi, de fato, descoberta uma possível maior propensão ao acometimento lesivo nos atletas homozigotos XX. Então foram encontrados mais três estudos, dois deles envolvendo atletas profissionais de futebol de campo, um da Itália e outro da Espanha, e um envolvendo maratonistas amadores que corroboraram esses achados.

O nosso objetivo com a continuidade deste trabalho que demos início em meados de 2015 é justamente buscar cobrir algumas lacunas encontradas nos que já existem e trazer, pela primeira vez, esta relação nos dois esportes selecionados

(triatlo e futebol americano), buscando diferenciar a associação entre predominância energética aeróbia e anaeróbia.

3 METODOLOGIA

3.1 TIPO DE ESTUDO

Segundo Thomas, Nelson e Silverman (2007, p. 28), trata-se de uma pesquisa quantitativa, tendo em vista que os resultados podem ser quantificados por meio da análise dos dados e utilização de ferramentas estatísticas, e descritiva “no sentido de que não se pode presumir uma relação de causa e efeito. Tudo que pode ser estabelecido é que há (ou não) determinada associação entre dois ou mais traços ou desempenho.”

3.2 SUJEITOS

Participaram da pesquisa 49 atletas de futebol americano das equipes João Pessoa Espectros (campeões brasileiros em 2015 e 2019) e Galo Futebol Americano (campeões brasileiros em 2017 e 2018), e os 15 atletas do triatlo mais bem posicionados no ranking no ano de 2016, incluindo um campeão e um quinto colocado em um campeonato mundial.

3.3 INSTRUMENTOS

Foram utilizados no decorrer da pesquisa: equipamentos de proteção individual (luvas, tocas, máscaras), swabs bucais estéreis, tubos eppendorf, agitador de tubos vortex mix, pipetas automáticas, ponteiras, kits de genotipagem, reagentes, aparelho de PCR em tempo real StpeOne Plus e computadores para análise de dados.

3.4 ÉTICA

O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa (CEP) do Centro Universitário de João Pessoa (Unipê), através do número de Certificado de Apresentação para Apreciação Ética (CAAE) 50692215.0.0000.5176. Os responsáveis pelos atletas (presidentes dos clubes e representante da federação) assinaram os termos de anuência e os participantes assinaram, individualmente, os termos de consentimento livre e esclarecido, no qual estava explicado todo o procedimento do trabalho.

3.5 PROCEDIMENTO DE COLETAS

Observando todos os parâmetros éticos, foi feita, com uso de swabs estéreis, a coleta das células da mucosa oral dos participantes. Os atletas do João Pessoa Espectros foram abordados no campo de treinamento, na cidade de João Pessoa, os atletas do Galo Futebol Americano (equipe de Minas Gerais) foram abordados em um hotel que estavam hospedados, também em João Pessoa e os atletas de triatlo foram selecionados em uma etapa do brasileiro, através de um stand de coleta na praia do Cabo Branco, em João Pessoa. As amostras foram levadas ao laboratório de bioquímica e genética do UNIPÊ, onde foi realizado o estudo da região 577 do locus ACTN3.

3.6 ANÁLISE DO DNA

Primeiramente foram adicionados os swabs com células da mucosa oral dos participantes da pesquisa em um tubo eppendorff contendo 500 µL de água destilada, e aquecidas a 95°C por 10 minutos. Posteriormente 2 µL da amostra obtida foram colocados numa mistura contendo 0,05 µL do mix TaqMan® SNP Genotyping Assay para o polimorfismo rs1815739, 10 µL do mix TaqMan® fast PCR master mix e 7,95 µL de H₂O, em placas de 96 poços. A placa foi colocada em aparelho de PCR em tempo real StepOne Plus onde foi feita a genotipagem em quarenta ciclos (incubação a 95°C por 20s, 40 ciclos: 95°C (3s)-60°C (20s) e nova incubação a 25°C por 30s) com detenção da fluorescência a cada um dos quarenta ciclos.

Para esta genotipagem os alelos possíveis estão marcados com duas substâncias fluorescente: o alelo X marcado com o fluoróforo VIC (verde) e o alelo R marcado com o fluoróforo FAM (azul), podendo aparecer como resultados apenas a cor do corante FAM (RR), apenas a cor do corante VIC (XX) ou as duas cores (RX).

De todos os participantes foram anotados os históricos de lesões musculares e o tempo de prática do esporte e foi calculada a média de lesões por ano de prática para fazer a associação com a genotipagem.

3.7 ANÁLISE DE DADOS

Para excluir vieses amostrais a consistência entre as frequências genotípicas foram analisadas e testadas através do equilíbrio de Hardy-Weinberg com emprego da calculadora disponível em: <https://wpcalc.com/en/equilibrium-hardy-weinberg/>.

As médias de lesões musculares por anos de prática com seus desvios padrões e o gráfico de barras foram feitos no *software Microsoft Excel* e a análise de distribuição de frequência com os histogramas e o teste não paramétrico de Mann-Whitney (com 95% de intervalo de confiança) foram realizados no *software GraphPad Prism 6*.

Foi utilizado o teste de Qui-Quadrado (com 95% de intervalo de confiança) para comparar as frequências dos genótipos deste trabalho com alguns dados de trabalhos já existentes na literatura, através da calculadora *Chi-Square* disponível em: <https://www.socscistatistics.com/tests/chisquare/default2.aspx>.

4 RESULTADOS

Tanto os dados do grupo de atletas do futebol americano quanto dos atletas de triatlo estão em equilíbrio de Hardy-Weinberg, conforme a tabela 1.

Tabela 1. Equilíbrio de Hardy-Weinberg dos alelos obtidos dos atletas de futebol americano e triatlo.

Equilíbrio de Hardy-Weinberg			
Modalidade	Genótipo	Participantes (n)	χ^{2*} (p*)
Futebol Americano	RR	10	1,0067 (0,4898)
	RX	28	
	XX	11	
Triatlo	RR	6	0,4167 (0,6)
	RX	6	
	XX	3	

*se $\chi^2 < 3,84$ não se rejeita a hipótese nula (H_0 : população está em equilíbrio de Hardy-Weinberg)

*se $p < 0,05$ não está em equilíbrio de Hardy-Weinberg

Analisando a amostragem total foram encontrados 21,9% dos participantes com ausência do alelo R, ou seja, homozigoto X, e 78,1% com a presença do alelo R, sendo 53,1% RX e 25% RR. Separando a amostra por modalidades podemos citar como resultados do futebol americano 22,45% apresentando genótipo XX e 77,55% de RR e RX, e para o triatlo 20% foram XX e 80% RR ou RX. Os dados são apresentados na tabela abaixo:

Tabela 2. Frequência dos genótipos.

Modalidades	/		
Genótipos	Futebol Americano n (%)	Triatlo n (%)	Total n (%)
RR	10 (20,41%)	6 (40%)	16 (25%)
RX	28 (57,14%)	6 (40%)	34 (53,1%)
XX	11 (22,45%)	3 (20%)	14 (21,9%)

Observamos as distribuições de frequências dos dados através dos histogramas abaixo:

Figura 1: Histograma do genótipo XX no Futebol Americano.

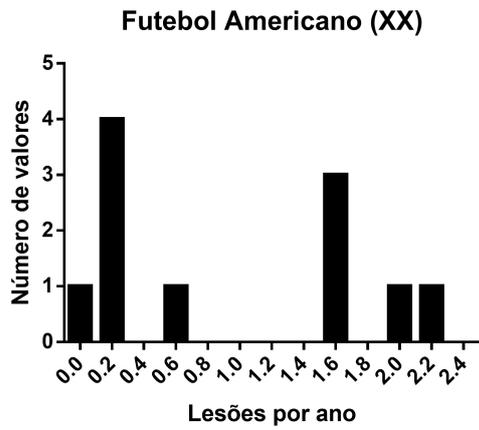


Figura 2: Histograma do genótipo RX no Futebol Americano.

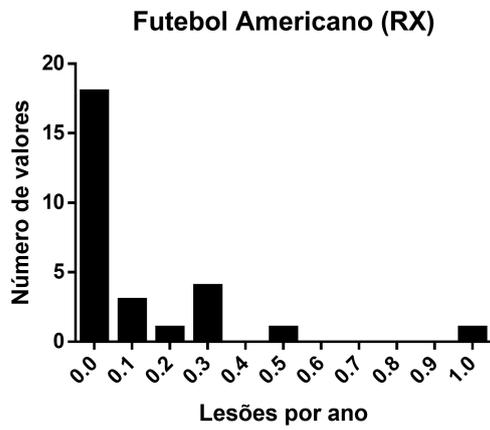


Figura 3: Histograma do genótipo RR no Futebol Americano.

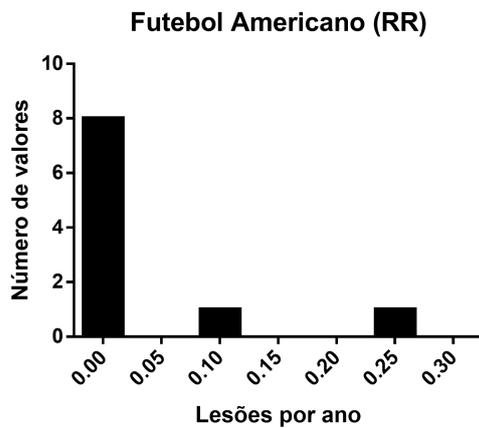


Figura 4: Histograma dos genótipos RR+RX no Futebol Americano.

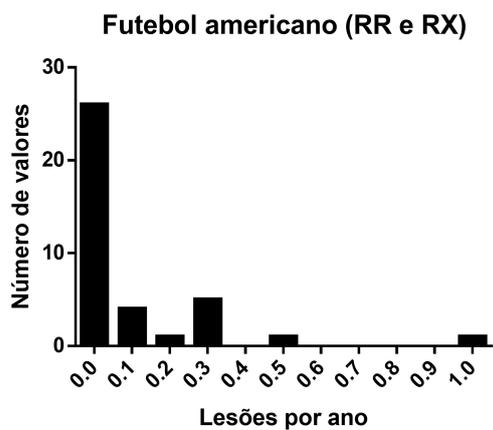


Figura 5: Histograma do genótipo XX no Triatlo.

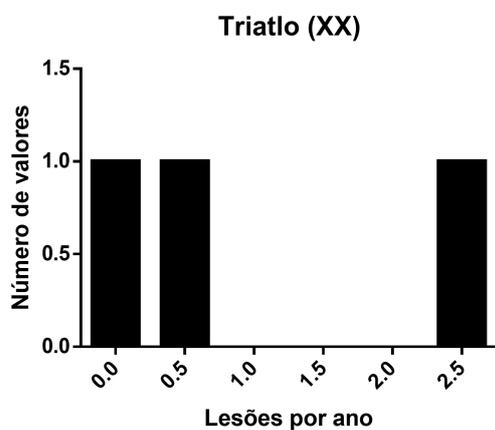


Figura 6: Histograma do genótipo RX no Triatlo.

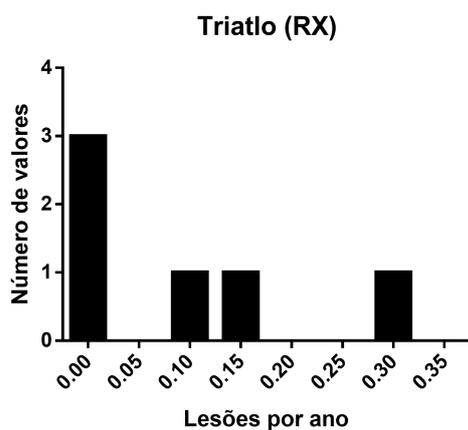


Figura 7: Histograma do genótipo RR no Triatlo

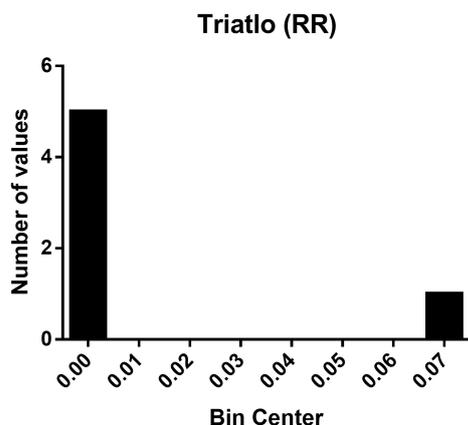
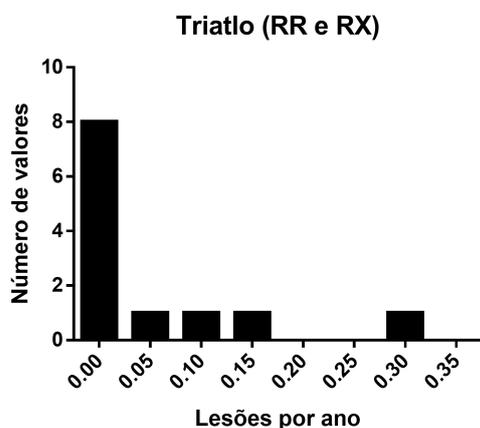


Figura 8: Histograma dos genótipos RR+RX no Triatlo.



Não encontramos distribuição normal dos dados para nenhum dos grupos e por isso escolhemos fazer a estatística inferencial utilizando o teste não-paramétrico de Mann-Whitney.

De acordo com o teste feito não existem diferenças significativas nas quantidades de lesões musculares por ano de prática no esporte ao confrontarmos os genótipos RR e RX, tanto no futebol americano ($P=0,2999$) quanto no triatlo ($P=0,1818$), ou seja, o que parece importar é ter o alelo R em sua carga genética para a ACTN3. Visto essa informação, optamos por unir os dois genótipos em um só grupo, para confrontá-los com os mutantes XX.

Os atletas de futebol americano que não produzem a ACTN3 ativa (genótipo XX) apresentaram uma média de lesões musculares por ano de prática desportiva ($0,9303 \pm 0,8311$) maior que os que produzem a proteína ativa ($0,09213 \pm 0,1933$).

Conforme o teste de Mann-Whitney esses resultados são significativamente diferentes ($P < 0,0001$).

Tabela 3. Estatística descritiva do futebol americano.

Genótipos	XX	RX	RR	RR+RX
Média de lesões por ano	0,9303	0,1125	0,035	0,09213
Desvio padrão	0,8311	0,2176	0,08182	0,1933

Os atletas de triatlo que não produzem a ACTN3 ativa (genótipo XX) apresentaram uma média de lesões musculares por ano de prática desportiva ($0,9841 \pm 1,314$) maior que os que produzem a proteína ativa ($0,05422 \pm 0,09739$). Conforme o teste de Mann-Whitney esses resultados são significativamente diferentes ($P = 0,0088$).

Tabela 4. Estatística descritiva do triatlo.

Genótipos	XX	RX	RR	RX+RR
Média de lesões por ano	0,9841	0,09733	0,01111	0,05422
Desvio padrão	1,314	0,1252	0,02722	0,09739

Parecendo existir de fato uma relação entre o polimorfismo da região 577 do gene ATCN3 e a suscetibilidade de acometimento lesivo nos tecidos dos músculos esqueléticos dos atletas.

5 DISCUSSÃO

As frequências dos genótipos em atletas de triatlo obtidas neste trabalho são semelhantes a um estudo de Grealy et al (2015), onde foram genotipados 196 triatletas nos quais 50% eram RX, 26,5% eram RR e 23,5% XX. (confirmada estatisticamente por meio do teste do qui-quadrado: $p=0,605603$ e $\chi^2=0,2666$). A frequência um pouco maior dos homozigotos para o alelo X pode ser explicada por se tratar de uma amostra que compete o *iron man*, e os dados desta pesquisa são de atletas de distância olímpica, ou seja, os níveis de resistência das duas provas são bem diferentes, mas ainda assim não foi encontrada diferença significativa na distribuição (40% RX; 40% RR; 20% XX).

Não foram encontrados estudos sobre o gene da ACTN3 em atletas de futebol americano. Em um estudo de Nirengi et al (2016), 76 jogadores de rugby do sexo masculino, 35,5% foram XX, 35,9% apresentaram genótipo RX e 25% RR. Apesar de expressar alguma semelhança com o futebol americano no que diz respeito ao objetivo de ir conquistando o território adversário, as jogadas do rugby são mais longas e intermitentes, o que é sugestivo de explicação para um maior percentual de atletas homozigotos para o alelo X em comparação ao presente estudo (35,5% no rugby e 22,45% no futebol americano para o genótipo XX). Ainda assim houve uma semelhança estatisticamente comprovada pelo teste do Qui-quadrado ($p=0,061486$ e $\chi^2=3,4968$).

O principal achado no presente estudo foi uma associação entre o polimorfismo da região 577 do gene da ACTN3 e a suscetibilidade à lesão muscular. Nossos resultados alinham-se com alguns estudos anteriores, que apresentam a genética como um novo campo de conhecimento em medicina desportiva com diversas características intrínsecas que devem ser aprofundadas, principalmente no que diz respeito às propriedades dos tecidos. (COLLINS & RALEIGH, 2009; LARRUSKAIN et al, 2018; PRUNA et al, 2017).

Segundo Berman e North (2010) e Karp (2005), a ACTN3 promove uma rede frouxa de filamentos interconectados perto de ângulos retos uns com os outros, apenas nas fibras de contração rápida (tipo II). É uma proteína quaternária de forma alongada caracterizada como proteína empacotadora ou de ligação transversal, composta pelos domínios de ligação da actina, domínio central e um domínio carboxi-terminal. Compõe a estrutura da linha Z, que é uma linha de ancoragem no

sarcômero da fibra muscular, e, juntamente com outras proteínas estruturais (miotilina, miopaladina, cap-z e etc) cria uma proteção através do empacotamento, dando rigidez maior a esta área e proporcionando uma ligação eficaz das actinas.

A forma ativa da ACTN3 promove uma maior estabilidade das unidades contráteis, os sarcômeros. Portanto pode-se deduzir que indivíduos com genótipo XX, ou seja, àqueles que expressam apenas a forma truncada da ACTN3, poderiam estar mais suscetíveis a lesões musculares, uma vez que as suas fibras tipo II não contam com a proteção extra da ACTN3 ativa, diminuindo assim a vida útil desta célula. Isto justifica também a incompatibilidade desta configuração genotípica para a prática de modalidades de alta intensidade e curta duração no alto rendimento, já descrita na literatura. (BERMAN E NORTH, 2010; COELHO et al, 2014; GREALY et al, 2015; KIKUCHI et al, 2014; KIM, SONG e KIM, 2014; NIRENGI et al, 2016; PASQUA et al, 2011; WOLFARTH et al, 2014; YANG et al 2003).

Aparentemente somos os primeiros a trazer novas inferências envolvendo o futebol americano e o triatlo associados ao polimorfismo da região 577 do gene da ACTN3, no que diz respeito a suscetibilidade de lesões musculares.

Massida et al 2007 avaliaram jogadores de futebol de campo e observaram que os XX teriam 2,66 vezes mais chances de se lesionarem do que os RR, e que não houve diferenças significativas entre os RR e RX, corroborando com os nossos achados tanto para o futebol americano, quanto para o triatlo.

Nossos resultados também corroboram com os de Clos et al, que, em 2019, realizaram coleta de 43 atletas de futebol de campo visando associar o polimorfismo com as lesões musculares e apresentaram como resultados da pesquisa que os 577XX tiveram a maior taxa de lesões (2,78), que os produtores da ACTN3 ativa, RR (1,51) e RX (0,83).

Em 2020, Moreno et al avaliaram corredores amadores de maratona e também apresentaram resultados semelhantes: 577XX apresentou 2,86 mais chances de sofrer lesões do tipo muscular do que os portadores do alelo R. Mesmo não sendo atletas de altíssimo rendimento, o que tornaria talvez os resultados mais robustos, ainda assim chegaram a mesma conclusão no que diz respeito a fragilidade dos homocigotos para o alelo X com relação ao acometimento de lesões musculares.

É imprescindível discutir também o trabalho realizado na Itália, na equipe do Napoli de futebol de campo. La Montagna et al (2019) mapearam 5 genes de 30

atletas, entre eles o da ACTN3. Tendo posse da informação de uma possível elevada chance de os genótipos XX sofrerem mais lesões musculares com base no trabalho de Massida et al (2017), realizaram um trabalho personalizado tanto no âmbito nutricional como no planejamento das sessões de treino e alcançaram o título de equipe com menos casos de lesões musculares da Europa na temporada, mesmo apresentando uma elevada frequência de indivíduos 577XX (31,2%).

Os indivíduos que produzem a forma funcional da ACTN3 (RR e RX) devem estar mais protegidos contra possíveis lesões musculares, tendo em vista que o aparato muscular é mais estável pela proteção extra da ACTN3. Os resultados desta pesquisa indicam que a configuração para o gene da ACTN3 pode exercer influência sobre as lesões musculares. Os resultados de lesões por ano de prática para os 49 atletas do futebol americano foram XX=0,9303, RX 0,1125 e RR 0,035. Estes resultados foram compatíveis, para o genótipo XX, com os obtidos por Clos et al (2019). Entretanto, quando comparados com os RR e RX houve uma diferença, apresentando em nossos dados uma menor incidência de lesões musculares nos RR e nos dados de Clos et al (2019) nos RX. Essa divergência encontrada parece ser um forte indício de que é apenas a presença do alelo R que reduz a incidência de lesões musculares.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com os dados, sugere-se que a configuração do polimorfismo da região 577 do gene da ACTN3 pode influir sobre a incidência de lesões musculares. Indivíduos homocigotos para o alelo X, por possuírem um aparato contrátil menos estável, mostraram-se mais suscetíveis a lesões musculares do que os indivíduos que apresentam o alelo R em sua configuração genotípica. Como há um número muito reduzido de publicações sobre o tema, justifica-se a necessidade da realização de novos experimentos.

REFERÊNCIAS

- Ahmetov, I. I., et al. The dependence of preferred competitive racing distance on muscle fibre type composition and ACTN3 genotype in speed skaters. **Exp. Physiol.** v.96 p.1302–1310, 2011.
- Ahmetov, I. I.; Fedotovskaya, O. N. Current progress in sports genomics. **Adv. Clin. Chem.** v70, p.247–314, 2015.
- Bermann, Y.; North, K. N. A Gene for Speed: The Emerging Role of α -Actinin-3 in Muscle Metabolism. **Int. Union Physiology.** n.25 p.250-259. 2010.
- Bottura, R.M. et al. Association between ACTN3 and acute mountain sickness. **Genes and Environment.** v.41 n.18 2019.
- Cieszczyk, P. et al. Association of the ACTN3 R577X polymorphism in polish power-orientated athletes. **J. Hum. Kinet.** v.28 p.55–61, 2011.
- Clos, E. et al. ACTN3 single nucleotide polymorphism is associated with non-contact musculoskeletal soft-tissue injury incidence in elite professional football players. **Sports Medicine.** 05 February, 2019.
- Coelho, D.B. et al. Comparison of the genotypes and allele frequencies of ACTN3 of football players from different categories. **Revista Brasileira de Ciência e Movimento.** v. 22 n.4 p.97-106. 2014.
- Collins, M.; Raleigh, S.M. Genetic risk factors for musculo skeletal soft tissue injuries. **Med Sport Sci** v.54, p.136–149, 2009.
- Comachio J. et al. Desempenho Anaeróbico e Características Antropométricas de Jogadores de Futebol Americano de um Equipe Brasileira. **Revista Brasileira de Prescrição e Fisiologia do Exercício.** v.9 n.51 p.72-80. 2015.
- Condello, G.; Schultz, K.; Tessitore, A. Assessment of sprint and change-of-direction performance in College Football Players. **International Journal of Sport Physiology and Performance.** v. 8. n. 2 p.211-212, 2013.
- Deuster, P. A. et al. Genetic polymorphisms associated with exertional rhabdomyolysis. **Eur. J. Appl. Physiol.** V.113, p.1997–2004, 2013.
- Druzhevskaya, A. M. et al Association of the ACTN3 R577X polymorphism with power athlete status in Russians. **Eur. J. Appl. Physiol.** v.103 p.631–634, 2008.
- Epiphanyo, E.H.; Amatuzzi, M.M. A opção pelo triatlo como uma prioridade de vida: um estudo fenomenológico. **Revista estudos de psicologia.** v. 14 n.1 p.61-70. 1997.
- Eynon, N. et al. ACTN3 R577X polymorphism and Israeli top-level athletes. **Int. J. Sports Med.** v.30 p.695–698, 2009.

Eynon, N. et al. Genes for elite power and sprint performance: ACTN3 leads the way. **Sports Med.** v.43, p.803–817, 2013.

Grealy, R. et al Evaluation of a 7-Gene Genetic Profile for Athletic Endurance Phenotype in Ironman Championship Triathletes. **Journal Plos One.** December, 2015.

Hoffman, J. R. The applied physiology of American football. **International Journal of Sports Physiology and Performance.** v. 3. n. 3. p.387-392. 2008.

Judson, R. N., et al. The functional ACTN3 577X variant increases the risk of falling in older females: Results from two large independent cohort studies. **The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences.** v.66A; p.130–135. 2011.

Karp, G.; **Biologia celular e molecular: conceitos e experimentos.** 3. ed. Barueri: Manole, 2005.

Kikuchi, N. et al. The ACTN3 R577X Polymorphism Is Associated With Muscle Power in Male Japanese Athletes. **Journal of Strength and Conditioning Research.** v.28 n.7 p.1783-1789. 2014.

Kikuchi, N. et al ACTN3 R577X genotype and athletic performance in a large cohort of Japanese athletes. **Eur. J. Sport Sci.** v.16 p.694–701, 2016.

Kim, S.K. et al Two genetic loci associated with ankle injury. **PLOS ONE.** 28 September, 2017.

Kim, H.; Song, K.H; Kim, C.H. The ACTN3 R577X variant in sprint and strength performance. **Journal of Exercise Nutrition & Biochemistry.** v.18 n.4. p.347-353. 2014.

Kim, J. H. et al. Genetic associations of body composition, flexibility and injury risk with ACE, ACTN3 and COL5A1 polymorphisms in Korean ballerinas. **J. Exerc. Nutrition Biochem.** v18, p205–214, 2014.

La Montagna, R. et al. Genomic analysis reveals association of specific SNPs with athletic performance and susceptibility to injuries in professional soccer players. **Journal of Cellular Physiology.** p.1-10, July 2019.

Larruskain, J. et al. Genetic variants and hamstring injury in soccer: an association and validation study. **Med Sci Sports Exerc** v.50 n.2 p.361–368, 2018.

Ma, F. et al. The association of sport performance with ACE and ACTN3 genetic polymorphisms: a systematic review and meta-analysis. **PLoS ONE,** 2013.

Machado, C.N. et al. Efeito do Exercício nas Concentrações Séricas de Creatina Cinase em Triatletas de Ultradistância. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte.** v. 16 n.5 p.378-381. 2010.

- Massidda, M. et al Genetic markers and explosive leg-muscle strength in elite Italian soccer players. **J Sports Med Phys Fitness** 52: 328–334, 2012.
- Massida, M. et al ACTN3 R577X Polymorphism Is Associated With the Incidence and Severity of Injuries in Professional Football Players. **Clinical Journal Sport Medicine**. v.0 n.0 2017.
- Mills M, Yang N, Weinberger R, et al. Differential expression of the actin-binding proteins, alpha-actinin-2 and -3, in different species: implications for the evolution of functional redundancy. **Hum Mol Genet**. v.10 p.1335–1346, 2001.
- Montenegro, R.C. et al. Desempenho anaeróbico e ACTN3 em crianças. **Revista Motricidade**. v.9 n.4 p.47-53. 2013.
- Moreno, V. et al. Influence of the ACTN3 R577X genotype on the injury epidemiology of marathon runners. **PloS One**. 28 January, 2020.
- Nirengi, S. et al; ACTN3 gene R577X Polymorphism Associated with High-Density Lipoprotein Cholesterol and Adiponectin in Rugby Players. **AACE Journals**. Feb 2016.
- Orysiak, J. et al. Relationship between ACTN3 R577X polymorphism and maximal Power output in elite Polish athletes. **Medicina**. v.50, p.303-308, outubro, 2014.
- Papadimitriou, I. D. et al. ACTN3 R577X and ACE I/D gene variants influence performance in elite sprinters: a multi-cohort study. **BMC Genomics** v.17 p.285, 2016.
- Pasqua, L. A. et al. ACTN3 e desempenho esportivo: um gene candidato ao sucesso em provas de curta e longa duração. **Revista Brasileira de Cineantropometria e Desempenho Humano**. v.13 n.6 p.477-483. 2011.
- Pimenta E. M. et al. The ACTN3 genotype in soccer players in response to acute eccentric training. **Eur J Appl Physiol**. v.112, p.1495–1503, 2012.
- Pimenta, E.M. et. al. Effect of ACTN3 gene on strength and endurance in soccer players. **Journal of Strength and Conditioning Research**. v.27, n.12, p.3286-3292, dezembro, 2013.
- Pickering, C.; Kiely, J. ACTN3: More than Just a Gene for Speed. **Frontiers in Physiology**. v.8 n. 1080, 2017.
- Pickering, C.; Kiely, J. ACTN3. Morbidity, and Healthy Aging. **Frontiers in Genetics**. v.9 n.15 2018.
- Pruna, R. et al. Influence of genetics on sports injuries. **J Nov Physiother** v.7, n.4, 2017.
- Qi, B.; Liu, J. Q.; Liu, G. L. Genetic association between ACTN3 polymorphism and risk of non-acute ankle sprain. **Genet. Mol. Res**. v15, 2016.

Rodrigues, F. et al. Futebol Americano no país do futebol: o caso do Cuiabá Arsenal. **Barbaroi**. n.41 p.227-247. 2015.

Roth, S. M. et al. The ACTN3 R577X nonsense allele is under-represented in elite level strength athletes. **Eur. J. Hum. Genet.** v.16 p.391–394, 2008.

Seto, J.T. et al. Deficiency of α -actinin-3 is associated with increased susceptibility to contraction-induced damage and skeletal muscle remodeling. **Human Molecular Genetics.** v.20 n.15. 2011.

Seto J.T. et al. ACTN3 Genotype influences muscle performance through the regulation of calcineurin signaling. **J Clin Invest.** v.123 n.10 p.4255–63. 2013.

Shang, X. et al. The association between the ACTN3 R577X polymorphism and noncontact acute ankle sprains. **J Sports Sci** v. 33 p.1775–1779, 2015.

Silva, M. S. et al. Elimination of influences of the ACTN3 R577X variant on oxygen uptake by endurance training in healthy individuals. **Int. J. Sports Physiol. Perform.** v10, p636–641, 2015.

Thomas, J.R.; Nelson, J.K.; Silverman, S.J. **Métodos de Pesquisa em atividade Física**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2012.

Vancini, R. L. et al. Genetic aspects of athletic performance: the African runners phenomenon. **Open Access J. Sports Med.** v.5, p.123–127, 2014.

Werneck, F.Z. et al. Efeito da Idade Relativa em Atletas Olímpicos de Triatlo. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte.** v.20 n.5 p.394-397. 2014.

Weyerstraß, J., Stewart, K., Wesselius, A., Zeegers, M. Nine genetic polymorphisms associated with power athlete status—a meta-analysis. **J. Sci. Med. Sport.**, 2017.

Wolfarth, B. et al. Advances in Exercise, Fitness, and Performance Genomics in 2013. **American College of Sports Medicine.** p.851-859. 2014.

Yang, N. et al. ACTN3 Genotype Is Associated with Human Elite Athletic Performance. **The American Journal of Human Genetics.** v.73 p.627-631. 2003.

Yang, N. et al. The ACTN3 R577X polymorphism in East and West African athletes. **Med. Sci. Sports Exerc.** v.39, p.1985–1988, 2007.

Yang, R. et al. ACTN3 R577X gene variant is associated with muscle-related phenotypes in Elite Chinese sprint/power athletes. **J. Strength Cond. Res.** v.31 p.1107–1115, 2017.