



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA CELULAR E DO
DESENVOLVIMENTO

Kathleen Yasmin de Almeida

**FREQUÊNCIAS ALÉLICAS E GENOTÍPICAS DOS POLIMORFISMOS *ACTN3*
R577X E *ACE1/D* ASSOCIADAS À POTÊNCIA E LESÃO MUSCULAR EM
ATLETAS DE FUTEBOL PROFISSIONAL DO BRASIL**

Florianópolis

2021

Kathleen Yasmin de Almeida

**FREQUÊNCIAS ALÉLICAS E GENOTÍPICAS DOS POLIMORFISMOS *ACTN3*
R577X E *ACE I/D* ASSOCIADAS À POTÊNCIA E LESÃO MUSCULAR EM
ATLETAS DE FUTEBOL PROFISSIONAL DO BRASIL**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e do Desenvolvimento da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do título de mestre em Biologia Celular e do Desenvolvimento.

Orientador: Prof.^a Dr.^a Andrea Rita Marrero

Florianópolis, SC

2021

Ficha de identificação da obra

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

de Almeida, Kathleen Yasmin
Frequências Alélicas e Genotípicas dos Polimorfismos
ACTN3 R577X e ACE I/D associadas à Potência e Lesão
Muscular em Atletas de Futebol Profissional do Brasil /
Kathleen Yasmin de Almeida ; orientadora, Andrea Rita
Marrero , 2021.
92 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós
Graduação em Biologia Celular e do Desenvolvimento,
Florianópolis, 2021.

Inclui referências.

1. Biologia Celular e do Desenvolvimento. 2. Genética.
3. Esporte. 4. Performance . 5. Futebol. I. , Andrea Rita
Marrero. II. Universidade Federal de Santa Catarina.
Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e do
Desenvolvimento. III. Título.

Kathleen Yasmin de Almeida

Frequências Alélicas e Genóticas dos Polimorfismos *ACTN3 R577X* e *ACE I/D* associadas à Potência e Lesão Muscular em Atletas de Futebol Profissional do Brasil

O presente trabalho em nível de mestrado foi avaliado e aprovado por banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Aderbal Silva Aguiar Jr., Dr.
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof.^a Yara Costa Netto Muniz, Dr.^a
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Glauber Wagner, Dr.
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof.^a Norma Machado da Silva, Dr.^a
Universidade Federal de Santa Catarina

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de mestre em Biologia Celular e do Desenvolvimento.

Coordenação do Programa de Pós-Graduação

Prof.^a Dr.^a Andrea Rita Marrero
Orientadora

Florianópolis, 2021

Mãe e irmã, sempre vocês.

AGRADECIMENTOS

Durante esse caminho fiquei com muito e tantos para agradecer, mas começo pelo lugar que foi minha segunda casa por incríveis, árduos e inesquecíveis 7 anos. À Universidade Federal de Santa Catarina, minha gratidão por todo esse tempo, por tudo que aprendi e quem me formei. Por estar aqui e por todos os lugares que um dia alcançarei, agradeço, pois foi porque um dia me formei bióloga e mestre na UFSC. Foi graças à universidade federal, pública e gratuita.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001. Agradeço pelo apoio e pelas prorrogações excepcionais de prazo por conta da pandemia da COVID-19. Agradeço também aos membros dessa banca por todas as contribuições para a melhoria desse trabalho.

Agradeço ao EPIGEN-Brasil, em especial ao Prof. Dr. Eduardo Tarazona-Santos da Universidade Federal de Minas Gerais, Carolina Silva de Carvalho e Fernanda Kehdy, pela atenção e gentileza em fornecer os dados da população controle.

Agradeço aos Clubes de futebol com os quais tive o prazer de trabalhar, pelas amostras cedidas e por todo o suporte na coleta de dados: Avaí Futebol Clube, Esporte Clube Juventude, Figueirense Futebol Clube, e Paraná Clube. Agradeço aos atletas participantes da pesquisa, e toda a gentileza com que sempre fui recebida por todos, de atletas a comissões técnicas. Ao preparador físico Marcos Galgaro, fisiologista Almir Schmitt, e em especial para o fisiologista Pedro Augusto Mohr, pelo apoio e parceria.

Ao fisiologista Tiago Cetolin, obrigada por esses longos anos de parceria dentro da pesquisa genética no esporte. Você é grande responsável por eu ter entrado nessa aventura, pela possibilidade de eu estar pesquisando nessa área que acho tão incrível (e que sempre vai ser um exemplo, pra mim, do quanto a vida pode ser imprevisível, já que nunca antes imaginei pesquisar nesse meio). Quero te agradecer pelo apoio, pelas discussões, pelos aprendizados, pelas oportunidades, pelas conversas, por tudo! E já agradeço de antemão por tudo que ainda está por vir! Obrigada!

Ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e do Desenvolvimento, o lugar em que orgulhosamente me torno mestre. O PPGBCD foi um lugar onde me senti acolhida e verdadeiramente “vesti a camisa” do programa. Como Representante Discente, tenho certeza que aprendi muito mais do que o que se prevê no currículo, seja nas intermináveis (e, sem

dúvidas, construtivas) reuniões de colegiado, ao ser uma ponte entre meus colegas discentes e a Coordenação, ao participar como presidente do Karyokinesis 2020 ou ao aprender qual seria o meu papel como representante em meio a uma pandemia. Eu cresci, e muito, e o PPGBCD vai ser sempre parte da minha história. Às coordenadoras Profa. Dra. Evelise Maria Nazari e Profa. Dra. Yara Costa Netto Muniz, esse meu agradecimento se estende a vocês, obrigada pelos aprendizados e continuem guiando, tão firmemente, o PPGBCD #rumoao5.

Minha orientadora, Andrea Marrero. O que te dizer, agora que chegamos ao fim dessa jornada? Você sabe o quanto sou grata por ter me recebido, anos atrás, como sua (des)orientanda (hahaha). Por tudo que aprendi em todos esses anos, pelo incentivo, pelas conversas, pela preocupação e pelos ensinamentos, obrigada por me orientar nessa jornada e ainda quero te dar muito orgulho! Esse ciclo se encerra agora, mas não tenho dúvidas que sempre estaremos ligadas. Obrigada por também ser uma amiga, ~~prof~~ Andrea.

Sou também muito grata a todos os professores que passaram pela minha formação dentro do PPGBCD, foi um prazer e uma honra ter professores e pesquisadores tão inspiradores durante a minha caminhada.

Dentre esses professores, eu gostaria de especialmente agradecer à professora Yara Muniz, que já me recebeu inúmeras vezes em sua sala e mais infinitas vezes por mensagem. Me auxiliou quando eu tive dúvidas e problemas na bancada, me orientou de diversas formas e me ouviu com anseios da vida.

Nesse sentido, também faço um agradecimento especial à professora Norma Machado, que não só acompanhou meu trabalho desde que era um projeto de TCC no curso de Ciências Biológicas (passando pela defesa de TCC, qualificação de mestrado e agora, finalmente, a defesa de mestrado), como também me auxiliou quando tive dúvidas pontuais de análises de dados. Professor Marcelo Farina, que nem chegou a ser formalmente meu professor em nenhum momento da minha formação, mas que tão gentilmente se reuniu comigo para ensinar a como analisar meus dados... deixo aqui minha gigantesca gratidão.

Discentes do PPGBCD e, em especial, aos colegas de Representação Discente com quem tive o prazer de trabalhar: Carla, Giulia, Janaína, João, Julia, Luan e Thiago, obrigada pelo prazer de dividir essa experiência com vocês, obrigada pelo trabalho em equipe em um período tão adverso, triste e louco como o que vivemos!

Aos colegas de laboratório: o LAPOGE ficou gigante e eu corro o perigo de não citar todos os nomes, mas vocês sabem, cada um que já me fez companhia nos longos dias de bancada: obrigada pelas risadas, pelas ajudas, pelas playlists para animar, pelos momentos de

chororô da vida acadêmica... por dividirem comigo essa experiência de nos tornarmos cientistas. Deixo aqui também o meu agradecimento ao “meu IC”, Guilherme Christakis Rodrigues, pelo auxílio na bancada. Espero que eu tenha, de alguma forma, te passado um pouco do que sei e que você encontre o que realmente ama fazer.

João Victor, meu companheiro de longa data. É claro que eu não deixaria de agradecer a um dos meus maiores apoiadores desde dos meus 15 anos. Obrigada por me dar força, ânimo, apoio, por me ouvir quanto precisei, me dar os necessários “chacoalhões” da vida... obrigada por tudo. E você sabe que sou sua maior torcedora, vai ser sempre assim. Amo-te.

Aos meus amigos Bruno, Duda, Math, que fizeram tanta falta nesse momento de abraços impedidos. Obrigada por estarem do outro lado da tela. Não ter vocês nos meus dias, me mostrou ainda mais o quanto são importantes pra mim. Obrigada pra minha amiga Karina, que me ouviu, me aconselhou, que esteve aqui (como sempre) mesmo a um mundo de distância, me deu a mão em um momento tão difícil e um abraço que pude sentir mesmo através da tela.

Minha mãe e irmã, as pessoas que mais amo nesse mundo e são minha força pra continuar. Obrigada por me apoiarem nos meus sonhos e por também manterem meus pés no chão. Obrigada por me darem colo, por me ouvirem, por me aguentarem, por me cuidarem. Mãe, eu cheguei aqui, e foi graças a você.

Agradeço a Deus, por ter me mantido, me cuidado, por não me deixar nunca só.

A quem me deu motivos pra sorrir durante esse caos.

“JACK: Sim, mas você mesmo disse que um forte resfriado não era hereditariedade.

ALGERNON: Não era, mas ousou dizer que agora é. A ciência está sempre fazendo melhoramentos espantosos nas coisas.”

Oscar Wilde, em *A importância de ser prudente*.

“No fim das contas, os seres humanos não passam de portadores – vias – para os genes. Eles avançam montados em nós até nos exaurir, como seus cavalos de corrida, de geração a geração. Os genes não pensam no que constitui o bem e o mal. Não se importam se estamos felizes ou infelizes. Para eles, somos apenas meios para um fim. A única coisa em que pensam é no que é mais eficiente para eles.”

Haruki Murakami, em *1Q84*.

RESUMO

Os polimorfismos *ACTN3 R577X* (rs1815739) e *ACE I/D* (rs4646994) têm sido relacionados com a performance esportiva em diversas modalidades, onde os alelos R e D (de *ACTN3* e *ACE*, respectivamente) parecem conferir características de força e potência muscular, enquanto os alelos X de *ACTN3* e I de *ACE* conferem características de resistência muscular. Estudos anteriores também sugerem a associação desses polimorfismos com o risco de lesão no esporte, e as diferenças de influência dos polimorfismos tanto em performance como no risco de lesão, indicam a necessidade de estudos específicos dentro de populações e modalidades esportivas. Portanto, o objetivo do estudo foi avaliar as frequências genótípicas e alélicas dos polimorfismos em atletas profissionais de futebol do Brasil, divididos em suas posições táticas e entre suas regiões geográficas brasileiras de origem, além de verificar a associação desses polimorfismos com um índice de potência muscular (*countermovement jumps* - CMJ) e um marcador bioquímico associado a lesão muscular, a creatinoquinase (CK). Foram amostrados 132 atletas profissionais pertencentes às séries A e B do Campeonato Brasileiro, sendo divididos entre atacantes (n = 30), zagueiros (n = 20), laterais (n = 19), meio-campistas (n = 46) e goleiros (n = 17 atleta). Através de coleta sanguínea, foi extraído DNA pelo método de *Salting out* e os polimorfismos genotipados por Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) para *ACE* e *ACTN3* e Polimorfismo de Comprimento de Fragmento de Restrição (RFLP) com enzima de restrição para *ACTN3*. Desses atletas, 48 foram avaliados pelo teste de CMJ e 68 tiveram medição de CK de 24 a 36h após o jogo. Além disso, dados de população controle foram obtidos através de parceria com o grupo EPIGEN-Brasil, com valores de Menor Frequência Alélica (em inglês, sigla MAF) e frequência de heterozigotos de 6487 indivíduos para o polimorfismo *ACTN3 R577X*, subdivididos nas regiões geográficas brasileiras: nordeste, sudeste e sul. Os dados obtidos foram analisados por ANOVA de duas vias e Teste Exato de Fisher. Os resultados mostraram que os heterozigotos apresentam maior frequência em ambos os polimorfismos, sendo 48% para ID de *ACE* e 45% para RX de *ACTN3*. Foi encontrada relação entre *ACTN3* e a performance em CMJ, dividindo-se entre as posições táticas (p = 0.02). Não houve diferença significativa entre as frequências alélicas dos atletas e da população Controle, divididos por regiões brasileiras (Nordeste p = 0.29; Sudeste p = 0.16; Sul p = 0.23), e também entre as frequências genótípicas dos polimorfismos dentro das posições táticas, com p = 0.70 para *ACTN3* e p = 0.35 para *ACE*. O restante dos resultados obtidos em relação aos índices de potência e de lesão muscular indicaram não haver influência significativa dos diferentes genótipos dos polimorfismos, com p>0.05. Os resultados apontaram para a associação dos polimorfismos com o caráter misto do futebol, onde tanto força como resistência muscular são necessários. Foi visto também que os níveis de CK dentro de cada posição tática parecem ser influenciados pelo genótipo de *ACTN3*, mostrando a associação do polimorfismo com dano muscular. Ainda que algumas associações não foram significativas, o estudo suporta a relação dos polimorfismos com o esporte na população brasileira, sendo o primeiro a estudar a combinação entre os polimorfismos e indicativos de força e lesão muscular em atletas de futebol do Brasil.

Palavras-chave: Alfa-actina. Enzima conversora de angiotensina. Creatinoquinase. CMJ.

ABSTRACT

The *ACTN3 R577X* (rs1815739) and *ACE ID* (rs4646994) polymorphisms have been related to sports performance in several modalities, where the R and D alleles (of *ACTN3* and *ACE*, respectively) seems to confer characteristics of muscle strength and power, while the X allele of *ACTN3* and I allele of *ACE* are related to muscular endurance. Previous studies also suggested the association of these polymorphisms with the risk of injury in sport, and the differences in the influence of the polymorphisms on both performance and risk of injury, indicate the need for specific studies within populations and sports modalities. Therefore, the aim of the study was to evaluate the genotypic and allelic frequencies of both polymorphisms in professional soccer athletes in Brazil, divided into their tactical positions and between their Brazilian geographic regions of origin, in addition to verifying the association of these polymorphisms with an index of muscle power (countermovement jumps - CMJ) and a biochemical marker associated with muscle injury, the creatine kinase (CK). 132 professional athletes belonging to first and second division of the Brazilian Championship were sampled, being divided between attackers (n = 30), defenders (n = 20), full-backs (n = 19), midfielders (n = 46) and goalkeepers (n = 17). Through blood collection, DNA was extracted by the Salting out method and the polymorphisms genotyped by Polymerase Chain Reaction (PCR) for *ACE* and *ACTN3* and Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) with restriction enzyme for *ACTN3*. Of these athletes, 48 were evaluated by the CMJ test and 68 had CK measurement from 24 to 36h after the game. In addition, control population data were obtained through a partnership with the EPIGEN-Brazil group, with Minor Frequency Allele (MAF) values and heterozygous frequency of 6487 individuals for the *ACTN3 R577X* polymorphism, subdivided into Brazilian geographic regions: northeast, southeast and south. The data obtained were analyzed by two-way ANOVA and Fisher's Exact Test. The results showed that heterozygotes were more frequent in both polymorphisms, being 48% for *ACE ID* and 45% for *ACTN3 RX*. A relationship was found between *ACTN3* and performance in CMJ, dividing between tactical positions ($p = 0.02$). There was no significant difference between the allelic frequencies of the athletes and the Control population, divided by Brazilian regions (Northeast $p = 0.29$; Southeast $p = 0.16$; South $p = 0.23$), and also between the genotypic frequencies of the polymorphisms within the tactical positions, with $p = 0.70$ for *ACTN3* and $p = 0.35$ for *ACE*. The others results obtained in relation to power and muscle injury indices indicated that there was no significant influence of the different genotypes of the polymorphisms, with $p > 0.05$. The results pointed to the association of polymorphisms with the mixed character of soccer, where both strength and muscular endurance are necessary. It was also seen that the CK levels within each tactical position seem to be influenced by the *ACTN3* genotype, showing the association of the polymorphism with muscle damage. Although some associations were not significant, the study supports the relationship of polymorphisms with sport in the Brazilian population, being the first to study the combination between polymorphisms and indicators of muscle strength and injury in Brazilian soccer athletes.

Keywords: Alpha-actin. Angiotensin-converting enzyme. Creatine kinase. CMJ.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Ancoragem dos filamentos de actina na linha Z pela α -actina-3 (em azul, indicado por círculo vermelho). Nas imagens são mostradas também outras proteínas da linha Z: ZASP e T-Cap. Além disso, percebe-se a disposição da actina e miosina na Banda A.....**24**

Figura 2: Liberada na corrente sanguínea pelo rim, a renina cliva o angiotensinogênio, produzido no fígado, e o converte em angiotensina I. A enzima conversora de angiotensina (*ACE*), presente principalmente nos pulmões e rins, converte a angiotensina I em angiotensina II. A angiotensina II estimula vários eventos, como vasoconstrição, aumento da atividade do sistema nervoso simpático e estimulação do córtex adrenal para secretar o hormônio aldosterona, que promove retenção renal de sal e água.....**27**

Figura 3: Esquema de restrição da enzima DdeI agindo no polimorfismo ACTN3 R577X.....**34**

Figura 4: Gel de agarose 3%, demonstrando as bandas possíveis para o polimorfismo ACTN3 R577X. Indivíduos com genótipo XX apresentam fragmentos na altura de 108, 97 e 86 pb (quinto e sexto poços, da esquerda para a direita); RR apresentam em 205 e 86 pb (segundo, terceiro, quarto e sétimo poços, da esquerda para direita) e genótipo RX apresentam fragmentos em 205, 108, 97 e 86 pb (oitavo poço, da esquerda para direita).....**34**

Figura 5: Gel de agarose 1%, demonstrando as bandas possíveis para *ACE I/D*. Indivíduos com genótipo ID apresentam fragmentos de 480pb e 190pb (segundo, sexto e oitavo poços, da esquerda para direita) enquanto indivíduos de genótipo II apresentam apenas fragmentos em 480pb (primeiro, quarto e nono poços, da esquerda para direita) e o genótipo DD apenas em 190pb (terceiro, quinto e sétimo poços, da esquerda para direita).....**36**

Figura 6: Gel de agarose, demonstrando a amplificação do teste de confirmação de inserção para o polimorfismo *ACE I/D*. Indivíduos que, de fato, tiveram uma amplificação da inserção suprimida na primeira PCR, dessa vez aparecem com uma banda em 408pb, enquanto aqueles que foram genotipados corretamente como DD não amplificam nenhuma banda, conforme mostra a figura. Na figura observa-se o genótipo ID no primeiro, segundo e sétimo poço e genótipo DD no terceiro, quarto, quinto e sexto poço.....**36**

- Figura 7: Esquema demonstrando como se dá a realização do salto no teste CMJ, com extensão dos membros e em cima de uma plataforma de contato.....**38**
- Figura 8: Gráfico em barras comparando as frequências genóticas de ACTN3 R577X (eixo Y), em porcentagem, entre cada um dos grupos táticos: atacante, zagueiro, lateral, meio-campo e goleiro (eixo X). A barra em preto corresponde ao genótipo RR, em cinza escuro o genótipo RX e cinza claro XX.....**45**
- Figura 9: Gráfico em barras comparando as frequências genóticas de ACE I/D (eixo Y), em porcentagem, entre cada um dos grupos táticos: atacante, zagueiro, lateral, meio-campo e goleiro (eixo X). A barra em preto corresponde ao genótipo DD, em cinza escuro o genótipo ID e cinza claro II.....**45**
- Figura 10: Gráfico em barras mostrando a frequência (eixo Y) de cada uma das possíveis combinações de genótipos para ACE I/D e ACTN3 R577X: RX+ID, RX+II, RX+DD, RR+ID, RR+DD, RR+II, XX+ID, XX+DD e XX+II (eixo X).....**46**
- Figura 11: Gráfico do tipo boxplot mostrando a média dos valores de altura do salto (em centímetros) no teste de CMJ para cada um dos genótipos de ACTN3 R577X. Além das médias, os valores máximos, terceiro quartil, primeiro quartil e o valor mínimo para cada um dos grupos, além de um outlier em XX, podem ser visualizados.....**53**
- Figura 12: Gráfico do tipo boxplot mostrando a média dos valores de altura do salto (em centímetros) no teste de CMJ para cada um dos genótipos de ACE I/D. Além das médias, os valores máximos, terceiro quartil, primeiro quartil e o valor mínimo para cada um dos grupos.....**54**
- Figura 13: Gráfico em barras mostrando a média de altura do salto (em centímetros) e desvio padrão, para cada uma das posições táticas divididas: Atacante, Goleiro, Lateral, Meio-Campo e Zagueiro.....**55**
- Figura 14: Gráfico de barras mostrando a frequência genotípica (em porcentagem - eixo y) de cada um dos genótipos de ACTN3 R577X (nas barras - RR em preto, RX em cinza escuro e

XX em cinza claro) para cada quartil de desempenho no CMJ. No eixo X temos 4Q que corresponde ao quarto quartil (onde estão os maiores valores), seguido de 3Q que corresponde ao terceiro quartil, 2Q que corresponde ao segundo quartil e 1Q que corresponde ao primeiro quartil (com os menores valores obtidos no teste).....**56**

Figura 15: Gráfico de barras mostrando a frequência genotípica (em porcentagem - eixo y) de cada um dos genótipos de ACE I/D (nas barras - DD em preto, ID em cinza escuro e II em cinza claro) para cada quartil de desempenho no CMJ. No eixo X temos 4Q que corresponde ao quarto quartil (onde estão os maiores valores), seguido de 3Q que corresponde ao terceiro quartil, 2Q que corresponde ao segundo quartil e 1Q que corresponde ao primeiro quartil (com os menores valores obtidos no teste).....**57**

Figura 16: Gráfico em barras mostrando a frequência (em porcentagem – eixo y) de cada uma das posições divididas (atacante, goleiro, lateral, meio-campo e zagueiro – eixo x) entre os quartis de desempenho de CMJ (barras - 4Q que corresponde ao quarto quartil [onde estão os maiores valores], seguido de 3Q que corresponde ao terceiro quartil, 2Q que corresponde ao segundo quartil e 1Q que corresponde ao primeiro quartil [com os menores valores obtidos no teste]).....**58**

Figura 17: Gráfico do tipo boxplot mostrando a média dos valores de concentração de CK sanguínea (em U/L – eixo Y) para cada um dos genótipos de ACTN3 R577X (eixo X). Além das médias, os valores máximos, terceiro quartil, primeiro quartil e o valor mínimo para cada um dos grupos podem ser visualizados.....**63**

Figura 18: Gráfico do tipo boxplot mostrando a média dos valores de concentração de CK sanguínea (em U/L – eixo Y) para cada um dos genótipos de ACE I/D (eixo X). Além das médias, os valores máximos, terceiro quartil, primeiro quartil e o valor mínimo para cada um dos grupos.....**63**

Figura 19: Gráfico em barras mostrando a média de concentração de CK (em /L – eixo Y) e desvio padrão, para cada uma das posições táticas divididas: Atacante, Goleiro, Lateral, Meio-Campo e Zagueiro (eixo X).....**65**

Figura 20: Gráfico de barras mostrando a frequência genotípica (em porcentagem - eixo y) de cada um dos genótipos de ACTN3 R577X (nas barras - RR em preto, RX em cinza escuro e XX em cinza claro) para cada quartil de concentração de CK sanguínea pós-jogo. No eixo X temos 4Q que corresponde ao quarto quartil (onde estão os maiores valores), seguido de 3Q que corresponde ao terceiro quartil, 2Q que corresponde ao segundo quartil e 1Q que corresponde ao primeiro quartil (com os menores valores de concentração apresentados).....**65**

Figura 21: Gráfico de barras mostrando a frequência genotípica (em porcentagem - eixo y) de cada um dos genótipos de ACE I/D (nas barras - DD em preto, ID em cinza escuro e II em cinza claro) para cada quartil de concentração de CK sanguínea pós-jogo. No eixo X temos 4Q que corresponde ao quarto quartil (onde estão os maiores valores), seguido de 3Q que corresponde ao terceiro quartil, 2Q que corresponde ao segundo quartil e 1Q que corresponde ao primeiro quartil (com os menores valores de concentração apresentados).....**66**

Figura 22: Gráfico em barras mostrando a frequência (em porcentagem – eixo y) de cada uma das posições divididas (atacante, goleiro, lateral, meio-campo e zagueiro – eixo X) entre os quartis de concentração de CK (barras - 4Q que corresponde ao quarto quartil [onde estão os maiores valores], seguido de 3Q que corresponde ao terceiro quartil, 2Q que corresponde ao segundo quartil e 1Q que corresponde ao primeiro quartil [com os menores valores de concentração obtidos]).....**68**

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Sequência de iniciadores utilizados na reação de PCR para o polimorfismo ACTN3 R577X.....	33
Quadro 2: Sequência de iniciadores utilizados na reação de PCR para o polimorfismo ACE I/D.....	35
Quadro 3: Sequência de iniciadores utilizados na reação de PCR para confirmação de inserção para o polimorfismo ACE I/D.....	36

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1: Médias \pm desvio padrão de idade, massa corporal (em quilogramas - Kg) e altura (em centímetros - cm) para os atletas em geral e para cada posição.....**40**
- Tabela 2: Frequências genotípicas e alélicas para os polimorfismos ACE I/D e ACTN3 R577X em atletas de futebol e valor de p. **41**
- Tabela 3: Frequências genotípicas para os polimorfismos ACE I/D e ACTN3 R577X em atletas de futebol. Sendo ND o grupo de atletas do Nordeste, SD o grupo de atletas do Sudeste e S o grupo de atletas do Sul.....**42**
- Tabela 4: Frequências alélica e de heterozigotos para o polimorfismo ACTN3 R577X em atletas de futebol e indivíduos controle. O valor de p é comparativo entre as frequências alélicas dos grupos atletas e controle.....**43**
- Tabela 5: Frequências genotípicas de *ACTN3 R577X* e *ACE I/D* para cada posição tática: meio-campistas, atacantes, zagueiros, laterais e goleiros.....**44**

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- ACE – Enzima Conversora de Angiotensina (em inglês, *Angiotensin-converting Enzyme*)
- CBF – Confederação Brasileira de Futebol
- CCB – Centro de Ciências Biológicas
- CK – Creatinoquinase (em inglês, *Creatine Kinase*)
- CMJ – Salto de contramovimento (em inglês, *Countermovement Jump*)
- DAM – Desvio Absoluto Médio
- DNA – Ácido Desoxirribonucleico (em inglês, *Deoxyribonucleic Acid*)
- dNTP – Desoxirribonucleotídeos Tri-fosfatados (em inglês, *Deoxyribonucleotide Triphosphate*)
- DP – Desvio padrão
- EDTA – Ácido Etilenodiamino tetra-acético (em inglês, *Ethylenediamine Tetraacetic Acid*)
- FIFA – Federação Internacional de Futebol (*Fédération Internationale de Football Association*)
- GL – Graus de liberdade
- MAF – Frequência do Menor Alelo (em inglês, *Minor Allele Frequency*)
- Pb – Pares de base
- PBS – Tampão fosfato-salino (em inglês, *Phosphate Buffered Saline*)
- PCR – Reação em Cadeia da Polimerase (em inglês, *Polymerase Chain Reaction*)
- PIB – Produto Interno Bruto
- RFLP – Polimorfismo de Comprimento de Fragmento de Restrição (em inglês, *Restriction Fragment Length Polymorphism*)
- Rpm – Rotações por minuto
- SDS – Dodecil sulfato de sódio (em inglês, *Sodium Dodecyl Sulfate*)
- SNP – Polimorfismo de Nucleotídeo Único (em inglês, *Single Nucleotide Polymorphism*)
- TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
- Tris – Trisaminometano
- UFSC – Universidade Federal de Santa Catarina
- VO₂ max – Volume de Oxigênio máximo

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	20
1.1	Sobre o futebol.....	20
1.2	Genética no esporte.....	21
1.2.1	Genética e esportes de equipe – Futebol	22
1.3	Marcadores associados com performance	23
1.3.1	<i>ACTN3 R577X</i>	23
1.3.2	<i>ACE I/D</i>.....	26
1.3.3	Associação com lesão muscular	28
1.3.4	Genética e diferenças populacionais	29
2	OBJETIVOS	30
2.1	Objetivo geral	30
2.2	Objetivos específicos	30
3	Material e Métodos	31
3.1	Amostragem de atletas.....	31
3.1.1	Critérios de inclusão e exclusão	31
3.1.2	Critérios Éticos.....	31
3.1.3	Coletas sanguíneas	32
3.2	Extração do DNA	32
3.3	Genotipagem.....	33
3.3.1	<i>ACTN3 R577X</i>	33
3.3.2	<i>ACE I/D</i>.....	35
3.4	Dados de Potência Muscular – CMJ.....	37
3.5	Dados de Creatinoquinase – CK.....	38
3.6	Grupo Controle	39
3.7	Análise Estatística.....	39

4	Resultados e Discussão	39
4.1	Estudo 1: das frequências genóticas e alélicas de <i>ACTN3 R577X</i> e <i>ACE I/D</i>	40
4.1.1	Resultados do Estudo 1	40
4.1.2	Discussão do Estudo 1	46
4.2	Estudo 2: das relações dos polimorfismos <i>ACTN3 R577X</i> e <i>ACE I/D</i> com potência muscular 53	
4.2.1	Resultados do Estudo 2	53
4.2.2	Discussão do Estudo 2	59
4.3	Estudo 3: das relações dos polimorfismos <i>ACTN3 R577X</i> e <i>ACE I/D</i> com marcador de lesão muscular.....	62
4.3.1	Resultados do Estudo 3	62
4.3.2	Discussão do Estudo 3	68
5	Conclusão.....	71
	REFERÊNCIAS.....	73

1 INTRODUÇÃO

O futebol é o esporte mais popular do mundo, sendo jogado por homens e mulheres de todas as idades (STØLEN *et al.*, 2005). Com grande público, o esporte conquista novos fãs a cada ano, exemplificado pela Copa do Mundo de 1998 que atraiu uma incrível audiência de quase 40 bilhões de espectadores na televisão (REILLY, BANGSBO, FRANKS, 2000), um número que foi superado substancialmente a cada novo evento que, em sua última edição, chegou a 3.572 bilhões de espectadores, o que corresponde à metade da população mundial assistindo a um evento esportivo (FIFA, 2018).

Segundo o projeto “Big Count FIFA”, levantamento realizado pela Federação Internacional de Futebol (FIFA), foram contabilizados 265 milhões de jogadores de futebol em todo o mundo no ano de 2007. Nesse levantamento, o Brasil apareceu como a quinta Confederação com maior número de jogadores, com mais de 13 mil atletas. Dados mais atualizados da Confederação Brasileira de Futebol indicam mais de 22 mil jogadores profissionais em atividade em 2018 (CBF, 2019a).

Um relatório encomendado pelo mesmo órgão fez um estudo detalhado sobre a cadeia produtiva do futebol na economia nacional, identificando sua interação entre diversos pilares da indústria e economia, e concluiu que o futebol representa, direta ou indiretamente, 0.72% do Produto Interno Bruto (PIB) nacional, um valor total de R\$ 52.9 bilhões em 2018 (CBF, 2019b).

Sendo assim, além do aspecto cultural evidenciado no Brasil – sendo inclusive representação da identidade brasileira - o futebol se mostra também relevante como negócio, fazendo parte de um importante setor produtivo da economia brasileira, o que evidencia a relevância do esporte e, por consequência, o estudo do seu aperfeiçoamento competitivo. Futebol, assim como outros esportes, não é uma ciência, mas a ciência pode ajudar no melhoramento do esporte (STØLEN *et al.*, 2005).

1.1 SOBRE O FUTEBOL

A pesquisa em futebol tem apontado que qualidades físicas como capacidades aeróbica e anaeróbica, força muscular, entre outros, são fatores determinantes para o rendimento do esporte (EKBLON, 1986; RAMPININI *et al.*, 2007).

No futebol encontram-se diferentes necessidades fisiológicas e cinesiológicas que dependem das posições táticas (STØLEN *et al.*, 2005). Atletas de meio-campo, por exemplo,

precisam percorrer uma maior distância total durante o jogo do que posições como a de atacante, que se destacam pela velocidade e potência muscular (DELLAL *et al.*, 2011). Outras características, como potência aeróbica ($\dot{V}O_2$ máx. – volume máximo de oxigênio), também se mostram diferentes e possivelmente determinantes para uma boa performance nas respectivas posições táticas do esporte (DELLAL *et al.*, 2011).

Em uma partida usual de 90 minutos, a média de distância percorrida por um jogador está entre 8000 e 12000 metros (SANTIAGO *et al.*, 2008), sendo que o movimento se distribui em: 17% do tempo parado, 40% andando, 35% do tempo total com o atleta em corrida de baixa intensidade e as corridas de alta intensidade correspondem a 8% do tempo total (neste, inclui-se corrida em velocidade moderada, alta velocidade e arrancada – conhecida como o nome em inglês *sprint*) (COELHO, 2011). Uma boa performance em jogo é frequentemente determinada pelo desempenho nessa última categoria (REILLY, BANGSBO, FRANKS, 2000), podendo ser decisiva para o resultado, uma vez que a habilidade de realizar contrações musculares mais rápidas pode ser um fator limitante de desempenho (SANTIAGO *et al.*, 2008).

A capacidade física de jogadores de primeira classe, chamados jogadores de elite, pode ser um indicativo das próprias demandas fisiológicas do esporte, geralmente quantificadas através das respostas fisiológicas dos atletas durante e após jogo. Observar um bom número de atletas em cada posição, em valores médios, pode fornecer informações importantes sobre os perfis e atividades das funções posicionais dentro de uma equipe (REILLY, BANGSBO, FRANKS, 2000).

1.2 GENÉTICA NO ESPORTE

Ainda que uma grande parcela do desempenho nos esportes seja atribuída à dieta e treinamento adequados, existe um debate de longa data sobre as contribuições da genética no desempenho esportivo (REILLY, BANGSBO, FRANKS, 2000). O argumento *nature X nurture* (do inglês, “natureza X criação”), se referindo aos fatores intrínsecos, inatos, *versus* os relacionados com o ambiente, é bastante discutido dentro da ciência do esporte.

A observação de que alguns indivíduos parecem possuir um “dom natural”, apresentando traços superiores ou melhores respostas a treinamento do que outros, tem movimentado as pesquisas que buscam entender de que forma ocorre essa variação interindividual para o desempenho físico (TUCKER & COLLINS, 2012; BOUCHARD, 2012).

O que se entende é que uma série de variáveis parecem contribuir nessas variações de desempenho e resposta ao exercício, sendo esse um fenômeno complexo resultado da interação de muitos fatores, tanto intrínsecos como extrínsecos (BARH & AHMETOV, 2019).

Os fenótipos complexos parecem ser, de fato, resultado da contribuição de ambos *nature* e *nurture*, onde genética e ambiente em conjunto produzem variações fenotípicas, traços biológicos que podem justificar o desempenho esportivo, representado por uma curva normal de distribuição, onde poucos indivíduos pertencem às extremidades (TUCKER & COLLINS, 2012; BARH & AHMETOV, 2019).

Dentro de *nurture* o desempenho físico é muitas vezes atribuído a questões como treinamento, nutrição, motivação, oportunidades de desenvolvimento e saúde em um geral. Para o fator *nature*, o que mais chama a atenção são as características inatas advindas do *background* genético (BARH & AHMETOV, 2019; GIBSON, 2016).

1.2.1 Genética e esportes de equipe – Futebol

Ainda que a performance atlética seja entendida como resultado da interação de diversos genes, muitos estudos na área têm focado em associar variações genéticas com características de desempenho primariamente divididas entre capacidades para força/potência muscular e capacidades para resistência muscular (BARH & AHMETOV, 2019).

No entanto, os esportes de equipe mais tradicionais (como voleibol, basquete, futebol e beisebol), exigem dos atletas habilidades motoras complexas, esforços máximos e submáximos como acelerações, mudanças no passo e direção, pulos, entre outros, com pouco tempo de recuperação dentro de um tempo de jogo bastante longo (entre 1-2h) (BISHOP & GIRARD, 2013). Mostrando que esportes de equipe, de forma geral, precisam de ambas características: tanto de qualidades anaeróbicas como aeróbicas.

Os estudos genéticos de esportes de equipe têm recebido pouca atenção e vêm sendo conduzidos, provavelmente pela falta de atletas de elite disponíveis para estudo, considerando os times como um todo e não analisando as particularidades individuais das funções de cada atleta (BARH & AHMETOV, 2019; EGOROVA *et al.*, 2014). Sendo assim, existe uma lacuna de estudos mais profundos nessa área, que devem considerar a característica heterogênea, as demandas particulares de cada esporte e as diferenças entre as posições táticas.

No futebol, a identificação de marcadores genéticos associados com performance tem sido feita principalmente para aqueles marcadores relacionados com composição corporal

(MASSIDA *et al.*, 2016), função cardíaca (FATINI *et al.*, 2000; SABER-AYAD, NASSAR, LATIF, 2014) e alguns focados na influência genética na probabilidade de se tornar uma atleta de elite e fatores-chave na performance do futebol (EGOROVA *et al.*, 2014; PIMENTA *et al.*, 2013). Mais recentemente, poucos estudos estão começando a relacionar a maior ou menor prevalência de dano musculoesquelético com o *background* genético do atleta (MASSIDDA *et al.*, 2015).

Para todos os casos, mais estudos são necessários uma vez que poucos exploraram o esporte do ponto de vista das diferenças entre as posições táticas e, para além disso, resultados conflitantes entre as pesquisas mostram a necessidade de aprofundamento na questão, além de que uma seleção de atletas mais rigorosa e questões como ancestralidade são fatores importantes de se levar em consideração (BARH & AHMETOV, 2019).

Apenas 10 marcadores genéticos associados com a performance em atletas de esportes de equipe foram identificados e validados (BARH & AHMETOV, 2019). E ainda que se entenda que a maior “probabilidade” de sucesso no esporte se deva a interação de um grande número de variantes “favoráveis”, dentro do futebol - seguindo a tendência de outros esportes, inclusive individuais – os estudos focam apenas em poucas variações genéticas, onde os polimorfismos mais estudados são o *ACTN3 R577X* e *ACE1/D* (EGOROVA *et al.*, 2014; BARH & AHMETOV, 2019).

1.3 MARCADORES ASSOCIADOS COM PERFORMANCE

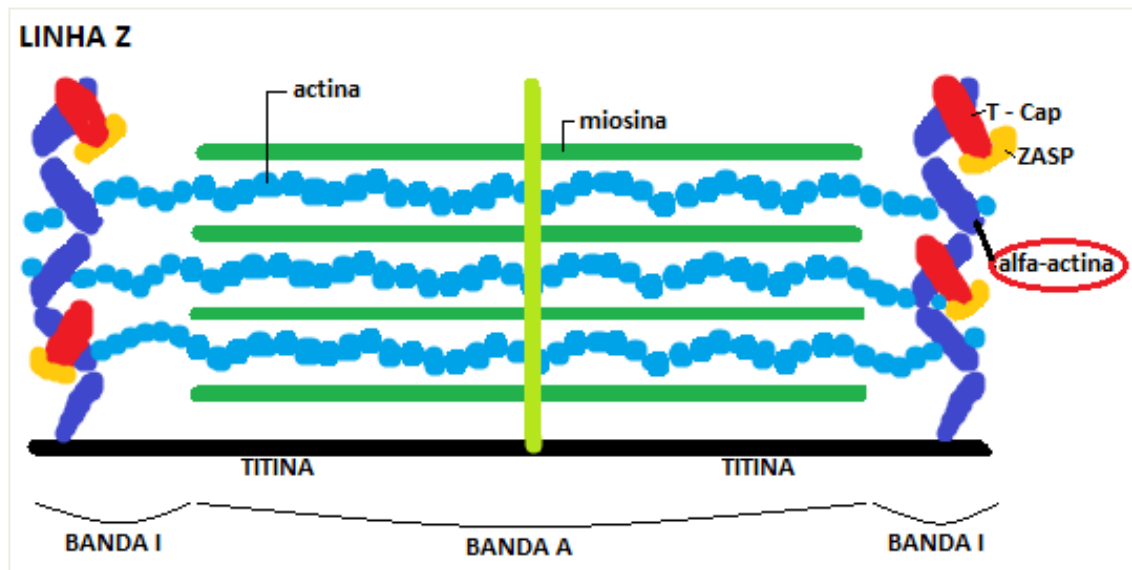
1.3.1 *ACTN3 R577X*

As α -actinas são uma família de proteínas responsáveis pela ancoragem dos filamentos de actina à linha Z do sarcômero (BARON *et al.*, 1987; BERMAN & NORTH, 2010). Quatro isoformas dessas proteínas são encontradas nos seres humanos, divididas em duas categoriais: formas não musculares (α -actina-1 e 4) e as formas miofibrilares (α -actina-2 e 3), variantes que tem se mostrado muito conservadas evolutivamente em hominídeos (BEGGS *et al.*, 1992; BURRIDGE & FERAMICO, 1981; PASQUA *et al.*, 2011), grupo onde a α -actina-3 se apresenta mais específica para fibras musculares de contração rápida (BURRIDGE & FERAMICO, 1981; NORTH *et al.*, 1999).

A contração muscular é produzida através do encurtamento do sarcômero, que ocorre pela interação dos filamentos de actina e miosina, onde os filamentos de actina (filamentos finos) deslizam sobre os filamentos de miosina (filamentos grossos). Esse movimento produz

também a aproximação das Bandas I das extremidades do sarcômero, sendo este local, na linha Z, onde a proteína α -actina-3 é uma das proteínas responsáveis pela ancoragem dos filamentos finos (BARON *et al.*, 1987), como pode ser observado na Figura 1.

Figura 1: Ancoragem dos filamentos de actina na linha Z pela α -actina-3 (em azul, indicado por círculo vermelho). Nas imagens são mostradas também outras proteínas da linha Z: ZASP e T-Cap. Além disso, percebe-se a disposição da actina e miosina na Banda A.



Fonte: ALMEIDA (2018).

O gene que codifica a proteína α -actina-3 é chamado *ACTN3* e possui um polimorfismo onde uma citosina é substituída por uma timina (na posição 1747 no éxon 16), resultando em um *stop códon* no lugar do aminoácido arginina (BERMAN & NORTH, 2010; NORTH *et al.*, 1999). Sendo assim, nesse polimorfismo chamado *ACTN3 R577X* (rs1815739), a expressão do alelo onde há essa troca produz uma forma truncada e não funcional de α -actina-3.

Aqueles que são homocigotos para o alelo X (genótipo XX¹) apresentam ausência total de funcionalidade da α -actina-3 enquanto indivíduos heterocigotos para o polimorfismo (genótipo RX) apresentam uma redução na quantidade de α -actina-3 funcional (PASQUA *et al.*, 2011).

De forma geral, é estimado que 20% da população mundial (aproximadamente 1.5 bilhões de pessoas) apresentam o genótipo XX de *ACTN3* (AMORIN *et al.*, 2015). Estudos em

¹ Notar que não há relação da nomenclatura do alelo com a nomenclatura citogenética de cromossomos sexuais humanos.

diversas populações indicam que a distribuição desse genótipo é de cerca de 25-30% na população Asiática, 18% na população Europeia e 2% na população Africana (NORTH, 2008; FRIEDLANDER *et al.*, 2013; KIKUCHI *et al.*, 2013).

No entanto, essas frequências mudam quando se trata de atletas, principalmente de elite. Análises genóticas de atletas de arrancada e de modalidades onde predominam a força e potência muscular indicam que a frequência do alelo R é maior nesses atletas do que na população controle (homens e mulheres da população em geral, sedentários). Por outro lado, a frequência do alelo X se encontra em baixa porcentagem nesses mesmos atletas (YANG *et al.*, 2003; Druzhevskaya *et al.*, 2008).

Com isso, a frequência maior do alelo R em atletas de arrancada, quando comparados a indivíduos controle, sugere que a presença da α -actina-3 faz com que se tenha uma maior geração de força e potência musculares (YANG *et al.*, 2003). Sendo assim, aqueles que apresentam os genótipos RR e RX para *ACTN3* (que possuem a proteína funcional) possuem características de força e velocidade (MACARTHUR *et al.*, 2008; MACARTHUR & NORTH, 2004), enquanto que os XX, que não possuem a proteína funcional, são pouco representados em esportes de força e potência, e parecem apresentar maior aptidão para modalidades onde é exigida resistência muscular (LEE *et al.*, 2016).

No futebol, o primeiro estudo a associar o polimorfismo *ACTN3 R577X* com a performance esportiva foi o de Santiago e colaboradores (2008), onde foram avaliados 60 atletas profissionais espanhóis (pertencentes a grandes clubes do país), que apresentaram uma frequência maior do genótipo RR em comparação com indivíduos controle e também em comparação com atletas de modalidades de resistência (SANTIAGO *et al.*, 2008).

Estudos subsequentes com um maior *n* amostral e atletas de diferentes nacionalidades como russos (EGOROVA *et al.*, 2014), italianos (MASSIDDA, SCORCU, CALÒ, 2014; MASSIDDA *et al.*, 2020), turcos (ULUCAN, SERCAN, BIYIKLI, 2015), japoneses (MASSIDDA *et al.*, 2020), entre outros, foram feitos no esforço de se entender o papel do polimorfismo na performance do futebol. No entanto, ainda que esses estudos sugiram uma importância do alelo R, que se encontra em grande frequência nos atletas, eles não apresentam concordância nas relações significativas ao comparar com população controle ou mesmo na influência dos genótipos nos fenótipos de interesse do esporte (BARH & AHMETOV, 2019).

1.3.2 ACE I/D

Dentre os polimorfismos associados a performance esportiva, o mais investigado ao longo dos anos foi um polimorfismo de inserção (I) ou deleção (D) do gene *ACE* (rs4646994), codificador da enzima conversora de angiotensina – ECA, em português, mas mais conhecida pela sua sigla em inglês: ACE (JUFFER *et al.*, 2009). O entendimento da atuação desse polimorfismo na performance esportiva pode ser explicado através do conhecimento do sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona, que controla os níveis de pressão arterial (GUYTON & HALL, 2011).

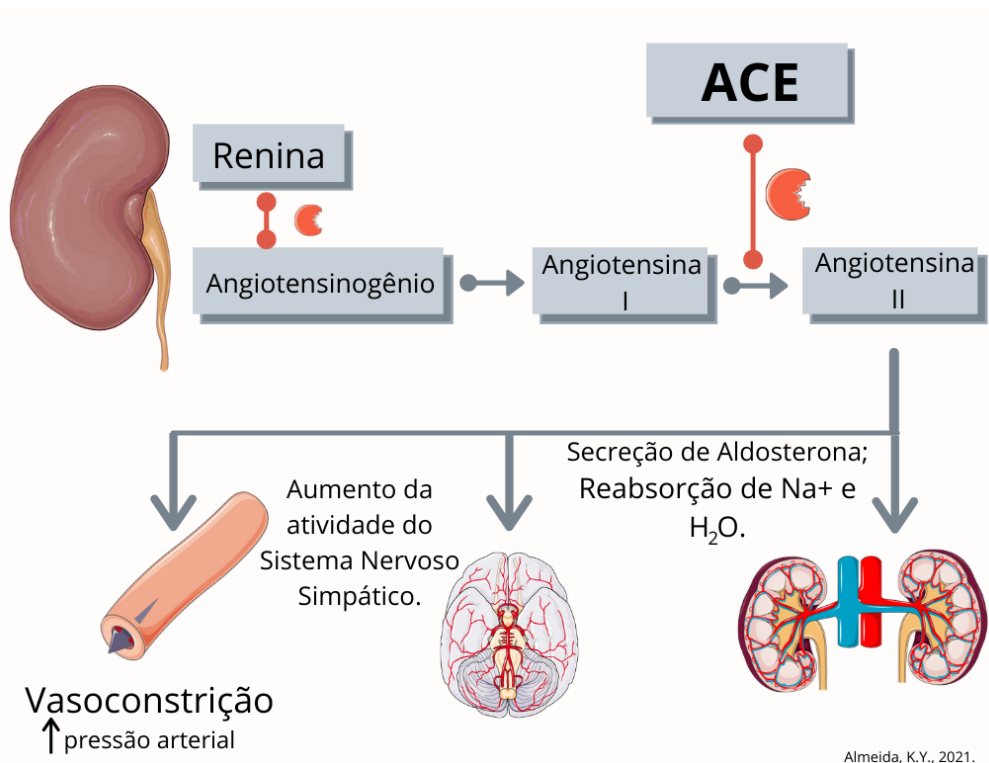
Conforme mostra a Figura 2, os rins liberam a enzima renina na corrente sanguínea quando a pressão arterial se encontra baixa (hipotensão), ativando uma proteína circulatória chamada angiotensinogênio, que serve como substrato da renina. Juntas elas formam a angiotensina I que não é capaz, *per se*, de produzir grandes alterações fisiológicas. No entanto, a enzima conversora de angiotensina (ACE) atua quebrando duas ligações peptídicas da angiotensina I, formando a angiotensina II (PUTHUCHEARY *et al.*, 2011; GUYTON & HALL, 2011). Esta sim possui alta capacidade de promover vasoconstrição, além de promover uma maior atividade do Sistema Nervoso Simpático e uma maior absorção de Na⁺ e H₂O. Além disso, a ACE também pode degradar a bradicinina, um hormônio que possui capacidade vasodilatadora (OSTRANDER *et al.*, 2009).

Apesar do *ACE I/D* ser um dos primeiros polimorfismos a ser relacionado com a performance física humana (GAYAGAY *et al.*, 1998; MONTGOMERY *et al.*, 1998) e amplamente presente na literatura, ainda foi pouco estudado em associação ao futebol. Nesse polimorfismo, o alelo D, onde há a ausência de uma sequência de 287pb no íntron 16 do gene, associa-se a uma maior atividade de ACE nos tecidos (PUTHUCHEARY *et al.*, 2011). Sendo assim, se observa que homozigotos para o alelo D apresentam maior atividade da enzima do que os genótipos ID e II.

Estudos mostram que o alelo D possui relação com modalidades que exigem força e potência muscular, sendo mais frequente em nadadores de curta distância (COSTA *et al.*, 2009; WOODS *et al.*, 2001) e atletismo de *sprint* (corrida de curta distância – 100m a 400m), por exemplo (PAPADIMITRIOU *et al.*, 2009). Em contrapartida, o alelo I se mostra mais associado com a resistência muscular, sendo observado com maior frequência em remadores (GAYAGAY *et al.*, 1998; CIESZCZYK *et al.*, 2009), montanhistas

(MONTGOMERY *et al.*, 1998) e nadadores de longa distância (TSIANOS *et al.*, 2004), por exemplo.

Figura 2: Liberada na corrente sanguínea pelo rim, a renina cliva o angiotensinogênio, produzido no fígado, e o converte em angiotensina I. A enzima conversora de angiotensina (*ACE*), presente principalmente nos pulmões e rins, converte a angiotensina I em angiotensina II. A angiotensina II estimula vários eventos, como vasoconstrição, aumento da atividade do sistema nervoso simpático e estimulação do córtex adrenal para secretar o hormônio aldosterona, que promove retenção renal de sal e água.



Juffer e colaboradores (2009) foram os primeiros a estudar o polimorfismo de *ACE* em atletas de futebol. O estudo envolveu 54 atletas profissionais e concluiu uma relação entre o genótipo ID dentro do esporte, já que se apresentava em frequências maiores em atletas de

Fonte: Elaborada pela autora (2021).

futebol se comparados com atletas de resistência. Estudos posteriores também observaram essa relação do genótipo heterozigoto com o futebol, indicando uma possível influência do polimorfismo (EGOROVA *et al.*, 2014; ULUCAN, SERCAN, BIYIKLI, 2015; GALEANDRO *et al.*, 2017). No entanto, outras pesquisas não encontraram relação significativa (COELHO *et al.*, 2016; MASSIDDA *et al.*, 2012).

Sendo assim, mais pesquisas são necessárias para corroborar essa relação, principalmente a respeito das posições táticas, já que há uma lacuna de estudos que separem e estude os atletas em suas respectivas funções em campo (BARH & AHMETOV, 2019).

1.3.3 Associação com lesão muscular

As múltiplas acelerações e desacelerações características do futebol necessitam de aplicação de força muscular concêntrica e excêntrica (SILVA *et al.*, 2014; STØLEN *et al.*, 2005), sendo essa última um tipo de contração muscular que ocorre quando o músculo é alongado. Essa contração muscular é um importante fator de risco para as lesões musculares, principal lesão dos esportes, ainda mais substancialmente no futebol (ANDERSSON *et al.*, 2010; SILVA *et al.*, 2014). Neste esporte o risco de lesionar-se é aproximadamente 1000 vezes maior do que em outras ocupações (EKSTRAND, HÄGGLUND, WALDÉN, 2011; MCCALL *et al.*, 2014) e as lesões musculares são o principal motivo de afastamento de atletas de futebol profissional (EKSTRAND, HÄGGLUND, WALDÉN, 2011).

O tipo de proteína ACTN produzida pode influenciar diretamente nos marcadores de dano muscular e de resposta inflamatória associada ao exercício e esporte (PIMENTA *et al.*, 2012; BAUMERT *et al.*, 2016). A ausência da proteína ACTN3 em atletas de futebol diminui a velocidade de *clearance* da enzima creatina quinase (CK), um marcador sanguíneo de ruptura do sarcolema associada ao dano muscular (PIMENTA *et al.*, 2012). De maneira similar, o alelo I do polimorfismo *ACE I/D* está ligado a uma maior presença de marcadores de dano muscular pós-exercício (YAMIN *et al.*, 2007).

Quando ocorre o dano muscular, a membrana celular sofre rompimento e ocorre extravasamento de algumas proteínas, dentre elas a CK, um dos melhores indicadores de dano celular por exercício e um ótimo fator de monitoramento de carga de treinamento (LAZARIMA *et al.*, 2008). Há uma faixa de concentração normal de CK no sangue após o exercício de alta intensidade, que fica entre 300-500 U/L, segundo Mougios (2007). Quanto maior for a intensidade do exercício e/ou a exigência sofrida pelo atleta, maiores serão esses níveis, indicando a severidade de microtraumas musculares (MOUGIOS, 2007).

Massidda e colaboradores (2020) verificaram a associação do polimorfismo *ACE I/D* com lesão muscular em atletas italianos, e viram que os atletas com o alelo D (DD e ID) apresentam menor prevalência de dano muscular, sugerindo um efeito protetor do alelo contra a incidência ou gravidade da lesão muscular (MASSIDDA *et al.*, 2020).

1.3.4 Genética e diferenças populacionais

A discordância entre os estudos genéticos dentro do esporte pode ser atribuída a diversos fatores e um deles é a diferença populacional. A exemplo, o estudo de Scott e colaboradores (2010) encontrou baixas incidências do genótipo XX, tanto em velocistas quanto em não atletas, nas diferentes nacionalidades estudadas (jamaicanos e norte-americanos). Com isso, os autores discutiram que estudos realizados com coortes muito heterogêneas ou com estratificação inadequada dos sujeitos da pesquisa apresentam fraquezas, o que não foi o caso do estudo feito pelos autores, o que leva a concluir que populações devem ser estudadas em suas especificidades (SCOTT *et al.*, 2010).

Um estudo publicado em 2015 por Kikuchi e colaboradores, conduzido em atletas japoneses, identificou que os alelos RX e RR não estão associados apenas a atletas de força e arrancada, mas também a atletas de corrida de longa distância, esporte caracterizado como de resistência. O grupo concluiu que a relação do alelo X em algumas populações permanece indefinida e que os estudos seguem uma tendência de especificidade de acordo com suas populações (KIKUCHI *et al.*, 2015).

Pesquisas em populações europeias indicam que o alelo D está associado à capacidade de arrancada (GAYAGAY *et al.*, 1998), enquanto alguns estudos na população Asiática demonstram que essa associação é mais diretamente vista com o alelo I (WANG *et al.*, 2013), por exemplo. De mesma forma, um estudo com atletas israelitas identificou que o alelo D parece ser mais associado com corredores de resistência (longas distâncias) do que com corredores de *sprint*, mostrando mais uma vez que essas associações podem variar entre populações e possivelmente entre grupos étnicos (AMIR *et al.*, 2007).

Enquanto isso, alguns marcadores parecem seguir a mesma lógica independentemente da etnia estudada, como mostra o estudo de Massidda e colaboradores (2020), que descobriram que o efeito protetor do alelo D do polimorfismo *ACE I/D* contra danos musculares segue a mesma lógica em diferentes populações, embora os resultados tenham apontado que está ainda mais fortemente relacionado em atletas japoneses do que em atletas italianos (MASSIDDA *et al.*, 2020).

Assim, há a necessidade de estudar populações e atletas dentro de suas modalidades, para melhor compreender o papel genético no desempenho esportivo.

Dessa forma, considerando o exposto, espera-se que os atletas brasileiros apresentem frequências alélicas e genotípicas de ambos os polimorfismos que demonstrem a associação

com o esporte, onde posições táticas que exigem mais força muscular apresentem frequências elevadas dos genótipos RR de ACTN3 e DD de ACE, e posições caracterizadas por menos força muscular apresentem relação significativa com os genótipos XX e II, de ACTN3 e ACE respectivamente. Além disso, espera-se encontrar relação significativa dos genótipos com os índices de lesão e de potência muscular.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a frequência genotípica e alélica dos polimorfismos dos genes *ACTN3* e *ACE*, que codificam as proteínas α -actina-3 e enzima conversora de angiotensina, respectivamente, e relacioná-los com potência muscular e o desenvolvimento de lesão em jogadores profissionais de futebol do Brasil.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar as frequências genotípicas e alélicas do polimorfismo *ACTN3 R577X* nos atletas de futebol;
- Avaliar as frequências genotípicas e alélicas do polimorfismo *ACE I/D* nos atletas de futebol;
- Avaliar as frequências genotípicas e alélicas do polimorfismo *ACTN3 R577X* de acordo com as posições táticas;
- Avaliar as frequências genotípicas e alélicas do polimorfismo *ACE I/D* de acordo com as posições táticas;
- Avaliar as frequências alélicas do polimorfismo *ACTN3 R577X* considerando regiões geográficas de origem dos atletas de futebol, e comparar com indivíduos controle;
- Avaliar a relação dos diferentes genótipos dos polimorfismos *ACTN3 R577X* e *ACE I/D* com potência muscular em atletas de futebol;
- Avaliar um marcador bioquímico de dano muscular (CK) em momentos específicos da temporada esportiva e relacionar com os polimorfismos *ACTN3 R577X* e *ACE I/D* nos atletas de futebol.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 AMOSTRAGEM DE ATLETAS

Definida como o período anual de atuação de uma equipe de futebol (SANTOS, COLEDAM, DOS-SANTOS, 2009), a temporada é composta por um período preparatório, de duração de cerca de um mês, e um período competitivo que dura cerca de 10 a 11 meses, que é o momento onde os clubes pertencentes a cada categoria, se enfrentam. A coleta de dados se deu durante os anos de 2018, 2019 e 2020 em momentos diferentes do calendário desportivo, conhecido como temporada.

Foram amostrados 132 jogadores profissionais de futebol, dentre titulares e reservas, pertencentes a clubes das séries A e B do Campeonato Brasileiro e com idades entre 18 e 40 anos. A possibilidade das coletas se deu através de parcerias estabelecidas com comissões técnicas dos clubes de futebol. Os atletas foram divididos de acordo com suas posições táticas primárias em uma das 5 categorias: Atacante (30 atletas), Zagueiro (20 atletas), Lateral (19 atletas), Meio-Campo (46 atletas) e Goleiro (17 atletas).

3.1.1 Critérios de inclusão e exclusão

Foram considerados critérios de inclusão para o grupo de atletas: Homens atletas de futebol profissional, pertencentes a clubes profissionais de futebol integrantes das 1ª a 2ª divisões do Campeonato Brasileiro de Futebol; Com no mínimo 2 anos ininterruptos de prática esportiva antes do começo do estudo.

Por outro lado, os critérios de exclusão para o grupo de atletas foram: Lesão óssea e/ou muscular nos três meses anteriores ao início da pesquisa e o insucesso dos critérios de inclusão.

3.1.2 Critérios Éticos

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina, sob número 3.621.353/2019. A participação foi condicionada à (i) participação voluntária dos indivíduos, e (ii) assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE (Anexo A) pelos sujeitos da pesquisa. A pesquisa foi conduzida de acordo com a Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde.

3.1.3 Coletas sanguíneas

No início da temporada, os atletas foram submetidos a uma coleta rotineira de uma amostra sanguínea de 4 mL, realizada por profissionais habilitados. O sangue foi coletado em tubos BD Vacutainer® contendo anticoagulante EDTA e transportado até o Laboratório de Polimorfismos Genéticos (LAPOGE) no Centro de Ciências Biológicas (CCB) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), onde foi centrifugado a 3000 rpm (rotações por minuto) por 20 minutos, obtendo-se o plasma e a camada de leucócitos. Após a separação dos componentes sanguíneos as amostras foram devidamente identificadas e armazenadas em Freezer na sala fria do LAPOGE/UFSC.

3.2 EXTRAÇÃO DO DNA

A extração foi feita conforme protocolo de *Salting out*, rotineiro no laboratório: 100µL da camada leucocitária obtida foi ressuspensa em Solução de Lise I (0.1M Tris-HCl, 0.32M Sacarose, 0.0025M MgCl₂, 10 mL Triton X 100 1%, pH 7.6) e centrifugada a 12000 rpm durante 5 minutos, descartando-se o sobrenadante logo após. O passo foi repetido até o precipitado ficar claro (cerca de 3 vezes). Em seguida, foram adicionados 300µL de Solução de Lise II (0.1M Tris-HCL, 0.05M KCl, NONIDET p-40 1% - Stigma 500 mL – Twen 20 1% - VETEC 1L, pH 8.5), 10 µL de SDS 10% e 75 µL de Perclorato de Sódio 5M e agitado no agitador vórtex (CE – KMC) por 10 segundos para que se quebrasse o *pellet*. Depois foi adicionado 130 µL de NaCl 6M saturado, agitado no vórtex novamente por 10 segundos e centrifugado por 10 minutos a 12000 rpm. O sobrenadante foi transferido para um tubo de 15 mL com 300 µL de álcool isopropílico (bem gelado). Em seguida, o tubo foi agitado manualmente (com movimentos de inversão) e posteriormente centrifugado por 5 minutos a 12000 rpm, para que se obtivesse o DNA precipitado. O sobrenadante foi descartado através da inversão do tubo e 300 µL de Etanol 70% foi adicionado, seguido por posterior centrifugação em 12000 rpm por 5 minutos. Por fim, o sobrenadante foi descartado por inversão e os tubos das amostras ficaram abertos, secando em estufa *overnight*. No dia seguinte, 200 µL de Água MiliQ foram adicionados e as amostras foram incubadas a 56 °C em banho-maria por 30 minutos. Após esse período, foram armazenadas em geladeira *overnight* para posterior armazenamento a -20 °C. As amostras de DNA obtidas foram quantificadas quanto a sua pureza em espectrofotômetro Nanovue Plus® (Eppendorf) e diluídas através de adição de Água MiliQ a fim de se padronizar que todas as amostras possuíssem 50 ng de DNA por µL.

3.3 GENOTIPAGEM

3.3.1 *ACTN3 R577X*

A genotipagem foi realizada através de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) e Polimorfismo de Comprimento de Fragmento de Restrição com enzima de restrição (RFLP). O protocolo foi adaptado de Mills e colaboradores (2001). O éxon 16 do gene *ACTN3* (rs1815739), onde se encontra o polimorfismo alvo, foi amplificado com a sequência de iniciadores descrita no Quadro 1, ancorados nas sequências intrônicas adjacentes.

Quadro 1: Sequência de iniciadores utilizados na reação de PCR para o polimorfismo *ACTN3 R577X*.

Direto	5' CTGTTGCCTGTGGTAAGTGGG 3'
Reverso	5' TGGTCACAGTATGCAGGAGGG 3'

As reações de PCR tiveram um volume final de 25 µL, com 1x Tampão para Taq, 1.5 mM MgCl₂, 0.2 mM de dNTP, 1.0 µM de cada iniciador (Sinapse Biotecnologia, São Paulo, SP, Brasil), 1 unidade de Taq DNA polimerase (Phoneutria Biotecnologia e Serviços, Belo Horizonte, MG, Brasil), usando aproximadamente 250 ng de DNA genômico como molde. A amplificação foi dada pelo seguinte programa: desnaturação inicial a 95 °C por 5 minutos, 30 ciclos de 94 °C por 30 segundos, 58 °C por 30 segundos e 72 °C por 30 segundos, com uma extensão final de 72 °C por 5 minutos. Após a amplificação, 10 µL do produto de PCR foram submetidos a digestão enzimática com 10U de enzima DdeI (New England BioLabs) em uma reação incubada em banho-maria por 2 horas a 37 °C. A enzima de restrição DdeI cliva o DNA entre os nucleotídeos C e T. Sendo assim, em alelos R serão gerados dois tipos de fragmentos – em 205pb e 86pb. Já em alelos X, ocorre a clivagem em duas regiões, gerando três fragmentos distintos: em 108, 97 e 86 pares de base (Figura 3).

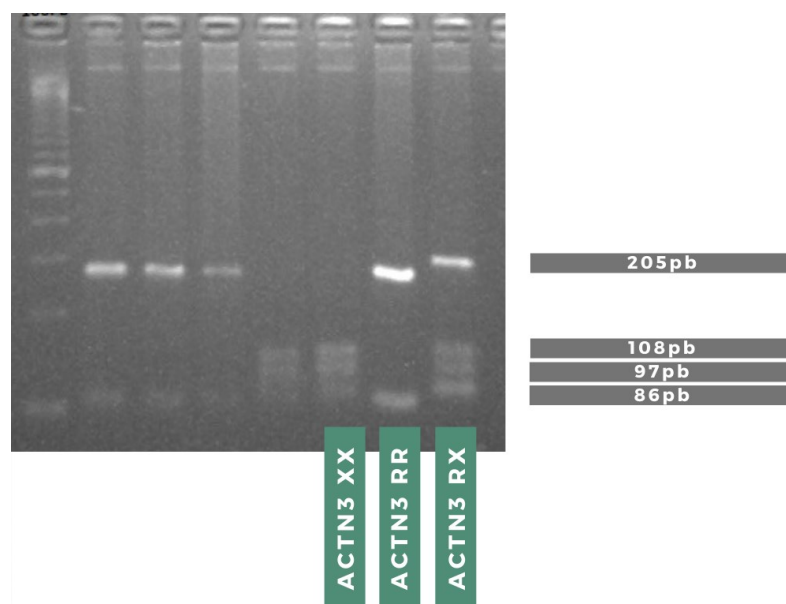
Figura 3: Esquema de restrição da enzima DdeI agindo no polimorfismo *ACTN3 R577X*.



Fonte: Elaborada pela autora (2021).

Os fragmentos foram separados por eletroforese em gel de agarose 3% corado com *gel red*, sendo verificados os alelos *ACTN3 577R* (fragmentos de 205 e 86 pares de bases) e *ACTN3 577X* (fragmentos de 108, 97 e 86 pares de bases), como mostra a Figura 4.

Figura 4: Gel de agarose 3%, demonstrando as bandas possíveis para o polimorfismo *ACTN3 R577X*. Indivíduos com genótipo XX apresentam fragmentos na altura de 108, 97 e 86pb (quinto e sexto poços, da esquerda para a direita); RR apresentam em 205 e 86pb (segundo, terceiro, quarto e sétimo poços, da esquerda para direita) e genótipo RX apresentam fragmentos em 205, 108, 97 e 86pb (oitavo poço, da esquerda para direita).



Fonte: Elaborada pela autora (2021).

3.3.2 *ACE I/D*

A genotipagem para *ACE I/D* também foi feita através da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). Seguindo protocolo adaptado a partir de Moraes e colaboradores (2018), o íntron 16 do gene *ACE* (rs4646994), onde se encontra o polimorfismo alvo, foi amplificado com a sequência de iniciadores indicadas no Quadro 2:

Quadro 2: Sequência de iniciadores utilizados na reação de PCR para o polimorfismo *ACE I/D*.

Direto	5' CTGGAGAGCCACTCCCATCCTTTCT 3'
Reverso	5' GAYGTGGCCATCACATTCGTCAGAT 3'

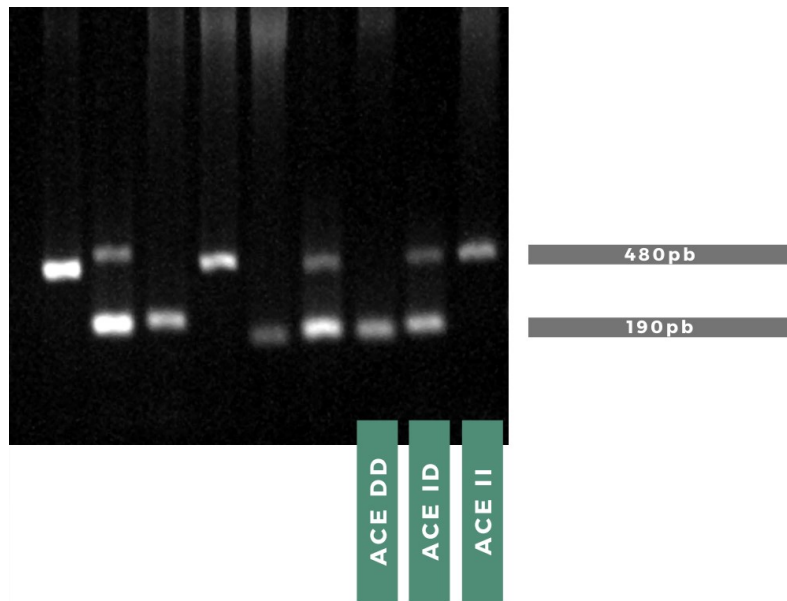
O sistema reacional teve um volume total de 25 µL, sendo composto por 1x Tampão para Taq, 1.5 mM MgCl₂, 0.5 mM de dNTP, 1.0 µM de cada iniciador (Integrated DNA Technology IDT, Iowa, EUA), 0.5 U de Taq DNA polimerase (Phoneutria Biotecnologia e Serviços, Belo Horizonte, MG, Brasil) e aproximadamente 250 ng de DNA genômico como molde. O programa de amplificação foi composto dos seguintes passos: desnaturação inicial a 95 °C por 3 minutos, 35 ciclos a 95 °C por 30 segundos, 58 °C por 30 segundos e 72 °C por 30 segundos com extensão final a 72 °C por 10 minutos. Os fragmentos foram separados por eletroforese em gel de agarose 1% corado com Gel red a 5 µg/mL. A genotipagem foi feita através da diferença de tamanho de alelo, sendo que o alelo D, de deleção, do gene *ACE* gera um fragmento de 190 pares de bases, enquanto o alelo de inserção, I, gera um fragmento de 480 pares de base (Figura 5).

Shanmugan e colaboradores (1993) identificaram que nesse polimorfismo pode ocorrer a possibilidade de amplificação preferencial pelo alelo D de deleção em detrimento do alelo I (SHANMUGAM, SELL, SAHA, 1993). Por esse motivo, todos os homozigotos para D foram reavaliados através de uma nova PCR para identificar possíveis alelos de Inserção que não foram amplificados na primeira etapa. O protocolo foi o mesmo anteriormente descrito, modificando o primer direto, que foi redesenhado para se ligar no fragmento de inserção especificamente (Quadro 3).

Sendo assim, aqueles que não amplificaram nessa etapa de confirmação de inserção foram considerados, de fato, homozigotos para D, enquanto que a amplificação de uma banda

na altura de 408pb foi interpretada como se tratando do genótipo heterozigoto ID que teve a amplificação do seu alelo de inserção prejudicada na primeira etapa (Figura 6).

Figura 5: Gel de agarose 1%, demonstrando as bandas possíveis para *ACE I/D*. Indivíduos com genótipo ID apresentam fragmentos de 480pb e 190pb (segundo, sexto e oitavo poços, da esquerda para direita) enquanto indivíduos de genótipo II apresentam apenas fragmentos em 480pb (primeiro, quarto e nono poços, da esquerda para direita) e o genótipo DD apenas em 190pb (terceiro, quinto e sétimo poços, da esquerda para direita).

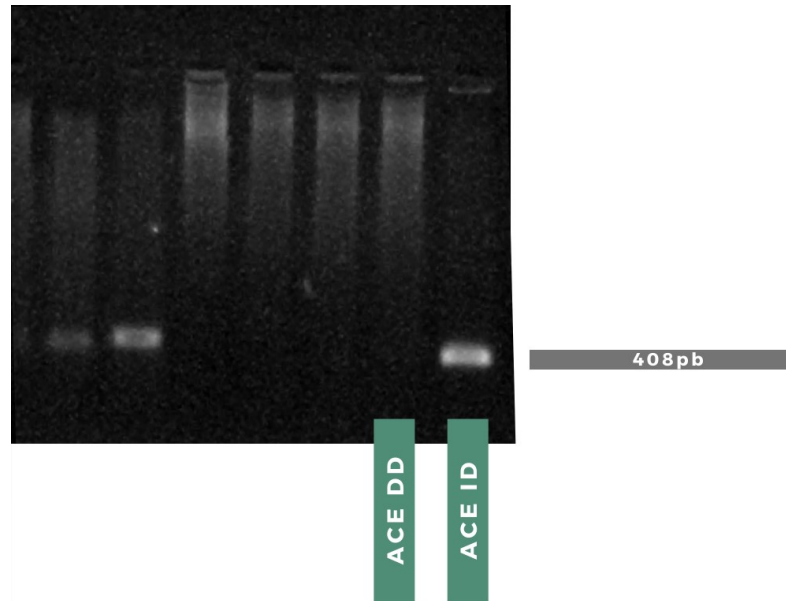


Fonte: Elaborada pela autora (2021).

Quadro 3: Sequência de iniciadores utilizados na reação de PCR para confirmação de inserção para o polimorfismo *ACE I/D*.

Direto	5' TTTGAGACGGAGTCTCGCTC 3'
Reverso	5' GAYGTGGCCATCACATTCGTCAGAT 3'

Figura 6: Gel de agarose, demonstrando a amplificação do teste de confirmação de inserção para o polimorfismo *ACE I/D*. Indivíduos que, de fato, tiveram uma amplificação da inserção suprimida na primeira PCR, dessa vez aparecem com uma banda em 408pb, enquanto aqueles que foram genotipados corretamente como DD não amplificam nenhuma banda, conforme mostra a figura. Na figura observa-se o genótipo ID no primeiro, segundo e sétimo poço e genótipo DD no terceiro, quarto, quinto e sexto poço.

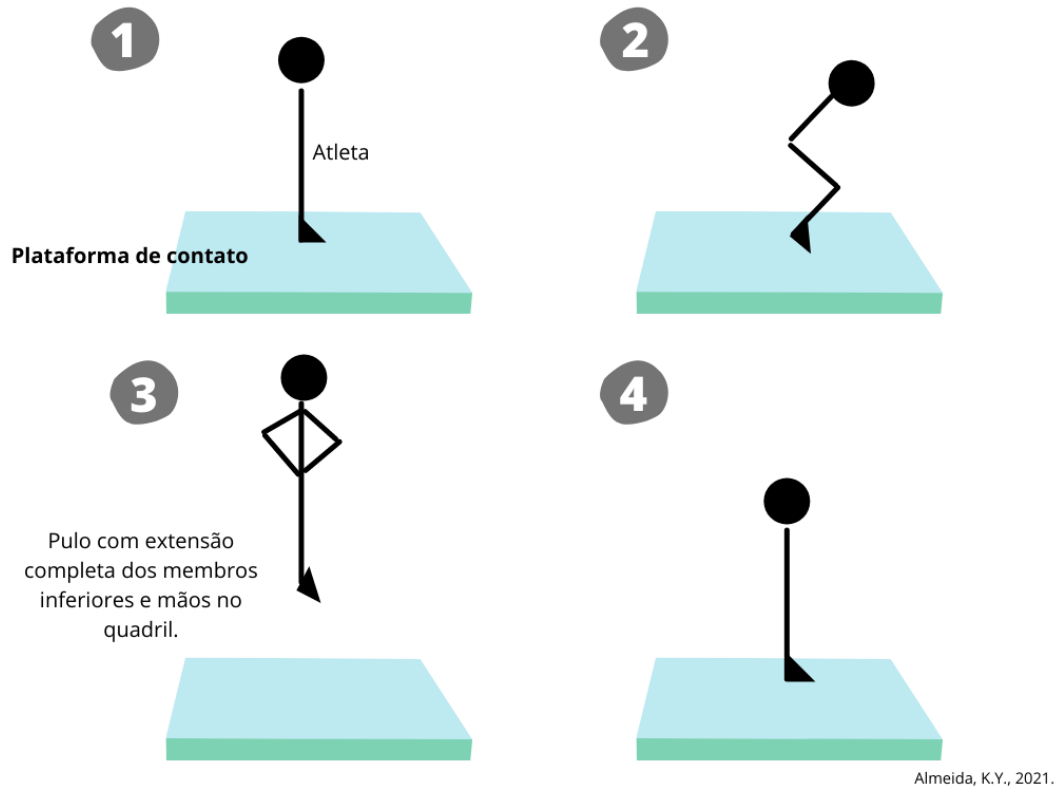


Fonte: Elaborada pela autora (2021).

3.4 DADOS DE POTÊNCIA MUSCULAR – CMJ

A potência muscular de 48 atletas foi avaliada através da altura do salto vertical, utilizando método do CMJ (*countermovement jumps*). No CMJ, os atletas foram instruídos a executar um movimento descendente seguido de extensão completa das pernas e ficaram livres para determinar a amplitude do contramovimento para evitar mudanças na coordenação do salto. Todos os saltos foram executados com as mãos nos quadris e os atletas instruídos a saltar o mais alto possível. Os saltos foram realizados em uma plataforma de contato (Elite Jump R, S2 Sports, São Paulo, Brasil). Um total de cinco tentativas foram permitidas para cada salto, intercaladas por intervalos de 15 segundos. As 3 melhores tentativas para o CMJ foram utilizadas para as análises. Na figura 7, é possível ver um esquema da realização do salto.

Figura 7: Esquema demonstrando como se dá a realização do salto no teste CMJ, com extensão dos membros e em cima de uma plataforma de contato.



Fonte: Elaborada pela autora (2021).

3.5 DADOS DE CREATINOQUINASE – CK

Durante as temporadas competitivas, de 24h a 36h depois de cada jogo oficial do Campeonato Brasileiro, os atletas que atuaram em jogo passaram por medições da proteína creatinoquinase (CK). Para a contabilização dos dados, foram considerados apenas aqueles atletas que tiveram 3 ou mais medições de CK no total. Sendo assim, a concentração da proteína CK no plasma foi estudada entre 68 atletas.

Parte dos atletas teve medição através de coleta sanguínea e medição de CK rotineira através de Laboratório de Análises Clínicas privado, e o restante deles através da retirada de sangue capilar da polpa digital por uma lanceta disparadora automática, a depender da rotina do clube em questão. Este método consiste em retirada de sangue de capilar, que é drenado para um tubo capilar heparinizado (Cat nº 955053202 Reflotron) e pipetado para uma tira reativa de CK (Cat nº 1126695 Reflotron®) que posteriormente foi colocada no Reflotron Analyser®,

Boehringer Mannheim. Todas as medições por atleta foram consideradas depois da retirada de índices *outliers*.

3.6 GRUPO CONTROLE

Através de parceria com a iniciativa EPIGEN-Brasil (KEHDY *et al.*, 2015), que é, até o momento, a maior iniciativa latino-americana em genômica populacional e epidemiologia genética, foi possível a obtenção dos dados do grupo controle. A genética populacional inclui genotipagem ampla de 6487 indivíduos de três coortes brasileiras de base populacional: Salvador (BA), na região Nordeste do Brasil (n = 1309); Bambuí (MG), Sudeste do Brasil (n = 1442) e Pelotas (RS), no Sul do Brasil (n = 3736).

Os dados obtidos foram do SNP rs1815739 (*ACNT3 R577X*), onde foi possível a distinção das frequências alélicas através de valores de MAF (*minor allele frequency*, do inglês “menor frequência alélica”) e frequências de heterozigotos, ambos os valores para cada população.

3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Resultados de CK e CMJ tiveram medidas como média \pm desvio padrão (dp), depois de passarem por análise de identificação de *outliers*. Dados de CK - que teve diversas medições por atleta durante a temporada competitiva - passaram por verificação de presença de *outliers* através do teste de Grubbs, esses foram removidos para posteriormente ser feita a média de CK para cada atleta; os valores de média foram considerados para as posteriores análises. As diferenças de frequências entre os genótipos e alelos dos diferentes grupos foram analisadas pelo teste do χ^2 e Teste Exato de Fisher no software R (pacotes dplyr, car, rstatix, DescTools, emmeans e ggplot2). As diferenças entre os grupos genéticos e relação com os dados de CK e CMJ foram avaliadas por ANOVA de duas vias, no software GraphPad Prism 9, com teste de normalidade de Shapiro-Wilk, ANOVA e teste *post-hoc* de Toker. O teste de Grubbs foi feito a fim de detectar *outliers*, que foram removidos antes do teste de hipóteses. As diferenças foram consideradas significativas para $p < 0,05$.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os atletas amostrados apresentaram, em média, 7.11 ± 4.76 anos de experiência de atuação no futebol profissional. A Tabela 1 apresenta as características dos atletas através de médias de idade, massa corporal e altura, de modo geral e também divididos em suas posições táticas. A média de idade de forma geral foi de 26.5 anos ($dp = 5.01$), com 74.7 Kg ($dp = 6.28$) e 179.4 cm ($dp = 16.37$).

Tabela 1: Médias \pm desvio padrão de idade, massa corporal (em quilogramas - Kg) e altura (em centímetros - cm) para os atletas em geral e para cada posição.

	Geral	Posições				
		Meio-campistas	Atacantes	Zagueiros	Laterais	Goleiros
Idade	26.5 \pm 5.01	26 \pm 4.5	25 \pm 3.7	29.5 \pm 5.1	27.5 \pm 4.7	26 \pm 6.1
Massa (Kg)	74.7 \pm 6.28	73 \pm 5.4	73 \pm 5.6	78 \pm 5.6	72 \pm 6	80.5 \pm 6.3
Altura (cm)	179.4 \pm 16.37	174 \pm 26.17	179 \pm 5.15	187 \pm 3.4	177 \pm 4.7	189 \pm 2.8

Fonte: Elaborada pela autora (2021).

A fim de facilitar a leitura e discussão dos dados, o estudo foi subdividido de acordo com seus objetivos principais, sendo eles: o estudo das frequências, o estudo de potência muscular e, por fim, o estudo de lesão muscular.

4.1 FREQUÊNCIAS GENOTÍPICAS E ALÉLICAS DE *ACTN3 R577X* E *ACE I/D*

4.1.1 Resultados

A Tabela 2 traz os dados de frequências genotípicas e alélicas dos atletas de futebol para o polimorfismo *ACE I/D* e *ACTN3 R577X*.

Tanto para *ACE I/D* como para *ACTN3 R577X* a amostra encontrou-se em equilíbrio de Hardy-Weinberg com χ^2 de Pearson igual a 0.20785 e valor de p igual a 0.9 ($\chi^2 = 0.20785$, $GL = 2$, $p = 0.9013$)² para *ACE* e χ^2 igual a 0.025634 e p igual a 0.9873 ($\chi^2 = 0.025634$, $GL = 2$, $p = 0.9873$) para *ACTN3*.

Para *ACE*, a maior frequência genotípica observada nos atletas foi do para o genótipo heterozigoto ID, com 48% dos atletas ($n=64$), seguido do genótipo homozigoto DD, com 38%

² χ^2 – Qui-quadrado
GL – Graus de Liberdade
p – Valor de p

da amostra (n=50) e, por último, o genótipo homozigoto II tendo apenas 14% da amostra. O teste de χ^2 foi feito para testar homogeneidade entre as distribuições e, com p igual a 3.252e-06 ($\chi^2 = 25.273$, GL = 2), foi verificado que a distribuição de frequências entre os genótipos não é homogênea, havendo diferença significativa entre eles. Se tratando das frequências alélicas, é possível observar uma maior frequência para o alelo de deleção (alelo D) do polimorfismo, com 63% de frequência.

Tabela 2: Frequências genotípicas e alélicas para os polimorfismos *ACE I/D* e *ACTN3 R577X* em atletas de futebol e valor de p .

	Freq. Genotípica			Freq. Alélica		p
	DD	II	ID	D	I	
<i>ACE I/D</i>	0.38 (50)	0.14 (18)	0.48 (64)	0.63	0.37	0.9
	RR	XX	RX	R	X	
<i>ACTN3 R577X</i>	0.42 (54)	0.13 (17)	0.45 (59)	0.64	0.36	0.99

Fonte: Elaborada pela autora (2021).

Para o polimorfismo *ACTN3 R577X*, o χ^2 de homogeneidade mostrou que a distribuição genotípica não é homogênea ($\chi^2 = 24.292$, GL = 2, $p = 5.309e-06$), onde a maior frequência é para o heterozigoto RX, com 45% da amostra (n=59), seguido do homozigoto para R, com 42% (n=54) e com menor frequência está o homozigoto para X, com 13% (n=17) da amostra.

Os atletas foram também divididos por regiões geográficas de acordo com seus locais de nascimento, para cada um dos polimorfismos, e, a partir disso, obteve-se a tabela de frequências (Tabela 3).

Por estarem sub representadas, as regiões Norte e Centro-Oeste (com 3 e 5 atletas, respectivamente) não foram utilizadas nas comparações.

Para *ACE*, é possível observar que atletas todas as regiões possuem maior frequência de heterozigotos e o genótipo que teve a menor frequência entre todos os grupos foi o homozigoto para a Inserção (II).

Tabela 3: Frequências genotípicas para os polimorfismos *ACE I/D* e *ACTN3 R577X* em atletas de futebol e valor de n. Sendo ND o grupo de atletas do Nordeste, SD o grupo de atletas do Sudeste e S o grupo de atletas do Sul.

Grupo atletas	Frequências Genotípicas					
	ACE I/D			ACTN3 R577X		
	DD	ID	II	RR	RX	XX
ND	0.35 (6)	0.41 (7)	0.24 (4)	0.35 (6)	0.53 (9)	0,12 (2)
SD	0.41 (21)	0.45 (23)	0.14 (7)	0.4 (20)	0.46 (23)	0.14 (7)
S	0.36 (20)	0.52 (29)	0.12 (7)	0.42 (23)	0.44 (24)	0.14 (8)

Fonte: Elaborada pela autora (2021).

O teste de χ^2 de Pearson feito em pares demonstrou que não houve associação entre a região de nascimento com o genótipo para *ACE* pois não houve diferenças significativas entre os grupos (**Sul e Sudeste:** $\chi^2 = 0.49632$, GL = 2, p = 0.7802; **Sul e Nordeste:** $\chi^2 = 1.3511$, GL = 2, p = 0.5089; **Sudeste e Nordeste:** $\chi^2 = 0.84003$, GL = 2, p = 0.657).

Observando-se a distribuição de frequências para o polimorfismo de *ACTN3*, percebe-se que atletas do Nordeste (ND) apresentaram maior frequência genotípica para o heterozigoto RX, com 53% (n=9), assim como atletas do Sudeste (SD) e atletas do Sul (S), com 46% (23) e 44% (n=24), respectivamente.

O teste de χ^2 de Pearson, feito em pares, indicou também para o *ACTN3* que não houve associação entre as frequências genotípicas com a região de nascimento (**Sudeste e Nordeste:** $\chi^2 = 0.193$, GL = 2, p = 0.908; **Sul e Nordeste:** $\chi^2 = 0.45484$, GL = 2, p = 0.7966; **Sul e Sudeste:** $\chi^2 = 0.223$, GL = 2, p = 0.8945).

Atletas divididos por suas posições de origem foram também comparados, através de suas frequências alélicas, com indivíduos controle das mesmas regiões. As frequências alélicas de cada grupo podem ser observadas na Tabela 4.

Através da Tabela 4 podemos observar que as frequências alélicas de todos os grupos são maiores para o alelo R. A frequência de heterozigotos que diferiu mais entre os grupos foi no Nordeste, onde os atletas apresentaram frequência de 53% de heterozigotos enquanto os indivíduos do grupo Controle apresentaram 43%, sendo que a região Nordeste foi a única onde

os indivíduos controle apresentaram menor frequência de heterozigotos do que no grupo de atletas.

Tabela 4: Frequências alélica e de heterozigotos para o polimorfismo *ACTN3 R577X* em atletas de futebol e indivíduos controle. O valor de *p* é comparativo entre as frequências alélicas dos grupos atletas e controle.

		Frequência alélica			Heterozigotos RX	p comparativo*
		R	X			
ND	Atletas	0.62	0.38	0.53	0.29	
	Controle	0.70	0.30	0.43		
SD	Atletas	0.63	0.37	0.46	0.16	
	Controle	0.56	0.44	0.50		
S	Atletas	0.64	0.36	0.43	0.23	
	Controle	0.58	0.42	0.49		

* χ^2 de independência entre as frequências alélicas dos grupos.

Fonte: Elaborada pela autora (2021).

O teste de χ^2 foi utilizado para comparar as frequências entre os grupos de mesma região (atletas x controle), e foi encontrado que não houve diferença estatística significativa entre atletas e controle de nenhum grupo (**Sul**: $\chi^2 = 1.4345$, GL = 1, $p = 0.231$; **Sudeste**: $\chi^2 = 1.9886$, GL = 1, $p = 0.1585$; **Nordeste**: $\chi^2 = 1.098$, GL = 1, $p = 0.2947$).

Para o estudo de frequências os atletas foram também divididos de acordo com suas posições táticas, para cada polimorfismo, como mostram a Tabela 5.

Atacantes apresentaram a maior frequência do homozigoto RR, com 47% (n=14) e Zagueiros a menor, com 31% (n=6).

Para os heterozigotos a maior frequência apresentada foi em Zagueiros e Goleiros, ambos apresentaram 53% (n=10 e n=9, respectivamente), e por último os Atacantes com 33% (n=10).

Já para o genótipo XX a maior frequência observada foi entre os Atacantes, com 20% (n=6), seguidos pelos Zagueiros e Laterais, ambos com 16% (n=3 para ambos).

Tabela 5: Frequências genótípicas de *ACTN3 R577X* e *ACE I/D* para cada posição tática: meio-campistas, atacantes, zagueiros, laterais e goleiros.

	<i>ACNT3 R577X</i>			<i>ACE I/D</i>		
	RR	RX	XX	DD	ID	II
Meio-campistas	0.44	0.49	0.07	0.48	0.46	0.06
Atacantes	0.47	0.33	0.20	0.37	0.53	0.10
Zagueiros	0.31	0.53	0.16	0.20	0.55	0.25
Laterais	0.42	0.36	0.16	0.32	0.42	0.26
Goleiros	0.35	0.53	0.12	0.41	0.47	0.12

Fonte: Elaborada pela autora (2021).

Para verificar diferenças estatísticas das frequências de genótipos de *ACTN3 R577X* entre as posições, foi utilizado o teste exato de Fisher, que mostrou não haver diferenças significativas entre os grupos com $p = 0.6977091$.

Observou-se que Meio-Campistas, com 48% (n=22), apresentaram a maior frequência observada do genótipo DD e Zagueiros a menor, com 20% (n=4).

Heterozigotos tiveram maior frequência entre Zagueiros, com 55% (n=11) e a menor em Laterais com 42% (n=8).

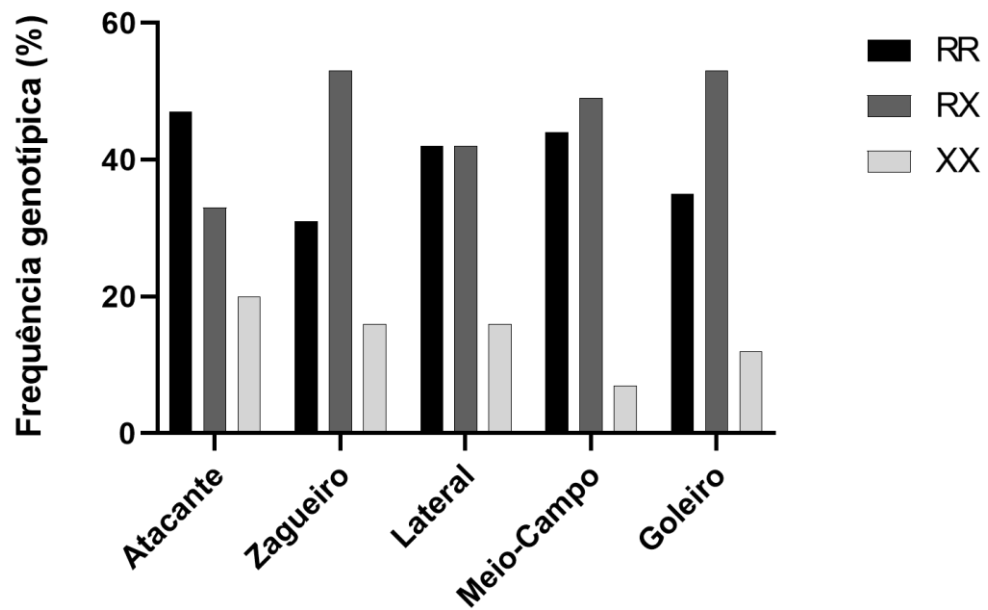
Por fim, o genótipo II teve maior presença entre Laterais e Zagueiros, com 26% e 25%, respectivamente (ambos n=5) e a menor em Meio-Campistas, com 6% (n=3).

Para verificar diferenças estatísticas das frequências de genótipos de *ACTN3 R577X* entre as posições, foi utilizado o teste exato de Fisher, que mostrou não haver diferenças significativas entre os grupos com $p = 0.6977091$.

O teste de Fisher também foi utilizado para observar diferenças estatísticas entre os grupos e *ACE I/D* e não se mostrou significativo, com $p = 0.3464594$.

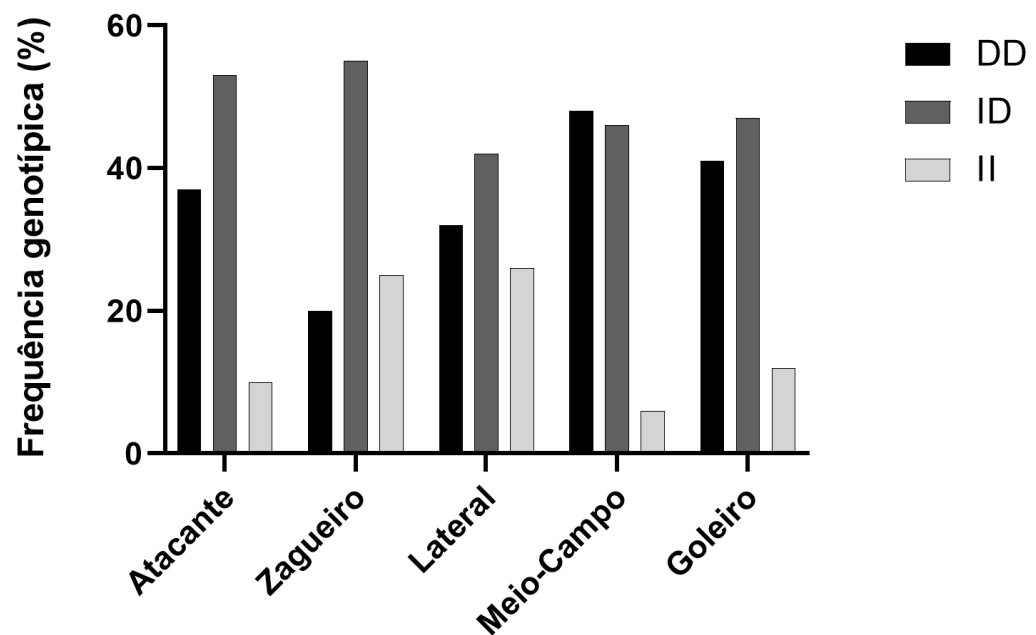
Para ser visível graficamente, os polimorfismos foram analisados separadamente através de gráfico de barras, nas Figuras 8 (para *ACTN3 R577X*) e 9 (para *ACE I/D*).

Figura 8: Gráfico em barras comparando as frequências genotípicas de *ACTN3 R577X* (eixo Y), em porcentagem, entre cada um dos grupos táticos: atacante, zagueiro, lateral, meio-campo e goleiro (eixo X). A barra em preto corresponde ao genótipo RR, em cinza escuro o genótipo RX e cinza claro XX.



Fonte: Elaborada pela autora (2021).

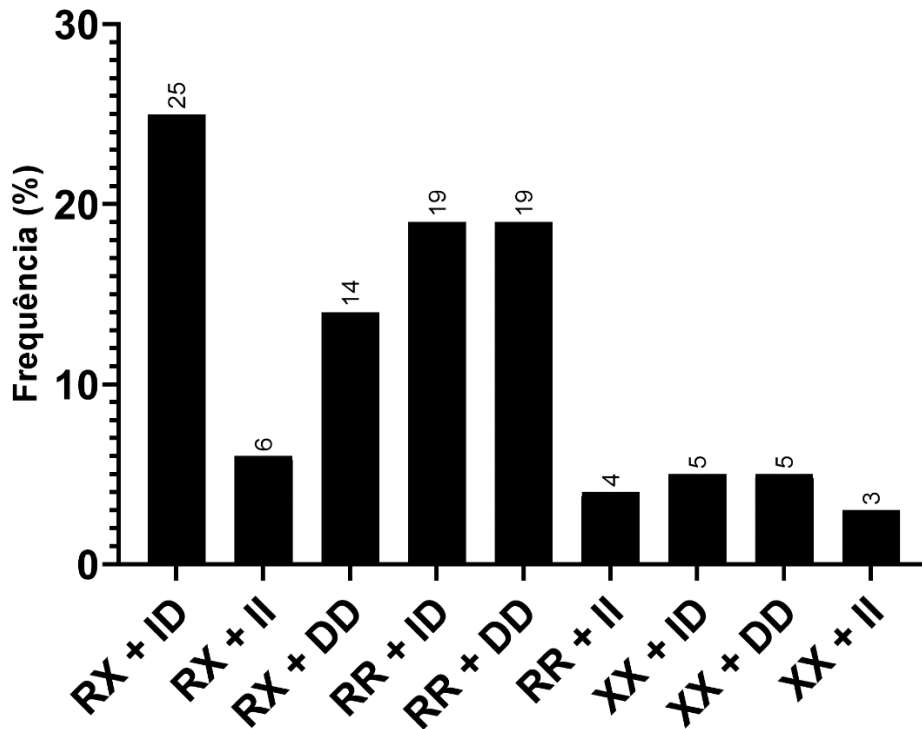
Figura 9: Gráfico em barras comparando as frequências genotípicas de *ACE I/D* (eixo Y), em porcentagem, entre cada um dos grupos táticos: atacante, zagueiro, lateral, meio-campo e goleiro (eixo X). A barra em preto corresponde ao genótipo DD, em cinza escuro o genótipo ID e cinza claro II.



Fonte: Elaborada pela autora (2021).

Por fim, foi realizado um estudo de frequências entre a associação desses polimorfismos, cujo resultado podemos ver na Figura 10.

Figura 10: Gráfico em barras mostrando a frequência (eixo Y) de cada uma das possíveis combinações de genótipos para *ACE I/D* e *ACTN3 R577X*: RX+ID, RX+II, RX+DD, RR+ID, RR+DD, RR+II, XX+ID, XX+DD e XX+II (eixo X).



Fonte: Elaborada pela autora (2021).

Foi realizado χ^2 de homogeneidade e verificado que a distribuição de frequências não foi homogênea entre as 9 possíveis combinações de genótipos para os polimorfismos ($\chi^2 = 64.123$, GL = 8, $p = 7.193e-11$).

A combinação que apresentou maior frequência foi a junção dos heterozigotos RX+ID com 25%, seguida das combinações RR+ID e RR+DD ambas com 19%, além da combinação RX+DD com 14%.

4.1.2 Discussão

Os resultados mostraram que a distribuição entre os genótipos de *ACE* e de *ACTN3* é diferente dentro do grupo de atletas, sendo que para ambos a maior frequência observada é a de heterozigotos, ID e RX, que tiveram 48% e 45% de frequência respectivamente. Além disso,

foi visto também que os alelos D (*ACE*) e R (*ACTN3*) possuem predominância no grupo de atletas, com frequências muito similares de 63% e 64%, respectivamente.

A predominância de heterozigotos encontrada no presente estudo está de acordo com o observado em outras pesquisas similares realizadas com atletas de outros países, como o de Juffer e colaboradores (2009), que observaram que os atletas de futebol espanhóis não só apresentaram maior frequência do genótipo heterozigoto ID de *ACE*, como também que essa frequência foi maior em comparação com corredores de longa distância. Além disso, os 54 jogadores do estudo apresentaram apenas 13% de frequência para II, número similar ao encontrado no presente estudo (JUFFER *et al.*, 2009).

Uma maior frequência do genótipo ID em atletas de futebol também foi observada por Cięszczyk e colaboradores (2016) em jogadores da Polônia, e Ulucan e colaboradores (2015) em atletas turcos. No entanto, um estudo envolvendo 213 jogadores russos encontrou maior frequência do genótipo DD, sendo 50.7%, enquanto ID apresentou 28.6%. (EGOROVA *et al.*, 2014).

Em relação aos genótipos do polimorfismo *ACTN3 R577X*, Santiago e colaboradores (2007) observaram uma frequência maior de RR do que RX em atletas espanhóis da primeira, segunda e terceira divisão. Observações semelhantes foram feitas em atletas profissionais da segunda divisão da Itália, onde a frequência de RR foi de 49% e RX 39% (GALEANDRO *et al.*, 2017). Nesse mesmo estudo, é notável a grande diferença que se encontrou em relação ao polimorfismo para *ACE*, onde o homozigoto DD teve uma frequência muito maior do que o heterozigoto ID, com 82% e 9%, respectivamente, sendo esta última a mesma frequência apresentada por II (GALEANDRO *et al.*, 2017).

Um estudo feito com atletas de futebol brasileiros observou que a frequência de RX foi significativamente maior e XX significativamente menor em categorias de atletas sêniores, onde o nível competitivo é maior, em comparação com atletas de base. Segundo os autores, essa observação pode indicar uma seleção artificial para o sucesso de carreira dos atletas (COELHO *et al.*, 2018a).

Apesar das discordâncias nas frequências genotípicas, é um achado em comum para todos os trabalhos citados que as frequências alélicas de R e D sejam maiores do que X e I para cada respectivo polimorfismo.

Ao se comparar as frequências alélicas obtidas com trabalhos realizados em esportes de resistência, verifica-se que a frequência de *ACE* I no presente trabalho foi menor do que em atletas africanos de triátlon, por exemplo, onde os 100 triatletas com menor tempo de prova

apresentaram frequência de 51.5% (COLLINS *et al.*, 2004), um número substancialmente maior que os 37% obtidos no presente trabalho. O mesmo ocorre se compararmos com ciclistas e corredores de longa distância, com frequência do alelo I de 54% e 55%, respectivamente (ALVAREZ *et al.*, 2000).

Já em comparação com esportes que exigem força e potência muscular, como nadadores de curta distância, vemos que a frequência de *ACE D* é ligeiramente maior nesses atletas, com 69% em atletas europeus (WOODS *et al.*, 2001), do que os 63% obtidos no presente estudo. Essa diferença é maior se compararmos com um trabalho envolvendo atletas russos da mesma modalidade, onde os atletas de melhor performance dentro do grupo de curtas distâncias apresentaram frequência do alelo D igual a 72% (NAZAROV *et al.*, 2001).

Em relação ao *ACTN3*, um estudo de Yang e colaboradores (2003) analisou 429 atletas de elite (isto é: que participaram ou participam em competições internacionais) de 14 diferentes modalidades, divididos entre atletas de “*sprint*” e atletas de “resistência”. Observou-se a frequência de 72% do alelo R em atletas de *sprint*, enquanto que no presente estudo a frequência de R foi de 64%. Enquanto isso, o mesmo trabalho encontrou uma frequência de X de 46% nos atletas de resistência (YANG *et al.*, 2003), um número também maior do que os 36% encontradas entre os atletas de futebol estudados aqui.

Todas essas observações em conjunto mostram que os resultados do presente trabalho não se encontram similares nem com os resultados de atletas de resistência nem com atletas de força e potência muscular. Evidenciando, dessa forma, o caráter misto do futebol, onde não só características de força e potência muscular são desejáveis, mas a resistência aeróbica também se mostra importante.

Com isso, as frequências do alelo X de *ACTN3* e alelo I de *ACE* se mostram aumentadas em comparação com esportes de força e potência e os alelos R e D também em maior quantidade do que atletas de resistência. Isso pode ser devido à observada grande frequência de atletas heterozigotos, que se mostrou o genótipo de maior frequência para os atletas de futebol estudados.

Além disso, as diferenças observadas e citadas anteriormente entre os estudos dentro do futebol podem advir da origem distinta dos atletas, originários dos mais diversos países, fazendo com que esse tipo de observação não só dependa do esporte em questão, mas também da população estudada. A frequência alélica de *ACTN3 R*, por exemplo, é conhecida por grande variância entre populações, e encontrado em proporções aumentadas principalmente em populações de origem africana (GREALY *et al.*, 2013).

No caso do Brasil, considerar questões populacionais se mostra um trabalho dificultoso pois o país é um modelo de intensa miscigenação (GIOLO *et al.*, 2012; KEHDY *et al.*, 2015). No entanto, é possível a inferência de diferenças populacionais dentro do próprio país a partir da divisão em regiões geográficas que exemplificam as diferentes colonizações que o país sofreu. Por exemplo, considerando o dito acima, regiões do país que tiveram formação de população através da imigração de indivíduos de origem africana, como o Nordeste, apresentam diferenças em relação a regiões com formação europeia mais recente como os estados do sul do Brasil (KEHDY *et al.*, 2015).

Essa questão foi levantada em um estudo anterior feito pela autora do presente trabalho, que considerou uma população de 20 atletas de futebol de acordo com os seus estados de origem e o polimorfismo *ACTN R577X*. No entanto, a frequência do alelo R foi bastante alta e similar a estudos com atletas africanos, com 72.5%. A explicação levantada pelo trabalho foi a história de imigração do estado do Paraná (estado com o maior número de jogadores amostrados), que mais tardiamente recebeu uma grande quantidade de imigrantes advindos da região nordeste, população conhecida por ser fortemente formada por indivíduos escravizados vindos do continente africano (ALMEIDA, 2018). Porém, o estudo teve um número amostral muito pequeno, o que não o torna representativo e também explica a diferença nos resultados obtidos em comparação com o presente estudo.

Considerando isso, ainda que se esperassem diferenças entre os locais de origem dos atletas, nos resultados aqui apresentados não foram observadas diferenças significativas considerando-se Nordeste, Sudeste e Sul, que são as regiões que apresentaram maior representatividade dentro da amostragem.

Essa ausência de diferença pode se dever ao fato de que ao estudar o local de origem dos atletas não se realiza, necessariamente, o estudo de sua ancestralidade, ainda que o local de origem possivelmente seja um indicativo. Outra possibilidade seja de que a população brasileira, num geral e através das gerações, já está tão miscigenada que não seja possível traçar diferenças. Estudos mais aprofundados que considerem a ancestralidade, de fato, dos atletas e questões como origem étnica podem ajudar a responder essa questão.

Os resultados também mostraram que não houve diferença entre as frequências alélicas de atletas e indivíduos controle.

Trabalhos anteriores relataram diferença na distribuição dos alelos entre atletas de futebol e indivíduos controle, mostrando uma maior frequência do alelo R de *ACTN3* e, por consequência, menor frequência do alelo X no grupo de atletas em comparação com indivíduos

controle (SANTIAGO *et al.*, 2008; YANG *et al.*, 2003). Essa foi uma observação também feita nos resultados do presente estudo, com exceção de atletas e controle do nordeste, onde a população controle teve uma frequência 8% maior do alelo R e menor do alelo X do que atletas. Apesar de nenhuma diferença ser estatisticamente significativa, é interessante observar esse último dado sob a perspectiva populacional.

Considerando a formação da população do nordeste como primariamente de influência africana (KEHDY *et al.*, 2015), é possível estarmos observando uma tendência de maior frequência dos alelos de força e potência muscular na população controle, e uma “necessidade” de que o alelo X tenha maior presença para atletas do futebol considerando as exigências do esporte. Um fenômeno que parece não ocorrer em outras populações do Brasil pois suas populações controle, em si, já possuem uma frequência alélica mais semelhantes à dos atletas de futebol.

Um estudo realizado com atletas de futebol Iranianos mostrou menor número de heterozigotos de *ACTN3* nos atletas, comparados a indivíduos controle (HONARPOUR *et al.*, 2017). O mesmo foi visto em um estudo com 60 futebolistas espanhóis de alto nível, onde atletas apresentaram uma frequência de RX de 36.7% enquanto indivíduos controle (n = 123) apresentaram frequência de 53.7%. (SANTIAGO *et al.*, 2008).

Nos resultados do presente estudo, pode-se perceber que para todas as populações de atletas e controle estudadas (entre as três regiões geográficas), a frequência de heterozigotos se mostrou menor em atletas do que indivíduos controle. Mesmo que estatisticamente não significativa, essa diferença chegou a 10% entre indivíduos do nordeste. O que pode indicar que, ainda que o futebol exija características mistas de performance, há uma tendência maior de frequência dos homozigotos em comparação com a população controle.

Além disso, outros estudos também observaram a não diferença entre frequências de atletas e controle para *ACE* (GALEANDRO *et al.*, 2017; CIĘSZCZYK *et al.*, 2016; WEI, 2021), *ACTN3* (GALEANDRO *et al.*, 2017; MASSIDDA *et al.*, 2012), inclusive estudos com atletas de futebol brasileiros, como os de Coelho e colaboradores (2018) e Salgueirosa e colaboradores (2017). Apesar de nenhuma diferença significativa, os estudos também apresentaram maior frequência dos alelos R em atletas de futebol profissionais do Brasil em comparação com indivíduos controle, e dentro da população de atletas os genótipos RX e ID foram os de maior frequência (COELHO *et al.*, 2018a; SALGUEIROSA *et al.*, 2017).

Sendo assim, admite-se que os polimorfismos *ACTN3 R577X* e *ACE I/D* talvez não sejam os melhores marcadores para o futebol, uma vez que as frequências não apresentam

divergência da população controle. Uma das explicações para isso é, novamente, o caráter misto do esporte, que faz com que, ainda que seja necessária uma alta frequência dos alelos R e D, os alelos X e I se fazem também importantes pelos momentos de alta resistência que o esporte exige.

No entanto, apesar da característica de ser um esporte misto, o futebol possui posições táticas com necessidades fisiológicas diferentes, o que foi considerado e, portanto, esperado encontrar diferenças significativas entre as posições.

Foi possível observar que, de fato, dentro do polimorfismo *ACTN3 R577X*, a posição de atacante foi a que apresentou a maior frequência de atletas homozigotos para R, genótipo conhecido pela característica de força e potência muscular, o que foi de acordo com a posição em questão, que demanda muitos momentos de explosão muscular e *sprint* (STØLEN *et al.*, 2005; CLOS *et al.*, 2020).

Já para o genótipo RX, as frequências mais observadas foram em Zagueiros e Goleiros, seguidos de atletas de Meio-Campo. O dado se mostra interessante pois Zagueiros e Meio-Campistas necessitam de resistência muscular, já que possuem a demanda de percorrer grandes distâncias durante o jogo, mas ao mesmo tempo é fácil supor que uma característica de velocidade possa conferir alguma vantagem para esses atletas. Sendo assim, o genótipo heterozigoto parece suprir ambas as necessidades.

Para homozigotos XX a maior frequência observada foi, de forma surpreendente, em atacantes. No entanto, logo em seguida encontram-se os Zagueiros e Laterais que, de fato, são posições que apresentam uma maior demanda de resistência muscular.

Ainda que seja possível observar essas distribuições, as diferenças não foram suficientes, de acordo com a estatística, para suportar dizer que as diferentes posições táticas demandam diferentes *backgrounds* genéticos.

Apesar de alguns trabalhos como de Egorova e colaboradores (2014) e Clos e colaboradores (2020) terem encontrado diferenças significativas entre as posições no futebol, onde goleiros apresentaram um aumento do alelo D do *ACE* (EGOROVA *et al.*, 2014) e, assim como no presente estudo, atacantes apresentarem maior tendência para o alelo R de *ACTN3* (CLOS *et al.*, 2020), outros trabalhos também não encontraram diferenças entre as posições táticas.

Como exemplo, não só não foram encontradas diferenças entre atletas de futebol e indivíduos controle, como também dentre as posições táticas em um estudo com atletas poloneses. Os atletas divididos entre atacantes, defensores, meio-campistas e goleiros não

apresentaram diferença significativa de frequências dos genótipos para *ACE* ID (CIĘSZCZYK *et al.*, 2016). Já um estudo com atletas lituanos revelou diferenças de frequências nos genótipos de *ACE* *II*D para defensores e meio-campistas (com frequência do genótipo ID aumentada), mas não para os atacantes e goleiros (GINEVICIENE *et al.*, 2014).

Essa falta de associação pode ser explicada pelo que foi mencionado anteriormente e já considerado como hipótese por outros autores, de que o esporte possui uma natureza mista, onde os sistemas anaeróbico e aeróbico se mostram como importantes fatores para a performance esportiva. Além disso, segundo levantado por Ciężczyk e colaboradores (2016), o futebol é um esporte onde a tática e técnica são tão importantes quanto a performance física, e essas características provavelmente não poderão ser explicadas por fatores genéticos. Pelo menos não os relacionados com a fisiologia muscular ou circulatória. Uma outra questão que pode ser levantada é a possibilidade de que o esporte possa estar, hoje, já muito diversificado e certas posições podem se sobrepor, ao mesmo tempo em que atletas podem atuar em mais de uma posição durante suas carreiras, o que faz com que uma especificidade possa ser mais dificilmente encontrada.

Por fim, um achado interessante foi a observação de uma maior frequência da combinação entre os dois heterozigotos, RX + ID, que tiveram frequência de 25% do total da amostra. Com isso, chegamos na confirmação, mais uma vez, que a combinação de potência com resistência muscular é importante no futebol.

Além dessa combinação, RR + DD e RR + ID apresentaram frequências notórias dentro da amostra. É interessante observar o dado pois mostra que a combinação de *ACTN3* RR com ao menos um alelo D de *ACE* é, de certa forma, vantajosa para atletas de futebol.

Um estudo com 43 atletas italianos mostrou uma tendência de prevalência de *ACTN3* RR e *ACE* DD em co-ocorrência (GALEANDRO *et al.*, 2017) e Egorova e colaboradores (2014) afirmaram, a partir de seus resultados, que *ACE* D e *ACTN3* R se mostram vantajosos para a performance no futebol, e ter esses alelos (em conjunto com outros apontados no estudo), aumenta a probabilidade de se tornar um atleta de futebol de elite (EGOROVA *et al.*, 2014).

Todos esses dados, em conjunto, admitem a noção de que a força e potência muscular possui um papel importante na determinação do sucesso no futebol, ainda que o metabolismo anaeróbico domine a forma de produção de energia no esporte (BANGSBO, NØRREGAARD, THORSØE, 1991; REILLY & THOMAS, 1976).

Sendo assim, se tratando de um esporte de equipe com caráter misto - dependente de força e também de potência muscular, além de outras habilidades que não estão inerentes ao

perfil físico do atleta, como a tática e o próprio trabalho de interação em equipe (BARH & AHMETOV, 2019) -, o presente estudo mostra no futebol brasileiro um aumento de frequência para heterozigotos, além da falta de diferença alélica significativa com indivíduos controle, que pode ser explicada pelo aumento da frequência do alelo X, em comparação com trabalhos com atletas de força e potência muscular, e uma falta de diferença entre as posições táticas, que não só podem ser hoje em dia muito difíceis de delimitar como também parecem necessitar de ambas as características de força e potência muscular para uma performance de alto nível e possivelmente decisiva.

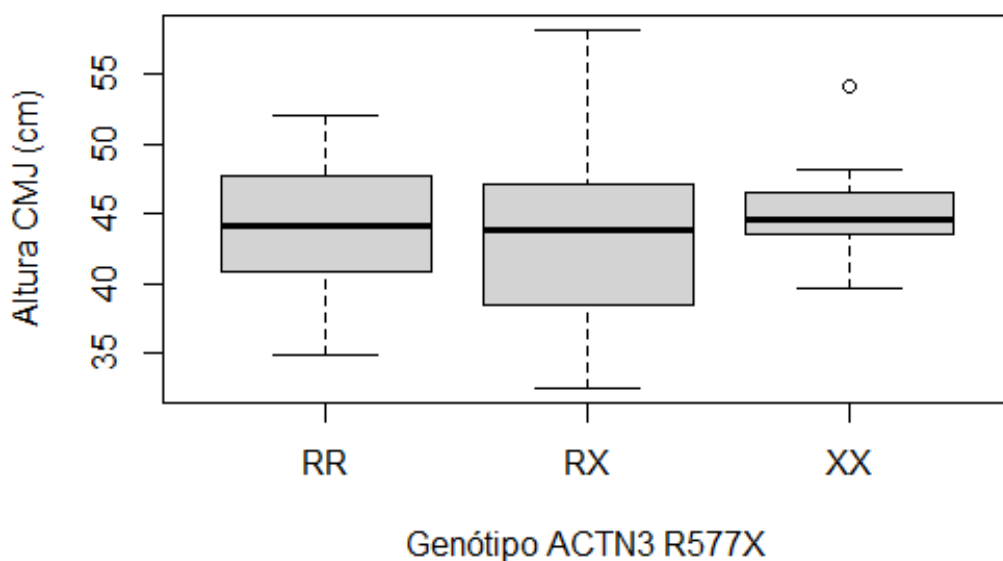
4.2 RELAÇÃO DOS POLIMORFISMOS *ACTN3 R577X* E *ACE I/D* COM POTÊNCIA MUSCULAR

4.2.1 Resultados

A potência muscular foi analisada através da altura do salto no teste de *countermovement jumps* (CMJ). Para análise, foi calculada a média de altura do CMJ para cada genótipo de cada polimorfismo (para observar os dados de forma tabelada, consultar Apêndices A e B).

Para *ACTN3* o resultado gráfico pode ser visualizado pelo *boxplot* da Figura 11.

Figura 11: Gráfico do tipo *boxplot* mostrando a média dos valores de altura do salto (em centímetros) no teste de CMJ para cada um dos genótipos de *ACTN3 R577X*. Além das médias, os valores máximos, terceiro quartil, primeiro quartil e o valor mínimo para cada um dos grupos, além de um *outlier* em XX, podem ser visualizados.

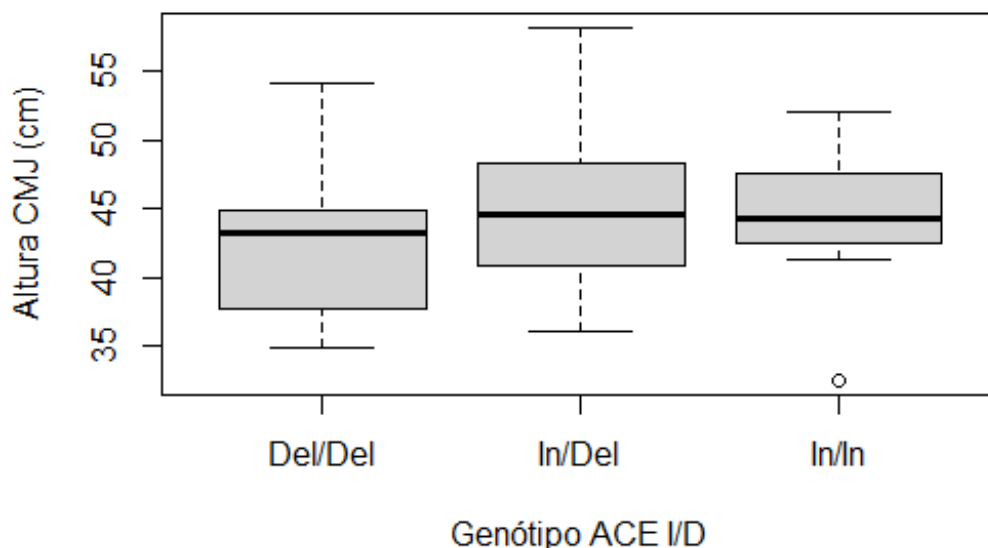


Fonte: Elaborada pela autora (2021).

A maior média de altura do CMJ em *ACTN3 R577X* foi observada no genótipo XX, com 45.42 cm (dp = 4.21; mediana = 44.65; dam = 1.56; min = 39.7; max = 54.1; var = 14.4)³, seguido de RR com média 43.93 cm (dp = 4.81; mediana = 44.1; dam = 5.04; min = 34.8; max = 52.1; var = 17.3) e por fim RX com média 43.25 cm (dp = 6.65; mediana = 43.8; dam = 6.75; min = 32.5; max = 58.2; var = 25.7).

Para *ACE I/D* a mesma análise foi realizada e os resultados podem ser observados na Figura 12.

Figura 12: Gráfico do tipo *boxplot* mostrando a média dos valores de altura do salto (em centímetros) no teste de CMJ para cada um dos genótipos de *ACE I/D*. Além das médias, os valores máximos, terceiro quartil, primeiro quartil e o valor mínimo para cada um dos grupos.



Fonte: Elaborada pela autora (2021).

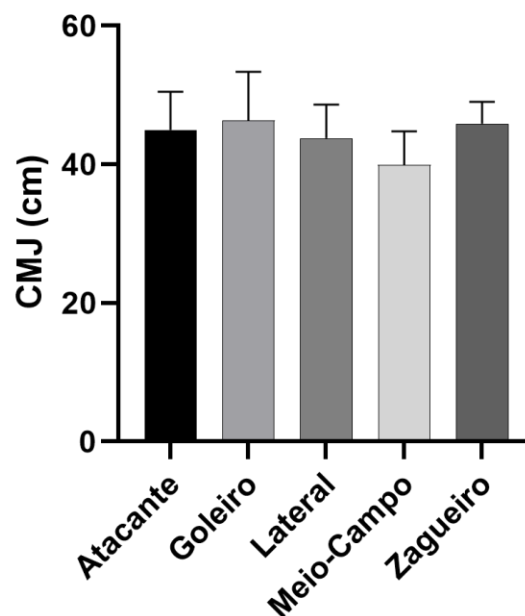
A maior média de altura do salto em *ACE I/D* foi observada para o genótipo ID com 45.01 cm (dp = 5.37; mediana = 44.6; dam = 5.63; min = 36; max = 58.2; var = 22.2), seguido do genótipo II com 44.19 cm (dp = 5.94; mediana = 44.3; dam = 2.67; min = 32.5; max = 52.1; var = 19.6) e por fim o genótipo DD com 42.12 cm (dp = 5.23; mediana = 43.3; dam = 5.38; min = 34.8; max = 54.1; var = 19.3).

³ dp – desvio padrão,
dam – desvio absoluto médio,
min – valor mínimo,
max – valor máximo,
var – variação (diferença entre o maior e menor valor).

A ANOVA de duas vias mostrou que não há efeito dos genótipos de *ACTN3* e *ACE*, isoladamente, nos valores de CMJ (para *ACTN3*: $F(2, 36) = 2.547$ $p = 0.0924$; para *ACE*: $F(2, 36) = 2.264$ $p = 0.1185$) e nem mesmo a interação dos genes apresenta influência significativa nos valores de potência muscular ($F(4, 36) = 1.737$ $p = 0.1633$). Análises subsequentes com o teste de Tukey mostraram que não houve influência significativa entre nenhuma das combinações dos genótipos com os valores de CMJ.

Ao se analisar o CMJ dentro das posições táticas, observa-se o gráfico na Figura 13.

Figura 13: Gráfico em barras mostrando a média de altura do salto (em centímetros) e desvio padrão, para cada uma das posições táticas divididas: Atacante, Goleiro, Lateral, Meio-Campo e Zagueiro.



Fonte: Elaborada pela autora (2021).

As maiores médias para CMJ foram encontradas entre os Goleiros, com 46.33 cm, seguidos pelos Zagueiros, com 45.9 cm, Atacantes com 44.99 cm, Laterais com 43.75 cm e Meio-Campo em último lugar com 39.95 cm.

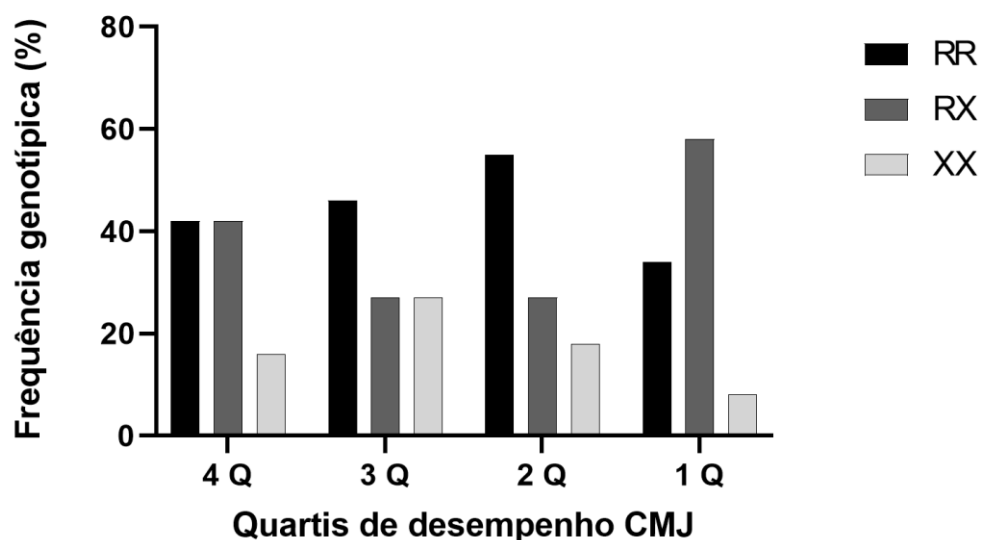
Isoladamente comparando os valores de CMJ levando em conta apenas as posições táticas, não foram encontradas diferenças entre os grupos ($F(4, 29) = 2.552$ $p = 0.0603$). Ao se avaliar os valores de CMJ comparados dentre os diferentes genótipos divididos pelas posições táticas avaliadas, a ANOVA de duas vias se mostrou significativa para o *ACTN3* ($F(4, 20) = 3.495$ $p = 0.0255$) mas o *post-hoc* de Tukey não identificou quais foram os grupos que diferiram

entre si. Enquanto isso, para *ACE* não houve diferença significativa ($F(8, 29) = 1.257$ $p = 0.3032$). O *post-hoc* de Tukey também não indicou nenhuma diferença entre os grupos.

Os valores de CMJ foram também divididos entre quartis de desempenho e as frequências de cada genótipo para cada polimorfismo foram comparadas a fim de verificar alguma influência.

Para *ACTN3* foi possível observar que o Quartil superior de desempenho (4 Q) obteve frequências iguais para RR e RX (de 42% ambos), enquanto que XX foi o genótipo com menor frequência, com 16%. Já para o Quartil 3, a frequência de RX e XX se iguala a 27%, sendo essa a maior frequência encontrada para XX entre todos os quartis, enquanto o genótipo RR continua sendo o de maior frequência, com 46%. Nos dois quartis inferiores de desempenho, começando com o Quartil 2, o genótipo RR continua tendo maior expressividade, com 57%, com RX em seguida com 27% e XX após, com 18%, sua segunda maior porcentagem entre os quartis. Por fim, o quartil mais inferior de desempenho, 1 Q, apresentou o RX como maior frequência, com 58%, seguido do RR com uma frequência bem menor de 34% e XX com 8%, como se vê na Figura 14.

Figura 14: Gráfico de barras mostrando a frequência genotípica (em porcentagem - eixo y) de cada um dos genótipos de *ACTN3 R577X* (nas barras - RR em preto, RX em cinza escuro e XX em cinza claro) para cada quartil de desempenho no CMJ. No eixo X temos 4Q que corresponde ao quarto quartil (onde estão os maiores valores), seguido de 3Q que corresponde ao terceiro quartil, 2Q que corresponde ao segundo quartil e 1Q que corresponde ao primeiro quartil (com os menores valores obtidos no teste).

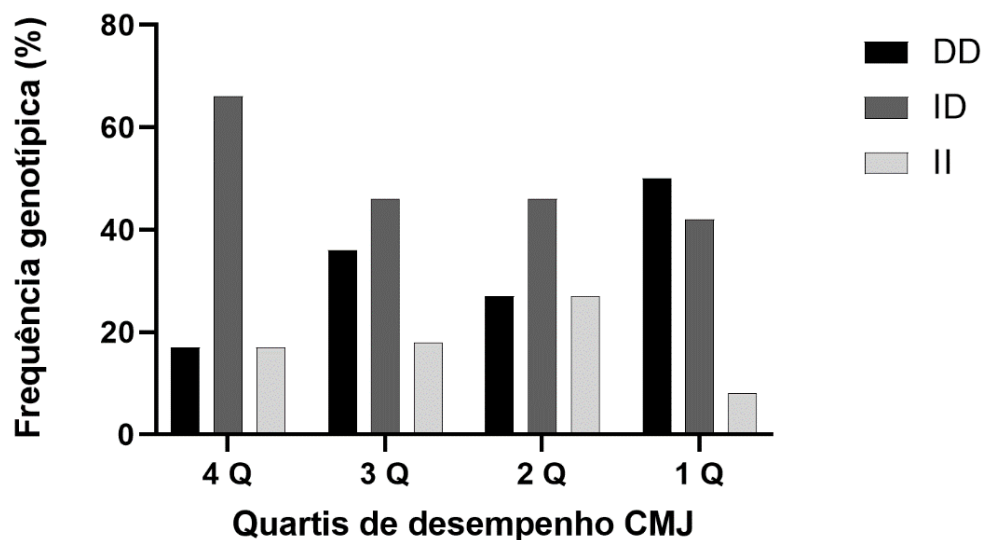


Fonte: Elaborada pela autora (2021).

Foi realizado o teste de Fisher para verificar se as diferenças de frequência dos genótipos entre os quartis são estatisticamente significativas e o $p = 0.4477644$ indicou não haver diferença estatística.

Para o *ACE*, o maior quartil de desempenho, 4 Q, apresentou uma frequência igual de homozigotos DD e II, com 17% cada, enquanto o heterozigoto se sobressaiu com 66%. No terceiro quartil o heterozigoto continua apresentando a maior frequência, com 46%, seguido do homozigoto para D com 36% e por último o homozigoto para I, com 18% de frequência. No segundo pior quartil de desempenho, 2 Q, temos o heterozigoto em maior frequência também, com 46%, mas os homozigotos igualam novamente suas frequências, com 27%, sendo essa a maior frequência alcançada por II. Por fim, o pior quartil de desempenho, 1 Q, teve um aumento expressivo de DD, com 50% de frequência, seguido de ID com 42% e II por último, com 8% de frequência, como observa-se na Figura 15.

Figura 15: Gráfico de barras mostrando a frequência genotípica (em porcentagem - eixo y) de cada um dos genótipos de *ACE I/D* (nas barras - DD em preto, ID em cinza escuro e II em cinza claro) para cada quartil de desempenho no CMJ. No eixo X temos 4Q que corresponde ao quarto quartil (onde estão os maiores valores), seguido de 3Q que corresponde ao terceiro quartil, 2Q que corresponde ao segundo quartil e 1Q que corresponde ao primeiro quartil (com os menores valores obtidos no teste).

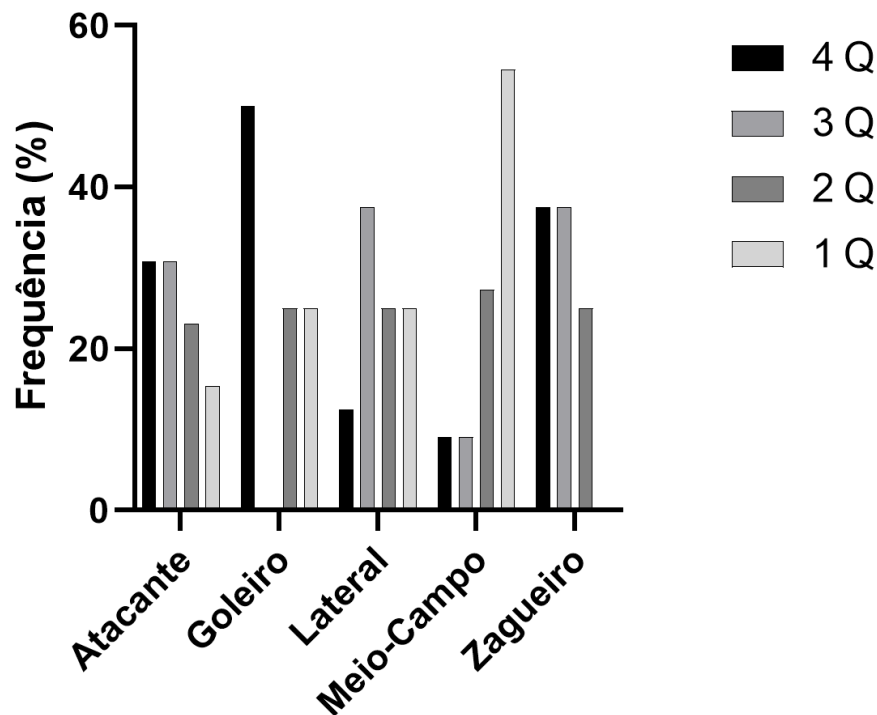


Fonte: Elaborada pela autora (2021).

O Teste de Fisher indicou não haver diferenças estatísticas nos valores de CMJ entre os quartis ($p = 0.4228828$).

Por fim, foi verificado o desempenho de cada posição tática avaliando-se a frequência dos quartis dentro de cada grupo, como mostra a Figura 16.

Figura 16: Gráfico em barras mostrando a frequência (em porcentagem – eixo y) de cada uma das posições divididas (atacante, goleiro, lateral, meio-campo e zagueiro – eixo x) entre os quartis de desempenho de CMJ (barras - 4Q que corresponde ao quarto quartil [onde estão os maiores valores], seguido de 3Q que corresponde ao terceiro quartil, 2Q que corresponde ao segundo quartil e 1Q que corresponde ao primeiro quartil [com os menores valores obtidos no teste]).



Fonte: Elaborada pela autora (2021).

Atacantes apresentaram maior frequência dos Quartis 4 e 3, ambos com 30.77%, seguido dos quartis 2 e 1, com 23.08% e 15.38% respectivamente. Goleiros apresentaram 50% de frequência do Quartil 4 e 25% dos quartis 1 e 2, sem a presença de valores no Quartil 3. Laterais tiveram sua maior frequência no Quartil 3, com 37.5%, seguido os quartis 2 e 1 com 25% e Quartil 4 com 12.5%. Meio-Campo apresentou maior frequência do Quartil 1, com 54.55%, Quartil 2 com 27.27% e quartis 3 e 4 com 9.09% ambos. Por fim, Zagueiros apresentaram maior frequência nos quartis 4 e 3, ambos com 37.5%, seguidos do Quartil 2, com 25%, não encontrando-se valores no Quartil 1.

Apesar dessas diferenças, a análise da frequência dos quartis de desempenho em cada posição tática também não mostrou significância entre os grupos, com $p = 0.385427$.

4.2.2 Discussão

A proteína α -actina-3 é um importante componente da linha Z do sarcômero (MACARTHUR & NORTH, 2004), sendo presente quase exclusivamente em fibras musculares rápidas (tipo II), onde a proteína além de ser crucial para a contração rápida também confere uma maior capacidade de absorção e transmissão da força, por estabilizar o aparato contrátil (MILLS *et al.*, 2001). Considerando essas características, aqueles que possuem a proteína parecem ter maior capacidade muscular de força, fator fortemente limitante para performance em diversos esportes (dentre eles, o futebol) (MASSIDDA *et al.*, 2012).

Já em relação ao *ACE I/D*, estudos apontam a relação do polimorfismo com força muscular, onde uma maior presença da enzima está diretamente relacionada com maior força muscular, principalmente em resposta ao treinamento (FOLLAND *et al.*, 2000; GIACCAGLIA *et al.*, 2008; WILLIAMS *et al.*, 2005). Essa associação pode ser relacionada ao fato de que a enzima conversora de angiotensina é expressa no músculo esquelético, onde a Angiotensina II se mostra um fator necessário para a transdução de forças para produzir crescimento muscular (WILLIAMS *et al.*, 2005). Além disso, Zhang e colaboradores demonstraram associação de uma maior presença da enzima conversora de angiotensina com uma proporção maior de fibras musculares do tipo II, de contração rápida (ZHANG *et al.*, 2003).

No presente estudo não foram encontradas diferenças significativas entre os genótipos de *ACTN3 R577X* e *ACE I/D*, nem individualmente nem em conjunto, em relação à força muscular acessada através do salto vertical. O que vai de acordo com estudos em atletas de basquete (GARATACHEA *et al.*, 2014) e atletas de voleibol (RUIZ *et al.*, 2011), onde não foram encontradas relações entre testes de salto (um deles também *countermovement jump*) e o genótipo para *ACTN3*.

Koku e colaboradores (2019), ao avaliar atletas amadores de futebol caucasianos também não encontraram nenhuma relação significativa entre os genótipos de *ACTN3 R577X* e as performances no teste de *countermovement jump*. O estudo também avaliou indivíduos sedentários e não obteve diferenças significativas (KOKU *et al.*, 2019) com atletas de futebol e, assim sendo, nenhuma relação com a performance em CMJ.

Poucos estudos comparam a performance em CMJ com genótipos de *ACE I/D*. Uma pesquisa conduzida com 58 atletas de rugby, que buscou avaliar a potência muscular das pernas, também não encontrou diferenças significativas entre os genótipos e a performance de salto no teste de CMJ (BELL *et al.*, 2010).

É importante ressaltar que todas as médias obtidas como resultado apresentaram grandes valores de desvio padrão, chegando a até 6.65 cm para RX. Esse fato pode ter sido responsável pela perda de diferenças significativas entre os genótipos estudados.

Sendo assim, apesar de alguns trabalhos concordarem com os achados no presente estudo, muitos outros encontraram associação da altura do salto com genótipos de *ACTN3* e *ACE*. Atletas poloneses de diferentes esportes (voleibol, natação, canoagem e hockey no gelo) apresentaram associação onde a média de salto do genótipo RR foi significativamente maior do que o XX de *ACTN3* (ORYSIAK *et al.*, 2014).

Enquanto isso, Dionísio e colaboradores (2017) encontraram índices superiores de performance no salto e testes de *sprint* para atletas com o genótipo DD para *ACE*. Nesse estudo, realizado com atletas brasileiros de futebol, os genótipos RR e RX para *ACTN3* também mostraram as melhores performances (DIONÍSIO *et al.*, 2017).

De modo geral, o que se observa em grande parte da literatura onde é vista uma associação entre a força muscular e os genótipos é que: para *ACTN3* os genótipos RR e RX apresentam as melhores performances de força e potência (MASSIDDA, SCORCU, CALÒ, 2014; PIMENTA *et al.*, 2012; DRUZHEVSKAYA *et al.*, 2008; KIKUCHI *et al.*, 2014) e para *ACE* os genótipos DD e ID (ATABAŞ *et al.*, 2020; FOLLAND *et al.*, 2000; PAPADIMITRIOU *et al.*, 2016) possuem destaque na performance dos mesmos aspectos.

No entanto, no presente estudo as maiores médias de CMJ foram observadas para o genótipo XX de *ACTN3* e o genótipo ID para *ACE*, sendo 45.42 cm e 45.01 cm, respectivamente. Os menores valores médios para cada um dos genes ficaram para RX e DD, com 43.25 cm e 42.12 cm, respectivamente. Bell e colaboradores (2012) também não encontraram diferenças significativas em atletas de rugby e, da mesma forma que o presente estudo, ao contrário das expectativas, encontraram a maior média de CMJ para o genótipo XX em comparação às médias de RR e RX (BELL *et al.*, 2012).

Ao observarmos as características de altura do salto por posição, é possível encontrar diferença estatística ao analisarmos a influência do *ACTN3*, já que a ANOVA de duas vias se mostrou significativa ($p = 0,0255$). Sendo assim, existe uma relação entre a capacidade de salto e os genótipos do polimorfismo, considerando as posições táticas divididas. No entanto, o *post-hoc* não foi capaz de identificar onde estaria essa diferença entre os grupos, tornando difícil inferir para qual das posições táticas e de que forma o genótipo influencia na performance, cabendo apenas uma análise mais individual considerando os outros resultados apresentados.

Em um estudo também de Bell e colaboradores (2010), novamente com atletas de rugby, também foram encontradas diferenças entre os atletas divididos entre “*forwards*”, aqueles que atuam na linha de frente, e “*backs*”, os que jogam na linha de trás. Foi possível observar que atletas de posições caracterizadas como “*backs*” possuíam significativamente maiores valores de potência muscular dentro do genótipo ID (BELL *et al.*, 2010).

De acordo com os resultados, é importante notar que Goleiros apresentaram a maior média de desempenho no salto, o que vai de acordo com as características da posição, onde há uma necessidade de potência e resposta muscular mais rápida para realizar defesas, além do fato de que normalmente eles são os atletas mais altos da equipe (BOONE *et al.*, 2012), como também demonstrado pelos dados que apontaram a maior média de altura e massa corporal para goleiros. Enquanto isso, a menor média de desempenho ficou para Meio-Campistas que, de fato, possuem uma maior característica de resistência muscular (e não de força), já que cobrem uma maior distância durante o jogo, como discutem alguns trabalhos clássicos de fisiologia do futebol como Reilly e Thomas (1976), Ekblom (1986) e Bangsbo e colaboradores (1991).

Os dados concordam com os achados de Haugen e colaboradores (2013), onde Meio-Campistas também tiveram uma menor capacidade de salto do que outras posições. Nesse mesmo estudo, Goleiros também tiveram a melhor performance entre as posições, assim como foi observado por Boone e colaboradores (2012) (HAUGEN, TØNNESSEN, SEILER, 2013; BOONE *et al.*, 2012). Nesse último, atletas de futebol poloneses foram avaliados mostrando, novamente, que Goleiros e Zagueiros apresentaram os melhores resultados de salto (BOONE *et al.*, 2012).

Além desses estudos, duzentos e setenta atletas de futebol Croatas também foram avaliados em relação ao CMJ de acordo com suas posições e, apesar de também não apresentarem diferenças significativas, as melhores médias de salto vertical também foram detectadas para Goleiros (SPORIS *et al.*, 2009).

Porém, como no presente estudo os valores de CMJ poderiam variar muito dentro de cada grupo, optou-se pela divisão entre quartis para observar a possibilidade de maiores frequências de certos genótipos em quartis inferiores ou superiores de desempenho.

Ainda que não tenha sido verificada significância em nenhuma das comparações entre quartis, genes e posições (em conjunto e isoladamente), é interessante perceber que quartis superiores de desempenho apresentaram RR como o genótipo de maior frequência, enquanto que o quartil mais inferior de desempenho (1Q) é o único onde isso não acontece, onde RX se

sobressai em frequência. Os resultados se mostram concordantes com o que já foi discutido anteriormente sobre a associação desses genótipos com força e potência muscular.

Em relação ao *ACE*, o heterozigoto se sobressai em todas as categorias com exceção do quartil mais inferior, onde a maior frequência é vista para o homozigoto DD.

Por fim, ao analisarmos as posições isoladamente, sem considerarmos a genética, posições como atacante aparecem com destaque nos quartis mais superiores e Meio-Campistas apresentam maior frequência dentro de quartis inferiores. É um dado que, apesar de não significativo estatisticamente, mostra que essas posições estão, de fato, demonstrando performance diferente e de acordo com o que é esperado e já foi discutido anteriormente através das médias para cada grupo.

De forma geral, os resultados demonstram que parece não haver influência genética de *ACE* e *ACTN3* no desempenho de atletas no teste de *countermovement jumps*.

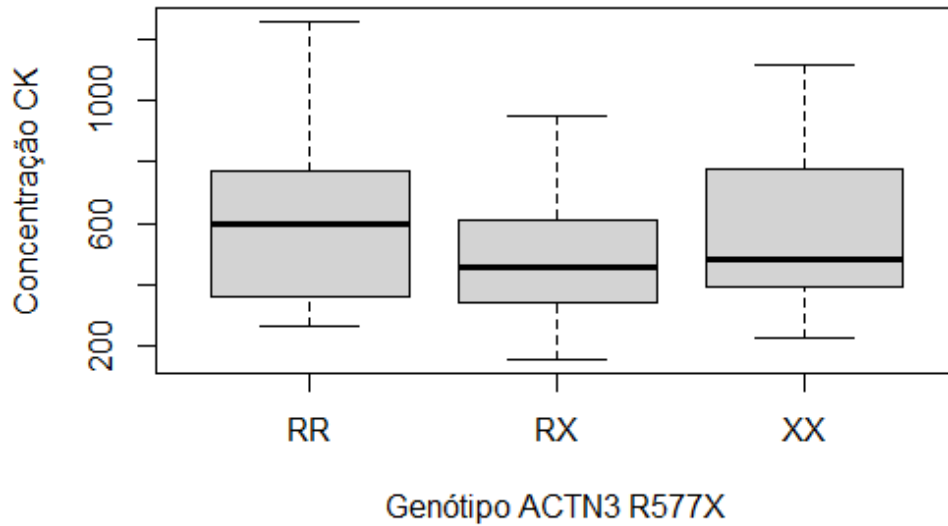
4.3 RELAÇÕES DOS POLIMORFISMOS *ACTN3 R577X* E *ACE I/D* COM MARCADOR DE LESÃO MUSCULAR

4.3.1 Resultados

Os níveis de CK foram avaliados de acordo com os grupos de genótipos para cada polimorfismo. Para isso, se utilizou a média para comparação após a remoção de *outliers* em cada grupo. Para *ACTN3* obtive o *boxplot* na Figura 17 (para observar os dados de forma tabelada, consultar Apêndices A e B).

A maior média de níveis de CK sanguínea foi no RR, com 610.56 U/L (dp = 265.87; mediana = 597.33; dam = 332.52; min = 262.93; max = 1254.57; var = 991.64), seguido do grupo XX com média igual a 557.95 U/L (dp = 284.79; mediana = 480.17; dam = 322.08; min = 230; max = 1112; var = 791.23) e por último o grupo RX com média de 491.01 U/L (dp = 189.34; mediana = 459.89; dam = 196.17; min = 158.89; max = 950.12; var = 791.23).

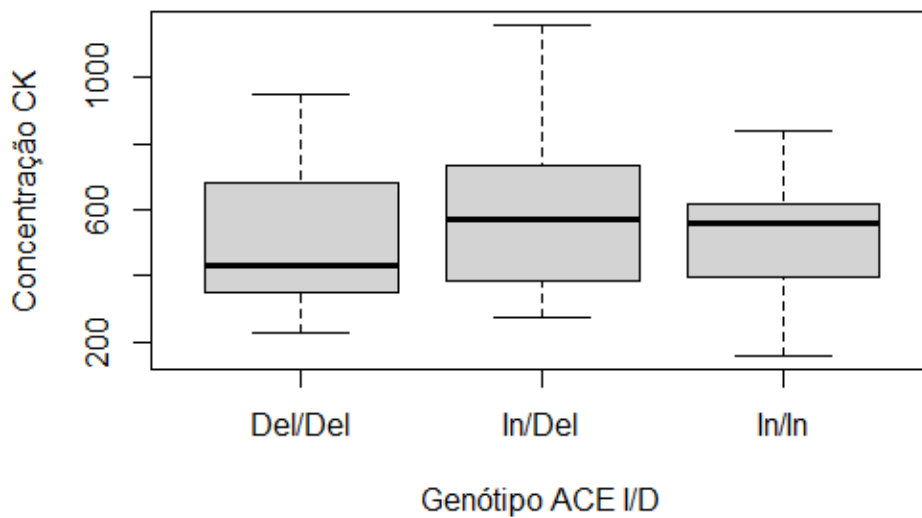
Figura 17: Gráfico do tipo *boxplot* mostrando a média dos valores de concentração de CK sanguínea (em U/L – eixo Y) para cada um dos genótipos de *ACTN3 R577X* (eixo X). Além das médias, os valores máximos, terceiro quartil, primeiro quartil e o valor mínimo para cada um dos grupos podem ser visualizados.



Fonte: Elaborada pela autora (2021).

Para *ACE I/D* também foram retirados os *outliers* para a média em cada grupo. Para visualização gráfica dos dados foi gerada a Figura 18.

Figura 18: Gráfico do tipo *boxplot* mostrando a média dos valores de concentração de CK sanguínea (em U/L – eixo Y) para cada um dos genótipos de *ACE I/D* (eixo X). Além das médias, os valores máximos, terceiro quartil, primeiro quartil e o valor mínimo para cada um dos grupos.



Fonte: Elaborada pela autora (2021).

A maior média de CK foi visualizada para o genótipo ID com média de 597.51 (dp = 248.76; mediana = 569.69; dam = 257.56; min = 273.25; max = 1158.83; var = 885.58), seguido de II com média 520.07 (dp = 200.58; mediana = 556.36; dam = 151.98; min = 158.89; max = 841.41; var = 682.52) e por último o genótipo DD com média 510.99 (dp = 221.7; mediana = 428.39; dam = 245.31; min = 230; max = 950.12; var = 720.12).

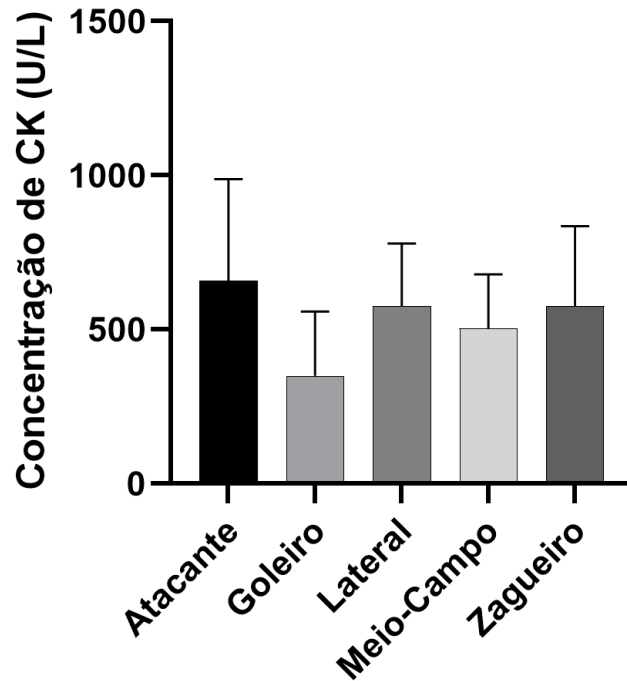
No entanto, a ANOVA de duas vias mostrou que não houve efeito dos genótipos de *ACTN3* e *ACE*, isoladamente, nos valores de CK (para *ACTN3*: $F(2, 53) = 2.274$ $p = 0.1129$; para *ACE*: $F(2, 53) = 1.955$ $p = 0.1517$) e mesmo quando analisamos os genes em conjunto não é possível observar influência significativa nos valores de concentração da proteína ($F(4, 53) = 2.385$ $p = 0.0627$). Análises subsequentes com o teste de Tukey mostraram também que não houve influência significativa entre nenhuma das combinações dos genótipos com os valores apresentados de CK.

Ao se analisar a CK dentro das posições táticas, observou-se as maiores médias entre os atacantes, com 660 U/L, seguidos pelos Zagueiros com 577.2 U/L, Laterais com 575.7 U/L, Meio-Campo com 502.7 U/L e a menor média foi encontrada para os Goleiros, com 349 U/L (Figura 19).

A ANOVA de uma via indicou não haver diferenças significativas entre os níveis de CK nas posições táticas ($F(4, 60) = 1.560$ $p = 0.1966$) e ao performar uma ANOVA de duas vias considerando-se os genes como uma outra variável, também não houve diferença significativa (**para ACE**: $F(6, 50) = 0.6255$ $p = 0.7090$; **para ACTN3**: $F(6, 50) = 1.482$ $p = 0.2036$). O teste de *post-hoc* não apresentou diferença significativa entre nenhum dos grupos.

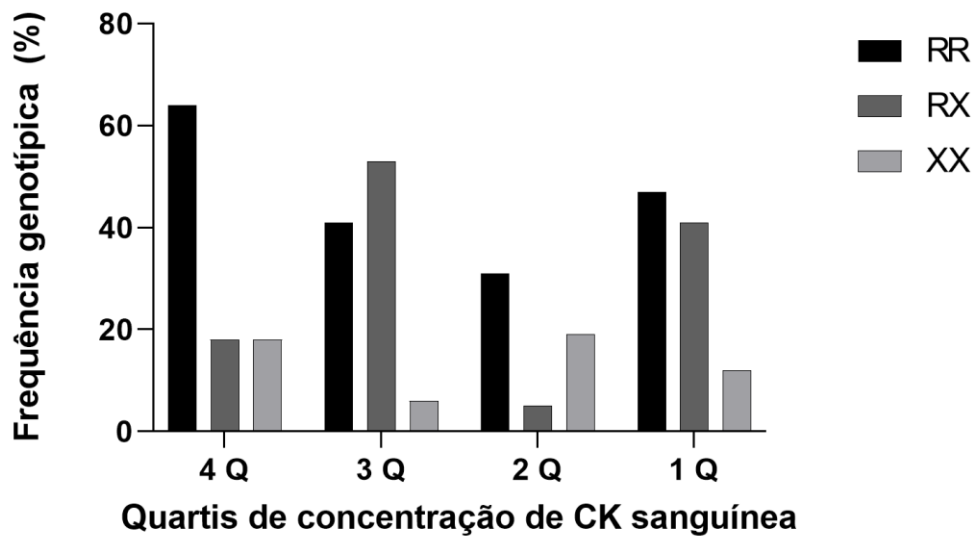
No entanto, ao se dividir os valores de CK entre quartis, é possível perceber diferenças entre as frequências genotípicas em cada quartil. A Figura 20 apresenta a distribuição das frequências, em porcentagem, dos genótipos de *ACTN3 R577X* para cada quartil.

Figura 19: Gráfico em barras mostrando a média de concentração de CK (em /L – eixo Y) e desvio padrão, para cada uma das posições táticas divididas: Atacante, Goleiro, Lateral, Meio-Campo e Zagueiro (eixo X).



Fonte: Elaborada pela autora (2021).

Figura 20: Gráfico de barras mostrando a frequência genotípica (em porcentagem - eixo y) de cada um dos genótipos de *ACTN3 R577X* (nas barras - RR em preto, RX em cinza escuro e XX em cinza claro) para cada quartil de concentração de CK sanguínea pós-jogo. No eixo X temos 4Q que corresponde ao quarto quartil (onde estão os maiores valores), seguido de 3Q que corresponde ao terceiro quartil, 2Q que corresponde ao segundo quartil e 1Q que corresponde ao primeiro quartil (com os menores valores de concentração apresentados).



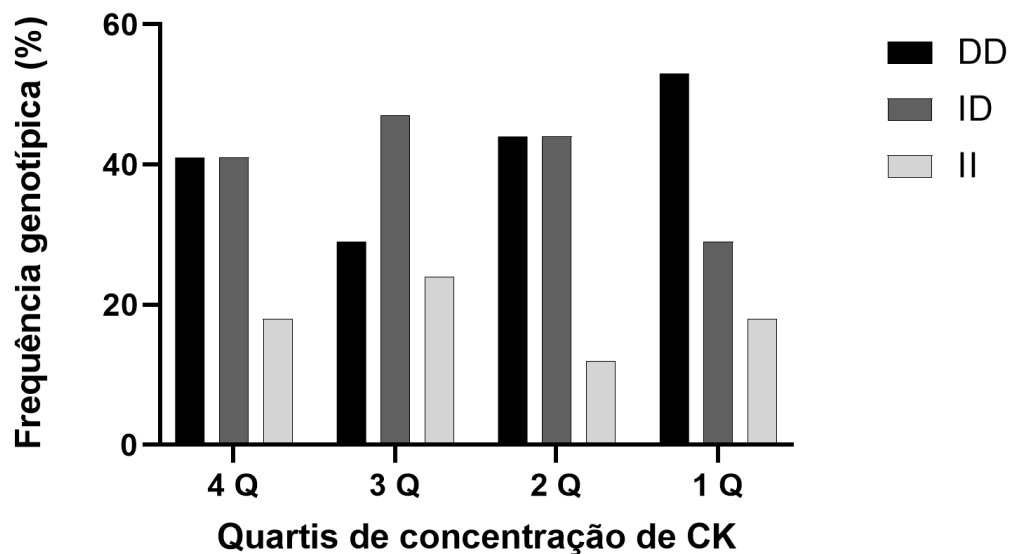
Fonte: Elaborada pela autora (2021).

O quartil número 4 (4 Q) é o que possui os maiores valores de CK sanguínea. Como podemos observar no gráfico, esse quartil apresentou uma frequência bastante expressiva de RR, representando 64% dos atletas que possuíram os maiores índices de CK, seguido pelos outros genótipos com frequências iguais de 18%. Já no terceiro quartil, 3 Q, a frequência maior é observada para o heterozigoto, com 53%, seguido do homozigoto para R, com 41%, e por último o homozigoto para X com 6%, seu menor valor entre os quartis. Já nos dois quartis inferiores, começando com o segundo quartil (2 Q), temos uma diminuição na frequência de RR para 31%, RX é a maior frequência com 50% e XX tem sua maior representatividade entre os quartis com 19%. No último quartil, onde os índices de CK são os menores, RR representa 47% dos atletas, com RX logo em seguida com 41% e XX sendo 12% da amostra.

Apesar de ser possível observar a diferença das frequências, essas diferenças não foram consideradas estatisticamente significativas através do teste de Fisher ($p= 0.2300467$).

Para o gene *ACE* a mesma análise foi feita e podemos verificar visualmente os resultados na Figura 21.

Figura 21: Gráfico de barras mostrando a frequência genotípica (em porcentagem - eixo y) de cada um dos genótipos de *ACE I/D* (nas barras - DD em preto, ID em cinza escuro e II em cinza claro) para cada quartil de concentração de CK sanguínea pós-jogo. No eixo X temos 4Q que corresponde ao quarto quartil (onde estão os maiores valores), seguido de 3Q que corresponde ao terceiro quartil, 2Q que corresponde ao segundo quartil e 1Q que corresponde ao primeiro quartil (com os menores valores de concentração apresentados).



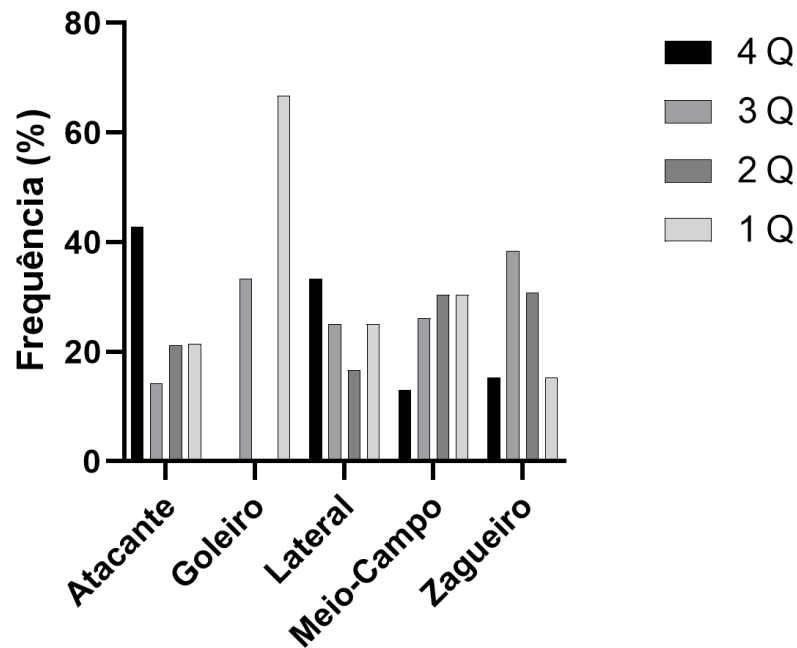
Fonte: Elaborada pela autora (2021).

As frequências de DD e ID foram iguais no quarto quartil, com 41%, e II com 18%. No terceiro quartil a frequência de DD diminui drasticamente para 29%, enquanto ID representa a maior frequência com 47% e II tem sua maior frequência entre os quartis, com 24%. No segundo quartil os valores de DD e ID se igualam com 44% e II representa 12% do grupo e, por fim, no último quartil de CK, o que possui os menores valores, DD aparece em primeiro, com sua maior frequência entre os quartis, com 53%, enquanto ID representa 29% do grupo e II 18%. O teste de Fisher também indicou que as diferenças não foram estatisticamente significativas com $p = 0.8830269$.

Por fim, os quartis foram analisados de acordo com as posições táticas como mostra a Figura 22. Dentro da categoria de atacantes, as maiores frequências foram de concentração no Quartil 4 (42.86%), seguido do Quartil 2 e 1 (ambos com 21.24%) e Quartil 3 por fim (14.29%), Goleiros apresentaram 66.67% do Quartil 1 e 33.33% do Quartil 2, não sendo presente nos outros quartis. Laterais apresentaram 33,33% de frequência do Quartil 4, Quartis 3 e 1 após com 25% e Quartil 2 com 16.67%. Meio-Campo apresentou maiores frequências dos Quartis 2 e 1, ambos com 30.43%, Quartil 3 com 26.09% e por último o Quartil 4 com 13.04%. Por fim, Zagueiros apresentaram maior frequência do Quartil 3, com 38.46%, seguido do Quartil 2 com 30.77% e os quartis 1 e 4 empatados com 15.38% de frequência (Figura 22).

Apesar das diferenças apontadas, a análise da distribuição de posições táticas entre os quartis de índices de CK também não mostrou diferença significativa entre os grupos, com $p = 0.6392444$.

Figura 22: Gráfico em barras mostrando a frequência (em porcentagem – eixo y) de cada uma das posições divididas (atacante, goleiro, lateral, meio-campo e zagueiro – eixo X) entre os quartis de concentração de CK (barras - 4Q que corresponde ao quarto quartil [onde estão os maiores valores], seguido de 3Q que corresponde ao terceiro quartil, 2Q que corresponde ao segundo quartil e 1Q que corresponde ao primeiro quartil [com os menores valores de concentração obtidos]).



Fonte: Elaborada pela autora (2021).

4.3.2 Discussão

A creatinoquinase é uma enzima citoplasmática que tem sua concentração aumentada após dano no músculo esquelético causado por exercício extenuante. Quando a intensidade do exercício é grande, um aumento na permeabilidade da membrana plasmática e a própria ruptura das células fazem com que a proteína CK esteja mais presente na circulação, fazendo da mesma uma espécie de marcador bioquímico indicativo de exercício intenso e dano muscular (BRANCACCIO, LIPPI, MAFFULLI, 2010).

Os resultados mostraram não haver diferença significativa entre os genótipos e os índices de CK sanguínea, individualmente para cada polimorfismo e na combinação dos dois. No entanto, ainda que sem diferenças significativas, uma maior média de níveis de CK foi observada para os genótipos RR e ID, de *ACTN3* e *ACE*, respectivamente.

Clarkson e colaboradores (2005) também não observaram diferenças nos níveis de CK em seu estudo realizado com indivíduos não atletas. Os níveis foram comparados antes e após o exercício excêntrico, onde não foi observado nenhum aumento associado com os genótipos de *ACTN3 R577X* (CLARKSON *et al.*, 2005). O resultado, assim como o do presente estudo,

foi contrário as expectativas de que o alelo XX demonstraria maiores níveis de CK pós exercício, em comparação aos outros genótipos.

O que se percebe na literatura é que, de forma geral, existe uma diferença entre os genótipos, e os maiores níveis de CK ou de dano muscular no geral (através da coleta de dados por registro médico, por exemplo) são observados para o genótipo XX de *ACTN3*. Isso foi relatado por estudos como o de Larruskain e colaboradores (2018). Neste, atletas de elite do futebol foram avaliados a respeito da influência de 37 SNPs já estudados previamente com relação à lesão musculoesquelética. Destes SNPs, 5 foram relacionados significativamente, *ACTN3 R577X* sendo um deles onde, como dito anteriormente, os maiores níveis foram para o genótipo XX, apesar do genótipo RR apresentar uma recuperação mais demorada (LARRUSKAIN *et al.*, 2018).

Clos e colaboradores (2019) também observaram, em atletas de futebol, o genótipo XX tendo os maiores índices de lesão musculoesquelética, seguidos de RR e RX. As lesões foram avaliadas através de registro médico e não foi encontrada relação com severidade e tempo de recuperação (CLOS *et al.*, 2019). De mesma forma, Massidda e colaboradores (2019) também encontraram associação dos maiores índices de lesão em atletas de futebol profissionais da Itália com genótipo XX. Nesse trabalho, tanto maior probabilidade como maior gravidade da lesão foram relacionados com o genótipo XX (MASSIDDA *et al.*, 2019).

Assim como os mencionados anteriormente, Vincent e colaboradores (2010) também viram essa associação com o genótipo XX com os maiores níveis de CK, e descreveram um papel protetivo que a proteína α -actina-3 desempenharia contra a lesão muscular, o que seria uma explicação para o genótipo onde a proteína é completamente ausente (XX) possuir os maiores níveis de lesão muscular e pior sinalização no reparo tecidual (VINCENT *et al.*, 2010).

Os níveis de CK como marcador pós-exercício podem variar muito dentre diferentes populações, temperaturas, volume muscular, entre outros fatores que podem explicar as divergências entre os estudos citados (BRANCACCIO, LIPPI, MAFFULLI, 2010). Em um estudo com atletas brasileiros, por exemplo, Coelho e colaboradores (2018), ao estudar atletas de futebol juvenis (menores de 16 anos de idade), observaram que os genótipos RR e RX apresentaram os maiores níveis de CK pós-jogo. No entanto, estes já possuíam os maiores índices anteriormente ao exercício (COELHO *et al.*, 2018b).

Pimenta e colaboradores também investigaram a associação de *ACTN3 R577X* e lesão em atletas profissionais do Brasil. Os dados concordaram com a maior parte da literatura, mostrando maiores índices de lesão (4 horas após treinamento) para o genótipo XX. No entanto

o estudo coletou os dados de 37 atletas profissionais de futebol brasileiros, um número menor em comparação ao presente trabalho, o que pode ter influenciado na diferença dos resultados. Além disso, a medição de CK foi feita em um intervalo menor após o exercício e o esforço muscular em questão foi em decorrência de treinamento e não de jogos competitivos, o que pode influenciar no nível de exigência do momento.

Ao se tratar do polimorfismo para *ACE*, Massidda e colaboradores (2020) estudaram atletas de futebol italianos e japoneses e observaram associação dos genótipos DD e ID com os menores índices de lesão muscular, contrário ao que foi observado no presente estudo. O trabalho levanta também diferenças étnicas interessantes, onde essa relação com o alelo D se mostra ainda mais significativa para os atletas japoneses (MASSIDDA *et al.*, 2020).

Assim como foi levantado para o polimorfismo de *ACTN3* o papel protetivo da proteína α -actina-3 e, por consequência, do alelo R, o polimorfismo de *ACE I/D* também foi associado com lesões musculares, onde seu alelo D parece também desempenhar um papel protetivo já que indivíduos com o alelo I parecem ter os maiores níveis de CK e outros marcadores de lesão muscular (YAMIN *et al.*, 2007).

Dentro das posições táticas, ainda que as diferenças não foram estatisticamente significativas, foi encontrado que os maiores níveis de CK foram entre atacantes e zagueiros. Além disso, ao observarmos a distribuição das posições táticas entre os quartis, vemos que Atacantes possuem maior expressividade do quarto quartil, de maiores níveis. Goleiros apresentaram, em geral, baixos níveis de CK, não tendo, por exemplo, nenhum sujeito que apresentou níveis de CK pertencente ao quartil mais superior.

Uma revisão sistemática acerca de posições táticas do futebol e risco de lesão avaliou 11 artigos e eles não apresentaram concordância a respeito das posições e o risco de lesão no futebol masculino (DELLA VILLA, MANDELBAUM, LEMAK, 2018). O artigo aponta uma falta de estudos onde essa característica posicional é avaliada, mas 5 dos 11 trabalhos avaliados reportaram não haver diferenças significativas entre as posições (DELLA VILLA, MANDELBAUM, LEMAK, 2018). Os maiores risco de lesão foram encontrados, em concordância com o presente estudo, para a linha de frente, onde atacantes apresentaram maiores índices de lesão muscular.

Essas observações podem ser devido ao fato de que a posição, em si, possui características de chutes rápidos e grande quantidade de momentos de aceleração e *sprint* (ANDERSEN *et al.*, 2004). Além disso, é reportado que a maioria dos incidentes do futebol ocorrem principalmente na zona média defensiva e no placar, típicas zonas de atacantes, onde

os duelos pela bola geralmente ocorrem, colocando atacantes como sujeitos mais expostos à possibilidade de lesões (UEBLACKER, MÜLLER-WOHLFAHRT, EKSTRAND, 2015).

A divisão entre quartis de dados também foi realizada considerando-se a grande variação entre os grupos. Não se mostraram significativas, mas é bastante interessante observar como no quartil de maiores valores de CK (4 Q), a frequência de RR (64%) é bastante superior aos outros genótipos, que se apresentam com o mesmo índice de 18%, contrariando novamente o que era esperado através da maior parte da literatura.

O futebol é um esporte de alta intensidade, com pouco tempo de intervalo entre os jogos para devida recuperação dos atletas (CLOS *et al.*, 2019). Os atletas constantemente lidam com danos musculares intensos de sobrecarga, fadiga e precisam regular a intensidade do esforço de maneira estratégica a fim de evitar maiores danos advindos das altas demandas impostas ao músculo esquelético (COELHO *et al.*, 2018b).

Estudos no sentido de entender por que alguns atletas parecem mais suscetíveis à lesão no esporte, hipotetizam que fatores genéticos são responsáveis, de alguma forma, por essas diferenças (MASSIDDA *et al.*, 2020). No entanto, o que foi possível observar através dos resultados apresentados, é que parece não haver relação significativa dos diferentes genótipos de *ACTN3 R577X* e *ACE I/D* com os níveis de CK, um marcador para dano muscular, em atletas de futebol brasileiros, inclusive considerando suas posições táticas.

5 CONCLUSÃO

Como proposto pelos objetivos deste trabalho, as frequências genótípicas e alélicas dos polimorfismos foram avaliadas nos atletas e percebeu-se uma maior frequência de heterozigotos RX para *ACTN3 R577X* e ID para *ACE I/D* em comparação com os outros genótipos, o que evidencia o caráter misto do esporte, onde tanto força como resistência muscular são importantes.

No entanto, as frequências não se mostraram significativamente diferentes em comparação com indivíduos do grupo Controle, nem mesmo entre os atletas divididos nas regiões geográficas de origem. Também não foram encontradas diferenças significativas de frequências entre as posições táticas. Contudo, a combinação entre os polimorfismos que obteve maior frequência foi a de heterozigotos, seguida de combinações do genótipo RR + pelo menos

um alelo D, indicando que a combinação desses genótipos possa ser, de alguma forma, vantajosa para o esporte.

Não houve também relação entre os genótipos e a altura do salto no CMJ. Todavia, houve significância ao analisar os valores de CMJ de acordo com as posições táticas e o genótipo de *ACTN3*, indicando que possa haver alguma influência dos genótipos no sucesso do salto dentro das posições táticas. Ao se dividir em quartis de desempenho, não houve diferença nem mesmo considerando as posições táticas, ainda que atacantes tenham apresentado performance superior, estando presente em grande frequência nos quartis de melhor performance.

Por fim, não foram observadas relações entre os níveis de CK e os genótipos dos polimorfismos, nem mesmo ao dividir entre as posições e os quartis de concentração.

O presente estudo é um dos poucos trabalhos a considerar as posições táticas do futebol dentro da análise genética e de performance e, até onde se tem conhecimento, é o primeiro em atletas brasileiros e o primeiro estudo a trazer essas relações considerando dois polimorfismos genéticos em conjunto em atletas de futebol do Brasil.

Existe uma necessidade de que mais trabalhos se voltem para as questões das posições táticas no futebol, incluindo um maior painel de marcadores e mais testes físicos que possam apontar para as possíveis diferenças de performance influenciadas pela genética.

Afinal, ainda que não se possa subestimar a complexidade genética e interação de rotas metabólicas, conhecer e validar genes que possam estar envolvidos na performance esportiva se mostra muito importante pois contribui na interpretação de diferentes desempenhos em treinos e jogos. Com isso, a elaboração de um melhor treinamento físico naquelas exigências e capacidades que os atletas não se mostram tão pré-dispostos geneticamente fica facilitada, assim como a prevenção de lesões, além de possivelmente um direcionamento de atletas considerando-se um perfil genético compatível para as diferentes posições táticas do futebol.

Além disso, estudos que considerem informações de ancestralidade mais precisas e que apresentem medições de CK anteriores ao jogo, podem solucionar as fraquezas do presente estudo. Não obstante, uma análise que não tenha as limitações que se teve em relação ao grupo controle (falta de frequências genóticas e a falta de conhecimento maior sobre os indivíduos estudados, como gênero, idades, entre outros) pode fornecer informações mais robustas de comparação entre os grupos.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, Kathleen Y. *Determinação da Frequência Genotípica e Alélica do Polimorfismo ACTN3 R577X em jogadores de Futebol de Elite do Paraná*. 2018. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Ciências Biológicas) – Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2018.

ALVAREZ, Ruth *et al.* Genetic variation in the renin-angiotensin system and athletic performance. *European Journal of Applied Physiology*, v. 82, n. 1–2, p. 117–120, 2000.

AMIR, Offer *et al.* The ACE deletion allele is associated with Israeli elite endurance athletes. *Experimental Physiology*, v. 92, n. 5, p. 881–886, 2007.

AMORIN Carlos E. *et al.* 2015. Differing Evolutionary Histories of the ACTN3*R577X Polymorphism among the Major Human Geographic Groups. *PLoS one* v. 10, n. 2, p. 1-10, 2015.

ANDERSEN, Thor E. *et al.* Video analysis of injuries and incidents in Norwegian professional football. *British Journal of Sports Medicine*, v. 38, n. 5, p. 626–631, 2004.

ANDERSSON, Helena *et al.* Differences in the inflammatory plasma cytokine response following two elite female soccer games separated by a 72-h recovery. *Scandinavian journal of medicine e science in sports*, v.20, p. 740-747, 2010.

ATABAŞ, Engin G. *et al.* The relationship of polymorphism with explosive forces in ACTN3, ACE, and UCP3 genes in soccer players. *Progress in Nutrition*, v. 22, n. 3, p. 1-10, 2020.

BARH, Debmalya; AHMETOV, Ildus. *Sports, Exercise, and Nutritional Genomics*. 1^a Ed. Estados Unidos: Academic Press - Elsevier, 2019.

BANGSBO, Jens; NØRREGAARD, L.; THORSØE, F. Activity profile of competition soccer. *Canadian Journal of Sports Science*, v. 16, p. 110–116, 1991.

BARON, Michael D. *et al.* The structure and function of Alpha-actinin. *Biochemical Society Transactions*, v. 15, n. 5, p. 796–798, 1987.

BAUMERT, Phillip *et al.* Genetic variation and exercise-induced muscle damage: implications for athletic performance, injury and ageing. *European Journal of Applied Physiology*, v. 116, n. 9, p. 1595–1625, 2016.

BEGGS, Allan *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. 9281–9288, 1992.

BELL, William *et al.* ACE ID genotype and leg power in Rugby Union players. *Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*, v. 50, n. 3, p. 350–355, 2010.

BELL, William *et al.* ACTN3 genotypes of Rugby Union players: Distribution, power output and body composition. *Annals of Human Biology*, v. 39, n. 1, p. 19–27, 2012.

BERMAN, Yemima; NORTH, Kathryn. N. A Gene for Speed: The Emerging Role of -Actinin-3 in Muscle Metabolism. *Physiology*, v. 25, n. 4, p. 250–259, 2010.

BISHOP, David J.; GIRARD, Olivier. Determinants of team-Sport performance: Implications for altitude training by team-Sport athletes. *British Journal of Sports Medicine*, v. 47, n. SUPPL. 1, 2013.

BOONE, Jan *et al.* Physical Fitness of Elite Belgian Soccer Players by Player Position.

Journal of Strength and Conditioning Research, v. 26, n. 8, p. 2051–2057, 2012.

BOUCHARD, Claude. Genomic predictors of trainability. *Experimental physiology*, v. 97, n. 3, p. 347–352, 2012.

BRANCACCIO, Paola; LIPPI, Giuseppe; MAFFULLI, Nicola. Biochemical markers of muscular damage. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, v. 48, n. 6, p. 757–767, 2010.

BURRIDGE, Keith; FERAMICO, James R. Non-muscle α -actinins are calcium-sensitive actin binding proteins. *Nature*, v. 294, n. 5841, p. 565-567, 1981.

CBF. *Raio-X do mercado 2019: números gerais de registro*. Brasil, 2019a. Disponível em: <https://www.cbf.com.br/a-cbf/informes/index/raio-x-do-mercado-2019-numeros-gerais-de-registro>. Acesso em: 10/08/2020.

CBF. *Impacto do futebol brasileiro*. Brasil, 2019b. Disponível em: https://conteudo.cbf.com.br/cdn/201912/20191213172843_346.pdf. Acesso em: 10/06/2020.

CIESZCZYK, Paweł *et al.* The angiotensin converting enzyme gene I/D polymorphism in polish rowers. *International Journal of Sports Medicine*, v. 30, n. 8, p. 624–627, 2009.

CIĘSZCZYK, Paweł *et al.* Variation in the Ace Gene in Elite Polish Football Players. *Human Movement*, v. 17, n. 4, p. 237–241, 2016.

CLARKSON, Priscilla M. *et al.* ACTN3 and MLCK genotype associations with exertional muscle damage. *Journal of Applied Physiology*, v. 99, n. 2, p. 564–569, 2005.

CLOS, Enric *et al.* ACTN3 single nucleotide polymorphism is associated with non-contact musculoskeletal soft-tissue injury incidence in elite professional football players. *Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy*, v. 27, n. 12, p. 4055–4061, 2019.

CLOS, Enric *et al.* ACTN3's R577X Single Nucleotide Polymorphism Allele Distribution Differs Significantly in Professional Football Players according to Their Field Position. *Medical Principles and Practice*, v. 30, n. 1, p. 92-97, 2020.

COELHO, Daniel. *Determinação da frequência genótipica do ACTN3 e da sua relação com o desempenho físico, respostas hormonais e indicadores do dano muscular em jogadores de futebol*. 2011. Tese (Doutorado em Ciências do Esporte) - Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011.

COELHO, Daniel B. *et al.* Angiotensin-converting enzyme (ACE-I/D) polymorphism frequency in Brazilian soccer players. *Applied Physiology, Nutrition and Metabolism*, v. 41, n. 6, p. 692–694, 2016.

COELHO, Daniel B. *et al.* Evidence for a Role of ACTN3 R577X Polymorphism in Football Player's Career Progression. *International Journal of Sports Medicine*, v. 39, n. 14, p.

1088–1093, 2018a.

COELHO, Daniel. B. *et al.* Alpha-Actinin-3 R577X Polymorphism Influences Muscle Damage and Hormonal Responses after a Soccer Game. *Journal of Strength and Conditioning Research*, v. 33, n. 10, p. 1–10, 2018b.

COLLINS, Malcolm *et al.* The ACE gene and endurance performance during the South African Ironman Triathlons. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, v. 36, n. 8, p. 1314–1320, 2004.

COSTA, Aldo M. *et al.* Association between ACE D allele and elite short distance swimming. *European Journal of Applied Physiology*, v. 106, n. 6, p. 785–790, 2009.

DELLA VILLA, Francesco; MANDELBAUM, Bert R.; LEMAK, Lawrence J. The Effect of Playing Position on Injury Risk in Male Soccer Players: Systematic Review of the Literature and Risk Considerations for Each Playing Position. *American journal of orthopedics (Belle Mead, N.J.)*, v. 47, n. 10, p. 1-11, 2018.

DELLAL, Alexandre *et al.* Comparison of physical and technical performance in European soccer match-play: Fa Premier League and La Liga. *European Journal of Sport Science*, v. 11, n. 1, p. 51–59, 2011.

DIONÍSIO, Thiago J. *et al.* The influence of genetic polymorphisms on performance and cardiac and hemodynamic parameters among Brazilian soccer players. *Applied Physiology, Nutrition and Metabolism*, v. 42, n. 6, p. 596–604, 2017.

DRUZHEVSKAYA, Anastasiya M. *et al.* Association of the ACTN3 R577X polymorphism with power athlete status in Russians. *European Journal of Applied Physiology*, v. 103, n. 6, p. 631–634, 2008.

EGOROVA, Emiliya S. *et al.* The polygenic profile of Russian football players. *Journal of Sports Sciences*, v. 32, n. 13, p. 1286–1293, 2014.

EKBLOM, Bjorn. Applied physiology of soccer. *Sports medicine*, v. 3, n. 1, p. 50–60, 1986.

EKSTRAND, Jan; HÄGGLUND, Martin; WALDÉN, Markus. Injury incidence and injury patterns in professional football: the UEFA injury study. *British Journal of Sports Medicine*, v. 45, n. 7, p. 553–558, 2011.

FATINI, Cintia *et al.* RAS genes influence exercise-induced left ventricular hypertrophy: an elite athletes study. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, v. 32, n. 11, p. 1868–1872, 2000.

FIFA. *FIFA Activity Report 2018*. Suíça, 2018. Disponível em: <https://resources.fifa.com/image/upload/yjibhdqzfwz5onqsz0.pdf>. Acesso em: 10/06/2020.

FOLLAND, Jonathan *et al.* Angiotensin-converting enzyme genotype affects the response of human skeletal muscle to functional overload. *Experimental Physiology*, v. 85, n.

5, p. 575–579, 2000.

FRIEDLANDER, Scott M. *et al.* ACTN3 Allele Frequency in Humans Covaries with Global Latitudinal Gradient. *Plos One*, v. 8, n. 1, p. 1-4, 2013.

GALEANDRO, Valeria *et al.* ACTN3/ACE genotypes and mitochondrial genome in professional soccer players' performance. *Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents*, v. 31, n. 1, p. 207–213, 2017.

GARATACHEA, Nuria *et al.* ACTN3 R577X polymorphism and explosive leg-muscle power in elite basketball players. *International Journal of Sports Physiology and Performance*, v. 9, n. 2, p. 226–232, 2014.

GAYAGAY, George *et al.* Elite endurance athletes and the ACE I allele the role of genes in athletic performance. *Human Genetics*, v. 103, n.1, p. 48-50, 1998.

GIACCAGLIA, Valentina *et al.* Interaction between angiotensin converting enzyme insertion/deletion genotype and exercise training on knee extensor strength in older individuals. *International Journal of Sports Medicine*, v. 29, n. 1, p. 40–44, 2008.

GIBSON, William T. Core concepts in human genetics: understanding the complex phenotype of sport performance and susceptibility to sport injury. *Medicine and Sport Science*, v. 61, p. 1–14, 2016.

GINEVICIENE, Valentina *et al.* Variation in the ACE, PPARGC1A and PPARA genes in Lithuanian football players. *European Journal of Sport Science*, v. 14, n. SUPPL.1, p. 37–41, 2014.

GIOLO, Suely R. *et al.* Brazilian urban population genetic structure reveals a high degree of admixture. *European Journal of Human Genetics*, v. 20, n. 1, p. 111–116, 2012.

GREALY, Rebecca *et al.* The genetics of endurance: Frequency of the ACTN3 R577X variant in Ironman World Championship athletes. *Journal of Science and Medicine in Sport*, v. 16, n. 4, p. 365–371, 2013.

GUYTON, Arthur C.; HALL John. E. *Tratado de fisiologia médica*. 12^a Ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011.

HAUGEN, Thomas A.; TØNNESEN, Espen; SEILER, Stephen. Anaerobic performance testing of professional soccer players 1995-2010. *International Journal of Sports Physiology and Performance*, v. 8, n. 2, p. 148–156, 2013.

HONARPOUR, Asal *et al.* Investigation of the relationship between a genetic polymorphism in ACTN3 and elite sport performance among iranian soccer players. *Iranian Rehabilitation Journal*, v. 15, n. 2, p. 149–154, 2017.

JUFFER, Petra *et al.* Genotype distributions in top-level soccer players: A role for ace? *International Journal of Sports Medicine*, v. 30, n. 5, p. 387–392, 2009.

KEHDY, Fernanda S. G. *et al.* Origin and dynamics of admixture in Brazilians and its effect on the pattern of deleterious mutations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 112, n. 28, p. 8696–8701, 2015.

KIKUCHI, Naoki *et al.* The ACTN3 XX genotype's underrepresentation in Japanese elite wrestlers. *International Journal of Sports Physiology Performance*, v. 8 p. 57–61, 2013.

KIKUCHI, Naoki *et al.* The ACTN3 R577X Polymorphism is associated with Muscle Power in male Japanese Athletes. *Journal of Strength and Conditioning Research*, v. 28, n. 7, p. 1783-1789, 2014.

KIKUCHI, Naoki *et al.* ACTN3 R577X genotype and athletic performance in a large cohort of Japanese athletes. *European Journal of Sport Science*, v. 16, n. 6, p. 694-701, 2015.

KOKU, Fatma E. *et al.* The relationship between ACTN3 R577X gene polymorphism and physical performance in amateur soccer players and sedentary individuals. *Biology of Sport*, v. 36, n. 1, p. 9–16, 2019.

LARRUSKAIN, Jon *et al.* Genetic variants and hamstring injury in soccer: An association and validation study. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, v. 50, n. 2, p. 361–368, 2018.

LAZARIMA, Fernanda *et al.* The upper values of plasma creatine kinase of professional soccer players during the Brazilian National Championship. *Journal of Science and Medicine in Sport*, v. 12, n. 1, p. 85-90, 2008.

MACARTHUR, Daniel G. *et al.* An Actn3 knockout mouse provides mechanistic insights into the association between α -actinin-3 deficiency and human athletic performance. *Human Molecular Genetics*, v. 17, n. 8, p. 1076–1086, 2008.

MACARTHUR, Daniel G.; NORTH, Kathryn N. A gene for speed? The evolution and function of alpha-actinin-3. *BioEssays*, v. 26, n. 7, p. 786–795, 2004.

MASSIDDA, Myosotis *et al.* ACTN-3 and ACE genotypes in elite male Italian athletes. *Anthropological Review*, v. 75, n. 1, p. 51–59, 2012.

MASSIDDA, Myosotis *et al.* Vitamin D receptor gene polymorphisms and musculoskeletal injuries in professional football players. *Experimental and Therapeutic Medicine*, v. 9, n. 5, p. 1974–1978, 2015.

MASSIDDA, Myosotis *et al.* Association between MCT1 A1470T polymorphism and fat-free mass in well-trained young soccer players. *Journal of Strength and Conditioning Research*, v. 30, n. 4, p. 1171–1176, 2016.

MASSIDDA, Myosotis *et al.* ACTN3 R577X Polymorphism Is Associated with the Incidence and Severity of Injuries in Professional Football Players. *Clinical Journal of Sport Medicine*, v. 29, n. 1, p. 57–61, 2019.

MASSIDDA, Myosotis *et al.* Association between the ACE I/D polymorphism and

muscle injuries in Italian and Japanese elite football players. *Journal of Sports Sciences*, v. 38, n. 21, p. 2423–2429, 2020.

MASSIDDA, Myosotis.; SCORCU, Marco; CALÒ, Carla M. New genetic model for predicting phenotype traits in sports. *International Journal of Sports Physiology and Performance*, v. 9, n. 3, p. 554–560, 2014.

MCCALL, Alan *et al.* Risk factors, testing and preventative strategies for non-contact injuries in professional football: current perceptions and practices of 44 teams from various premier leagues. *British Journal of Sports Medicine*, v. 48, n. 18, p. 1352-7, 2014.

MILLS, Michelle A. *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. 1335–1346, 2001.

MONTGOMERY, Hugh *et al.* Human gene for physical performance. *Nature*, v. 393, p. 221–222, 1998.

MORAES, Vitor N. *et al.* Association of ACE ID and ACTN3 c> t genetic polymorphisms with response to a multicomponent training program in physical performance in women from 50 to 70 years. *Science & Sports*, v. 33, n. 5, p. 282–290, 2018

MOUGIOS, Vassilis. Reference intervals for serum creatine Kinase in athletes. *British Journal of Sports Medicine*, v. 41, n. 10, p. 674-678, 2007.

NAZAROV, Igor B. *et al.* The angiotensin converting enzyme I/D polymorphism in Russian athletes. *European Journal of Human Genetics*, v. 9, n. 10, p. 797–801, 2001.

NORTH, Kathryn *et al.* A common nonsense mutation results in alpha-actinin-3 deficiency in the general population. *Nature Genetics*, v. 21, n. 4, p. 353–354, 1999.

NORTH, Kathryn. Why is α -Actinin-3 Deficiency So Common in the General Population? The Evolution of Athletic Performance. *Twin Research and Human Genetics*, v. 11, n.4, p. 384-394, 2008.

ORYSIK, Joanna *et al.* Relationship between ACTN3 R577x polymorphism and maximal power output in elite polish athletes. *Medicina (Lithuania)*, v. 50, n. 5, p. 303–308, 2014.

OSTRANDER, Elaine A. *et al.* Genetics of athletic performance. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, v. 10, p. 407-29, 2009.

PAPADIMITRIOU, Ioannis D. *et al.* The ACE I/D polymorphism in elite Greek track and field athletes. *Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*, v. 49, n. 4, p. 459–463, 2009.

PAPADIMITRIOU, Ioannis D. *et al.* ACTN3 R577X and ACE I/D gene variants influence performance in elite sprinters: A multi-cohort study. *BMC Genomics*, v. 17, n. 1, p. 1–8, 2016.

PASQUA, Leonardo A. *et al.* ACTN 3 e desempenho esportivo: Um gene candidato ao sucesso em provas de curta e longa duração. *Revista Brasileira de Cineantropometria e Desempenho Humano*, v. 13, n. 6, p. 477–483, 2011.

PIMENTA, Eduardo M. *et al.* The ACTN3 genotype in soccer players in response to acute eccentric training. *European Journal of Applied Physiology*, v. 112, n. 4, p. 1495–1503, 2012.

PIMENTA, Eduardo M. *et al.* Effect of Actn3 Gene on Strength and Endurance in Soccer Players. *Journal of Strength and Conditioning Research*, v. 27, n. 12, p. 3286–3292, 2013.

PUTHUCHEARY, Zudin *et al.* The ACE gene and human performance: 12 years on. *Sports Medicine*, v. 41, n. 6, p. 433-448, 2011.

RAMPININI, Ermanno *et al.* Validity of Simple Field Tests as Indicators as Match-Related Physical Performance in Top-Level Professional Soccer Players. *International Journal of Sports Medicine*, v. 28, n. 3, p. 228-235, 2007.

REILLY, Thomas; BANGSBO, Jens; FRANKS, A. Anthropometric and physiological predispositions for elite soccer. *Journal of Sports Sciences*, v. 18, n. 9, p. 669–683, 2000.

REILLY, Thomas; THOMAS, V. A motion analysis of work-rate in different positional roles in professional football match-play. *Journal of Human Movement Studies*, v. 2, p. 87-89, 1976.

RUIZ, Jonatan R. *et al.* ACTN3 R577X polymorphism does not influence explosive leg muscle power in elite volleyball players. *Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports*, v. 21, n. 6, p. 34-41, 2011.

SABER-AYAD, Maha M.; NASSAR, Yasser S.; LATIF, Inas A. Angiotensin-converting enzyme I/D gene polymorphism affects early cardiac response to professional training in young footballers. *JRAAS - Journal of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System*, v. 15, n. 3, p. 236–242, 2014.

SALGUEIROSA, Fabiano M. *et al.* ACTN3 R577X and ACE I/D Genotype Frequencies of Professional Soccer Players in Brazil. *Journal of Exercise Physiology*, v. 8, n. 1, p. 11–25, 2017.

SANTIAGO, Catalina *et al.* ACTN3 genotype in professional soccer players. *British Journal of Sports Medicine*, v. 42, n. 1, p. 71–73, 2008.

SANTOS, Douglas; COLEDAM, Diogo H. C.; DOS-SANTOS, Júlio W. Alterações na potência anaeróbia após a pré-temporada em atletas profissionais de futebol. *Movimento & Percepção*, v. 10, p. 254–263, 2009.

SCOTT, Robert A. *et al.* ACTN3 and ACE genotypes in elite Jamaican and US sprinters. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, v. 42, n. 1, p. 107–112, 2010.

SHANMUGAM, Vedapuri; SELL, Kenneth W.; SAHA, Bratin K. Mistyping ACE

heterozygotes. *Genome Research*, v. 3, n. 2, p. 120–121, 1993.

SILVA, José R. *et al.* Biochemical impact of soccer: an analysis of hormonal, muscle damage, and redox markers during the season. *Applied physiology, Nutrition and Metabolism*, v. 39, n. 4, p. 432–8, 2014.

SPORIS, Goran *et al.* Fitness Profiling in Soccer: Physical and Physiologic Characteristics of Elite Players. *Journal of Strength and Conditioning Research*, v. 23, n. 7, p. 1947–1953, 2009.

STØLEN, Tomas *et al.* Physiology of soccer: an update. *Sports Medicine*, v. 35, n. 6, p. 501–536, 2005.

TSIANOS, Georgios *et al.* The ACE gene insertion/deletion polymorphism and elite endurance swimming. *European Journal of Applied Physiology*, v. 92, n. 3, p. 360–362, 2004.

TUCKER, Ross; COLLINS, Malcolm. What makes champions? A review of the relative contribution of genes and training to sporting success. *British journal of sports medicine* v. 46, n. 8, p. 555-561, 2012.

UEBLACKER, Peter; MÜLLER-WOHLFAHRT, Hans-Wilhelm; EKSTRAND, Jan. Epidemiological and clinical outcome comparison of indirect ('strain') versus direct ('contusion') anterior and posterior thigh muscle injuries in male elite football players: UEFA Elite League study of 2287 thigh injuries (2001-2013). *British Journal of Sports Medicine*, v. 49, n. 22, p. 1461–1465, 2015.

ULUCAN, Korkut; SERCAN, Canan; BIYIKLI, Türker. Distribution of angiotensin-1 converting enzyme insertion/deletion and α -actinin-3 codon 577 polymorphisms in Turkish male soccer players. *Genetics and Epigenetics*, v. 1, n. 7, p. 1–4, 2015.

VINCENT, Barbara *et al.* Protective role of α -actinin-3 in the response to an acute eccentric exercise bout. *Journal of Applied Physiology*, v. 109, n. 2, p. 564–573, 2010.

WANG, Guan *et al.* Association analysis of ACE and ACTN3 in elite Caucasian and East Asian swimmers. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, v. 45, n. 5, p. 892–900. 2013.

WEI, Qi. The ACE and ACTN3 polymorphisms in female soccer athletes. *Genes and Environment*, v. 43, n. 5, p. 1-8, 2021.

WILLIAMS, Alun G. *et al.* Circulating angiotensin converting enzyme activity is correlated with muscle strength. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, v. 37, n. 6, p. 944–948, 2005.

WOODS, David *et al.* Elite swimmers and the D allele of the ACE I/D polymorphism. *Human Genetics*, v. 108, n. 3, p. 230–232, 2001.

YAMIN, Chen *et al.* ACE ID genotype affects blood creatine kinase response to eccentric exercise. *Journal of Applied Physiology*, v. 103, n. 6, p. 2057–2061, 2007.

YANG, Nan *et al.* ACTN3 Genotype Is Associated with Human Elite Athletic Performance. *The American Journal of Human Genetics*, v. 73, n. 3, p. 627–631, 2003. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002929707620242>>.

ZHANG, Bo *et al.* The I allele of the angiotensin-converting enzyme gene is associated with an increased percentage of slow-twitch type I fibers in human skeletal muscle. *Clinical Genetics*, v. 63, n. 2, p. 139–144, 2003.

APÊNDICE A – TABELA DE MÉDIAS DE CMJ E CK POR GENÓTIPO PARA CADA POLIMORFISMO

Valores médios de CMJ (em centímetros – cm) e CK (em Unidades por Litro – U/L) \pm desvio padrão para cada um dos genótipos de *ACTN3* e *ACE I/D*, além dos valores de *p* da ANOVA de uma via para cada polimorfismo e valor de *p* da interação dos polimorfismos para cada teste.

	<i>ACNT3 R577X</i>				<i>ACE I/D</i>				<i>Interação</i>
	RR	RX	XX	<i>p</i>	DD	ID	II	<i>p</i>	<i>p</i>
CMJ (cm)	43.93 \pm 4.81	43.25 \pm 6.65	45.42 \pm 4.42	0.0924	42.12 \pm 5.23	45.01 \pm 5.37	44.19 \pm 5.94	0.1185	0.1633
CK (U/L)	610.56 265.87	491.01 189.34	557.95 284.79	0.1129	510.99 \pm 221.7	597.51 \pm 248.76	520.07 \pm 200.58	0.1517	0.0627

APÊNDICE B – TABELA DE MÉDIAS DE CMJ E CK POR POSIÇÃO TÁTICA

Valores médios de CMJ (em centímetros – cm) e CK (em Unidades por Litro – U/L) para cada posição tática, além dos valores de *p* da ANOVA de uma via para as posições e valor de *p* da ANOVA de duas vias, da interação das posições com os polimorfismos *ACTN3 R577X* e *ACE I/D*.

	Posições					<i>p</i>	<i>p</i> de interação	
	Meio-campistas	Atacantes	Zagueiros	Laterais	Goleiros		<i>ACTN3 R577X</i>	<i>ACE I/D</i>
CMJ (cm)	39.95	44.99	45.9	43.75	46.33	0.0603	0.0255	0.3032
CK (U/L)	502.7	660	577.2	575.7	349	0.1966	0.2036	0.7090

APÊNDICE C – TABELA DE FREQUÊNCIAS DOS GENÓTIPOS DOS POLIMORFISMOS NOS QUARTIS DE CMJ E CK

Valores de frequência dos genótipos dos polimorfismos *ACTN3 R577X* e *ACE I/D* dentro de cada quartil de performance de CMJ e concentração de CK, onde os Quartis 4 são os de maiores valores e Quartis 1 os de menores valores.

		<i>ACNT3 R577X</i>			<i>ACE I/D</i>		
		RR	RX	XX	DD	ID	II
CMJ	Quartil 4	0.42	0.42	0.16	0.17	0.66	0.17
	Quartil 3	0.46	0.27	0.27	0.36	0.46	0.18
	Quartil 2	0.57	0.27	0.18	0.27	0.46	0.27
	Quartil 1	0.34	0.58	0.08	0.5	0.42	0.08
CK	Quartil 4	0.64	0.18	0.18	0.41	0.18	0.41
	Quartil 3	0.41	0.53	0.06	0.29	0.47	0.24
	Quartil 2	0.31	0.50	0.19	0.44	0.44	0.12
	Quartil 1	0.47	0.41	0.12	0.53	0.29	0.18

APÊNDICE D – TABELA DE FREQUÊNCIAS DOS QUARTIS DE CMJ E CK DE ACORDO COM A POSIÇÃO TÁTICA

Valores de frequência dos quartis de performance de CMJ e concentração de CK para cada posição tática, onde os Quartis 4 são os de maiores valores e Quartis 1 os de menores valores.

	CMJ				CK			
	Quartil 4	Quartil 3	Quartil 2	Quartil 1	Quartil 4	Quartil 3	Quartil 2	Quartil 1
Meio-campistas	9.09	9.09	27.27	54.55	13.04	26.09	30.43	30.43
Atacantes	30.77	30.77	23.08	15,38	42.86	14.29	21.24	21.24
Zagueiros	37.5	37.5	25	-	15.38	38.46	30.77	15.38
Laterais	12.5	37.5	25	25	33,33	25	16.67	25
Goleiros	50	-	25	25	-	-	33.33	66.67

ANEXO A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Universidade Federal de Santa Catarina
Departamento de Bioquímica
Centro de Ciências Biológicas

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você _____ está sendo convidado a participar como voluntário de uma pesquisa sob o nome: “O papel dos polimorfismos *ACTN3 R577X* e *ACE I/D* no desempenho físico e história de lesão muscular em atletas de futebol profissional”.

Esta pesquisa está associada ao projeto de doutorado do aluno Tiago Cetolin, do programa de Pós-Graduação em Bioquímica pertencente a Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) e tem com o objetivo de verificar o tipo de proteína ACTN3 e ACE e algumas variáveis de desempenho físico e lesão muscular, bem como variáveis bioquímicas que apresentam relação com o desempenho esportivo. O objetivo principal é analisar as relações destas variáveis com o seu desempenho e com a prevenção de lesões. As avaliações que você fará envolvem coletas de sangue, avaliações antropométricas, funcionais e testes específicos do futebol.

Inicialmente serão colhidas amostras de sangue quando iniciarem os treinamentos. Estas amostras de sangue terão como objetivo verificar o papel de ACTN3 e ACE no desempenho físico, no desenvolvimento de lesão muscular, e na resposta inflamatória. A presença da proteína ACTN3 e ACE é importante para beneficiar o desempenho em tarefas que exigem maior utilização da força muscular e velocidade.

Os seus dados serão armazenados de forma segura em um Freezer a -80 °C no CCB/Departamento Bioquímica da Universidade Federal de Santa Catarina. Para sua tranquilidade estas coletas serão realizadas por profissionais habilitados e experientes evitando qualquer tipo de contaminação.

Posteriormente, você será submetido a uma avaliação completa para coleta de informações como idade, massa corporal e histórico clínico (doenças, lesões, medicamentos em uso e queixas). Além disso, serão realizadas avaliações funcionais, morfológicas e de desempenho físico que tem por objetivo avaliar suas características morfológicas e seu desempenho físico e posteriormente estudar a relação com a expressão da ACTN3 e ACE.

As avaliações que você realizará serão: a) consumo máximo de oxigênio por meio de ergoespirometria utilizando-se um protocolo incremental em esteira rolante, b) avaliação da força muscular por meio de um dinamômetro isocinético, c) teste de campo progressivo máximo intermitente, d) potência de membros inferiores, e) capacidade de repetir sprints - seis corridas máximas de 40 metros com 180° de mudança de direção (20 metros + 20 metros) com 20 segundos de recuperação, e, e) velocidade cíclica avaliada em três corridas máximas de uma distância de 30 metros.

Para a ergoespirometria, os riscos são baixos, mas você deve estar ciente que você tem a possibilidade de apresentar elevado cansaço em decorrência do esforço máximo na realização desta avaliação. Apesar de incomum você ainda poderá apresentar tontura, palpitações, náuseas e dores por causa do esforço físico excessivo. Além disso, pode lhe causar mal-estar e incomodo devido a utilização de uma máscara para análise de gases durante o esforço físico.

Juntamente a isso, você será encaminhado a realizar uma imagem de ressonância magnética com o objetivo de analisar a área de secção transversa do musculo quadríceps e toda vez que houver uma suspeita de uma lesão muscular para apontar com precisão a extensão da lesão. Os riscos para esse procedimento são baixos e indolores. Mas o fato de ter que ficar imóvel por vários minutos pode trazer angústia e mal-estar. Durante a avaliação também pode haver ruídos dentro da mesma, podendo gerar incômodo e mal-estar. Além disso, é importante evitar fazer a avaliação portando algum objeto metálico.

Os riscos dos procedimentos de coleta de sangue serão baixos, por serem realizados com profissionais habilitados e com experiência neste tipo de avaliação. Apesar de não ser comum, durante as coletas de sangue você poderá apresentar constrangimento durante a coleta, como também apresentar tontura, náuseas, dor no local na coleta de sangue e mal-estar. Podem ainda surgir outros efeitos como possibilidade de ruptura de algum vaso sanguíneo e sangramento excessivo. Além disso, posteriormente a coleta de sangue podem surgir hematomas no local. Se caso algum dos episódios citados acontecer, a coleta será interrompida e se houver necessidade você será atendido pela equipe que o acompanha durante os testes (estudantes e médico). Poderá também entrar em contato com a mesma equipe, caso algum efeito posterior ocorra decorrente da coleta de sangue.

Para as avaliações antropométricas o risco é baixo e caso apresente constrangimento você pode interromper as avaliações.

Para as avaliações específicas do futebol, embora para participar do estudo você deve estar apto para realizar exercícios físicos de alta intensidade, pois realizará testes ergométricos

prévios, deve estar ciente que você tem a possibilidade de apresentar elevado cansaço em decorrência do esforço na realização dos testes. Apesar de incomum você ainda poderá apresentar tontura, náuseas, mal-estar e se isso acontecer, o teste será interrompido e havendo necessidade você será atendido pela equipe que o acompanha durante os testes (estudantes e departamento médico do clube). Qualquer desconforto que você sentir será disponibilizado um médico para seu pronto atendimento.

Durante toda a pesquisa será tomada algumas precauções para que o seu bem-estar não seja prejudicado. Mesmo não sendo comum e nem esperado as avaliações serão interrompidas caso você apresente relato de alteração importante em algum local do corpo causando incômodo, e/ou que te traga mal-estar, dor, indisposição ou cansaço extremo para realizar os testes, assim como falta de ar, palpitações, náuseas ou tonturas.

Você terá acompanhamento médico, clínico e assistência de todo departamento médico do clube com quaisquer riscos. No decorrer da pesquisa ou após o encerramento da mesma você terá acompanhamento e assistência com informações juntos aos pesquisadores.

Para sua segurança e proteção, os resultados de seus testes serão acessíveis somente aos pesquisadores envolvidos, sem acesso de terceiros (direção, supervisão e presidência) evitando qualquer tipo de discriminação, individual ou coletiva. Os responsáveis pela pesquisa tomarão todas as providências necessárias para manter o sigilo embora sempre exista a remota possibilidade da quebra do sigilo, mesmo que involuntário e não intencional, cujas consequências serão tratadas nos termos da lei. A sua identidade será preservada, pois cada indivíduo será identificado por um código numérico.

Essas informações, como citado anteriormente, serão mantidas em sigilo e caso seja de sua vontade, pode permanecer em anonimato, bem como optar por tomar ou não conhecimento dessas informações.

Os benefícios em participar deste estudo poderão repercutir na melhora do entendimento na resposta sobre a prevenção de lesões através da observação de algumas variáveis bioquímicas e conseqüentemente poderá ajudá-lo na melhora de seu desempenho e contribuirá para desenvolvimento do desempenho de inúmeros atletas de futebol que posteriormente se beneficiarão das conclusões da pesquisa.

Você tem a garantia de poder solicitar esclarecimentos ao pesquisador sempre que desejar (antes e durante sua realização) e de quaisquer dúvidas, incluindo os procedimentos e etapas de desenvolvimento desta pesquisa. Em caso de recusa ou desistência você não será penalizado de forma alguma.

Não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, mas os pesquisadores se comprometem a garantir o ressarcimento de eventuais despesas. Também não há compensação financeira para quem participar da pesquisa. Apesar dos riscos de a pesquisa serem mínimos, também nos comprometemos a garantir indenização diante de eventuais danos decorrentes da pesquisa. Você poderá se retirar do estudo a qualquer momento.

Solicitamos a sua autorização para o uso de seus dados para a produção de artigos técnicos e científicos. A sua privacidade será mantida através da não-identificação do seu nome. O presente documento será mantido pelo pesquisador em confidencialidade e você receberá uma cópia do mesmo.

O pesquisador responsável por este estudo declara que este TCLE está em cumprimento com as exigências contidas do item IV. 3 da Resolução 466/12. Agradecemos a sua participação e colaboração.

Você poderá entrar em contato com o pesquisador Aderbal Silva Aguiar Junior ou poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da UFSC pelo endereço: Prédio Reitoria II (Edifício Santa Clara), R: Desembargador Vitor Lima, nº 222, sala 401, Trindade, Florianópolis/SC CEP 88.040-400 - Campus Trindade/Florianópolis, pelo telefone: (048) 3721-6094 ou pelo email: cep.propesq@contato.ufsc.br.

Dados do pesquisador responsável pelo projeto de pesquisa:

Nome completo: Aderbal Silva Aguiar Junior.

Endereço completo: UFSC - Rod. Gov. Jorge Lacerda, 3201 Jardim das Avenidas – Araranguá – SC - CEP: 88.906-072.

Endereço de email: aderbalaguiar@gmail.com

Telefones:(48)99647-3639

Eu, _____,

RG: _____, Após a leitura e compreensão destas informações, entendo que a minha participação é voluntária, e que posso sair a qualquer momento do estudo, sem prejuízo algum. Confirmando que recebi cópia deste termo

de consentimento, e autorizo a execução do trabalho de pesquisa e a divulgação dos dados obtidos neste estudo.

Assinatura do Participante da Pesquisa

Assinatura do Pesquisador Responsável – Aderbal Silva Aguiar Junior

Florianópolis, _____ de _____ de 2019.