UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE EDUCAÇÃO FÍSICA E ESPORTE

LEONARDO ALVES PASQUA

Associação entre o polimorfismo de nucleotídeo único no gene ACTN3, variáveis fisiológicas
e parâmetros neuromusculares relacionados à aptidão aeróbia

São Paulo

2013

LEONARDO ALVES PASQUA

Associação entre o polimorfismo de nucleotídeo único no gene ACTN3, variáveis fisiológicas e parâmetros neuromusculares relacionados à aptidão aeróbia

Dissertação apresentada à Escola de Educação Física e Esporte da Universidade de São Paulo como requisito parcial para obtenção do título de mestre em ciências.

Programa: Educação física.

Área de concentração: Estudos do Esporte

Orientador: Prof. Dr. Rômulo Cássio de Moraes Bertuzzi

São Paulo

2013

Nome: PASQUA, Leonardo Alves

Título: Associação entre o polimorfismo de nucleotídeo único no gene ACTN3, variáveis fisiológicas e parâmetros neuromusculares relacionados à aptidão aeróbia

Dissertação apresentada à Escola de Educação Física e Esporte da Universidade de São Paulo como requisito parcial para obtenção do título de mestre em ciências.

Aprovado em:

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, sem O qual eu ou nenhuma das pessoas citadas nesses agradecimentos teríamos alguma realização. Decidi separar os agradecimentos em duas partes: aquelas pessoas que fazem parte primordialmente da minha vida pessoal e aquelas que, apesar de muitas vezes serem grandes amigos, estão presentes principalmente na minha vida acadêmica.

Primeiramente, agradeço infinitamente toda minha família, pois não consigo pensar como eles poderiam ser melhores. Em primeiro lugar, meus grandes Pai e Mãe (apesar de ter um pouco mais de um metro e meio), por toda a ajuda que me dão sempre e todo o amor que alguém podia esperar! Acho que nunca vou conseguir agradecer o suficiente! OBRIGADO! Meu irmão, que eu também não podia querer outro. Aprendi muito com ele e agradeço principalmente por me ajudar a exercitar, E MUITO, a paciência (rsrsrs). Ele também é responsável por mais três das pessoas muito importantes nesses agradecimentos: minha cunhada Neária, que acabou sendo uma irmã pra mim, e meus muito queridos sobrinhos Ryan (Branquelo) e Enzo (Calango). Agradeço também à minha tia Tereza, por ter me ajudado muito, principalmente no começo dos meus estudos. Obrigado e amo muito todos vocês!

Gostaria de agradecer também todos os meus amigos de Guaxupé, sem os quais a vida teria tido metade da graça. Primeiro de todos, agradeço meu grande brother Pedro Dallora, por todos os momentos, festas, viagem, enfim, por ser o melhor amigo que vou fazer a vida toda! Valeu Pepê! Agradeço também o Junão “Chuck Norris”, Alan “O Produtor”, Renê “Doutor”, o Edim, Anderson “Andim” e Felipe. Sem esses caras ia ser tudo muito chato (risadas)! VALEU GALERA!!

Agora em São Paulo, não dá pra esquecer os amigos da rep D.O., Raul (e seus pais Dr. Raul e Valéria, pela imensa ajuda), Cezinha, Guilherme, Fábio, Julien, Fernando e Conan, que muito me atrapalharam quando eu tinha prova no dia seguinte e sempre receberam o troco! Também na rep, agradeço o Vitão e o André “Mano Corrêa”, dois grandes amigos que fiz na faculdade e que vão ficar pra vida toda! Na faculdade, Claudião “Clarck”, Caio, Renato Kiss, Vitinho, Glauber, Pedro “Ministro”, Rodrigo “Zizou”, Guilherme “Norusca”. Valeu a todos!

Em relação ao trabalho, agradeço primeiramente ao meu orientador Prof. Rômulo Bertuzzi, sem o qual não teria sido possível a realização deste e todos os meus outros

trabalhos, por toda a paciência, dedicação e ajuda desde o meu primeiro dia no laboratório. Agradeço também ao Prof. Adriano Lima-Silva, pela co-orientação durante todo este período.

A todos os meus amigos do grupo de estudos. Primeiro, o Salomão, sem o qual esse trabalho ainda não estaria terminado e por me ensinar a lavar a máscara do analisador de gases (rsrsrs). Valeu Salompas! Agradeço também ao trio Alagoas, Marcão “tio Deivinho”, Pai “o Pai”, e Victor “Voador”, Rogério “Bocca”, Rodrigo “Urso Love” e Fabiano “Estagiário”.

A todos os amigos do LADESP: Nilo, Edu, Úrsula (em especial, pelas ajudas de sempre), Valéria, Léo, e Fabiano Pinheiro. Agradeço também aos residentes da medicina esportiva Bernard e Paulinha, e ao médico do laboratório Felipe Hardt por toda a ajuda. Por último, não poderia esquecer o mestre ÉÉÉEdson, por toda a ajuda, paciência, pelos “nãos” e pelas balas disponibilizadas!

Um agradecimento especial também ao pessoal do laboratório de nutrição da EEFE, onde foram realizadas as análises de biomol. Com destaque, agradeço a colaboração do Guilherme Artioli, sem a qual esse trabalho ainda estaria incompleto e todos os ensinamentos das técnicas de biomol. Valeu Gui! Agradeço ainda a Aline, os técnicos Fernando e Victor, e o Jhonny. Por fim, agradeço ao Prof. Dr. Antônio Herbert Lancha Jr. por disponibilizar a utilização do laboratório.

Impossível também não agradecer a equipe da secretaria de pós-graduação Ilza, Marcião, Paulão e Mari, pela imensa eficiência, paciência (rsrs) e por toda a ajuda. Agradeço também a Camila do comitê de ética, por toda a ajuda. Obrigado a todos vocês! Além disso, todos os funcionários que encontro todos os dias pela EEFE: Jair, Hudson, Reginaldo, Paulão, Capitão Nascimento, Marcão, Ricardo, Baiano e Sônia “madrinha”.

A todos os cento e cinquenta participantes que tornaram possível a realização do estudo. Obrigado!

Com essa divisão, não consegui pensar em colocar uma pessoa em apenas uma das “categorias”: minha namorada Mayara. Com ela vi que, além de nascer entre pessoas muito boas, eu consegui conhecer também algumas que vão ficar no coração pra sempre. Então acho que nada mais justo do que agradecê-la em especial, por ser importante em qualquer parte da minha vida. Não dá pra falar de tudo, mas destacar algumas coisas é fundamental: obrigado pelo apoio em todos os momentos de aperto (muitas vezes criados por nós mesmos...rsrs),

pela companhia nos estudos, pelo incentivo em todos os “projetos”, pelas dicas de estilo em todos os slides, apresentações, vestuário (rsrs) e, principalmente, pela companhia nos momentos bons, que são os mais importantes! Obrigado por todos os dias de praia e sol, enfim, inúmeras memórias que vão ficar pra sempre! Obrigado por tornar os momentos ruins bons, e os bons melhores ainda! Amo você!

Por último, gostaria de deixar aqui uma frase que eu gosto bastante, do poeta, cantor e guerreiro Bob Marley, em resposta à pergunta de porque ainda insistia em fazer um show pela libertação de seu povo após sofrer um atentado no dia anterior:

“As pessoas que estão tentando fazer desse mundo um lugar pior não estão tirando um dia de folga. Como eu poderia?”

RESUMO

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

O objetivo do presente estudo foi investigar a existência de associação entre os diferentes genótipos do polimorfismo R577X do gene ACTN3 e variáveis fisiológicas e neuromusculares associadas à aptidão aeróbia e ao desempenho em provas de longa duração. Cento e cinquenta indivíduos fisicamente ativos foram submetidos aos seguintes testes: a) teste incremental máximo para determinação do consumo máximo de oxigênio, velocidade de pico, limiar ventilatório (LV) e ponto de compensação respiratória (PCR); b) dois testes de cargas constantes nas velocidades de 10 km.h⁻¹ e 12 km.h⁻¹ para determinação da economia de corrida; c) teste de uma repetição máxima no exercício *leg press* para determinação da força máxima de membros inferiores; d) teste de salto vertical para determinação da potência máxima de membros inferiores e; e) genotipagem para determinação do genótipo do gene ACTN3. Os principais resultados foram a maior representação do genótipo XX entre os indivíduos com maiores velocidades associadas ao LV e ao PCR. Além disso, entre os indivíduos mais econômicos, foi observada uma maior representação de pelo menos uma cópia do alelo X (genótipos RX e XX). Esses resultados sugerem que o genótipo XX do gene ACTN3 parece ser favorável às variáveis fisiológicas associadas à aptidão aeróbia, sobretudo aquelas determinadas em intensidades submáximas.

Palavras-chave: consumo máximo de oxigênio, força dinâmica máxima, economia de corrida, limiares metabólicos, genética.

ABSTRACT

PASQUA, L. A. **Association among the single nucleotide polymorphism in the ACTN3 gene, physiological variables and neuromuscular parameters related to aerobic fitness.** 2013. Dissertação (Mestrado) – Escola de Educação Física e Esporte, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

The aim of the present study was to investigate the relationship among the genotypes of the ACTN3 gene and physiological and neuromuscular parameters related to aerobic fitness and endurance performance. One hundred and fifty male physically active subjects performed the following tests: a) a maximal incremental test to determine maximal oxygen consumption, peak velocity, ventilatory threshold and respiratory compensation point; b) two constant speed tests at 10 km.h⁻¹ and 12 km.h⁻¹ to determine running economy; c) one repetition maximum in the leg press to determine the maximal dynamic strength of the lower limbs; d) vertical jump test to determine the maximum power of the lower limbs and; e) genotyping for the ACTN3 gene polymorphism. Our main results were a higher frequency of the XX genotypes among the individuals with the highest speeds associated to ventilatory threshold and to the respiratory compensation point. It was observed a higher frequency of at least one copy of the X allele (RX and XX genotypes) among the more economical individuals. These results suggest that the XX genotype of the ACTN3 gene seems to be associated with physiological variables related with the aerobic fitness, mainly those determined in submaximal intensities.

Key words: maximal oxygen consumption, maximal dynamic strength, running economy, metabolic thresholds, genetics.

LISTA DE TABELAS

	página
TABELA 1 – Características antropométricas e nível de atividade física dos participantes (n = 150).....	44
TABELA 2 – Variáveis mensuradas durante o teste incremental máximo (n = 150).....	45
TABELA 3 – Frequências dos genótipos por tercil com base na idade (n = 100).	46
TABELA 4 – Frequências dos genótipos por tercil com base na massa corporal (n = 100).....	46
TABELA 5 – Frequências dos genótipos por tercil com base na estatura (n = 100).....	47
TABELA 6 – Frequências dos genótipos por tercil com base no percentual de gordura corporal (n = 100).....	47
TABELA 7 – Frequências dos genótipos por tercil com base no nível de atividade física (n = 100).....	48
TABELA 8 – Frequências dos genótipos por tercil com base nos valores da velocidade associada ao limiar ventilatório (n = 100).....	49
TABELA 9 – Frequências dos genótipos por tercil com base nos valores da velocidade associada ao ponto de compensação respiratória (n = 100).....	49
TABELA 10 – Frequências dos genótipos por tercil com base nos valores de economia de corrida mensurada a 12 km.h ⁻¹ (n = 100).....	50
TABELA 11 – Frequências dos genótipos por tercil com base nos valores da velocidade de pico no teste incremental máximo (n = 100).....	50
TABELA 12 – Frequências dos genótipos por tercil com base nos valores do consumo máximo de oxigênio (n = 100).....	51
TABELA 13 – Frequências dos genótipos por tercil com base nos valores de economia de corrida mensurada a 10 km.h ⁻¹ (n = 100).....	51
TABELA 14 – Frequências dos genótipos por tercil com base nos valores de força máxima de membros inferiores (1RM) (n = 100).....	52
TABELA 15 – Frequências dos genótipos por tercil com base nos valores de altura do salto vertical (n = 100).....	52

LISTA DE FIGURAS

	página
FIGURA 1 – Aumento do número de estudos por ano envolvendo a análise de polimorfismos genéticos e fatores relacionados ao exercício físico, com início em 1998, pelo estudo de Montgomery et al. (1998) até a última publicação (fonte: PUBMED).....	27
FIGURA 2 – Localização das α -actininas no músculo esquelético.....	32
FIGURA 3 – Representação da superfície do domínio central da α -actinina com a unidade de espectrina 1 à esquerda e 4 à direita. As cores cinza, verde e roxo representam os resíduos idênticos, conservativos e não-conservativos, respectivamente, quando as sequências das isoformas -2 e -3 são alinhadas (adaptada de Monkol Lek et al. 2009).....	32
FIGURA 4 – Representação esquemática do polimorfismo R577X do gene ACTN3 na sequência de bases do DNA, alteração na cadeia polipeptídica e alteração na expressão da proteína.....	34
FIGURA 5 – Representação esquemática da divisão da amostra em tercís com base nos valores de determinada variável (ex. $\dot{V}O_2\text{max}$), exclusão do tercil intermediário e subsequente comparação das frequências dos genótipos no primeiro e terceiro tercís. ↓: menores valores; ↔: valores intermediários; ↑: maiores valores.....	43

LISTA DE ABREVIACÕES

$\dot{V}O_2\text{max}$	Consumo máximo de oxigênio
LV	Limiar ventilatório
PCR	Ponto de compensação respiratória
EC	Economia de corrida
FC_{MAX}	Frequência cardíaca máxima
RER_{MAX}	Razão de troca respiratória máxima
V_{pico}	Velocidade de pico no teste incremental máximo
[La]	Concentração sanguínea de lactato
IPAQ	International Physical Activity Questionnaire
T1	Primeiro tercil
T3	Terceiro tercil

1. INTRODUÇÃO.....	14
2. OBJETIVOS.....	18
2.1. OBJETIVO GERAL.....	18
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	18
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	19
3.1. METABOLISMO AERÓBIO E EXERCÍCIO FÍSICO.....	19
3.2. CONSUMO MÁXIMO DE OXIGÊNIO.....	20
3.3. LIMIARES METABÓLICOS.....	21
3.4. ECONOMIA DE CORRIDA.....	23
3.5. GENÉTICA E EXERCÍCIO.....	24
3.6. POLIMORFISMOS DE DNA: A FONTE DE VARIAÇÃO.....	25
3.7. ASSOCIAÇÃO ENTRE OS POLIMORFISMOS GENÉTICOS E A APTIDÃO AERÓBIA.....	29
3.8. POLIMORFISMO NO GENE ACTN3 E APTIDÃO AERÓBIA..	31
4. METODOLOGIA.....	38
4.1. AMOSTRA.....	38
4.2. DESENHO EXPERIMENTAL.....	38
4.3. MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS.....	39
4.4. TESTE INCREMENTAL MÁXIMO.....	39
4.5. TESTES DE CARGAS CONSTANTES.....	40
4.6. TESTE DE FORÇA DINÂMICA MÁXIMA.....	40

4.7. TESTE DE SALTO VERTICAL.....	41
4.8. GENOTIPAGEM.....	42
4.9. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	43
5. RESULTADOS.....	44
5.1. DISTRIBUIÇÃO DOS GENÓTIPOS E CARACTERÍSTICAS DA AMOSTRA.....	44
5.2. ANÁLISES DAS FREQUÊNCIAS DOS GENÓTIPOS COM BASE NOS TERCIS PARA AS CARACTERÍSTICAS ANTROPOMÉTRICAS E O NÍVEL DE ATIVIDADE FÍSICA.....	45
5.3. ANÁLISES DAS FREQUÊNCIAS DOS GENÓTIPOS COM BASE NOS TERCIS PARA AS VARIÁVEIS FISIOLÓGICAS E PARÂMETROS NEUROMUSCULARES.....	48
6. DISCUSSÃO.....	53
7. LIMITAÇÕES.....	57
8. CONCLUSÃO.....	58
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	59
10. ANEXOS.....	72

1. INTRODUÇÃO

O metabolismo oxidativo é a via de transferência de energia predominante em atividades com duração superior a 75 segundos (GASTIN, 2001; LAURSEN et al., 2010). Devido à utilização de O_2 para a ressíntese de ATP nessas atividades, a análise das trocas gasosas durante o exercício tornou-se uma ferramenta extensamente utilizada na avaliação da aptidão aeróbia de indivíduos com diferentes níveis de treinamento (MIYATAKE et al., 2010; BERTUZZI et al., 2012). Através das trocas gasosas mensuradas durante um teste incremental máximo é possível identificar diversas variáveis fisiológicas associadas à função do metabolismo aeróbio. Dentre essas variáveis, a mais tradicional é o consumo máximo de oxigênio ($\dot{V}O_{2max}$), que representa a máxima taxa de captação, transporte e utilização do O_2 atmosférico (HILL; LUPTON 1923; LUCIA et al., 2006; PETTITT et al., 2012).

Contudo, apesar de o $\dot{V}O_{2max}$ ser considerado como o limite superior do funcionamento do metabolismo aeróbio (DAY et al., 2003), tem sido sugerido que essa variável não é sensível o suficiente para refletir mudanças na aptidão aeróbia (EDWARDS et al., 2003), além de não ser o melhor preditor do desempenho em provas de longa duração em grupos homogêneos de atletas (CONLEY et al., 1980) ou indivíduos não-treinados (YOSHIDA et al., 1987). Consequentemente, variáveis fisiológicas submáximas obtidas durante um teste incremental máximo devem ser consideradas (BENTLEY et al., 2007). Os limiares metabólicos encontram-se entre as principais variáveis determinadas em intensidades submáximas durante um teste progressivo até a exaustão (MEYER et al., 2005). O primeiro limiar ventilatório (LV) ocorre como uma resposta da ventilação ao primeiro aumento da concentração sanguínea de lactato. Tem sido proposto que, através da detecção da intensidade na qual é atingido o LV, é possível diferenciar indivíduos com diferentes níveis de treinamento físico (CHICHARRO et al., 2000).

Por sua vez, o ponto de compensação respiratória (PCR) ocorre como uma resposta da ventilação ao início do acúmulo de lactato sanguíneo (BEAVER et al. 1986) e também pode diferenciar indivíduos com diferentes níveis de treinamento (BEARDEN; MOFFATT, 2001; LUCÍA et al., 2001). A intensidade na qual é atingido o PCR é comumente utilizada na prescrição de exercícios predominantemente aeróbios, principalmente de característica intermitente (LUCÍA et al., 2001). Acredita-se que, por representarem pontos de transição entre os domínios de intensidade do exercício (OZYENER et al., 2001), o aumento das

intensidades nas quais são atingidos o LV e o PCR são importantes respostas ao treinamento (GARCIA-PALLARES et al., 2009) utilizadas para refletir melhora da aptidão aeróbia.

Além desses tradicionais preditores, mais recentemente, a economia de corrida (EC) tem sido sugerida como um fator importante para a manutenção de altas intensidades de corrida por períodos prolongados (WESTON et al., 1999; SAUNDERS et al., 2004). A EC pode ser definida como o consumo de oxigênio requerido para suprir a demanda energética em uma determinada intensidade submáxima de corrida (SPURRS et al., 2003). Ela tem sido destacada principalmente por sua capacidade de diferenciar o desempenho entre corredores com o mesmo nível competitivo (LUCIA et al., 2006). A EC é particularmente importante em provas de longa duração, pois permite aos corredores mais econômicos manterem a mesma velocidade por mais tempo ou percorrerem um mesmo trecho em velocidades superiores quando comparados aos menos econômicos (SAUNDERS et al., 2004). Adicionalmente, tem sido demonstrado em estudos recentes que a EC é fortemente influenciada por parâmetros neuromusculares, como a força e a potência muscular (STOREN et al., 2008; ALBRACHT; ARAMPATZIS, 2013).

Não obstante, acredita-se que o treinamento físico, bem como a alimentação, exerce um papel fundamental na melhora das variáveis supracitadas (YAMAMOTO et al., 2008). Porém, tem crescido o número de estudos que evidenciam a influência do material genético sobre o desempenho físico (BOUCHARD et al., 1995; MONTGOMERY et al., 1999). Uma das primeiras evidências sobre essa influência foi o estudo de Lortie et al. (1984), no qual foi observada uma alta variação nas respostas do $\dot{V}O_2\text{max}$ (5 – 88%) e do desempenho em um teste de 90 minutos em cicloergômetro (16 – 97%) após 20 semanas de treinamento aeróbio, apesar da grande similaridade no estado de treinamento inicial dos participantes. Após esse estudo, o mesmo grupo de pesquisa iniciou uma série de investigações com gêmeos monozigóticos, um modelo que melhor permitia inferir sobre o papel da genética em parâmetros associados ao exercício. Por exemplo, Bouchard et al. (1986) avaliaram diferentes variáveis em pares de irmãos não-gêmeos, gêmeos dizigóticos e monozigóticos. Através de coeficientes de correlação intraclasse, foi observado que os pares de gêmeos monozigóticos apresentavam uma menor variação das características analisadas, como $\dot{V}O_2\text{max}$ e a ventilação por minuto, entre si do que quando pares de não-gêmeos ou gêmeos dizigóticos eram comparados. Adicionalmente, o tamanho do efeito da genética foi estimado em 40% sobre o $\dot{V}O_2\text{max}$, 50% sobre a frequência cardíaca máxima e 70% sobre o trabalho total em um teste de 90 min em cicloergômetro. No geral, esses estudos mostraram maior similaridade

entre os gêmeos monozigóticos em características associadas ao rendimento físico, como adaptações metabólicas ao treinamento (HAMEL et al., 1986) e atividade enzimática oxidativa (BOUCHARD et al., 1986b), o que fortaleceu a hipótese da influência do material genético sobre o desempenho físico.

Em virtude do desenvolvimento de técnicas que permitem uma análise mais exploratória da molécula de DNA, tem se estudado a influência de polimorfismos genéticos sobre parâmetros do rendimento físico. Polimorfismos são alterações na sequência de bases do DNA com frequência maior que 1% na população, podendo ou não alterar a cadeia polipeptídica referente, e são importantes fontes de variação entre os indivíduos da mesma espécie (BRECKPOT et al., 2011). Assim, alterações fenotípicas causadas por polimorfismos, tais como modificação na expressão de proteínas, são possíveis causas das amplas diferenças observadas entre os indivíduos. Entre os polimorfismos, é importante ressaltar aqueles capazes de alterar a expressão de proteínas envolvidas na biogênese mitocondrial (EYNON et al., 2009), enzimas metabólicas (BOUCHARD et al., 2012) e proteínas presentes no tecido muscular (YANG et al., 2003). Através da identificação de tais polimorfismos, tem sido possível detectar aqueles nomeados como “candidatos” a influenciar o rendimento físico.

Por sua vez, o polimorfismo R577X do gene ACTN3 tem sido um dos mais estudados no campo das ciências do esporte. Ele resulta na expressão de uma forma não-funcional da α -actinina-3, a qual é expressa somente em fibras tipo II do músculo esquelético, causando completa ausência dessa proteína nas fibras musculares de indivíduos com o genótipo XX (NORTH et al., 1999). A α -actinina-3 tem a função estrutural de ancoramento de dois filamentos de actina de sarcômeros adjacentes (MILLS et al., 2001) além de, mais atualmente, terem sido encontrados indícios de uma função regulatória, por exemplo, de enzimas metabólicas (MACARTHUR et al., 2007; QUINLAN et al., 2010). Estudos de associação têm verificado que o alelo X é representado com maior frequência em atletas quando comparados a atletas de força e potência (NIEMI; MAJAMAA, 2005) ou a não-atletas (YANG et al., 2003), o que sugere um papel benéfico desse alelo para o desempenho em provas de longa duração. Nesse sentido, os estudos que primeiramente sugeriram uma relação com o referido polimorfismo e o desempenho físico, se basearam no papel estrutural da α -actinina-3 no músculo esquelético.

Por outro lado, evidências mais recentes, obtidas com a utilização de um modelo animal, têm proposto uma associação entre o alelo X do gene ACTN3 e alterações

metabólicas. Ao utilizarem camundongos nocaute para a α -actinina-3, os quais reproduzem o genótipo XX em humanos, Macarthur et al. (2007) e Quinlan et al. (2010) observaram uma maior atividade de enzimas oxidativas (citrato sintase e citocromo oxidase c) e menor atividade de enzimas glicolíticas (lactato desidrogenase e glicogênio fosforilase) nos camundongos nocaute comparados aos animais com expressão normal da proteína. Como consequência, os camundongos nocaute diminuíram a utilização de glicogênio durante o exercício e foram capazes de percorrer uma distância 33% maior. Em humanos, Vincent et al. (2007) foram os únicos a observar uma proporção significativamente menor de fibras do tipo IIx (~5%, $p = 0,04$) em indivíduos com o genótipo XX em comparação aos RR. Coletivamente, os resultados obtidos através do modelo animal, somados aos de Vincent et al. (2007), fornecem evidências acerca do possível mecanismo de favorecimento do alelo X para um melhor rendimento físico em tarefas de longa duração.

Contudo, em nosso conhecimento, nenhum estudo verificou a influência do polimorfismo no gene ACTN3 sobre as variáveis fisiológicas tradicionalmente associadas à aptidão aeróbia durante a corrida. Portanto, parece relevante investigar tais variáveis entre indivíduos com os diferentes genótipos desse polimorfismo. Assim, o objetivo do presente estudo foi analisar a relação do polimorfismo R577X no gene ACTN3 com os parâmetros fisiológicos e neuromusculares associados à aptidão aeróbia. Com base em estudos prévios de associação (YANG et al., 2003; NIEMI; MAJAMAA, 2005), a nossa hipótese era que o alelo X seria favorável às variáveis fisiológicas mensuradas durante a corrida. Por outro lado, o alelo R resultaria em um efeito positivo sobre os parâmetros neuromusculares dos membros inferiores.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Verificar a influência do polimorfismo R577X no gene ACTN3 sobre variáveis fisiológicas e parâmetros neuromusculares associados à aptidão aeróbia.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Os objetivos específicos do presente estudo foram verificar a influência dos genótipos do gene ACTN3 sobre:

- 1 – O $\dot{V}O_2$ max e os limiares ventilatórios mensurados durante um teste incremental máximo.
- 2 – A força e a potência muscular dos membros inferiores.
- 3 – A economia de corrida determinada nas velocidades de 10 km.h⁻¹ e 12 km.h⁻¹.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. METABOLISMO AERÓBIO E EXERCÍCIO FÍSICO

A demanda energética imposta pelo exercício físico é dependente de diversos fatores, tais como a intensidade e a duração da tarefa analisada (MCARDLE, 2008). Nesse sentido, a contribuição de cada uma das vias metabólicas também é alterada por esses fatores. Particularmente, a duração do exercício é capaz de determinar a contribuição das diferentes vias metabólicas, sendo que a partir de aproximadamente 75 segundos de esforço contínuo intenso ocorre uma predominância de transferência de energia para o trabalho muscular proveniente da via aeróbia (GASTIN, 2001; LAURSEN et al., 2010). Por isso, as pesquisas na área das ciências do esporte direcionadas a exercícios de longa duração têm buscado compreender os mecanismos fisiológicos envolvidos em processos bioenergéticos dependentes do oxigênio para a ressíntese de ATP (BERTUZZI et al., 2012; ORMSBEE; ARCIERO, 2012).

Em virtude da dependência do oxigênio para a ressíntese de ATP pela via oxidativa, a análise das trocas gasosas durante o exercício tem sido uma ferramenta extensivamente utilizada na avaliação da aptidão física de atletas (KALAPOTHARAKOS et al., 2011), indivíduos saudáveis (JAKOVLJEVIC et al., 2012) ou portadores de patologias (DE LORENZO et al., 2012). Através desse tipo de análise, é possível obter parâmetros fisiológicos máximos e submáximos capazes de prever o desempenho em tarefas de longa duração, além de serem úteis na prescrição do treinamento físico. Entre os principais, o consumo máximo de oxigênio ($\dot{V}O_{2max}$) é provavelmente o mais tradicional (HILL; LUPTON, 1923; BASSET; HOWLEY, 2000), seguido do limiar ventilatório (LV) e ponto de compensação respiratória (PCR) como pontos submáximos de transição da intensidade do exercício (MEYER et al., 2005). Além disso, a economia de corrida (EC) também parece ser importante para o sucesso em eventos esportivos de longa duração (SAUNDERS et al., 2004; LIMA-SILVA et al., 2010). Adicionalmente às trocas gasosas, a análise da concentração sanguínea de lactato é comumente utilizada na avaliação da aptidão aeróbia, bem como um indicador da contribuição anaeróbia láctica durante o exercício (MEYER et al., 2004).

3.2. CONSUMO MÁXIMO DE OXIGÊNIO

O $\dot{V}O_2\text{max}$ reflete a maior taxa de captação, transporte e utilização de O_2 pelo organismo, a qual pode ser expressa de forma absoluta ou relativa à massa corporal do indivíduo (BASSET; HOWLEY, 2000). Essa variável apresenta uma diferença marcante entre indivíduos com níveis distintos de desempenho (ASTORINO et al., 2009; PEACOCK et al., 2012), além de ser bastante utilizada como um indicador de aptidão aeróbia geral e fator de risco para doenças cardíacas (DE LORENZO et al., 2012). Hill e Lupton (1923) foram os primeiros a propor um limite máximo para o consumo de oxigênio. Subsequentemente, muitos estudos foram realizados no intuito de compreender os mecanismos limitantes do $\dot{V}O_2\text{max}$ e de sua aplicação na avaliação da aptidão aeróbia (BASSET; HOWLEY, 2000; NOAKES; MARINO, 2009).

Em geral, é possível observar valores elevados de $\dot{V}O_2\text{max}$ em atletas de modalidades de longa duração e alta intensidade ($70 \text{ ml.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$ – PEACOCK et al., 2012) em relação a atletas de força ($48 \text{ ml.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$ – HAKKINEN, 1993) e indivíduos sedentários ($32 \text{ ml.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$ – ASTORINO et al., 2009). Além disso, o treinamento de longa duração é o principal método empregado com o objetivo de aumentar o $\dot{V}O_2\text{max}$ (TABATA et al., 1996; BOUCHARD et al., 2011). Portanto, é plausível indicar o $\dot{V}O_2\text{max}$ como um dos principais marcadores da aptidão aeróbia, além de possuir utilidade na avaliação das respostas metabólicas a um período de treinamento.

Sabe-se que o $\dot{V}O_2\text{max}$ é dependente tanto do sistema cardiorrespiratório quanto da capacidade oxidativa dos músculos em exercício (DI PRAMPERO, 1992; BASSET; HOWLEY, 2000). Primeiramente, foi atribuída uma maior importância ao sistema cardiorrespiratório na elevação do consumo máximo de oxigênio, uma vez que este é responsável pela captação e transporte do oxigênio até o tecido muscular, e pode modular o $\dot{V}O_2\text{max}$, por exemplo, através do débito cardíaco máximo (WOLFE et al., 1978). Contudo, alguns dados mais atuais sugerem que em grupos com nível semelhante de treinamento, as diferenças no $\dot{V}O_2\text{max}$ devem-se principalmente a características musculares (LEVINE, 2008).

No músculo esquelético, a capacidade oxidativa é influenciada por diferentes fatores, tais como seleção de substrato, quantidade e atividade de enzimas envolvidas em processos

bioenergéticos (DI PRAMPERO, 1992; JOHNSON et al., 2004; MIDGLEY et al., 2006). Por exemplo, Saltin et al. (1977) observaram que um aumento de 2,2 vezes no conteúdo muscular de enzimas mitocondriais gerou 20-40% de aumento no $\dot{V}O_2\text{max}$. Além disso, com um modelo animal que apresentava superexpressão de PGC1- α , um co-fator de transcrição ligado à biogênese mitocondrial e à expressão de enzimas atuantes em processos energéticos oxidativos, Tadaishi et al. (2011) observaram que os aumentos na atividade da enzima citrato sintase e na oxidação de lipídios resultaram em um aumento de 20% no $\dot{V}O_2\text{max}$ nos camundongos modificados geneticamente comparados aos seus pares selvagens. Os achados mais atuais acerca do tema sugerem que a capacidade oxidativa muscular é um importante fator capaz de impor um limite máximo para o consumo de oxigênio durante o exercício (LEVINE, 2008).

Dessa forma, parece bem evidenciado que o $\dot{V}O_2\text{max}$ é um fator importante para o desempenho de atletas que competem em provas de longa duração. Ele pode ser limitado tanto por fatores centrais quanto periféricos. Por sua vez, a capacidade oxidativa muscular é um importante parâmetro limitante do $\dot{V}O_2\text{max}$, no sentido de aumentar a capacidade de utilização do O_2 captado da atmosfera e transportado pela corrente sanguínea até os músculos em exercício.

3.3. LIMIARES METABÓLICOS

Durante exercícios de cargas progressivas, é possível observar um aumento no custo energético relativo ao incremento da intensidade. Dessa forma, ocorre progressivamente um aumento no recrutamento da via anaeróbia láctica no intuito de atender a demanda energética ao longo do tempo. Isso resulta no aumento na produção de lactato muscular, como produto final da via anaeróbia. Conseqüente observa-se um aumento de íons H^+ e diminuição do pH muscular. Uma forma de prevenir a acidose muscular causada pelos íons H^+ é a sua liberação na corrente sanguínea, que ocorre através de um processo de co-transporte com o lactato através do transportador de membrana MCT4 (MOXNES; SANDBAKK, 2012). Assim, à medida que a intensidade do exercício é elevada, ocorre também um aumento na produção desses metabólitos e de seu transporte para a corrente sanguínea e, devido a esse fato, a

análise da concentração sanguínea de lactato tem sido extensamente utilizada em avaliações da aptidão física (MEYER et al., 2004).

Em exercícios de carga progressiva, é possível determinar pontos de transição entre os domínios de intensidade do exercício, os quais são denominados limiares metabólicos (OZYENER et al., 2001). Uma forma de identificar os limiares é através da análise da concentração sanguínea de lactato, sendo nesse caso denominados limiares de lactato (HECK et al., 1985), os quais são extensamente utilizados na avaliação da aptidão aeróbia (BARON et al., 2003; MESSONIER et al., 2006). O primeiro limiar de lactato corresponde ao primeiro momento de elevação da concentração sanguínea de lactato (WASSERMAN et al., 1975). Por sua vez, o segundo limiar de lactato corresponde ao ponto no qual a produção de lactato ultrapassa sua remoção, sendo o início do acúmulo de lactato no sangue (FARREL et al., 1979), muitas vezes determinado pelo valor fixo de 4 mmol (HECK et al., 1985). Além dos limiares, a determinação do pico da concentração sanguínea de lactato após um teste incremental máximo pode ser utilizada como uma medida indireta da acidose provocada pelo exercício (MEYER et al., 2004).

Além do lactato sanguíneo, a mensuração das trocas gasosas durante o exercício também tem sido aplicada como ferramenta na detecção dos limiares, nesse caso, denominados ventilatórios (BERTUZZI et al., 2012). O primeiro limiar ventilatório (LV) ocorre como uma resposta da ventilação ao primeiro aumento da concentração sanguínea de lactato. Já o segundo limiar, também denominado ponto de compensação respiratória (PCR), é a resposta da ventilação frente ao início do acúmulo de lactato no sangue (BEAVER et al., 1986). Assim como o lactato sanguíneo, as trocas gasosas têm sido amplamente empregadas na detecção dos limiares metabólicos em avaliações da aptidão física.

Durante um teste incremental máximo, em decorrência do aumento no custo energético ao longo do tempo, as alterações na seleção de substratos energéticos, assim como a produção e remoção de lactato, permitem detectar, através das trocas gasosas, os pontos nos quais são atingidos o LV e o PCR. O LV pode ser detectado através da identificação do momento no qual a relação $\dot{V}E / \dot{V}O_2$ perde a linearidade, devido ao aumento da ventilação na tentativa de compensar o início do acúmulo de íons H^+ no sangue e evitar uma redução do pH. Por sua vez, o PCR pode ser detectado em uma intensidade superior, na qual ocorrem 1) perda da linearidade da relação $\dot{V}E / \dot{V}CO_2$, devido ao aumento da ventilação associado à incapacidade de aumento do tamponamento no sangue e 2) aumento na fração expirada de

CO₂, como resultado tanto de processos bioenergéticos quanto processos de controle do pH (MEYER et al., 2005).

Por exemplo, Miyatake et al. (2010) relacionaram o LV à prática de exercícios físicos em 1071 indivíduos saudáveis da população japonesa. Após a aplicação de um questionário de atividade física, os indivíduos foram separados em dois grupos com base na prática de exercícios regulares e realizaram um teste incremental em cicloergômetro. Os indivíduos que praticavam exercícios possuíam maiores valores de consumo de oxigênio ($16,2 \pm 4,7 \text{ mL.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$) e potência ($87,5 \pm 28 \text{ W}$) associados ao LV quando comparados aos sedentários ($13,9 \pm 2,5 \text{ mL.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$ e $77,7 \pm 18,4 \text{ W}$, respectivamente). Em outro estudo, Garcia-Pallares et al. (2009) submeteram onze canoístas a 12 semanas de treinamento compostas por sessões de treinamento de força e aeróbio. Após o treinamento, houve um aumento de 9,4% no consumo de oxigênio e 4,4% na velocidade associada ao PCR. Em conjunto, esses dados sugerem que os limiares ventilatórios são capazes de distinguir indivíduos com diferentes níveis de prática de exercícios físicos, assim como são bons indicadores de resposta ao treinamento.

Portanto, parece bem evidenciado que a mensuração do lactato sanguíneo, assim como das trocas gasosas durante o exercício, são ferramentas eficazes na avaliação da aptidão aeróbia de indivíduos de diferentes níveis de desempenho. Essas medidas permitem identificar os limiares metabólicos em testes máximos, os quais por sua vez estão associados ao nível de aptidão física e às respostas fisiológicas a um período de treinamento.

3.4. ECONOMIA DE CORRIDA

A EC é comumente definida como o consumo de oxigênio requerido para suprir a demanda energética em uma determinada intensidade submáxima de corrida (SPURRS et al., 2003), e tem sido enfatizada como um dos principais parâmetros determinantes do sucesso em provas de longa duração, sobretudo em grupos de atletas com níveis similares de desempenho (SAUNDERS et al., 2004). Por exemplo, Lucia et al. (2006) compararam os valores de EC de corredores africanos (Eritreia) e espanhóis, todos com nível internacional em provas de longa distância. Apesar da ausência de diferença significativa nos valores de $\dot{V}O_2\text{max}$, foi observada uma maior EC aos corredores africanos na velocidade de 21 km.h^{-1} ($65,9 \text{ mL.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$) em comparação aos espanhóis ($77,8 \text{ mL.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$). Portanto, tendo em vista o domínio dos

corredores africanos em provas de corrida de longa duração (LARSEN, 2003), é possível sugerir que a EC seja um dos principais determinantes do desempenho nesse tipo de evento.

Tem sido mostrado que a EC parece estar associada a diversos fatores (SAUNDERS et al., 2004). Dentre esses, parâmetros neuromusculares, como a capacidade de produção de força e potência, têm ganhado destaque (PAAVOLAINEN et al., 1999). Storen et al. (2008) mostraram que após 8 semanas de treinamento de força, houve um aumento de 33,2% na força máxima, acompanhado por um aumento de 5% na EC de corredores fundistas. Portanto, é possível que a força muscular seja um parâmetro importante para esses atletas, pois parece conferir uma maior rigidez à unidade músculo-tendínea (ARAMPATZIS et al., 2006), fazendo com que haja uma melhor utilização da energia elástica acumulada e promovendo um menor gasto energético durante a corrida. Além disso, a cada passada os corredores mais fortes demandam uma menor porcentagem relativa de sua força máxima, o que poderá resultar em um maior fluxo sanguíneo local, aumentando a disponibilidade de oxigênio para os músculos em exercício (STOREN et al., 2008).

Nesse sentido, parece que características de produção de força são importantes na economia de energia durante a corrida. Além disso, é possível suspeitar que características metabólicas das fibras também possam influenciar a EC. Contudo, a relação positiva entre a EC e a força muscular tem sido mais extensamente reproduzida e parece melhor estabelecida em relação à eficiência metabólica dos diferentes tipos de fibra (PAAVOLAINEN et al., 1999; STOREN et al., 2008).

3.5. GENÉTICA E EXERCÍCIO

Desde um longo período de tempo, o componente genético tem sido apontado como um dos fatores determinantes do desempenho esportivo (BOUCHARD et al., 1995). Contudo, a análise exploratória dos fatores hereditários associados às capacidades físicas em humanos ocorreu há relativamente pouco tempo, e tem sido conduzida principalmente pela análise de determinados polimorfismos de DNA.

Nesse contexto, o grupo do prof. Claude Bouchard foi o pioneiro no tema e obteve seus primeiros resultados nesse campo na década de 1980. Uma das primeiras publicações dessa

área utilizou 24 jovens sedentários para verificar as respostas do $\dot{V}O_2\text{max}$ e da capacidade aeróbia máxima a 20 semanas de treinamento aeróbio (LORTIE et al., 1984). Em média, houve aumento de 33% no $\dot{V}O_2\text{max}$ e 51% na capacidade aeróbia máxima. Contudo, foi destacada a grande variabilidade dessas respostas (5 – 88% no $\dot{V}O_2\text{max}$ e 16 – 97% na capacidade aeróbia máxima) apesar de todos os indivíduos terem sido submetidos ao mesmo protocolo de treinamento e partirem do estado sedentário. Essa foi então uma das primeiras sugestões de que a genética poderia influenciar a resposta de componentes da aptidão aeróbia ao treinamento físico.

Após o estudo de Lortie et al. (1984), esse mesmo grupo de pesquisadores iniciou uma série de investigações realizando a comparação de gêmeos monozigóticos em atividades que envolviam diferentes capacidades físicas. No geral, os autores procuravam observar se havia menor variação em comparações entre gêmeos em relação a comparações entre indivíduos sem laços familiares. Em resumo, tais estudos mostraram agudamente uma influência do genótipo no $\dot{V}O_2\text{max}$ e FCmax (BOUCHARD et al., 1986) e na atividade enzimática oxidativa (BOUCHARD et al., 1986b). Além disso, a influência de um período de treinamento aeróbio sobre o $\dot{V}O_2\text{max}$ (PRUD'HOMME et al., 1984) e as dimensões cardíacas (LANDRY et al., 1985) também mostraram associação com o genótipo. Juntamente aos dados de Lortie et al. (1984), os estudos com gêmeos proporcionaram os primeiros dados científicos que demonstravam a relação da genética com diferentes características associadas ao desempenho físico.

A partir do início desse século, o completo sequenciamento do genoma humano foi um importante passo para possibilitar a exploração mais detalhada do material genético (VENTER et al., 2001). Assim, a influência da genética sobre o desempenho físico tem sido estudada de forma mais exploratória e estratificada, sendo possível selecionar regiões específicas de interesse. Tendo em vista a análise de causalidade entre DNA e rendimento físico, é interessante estudar as fontes de variação no genótipo capazes de causar diferenças fenotípicas relevantes para diferentes atividades.

3.6. POLIMORFISMOS DE DNA: A FONTE DE VARIAÇÃO

Alguns bilhões de pares de bases compõem todo o genoma humano. Em meio a essa extensa molécula, existem aproximadamente 25 mil genes, que são fragmentos responsáveis pela expressão de produtos biologicamente ativos, geralmente proteínas. Sabe-se que todos os indivíduos possuem os mesmo genes e que a sequência genômica completa é cerca de 99,9% idêntica entre todos os representantes da espécie (DOLGIN, 2008). Portanto, a vasta diversidade fenotípica observada entre os seres humanos é explicada por apenas 0,1% de toda a sequência de seu material hereditário. Curiosamente, é exatamente essa pequena parcela a porção de maior interesse para a ciência, uma vez que ela deve ser a responsável por singularidades relacionadas a adaptações como susceptibilidade a patologias, adaptação a ambientes distintos e predisposição ao alcance do alto rendimento físico, levando ao sucesso esportivo (DOLGIN, 2008).

Dentre as fontes de variação no DNA humano, os polimorfismos são as mais recorrentes e compreendidas pela ciência até o momento. Por isso, são também as mais utilizadas para compreender os mecanismos envolvidos na interação genótipo x fenótipo relevantes para o esporte (MONTGOMERY et al., 1998; YANG et al., 2003). Por definição, polimorfismos são alterações na sequência de bases do DNA que ocorrem com frequência superior a 1% na população geral. Logicamente, devido à alta frequência, os polimorfismos, em sua grande maioria, não estão intimamente ligados a patologias de qualquer ordem (SUMINAGA et al., 2000). Essas variações podem ocorrer de diversas formas, sendo que a mais freqüente ocorre com a troca de um único par de bases, denominada SNP (do inglês *single nucleotide polymorphism*). Os SNPs podem ou não resultar em alterações na cadeia polipeptídica, devido à característica degenerada do código genético humano (isto é, a codificação de um mesmo aminoácido a partir de códons com pares de bases diferentes) e dependendo da posição de ocorrência da alteração. Existem ainda outros tipos de polimorfismos, como os de inserção/deleção e de variação de número de cópias (MONTGOMERY et al., 1998; SANTOS et al., 2012).

Em conjunto, as pesquisas envolvendo a associação de fatores genéticos com o desempenho esportivo têm avançado consideravelmente na busca de possíveis genes envolvidos em funções importantes para o rendimento físico e o número de estudos tem crescido consideravelmente. A figura 1 traz o crescimento do número de estudos a partir de 1998 que relacionaram polimorfismos genéticos e características associadas ao desempenho físico. É possível observar um crescimento acelerado, que ocorre tanto pela descoberta de novos polimorfismos candidatos quanto pelo crescimento do conhecimento vertical em cada

uma das variações conhecidas. Contudo, a aplicação desse conhecimento no desenvolvimento de novos modelos de seleção de atletas e treinamento ainda não se encontra bem esclarecida, além de ser alvo de calorosas discussões (RANKINEN et al., 2010; EYNON et al., 2011).

Figura 1 – Aumento do número de estudos por ano envolvendo a análise de polimorfismos genéticos e fatores relacionados ao exercício físico, com início em 1998, pelo estudo de Montgomery et al. (1998) até a última publicação (fonte: PUBMED).

Esses estudos têm sido publicados com diferentes metodologias para investigar quais são e através de quais mecanismos os polimorfismos de DNA podem afetar as capacidades físicas (BOUCHARD et al., 2000). Comumente, encontra-se o termo “genes candidatos” para indicar os genes que possuem polimorfismos capazes de alterar a estrutura do polipeptídeo codificado ou seu padrão de expressão, gerando alguma alteração fenotípica relevante para tarefas físicas (VAN DAM et al., 2012).

Entre os desenhos experimentais encontrados, o mais abrangente é utilizado em estudos denominados *genome wide association studies* (GWAS), tendo como um de seus principais objetivos apontar novos “candidatos” a serem melhor estudados. Esse tipo de estudo geralmente realiza um *scan* em todo o DNA genômico na busca de associação com determinado parâmetro ou com respostas a um tipo de treinamento (RANKINEN; BOUCHARD, 2012). Por exemplo, Bouchard et al. (2011) aplicaram 20 semanas de

treinamento aeróbio em 473 indivíduos adultos sedentários e realizaram um scan no DNA genômico baseado em 324.611 SNPs nos 22 cromossomos autossomos (não-sexuais). Ao final da análise, foi detectado que 39 SNPs estavam significativamente associados às respostas do $\dot{V}O_2\text{max}$ ao treinamento. Posteriormente, esses SNPs foram selecionados para uma análise multivariada, que resultou em um modelo final com 21 SNPs, que explicava 48,6% das variações na resposta do $\dot{V}O_2\text{max}$ ao treinamento.

Outra abordagem mais recente e que merece considerável destaque é o *genotype score*, um modelo desenvolvido por Williams e Folland (2008). Estudos com essa abordagem atribuem uma pontuação a cada um dos genótipos dos polimorfismos analisados e comparam a pontuação total dos participantes, que podem ser separados pelo nível de desempenho (atleta x não-atleta) ou pela demanda da modalidade (resistência x força) (RUIZ et al., 2009; RUIZ et al., 2010). Esse tipo de análise tem sido favoravelmente destacado, uma vez que une diferentes polimorfismos na tentativa de determinar um perfil poligênico ideal para o rendimento, ao invés de investigar apenas a pequena influência de um único gene (EYNON et al., 2011).

Por último, a maior parte dos estudos com essa temática tem investigado a associação de um único polimorfismo com o desempenho físico ou características associadas (MONTGOMERY et al., 1998; DRUZHEVSKAYA et al., 2008; CUPEIRO et al., 2010; EYNON et al., 2012). O primeiro desses estudos investigou a frequência do polimorfismo I/D do gene da ECA (enzima conversora de angiotensina) entre escaladores e não-atletas. Foi observado que o genótipo II (associado à menor atividade da ECA) era representado em maior frequência entre os escaladores comparados aos demais indivíduos (MONTGOMERY et al., 1998). Em outra parte do mesmo estudo, foi verificado que indivíduos não-atletas com o genótipo II, após 10 semanas de treinamento, apresentavam maior aumento na duração máxima de exercício de flexão do cotovelo com carga fixa. Esses foram os primeiros dados pontuais que sugeriam a relação de um polimorfismo de DNA com o desempenho físico. Porém, esse tipo de estudo tem sido alvo de muitas críticas baseadas na hipótese de que a análise de um único polimorfismo não é capaz de encontrar alterações significantes em características fenotípicas (EYNON et al., 2011). Contudo, esse tipo de estudo produz um conhecimento vertical, no sentido de aumentar o entendimento acerca dos mecanismos pelos quais a alteração na expressão de um gene pode influenciar características importantes para o rendimento físico, como a atividade enzimática (XIN et al., 2012) e o dano muscular (VENCKUNAS et al., 2012).

3.7. ASSOCIAÇÃO ENTRE OS POLIMORFISMOS GENÉTICOS E A APTIDÃO AERÓBIA

Especificamente em relação à aptidão aeróbia, grande parte dos estudos com genética procurou analisar a frequência de um ou mais polimorfismos entre atletas de provas de longa duração (YANG et al., 2003; NIEMI; MAJAMAA, 2005). Além disso, alguns estudos têm buscado associar os polimorfismos a parâmetros fisiológicos associados ao desempenho nesse tipo de prova, como o $\dot{V}O_2\text{max}$ (BOUCHARD et al., 2011; TIMMONS et al., 2010), LV (GOMEZ-GALLEGO et al., 2008) e FCmax (SPIELMANN et al., 2007). Outra forma de investigação da relação entre a genética e o desempenho foi a determinação de um perfil poligênico ideal para atletas desse tipo de prova, com a subsequente avaliação através de um *genotype score*, citado anteriormente (AHMETOV et al., 2009; RUIZ et al., 2009).

Em relação aos estudos de frequência, geralmente é feita uma comparação de determinado alelo ou genótipo em coortes distintas, como atletas de endurance, atletas de força e potência e indivíduos não-atletas. Por exemplo, Eynon et al. (2009) analisaram a frequência de um polimorfismo no gene NRF2, responsável pela codificação de um fator de transcrição que atua na regulação e biogênese mitocondrial, entre 155 atletas israelenses, divididos em fundistas e velocistas e de acordo com o nível de desempenho (elite e não-elite). Foi ainda utilizado um grupo controle composto por 240 não-atletas. Entre os fundistas, foi encontrada maior frequência do alelo G (6%) e do genótipo AG (12%) tanto em relação aos velocistas (1% e 2%, respectivamente) quanto aos não-atletas (1% e 2%, respectivamente). Esses resultados sugerem que o alelo G pode ser benéfico ao alcance do alto nível de desempenho em tarefas de longa duração, dependente de processos mitocondriais para a transferência de energia para o trabalho muscular. De forma geral, os estudos de frequência indicam alelos possivelmente favoráveis ou desfavoráveis ao alcance do alto rendimento físico (MONTGOMERY et al., 1998; YANG et al., 2003). Assim, fornecem dados para que se possa procurar mecanismos responsáveis pelas associações encontradas, assim como a inclusão de mais polimorfismos na determinação de perfis poligênicos orientados para determinadas atividades.

Tendo em vista a importância de determinadas variáveis fisiológicas da aptidão aeróbia para o desempenho em tarefas de longa duração, como já citado nesse trabalho, alguns estudos investigaram como determinados polimorfismos genéticos poderiam influenciar tais variáveis (GOMEZ-GALLEGO et al., 2008). Por exemplo, He et al. (2008) avaliaram, em indivíduos chineses do sexo masculino, três polimorfismos no gene que codifica o PPARGC1A, um co-ativador de genes envolvidos em processos da fosforilação oxidativa. Um desses polimorfismos mostrou associação com a aptidão aeróbia (A2962G), sendo que os portadores do alelo G (genótipos AG ou GG) apresentaram maiores valores de $\dot{V}O_2\text{max}$ ($58,2 \pm 4,3 \text{ mL.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$) em comparação aos homozigotos para o alelo A (genótipo AA) ($56,3 \pm 3,9 \text{ mL.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$). Além desse, outros estudos procuraram associar determinados polimorfismos a parâmetros relacionados ao desempenho, como o LV (GOMEZ-GALLEGO et al., 2008) e eficiência metabólica (MONTGOMERY et al., 1999). Esse tipo de estudo traz avanços principalmente no sentido de descrever os mecanismos envolvidos na influência de determinado polimorfismo sobre o rendimento físico, através de parâmetros tradicionalmente associados.

É importante também destacar os estudos de Ahmetov et al. (2009) e Ruiz et al. (2009), os quais, com base na literatura, traçaram perfis poligênicos direcionados a atletas de endurance. Atribuindo maiores pontuações aos genótipos considerados “ideais” para o desempenho em tarefas de longa duração, esses autores compararam a pontuação total obtida com a análise de quinze e sete polimorfismos, respectivamente, entre diferentes coortes. Ahmetov et al. (2009) observaram que, entre os 15 polimorfismos selecionados, 10 se associavam ao estado atlético (atleta x não atleta). Esses foram analisados através do *genotype score*, atribuindo-se pontuação de acordo com o número de alelos favoráveis a endurance. Em um máximo de 20 pontos, a proporção de indivíduos com pontuação alta (> 9) foi maior entre os atletas de endurance (85,7%) em comparação aos não-atletas (37,8%, $p < 0,05$). Além disso, o número de alelos favoráveis estava positivamente correlacionado à proporção de fibras tipo I ($r = 0,50$, $p < 0,05$) e ao $\dot{V}O_2\text{max}$ ($r = 0,46$, $p < 0,05$).

De forma similar, Ruiz et al. (2009) compararam a pontuação obtida com a soma de sete polimorfismos entre 46 atletas de endurance de elite e 123 indivíduos controle, assim como uma estimativa da população espanhola. Fazendo uma correção para a escala 0-100, a pontuação média entre os atletas (70,22) foi maior tanto em comparação aos controles (62,43) quanto à população espanhola (60,8). Além disso, foi visto que a probabilidade de um indivíduo na população espanhola apresentar o genótipo ideal para os sete polimorfismos era

de 0,07%, sendo que nenhum dos indivíduos analisados apresentou esse perfil poligênico. Coletivamente, esses estudos mostram que a análise poligênica pode ser um meio eficaz para a seleção de atletas futuramente. Contudo, é necessária cautela, visto que o alcance de um *score* realmente alto ocorre em uma frequência consideravelmente reduzida.

3.8. POLIMORFISMO NO GENE ACTN3 E APTIDÃO AERÓBIA

Entre os polimorfismos descritos como candidatos a influenciar o rendimento físico, o polimorfismo R577X do gene ACTN3 é um dos mais investigados. Esse gene codifica a α -actinina-3, uma proteína presente no tecido muscular. A família das α -actininas apresenta diferenças entre suas isoformas, resultado de um processo conhecido como *splicing* alternativo, que é a combinação de éxons diferente da combinação “usual”, gerando diferentes produtos protéicos e levando a certa diversidade funcional (SOUTHBY et al., 1999). Nos mamíferos, existem quatro genes responsáveis pela codificação dessas proteínas (ACTN1, 2, 3 e 4) com padrões específicos de expressão em diferentes tecidos (VIREL; BACKMAN, 2004). Dessa forma, pode-se classificar as α -actininas em duas categorias: musculares (2 e 3) e não-musculares (1 e 4) (BLANCHARD et al., 1989).

As isoformas musculares da α -actinina (2 e 3), também denominadas α -actininas sarcoméricas, são componentes estruturais fundamentais do aparato contrátil, situadas na linha Z (BEGGS et al., 1992) (figura 2). Enquanto a α -actinina-2 é expressa em todos os tipos de fibra muscular esquelética e cardíaca, a α -actinina-3 tem sua expressão restrita às fibras musculares de contração rápida (tipo II) (MILLS et al., 2001). Embora as α -actininas sarcoméricas apresentem 90% de semelhança na sequência de aminoácidos (BEGGS et al., 1992), existem fontes de variação entre as duas isoformas, as quais são encontradas em seu domínio central (SJOBLÖM et al., 2008; MONKOL LEK et al., 2009) (figura 3).

Figura 2 – Localização das α -actininas no músculo esquelético.

Figura 3 – Representação da superfície do domínio central da α -actinina com a unidade de espectrina 1 à esquerda e 4 à direita. As cores cinza, verde e roxo representam os resíduos idênticos, conservativos e não-conservativos, respectivamente, quando as sequências das isoformas -2 e -3 são alinhadas (adaptada de Monkol Lek et al. 2009).

No tecido muscular, as α -actininas se ligam aos filamentos de actina de sarcômeros adjacentes, cumprindo a função de ancoragem dos filamentos finos e formando uma estrutura estabilizadora do tecido muscular durante a contração (SQUIRE, 1997). Adicionalmente à sua função estrutural, estudos recentes sugerem que as α -actininas sarcoméricas também atuam na regulação do processo contrátil, na regulação do metabolismo energético e, possivelmente, na determinação do tipo de fibra muscular (BEGGS et al., 1992; VINCENT et al., 2007; BERMAN; NORTH, 2010). Tal diversidade de função tem sido atribuída à grande capacidade que as α -actininas, em especial a isoforma -3, têm de se ligar a outras proteínas e elementos regulatórios intracelulares (MACARTHUR; NORTH., 2005).

As α -actininas podem se ligar a diversas proteínas pertencentes ao componente contrátil, como as calsarcinas, proteínas ligadas à calcineurina, que exerce relevante papel na determinação do tipo de fibra (CHIN et al., 1998) e na hipertrofia muscular (FREY et al., 2000). De fato, Vincent et al. (2007) mostraram que a presença da α -actinina-3 proporcionou

maior porcentagem de fibras tipo IIx ($14 \pm 2\%$) em relação ao tecido muscular na ausência dessa proteína ($9 \pm 1\%$). Isso sugere que a α -actinina-3 pode ser capaz de influenciar a ação de regulação da calcineurina sobre os tipos de fibra muscular. Adicionalmente às proteínas supracitadas, algumas enzimas metabólicas também são parceiras de ligação das α -actininas sarcoméricas, como por exemplo, a glicogênio fosforilase (CHOWRASHI et al., 2002), a frutose 1,6-bifosfatase e a aldolase (RAKUS et al., 2003), o que sugere que possam apresentar alterações em sua atividade de acordo com a isoforma presente no tecido muscular.

Dessa maneira, um polimorfismo capaz de alterar a expressão da α -actinina-3 possivelmente resultaria em alterações estruturais e regulatórias das fibras musculares do tipo II. De fato, North e colaboradores (1999) identificaram um SNP do tipo sem sentido, o qual impede a continuação da codificação do polipetídeo, no gene ACTN3, responsável pela expressão da α -actinina-3. Esse polimorfismo consiste na troca de nucleotídeo C→T na posição 1.747 do éxon 16 do gene ACTN3 e resulta em uma conversão do códon para o aminoácido arginina para um códon de parada prematuro no resíduo 577 (R577X), o que acarreta na forma não-funcional da α -actinina-3 (NORTH et al., 1999).

O alelo R representa a arginina e confere expressão normal da α -actinina-3. Já o alelo polimórfico X representa o códon de parada e resulta na ausência dessa proteína no tecido muscular de indivíduos homozigotos para esse alelo (genótipo XX) (NORTH et al., 1999) (figura 4). Em média, aproximadamente 18% da população mundial apresenta o genótipo XX (MILLS et al., 2001), sendo essa porcentagem modificada de acordo com a etnia da população analisada (BERMAN; NORTH, 2010). Logicamente, devido à alta representação, sabe-se que o genótipo XX não resulta em quadro patológico ou qualquer alteração fenotípica marcante, sugerindo que a α -actinina-2 pode, ao menos parcialmente, suprir a falta da isoforma -3 (SUMINAGA et al., 2000). Apesar disso, existem evidências de que os diferentes genótipos desse polimorfismo podem influenciar a função muscular.

Figura 4 – Representação esquemática do polimorfismo R577X do gene ACTN3 na sequência de bases do DNA, alteração na cadeia polipeptídica e alteração na expressão da proteína.

Nesse sentido, o primeiro estudo a observar uma possível relação entre o polimorfismo no gene ACTN3 e a função muscular foi conduzido por Yang et al. (2003). Nesse estudo, foram genotipados 301 atletas de diferentes modalidades e 436 indivíduos controle. Foi encontrado que o alelo R era representado com maior frequência entre atletas de força e potência em relação a atletas de endurance e não-atletas. Por outro lado, o alelo X foi representado com maior frequência em atletas de endurance, porém apenas atingindo significância entre mulheres. De fato, esse estudo reflete o quadro atual de conhecimento, onde a relação desse polimorfismo com o desempenho de força e potência está muito bem esclarecida e tem sido reproduzida com considerável uniformidade em diferentes populações (DRUZHEVSKAYA et al., 2008; EYNON et al., 2009). Por outro lado, apesar das evidências existentes, a vantagem para o desempenho de endurance conferida pelo alelo X ainda não está bem esclarecida, possuindo alguns resultados controversos.

Em estudos de frequência, a grande maioria dos achados tem demonstrado maior representação do alelo R entre atletas de força em potência em relação a indivíduos não-atletas e a atletas de provas de longa duração (YANG et al., 2003; DRUZHEVSKAYA et al., 2008). Por exemplo, Papadimitriou et al. (2010) observaram maior frequência do genótipo RR entre velocistas (73,53%) comparados a indivíduos não-atletas (25,97%). Adicionalmente, Cieszczyk et al. (2011) também mostraram maior frequência do genótipo RR entre os atletas de força e potência (44,94%) comparados aos controles não-atletas (35,04%). Desse modo, os

estudos de frequência fornecem alguma evidência de que o alelo R, que confere a expressão normal da α -actinina-3, pode ser benéfico para o desempenho em provas nas quais há grande demanda da força e da potência muscular.

Além disso, diversos achados demonstraram uma associação entre o alelo R e a capacidade de produção de força muscular. Norman et al. (2009) mensuraram o pico de torque isocinético de extensão de joelhos em indivíduos saudáveis. Os indivíduos com o genótipo RR apresentaram um pico de torque, em média, 3,1% maior em relação aos XX. Nesse mesmo sentido, Pimenta et al. (2012) observaram menor concentração sanguínea de marcadores de dano muscular (creatina quinase, α -actina e cortisol) em indivíduos RR comparados aos XX após uma sessão de exercícios excêntricos, sugerindo que o genótipo RR confira menor susceptibilidade ao dano muscular induzido pelo exercício. Coletivamente, esses dados, somados aos estudos de frequência, apontam para um efeito favorável do alelo R sobre a capacidade de produção de força e potência pelo tecido muscular, possivelmente devido à α -actinina-3 conferir uma melhor transmissão de força entre os sarcômeros ao longo da fibra muscular.

Por outro lado, os estudos de frequência têm demonstrado maior representação do alelo X entre atletas de provas de longa duração (YANG et al., 2003; EYNON et al., 2012). Niemi e Majamaa (2005) corroboraram a associação entre o alelo X e o desempenho de endurance comparando 52 atletas de endurance e 89 velocistas finlandeses. O genótipo XX foi representado com menor frequência entre os velocistas, sendo que entre os atletas de elite não foi encontrado nenhum indivíduo com esse genótipo. Adicionalmente, os atletas de endurance de elite apresentaram maior frequência do genótipo XX em comparação aos demais grupos. Além disso, Eynon et al. (2012) analisaram a frequência dos genótipos do gene ACTN3 em 1441 indivíduos atletas e não-atletas. Através do cálculo da razão de chances, foi observado que os atletas de endurance possuíam uma chance de apresentar o genótipo XX 1,88 vezes maior comparados aos atletas de força e potência. Com isso, é possível sugerir que o alelo X seja favorável para o alcance de um alto rendimento esportivo em provas de longa duração.

Tendo em vista a alta demanda do metabolismo aeróbio nesse tipo de prova, alguns estudos investigaram uma possível associação do alelo X com variáveis relacionadas a essa via energética. Contudo, nesse tipo de estudo não foi encontrado nenhum resultado positivo até o presente momento. Por exemplo, Moran et al. (2007) não verificaram influência dos genótipos do gene ACTN3 sobre $\dot{V}O_2$ max em 992 adolescentes gregos. Todavia, é importante

ressaltar que nesse estudo o $\dot{V}O_2\text{max}$ foi avaliado através de um teste de campo, sem a mensuração direta das trocas gasosas durante o exercício, o que compromete a sensibilidade dos resultados. Além disso, Gomez-Gallego et al. (2009) também não verificaram relação entre o alelo X e variáveis associadas ao desempenho aeróbio, como o limiar ventilatório e o $\dot{V}O_2\text{max}$, em indivíduos saudáveis após um teste incremental em cicloergômetro.

Adicionalmente, alguns achados sugerem fortemente que o alelo X pode ser favorável em algumas características importantes para o desempenho em provas de longa duração. Primeiramente, dois estudos (MACARTHUR et al., 2007; QUINLAN et al., 2010) publicaram os resultados encontrados com o desenvolvimento de um modelo animal que consiste em camundongos nocaute para o gene ACTN3 que, assim como indivíduos com o genótipo XX, apresentam completa ausência da a-actinina-3 em seu tecido muscular. Foi observado que, em comparação aos seus pares selvagens, os camundongos nocaute apresentavam maior atividade de enzimas oxidativas (como citrato sintase e succinato desidrogenase), menor atividade de enzimas glicolíticas (como lactato desidrogenase e glicogênio fosforilase) e diminuição da utilização do glicogênio muscular durante a corrida. Em conjunto, tais alterações metabólicas resultaram em um aumento de 33% na distância percorrida até a exaustão nos camundongos nocaute em comparação aos animais que expressavam normalmente a proteína. Além disso, Macarthur et al. (2008) também verificaram que os camundongos nocaute apresentavam menor diâmetro das fibras tipo IIX, o que já foi previamente relacionado ao desempenho de ciclistas de fundo (BISHOP et al. 2000), possivelmente devido a uma maior densidade capilar nessas fibras, o que permite um aporte de oxigênio, assim como uma remoção de lactato e íons H^+ , mais eficientes. Em humanos, como supracitado, Vincent et al. 2007 encontraram maior porcentagem de fibras tipo I em indivíduos com o genótipo XX, o que teoricamente representa uma vantagem em atividades de longa duração.

Em resumo, até o presente momento, a associação entre o alelo R e o desempenho de força foi evidenciada tanto por estudos de frequência quanto por estudos que relacionaram a presença desse alelo com o desempenho em testes que envolvem grande utilização da força. Já o alelo X parece conferir alguma vantagem para o desempenho de endurance, através dos resultados encontrados nos estudos de frequência. Contudo, nenhuma associação foi encontrada entre o alelo X e variáveis associadas à aptidão aeróbia, o que pode ser devido a limitações nos estudos existentes, como utilização de medidas pouco sensíveis para determinação do $\dot{V}O_2\text{max}$ (MORAN et al., 2007) e características da modalidade testada

(GOMEZ-GALLEGO et al., 2009; AHMETOV et al., 2010). Apesar dessa ausência de resultados, achados em modelo animal (MACARTHUR et al., 2007; QUINLAN et al., 2010), assim como uma possível influência na determinação dos tipos de fibra muscular (VINCENT et al., 2007), suportam mais buscas na tentativa de associar o alelo X a mecanismos determinantes do desempenho em provas de longa duração.

4. METODOLOGIA

4.1. AMOSTRA

Foram recrutados 150 indivíduos fisicamente ativos do sexo masculino, com idade entre 18 e 35 anos, sem histórico de lesões de origem neuromuscular ou patologias de origem cardiovascular. O tamanho da amostra foi determinado com base na frequência do genótipo mais raro (XX; frequência média: 20%), assegurando a contagem mínima necessária em cada tercil para a realização do teste estatístico empregado (Qui-quadrado). Foram utilizados como critérios de inclusão no estudo: 1) não ser atleta federado de nenhuma modalidade esportiva, 2) não praticar corrida com um volume semanal maior que 15 km e 3) ser classificado como fisicamente ativo de acordo com a pontuação no IPAQ. Antes do início da participação no estudo, os participantes receberam instruções verbais acerca dos procedimentos e riscos e assinaram um termo de consentimento informado (anexo I). Todos os procedimentos foram previamente aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Escola de Educação Física e Esporte da Universidade de São Paulo para estudos com seres humanos (processo n° 2010/44) (anexo II).

4.2. DESENHO EXPERIMENTAL

Os participantes compareceram ao laboratório em três sessões experimentais distintas, as quais eram separadas por um intervalo mínimo de 72 horas e máximo de duas semanas. Durante as sessões, foram realizados os seguintes experimentos: 1) coleta de saliva para extração e análise do DNA e um teste progressivo até a exaustão (TPE); 2) medidas antropométricas (massa corporal, estatura e dobras cutâneas), teste de salto vertical com contramovimento e teste de cargas constantes para avaliar a EC; 3) aplicação do questionário de atividade física (IPAQ – versão curta) e teste de força voluntária máxima no exercício leg press (1RM). Nas sessões 1 ou 2 também foi realizada uma familiarização do teste de 1RM. O intervalo de repouso entre os testes e a familiarização foi de aproximadamente trinta minutos. Todos os testes foram realizados no mesmo período do dia para o mesmo participante. Os

participantes foram instruídos a não realizarem tarefas exaustivas nas 24 horas que precedem os testes e a se alimentarem 2 horas antes do início de cada sessão. Embora a dieta não tenha sido padronizada, os participantes foram instruídos a manterem os mesmos hábitos alimentares durante o estudo.

4.3. MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS

No intuito de caracterizar a amostra, as medidas antropométricas foram realizadas de acordo com os procedimentos descritos por Norton e Olds (1996). Os sujeitos foram pesados em balança eletrônica com escala de aproximação de 0.1 kg. A estatura foi medida com o uso de um estadiômetro, com aproximação de 0.1 cm. Foram medidas nove dobras cutâneas (tricipital, dobra do bíceps, subescapular, axilar média, suprailíaca, torácica, abdominal, coxa e perna) com o uso de um compasso de dobras Harpenden (West Sussex, UK), com aproximação de 0.2 mm, as quais foram obtidas do lado direito do corpo de forma rotacional, na qual foi utilizado o valor mediano para a análise dos dados. Quando a diferença entre esses três valores era maior que 10%, uma quarta medida era realizada. Todas as medidas foram realizadas pelo mesmo pesquisador. O percentual de gordura foi estimado pela equação de Brozek et al. (1963).

4.4. TESTE INCREMENTAL MÁXIMO

Após 3 minutos de aquecimento na velocidade de 8 km.h⁻¹, a velocidade era aumentada em 1 km.h⁻¹ a cada minuto até a exaustão voluntária do participante, a qual foi determinada pela incapacidade de manter o exercício mediante encorajamento verbal. As trocas gasosas foram mensuradas a cada respiração através de um analisador de gases estacionário (Cortex Metalyzer 3B, Cortex Biophysik, Leipzig, Germany) e subsequentemente calculadas as médias de períodos de 30 segundos ao longo do teste para posterior análise. Antes de cada teste o analisador de gases foi calibrado de acordo com as recomendações do fabricante. A velocidade de pico no teste incremental foi determinada como a velocidade do último estágio completo ao final do teste. O $\dot{V}O_{2max}$ foi determinado quando dois ou mais dos seguintes

critérios foram reunidos: a) um aumento no $\dot{V}O_2$ menor que $2,1 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ entre os dois últimos estágios, b) a razão de troca respiratória maior que 1,1; c) ± 10 bpm da frequência cardíaca máxima predita pela idade ($220-\text{idade}$) (HOWLEY et al., 1995). Na ausência da ocorrência de tais fatores, o $\dot{V}O_{2\text{max}}$ foi determinado como o maior valor obtido ao final do teste ($\dot{V}O_{2\text{pico}}$). O LV e o PCR foram determinados de maneira independente por três pesquisadores experientes como: o ponto de perda de linearidade da relação $\dot{V}E/\dot{V}O_2$ (LV) o ponto de perda de linearidade da relação $\dot{V}E/\dot{V}CO_2$ associado ao primeiro aumento na fração de CO_2 expirada (PCR) (MEYER et al., 2005). Foram coletados 25 μl de sangue do lóbulo da orelha para determinação da concentração sanguínea de lactato nos períodos pré, um, três e cinco minutos após o término do teste máximo, para determinação do pico de lactato sanguíneo. As concentrações plasmáticas de lactato foram mensuradas por espectrofotometria a um comprimento de onda de 546 nm (EONC, Biotek Instruments, USA).

4.5. TESTES DE CARGAS CONSTANTES

Os procedimentos realizados nos testes de cargas constantes referentes à mensuração do $\dot{V}O_2$ foram similares aos adotados no teste progressivo até a exaustão. O aquecimento foi constituído por três minutos de corrida a $8 \text{ km}\cdot\text{h}^{-1}$ na esteira rolante, seguido de três minutos de intervalo passivo. Os participantes foram submetidos a dez minutos de corrida nas velocidades de 10 e $12 \text{ km}\cdot\text{h}^{-1}$. O intervalo entre as velocidades foi de 6 minutos ou até que o $\dot{V}O_2$ atingisse os valores de repouso. A EC foi representada pela média do $\dot{V}O_2$ nos trinta segundos finais dos exercícios de cargas constantes.

4.6. TESTE DE FORÇA DINÂMICA MÁXIMA

A força voluntária máxima foi avaliada através do teste de uma repetição máxima (1RM) no exercício *leg press*. A realização deste teste, assim como das sessões de familiarização, seguiram as orientações da *American Society of Exercise Physiologists* (ASEP), para testes de 1 RM (BROWN; WEIR, 2001). Após um aquecimento geral de cinco minutos de duração a 8

km.h⁻¹ correndo na esteira rolante, os sujeitos realizaram um aquecimento específico consistindo de duas séries de cinco e três repetições. Na sessão de familiarização, a carga do aquecimento específico era próxima de 50% e 70% (séries de cinco e três repetições, respectivamente) da carga estimada para 1RM, sendo ajustadas com base na percepção de esforço avaliada através da escala CR10 de Borg (BUCKLEY;BORG, 2011). No teste, eram utilizadas cargas de 50% e 70% (séries de cinco e três repetições, respectivamente) da carga máxima obtida na sessão de familiarização.

A mesma posição individual dos participantes no *leg press* foi mantida durante todas as tentativas. Para isso, foram feitas aferições da angulação dos joelhos (90°) com o uso do goniômetro manual (RAJAVOLT, 337). Foram utilizados como referência os pontos anatômicos referentes ao trocânter maior do fêmur, côndilo lateral do fêmur e maléolo lateral. O posicionamento dos pés na plataforma do aparelho foi o mais cômodo para cada participante, sendo mantido durante a sessão de familiarização e o teste. Os sujeitos iniciavam e terminavam o ciclo de movimento com os joelhos em extensão completa. Antes da realização dos testes era colocado um sinalizador da amplitude de deslocamento da plataforma no local referente ao ângulo de 90° de flexão dos joelhos do indivíduo.

Após o aquecimento específico, era dado um intervalo de três minutos antes do início do teste. O teste consistiu na obtenção da máxima carga suportada pelo participante durante um ciclo completo de flexão-extensão dos joelhos. A carga inicial para o teste máximo era estimada durante a sessão de familiarização, e a partir disso, o peso levantado era aumentado até que o sujeito não conseguisse completar uma repetição com aquela carga. O número total de tentativas para achar o valor de 1RM não foi maior que cinco. Entre as tentativas houve um intervalo de três minutos e foi fornecido encorajamento verbal durante as tentativas do teste.

4.7. TESTE DE SALTO VERTICAL

Os voluntários realizaram um teste de salto vertical com contramovimento, no intuito de se obter uma estimativa da potência muscular de membros inferiores. Após aquecimento de cinco minutos na velocidade de 8 km.h⁻¹ na esteira rolante e um intervalo de três minutos de recuperação passiva, os sujeitos realizaram cinco saltos, sendo os dois primeiros de aprendizagem, com 30 segundos de intervalo entre eles. Foram considerados os três últimos

saltos e apenas o melhor deles foi utilizado para análise. Os saltos foram realizados sobre um tapete de salto (MultiSprint, Hidrofit, Brasil), que mede o tempo de voo, a partir do qual a altura do salto é calculada por meio de um programa computadorizado (Multisprint, 2.0). No teste de salto vertical, os sujeitos realizavam os saltos partindo de uma posição inicial sobre o tapete com os joelhos estendidos e as mãos posicionadas no quadril, realizando uma rápida flexão de joelhos seguida pelo movimento de salto.

4.8. GENOTIPAGEM

Células da mucosa bucal foram obtidas por enxágüe bucal com soro fisiológico (NaCl 0,9%) e submetidas a digestão por proteinase K por 12 horas. Os nucleotídeos eram separados dos resíduos dos demais componentes celulares por gradiente de densidade através de centrifugação com clorofórmio. O DNA genômico era então precipitado em álcool isopropílico, isolado por centrifugação e suspenso em tampão TE 1x. A quantificação do DNA foi realizada por espectrofotometria (NanoDrop, ND 2000, EUA), e a concentração foi ajustada para 1 µg/µL e armazenada a -20° C.

A genotipagem dos participantes para a investigação do polimorfismo R577X do gene ACTN3 foi realizada por PCR (*Polymerase Chain Reaction*), seguida de tratamento do produto por enzima de restrição. Dois primers foram desenhados e sintetizados (Invitrogen) para amplificar os segmentos dos exons 15 e 16 do gene ACTN3, resultando em um fragmento de 291 pares de bases, que contém a sequência com o polimorfismo. Os primers são *ACTN3-F*: 5-CTGTTGCCTGTGGTAAGTGGG-3 e *ACTN3-R*: 5-TGGTCACAGTATGCAGGAGGG-3. O produto da PCR era submetido a eletroforese em gel de agarose 2% para verificação da eficiência da reação. O produto era então submetido à digestão pela enzima Ddel (Prodinol) seguindo-se as recomendações do fabricante. Os produtos da digestão eram, por fim, submetidos a eletroforese em gel de agarose 4% para determinação dos genótipos. Para garantir um controle interno apropriado, para cada reação eram utilizados controles positivos e negativos de diferentes alíquotas de DNA, que serão previamente genotipadas pelo mesmo método, em acordo com as recomendações para replicação de estudos de associação genótipo-fenótipo (CHANOCK et al., 2007).

4.9. ANÁLISE ESTATÍSTICA

A normalidade dos dados foi analisada através do teste de Kolmogorov-Smirnov. O equilíbrio de Hardy-Weinberg para frequência dos genótipos foi avaliado através do teste de qui-quadrado. Para avaliar a influência do genótipo, a amostra foi dividida em tercís com base nos valores das variáveis mensuradas. Subsequentemente, o tercil intermediário foi descartado e as frequências dos genótipos no primeiro (T1) e terceiro (T3) tercís foram comparadas através do teste de Qui-quadrado (figura 5). Quando foi observada diferença estatisticamente significativa, foi utilizada uma análise da contribuição parcial de cada frequência para a diferença encontrada. A comparação de cada uma das variáveis entre T1 e T3 foi realizada através do teste t de *Student* para dados não pareados. Todas as análises foram conduzidas no software MINITAB 15 e o nível de significância adotado foi $\alpha = 0,05$.

Figura 5 – Representação esquemática da divisão da amostra em tercís com base nos valores de determinada variável (ex. $\dot{\text{V}}\text{O}_2\text{max}$), exclusão do tercil intermediário e subsequente comparação das frequências dos genótipos no primeiro e terceiro tercís. ↓ : menores valores; ↔ : valores intermediários; ↑ : maiores valores.

5. RESULTADOS

5.1. DISTRIBUIÇÃO DOS GENÓTIPOS E CARACTERÍSTICAS DA AMOSTRA

A seguir serão apresentados os resultados da análise estatística com os dados de todos os participantes do estudo. A distribuição dos genótipos encontrada atingiu o equilíbrio de Hardy-Weinberg, evidenciado pelo teste do qui-quadrado. As frequências dos genótipos do gene ACTN3 foram RR = 33,9%, RX = 37,8% e XX = 28,3%. A tabela 1 apresenta as características antropométricas e o nível de atividade física dos participantes, ao passo que a tabela 2 apresenta as variáveis mensuradas durante o teste incremental máximo.

Tabela 1 – Características antropométricas e nível de atividade física dos participantes (n = 150).

	MÉDIA $\pm$ DP	MÍNIMO	MÁXIMO
Idade (anos)	25,2 $\pm$ 4,0	18	35
Massa corporal (kg)	77,8 $\pm$ 13,9	56,65	101,95
Estatura (cm)	173,9 $\pm$ 21,4	162	191
Gordura corporal (%)	13,3 $\pm$ 4,2	5,9	25,1
IPAQ (escore)	1309 $\pm$ 291	1165	1478

Os dados estão apresentados como médias $\pm$ desvios-padrão.

Tabela 2 – Variáveis mensuradas durante o teste incremental máximo (n = 150).

	MÉDIA $\pm$ DP	MÍNIMO	MÁXIMO
$\dot{V}O_2\text{max}$ (mL.kg ⁻¹ .min ⁻¹)	46,91 $\pm$ 5,87	36,1	67,4
FC _{MAX} (bpm)	188 $\pm$ 9	167	209
RER _{MAX}	1,11 $\pm$ 0,05	0,99	1,23
Vpico (km.h ⁻¹)	16,1 $\pm$ 1,5	14	20
LV (km.h ⁻¹)	10,1 $\pm$ 1,3	10	13
PCR (km.h ⁻¹)	13,5 $\pm$ 1,4	11	18
[La]pré (mmol.L ⁻¹)	1,24 $\pm$ 0,94	0,33	2,22
[La]1 (mmol.L ⁻¹)	8,52 $\pm$ 3,51	3,12	15,79
[La]3 (mmol.L ⁻¹)	8,75 $\pm$ 3,52	3,03	16,03
[La]5 (mmol.L ⁻¹)	9,21 $\pm$ 4,98	3,15	16,8

Os dados estão apresentados como médias $\pm$ desvios-padrão. $\dot{V}O_2\text{max}$: consumo máximo de oxigênio relativo à massa corporal; FC_{MAX} = frequência cardíaca máxima; RER_{MAX}: razão de troca respiratória máxima; Vpico: velocidade de pico atingida no teste incremental; LV = velocidade na qual foi atingido o limiar ventilatório; PCR: velocidade na qual foi atingido o ponto de compensação respiratória; [La]: concentração plasmática de lactato nos momentos pré, 1, 3 e 5 minutos após o teste incremental máximo.

5.2. ANÁLISES DAS FREQUÊNCIAS DOS GENÓTIPOS COM BASE NOS TERCIS PARA AS CARACTERÍSTICAS ANTROPOMÉTRICAS E O NÍVEL DE ATIVIDADE FÍSICA

No intuito de comparar a frequência dos genótipos em indivíduos que possuíam os valores extremos das variáveis analisadas, a amostra foi dividida em tercís com base na idade, características antropométricas e nível de atividade física. Como previamente descrito e ilustrado nas análises estatísticas (figura 5), os dados do segundo tercíl não foram utilizados nessa subseção dos resultados. Para nenhuma dessas variáveis a distribuição dos genótipos foi diferente entre os dois tercís analisados (tabelas 3 a 7).

A idade dos participantes foi estatisticamente diferente entre T1 (21,5 $\pm$ 1,7 anos) e T3 (29,9 $\pm$ 2,7 anos, $p < 0,05$). Contudo, a frequência dos genótipos não diferiu entre os dois tercís (tabela 3).

Tabela 3 – Frequências dos genótipos por tercil com base na idade (n = 100).

GENÓTIPO					χ^2	P
TERCIL	RR	RX	XX	TOTAL		
Primeiro	42,5	27,5	30,0	100	1,82	0,403
Terceiro	30,8	41,0	28,2	100		
TOTAL	36,7	34,1	29,1	100		

Os dados estão apresentados como a frequência (%) de ocorrência do genótipo no referido tercil (primeiro ou terceiro).

Da mesma forma, em relação à massa corporal, T1 ($66,9 \pm 3,7$ kg) foi estatisticamente diferente de T3 ($90,2 \pm 10,2$ kg, $p < 0,05$). Contudo, T1 e T3 não diferiram em relação à distribuição dos genótipos (tabela 4).

Tabela 4 – Frequências dos genótipos por tercil com base na massa corporal (n = 100).

GENÓTIPO					χ^2	P
TERCIL	RR	RX	XX	TOTAL		
Primeiro	35,0	32,5	32,5	100	0,73	0,696
Terceiro	33,4	41,0	25,6	100		
TOTAL	34,2	36,7	29,1	100		

Os dados estão apresentados como a frequência (%) de ocorrência do genótipo no referido tercil (primeiro ou terceiro).

Similarmente, a estatura foi estatisticamente menor em T1 (169 ± 3 cm) quando comparado a T3 (183 ± 3 cm, $p < 0,05$). A distribuição dos genótipos não diferiu estatisticamente entre os dois tercis (tabela 5).

Tabela 5 – Frequências dos genótipos por tercil com base na estatura (n = 100).

GENÓTIPO					χ^2	P
TERCIL	RR	RX	XX	TOTAL		
Primeiro	40,0	32,0	28,0	100	3,42	0,181
Terceiro	16,7	50,0	33,3	100		
TOTAL	28,6	40,8	30,6	100		

Os dados estão apresentados como a frequência (%) de ocorrência do genótipo no referido tercil (primeiro ou terceiro).

Também o percentual de gordura corporal diferiu estatisticamente entre T1 ($9,7 \pm 1,8$ %) e T3 ($18,7 \pm 2,6$ %, $p < 0,05$). Contudo, os genótipos se distribuíram de maneira estatisticamente semelhante entre os dois tercís analisados (tabela 6).

Tabela 6 – Frequências dos genótipos por tercil com base no percentual de gordura corporal (n = 100).

GENÓTIPO					χ^2	P
TERCIL	RR	RX	XX	TOTAL		
Primeiro	26,7	30,0	43,3	100	1,57	0,456
Terceiro	41,4	27,6	31,0	100		
TOTAL	33,9	28,8	37,3	100		

Os dados estão apresentados como a frequência (%) de ocorrência do genótipo no referido tercil (primeiro ou terceiro).

Por fim, o nível de atividade física obtido através do escore no IPAQ foi diferente entre T1 (1224 ± 198) e T3 (1397 ± 165 , $p < 0,05$). Contudo, a distribuição dos genótipos não diferiu entre os tercís (tabela 7).

Tabela 7 – Frequências dos genótipos por tercil com base no nível de atividade física (n = 100).

GENÓTIPO					χ^2	P
TERCIL	RR	RX	XX	TOTAL		
Primeiro	31,7	35,4	32,9	100	1,34	0,734
Terceiro	29,0	36,3	34,7	100		
TOTAL	30,4	35,8	33,8	100		

Os dados estão apresentados como a frequência (%) de ocorrência do genótipo no referido tercil (primeiro ou terceiro).

5.3. ANÁLISES DAS FREQUÊNCIAS DOS GENÓTIPOS COM BASE NOS TERCIS PARA AS VARIÁVEIS FISIOLÓGICAS E PARÂMETROS NEUROMUSCULARES

De forma similar, a amostra foi dividida em tercils com base nas variáveis fisiológicas e parâmetros neuromusculares avaliados, sendo o primeiro e terceiro tercils utilizados nas análises estatísticas. Foram observadas diferenças significativas das frequências dos genótipos entre o T1 e o T3 para a velocidade associada ao LV, velocidade associada ao PCR e a EC mensurada a 12 km.h⁻¹.

Quando a comparação entre o primeiro (T1) e o terceiro (T3) tercils foi realizada, a velocidade correspondente ao LV foi estatisticamente menor no T1 ($8,8 \pm 0,9$ km.h⁻¹) em comparação ao T3 ($11,3 \pm 0,5$ km.h⁻¹) ($p < 0,05$). Adicionalmente, foi observada uma distribuição dos genótipos significativamente diferente entre T1 e T3 ($p < 0,05$). Foi detectada uma maior frequência do genótipo RR e menor do genótipo XX no T1, as quais resultaram em contribuições de 29,4% e 16,2% para a diferença, respectivamente. Por outro lado, observou-se menor frequência do genótipo RR e maior do genótipo XX no T3. Essas alterações responderam por 24,4% e 16,2% da diferença encontrada. As frequências do genótipo RX não contribuíram significativamente para a diferença (tabela 8).

Tabela 8 – Frequências dos genótipos por tercil com base nos valores da velocidade associada ao limiar ventilatório (n = 100).

GENÓTIPO					χ^2	p
TERCIL	RR	RX	XX	TOTAL		
Primeiro	58,3†	25	16,7†	100	11,94	0,003*
Terceiro	19,4†	38,9	41,7†	100		
TOTAL	38,9	31,9	27,2	100		

Os dados estão apresentados como a frequência (%) de ocorrência do genótipo no referido tercil (primeiro ou terceiro). *Distribuição dos genótipos significativamente diferente da esperada. †Contribui significativamente para a diferença encontrada.

Da mesma forma, a velocidade correspondente ao PCR foi menor no T1 ($12 \pm 0,8 \text{ km.h}^{-1}$) comparado ao T3 ($15 \pm 1,1 \text{ km.h}^{-1}$) ($p < 0,05$). Houve diferença significativa na distribuição dos genótipos entre os dois tercís analisados ($p < 0,05$). O genótipo RR foi representado com uma maior frequência no T1. Essa maior frequência do genótipo RR resultou em 31,5% da diferença encontrada. Já no T3, foram observadas uma menor frequência do genótipo RR e maior do genótipo XX, as quais contribuíram com 32,4 e 16% da diferença encontrada. As demais frequências não contribuíram significativamente para a diferença (tabela 9).

Tabela 9 – Frequências dos genótipos por tercil com base nos valores da velocidade associada ao ponto de compensação respiratória (n = 100).

GENÓTIPO					χ^2	p
TERCIL	RR	RX	XX	TOTAL		
Primeiro	51,4†	24,3	24,3	100	12,16	0,002*
Terceiro	13,9†	33,3	52,8†	100		
TOTAL	32,9	28,8	38,4	100		

Os dados estão apresentados como a frequência (%) de ocorrência do genótipo no referido tercil (primeiro ou terceiro). *Distribuição dos genótipos significativamente diferente da esperada. †Contribui significativamente para a diferença encontrada.

Na divisão em tercís com base na EC mensurada a 12 km.h^{-1} , o T1 ($37,68 \pm 2,1 \text{ mL.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$) foi significativamente mais econômico em relação ao T3 ($45,73 \pm 1,8 \text{ mL.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$). Do mesmo modo, a distribuição dos genótipos foi estatisticamente diferente entre T1 e T3 (p

< 0,05). Foi observada uma maior frequência do genótipo RX no T1, a qual contribuiu com 30% da diferença, e uma menor frequência do genótipo RX no T3, a qual contribuiu com 30,8% da diferença. Os demais genótipos se distribuíram de maneira semelhante entre os dois tercís (tabela 10).

Tabela 10 – Frequências dos genótipos por tercíl com base nos valores de economia de corrida mensurada a 12 km.h⁻¹ (n = 100).

GENÓTIPO						
TERCIL	RR	RX	XX	TOTAL	χ^2	p
Primeiro	28,2	51,3†	20,5	100	6,41	0,041*
Terceiro	39,5	23,7†	36,8	100		
TOTAL	33,8	37,7	28,6	100		

Os dados estão apresentados como a frequência (%) de ocorrência do genótipo no referido tercíl (primeiro ou terceiro). *Distribuição dos genótipos significativamente diferente da esperada. †Contribui significativamente para a diferença encontrada.

Por outro lado, a frequência dos genótipos não foi significativamente diferente entre T1 e T3 quando os tercís foram divididos com base nas demais variáveis fisiológicas e nos parâmetros neuromusculares ($p > 0,05$).

Em relação à Vpico, o T1 ($14,4 \pm 0,7$ km.h⁻¹) foi estatisticamente inferior ao T3 ($17,5 \pm 0,8$ km.h⁻¹, $p < 0,05$). Contudo, a distribuição dos genótipos entre T1 e T3 não foi significativamente diferente (tabela 11).

Tabela 11 – Frequências dos genótipos por tercíl com base nos valores da velocidade de pico no teste incremental máximo (n = 100).

GENÓTIPO						
TERCIL	RR	RX	XX	TOTAL	χ^2	p
Primeiro	30,0	38,8	30,8	100,0	3,79	0,061
Terceiro	16,4	52,4	31,6	100,0		
TOTAL	23,4	45,5	31,1	100,0		

Os dados estão apresentados como a frequência (%) de ocorrência do genótipo no referido tercíl (primeiro ou terceiro).

Em relação ao $\dot{V}O_2\text{max}$, o T1 ($41,19 \pm 2,9 \text{ mL.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$) foi estatisticamente inferior ao T3 ($52,59 \pm 2,8 \text{ mL.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$) ($p < 0,05$). Porém, a distribuição dos genótipos entre o T1 e o T3 não foi significativamente diferente (tabela 12).

Tabela 12 – Frequências dos genótipos por tercil com base nos valores do consumo máximo de oxigênio ($n = 100$).

GENÓTIPO					χ^2	p
TERCIL	RR	RX	XX	TOTAL		
Primeiro	38,5	28,2	33,3	100	0,69	0,707
Terceiro	30,8	35,9	33,3	100		
TOTAL	34,6	32,1	33,3	100		

Os dados estão apresentados como a frequência (%) de ocorrência do genótipo no referido tercil (primeiro ou terceiro).

Quando foi considerada a EC mensurada a 10 km.h^{-1} , o T1 ($32,97 \pm 1,7 \text{ mL.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$) foi significativamente mais econômico quando comparado ao T3 ($39,89 \pm 1,9 \text{ mL.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$) ($p < 0,05$). Contudo, as frequências dos genótipos não foram significativamente diferentes entre os dois tercis ($p > 0,05$) (tabela 13).

Tabela 13 – Frequências dos genótipos por tercil com base nos valores de economia de corrida mensurada a 10 km.h^{-1} ($n = 100$).

GENÓTIPO					χ^2	p
TERCIL	RR	RX	XX	TOTAL		
Primeiro	30,8	46,2	23,0	100	4,64	0,098
Terceiro	36,8	23,7	39,5	100		
TOTAL	33,8	35,0	31,2	100		

Os dados estão apresentados como a frequência (%) de ocorrência do genótipo no referido tercil (primeiro ou terceiro).

Da mesma forma, quando os indivíduos foram separados de acordo com os valores de 1RM, o T1 apresentou valores de força ($229,6 \pm 39,9 \text{ kg}$) estatisticamente inferiores ao T3

(386,0 $\pm$ 48,3 kg) ($p < 0,05$). Todavia, não houve diferença significativa na distribuição dos genótipos entre os dois tercís ($p > 0,05$) (tabela 14).

Tabela 14 – Frequências dos genótipos por tercil com base nos valores de força máxima de membros inferiores (1RM) (n = 100).

GENÓTIPO					χ^2	p
TERCIL	RR	RX	XX	TOTAL		
Primeiro	40,5	24,3	35,2	100	1,76	0,414
Terceiro	27,1	35,1	37,8	100		
TOTAL	33,8	29,7	36,5	100		

Os dados estão apresentados como a frequência (%) de ocorrência do genótipo no referido tercil (primeiro ou terceiro).

Por último, os valores da altura de salto vertical foram significativamente diferentes entre T1 (30,1 $\pm$ 4,8 cm) e T3 (37,7 $\pm$ 4,1 cm) ($p < 0,05$). Entretanto, os dois tercís não diferiram quanto à distribuição dos genótipos ($p > 0,05$) (tabela 15).

Tabela 15 – Frequências dos genótipos por tercil com base nos valores de altura do salto vertical (n = 100).

GENÓTIPO					χ^2	p
TERCIL	RR	RX	XX	TOTAL		
Primeiro	37,9	31,7	33,5	100	1,03	0,911
Terceiro	31,3	38,5	27,1	100		
TOTAL	34,6	35,1	30,3	100		

Os dados estão apresentados como a frequência (%) de ocorrência do genótipo no referido tercil (primeiro ou terceiro).

6. DISCUSSÃO

O presente projeto de pesquisa foi conduzido com o objetivo de comparar variáveis fisiológicas e parâmetros neuromusculares associados à aptidão aeróbia durante a corrida entre indivíduos com diferentes genótipos do gene ACTN3. Algumas evidências têm sugerido que o genótipo XX do gene ACTN3 pode ser favorável ao desempenho em provas de longa duração (YANG et al., 2003; EYNON et al., 2012). Contudo, ao menos em nosso conhecimento, nenhum estudo verificou a relação entre parâmetros fisiológicos determinados durante a corrida e os genótipos do gene ACTN3. Nosso principal achado foi a maior representação do genótipo XX entre os indivíduos com maiores velocidades associadas ao LV e ao PCR. Além disso, foi observado entre os indivíduos mais econômicos uma maior representação de indivíduos com pelo menos uma cópia do alelo X (genótipos RX e XX).

Em relação à distribuição dos genótipos observada, esta atingiu o equilíbrio de Hardy-Weinberg de acordo com as frequências esperadas com base nos dados da literatura. De acordo com Mills et al. (2001), as frequências dos alelos R e X variam consideravelmente entre as populações. Grande parte dos estudos foi conduzida com populações etnicamente homogêneas, a maioria caucasianos, nos quais foram observadas frequências, em média, de 33% para o genótipo RR, 47% para o genótipo RX e 20% para o genótipo XX (YANG et al., 2003; DRUZHEVSKAYA et al., 2008). Diferentemente, Scott et al. (2010) observaram frequências de 75%, 23% e 2% para os genótipos RR, RX e XX, respectivamente, em uma amostra de 311 indivíduos jamaicanos. Já na população brasileira, existem poucos dados sobre essas frequências, uma vez que os estudos existentes foram conduzidos com amostras menores em relação aos demais. Lima et al. (2011) analisaram a distribuição dos genótipos em 234 indivíduos brasileiros e observaram que 33,3%, 50,8% e 15,9% dos indivíduos apresentavam os genótipos RR, RX e XX, respectivamente. Além disso, Pimenta et al. (2012) observaram os genótipos RR, RX e XX em 40,5%, 35,1% e 24,4% da amostra estudada, de apenas 37 indivíduos. Desse modo, ainda não é possível estabelecer com clareza a distribuição dos genótipos do gene ACTN3 na população brasileira.

De acordo com a análise dos tercís, foi observado que em ambos os tercís com menores velocidades associadas ao LV e ao PCR (T1) houve maior representação do genótipo RR e menor representação do genótipo XX. Por outro lado, nos tercís com maiores velocidades associadas a essas variáveis fisiológicas (T3), observou-se menor frequência do genótipo RR

e maior frequência do genótipo XX. Para o LV, 58,8% e 32,4% da diferença encontrada na distribuição dos genótipos foram atribuídos aos genótipos RR e XX, respectivamente. Já para o PCR, os genótipos RR e XX contribuíram, cada um, com 63,9% e 31,6% da diferença encontrada. Em conjunto, tais diferenças sugerem que indivíduos com o genótipo XX parecem possuir uma maior probabilidade de alcançar velocidades superiores associadas aos limiares ventilatórios comparados aos RR. Tais resultados se assemelham aos achados dos estudos de associação, nos quais o genótipo XX é visto com maior frequência entre atletas fundistas (NIEMI; MAJAMAA, 2005), os quais são capazes de alcançar os limiares em velocidades superiores (LUCIA et al., 2001). Dessa forma, é possível que os indivíduos com o genótipo XX sejam capazes de correr em maiores velocidades aumentando a taxa de oxidação de ácidos graxos, ocasionando um efeito poupador do glicogênio muscular ou menor acúmulo de íons H^+ . Coletivamente, isso poderia resultar em um maior período de exercício até que se estabeleça o quadro de fadiga (COYLE, 1995).

Supostamente, essas diferenças observadas no LV e no PCR podem estar associadas às distintas adaptações metabólicas proporcionadas pelos genótipos do gene ACTN3. Os resultados de um estudo prévio conduzido em modelo animal indicaram que a ausência da α -actinina-3 pode elevar a eficiência do metabolismo oxidativo (MACARTHUR et al., 2007; QUINLAN et al., 2010). Nesses estudos, os camundongos nocaute para a α -actinina-3 (os quais reproduzem o genótipo XX em humanos) apresentaram um aumento da atividade de enzimas oxidativas e uma diminuição da atividade de enzimas glicolíticas, gerando uma priorização da oxidação de ácidos graxos. Coletivamente, essas alterações metabólicas resultaram em uma menor utilização do glicogênio muscular e maior distância percorrida até a exaustão. Adicionalmente, Vincent et al. (2007) observaram uma menor porcentagem de fibras tipo IIx em indivíduos com o genótipo XX. Em conjunto, esses dados sugerem que ausência da α -actinina-3 pode ser capaz de alterar a porcentagem dos tipos de fibra, no sentido de aumentar a proporção de fibras do tipo I, as quais são predominantemente oxidativas. Além disso, a ausência dessa proteína pode estar associada a uma alteração metabólica nas fibras tipo II, aumentando a eficiência oxidativa dessas fibras e diminuindo a utilização da via glicolítica, a qual está associada a um aparecimento mais breve da fadiga. Dessa forma, é possível que essas alterações metabólicas sejam responsáveis pela maior representação do genótipo XX entre atletas de endurance (YANG et al., 2003; NIEMI; MAJAMAA, 2005) e entre os indivíduos capazes de atingir o LV e o PCR em maiores velocidades no presente estudo. Contudo, esses achados em modelo animal devem ser interpretados com cautela, haja

vista que não foi detectada alteração da atividade enzimática em humanos com relação ao genótipo do gene ACTN3 (VINCENT et al., 2011). Dessa forma, futuros estudos deveriam ser conduzidos no intuito de analisar a relação entre os limiares metabólicos e a atividade enzimática dos músculos exercitados de indivíduos com diferentes genótipos do gene ACTN3.

Em relação à EC mensurada a 12 km.h^{-1} , verificou-se que a distribuição dos genótipos era estatisticamente diferente entre T1 e T3 ($p < 0,05$), com o genótipo RX sendo representado com maior frequência no T1 (mais econômicos) e com menor frequência no T3 (menos econômicos), respondendo por 60,8% da diferença observada. Por outro lado, não foi observada diferença na distribuição dos genótipos entre T1 e T3 quando os indivíduos foram divididos com base nos valores de EC mensurada a 10 km.h^{-1} . A diferença encontrada na distribuição dos genótipos apenas na EC mensurada a 12 km.h^{-1} pode ser devido ao fato da α -actinina-3 estar presente apenas nas fibras do tipo II. A velocidade de 12 km.h^{-1} representa aproximadamente 75% e 93% da velocidade de pico e do PCR mensurados no teste incremental, respectivamente. Esses percentuais representam o momento onde há um aumento expressivo do recrutamento das fibras do tipo II em indivíduos fisicamente ativos (GOLLNICK et al., 1974; HULTMAN, 1995). Assim, é provável que exista uma maior influência do polimorfismo no gene ACTN3 em maiores intensidades de corrida, nas quais aumenta o recrutamento dessas fibras.

Garland et al. (1990) e Ruiz et al. (2013) propuseram que a predisposição genética dos indivíduos age de acordo com um fenômeno conhecido pelo termo inglês *trade-off*. Esse fenômeno, comumente empregado na literatura econômica, explica uma situação de conflito, onde é preciso decidir entre duas possibilidades, sempre em benefício de uma e detrimento da outra. Desse modo, no caso do polimorfismo no gene ACTN3, o alelo R beneficia o desempenho em tarefas de força, enquanto o alelo X beneficia o desempenho em tarefas de longa duração, em detrimento do inverso. Sendo assim, o genótipo RX pode ser favorável à EC por proporcionar características intermediárias aos demais, uma vez que a economia de energia durante o exercício já mostrou ser dependente tanto da força muscular (SAUNDERS et al., 2004; STOREN et al., 2008) quanto das características metabólicas das fibras (KANEKO et al., 1990). Entretanto, ainda é necessário que esses resultados sejam replicados para que se possa afirmar mais seguramente sobre o mecanismo de atuação do genótipo sobre a EC.

Por outro lado, quando a amostra foi dividida com base nos valores da V_{pico} e do $\dot{V}O_2max$, não houve diferença na distribuição dos genótipos entre T1 e T3. Por se tratarem de valores máximos, é possível que a V_{pico} , o $\dot{V}O_2max$ e o pico de lactato sanguíneo sejam menos sensíveis a pequenas alterações causadas pelo genótipo. Similarmente ao treinamento físico, as características hereditárias podem influenciar o desempenho físico (BOUCHARD et al., 1995). Nesse sentido, sabe-se também que variáveis máximas, como o $\dot{V}O_2max$, são menos responsivas ao treinamento quando comparadas a variáveis submáximas, como os limiares (MCNICOL et al., 2009). Portanto, é possível também que a influência de um único polimorfismo genético seja menor sobre essas variáveis.

Em relação à força e à potência muscular, essas variáveis já mostraram ser beneficiadas pelo genótipo RR do gene ACTN3 (MORAN et al., 2007; DRUZHEVSKAYA et al., 2008; NORMAN et al., 2009). Contudo, esses resultados foram obtidos em populações etnicamente mais homogêneas em comparação à população brasileira, sendo a maioria caucasianos. Dessa forma, diferenças na distribuição dos genótipos entre as populações podem interferir na investigação da influência do polimorfismo sobre características fenotípicas, principalmente em análises similares à empregada no presente estudo. Além disso, o tipo de exercício também difere entre os estudos. Moran et al. (2007) avaliaram a potência muscular através de um sprint de 40 metros. Por sua vez, Norman et al. (2009) compararam indivíduos com diferentes genótipos do gene ACTN3 no exercício de extensão de joelhos em dinamômetro isocinético. Dessa forma, diferenças, por exemplo, nas características dos músculos recrutados podem influenciar na magnitude do efeito do genótipo sobre os parâmetros neuromusculares.

7. LIMITAÇÕES

É importante destacar algumas limitações acerca do presente estudo. Como supracitado, a frequência dos genótipos na população brasileira ainda não foi estabelecida em estudos com tamanhos amostrais adequados. Portanto, é difícil inferir sobre a magnitude da influência dos genótipos. Por exemplo, Scott et al. (2010) observaram uma frequência do genótipo RR de 75% em indivíduos jamaicanos. Assim, a presença desse genótipo deve ser menos determinante para diferenciar entre atletas e não-atletas nessa população comparada a populações com menor frequência do genótipo RR (FATTAHI; NAJMABADI, 2012). Inclusive, essa pode ser uma possível interpretação para a ausência de relação entre a força muscular e o genótipo no presente estudo. É possível que na população brasileira a influência do alelo R sobre a capacidade de força seja menos pronunciada em comparações a outras populações, como caucasianos (DRUZHEVSKAYA et al., 2008). Além disso, apesar do tamanho amostral do presente estudo ($n = 150$) poder ser apontado como uma possível limitação por ser inferior a grande parte das demais investigações, é importante destacar que o número de variáveis analisadas, assim como a qualidade das medidas utilizadas (ex. mensuração direta das trocas gasosas), supera a maioria das investigações no campo de genética e exercício físico.

8. CONCLUSÃO

Em resumo, os dados do presente estudo demonstram uma associação entre o genótipo XX e as variáveis fisiológicas relacionadas à aptidão aeróbia, sobretudo as que são determinadas em intensidades submáximas. Similarmente a estudos de associação que verificaram maior representação desse genótipo em atletas fundistas (NIEMI; MAJAMAA, 2005; EYNON et al., 2012), nós observamos, em indivíduos não-atletas, que o genótipo XX é também mais frequente entre os que apresentam maiores valores das velocidades associadas aos limiares ventilatórios. Além disso, observamos maior frequência do genótipo heterozigoto (RX) entre os indivíduos mais econômicos. Assim, nossos resultados corroboram a maioria dos estudos de associação e a hipótese metabólica de benefício ao metabolismo aeróbio na ausência da α -actinina-3 obtida em modelo animal. Contudo, ainda são necessários mais estudos capazes de descrever os mecanismos metabólicos atuantes nessa associação em humanos, para que se possa avançar no conhecimento sobre os efeitos desse polimorfismo sobre o rendimento físico.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMETOV, I. I. et al. The combined impact of metabolic gene polymorphisms on elite endurance athlete status and related phenotypes. **Human Genetics**, v. 126, p. 751–61, 2009.

ALBRACHT, K.; ARAMPATZIS, A. Exercise-induced changes in triceps surae tendon stiffness and muscle strength affect running economy in humans. **European Journal of Applied Physiology**, 2013 (online).

ARAMPATZIS, A. et al. Influence of the muscle-tendon unit's mechanical and morphological properties on running economy. **Journal of Experimental Biology**, v. 209, p. 3345–57, 2006.

ASTORINO, T. A. et al. Supramaximal testing to confirm attainment of $\dot{V}O_{2\max}$ in sedentary men and women. **International Journal of Sports Medicine**, v. 30, p. 279–84, 2009.

BARON, B. et al. Maximal lactate steady state does not correspond to a complete physiological steady state. **International Journal of Sports Medicine**, v. 24, p. 582-7, 2003.

BASSETT, D. R. JR.; HOWLEY, E. T. Limiting factors for maximum oxygen uptake and determinants of endurance performance. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 32, n. 1, p. 70-84, 2000.

BEARDEN, S. E.; MOFFATT R. J. Leg electromyography and the $\dot{V}O_2$ -power relationship during bicycle ergometry. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 33, p. 1241-5, 2001.

BEAVER, W. L. et al. A new method for detecting anaerobic threshold by gas exchange. **Journal of Applied Physiology**, v. 60, n. 6, p. 2020-7, 1986.

BEGGS, A. H. et al. Cloning and characterization of two human skeletal muscle alpha-actinin genes located on chromosomes 1 and 11. **Journal of Biological Chemistry**, v. 267, n. 13, p. 9281-8, 1992.

BENTLEY, D. J.; NEWELL, J.; BISHOP, D. Incremental exercise test design and analysis: implications for performance diagnostics in endurance athletes. **Sports Medicine**, v. 37, p. 575-86, 2007.

BERMAN, Y.; NORTH, K. N. A gene for speed: the emerging role of alpha-actinin-3 in muscle metabolism. **Physiology**, v. 25, p. 250–9, 2010.

BERTUZZI, R. et al. Bioenergetics and neuromuscular determinants of the time to exhaustion at velocity corresponding to VO₂max in recreational long-distance runners. **Journal of Strength and Conditioning Research**, v. 26, n. 8, p. 2096-102, 2012.

BISHOP, D. et al. Relationship between plasma lactate parameters and muscle characteristics in female cyclists. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 32, p. 1088–1093, 2000.

BLANCHARD, A. et al. The structure and function of alpha-actinin. **Journal of Muscle Research and Cell Motility**, v. 10, n. 4, p. 280-9, 1989.

BOUCHARD, C. et al. Aerobic performance in brothers, dizygotic and monozygotic twins. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 18, n.6, p. 639-46, 1986a.

BOUCHARD, C. et al. Genetic effects in human skeletal muscle fiber type distribution and enzyme activities. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 64, n. 9, p. 1245-51, 1986b.

BOUCHARD, C. et al. Genomic predictors of the maximal O₂ uptake response to standardized exercise training programs. **Journal of Applied Physiology**, v. 110, p. 1160–70, 2011.

BOUCHARD, C. et al. Genomic scan for maximal oxygen uptake and its response to training in the HERITAGE Family Study. **Journal of Applied Physiology**, v. 88, p. 551–9, 2000.

BOUCHARD, C. et al. The HERITAGE family study. Aims, design, and measurement protocol. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 27, n. 5, p. 721-9, 1995.

BRECKPOT, T. D. et al. Challenges of interpreting copy number variation in syndromic and non-syndromic congenital heart defects. **Cytogenetic and Genome Research**, v. 135, n. 3-4, p. 251-9, 2011.

BROWN, L. E.; WEIR, J. P. American Society of Exercise Physiologists - Procedures recommendation I: Accurate assessment of muscular strength and power. **Journal of Exercise Physiology**, v. 4, n. 3, p. 1-21, 2001.

BROZEK, J. et al. Gensiotometric analysis of body composition: Revision of some quantitative assumptions. **Annals of the New York Academy of Sciences**, p. 110-113, 1963.

CHANOCK, S. J. et al. Replicating genotype-phenotype associations. **Nature**, v. 447, p. 655-60, 2007.

CHICHARRO, J. L.; HOYOS, J.; LUCIA, A. Effects of endurance training on the isocapnic buffering and hypocapnic hyperventilation phases in professional cyclists. **British Journal of Sports Medicine**, v. 34, p. 450-5, 2000.

CHIN, E. R. et al. A calcineurin-dependent transcriptional pathway controls skeletal muscle fiber type. **Genes Dev**, v. 12, n. 16, p. 2499–509, 1998.

CHOWRASHI, P. et al. Amorphin is phosphorylase; phosphorylase is an alpha-actinin-binding protein. **Cell Motil Cytoskeleton**, v. 53, n. 2, p. 125–35, 2002.

CIESZCZYK, P. et al. Association of the ACTN3 R577X polymorphism in Polish power-oriented athletes. **Journal of Human Kinetics**, v. 28, p. 55-61, 2011.

CONLEY, D. L.; KRAHENBUHL, G. S. Running economy and distance running performance of highly trained athletes. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 12, p. 357-360, 1980.

COYLE, E. F. Integration of the physiological factors determining endurance performance ability. **Exercise and Sports Sciences Reviews**, v. 23, p. 25-63, 1995.

CUPEIRO, R. et al. MCT1 genetic polymorphism influence in high intensity circuit training: A pilot study. **Journal of Science and Medicine in Sport**, v. 13, p. 526–30, 2010.

DAY, J. R. et al. The maximally attainable VO₂ during exercise in humans: the peak vs. maximum issue. **Journal of Applied Physiology**, v. 95, p. 1901-7, 2003.

DE LORENZO, A. et al . Use of the Exercise Treadmill Test for the Assessment of Cardiac Risk Markers in Adults Infected with HIV. **J Int Assoc Physicians AIDS Care (Chic)**. 2012. [Epub ahead of print]

DI PRAMPERO, P. E. An analysis of the factors limiting maximal oxygen consumption in healthy subjects. **Chest**, v. 101, n. 5, 1992.

DOLGIN, E. Reestructuring human variation. **The scientist**, 22(8): 55, 2008.

DRUZHEVSKAYA, A. M. et al. Association of the *ACTN3* R577X polymorphism with power athlete status in Russians. **European Journal of Applied Physiology**, v. 103, p. 631-4, 2008.

EDWARDS, A. M.; CLARK, N.; MACFADYEN, A. M. Lactate and ventilatory thresholds reflect the training status of professional soccer players where maximum aerobic power is unchanged. **Journal of Sports Science and Medicine**, v. 2, p. 23-9, 2003.

EYNON, N. et al. *ACTN3* R577X Polymorphism and Israeli Top-level Athletes. **International Journal of Sports Medicine**, v. 30, n. 695-8, 2009.

EYNON, N. et al. Genes and elite athletes: a roadmap for future research. **Journal of Physiology**, 2011.

EYNON, N. et al. The *ACTN3* R577X polymorphism across three groups of elite male European athletes. **PLoS ONE**, v. 7, n.8, 2012.

FARRELL, P. A. et al. Plasma lactate accumulation and distance running performance. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 11, n. 4, p. 338-44, 1979.

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

FEDOTOVSKAIA, O. N. et al. Association of the muscle-specific creatine kinase (CKMM) gene polymorphism with physical performance of athletes. **Fiziol Cheloveka**, v. 38, n. 1, p. 105-9, 2012.

FREY, N. et al. Calsarcins, a novel family of sarcomeric calcineurin-binding proteins. **Proc Natl Acad Sci**, v. 97, n. 26, p. 14632–7, 2000.

GARCIA-PALLARES, J. et al. Endurance and neuromuscular changes in world-class level kayakers during a periodized training cycle. **European Journal of Applied Physiology**, v. 106, p. 629–38, 2009.

GARLAND, T. Jr., BENNET A. F., DANIELS C. B. Heritability of locomotor performance and its correlates in a natural population. **Experientia**, v. 46, p. 530-3, 1990.

GASTIN, P. B. Energy system interaction and relative contribution during maximal exercise. **Sports Medicine**, v. 31, n. 10, p. 725-41, 2001.

GOLLNICK, P. D., PIEHL, K., SALTIN, B. Selective glycogen depletion pattern in human muscle fibres after exercise of varying intensity and at varying pedaling rates. **Journal of Physiology**, v. 241, p. 45-57, 1974.

GOMEZ-GALLEGO, F. et al. Endurance performance: genes or gene combinations? **International Journal of Sports Medicine**, v. 30, p. 66–72, 2008.

HAKKINEN, K. Changes in physical fitness profile in female basketball players during the competitive season including explosive type strength training. **Journal of Sports Medicine and Physical Fitness**, v. 33, n. 1, p. 19-26, 1993.

HAMEL, P. et al. Heredity and muscle adaptation to endurance training. **Med Sci Sports Exerc**, v. 18, n. 6, p. 690-6, 1986.

HE, Z. et al. Is there an association between PPARGC1A genotypes and endurance capacity in Chinese men? **Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports**, v. 18, p. 195–204, 2008.

HECK, H. et al. Justification of the 4-mmol/l lactate threshold. **Int J Sports Med**, v. 6, n. 3, p. 117-30, 1985.

HILL, A. V.; LUPTON, H. Muscular exercise, lactic acid and the supply and utilization of oxygen. **Quarterly Journal of Medicine**, v. 16, p. 135-71, 1923.

HOWLEY, E. T.; BASSETT, D. R. JR.; WELCH, H. G. Criteria for maximal oxygen uptake: review and commentary. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 27, n. 9, p. 1292–301, 1995.

HULTMAN, E. Fuel selection, muscle fibre. **Proceedings of Nutrition Society**, v. 54, p. 107-21, 1995.

JAKOVLJEVIC, D. G. et al. Relationship between peak cardiac pumping capability and indices of cardiorespiratory fitness in healthy individuals. **Clinical Physiology and Functional Imaging**, v. 32, p. 388–93, 2012.

JOHNSON, N. A. et al. Muscle triglyceride and glycogen in endurance exercise: implications for performance. **Sports Medicine**, v. 34, n. 3, p. 151-64, 2004.

KALAPOTHARAKOS, V. I. et al. Seasonal aerobic performance variations in elite soccer players. **Journal of Strength and Conditioning Research**, v. 25, n. 6, p. 1502-7, 2011.

KANEKO, M. Mechanics and energetic in running with special reference to efficiency. **Journal of Biomechanics**, v. 23, n. 1, p. 57-63, 1990.

LANDRY, F. et al. Cardiac dimension changes with endurance training. Indications of a genotype dependency. **JAMA**, v. 254, n. 1, p. 77-80, 1985.

LARSEN, H. B. Kenyan dominance in distance running. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A**, v. 136, p. 161-70, 2003.

LAURSEN, P. B. Training for intense exercise performance: high-intensity or high-volume training? **Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports**, v. 20, Suppl. 2, p. 1-10, 2010.

LEVINE, B. D. VO₂max: what do we know, and what do we still need to know? **Journal of Physiology**, v. 586, n. 1, p. 25–34, 2008.

LIMA, R. M. et al. ACE and ACTN3 genotypes in older women: muscular phenotypes. **Int J Sports Med**, n. 32, p. 66-72, 2011.

LIMA-SILVA, A. E. et al. Effect of performance level on pacing strategy during a 10-km running race. **European Journal of Applied Physiology**, v. 108, n. 5, p. 1045-53, 2010.

LORTIE, G. et al. Responses of maximal aerobic power and capacity to aerobic training. **International Journal of Sports Medicine**, v. 5, n. 5, p. 232-6, 1984.

LUCIA, A.; HOYOS, J.; CHICHARRO, J. L. Physiology of professional road cycling. **Sports Medicine**, v. 31, p. 325-37, 2001.

LUCIA, A. et al. Physiological characteristics of the best Eritrean runners-exceptional running economy. **Applied Physiology, Nutrition and Metabolism**, v. 31, n. 5, p. 530-40, 2006.

MACARTHUR, D. G.; NORTH, K. N. Genes and human elite athletic performance. **Human Genetics**, v. 116, n. 5, p. 331-9, 2005.

MACARTHUR, D. G. et al. Loss of ACTN3 gene function alters mouse muscle metabolism and shows evidence of positive selection in humans. **Nature Genetics**, v. 39, p. 1261–5, 2007.

MACARTHUR, D. G. et al. An ACTN3 knockout mice provides mechanistic insights into the association between α -actinin-3 deficiency and human athletic performance. **Human Molecular Genetics**, v. 17, n. 8, 1076-86, 2008.

MCARDLE, W. D. **Fisiologia do exercício: energia, nutrição e desempenho humano**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

MCNICOL, A. J. et al. The effects of increased absolute training intensity on adaptations to endurance exercise training. **Journal of Science and Medicine in Sport**, v. 12, p. 485-9, 2009.

MESSONNIER, L. et al. Effects of training on lactate kinetics parameters and their influence on short high-intensity exercise performance. **International Journal of Sports Medicine**, v. 27, p. 60-6, 2006.

MEYER, T. et al. A conceptual framework for performance diagnosis and training prescription from submaximal gas exchange parameters--theory and application. **International Journal of Sports Medicine**, v. 26, Suppl. 1, p. 38-48, 2005.

MEYER, T. et al. Is lactic acidosis a cause of exercise induced hyperventilation at the respiratory compensation point? **British Journal of Sports Medicine**, v. 38, p. 622-5, 2004.

MIDGLEY, A. W. et al. Is there an optimal training intensity for enhancing the maximal oxygen uptake of distance runners? **Sports Medicine**, v. 36, n. 2, p. 117-32, 2006.

MILLS, M. et al. Differential expression of the actin-binding proteins, alpha-actinin-2 and -3, in different species: implications for the evolution of functional redundancy. **Human Molecular Genetics**, v. 10, n. 13, p. 1335-46, 2001.

MIYATAKE, N. et al. Evaluation of ventilator threshold and its relation to exercise habits among Japanese. **Environmental Health and Preventive Medicine**, v. 15, p. 374-80, 2010.

MONKOL LEK, et al. The evolution of skeletal muscle performance: gene duplication and divergence of human sarcomeric a-actinins. **Bio Essays**, v. 32, n. 17-25, 2009.

MONTGOMERY, H. et al. Angiotensin-converting-enzyme gene insertion/deletion polymorphism and response to physical training. **Lancet**, v. 353, p. 541-5, 1999.

MONTGOMERY, H. et al. Human gene for physical performance. **Nature**, v. 393, 1998.

MORAN, C. N. et al. Association analysis of the ACTN3 R577X polymorphism and complex quantitative body composition and performance phenotypes in adolescent Greeks. **European Journal of Human Genetics**, v. 15, p. 88-93, 2007.

MOXNES, J. F.; SANDBAKK, O. The kinetics of lactate production and removal during whole-body exercise. **Theor Biol Med Model**, v. 13, p. 9-17, 2012.

NIEMI, A. K.; MAJAMAA, K. Mitochondrial DNA and ACTN3 genotypes in Finnish elite endurance and sprint athletes. **European Journal of Human Genetics**, v. 13, p. 965–9, 2005.

NOAKES, T. D.; MARINO, F. E. Point: Counterpoint: Maximal oxygen uptake is/is not limited by a central nervous system governor. **Journal of Applied Physiology**, v. 106, p. 338–42, 2009.

NORMAN, B. et al. Strength, power, fiber types, and mRNA expression in trained men and women with different ACTN3 R577X genotypes. **Journal of Applied Physiology**, v. 106, p. 959–65, 2009.

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

ORMSBEE, M. J.; ARCIERO, P. J. Detraining increases body fat and weight and decreases VO₂peak and metabolic rate. **Journal of Strength and Conditioning Research**, v. 26, n. 8, p. 2087-95, 2012.

OZYENER, F. et al. Influence of exercise intensity on the on- and off- transient kinetics of pulmonary oxygen uptake in humans. **Journal of Physiology**, v. 533, n. 3, p. 891–902, 2001.

PAAVOLAINEN, L. et al. Explosive-strength training improves 5-km running time by improving running economy and muscle power. **Journal of Applied Physiology**, v. 86, n. 5, p. 1527-33, 1999.

PAPADIMITRIOU, I. D. et al. The ACTN3 gene in elite Greek track and field athletes. **Int J Sports Med**, v. 29, p. 352–355, 2008.

PEACOCK, O. et al. Dietary Nitrate Does Not Enhance Running Performance in Elite Cross-country Skiers. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, 2012. [Epub ahead of print]

PETTITT, R. W. et al. Gas Exchange Threshold and VO₂max Testing for Athletes: An Update. **Journal of Strength and Conditioning Research**, 2012. [Epub ahead of print]

PIMENTA, E. M. et al. The ACTN3 genotype in soccer players in response to acute eccentric training. **Eur J Appl Physiol**, v. 112, n. 4, p. 1495-503, 2012.

PRUD'HOMME, D. et al. Sensitivity of maximal aerobic power to training is genotype-dependent. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 16, n. 5, p. 489-93, 1984.

QUINLAN, K. G. R. et al. α -actinin-3 deficiency results in reduced glycogen phosphorylase activity and altered calcium handling in skeletal muscle. **Human Molecular Genetics**, v. 19, n. 7, p. 1335-46, 2010.

RAKUS, D. et al. Colocalization of muscle FBPase and muscle aldolase on both sides of the Z-line. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 311, n. 2, p. 294-9, 2003.

RANKINEN, T. et al. Advances in exercise, fitness, and performance genomics. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 42, n. 5, p. 835-46, 2010.

RANKINEN, T.; BOUCHARD, C. Gene-exercise interactions. **Prog Mol Biol Transl Sci**, v. 108, p. 447-60, 2012.

RUIZ, J. R. et al. Can we identify a power-oriented polygenic profile? **Journal of Applied Physiology**, v. 108, p. 561-566, 2010.

RUIZ, J. R. et al. Is there an optimum endurance polygenic profile? **Journal of Physiology**, v. 587, n. 7, p. 1527-34, 2009.

RUIZ, J. R. et al. ACTN3 genotype in Spanish elite swimmers: no "heterozygous advantage". **Scand J Med Sci Sports**, 2013 (online).

SALTIN, B. The interplay between peripheral and central factors in the adaptive response to exercise and training. **Annals of the NY Academy of Sciences**, v. 301, p. 224-31, 1977.

SANTOS, J. L. et al. Copy Number Polymorphism of the Salivary Amylase Gene: Implications in Human Nutrition Research. **Journal of Nutrigenetics and Nutrigenomics**, v. 5, n. 3, p.117-31, 2012.

SAUNDERS, P. U. et al. Factors affecting running economy in trained distance runners. **Sports Medicine**, v. 34, n. 7, p. 465-85, 2004.

SCOTT, R. A. et al. ACTN3 and ACE genotypes genotype in elite Jamaican and US sprinters. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 42, n. 1, p. 107-12, 2010.

SPIELMANN, N. et al. Genome-wide linkage scan for submaximal exercise heart rate in the HERITAGE family study. **American Journal of Physiology – Heart and Circulatory Physiology**, v. 293, n. 6, p. 3366-71, 2007.

SJOBLOM, B. et al. α -Actinin structure and regulation. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 65, n. 17, p. 2688-701, 2008.

SOUTHBY, J. et al. Polypyrimidine tract binding protein functions as a repressor to regulate alternative splicing of α -actinin mutually exclusive exons. **Molecular and Cellular Biology**, v. 19, n. 4, p. 2699–711, 1999.

SPURRS, R. W. et al. The effect of plyometric training on distance running performance. **European Journal of Applied Physiology**, v. 89, n. 1, p. 1-7, 2003.

SQUIRE, J. M. Architecture and function in the muscle sarcomere. **Curr Opin Struct Biol**, v. 7, n. 2, p. 247–57, 1997.

STOREN, O. et al. Maximal strength training improves running economy in distance runners. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 40, n. 6, p. 1087-1092, 2008.

SUMINAGA, R. et al. Nonsense mutation of the α -actinin-3 gene is not associated with dystrophinopathy. **American Journal of Medical Genetics**, v. 92, p.77–8, 2000.

TABATA, I. et al. Effects of moderate-intensity endurance and high-intensity intermittent training on anaerobic capacity and VO₂max. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 28, n. 10, p. 1327-30, 1996.

TADAISHI, M. et al. Skeletal muscle-specific expression of PGC-1 α -b, an exercise-responsive isoform, increases exercise capacity and peak oxygen uptake. **PLoS ONE**, v. 6, n. 12, 2011.

TIMMONS, J. A. et al. Using molecular classification to predict gains in maximal aerobic capacity following endurance exercise training in humans. **Journal of Applied Physiology**, v. 108, p. 1487–96, 2010.

VAN DAM, S. Gene Friends: an online co-expression analysis tool to identify novel gene targets for aging and complex diseases. **BMC Genomics**, V. 6, n. 13, p. 535, 2012.

VENCKUNAS, T. et al. Human alpha-actinin-3 genotype association with exercise-induced muscle damage and the repeated-bout effect. **Applied Physiology, Nutrition and Metabolism**, 2012. [Epub ahead of print]

VENTER, C. J. et al. The sequence of the human genome. **Science**, v. 291, p. 1304, 2001.

VINCENT, B. et al. ACTN3 (R577X) genotype is associated with fiber type distribution. **Physiology Genomics**, v. 32, p. 58–63, 2007.

VINCENT, B. et al. Alpha-actinin-3 deficiency does not significantly alter oxidative enzyme activity in fast human muscle fibers. **Acta Physiologica**, v. 204, n. 4, p. 555-61, 2012.

VIREL, A.; BACKMAN, L. Molecular evolution and structure of alpha-actinin. **Molecular and Biological Evolution**, v. 21, n. 6, p. 1024–31, 2004.

WASSERMAN, K. et al. Effect of carotid body resection on ventilatory and acid-base control during exercise. **Journal of Applied Physiology**, v. 39, p. 354-8, 1975.

WESTON A. R. et al. African runners exhibit greater fatigue resistance, lower lactate accumulation, and higher oxidative enzyme activity. **Journal of Applied Physiology**, v. 86, n. 3, p. 915-923, 1999.

WILLIAMS, A. G.; FOLLAND, J. P. Similarity of polygenic profiles limits the potential for elite human physical performance. **Journal of Physiology**, v. 586, n. 1, p. 113-21, 2008.

WOLFE, L. A. et al. Relationship between maximal oxygen uptake and left ventricular function in exercise. **Journal of Applied Physiology**, 44(1):44-9, 1978.

XIN, Y. N. et al. Molecular dynamics simulation of PNPLA3 I148M polymorphism reveals reduced substrate access to the catalytic cavity. **Proteins**, 2012. [Epub ahead of print].

YAMAMOTO, L. M. et al. The effects of resistance training on endurance distance running performance among highly trained runners: a systematic review. **Journal of Strength and Conditioning Research**. v. 22, n. 6, p. 2036–2044, 2008.

YANG N. et al. ACTN3 genotype is associated with human elite athletic performance. **American Journal of Human Genetics**, v. 73, n. 3, p. 627-631, 2003.

YOSHIDA, T. et al. Blood lactate parameters related to aerobic capacity and endurance performance. **European Journal of Applied Physiology and Occupation Physiology**, V. 56, P. 7-11, 1987.