

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional
Programa de Pós-graduação em Ciências do Esporte

Miller Gomes de Assis

**ASSOCIAÇÃO DO *POLIMORFISMO ACTN3 R577X* (RS1815739) COM
RESPOSTAS INFLAMATÓRIAS E TERMOGRAFIA EM ATLETAS DE FUTEBOL**

Belo Horizonte

2022

Miller Gomes de Assis

**ASSOCIAÇÃO DO *POLIMORFISMO ACTN3 R577X (RS1815739)* COM
RESPOSTAS INFLAMATÓRIAS E TERMOGRAFIA EM ATLETAS DE FUTEBOL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Esporte da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências do Esporte.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Mendonça Pimenta

Belo Horizonte

2022

A848a
2022

Assis, Miller Gomes de

Associação do polimorfismo ACTN3 R577X (RS1815739) com respostas inflamatórias e termografia em atletas de futebol [recurso eletrônico] / Miller Gomes de Assis – 2022.

1 recurso eletrônico (75 f. : il)

Orientador: Eduardo Mendonça Pimenta

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional.

Bibliografia: f. 57-68

1. Termografia – Teses. 2. Futebol – Teses. 3. Jogadores de futebol – Teses. 4. Creatina-quinase – Teses. 5. Proteína C-reativa – Teses. I. Pimenta, Eduardo Mendonça. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional. III. Título.

CDU:796.332



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE EDUCAÇÃO FÍSICA, FISIOTERAPIA E TERAPIA OCUPACIONAL
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DO ESPORTE

ATA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

MILLER GOMES DE ASSIS

Às **09:00 horas** do dia **23 de novembro de 2022**, reuniu-se por videoconferência a Comissão Examinadora de Dissertação, indicada pelo Colegiado do Programa para julgar, em exame final, o trabalho intitulado **“Associação do Polimorfismo ACTN3 R577X (RS1815739) com respostas inflamatórias e termografia em atletas de futebol”**. Abrindo a sessão, o Presidente da Comissão, Prof. Dr. Eduardo Mendonca Pimenta (UFMG), orientador, após dar a conhecer aos presentes o teor das Normas Regulamentares do Trabalho Final, passou a palavra para o candidato, para apresentação de seu trabalho. Seguiu-se a arguição pelos examinadores, com a respectiva defesa do candidato. Logo após, a Comissão se reuniu, sem a presença do candidato e do público, para julgamento e expedição do resultado.

MEMBROS DA BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Eduardo Mendonca Pimenta (ORIENTADOR) - EEFPTO/UFMG
Prof. Dr. Luciano Sales Prado (MEMBRO TITULAR) - EEFPTO/UFMG
Prof. Dr. Guilherme de Azambuja Pussieldi (MEMBRO TITULAR) - UFV

Após as indicações o candidato foi considerado: **APROVADO**

O resultado foi comunicado publicamente para o candidato pelo Presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar o Presidente encerrou a reunião e lavrou a presente ATA, que será assinada por todos os membros participantes da Comissão Examinadora.

Belo Horizonte, 23 de novembro de 2022.



Documento assinado eletronicamente por **Eduardo Mendonca Pimenta, Professor(a)**, em 19/03/2024, às 18:52, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Guilherme de Azambuja Pussieldi, Usuário Externo**, em 19/03/2024, às 20:36, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Luciano Sales Prado, Professor do Magistério Superior**, em 23/04/2024, às 12:59, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

AGRADECIMENTOS

A presente dissertação de mestrado jamais teria chegado a bom porto sem o apoio incondicional de inúmeras pessoas.

Em primeiro lugar, agradeço a Deus por ter me concedido saúde, força e muita fé para chegar até aqui. Agradeço ao meu orientador, Professor Doutor Eduardo Mendonça Pimenta, por todo o incentivo em todos os momentos mais difíceis, pelos ensinamentos, pela paciência, pela troca de conhecimentos e por todas as experiências vividas ao longo desta caminhada. Não foi fácil chegar até aqui. Tenho apenas uma certeza é somente um passo de muitos que virão. O meu muito obrigado de todo coração.

Agradeço o amor, a entrega e a confiança da minha esposa Keti Turi. Sem você não teria a força necessária para realizar absolutamente nada. O preço foi alto, tive que ficar ausente ou quando presente debilhado nos livros. Seu amor fez e faz toda a diferença na minha vida. Sem você não teria forças para me manter de pé, lutando, sempre por nós. Te amo demais!

Aos meus pais, minha mãe Waldívia Gomes e meu pai Sebastião de Assis. Vocês me construíram, cada tijolinho é responsabilidade de todo o amor e dedicação que sempre esteve e está presente na minha vida. Vocês são os maiores responsáveis por tudo que sou. Entendo hoje perfeitamente a dimensão do sacrifício e como agradecimento só posso dizer que, valeu a pena, aqui estou. Amo vocês. Agradeço a minha irmã Daniela Assis, sempre do meu lado para segurar todas as encrencas que vivemos. Amo você.

Aos meus filhos Eduardo Assis, Eduardo Turi e Fernanda Turi obrigado pela paciência e perdão pelo tempo que deixei de estar com vocês. Amo vocês.

Aos meus parceiros e amigos de mestrado Adriel, Suene, Lenon e Tane. Um ajudando e socorrendo o outro sempre que necessário, vocês são fantásticos. Obrigado por fazer parte desse time.

Agradeço a todos os professores que fizeram parte dessa construção em especial ao Professor André Gustavo e a Professora Andressa da Silva. Ao nosso eterno secretário da escola, obrigado Davi.

E por fim, agradeço a todos que de alguma forma contribuíram com meu crescimento e torceram por mim nesta caminhada.

“A mente que se abre para uma ideia, jamais voltará ao tamanho original.”

(Albert Einstein).

RESUMO

Fatores genéticos desempenham um papel significativo no desempenho atlético, dentre estes, o polimorfismo do gene *ACTN3* mostrou que pode influenciar no desempenho atlético e na funcionalidade da musculatura esquelética. O objetivo do estudo foi verificar possíveis associações do perfil genético para ao gene *ACTN3* R577X (rs1815739) com as respostas inflamatórias, dano muscular e termografia nos períodos pré, 24 e 48 horas após um treinamento com predominância de ações excêntricas em atletas de futebol brasileiros. Quarenta e seis atletas de futebol do sexo masculino da categoria Sub 20 e com pelo menos 06 anos de experiência em treinamentos sistematizados de futebol, foram submetidos ao estudo. Os sujeitos foram genotipados para o gene do *ACTN3* e depois divididos em grupos de acordo com seu genótipo. O DNA foi extraído de 500 µl de sangue total coletado no primeiro dia do estudo, usando um método de *salting out* e a qualidade e integridade da amostra foram testadas por espectrofotometria (*Nanodrop*, *Thermo Fisher Scientific* GE, MA, Estados Unidos). Para as concentrações de Proteína C Reativa foram utilizadas o teste ECO F hs-PCR no equipamento F200 ECO®. Para as concentrações de Creatina Quinase foram utilizados os testes Simplex ECO POC no equipamento Simplex ECO®. Os termogramas foram capturados usando um termovisor (FLIR®, T1020, Estocolmo, SE) com uma faixa de medição de -20 a +120°C, a precisão de 1%, sensibilidade $\leq 0.02^\circ\text{C}$, banda espectral de infravermelho de 7,5µm a 13µm, taxa de atualização de 30Hz, com foco automático e resolução FULL HD. Dois termogramas (visão posterior e anterior dos MMII) medidas de CK e PCR foram realizadas nos momentos pré, 24 e 48 horas a realização do protocolo. Os termogramas foram, selecionados e visualizados em software específico (APOLLO®, versão 1.0, BR). A ANOVA two way foi utilizada e demonstrou que houve interação significativa entre os genótipos e a concentração de CK ao longo do tempo ($F = 2,52$, $p = 0,001$, $\eta^2 = 0,042$, sendo que no grupo XX as concentrações de CK foram maiores no momento 48 horas comparadas aos grupos RR e RX ($p < 0,01$). Demonstrou que houve interação significativa entre os genótipos e a temperatura da pele na Zona Quente ao longo do tempo ($F = 8,71$, $p < 0,01$, $\eta^2 = 0,17$), sendo que no grupo XX a temperatura da pele foi maior por pixel no momento 48 horas comparadas aos grupos RR e RX ($p < 0,02$). Demonstrou que houve interação significativa entre os genótipos e as concentrações de PCR ao longo do tempo ($F = 6,54$, $p < 0,01$, $\eta^2 = 0,29$) sendo que no grupo XX as concentrações de PCR foram maiores no momento 48 horas comparadas aos grupos RR e RX ($p < 0,01$). A conclusão do estudo sugere que os indivíduos *ACTN3* XX apresentam maior atividade de CK, PCR e Temperatura da Pele comparação com os indivíduos RR e RX pós-treinamento excêntrico, mostrando maior resposta inflamatória e atraso na fase aguda, sendo assim indivíduos XX precisariam de um tempo maior tempo de recuperação entre as sessões de treinamento e distribuição de conteúdo de treinamento com o objetivo de evitar a overtraining e lesões musculares.

Palavras-chave: *ACTN3*; termografia infravermelha; Proteína C Reativa; Creatina Quinase; futebol.

ABSTRACT

Genetic factors play a significant role in athletic performance, among these, the ACTN3 gene polymorphism has shown that it can influence athletic performance and skeletal muscle functionality. The aim of the study was to verify possible associations of the genetic profile for the ACTN3 R577X (rs1815739) gene with inflammatory responses, muscle damage and thermography in the pre, 24 and 48 hours after training with a predominance of eccentric actions in Brazilian soccer athletes. Forty-six male soccer athletes from the Under 20 category and with at least 06 years of experience in systematic soccer training were submitted to the study. Subjects were genotyped for the ACTN3 gene and then divided into groups according to their genotype. DNA was extracted from 500 μ l of whole blood collected on the first day of the study using a salting out method and the quality and integrity of the sample were tested by spectrophotometry (*Nanodrop, Thermo Fisher Scientific GE, MA, United States*). For C-Reactive Protein concentrations, the ECO F hs-PCR test was used in the F200 ECO® equipment. For the concentrations of Creatine Kinase, the Simplex ECO POC tests were used in the Simplex ECO® equipment. Thermograms were captured using a thermal imager (FLIR®, T1020, Stockholm, SE) with a measurement range of -20 to +120°C, accuracy of 1%, sensitivity $\leq 0.02^\circ\text{C}$, infrared spectral band of 7, 5 μm to 13 μm , 30Hz refresh rate, with autofocus and FULL HD resolution. Two thermograms (posterior and anterior view of the lower limbs), CK and CRP measurements were performed before, 24 and 48 hours after the protocol was carried out. Thermograms were selected and visualized in specific software (APOLLO®, version 1.0, BR). Two-way ANOVA was used and showed that there was a significant interaction between genotypes and CK concentration over time ($F = 2.52$, $p = 0.001$, $\eta^2 = 0.042$, and in the XX group CK concentrations were higher at 48 hours compared to the RR and RX groups ($p < 0.01$), demonstrating that there was a significant interaction between genotypes and skin temperature in the Hot Zone over time ($F = 8.71$, $p < 0.01$, $\eta^2 = 0.17$), and in the XX group the skin temperature was higher per pixel at 48 hours compared to the RR and RX groups ($p < 0.02$). of CRP over time ($F = 6.54$, $p < 0.01$, $\eta^2 = 0.29$) and in the XX group the CRP concentrations were higher at 48 hours compared to the RR and RX groups ($p < 0.01$). The conclusion of the study suggests that ACTN3 XX subjects have higher CK, CRP and Skin Temperature activity compared to RR and RX subjects post-training ex centric, showing greater inflammatory response and delay in the acute phase, so XX individuals would need a longer recovery time between training sessions and distribution of training content in order to avoid overtraining and muscle injuries.

Keywords: ACTN3; infrared thermography; C-reactive protein; Creatine Kinase; football.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Localização de α -actinina no músculo.....	19
Figura 2 - Localização de α -actinina na linha Z.....	19
Figura 3 - Método Hipócrates	25
Figura 4 - Experimento Frederick Willian Herschel.....	26
Figura 5 - Espectro eletromagnético.....	29
Figura 6 - Radiação de corpo negro	30
Figura 7 - Lei de Stefan-Boltzmann Espectro eletromagnético	31
Figura 8 - Desenho experimental.....	41
Figura 9 - Discriminação alélica no software StepOnePlus.....	45
Figura 10 - Concentrações de CK antes, 24 e 48 horas após protocolo	47
Figura 11 - Distribuição da temperatura Zona Quente antes, 24 e 48 horas após o protocolo	48
Figura 12 - Concentrações de PCR antes, 24 e 48 horas após o protocolo	49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características da amostra.....	40
Tabela 2 - Demanda física e condições ambientais da sessão de treinamento.....	42

LISTA DE ABREVIATURAS

ABD – Actin-binding domais (domínio de ligação á actina)
ACTN3 – Gene da estrutura muscular
ADP – Adenosina difosfato
ATP – Adenosina trifosfato
CBF – Confederação Brasileira de Futebol
CP - Fosfocreatina
CK – Creatina quinase
CK-BB - Creatina quinase cérebro
CK-MB - Creatina quinase musculo cardíaco
CK-MM - Creatina quinase musculo esquelético
DOMS – Dor muscular de início tardio
DNA – Ácido Desoxirribonucleico
EF – Hand motifs
FC – Frequência cardíaca
GPS – Global Positioning System
IGF2 – Gene do crescimento
kDa - kilodaltons
IL-6 – Interleucina 6
LPS – Lipopolissacarídeos
MYLK – Gene da regulação da produção de força
PCR – Proteína C-Reativa
SNP – Polimorfismo de Nucleotídeo Único
SR1-4 – Spectrin-like repeats (espectrina)
TCLE – Termo de consentimento livre e esclarecido
TNF- α – Fator de necrose tumoral
Tp – Temperatura da pele
TPG – Termopixelgrafia
TRI – Termografia infravermelha

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
1.1 Objetivos	16
1.2 Hipóteses	17
2 REVISÃO DA LITERATURA	18
2.1 GENE ACTN3 e Futebol	18
2.2 TERMOGRAFIA INFRAVERMELHA (TRI)	23
2.2.1 História da Termografia Infravermelha (TRI)	24
2.2.2 Princípios físicos da termografia	29
2.2.3 Aspectos Técnicos da Termografia na Área Médica	32
2.3 DANO MUSCULAR E REPOSTA INFLAMATORIA NO FUTEBOL PCR E CK	33
3 MATERIAIS E MÉTODOS	39
3.1 Cuidados Éticos	39
3.2 Participantes	39
3.3 Delineamento metodológico	40
3.4 Análise Estatística	45
4 RESULTADOS	47
5 DISCUSSÃO	50
6 CONCLUSÃO	55
REFERÊNCIAS	56
APÊNDICE	68

1. INTRODUÇÃO

Fatores genéticos desempenham um papel significativo no desempenho atlético e seus fenótipos relacionados, como potência, força e capacidade aeróbica. (BOUCHARD *et al.*, 1986). A α -actinina-3, codificada pelo gene ACTN3, é uma proteína estrutural da fibra muscular com papel fundamental no disco Z, pois ancora os filamentos de actina para manter o arranjo miofibrilar e regular o comprimento e a tensão muscular durante a contração muscular (DEL COSO *et al.*, 2019; HOUWELING *et al.*, 2018; MACARTHUR *et al.*, 2008; PIMENTA *et al.*, 2012).

A α -actinina-3 é expressa apenas em fibras musculares rápidas, o que sugere que o papel desta proteína é específico para contrações musculares rápidas ou aquelas realizadas com altos níveis de força. (NORTH; BEGGST, 1996; PIMENTA *et al.*, 2012). Um polimorfismo genético comum no ACTN3 (rs1815739, c1858C>T), habitualmente conhecido como polimorfismo R577X, leva à substituição de uma arginina (R) por um códon de parada prematuro (X) no aminoácido 577. Indivíduos homozigotos para o alelo X no R577X polimorfismo (genótipo XX) produzem uma α -actinina-3 não funcional, e são considerados deficientes em α -actinina-3, em contraste, indivíduos homozigotos para o alelo R (genótipo RR) ou heterozigotos (genótipo RX) expressam α -actinina-3 funcional, embora tenha sido sugerido que a expressão de α -actinina-3 seja maior em RR do que em RX (NORTH *et al.*, 1999). Curiosamente, cerca de 18% da população mundial tem o genótipo XX e muito tem sido debatido sobre por que um polimorfismo que não produz uma proteína muscular sofreu a seleção natural (MILLS, 2001).

A falta de α -actinina-3 não está ligada a nenhuma doença, pois a deficiência de α -actinina-3 é compensada por uma maior expressão de α -actinina-2, uma isoforma de α -actinina expressa ubiquamente em todos os tipos de fibras musculares (MACARTHUR *et al.*, 2008; NORTH *et al.*, 1999). Várias investigações descobriram que a deficiência de α -actinina-3 devido à homozigosidade XX pode afetar negativamente o desempenho esportivo por meio de várias alterações estruturais, metabólicas ou de sinalização neural (LEE *et al.*, 2016; MACARTHUR *et al.*, 2008;

QUINLAN *et al.*, 2010; SETO *et al.*, 2013, 2021). Além disso, novas evidências sugerem que a deficiência de α -actinina-3 também pode afetar o desempenho esportivo por meio de fatores indiretos, como maior risco de lesão ou menor resistência a exercícios que danificam os músculos em atletas de futebol. (CLOS *et al.*, 2019; MASSIDDA *et al.*, 2019; RODAS *et al.*, 2021).

A lesão muscular induzida pelo exercício é um processo fisiológico que normalmente ocorre após o exercício não habitual, particularmente se o exercício envolve uma grande quantidade de contrações excêntricas (CLARKSON; HUBAL, 2001). O papel protetor da α -actinina-3 contra danos nas fibras musculares do tipo II foi demonstrado em vários protocolos de pesquisa que incluíram ações musculares agudas excêntricas ou concêntricas. Indivíduos com o genótipo XX apresentaram níveis séricos de Creatino Quinase (CK) e valores de dor muscular mais elevados do que os indivíduos RR após um protocolo de extensão excêntrica do joelho (VINCENT *et al.*, 2010). Da mesma forma, jogadores de futebol XX apresentaram concentrações séricas de CK mais altas do que seus colegas do alelo R após uma sessão de exercício excêntrico (BAUMERT *et al.*, 2022; PIMENTA *et al.*, 2012).

Os atletas portadores do alelo X apresentaram maiores reduções na altura do salto e maiores valores de CK sérica e dor muscular autorrelatada do que os atletas RR após uma maratona (DEL COSO *et al.*, 2017b) ou um triatlo meio Ironman (DEL COSO *et al.*, 2017a). Indivíduos XX também apresentaram concentrações séricas mais altas de mioglobina sérica e CK do que portadores do alelo R após uma corrida de aventura de ultra-resistência (BELLI *et al.*, 2017). Este papel da α -actinina-3 na defesa contra atividades musculares prejudiciais durante o exercício de resistência/ultra-resistência é um tanto inesperado quando se considera que as fibras de contração lenta são preferencialmente recrutadas durante essas tarefas de exercício (NORTH, 2008). Talvez a α -actinina-3 desempenhe um papel durante a fase excêntrica das atividades de exercícios de resistência que confere maior capacidade ao músculo, como um todo, de resistir ao dano muscular, apesar da expressão restrita dessa proteína às fibras de contração rápida (QUINLAN *et al.*, 2010; SETO *et al.*, 2021). Com base na carga genética e tendo em conta o princípio da individualidade, ajustes na

condução do treinamento, recuperação e nutrição deve ser feitos com o objetivo de otimizar a efeitos de adaptação ao treinamento. Atletas de Futebol ACTN3 XX precisam de um tempo maior tempo de recuperação entre as sessões de treinamento e distribuição de conteúdo de treinamento com o objetivo de evitar a overtraining e lesões musculares (DEL COSO *et al.*, 2019; PIMENTA *et al.*, 2012; RODAS *et al.*, 2021).

Uma partida oficial de futebol leva a fadiga neuromuscular e comprometimento do desempenho físico que dura até 72-96 horas após a partida (NÉDÉLEC *et al.*, 2012). Considerando que os jogadores de elite de futebol jogam de 1 a 2 partidas por semana durante uma temporada de 9 a 10 meses, isso tem grandes implicações na rotina de treinamento semanal e na preparação para as próximas partidas. Acredita-se que a fadiga pós-jogo seja causada por desidratação, depleção de glicogênio, fadiga mental e dano muscular, onde o dano muscular é provavelmente um fator importante (SILVA *et al.*, 2018). A evidência de dano muscular é baseada em grandes aumentos nos marcadores indiretos de dano muscular, como as concentrações sanguíneas de Creatina Quinase, Mioglobina (COELHO *et al.*, 2015; SILVA *et al.*, 2018; WIIG *et al.*, 2019), marcadores inflamatórios como Proteína C Reativa (PCR) (SOUGLIS *et al.*, 2015; SPROSTON; ASHWORTH, 2018a) aumentos no início tardio da dor muscular (ISPIRLIDIS *et al.*, 2008a; RAMPININI *et al.*, 2011), redução na capacidade de geração de força (DELAVAL *et al.*, 2022) e potência (SILVA *et al.*, 2013).

Recentemente, a Termografia Infravermelha (TRI) foi implantada no cenário esportivo por ser um método não invasivo, indolor e que não necessita de contato com a região do corpo para ser avaliada. Baseia-se na emissão de radiação infravermelha por corpos com temperatura acima do zero absoluto, fornecendo uma imagem da distribuição da temperatura da pele corporal denominada termograma, (DUARTE *et al.*, 2022; SZENTKUTI *et al.*, 2011) que é condicionada pelas atividades microcirculatórias, inflamatórias e autonômicas (GÓMEZ-CARMONA *et al.*, 2020). Duarte *et al.*, 2022 verificaram que as concentrações de PCR e a temperatura da pele tem correlações positivas significativas na cinética em resposta a jogo seriados, sendo

superiores à Linha de Base nos tempos 24h e 48h Pós-Jogos. As respostas de $\Delta\%$ CRP e $\Delta\%$ TRI às 48 h do jogo 3 foram superiores às 48 h dos jogos 1 e 2, logo, o tempo de 48 h parece representar informação valiosa na compreensão do desenvolvimento de processos inflamatórios, associados à recuperação dos jogos. Esses resultados indicam um provável efeito cumulativo de carga devido aos curtos intervalos de recuperação entre os Jogos.

Fatores genéticos têm recebido destaque por sua suposta influência no metabolismo, na modulação do processo inflamatório e no remodelamento muscular resultando em distintos níveis de força, potência, resistência aeróbica e fadiga (BAUMERT *et al.*, 2022; LARRUSKAIN *et al.*, 2018). Porém, entre os atletas de alto rendimento onde o meio que estão inseridos é muito semelhante, pode ser que o perfil genômico característico da variação interindividual seja um fator de diferenciação entre as respostas inflamatórias dos atletas. Dessa forma, o estudo e o entendimento da influência de fatores genéticos sobre as respostas inflamatórias de atletas de futebol podem auxiliar na prescrição de carga para eles, maximizando o processo de recuperação, reduzindo assim o risco de lesões. Tivemos como objetivo estudar possíveis associações do perfil genético para ao gene ACTN3 com a magnitude das respostas inflamatórias após um treinamento com predominância de ações excêntricas em atletas de futebol brasileiros.

1.1. **Objetivos**

O Objetivo do presente estudo foi estudar possíveis associações do perfil genético para ao gene ACTN3 R577X (rs1815739) com as respostas inflamatórias, dano muscular e termografia nos períodos pré, 24 e 48 horas após um treinamento com predominância de ações excêntricas em atletas de futebol brasileiros.

1.2. Hipóteses

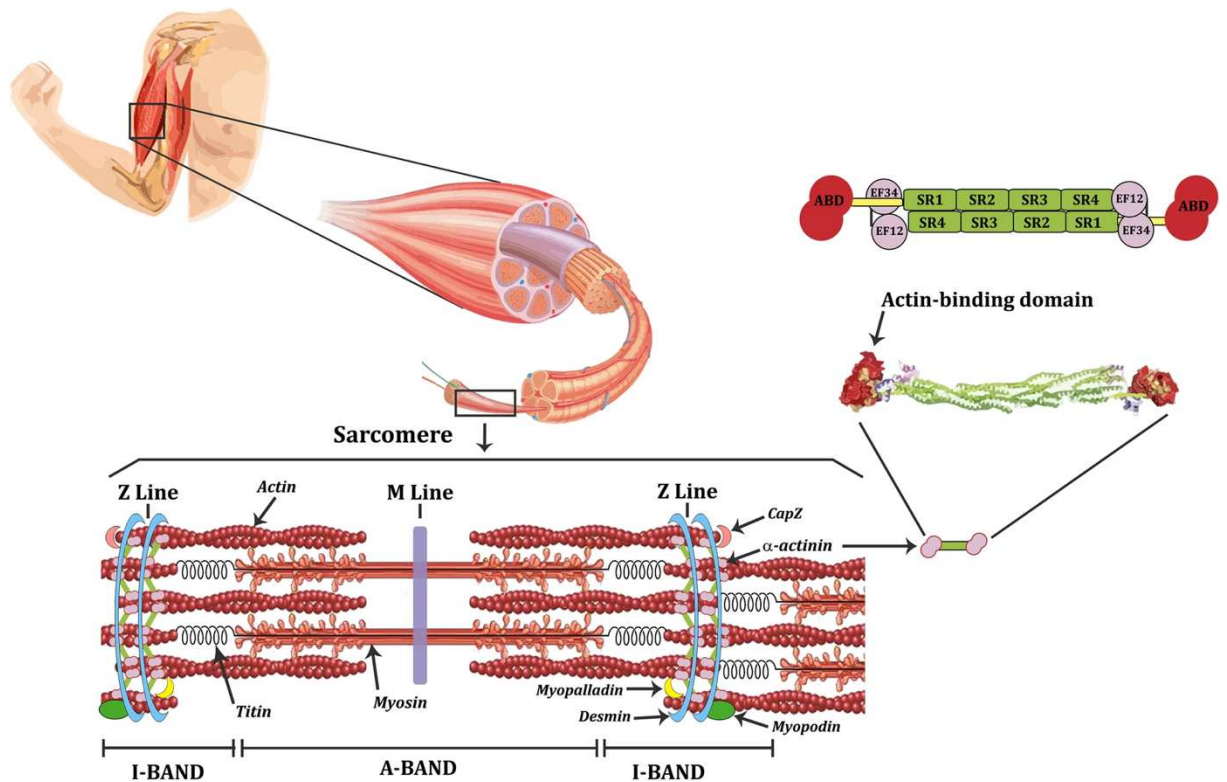
Hipótese nula (H0): Não haverá correlação entre a inflamação, termografia, dano muscular e polimorfismo (rs1815739) do gene ACTN3 nos jogadores profissionais de futebol.

Hipótese alternativa (H1): Haverá correlação entre a inflamação, termografia, dano muscular e polimorfismo (rs1815739) do gene ACTN3 nos jogadores profissionais de futebol.

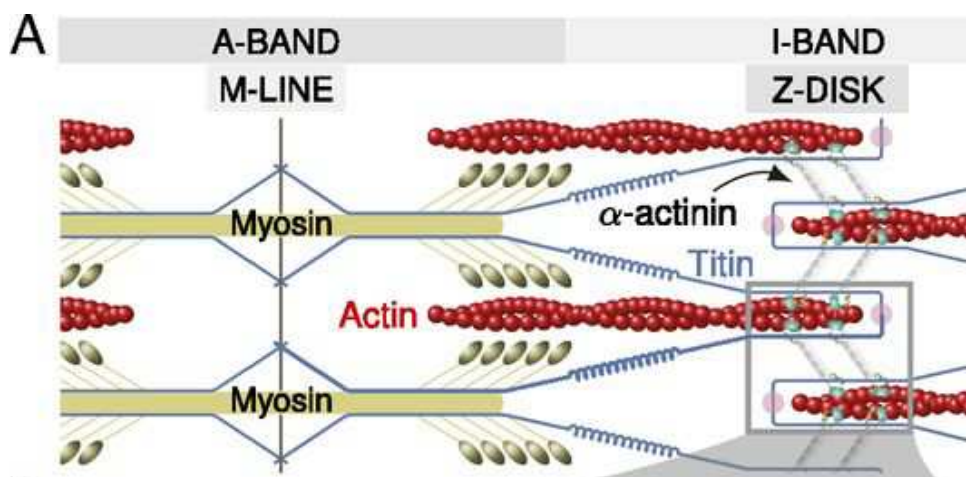
2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. GENE ACTN3 e Futebol

As α -actininas são uma família multigênica de quatro proteínas espectrinas de ligação à actinina relacionadas a distrofina e que desempenha um papel fundamental na manutenção e regulação do citoesqueleto. (BLANCHARD *et al.*, 1989; LEK; QUINLAN; NORTH, 2010; MILLS, 2001). São conhecidas duas isoformas sarcoméricas musculares da α -actinina sendo elas a α -actinina-2 e a α -actinina-3, elas são codificadas respectivamente pelos genes *ACTN2* e *ACTN3* (BEGGS *et al.*, 1992). As proteínas α -actinina-2 e a α -actinina-3 formam os principais componentes estruturais do aparelho contrátil na linha Z envolvidos na ancoragem dos filamentos finos contendo actina e são estruturas muito semelhantes (80% idêntica e 90% similares nos humanos) (Fig. 1 e 2) (LEE *et al.*, 2016). A α -actinina-2 está presente em todos os tipos de fibras musculares, e a α -actinina-3 está presente apenas nas fibras rápidas do tipo II (MILLS, 2001). Essa diferença de padrão de expressão indica que α -actinina-2 e 3 podem ter diferentes papéis fisiológicos no músculo, levanta a possibilidade que a α -actinina-3 tenha uma função específica nas fibras musculares rápidas que seja independente da função da α -actinina-2 (LEE *et al.*, 2016). A proteína α -actinina-2 é o principal componente do disco Z, onde desempenha um papel central dentro do sarcômero para todos os tipos de atividades locomotoras e deslocamentos (RIBEIRO *et al.*, 2014). Já a α -actinina-3 é a mais especializada, com expressão restrita às fibras musculares esqueléticas glicolíticas rápidas e está mais relacionado à geração de força muscular rápida e assim, para a produção de movimentos rápidos e explosivos (MACARTHUR *et al.*, 2007). Outras variáveis associadas ao exercício como adaptação ao treinamento, recuperação pós-exercício e lesões associadas ao exercício estão relacionadas ao papel da α -actinina-3 (PICKERING; KIELY, 2017).

Figura 1 – Localização da α -actinina no músculo.

Localização da α -actinina no músculo esquelético. As α -actininas são homodímeros antiparalelos de mais de 200 kDa, compreendendo um domínio de ligação à actina (ABD), um domínio central de quatro repetições do tipo espectrina (SR1-4) e um domínio do tipo calmodulina C-terminal com dois pares de EF hands motifs (EF). **Fonte:** (DEL COSO *et al.*, 2019)

Figura 2 – Localização da α -actinina no músculo.

Fonte: (GRISON *et al.*, 2017)

Foi identificado um polimorfismo de códon de parada comum (rs1815739; R577X) no gene *ACTN3* (NORTH *et al.*, 1999). Aqueles indivíduos que são homozigotos para o alelo X são incapazes de expressar α -actinina-3 em fibras musculares do tipo II, diferente daqueles que possuem o genótipo RX ou RR. Os indivíduos com o genótipo *ACTN3* XX compensam a deficiência de α -actinina-3 com uma maior expressão de α -actinina-2 e assim associada à diminuição da geração de força e é prejudicial ao sprint e ao desempenho de potência em atletas de elite (SETO *et al.*, 2011). Isso, por sua vez, pode conferir propriedades diferentes à fibra muscular, alterando a função muscular em repouso ou durante o exercício (EYNON *et al.*, 2011; SANTIAGO *et al.*, 2010). Assim, os efeitos fisiológicos encontrados em homozigotos XX estão explicitamente relacionados à falta de α -actinina-3 em vez de uma quantidade reduzida de α -actininas dentro do músculo. Embora as isoformas de α -actinina-2 e α -actinina-3 sejam quase idênticas em estrutura, diferenças sutis na interação com outras proteínas podem ter um efeito crucial tanto na linha Z quanto em todo o sarcômero (BERMAN; NORTH, 2010; LEE *et al.*, 2016). Cerca de um quinto (20%) da população mundial tem o genótipo XX (MACARTHUR *et al.*, 2007). No entanto a deficiência de α -actinina-3 não está associada com fenótipo de doença muscular, as evidências atuais sugerem que ela pode afetar a fisiologia muscular em atletas favorecendo atividades de resistência (ALFRED *et al.*, 2011) e efeito modificador na força tamanho e função muscular em idosos (PICKERING; KIELY, 2018).

A literatura sugere que a deficiência de α -actinina-3 pode desempenhar um papel benéfico que explicaria a perpetuação do alelo X através da seleção natural na evolução humana. Presume-se que a manifestação do alelo X foi influenciada pela temperatura ambiente (LEE *et al.*, 2016) porque sua presença nas populações humanas tende a ter uma associação com o gradiente latitudinal global, aumenta com o aumento da distância da África (AMORIM *et al.*, 2015; FRIEDLANDER *et al.*, 2013). Essa hipótese foi confirmada por diferentes pesquisas que demonstraram que a distribuição da frequência do genótipo *ACTN3* XX é de aproximadamente 25% em japoneses, 18% em caucasianos, 11% em etíopes e 3% em afro-americanos dos EUA e apenas 1% em quenianos e nigerianos. O alelo X foi observado em todas as

populações humanas testadas até o momento, a frequência mais baixa do alelo X ocorrem nas populações queniana, nigeriana e sul-africana, caucasianos australianos e espanhóis de origem europeia, japoneses no norte da Ásia e javaneses do sudeste da Ásia tem as frequências mais altas do alelo X (YANG *et al.*, 2007). O genótipo ACTN3 XX está negativamente associado ao atleta de elite de sprint (SCOTT *et al.*, 2010). Na recente evolução humana, aparentemente ocorreu uma forte seleção positiva para a deficiência de α -actinina-3 em ambientes que os recursos alimentares são relativamente escassos e o clima é frio, podendo estar relacionada à melhor aclimação e termogênese, devido ao aumento da geração metabólica de calor durante as atividades musculares, oferecendo assim maior eficiência metabólica (HEAD *et al.*, 2015). Demonstrando assim que o alelo X é um alelo metabolicamente 'econômico' o que seria favorável a sobrevivência em ambientes frios com poucos recursos (MACARTHUR; NORTH, 2004). Foi proposto que a alteração na atividade do principal regulador metabólico a glicogênio fosforilase na ausência de α -actinina-3 seja o elo fundamental na associação entre o genótipo ACTN3 e o desempenho humano. A deficiência de α -actinina-3 resulta na alteração da regulação da enzima glicogênio fosforilase o que leva a um aumento no conteúdo do glicogênio muscular e diminuição da capacidade do músculo em utilizar o glicogênio como combustível, resultando em uma mudança na fonte energética primária, ocorre uma diminuição no metabolismo anaeróbico e um aumento no metabolismo oxidativo (QUINLAN *et al.*, 2010).

O futebol apresenta esforços físicos de natureza intermitente, o jogador chega a correr de 8 a 12 mil metros durante uma partida, sendo que 20% em velocidade de corrida máxima ou próxima da máxima e outros movimentos rápidos durante cabeceamento, defesa e ataque com duração muito curta e alta intensidade. Tais características do futebol fazem com que a capacidade do atleta de produzir ações rápidas podem ser um fator importante na performance (SANTIAGO *et al.*, 2008). A base fisiológica para uma ligação entre a deficiência de α -actinina-3 (em comparação com os genótipos RR ou RX) e a suscetibilidade à lesão muscular sem contato é geralmente atribuída a alterações nas estruturas de transmissão de força dos miofilamentos no nível do disco Z (LIEBER *et al.*, 1996). Como a α -actinina-3 é de fato uma proteína com um papel

fundamental na ancoragem dos filamentos de actinina ao disco Z, a deficiência de α -actinina-3 pode levar a um fenótipo muscular com menor capacidade de tolerar a tensão produzida por esportes com ações explosivas (DEL COSO *et al.*, 2019).

Estudos com atletas de futebol demonstraram uma distribuição do polimorfismo do ACTN3 da seguinte forma, uma distribuição de menor proporção do genótipo XX (11%) em comparação com a população geral (18%), o que está de acordo com pesquisas anteriores em jogadores de futebol de classe mundial (7%) (CLOS *et al.*, 2019; RODAS *et al.*, 2021) e 11% em (SANTIAGO *et al.*, 2008). A literatura demonstra que exercícios com ações musculares excêntricas são um dos maiores desencadeadores de lesão muscular, principalmente nas fibras do tipo II (CHEUNG *et al.*, 2003; PROSKE *et al.*, 2001). Estudos mostram resultados que os indicadores de dano muscular são geralmente maiores em indivíduos ACTN3 XX pós-treinamento excêntrico (SETO *et al.*, 2011; VINCENT *et al.*, 2010). Avaliações em jogadores de futebol demonstraram uma associação entre a deficiência de α -actinina-3 e suscetibilidade para desenvolver lesões musculoesqueléticas, risco duas a três vezes maior em indivíduos XX do que em indivíduos RR (CLOS *et al.*, 2019; MASSIDDA *et al.*, 2019). A α -actinina-3 desempenha um papel potencialmente protetor contra danos musculares após treinamento excêntrico e melhorando a sinalização do sensor de estresse envolvido no reparo tecidual (VINCENT *et al.*, 2010). Os jogadores de futebol com genótipo XX tiveram uma maior taxa de lesão, seguidos pelo RR e RX, respectivamente (CLOS *et al.*, 2019). O genótipo XX pode ser considerado um genótipo de risco quando falamos de lesões musculares no futebol e parece estar associado a um maior tempo de recuperação (RODAS *et al.*, 2021). Uma tendência a um maior número de lesões e um tempo maior de recuperação após lesão muscular moderada em jogadores com o genótipo XX em comparação com os genótipos RR e RX foi encontrada, além de um número maior de lesões (CLOS *et al.*, 2019). Indivíduos ACTN3XX apresentam maior reposta catabólica em comparação com indivíduos RR, pós-treinamento excêntrico em atletas de futebol profissional. Indivíduos RR apresentam menor dano muscular e o XX apresenta risco aumentado para o desenvolvimento do dano muscular. Indivíduos XX precisam de maior tempo

de recuperação entre as sessões de treino e treinamento individualizado com o objetivo de prevenir lesões (PIMENTA *et al.*, 2012).

As evidências ainda são muito iniciais para indicar o uso da genotipagem *ACTN3* como uma ferramenta de triagem para a previsão de lesões musculares relacionadas ao esporte (RODAS *et al.*, 2021), mais estudos são necessários neste campo, pois biomarcadores genéticos podem ser responsáveis em um futuro próximo pela avaliação do risco de lesões e para que a avaliação das lesões seja individualizada e para otimizar o desempenho no futebol (CLOS *et al.*, 2019). Por outro lado estudo realizado com jogadoras profissionais de futebol feminino demonstrou que a genotipagem do gene *ACTN3* pode não ser útil para prever o desempenho específico do futebol ou a incidência de lesões nas jogadoras. A influência desse genótipo no futebol feminino parece ser desprezível, pelo menos em comparação com o efeito nocivo do genótipo *ACTN3* XX encontrado em jogadores de futebol masculino (DEL COSO *et al.*, 2022).

2.2. TERMOGRAFIA INFRAVERMELHA (TRI)

A pele humana funciona como barreira biológica protegendo o corpo dos perigos ambientais e mantendo o equilíbrio térmico, logo, um dos indicadores de saúde é a temperatura corporal, a qual o ser humano possui a capacidade de manter constante e independente do meio ambiente com valores entre 33°C e 42°C, tendo sua temperatura superficial corporal expressa por um mapa complexo de faixas de temperatura sendo influenciada por fatores internos e externos que alteram o padrão térmico e o aumento da temperatura interna local pode influenciar na temperatura superficial (FERNANDES *et al.*, 2018; FERNÁNDEZ-CUEVAS *et al.*, 2015).

Atualmente, a rotina de treinamentos e competições expõe os atletas a elevados níveis de estresse físico que resultam em diversas reações de sobrecarga que ao serem identificadas de maneira precoce, possibilitam tratamento adequado, além do mais, a compreensão das respostas fisiológicas nesses contextos possibilita maior número de informações sobre os atletas, podendo auxiliar no direcionamento das

cargas de treinamento adequado, entretanto, esse processo só é possível em razão do desenvolvimento de novas tecnologias, como a termografia infravermelha (CÔRTE; HERNANDEZ, 2016; MARINS *et al.*, 2014). Entretanto, para o uso adequado de TRI, é necessário o estabelecimento de um padrão térmico e ausência de patologias, favorecendo eficientes interpretações dos dados termográficos, sabendo que, alterações abaixo de 27°C estão relacionadas a condições de hipotermia e alterações acima de 33°C são classificadas como condições de hipertermia, porém, no contexto esportivo em ambas as condições, é indicado redução da carga de treinamento, podendo ocorrer suspensão das atividades e avaliação médica e fisioterapêutica (MARINS *et al.*, 2014).

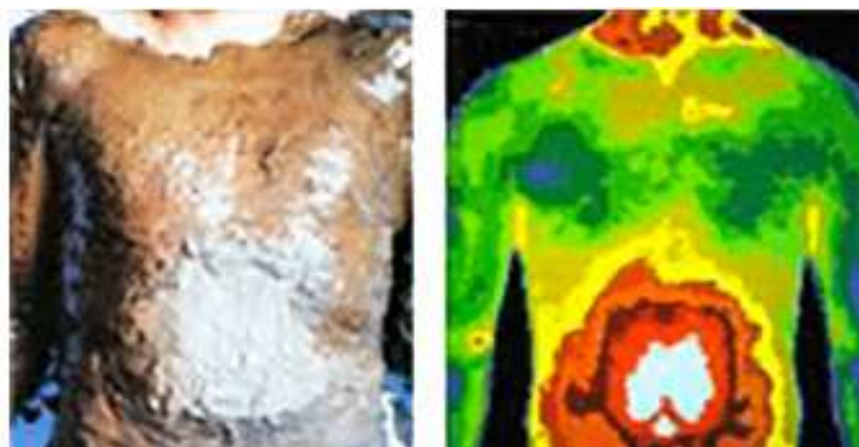
A TRI é um método que, por meio da sua quantificação pode possibilitar o monitoramento do calor superficial da pele e conseqüentemente, a medição de forma indireta da magnitude do processo inflamatório resultante do dano muscular originado pelo exercício por meio do aumento da Tp (ALBURQUERQUE SANTANA *et al.*, 2022). Esse método pode ser impactado por fatores desde ambientais, individuais e técnicos, sendo estes, responsáveis por reduções dos erros de medidas e da variabilidade deste erro e ainda, nas melhorias da reprodutibilidade de medidas (FERNÁNDEZ-CUEVAS *et al.*, 2015; QUESADA; CARPES, 2019).

2.2.1. História da Termografia Infravermelha (TRI)

A história da termologia – o estudo científico do calor e seus efeitos biomédicos é quase tão antiga quanto a própria medicina. Escritos em papiro que datam de 2600 a.C. sugerem que os antigos egípcios estavam cientes da relação entre calor corporal, saúde e cura, diferentes órgãos como indicadores de doença subjacente; *“Em qualquer parte do corpo que se sinta em excesso de calor ou frio, a doença está lá para ser descoberta.”* A febre era considerada uma manifestação não apenas do calor, mas de excessos de várias qualidades ou “humores”. *“As dores também são resultado do frio ou do calor, em excesso ou inversamente”*. Com isso, Hipócrates concebeu um método simples, porém eficaz para avaliar as mudanças térmicas: cobrir o corpo com uma fina camada de lama molhada e observar os padrões representados por

diferentes taxas de lama secagem sobre a superfície do corpo. Se a lama em uma área da pele secasse rapidamente enquanto todas as outras áreas permanecessem úmidas, suspeitava-se de um “tumor” subjacente, (Figura 03).

Figura 03. Método criado por Hipócrates para avaliar as mudanças térmicas: cobrir o corpo com uma fina camada de lama molhada e observar os padrões gerados por diferentes taxas de secagem de lama sobre a superfície do corpo.



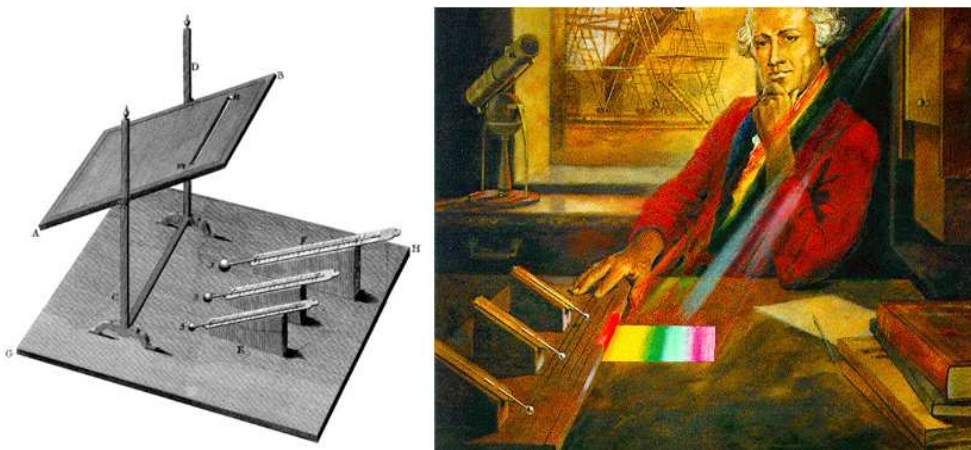
Fonte: <https://thermographymedicalclinic.com/the-history-of-thermography/>

As assimetrias e incongruências observadas na distribuição da temperatura foram então usadas para informar o diagnóstico e o prognóstico da doença, conforme discutido no Livro de Prognóstico de Hipócrates. À Hipócrates também é creditado a descrição de uma imagem bidimensional inicial da temperatura da pele usando um pano de linho úmido, cobrindo uma área da pele para produzir uma impressão das temperaturas da superfície através das mudanças na cor do tecido o que mais tarde se tornaria a ciência da termologia médica (PIEMONTE *et al.*, 2018).

A história da termografia tem seu início em 1800, quando William Herschel, e depois seu filho John Herschel, em 1840, realizaram os primeiros experimentos utilizando o sistema infravermelho para capturar uma imagem por meio da focalização da radiação solar sobre uma suspensão de partículas de carbono em álcool com auxílio de uma lente – um método conhecido como evaporografia (RING, 2006). Em 1843, Henry Becquerel descobriu que certas substâncias emitem luminescência quando expostas à radiação infravermelha, além de que poderiam ser produzidas emulsões fotográficas

sensíveis à radiação próxima do infravermelho (JIANG *et al.*, 2005). Esses experimentos foram de extrema importância para demonstrar que existem tipos de radiação que não são visíveis aos olhos humanos, figura 04 (HERSCHEL, 1800) .

Figura 04. Experimento realizado por Frederick William Herschel em 1800 em que ele descobriu radiação infravermelha.



Fonte: <https://herscheltelescope.org.uk/science/infrared/>

Nas primeiras três décadas após a descoberta de Herschel, foi confirmado que a radiação de calor obedecia às leis básicas da ótica. No entanto, não havia uma maneira eficaz de visualizar essa radiação e os experimentadores foram prejudicados pelo termômetro de bulbo comum. A temperatura da superfície do corpo não pôde ser medida de forma confiável por nenhum dispositivo colocado em contato direto com a pele. Isso ocorreu porque a pele tem uma capacidade de calor relativamente baixa e baixa condutância de calor lateral, portanto, sua temperatura provavelmente será alterada pelo contato com um objeto mais frio ou mais quente. Tal contato também altera a temperatura da pele, afetando os termosensores locais e provocando uma série de reflexos no sistema nervoso autônomo local ou sistêmico, causando dilatação ou constrição da vasculatura da pele. Devido a essas limitações da termometria de contato, pode-se dizer: *“A única maneira pela qual a temperatura da superfície da pele pode ser medida sem contato é pela detecção remota da radiação infravermelha de corpo negro emitida por ela”* (ANBAR, 1994).

Samuel Langley, em 1880, produziu o primeiro bolómetro, que é um aparelho capaz de medir diferenças de temperatura extremamente pequenas a uma distância superior a 400 metros, por meio da variação da resistência eléctrica de um metal com a variação da sua temperatura (RASK, 1979).

Entre os anos de 1940 e 1950, devido à Segunda Guerra Mundial, surge o scanner de infravermelhos de uso militar, com a característica da produção de um termograma - termo utilizado para descrever uma imagem feita por radiação térmica, com o inconveniente de que seu resultado somente poderia ser obtido após algumas horas. Seguindo os avanços, em 1954, era possível o próprio sistema gerar uma imagem em duas dimensões em 45 minutos. Após o marco tecnológico citado anterior, importantes evoluções aconteceram com o desenvolvimento dos primeiros sensores eletrônicos para a radiação infravermelha. Entre os anos 1959-1961, as primeiras imagens médicas foram capturadas com o sistema protótipo "Pyroscan", no Hospital Middlesex em Londres, e no Royal Hospital Nacional para Doença Reumática, em Beth (RING, 2006).

Em 1962, as imagens foram melhoradas, apesar de a análise mecânica ainda ser lenta, pois cada imagem necessitava de 2-5 minutos para ser gravada no material então usado (RING, 2007). Um importante avanço foi o desenvolvimento de uma modalidade de isoterma colorida. A isoterma delinea a imagem térmica como um padrão de bandas isotérmicas de cores codificadas capazes de distinguir variações no gradiente de temperatura tão pequeno quanto $0,1^{\circ}\text{C}$ (RYAN, 1969). Pesquisadores começaram a utilizar a tecnologia para avaliar a temperatura do dorso e da coluna espinhal (RASK, 1979). Já em meados de 1970, o primeiro sistema de computador foi instalado em Bath, Reino Unido, utilizando um processador *PDP 8*, onde a imagem era colorida e digitalizada, podendo assim ser arquivada neste formato. Em 1972, a *European Association of Thermology* foi formada, ao passo em que a primeira importante conferência aconteceu em Amsterdã, no ano de 1974. Isto levou a formação de grupos de estudo para formular diretrizes para aplicação das técnicas para coleta das imagens (RING, 2006, 2007).

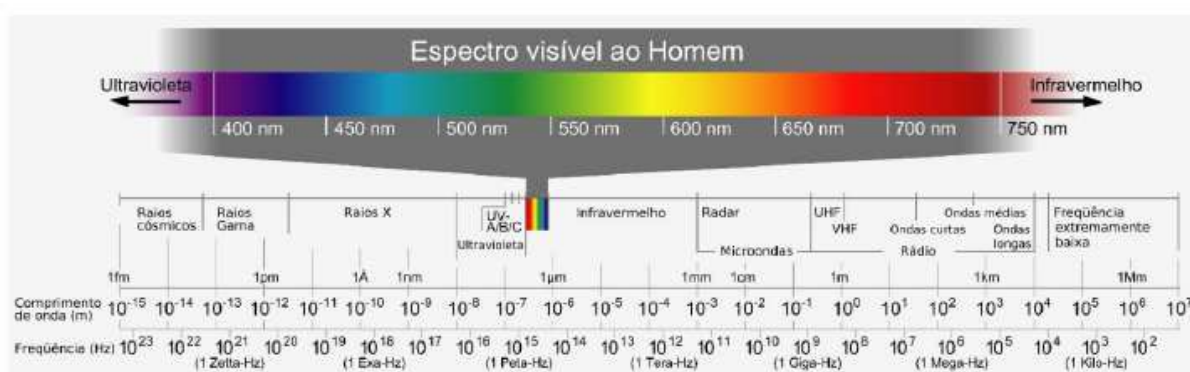
O desenvolvimento computacional e eletrônico nos anos que se seguiram contribuiu muito para o uso da termografia na prática médica moderna. A termografia de contato e de baixa resolução dos anos 80, com seus resultados subjetivos, foram substituídos por modernos sistemas computadorizados e sensores de altíssima resolução e sensibilidade térmica do fim dos anos 90. Atualmente, são utilizadas câmeras termográficas portáteis, de fácil operação, que apresentam precisão de 1°C ou 1% e sensibilidade térmica até 0,025°C, com resolução de imagem chegando a 1280 a 1024 pixels e alta frequência de imagem de 100 ou 380 Hertz, o que possibilita a captura de imagem até nos eventos mais rápidos, bem como a gravação de vídeos que permitem a análise da temperatura da pele em diferentes momentos.

Entre as décadas de 70 e 90, foram produzidos os primeiros estudos utilizando a termografia infravermelha (TRI) no meio esportivo, com os resultados indicando que TRI poderia auxiliar no diagnóstico, e controle da evolução de lesões esportivas e eficácia de tratamentos, demonstrando claramente alterações térmicas nos tecidos envolvidos, estando relacionado com o estado clínico e funcional dos atletas (BARAGONE *et al.*, 1987; GIANI *et al.*, 1989; KEYL; LENHART, 1975). Em 1972, a *European Association of Thermology* foi formada, e com a primeira importante conferência acontecendo em Amsterdã, no ano de 1974. Isto levou à formação de grupos de estudo para formular diretrizes para aplicação das técnicas para coleta das imagens. Além disso, nesta época começaram a ocorrer os primeiros estudos em ciência do esporte relacionados à sua aplicação na medicina esportiva (QUESADA, 2017). O primeiro registro de estudo sobre a aplicação da TRI na ciência do esporte data de 1975, intitulado "Termografia em lesões esportivas e lesões do sistema locomotor devido ao esporte" desenvolvido por (KEYL; LENHART, 1975), onde o foram examinados 82 pacientes e 50 atletas com lesões diferentes, sendo que o principal resultado foi a observação de hipertermia na área lesionada. Na sequência, outros estudos foram desenvolvidos com resultados apontando que TRI poderia auxiliar no diagnóstico, controle da evolução de lesões esportivas e eficácia de tratamentos, demonstrando claramente alterações térmicas nos tecidos envolvidos, estando relacionado com o estado clínico e funcional (BARAGONE *et al.*, 1987; GARAGIOLA; GIANI, 1990; GIANI *et al.*, 1989).

2.2.2. Princípios físicos da termografia

O espectro eletromagnético refere-se à distribuição da intensidade da radiação eletromagnética com relação ao seu comprimento de onda ou frequência. Cada tipo de onda eletromagnética contida no espectro possui seu comprimento de onda e frequência específica. Dentro do espectro eletromagnético, a radiação infravermelha está localizada na faixa de 0,76 μ m a 1.000 μ m.

Figura 5. Espectro eletromagnético



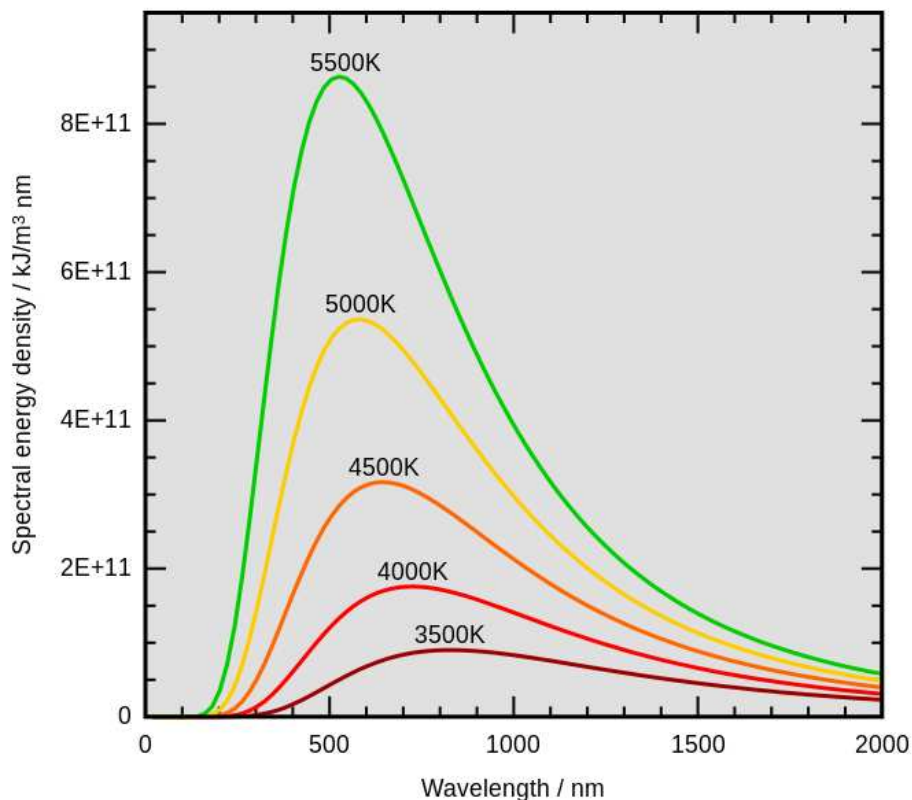
Fonte: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Electromagnetic_spectrum-es.svg

Dentre a diversidade de ondas que compõem o espectro eletromagnético, os raios infravermelhos são os que apresentam efeitos térmicos com maior intensidade. Devido à agitação dos átomos e moléculas, todos os objetos com uma temperatura superior ao zero absoluto (0K ou -273,15°C) emitem radiação infravermelha por meio da propagação de calor na qual a energia térmica é transmitida através de ondas eletromagnéticas.

A intensidade da radiação emitida por um determinado objeto está vinculada a sua propensão em irradiar energia infravermelha, capacidade essa conhecida por emissividade (ϵ). A emissividade do objeto é calculada através da razão entre a energia irradiada por um determinado material e a energia irradiada por um corpo negro para um mesmo comprimento de onda ($\epsilon=1$). Todo objeto que não seja um verdadeiro corpo negro possui emissividade entre os valores ($0<\epsilon<1$).

A pele humana apresenta uma emissividade de 0,98, muito próxima de um corpo negro ideal. Uma vez que a pele humana apresenta emissividade extremamente alta, as medidas de radiação infravermelha emitidas pela pele podem ser convertidas diretamente em valores de temperatura quando utilizamos como princípio a lei sobre a intensidade da radiação emitida por um corpo negro formulada por Max Planck. A lei de Planck afirma que todo corpo emite um espectro de radiação e que determinado comprimento de onda possui sua temperatura específica, descrevendo a intensidade ou radiância emitida por um corpo negro em equilíbrio térmico dada uma temperatura (FELDENS *et al.*, 2010).

Figura 6. Radiação de Corpo Negro



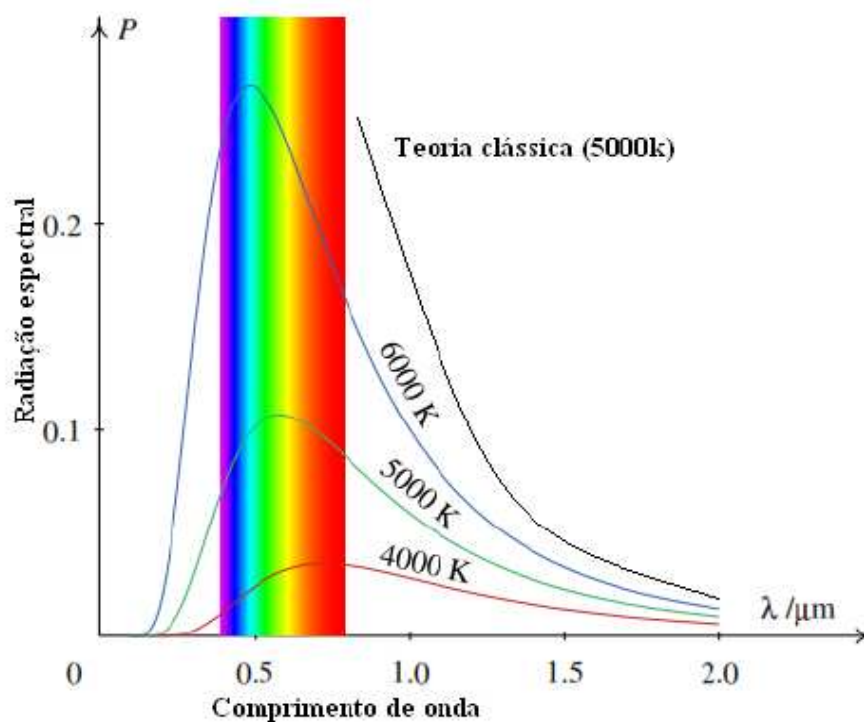
Fonte: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Wiens_law.svg

Uma das características da irradiação térmica consiste na não necessidade do meio material para transmitir energia térmica. Nesse sentido, outras duas leis são importantes para compreensão dos processos físicos que norteiam a termografia.

A lei de Stefan-Boltzmann permite calcular a quantidade de energia térmica irradiada a partir da superfície de determinado objeto (DAHMEN, 2006). Dessa forma, por meio da equação, é possível descrever a média total de energia emitida pela área de uma determinada superfície.

Por meio da lei de Stefan-Boltzmann, estabelece-se que, na medida em que a energia térmica liberada pelo corpo aumenta, a temperatura aumenta a quarta potência.

Figura 7. A medida que a temperatura aumenta, ocorre um aumento da área sob a curva do gráfico (lei de Stefan-Boltzmann).



Fonte: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Radia%C3%A7%C3%A3o_espectral.png?uselang=ptbr

Por fim, a lei de Wien, demonstra a relação entre a temperatura e o valor máximo do comprimento da onda. A equação estipula que o comprimento de onda que um corpo irradia energia é inversamente proporcional a sua temperatura, isto é, quanto mais quente estiver o corpo, menor será o comprimento de onda (FELDENS *et al.*, 2010).

$$\lambda \text{ máx.} = \frac{b}{T}$$

λ máx.: Comprimento de onda (em metros) onde a intensidade da radiação eletromagnética é a máxima;

T: Temperatura do corpo negro em kelvin [K];

b: Constante de proporcionalidade, 2.8977685×10^{-3} .

2.2.3. Aspectos Técnicos da Termografia na Área Médica

A imagiologia médica, ou exame de imagem, refere-se à técnicas e processos utilizados para criar imagens orientadas à análise clínica. Atualmente, a imagiologia desempenha um papel central no processo de cuidados da saúde, educação, investigação e diagnóstico médico.

As técnicas por imagem médica utilizadas hoje estão divididas em invasivas e não invasivas, e, ionizante e não ionizante, sendo as técnicas não invasivas e não ionizantes mais seguras para os seres humanos, uma vez que podem ser repetidas inúmeras vezes sem prejuízos significativos para a saúde do avaliado (UMADEVI; RAGHAVAN, 2009). Quanto ao espectro eletromagnético, as modalidades de imagens médicas podem ser classificadas pela faixa de frequência da radiação eletromagnética em que atuam e, de modo geral, fornecem informações anatômicas. A termografia, por sua vez, é uma técnica digital, não invasiva e não ionizante, que gera imagens anatômicas em um plano bidimensional, permitindo definir, por meio de mapeamento térmico, o estado fisiológico do tecido ou órgão examinado, baseando-se na emissão da radiação infravermelha do objeto ou corpo sob análise, a qual pode contribuir para avaliação de determinado quadro patológico e diagnóstico médico (HILDEBRANDT, et. al, 2010; PRASAL, et. al, 2010). Os sensores das câmeras termográficas captam a radiação infravermelha, gerando imagens a partir da distribuição da temperatura emitida pela superfície do corpo. A tecnologia termográfica utilizada na área médica consiste basicamente em uma forma de detectar e medir a radiação eletromagnética - no espectro de frequência na faixa do infravermelho -,

convertendo-a em sinais elétricos. Estes sinais são visualizados em tons de cinza ou em cores que representam os valores de temperatura, proporcionando a visibilidade de tecidos e órgãos e podendo detectar tumores e outras anormalidades. Para as aplicações médicas, normalmente são usadas câmeras com velocidade de trinta quadros por segundo, com resolução térmica de 0,1 °C e resolução mínima das imagens de 320x240 pixels (TKACOVA, et. al., 2010).

O interesse das áreas médicas pela termografia é compreendido pelo fato de que tal técnica pode ter uma aplicação generalizada para fins de diagnósticos, prognósticos, biometria, monitoramento de pacientes e cirurgias (ARTHUR, KHAN, 2011). Por ser um método de diagnóstico não invasivo, não ionizante e indolor, a termografia consiste em uma técnica segura, tanto para o paciente quanto para o examinador.

2.3. DANO MUSCULAR E REPOSTA INFLAMATORIA NO FUTEBOL PCR E CK

2.3.1. Proteína C Reativa (PCR)

O dano muscular causado pelo exercício desencadeia um processo inflamatório ou inflamação. Sendo caracterizado como uma resposta de defesa que o sistema imune ativa para combater agentes estressores, com o objetivo de reparar o tecido muscular danificado (SILVA; MACEDO, 2011). O processo de reparo do tecido muscular danificado ocorre somente quando várias células que estão presentes no tecido muscular são estimuladas (HYLDAHL; HUBAL, 2014). As células são: células satélites, células inflamatórias (neutrófilos, macrófagos e linfócitos), células vasculares (células endoteliais) e células estromais (fibroblastos), interações entre elas ocorrem no tecido muscular (HYLDAHL; HUBAL, 2014). O mecanismo de reparo do dano muscular que ocorre devido ao exercício é sistêmico e pode ser dividido em três fases, sendo elas: fase degenerativa, fase regenerativa e a fase de remodelamento do tecido danificado. Durante esse processo, as células inflamatórias promovem tanto dano quanto reparação (SMITH, 2004).

A lesão do sarcolema desencadeia o processo de reparo da primeira fase. Essa lesão promove a liberação de eicosanídes (e.g., prostaglandinas e, prostaciclina, leucotrienos e tromboxanas) que funcionam na regulação da vasodilatação, auxiliam a atividade quimiotática e o aumento da permeabilidade do endotélio vascular (SMITH, 2004). Em junção, esses fatores favorecem o influxo das células inflamatórias para o tecido lesionado (SILVA; MACEDO, 2011).

A primeira subpopulação de leucócitos a migrar para o tecido danificado são os neutrófilos, apresentando seu pico 60 minutos após o exercício podendo permanecer com suas concentrações elevadas por até cinco dias (GLEESON, 2007). Sua principal função é a retirada dos elementos indesejáveis presentes na lesão do tecido. Para evitar a exacerbação do dano através de um aumento da produção das espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, além de preservar o processo de reparo tecidual a ação dos neutrófilos deve ser aguda e muito bem regulada (GLEESON, 2007). A segunda subpopulação é composta pelos macrófagos (monócitos que migram para os tecidos danificados). Pesquisas apontam que a função desses leucócitos depende do momento em que eles invadem o tecido muscular. Por exemplo, aqueles que aparecem tardiamente (entre 48-96h) parecem ter um papel mais ativo na regeneração tecidual que aqueles que aparecem anteriormente no local em que houve a inflamação (entre 24-48h), que por sua vez tem maior influência na retirada de substâncias indesejáveis do tecido danificado (SILVA; MACEDO, 2011). Importante salientar que esse processo descrito é um processo local, entretanto, a inflamação é um processo sistêmico, sendo assim, a fase anterior descrita é acompanhada por uma resposta sistêmica denominada resposta de fase aguda, está é o ajuste da homeostase para o reparo do tecido danificado (SILVA; MACEDO, 2011). Uma das respostas desencadeadas pela fase aguda mais estudada é o aumento da atividade hepática, com aumento na corrente sanguínea da síntese de proteínas de fase aguda como por exemplo a Proteína C Reativa, fibroblastos e outras. Cada uma dessas proteínas exerce uma função específicas durante o processo inflamatório (SMITH, 2004).

A Proteína C Reativa (PCR) é uma proteína inflamatória de fase aguda que foi descoberta em 1930 por Tillet e Francis enquanto investigavam os soros de pacientes infectados agudamente por *Pneumococcus*. A PCR é sintetizada principalmente nos hepatócitos do fígado e regulada por citocinas, predominantemente a Interleucina-6 (IL-6) e o fator de necrose tumoral α (TNF- α) (SPROSTON *et al.*, 2018; VOLP *et al.*, 2008). Embora o fígado seja sua principal fonte, as células musculares lisas, os macrófagos, as células endoteliais, os linfócitos e os adipócitos também a sintetizam, estando seus níveis aumentados em respostas a processos inflamatórios ou infecciosos ativos (SPROSTON *et al.*, 2018; VOLP *et al.*, 2008). Entre os reagentes da fase aguda a PCR apresenta uma elevação precoce em relação a sua concentração inicial e rápido retorno do quadro. Estudos anteriores afirmam que os níveis séricos da PCR começam a aumentar entre 4 e 10 h após o início do estímulo, atingindo seu pico com até 1.000 vezes (quadros de infecções bacterianas) e retorna a sua concentração inicial em aproximadamente 48h e, como sua expressão ocorre em uma faixa de 4 a 9 h, a PCR retorna rapidamente a valores basais após o término do estímulo de uma forma exponencial ao longo de 18-20 horas, próximo à meia-vida da PCR (COLLARES; PAULINO, 2006; PEPYS, 1982; RIDKER, 2003).

Durante as partidas de futebol os jogadores são obrigados a realizar repetidamente inúmeras ações motoras intensas caracterizadas como contrações excêntricas, por exemplo: saltos, sprints e mudanças de direção na corrida (IMPELLIZZERI *et al.*, 2007; RAMÍREZ-CAMPILLO *et al.*, 2016), que estão associadas a danos musculares que geram conseqüente processos locais de inflamação (HYLDAHL; HUBAL, 2014; LI *et al.*, 2018; PEAKE *et al.*, 2017). Esses processos inflamatórios podem ser verificados pela infiltração de fagócitos, aumentos das concentrações de Interleucina-6 (IL-6) e Fator de Necrose Tumoral e, em particular, pelo aumento da síntese de proteínas de fase, como a Proteína C-Reativa (PCR) (ASCENSÃO *et al.*, 2011; CLYNE; OLSHAKER, 1999; ISPIRLIDIS *et al.*, 2008; SOUGLIS *et al.*, 2018).

Os aumentos significativos nos níveis da concentração sanguínea de PCR são relatados após uma partida de futebol (BEZERRA *et al.*, 2016; ISPIRLIDIS *et al.*, 2008; JATENE *et al.*, 2019; SOUGLIS *et al.*, 2018). Esses níveis podem permanecer mais

elevados até 48 h após o estímulo como um jogo, em relação aos níveis pré-jogo (BEZERRA *et al.*, 2016; JATENE *et al.*, 2019), retornando aos níveis basais com a atuação do processo de recuperação (COLLARES; PAULINO, 2006). Entretanto, alguns estudos não encontraram níveis significativamente mais altos em cerca de 48 h pós-jogo (ISPIRLIDIS *et al.*, 2008; SOUGLIS *et al.*, 2018). Quando se analisa jogos consecutivos, níveis de PCR significativamente maiores foram encontrados no segundo jogo, em comparação ao primeiro jogo (JATENE *et al.*, 2019; MOHR *et al.*, 2016), fato esse que deve ser atribuído ao curto intervalo entre os jogos que pode gerar processos inflamatórios com uma maior magnitude e/ou duração (LI *et al.*, 2018; PEAKE *et al.*, 2017; SPROSTON; ASHWORTH, 2018). Nas comparações entre o segundo e o terceiro jogo, níveis mais altos foram encontrados no jogo 3, com intervalo de 48 h entre os jogos (JATENE *et al.*, 2019), mas o mesmo não foi verificado com intervalo de cerca de 72 h (MOHR *et al.*, 2016).

2.3.2. Creatina quinase (CK)

A creatina quinase é uma enzima citoplasmática relacionada ao metabolismo energético que, quando liberada no meio extracelular, é indicativa de microtrauma muscular (COELHO *et al.*, 2016). A concentração da CK tem sido um dos marcadores de dano muscular mais estudados e tem sido considerado um bom marcador (BRANCACCIO *et al.*, 2008; CLARKSON; HUBAL, 2001).

A função da CK na célula é regular as concentrações de adenosina difosfato (ADP) e adenosina trifosfato (ATP), pois ela é responsável por catalisar a reação reversível entre a fosfocreatina (CP) e o ADP. A CK é uma proteína dimérica globular composta de duas sub-unidades, com massa molecular de 43 kilodaltons (kDa) cada. Existem pelo menos cinco isoformas da CK: três isoenzimas no citoplasma conhecidas como CK-BB ou CK 1, CK-MB ou CK 2 e CK-MM ou CK3, e duas isoenzimas (sarcoméricas e não sarcoméricas) na mitocôndria (BRANCACCIO *et al.*, 2008; HORTOBÁGYI; DENAHAN, 1989). Essas duas isoenzimas mitocondriais são proteínas octoméricas, conhecidas como macro-CK, devido aos seus elevados pesos moleculares (BRANCACCIO *et al.*, 2008). As isoenzimas (CK-BB, CK-MB e CK-MM) compõem a

chamada CK-total e cada uma fornece informações específicas do tecido lesionado. O tecido musculo esquelético apresenta 1-3% CK-MB e 97-99% CK-MM, o tecido cardíaco apresenta 15-20% CK-MB e 75-80% CK-MM e o tecido cerebral 100% de CK-BB. A CK-MB é específica do músculo cardíaco e encontra-se elevada no sangue quando há infarto agudo do miocárdio (BRANCACCIO *et al.*, 2008; KATIRIJI; AL JABERI, 2001). A CK-BB é específica do tecido cerebral e se apresenta elevada no sangue em caso de lesão cerebral e durante a vida fetal (BRANCACCIO *et al.*, 2008; KATIRIJI; AL JABERI, 2001). A CK-MM é encontrada especificamente ligada as miofibrilas localizadas na estrutura da linha-M no músculo esquelético. Nos adultos, a CK total é formada predominantemente pela CK-MM oriunda do músculo esquelético e se apresenta elevada no sangue no caso de danos no músculo esquelético (BRANCACCIO *et al.*, 2008; KATIRIJI; AL JABERI, 2001).

Uma partida de futebol apresenta ações musculares excêntricas, como saltos e frenagens que favorecem a ocorrência de microlesões ou danos ao músculo esquelético (RUSSELL *et al.*, 2016; STOLEN *et al.*, 2005), dependendo da intensidade e duração da atividade, causam aumento da permeabilidade da membrana plasmática, gerando um extravasamento de enzimas citoplasmáticas para a corrente sanguínea (BRANCACCIO *et al.*, 2008). Dentre estas enzimas, a creatina quinase (CK) tem sido descrita, dentre outros marcadores, como um bom marcador de dano muscular (BRANCACCIO *et al.*, 2008). A CK após ser liberada chega a corrente sanguínea com uma elevada concentração comparada com outras proteínas (CLARKSON; HUBAL, 2001). A individualidade biológica influencia a concentração sanguínea de CK em resposta ao exercício (BRANCACCIO *et al.*, 2008), por isso, tem sido recomendada a análise individual desta enzima (ALVES *et al.*, 2015). Sendo influenciada por fatores pessoais, como raça, sexo, massa muscular, status de treinamento e predisposição genética (BRANCACCIO *et al.*, 2008). Alguns fatores ambientais interferem na variabilidade da CK, são eles: temperatura (menores temperaturas maior a valores de CK) e ciclo circadiano (variação de 10%) (BRANCACCIO *et al.*, 2008; HORTOBÁGYI; DENAHAN, 1989). Um mesmo treinamento pode fazer com que indivíduos diferentes sejam classificados como tendo uma resposta alta ou baixa ao aumento da CK sérica (COELHO *et al.*, 2016). A

literatura tem fornecido muitas informações quanto à resposta da CK à carga de treinamento no futebol (ALVES *et al.*, 2015; ISPIRLIDIS *et al.*, 2008). Dessa forma, alguns estudos têm demonstrado que a CK aumenta logo após uma partida de futebol e atinge seu pico após 48h (FATOUROS *et al.*, 2010; ISPIRLIDIS *et al.*, 2008) ou 24h (COELHO *et al.*, 2011), retornando aos seus valores basais depois de 96h (FATOUROS *et al.*, 2010; ISPIRLIDIS *et al.*, 2008). A redução do desempenho em testes neuromusculares e a dor muscular após uma partida de futebol têm sido associadas ao aumento da CK (FATOUROS *et al.*, 2010; ISPIRLIDIS *et al.*, 2008). As concentrações de CK podem ser consideradas uma ferramenta fundamental para monitorar a carga de treinamento dos atletas (COELHO *et al.*, 2016).

A resposta da CK em diferentes protocolos de exercícios e esportes têm sido investigados em alguns estudos (MOUGIOS, 2007; TOTSUKA *et al.*, 2002), principalmente durante períodos competitivos no futebol (ALVES *et al.*, 2015; LAZARIM *et al.*, 2009). Algumas investigações não relataram alterações (SILVA *et al.*, 2018; ZOPPI *et al.*, 2003), enquanto outros mostraram diminuição da CK ao longo de uma competição (ALVES *et al.*, 2015; LAZARIM *et al.*, 2009). A redução da CK, como resposta ao mesmo esforço realizado em dias consecutivos, pode indicar uma adaptação muscular (MCHUGH, 2003). Foi verificado que jogadores de futebol com maior nível de força muscular de membro inferior apresentaram menores CK em avaliação 48h após uma partida de futebol. Dessa forma, jogadores de futebol com nível de treinamento mais elevado podem apresentar menores valores da CK após partidas oficiais de futebol (OWEN *et al.*, 2015).

A concentração de CK representa o desgaste mecânico induzido pelo exercício devido ao treinamento realizado nos dias anteriores e está ligada à intensidade e volume do treinamento. Sendo assim para o desenvolvimento de um programa de treinamento, é indispensável avaliar o estresse muscular do atleta por meio de biomarcadores, como a CK, considerando que os resultados podem orientar o tipo de treinamento necessário para cada jogador, respeitando sua individualidade biológica, a fim de prevenir o overtraining e garantir que o treinamento irá melhorar ou manter a performance (COELHO *et al.*, 2016).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Cuidados Éticos

Esse estudo respeitou todas as normas estabelecidas pelo Conselho Nacional de Saúde (Resolução 466/12) envolvendo pesquisas com seres humanos e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (69253417.1.0000.5149). Todos os procedimentos, riscos e benefícios relacionados à pesquisa foram devidamente repassados aos voluntários anteriormente à sua assinatura do termo de consentimento para a participação no estudo.

Após a autorização dos dirigentes do clube de futebol para a realização do estudo, os voluntários consentiram e ficaram cientes dos procedimentos, benefícios e da participação voluntária por meio do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (APÊNDICE). A prioridade absoluta do estudo foi preservar a privacidade, a saúde e o bem-estar dos voluntários. Ademais, todos os procedimentos foram acompanhados por profissional qualificado e específico da área para garantir os aspectos relacionados à biossegurança.

3.2. Participantes

A amostra foi composta por 46 atletas de futebol do sexo masculino da categoria sub-20 e com pelo menos 6 anos de experiência em treinamentos sistematizados de futebol. Os atletas fazem parte de clubes da primeira divisão do futebol brasileiro e disputam competições organizadas e/ou reconhecidas pela Confederação Brasileira de Futebol (CBF) e mantinham treinamento sistematizado com pelo menos seis anos de experiência.

Os critérios de inclusão adotados foram: a) não ter consumido nenhum tipo de diurético ou antipirético, ou alimento suplementos, que podem alterar a homeostase da água ou homeostase térmica do corpo, até 2 semanas antes das sessões de estudo; b) não ter histórico de problemas renais; c) não ter febre até 7 dias antes das

avaliações. O estudo excluiu os voluntários que tiveram qualquer lesão muscular na região lombar, pelve ou coluna lombar, bem como aquelas que deixarem o clube durante a temporada competitiva.

3.3. Delineamento metodológico

3.3.1. Procedimentos

O estudo foi realizado na terceira semana da pré-temporada dos times participantes. Essa escolha foi feita para que os atletas estejam com condicionamento físico equalizado e para que não haja uma possível resposta inflamatória muito discrepante da situação real em caso de atletas em destreinamento em função do período de férias anterior ao estudo.

No primeiro dia do estudo para caracterizar as amostras, os sujeitos foram submetidos a uma avaliação física, na qual a massa corporal, altura e dobras cutâneas foram medidas para calcular o percentual de gordura (JACKSON; POLLOCK, 1978). No mesmo dia foi realizado a primeira coleta sanguínea que foi utilizada para a extração do DNA. Os valores máximos de consumo de oxigênio (VO₂max) foram obtidos através de uma avaliação realizada duas semanas antes do início do estudo utilizando o teste de campo *YoYo Endurance Test* nível 2 (BANGSBO, 1994). Os sujeitos foram genotipados para o gene do ACTN3 e depois divididos em grupos de acordo com seu genótipo (Tabela 1).

Tabela 1- Característica da Amostra

Variáveis	N:19	RR	N:21	RX	N:6	XX	p
Idade (Anos)		19±1		19±1		18±2	0,957
Peso (kg)		76±7,5		75±8,3		72±4,1	0,124
Estatura (cm)		177,1±6,2		179,1±4,2		172,1±3,2	0,874
Percentual de Gordura (%)		10,56±1,4		9,56±0,8		8,56±2,7	0,698
VO ₂ máx (ml.kg ⁻¹ .min ⁻¹)		55,3±1,8		56,3±0,9		58,3±2,4	0,079

Legenda: Os dados estão apresentados em $X \pm DP$.

Após a caracterização da amostra, no segundo dia do estudo, foi realizada a segunda coleta de sangue para a obtenção do *base line* dos biomarcadores inflamatórios e após uma hora, deu-se início a sessão de treinamento. Ainda no segundo dia do estudo, 24 horas após o treinamento, foi realizada a terceira coleta sanguínea para análise dos biomarcadores. A quarta coleta de amostras de sangue foi realizada no dia seguinte (dia 3), 48 horas após o término da sessão de treinamento.

Durante o estudo, desde os procedimentos de caracterização da amostra até o momento 48 horas após a sessão de treinamento, os sujeitos foram acomodados nas instalações do clube, onde todas as refeições seguiram a orientação de um nutricionista esportivo. Os participantes não estavam tomando nenhum medicamento ou suplemento dietético com ação anti-inflamatória por pelo menos 2 semanas antes do estudo. Atletas aptos a realizarem o treinamento, mas ainda em processo de recuperação de lesões recentes foram excluídos da amostra, pois esses são constantemente submetidos a tratamentos e protocolos de recuperação que alteram as respostas inflamatórias. A figura 1 ilustra o desenho experimental do presente estudo.

Figura 8- Desenho Experimental



Fonte: Elaboração própria.

3.3.2. Protocolo de treinamento

Os sujeitos estavam familiarizados com o treinamento proposto (PIMENTA *et al.*, 2012), mas não realizavam estes tipos de exercícios pelo menos 1 mês antes do estudo, embora estivessem treinando regularmente durante 2 semanas, tendo participado de pelo menos 7 sessões de treinamento por semana, realizando tanto exercícios cardiovasculares quanto de resistência. Após os exercícios de aquecimento, os atletas foram divididos aleatoriamente e fizeram, por duas vezes, um circuito composto por cinco estações com exercícios intermitentes combinando saltos, mudanças de direção, acelerações e desacelerações. A permanência em cada estação tinha a duração de 3 minutos com intervalos de 30 segundos para a mudança da estação. As atividades eram realizadas em velocidade máxima e acompanhadas de incentivos verbais por parte dos treinadores. O tempo total de duração do treinamento foi de 45 minutos. A análise da carga da sessão de treinamento foi realizada pelo registro da frequência cardíaca (FC) e outras variáveis como a distância total percorrida e ações em alta intensidade. Essas variáveis, foram registradas através de dispositivos de GPS integrados com a frequência cardíaca da marca Polar (Polar Team Pro®, Finlândia). As condições ambientais (temperatura e umidade relativa do ar) de todo o treinamento foram registradas através do Termo-higrômetro digital (Instrutherm® HT-260). Os dados referentes a demanda física da sessão e as condições ambientais do treinamento estão na Tabela 2.

Tabela 2 - Demanda Física e Condições Ambientais da Sessão de Treinamento.

Variáveis	RR	RX	XX	p
Distância(m)	3,088±123	3,35±156	3,402±236	0,71
Distância em alta Intensidade (>21 Km/h) (m)	165,25±28	152,68±41	148,25±17	0,96
Aceleração em alta intensidade (3m/s ²)	68±8	58±4	56±1	0,09
Desacelerações em alta intensidade (3m/s ²)	59±6	55,3±8	52,9±8	0,69
% FC	82,36±1,6	81,68±2,6	84,48±0,8	0,16
Temperatura (°C)	26°			
Umidade relativa do ar (%)	68%			

Legenda: Os dados estão apresentados em X ± DP.

3.3.3. Análises bioquímicas

Para as concentrações de Proteína C Reativa foram utilizadas o teste ECO F hs-PCR no equipamento F200 ECO®. O ensaio ECO F hs-PCR é baseado na tecnologia de imunoenensaio e reflectometria usando partículas de látex coloridas para medir a concentração de PCR ultrasensível em amostras de sangue total coletadas por punção capilar. O dispositivo de teste é inserido no analisador ECO Reader F. Volume de 5µl de sangue total de amostra é adicionada a um tubo de tampão de extração e bem misturada com a pipeta Spoit. A mistura de reação é aplicada no poço da amostra do dispositivo de teste. O analisador exibirá automaticamente o resultado do teste após 3 minutos. A faixa de medição é de 0,1 a 15 mg/L. Para as concentrações de Creatina Quinase foram utilizados os testes Simplex ECO POC no equipamento Simplex ECO®. O ensaio é baseado em Imunoquímica com amostras de 20µl de sangue total coletadas por punção capilar.

3.3.4. Captura dos termogramas

A aquisição dos termogramas foi realizada em sala específica, com temperatura ambiente de 22°C e umidade relativa do ar de 65% (RODRIGUES JÚNIOR *et al.*, 2021). O checklist TISEM foi utilizado para monitorar possíveis fatores de confusão (ex. utilização de pomadas, banho de sol, etc) (MOREIRA *et al.*, 2017). O índice de emissividade foi ajustado para 0.98, utilizando um fundo preto (FERNANDES *et al.*, 2017; QUESADA; CARPES, 2019). O termovisor foi mantido a uma distância de 1.5m do atleta, que usava apenas sunga (FERNANDES *et al.*, 2017; QUESADA; CARPES, 2019) . Antes da captura dos termogramas, os participantes permaneceram 10min dentro da sala de coleta para atingir o equilíbrio térmico (FERNÁNDEZ-CUEVAS *et al.*, 2015). Dois termogramas (visão posterior e anterior dos MMII) nos momentos pré, 24 e 48 horas a realização do protocolo foram capturados usando um termovisor (FLIR®, T1020, Estocolmo, SE), com uma faixa de medição de -20 a +120°C, a precisão de 1%, sensibilidade $\leq 0.02^\circ\text{C}$, banda espectral de infravermelho de 7,5µm a 13µm, taxa de atualização de 30Hz, com foco automático e resolução FULL HD. Por fim, as imagens foram selecionadas e visualizadas em software específico (APOLLO®

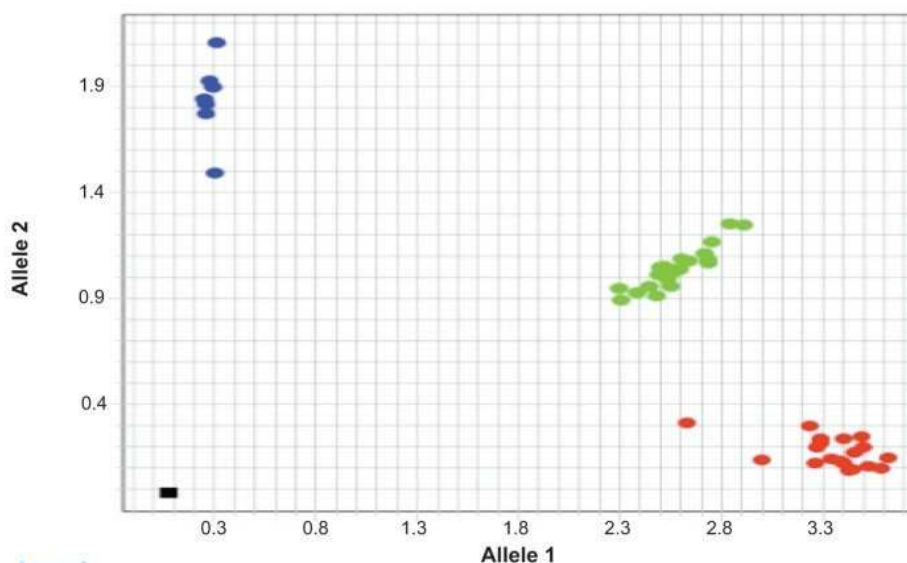
versão 1.0, BR) para análise pelo método de termopixelgrafia (TPG) (BARCELOS *et al.*, 2014). A TPG foi desenvolvida com os conceitos apresentados por Barcelos *et al.*, (2014) e Fernandes *et al.*, (2018), no qual consiste em uma análise da frequência do número de pixels e seu percentual, separados por faixas de temperatura. A TGP é um método que quantifica os percentuais das frequências do número de pixels, divididos em faixas de temperatura (FERNANDES *et al.*, 2017). Essas faixas de temperatura são classificadas da seguinte maneira: a) zona fria (28-29 °C + 29-30 °C + 30-31 °C); b) zona média (31-32 °C + 32-33 °C); c) zona quente (33-34 °C + 34-35 °C + 35-36 °C) (FERNANDES *et al.*, 2017).

3.3.5. Genotipagem do SNP rs1815739 ACTN3 R577X

O DNA foi extraído de 500 µl de sangue total coletado no primeiro dia do estudo, usando um método de *salting out* (MILLER *et al.*, 1988) e a qualidade e integridade da amostra foram testadas por espectrofotometria (*Nanodrop*, Thermo Fisher Scientific GE, MA, Estados Unidos). Para a determinação do polimorfismo rs1815739 do gene ACTN3, o local de interesse no exon 16 do gene foi amplificado a partir do DNA utilizando-se os seguintes primers CACGATCAGTTCAAGGCAACA (forward), CCCTGGATGCCCATGATG (reverse) e sondas moleculares Vic-CTGACCGAGAGCGA e Fam-AGGCTGACTGAGAGC (*Applied Biosystems*, MA, Estados Unidos) para a genotipagem dos alelos C e T respectivamente por fluorescência. A presença do alelo C permite a tradução do resíduo Arginina (R) e nesse trabalho será citado como alelo R. Assim como o alelo T impede a formação do resíduo na mesma posição, truncando a proteína. Neste trabalho será citado como alelo X. A discriminação de alelos foi realizada em um sistema de detecção de sequência genômica (StepOnePlus Real-Time PCR System, *Applied Biosystems*, MA, Estados Unidos) Em cada poço da placa de qPCR foram pipetados 10-15 ng de DNA (1 µL) além de 12,5 µL de Master mix para genotipagem (TaqMan Genotyping Master Mix® - 2X), 1,3 µL de primers e sondas específicos (TaqMan genotyping assay mix® - 20X) e 11,2 µL de água livre de DNase e RNase, totalizando para cada amostra, um volume final de 25 µL.. O processo de amplificação iniciou-se com uma

desnaturação a 95°C por 10 minutos seguido por 40 ciclos de 94°C por 15 segundos e 60 segundos a 60°C. Os alelos foram distinguidos por discriminação alélica a partir da relação entre as diferentes fluorescências geradas no software StepOnePlus™ Software v2.3. (Figura. 9).

Figura 9- Discriminação alélica no software StepOnePlus™ Software v2.3.



Legenda: Em azul, observa-se homozigotos XX. Em vermelho homozigotos RR e em verde heterozigotos RX.

3.4. Análise Estatística

Os dados descritivos são apresentados como média \pm desvio padrão ($X \pm SD$). A normalidade de distribuição dos dados foi verificada através do teste Kolmogorov-Sminorv. Para as variáveis com distribuição gaussiana, as comparações ao longo do tempo foram realizadas utilizando uma análise de variância de dois fatores (ANOVA *two way*), com medidas repetidas sobre o segundo fator (Grupo x Momento), seguido pelo post-hoc de Tukey quando apropriado. Para interpretar o tamanho do efeito para as diferenças estatísticas da ANOVA foi utilizado o eta quadrado classificado como pequeno ($0.01 < \eta^2 \leq 0.06$), médio ($0.06 < \eta^2 \leq 0.14$) e grande ($\eta^2 > 0.14$) (COHEN, 1988; LAKENS, 2013). Todas as análises foram realizadas utilizando o software JAMOV (The jamovi project, 2019). O nível de significância foi fixado em $p < 0,05$.

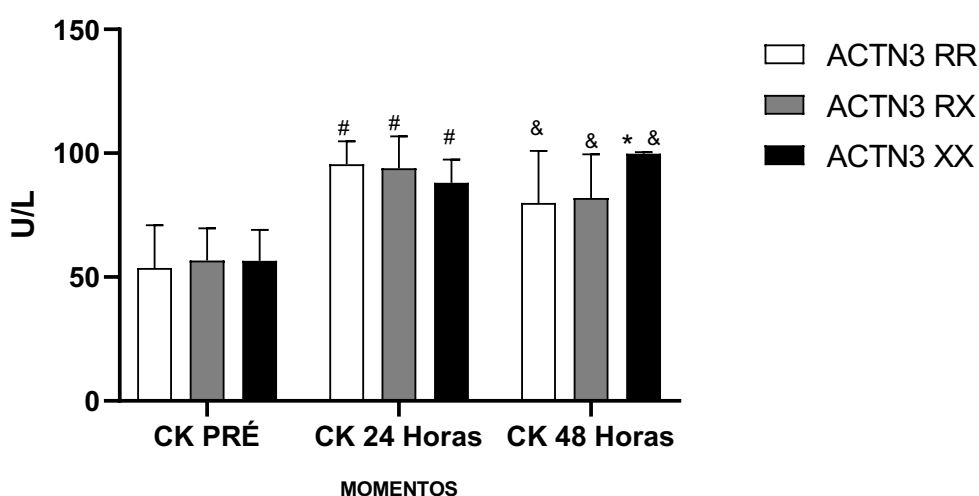
Para análise estatística, os dados das concentrações plasmáticas de IGF-1 e PCR foram relativizados de acordo com a equação 1. (Duarte *et al.*, 2021).

$$\text{Valorrelativizado} = \frac{\text{valordomomento}}{\text{maiorvalorindividual}} \times 100 \quad \text{Equação (1)}$$

4. RESULTADOS

As distribuições do genótipo *ACTN3* estavam dentro do equilíbrio de Hardy-Weinberg ($p = 0,1037$), e as frequências dos alelos foram 0,61 e 0,39 para os alelos R e X respectivamente. Os atletas foram agrupados pelos Genótipos, 19 RR, 21RX e 6 XX. Houve interação significativa entre os genótipos e a concentração de Creatina Quinase (Figura 10) ao longo do tempo ($F = 2,52$, $p = 0,001$, $\eta^2 = 0,042$). No grupo XX as concentrações de CK foram maiores no momento 48 horas comparadas aos grupos RR e RX ($p < 0,01$). No momento pré e 24 Horas não foram observadas diferenças significativas entre os genótipos ($p < 0,234$). Foi observado efeito significativo do tempo sobre as concentrações sanguíneas de CK ($F = 7,66$, $p < 0,01$, $\eta^2 = 0,20$).

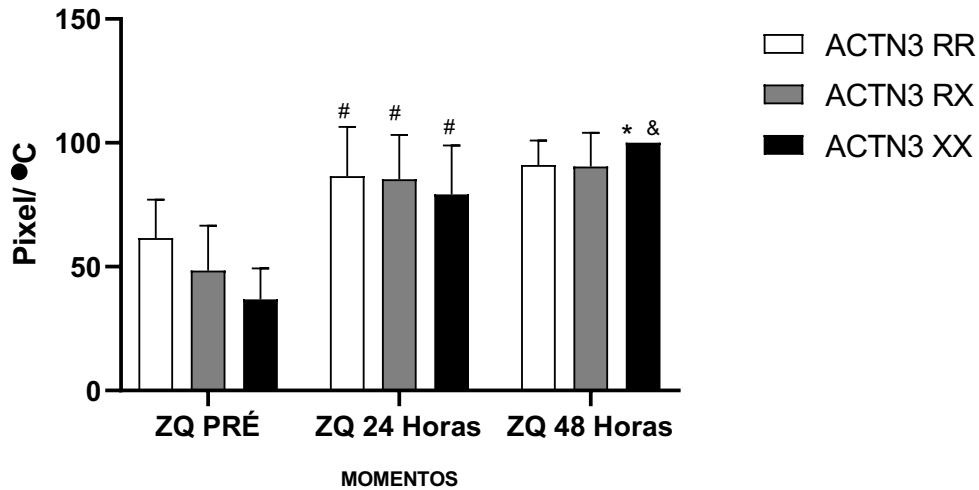
Figura 10. Concentrações de CK antes, 24 e 48 horas após o Protocolo.



*Diferenças entre genótipos RR e RX no mesmo momento. $p < 0,01$ #Diferenças em relação ao momento Pré $p < 0,001$. & Diferenças em relação ao momento 24 horas. $p < 0,01$

Houve interação significativa entre os genótipos e a temperatura da pele na Zona Quente (Figura 11) ao longo do tempo ($F = 8,71$, $p < 0,01$, $\eta^2 = 0,17$). No grupo XX a temperatura da pele foi maior por pixel no momento 48 horas comparadas aos grupos RR e RX ($p < 0,01$). No momento pré e 24 Horas não foram observadas diferenças significativas entre os genótipos ($p < 0,874$). Foi observado efeito significativo do tempo sobre a distribuição de pixel por temperatura. ($F = 5,88$, $p < 0,01$, $\eta^2 = 0,425$).

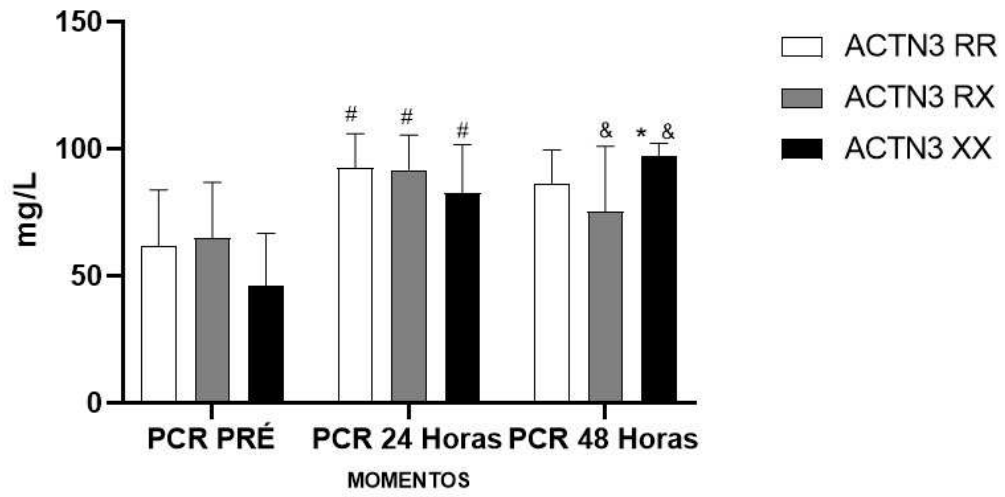
Figura 11. Distribuição da temperatura Zona Quente antes, 24 e 48 horas após o Protocolo.



*Diferenças entre genótipos RR e RX no mesmo momento $p < 0,02$. #Diferenças em relação ao momento Pré $p < 0,01$. & Diferenças em relação ao momento 24 horas. $p < 0,01$

Houve interação significativa entre os genótipos e as concentrações de Proteína C Reativa (Figura 12) ao longo do tempo ($F = 6,54$, $p < 0,01$, $\eta^2 = 0,29$). No grupo XX as concentrações de Proteína C Reativa foram maiores no momento 48 horas comparadas aos grupos RR e RX ($p < 0,01$). No momento pré e 24 Horas não foram observadas diferenças significativas entre os genótipos ($p < 0,674$). Foi observado efeito significativo do tempo sobre a concentrações de Proteína C Reativa. ($F = 6,41$, $p < 0,01$, $\eta^2 = 0,385$).

Figura 12- Concentrações de PCR antes, 24 e 48 horas após o Protocolo



*Diferenças entre genótipos RR e RX no mesmo momento. #Diferenças em relação ao momento Pré. & Diferenças em relação ao momento 24 horas.

5. DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo fornecem evidências que alterações na estrutura das fibras rápidas de indivíduos ACTN3 XX predispõe a um maior dano muscular verificado pelas concentrações de CK após o exercício excêntricos e que a resposta inflamatória e elevação da temperatura da pele, avaliada aqui por elevações subsequentes da PCR e Termografia nos dias após o exercício com dano muscular, é exacerbada comparada aos grupos RR e RX. É bem estabelecido que exercícios com ações musculares predominantemente excêntricas apresentam elevado componente de dano muscular e conseqüentemente respostas inflamatórias. A creatina quinase circulante elevada (CK) é uma marca registrada de dano muscular causado por exercícios intensos, incluindo exercícios excêntricos (BAIRD *et al.*, 2012; MACALUSO; ISAACS; MYBURGH, 2012; NOSAKA; SAKAMOTO, 2001).

A literatura relata que certos indivíduos, apesar de características aparentemente semelhantes a outros participantes de estudo, podem apresentar maiores aumentos na atividade da CK após exercícios excêntricos (CLARKSON *et al.*, 2001; DEVANEY *et al.*, 2007; YAMIN *et al.*, 2008). Alguns estudos indicaram que genes envolvidos na estrutura muscular (ACTN3) (CLARKSON *et al.*, 2001), crescimento (IGF2) (DEVANEY *et al.*, 2007) ou regulação da produção de força (MYLK) (CLARKSON *et al.*, 2001), podem apresentar polimorfismos que afetam a atividade basal da CK e exacerbam a resposta ao dano muscular ao exercício excêntrico. Os nossos resultados apontam diferenças nas cinéticas e concentrações de biomarcadores em função dos genótipos para o gene ACTN3. As maiores respostas inflamatórias observadas em nossos estudos são explicadas pelo fenótipo muscular apresentado pelo no grupo ACTN3 XX, explicadas pelas alterações mecânicas, metabólicas e neurais observados em outros estudos envolvendo o gene ACTN3. Pimenta *et al.*, (2012), verificaram valores elevados de CK para o grupo XX e apontam como hipótese a maior estabilidade mecânica promovida pela presença da alfa actinina 3 nas fibras de contração rápida tornando os indivíduos RR mais resistentes a ações de alta intensidade mecânica e de forma contrária desfavorecendo o sarcômero dos indivíduos XX. A regulação positiva das proteínas da linha Z, incluindo alfa-actinina-2

em resposta à deficiência de α -actinina-3, juntamente com a afinidade de ligação mais alta das proteínas da linha Z à α -actinina-2, provavelmente levará à interrupção dos complexos proteicos normais na linha Z, alterando as propriedades estruturais do músculo de indivíduos XX. A composição alterada da proteína da linha Z provavelmente resulta em maior suscetibilidade ao dano induzido pela contração associado à deficiência de α -actinina-3. As alterações estruturais, metabólicas, de sinalização e de manipulação de cálcio (BALTAZAR-MARTINS *et al.*, 2020; BROOS *et al.*, 2015; DEL COSO *et al.*, 2019; PIMENTA *et al.*, 2012; SETO *et al.*, 2013) observadas nos indivíduos XX fornecem uma explicação mecanicista para a vantagem seletiva do alelo ACTN3 577X durante a evolução humana e a associação entre ACTN3 genótipo e o desempenho muscular em humanos. A mudança fenotípica de fibras rápidas para propriedades de fibra mais lentas e adaptação alterada às demandas físicas também explica a associação com o desempenho atlético e a função muscular. As contrações musculares poderosas necessárias para atividades de sprint e força dependem de fibras musculares rápidas, que não funcionam de maneira ideal na ausência de α -actinina-3 derivando em maior dano muscular.

Cronologicamente, em resposta a danos mecânicos e danos secundários induzidos por neutrófilos, a ativação do complemento dependente da proteína C reativa (PCR) facilita a remoção de detritos celulares (PEAKE *et al.*, 2017; PEREIRA PANZA; DIEFENTHAELER; DA SILVA, 2015). Os resultados de proteína C Reativa no grupo XX foi maior comparado aos indivíduos RR e RX, corroborando com os achados de DJAROVA *et al.*, (2011), que encontraram relação do alelo R com concentrações mais baixas de PCR em jovens africanos jogadores de cricket. Enquanto a CK é o marcador bioquímico mais utilizado na literatura para avaliar lesões musculares, a Proteína C Reativa (PCR) é um marcador bioquímico utilizado para avaliar respostas inflamatórias de fase aguda no sistema muscular esquelético. No contexto esportivo, o monitoramento da PCR tem sido realizado com a perspectiva de compreender a magnitude de processos inflamatórios que estariam relacionados à cascata de danos musculares (BEZERRA *et al.*, 2016; ISPIRLIDIS *et al.*, 2008a; KOSTRZEWA-NOWAK *et al.*, 2015; MOHR *et al.*, 2016). A compreensão das concentrações de PCR durante o repouso e as alterações nas respostas pró e anti-inflamatórias causadas pelo

exercício podem evidenciar o envolvimento da PCR na regulação dessas respostas (KOSTRZEWA-NOWAK *et al.*, 2015). Duarte *et al.*, (2022) relatou aumento da PCR em respostas a jogos seriados de futebol, corroborando com os achados de Jatene *et al.*, (2019) e MOHR *et al.*, (2016). As maiores concentrações de PCR apresentada pelo grupo XX no momento 48 horas podem ser explicadas pelo mecanismo de sinalização de PCR frente as respostas de IL6, quanto a magnitude do dano muscular apresentado pelos indivíduos XX, maiores danos musculares derivam em maior sinalização de PCR para atender a migração de macrófagos para ações fagocitárias características da fase aguda inflamatória. A partir desses achados, é possível que uma predominante sobreposição da primeira fase inflamatória tenha ocorrido, resultando em um prolongamento das atividades de células imunes pró-inflamatórias, como os Macrófagos Ly6C+ (JUBAN; CHAZAUD, 2017; LI; LIAN, 2018; PEAKE *et al.*, 2017). Um provável aumento de atividade imunológica, principalmente por ação de macrófagos, gerado pelos processos inflamatórios, conduziria a um aumento de entropia (AL-HALLAK *et al.*, 2010; LOIKE *et al.*, 1981), e conseqüentemente ao aumento da produção e transferência de calor de regiões mais profundas para a superfície corporal (BENBOW *et al.*, 1994; BHARGAVA *et al.*, 2014; FERNÁNDEZ-CUEVAS *et al.*, 2014). Nas células imunológicas, em especial macrófagos, muitos processos como replicação, transcrição e tradução precisam converter energia de ligação molecular, hidrólise de ligação química e gradientes eletromagnéticos em trabalho mecânico, relacionado a mudanças conformacionais, eferocitose e deslocamentos durante o processo de fagocitose (SINGER; CHANDEL, 2019).

A partir dessas e de outras observações, o conceito de “imunometabolismo” foi introduzido para indicar que, além de fornecer energia para a atividade imune em contextos específicos, essas adaptações metabólicas afetam diretamente as funções das células imunes por meio do controle de eventos transcricionais e pós-transcricionais (VIOLA *et al.*, 2019). Brandenburg, (2004) foi o primeiro a investigar o comportamento do calor usando Microcalorimetria para compreender a interação entre lipopolissacarídeos (LPS) de bactérias Gram-negativas e macrófagos humanos, as medições mostraram que a interação de LPS com macrófagos está conectada por uma forte reação exotérmica, provavelmente devido ao aumento da entropia e

consequentemente elevação da produção de calor em resposta a população aumentada e cinética de macrófagos locais (WANG *et al.*, 2017). Al-Hallak *et al.*, (2010) verificaram a cinética de produção de calor em macrófagos humanos, o estudo avaliou o uso da microcalorimetria isotérmica para detectar interações macrófagos-nanopartículas. A atividade térmica dos macrófagos sozinhos consiste em duas fases principais, ascendente e descendente, a fase ascendente se estende pelas primeiras 37 h e compreende duas subfases, a primeira subfase é um aumento linear na produção de calor para as primeiras 10 h seguido por uma inclinação exponencial na troca térmica para o resto da fase ascendente para atingir um máximo após 37 h. Duarte *et al.* (2022), observaram elevada correlação entre a cinética de termografia e concentrações de PCR em atletas de futebol durante jogos seriados. A avaliação termográfica da distribuição da temperatura na superfície da pele pode ser útil no diagnóstico rápido e não invasivo do processo inflamatório. Este método também pode ser aplicado para avaliar sua fase inicial e a fase aguda, bem como a origem da inflamação (IOANNOU, 2020). Um processo inflamatório é caracterizado pela produção e emissão de calor como um dos sintomas cardinais, razão pela qual a termografia pode ser utilizada para avaliar a inflamação (CAŁKOSIŃSKI *et al.*, 2015). AL-NAKHLI *et al.* (2012) publicou um estudo onde descreveram como o DOMS (CHEUNG *et al.*, 2003) está relacionada a um aumento significativo da temperatura da pele 24 horas após um exercício, onde a temperatura elevada da pele foi associada a danos musculares e dor subjetiva. Estudos têm sido realizados objetivando a constatação de possíveis associações da termografia com marcadores bioquímicos, testes físicos, métodos de treinamento e recuperação, bem como ferramenta diagnóstica de lesões musculoesqueléticas (DUARTE *et al.*, 2022; OLIVEIRA *et al.*, 2018; RODRIGUES JÚNIOR *et al.*, 2021; SILVA *et al.*, 2018). É esperado uma possível interação entre e os parâmetros citados anteriormente pois, na presença de lesão muscular é evidenciado a instalação de processo inflamatório, ocasionando aumento do fluxo sanguíneo e consequentemente, aumento da temperatura local, dor e de enzimas relacionadas à danos musculares (BANDEIRA *et al.*, 2012). As diferenças de temperatura na pele, avaliadas por termopixelgrafia, observadas no grupo XX em relação aos grupos RR e RX pode ser explicada pela maior resposta vasodilatadoras e elevação nas concentrações de PCR observada ocasionado maior

migração de células de fase aguda inflamatória derivando em maior produção e dissipação de calor pelo aumento de entropia local. Aparentemente, indivíduos com o genótipo XX apresentam respostas inflamatórias mais elevadas e IGF-1 mais baixo do que os indivíduos portadores do alelo R (RR e RX). As concentrações aumentadas de CK e PCR estudadas em indivíduos XX sugere fase aguda inflamatória prolongada e um relativo atraso no reparo tecidual dos atletas XX em comparação com os indivíduos RR/RX. Com base no princípio da individualidade biológica, ajustes na distribuição da carga de treinamento, diferentes estratégias de recuperação podem ser elaboradas com o objetivo de otimizar as adaptações ao treinamento para o polimorfismo *ACTN3* R577X (rs1815739) em atletas de futebol.

6. CONCLUSÃO

A principal conclusão do estudo foi dada pelo fato de que os indivíduos ACTN3 XX apresentam maior atividade de CK, PCR e Temperatura da Pele comparação com os indivíduos RR e RX pós-treinamento excêntrico, mostrando maior resposta inflamatória e atraso na fase aguda. Supõe-se que os genótipos ACTN3 são determinantes nas respostas agudas de dano muscular em atletas de futebol profissional a contrações excêntricas, mostrando um risco aumentado para o desenvolvimento de danos musculares em indivíduos XX. Com base na carga genética e tendo em conta o princípio da individualidade, ajustes na condução da carga de treinamento, recuperação e nutrição deve ser feito com o objetivo de otimizar os efeitos de adaptação ao treinamento. Assumindo que a distribuição de carga no Futebol apresenta caráter coletivo, indivíduos XX precisariam de um tempo maior tempo de recuperação entre as sessões de treinamento e distribuição de conteúdo de treinamento com o objetivo de evitar a overtraining e lesões musculares.

REFERÊNCIAS

- ALBURQUERQUE SANTANA, P. V. *et al.* Relationship between infrared thermography and muscle damage markers in physically active men after plyometric exercise. **Journal of Thermal Biology**, v. 104, 1 fev. 2022.
- ALFRED, T. *et al.* ACTN3 genotype, athletic status, and life course physical capability: Meta-analysis of the published literature and findings from nine studies. **Human Mutation**, v. 32, n. 9, p. 1008–1018, set. 2011.
- AL-HALLAK, K. M. H. D. *et al.* Secondary cytotoxicity mediated by alveolar macrophages: A contribution to the total efficacy of nanoparticles in lung cancer therapy? **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 76, n. 1, p. 112–119, 1 set. 2010.
- AL-NAKHLI, H. H. *et al.* The Use of Thermal Infra-Red Imaging to Detect Delayed Onset Muscle Soreness. **Journal of Visualized Experiments**, n. 59, p. 1–9, 22 jan. 2012.
- ALVES, A. L. *et al.* Análise individual das concentrações da creatina quinase em jogadores de elite do futebol Brasileiro. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 21, n. 2, p. 112–116, 2015.
- AMORIM, C. E. G. *et al.* Differing evolutionary histories of the ACTN3*R577X polymorphism among the major human geographic groups. **PLoS ONE**, v. 10, n. 2, 23 fev. 2015.
- ANBAR, M. **Quantitative dynamic telethermometry in medical diagnosis and management**. 1st. ed. London: CRC Press, 1994.
- ASCENSÃO, A. *et al.* Effects of cold water immersion on the recovery of physical performance and muscle damage following a one-off soccer match. **Journal of Sports Sciences**, v. 29, n. 3, p. 217–225, 16 jan. 2011.
- BAIRD, M. F. *et al.* Creatine-Kinase- and Exercise-Related Muscle Damage Implications for Muscle Performance and Recovery. **Journal of Nutrition and Metabolism**, v. 2012, p. 1–13, 2012.
- BALTAZAR-MARTINS, G. *et al.* Effect of ACTN3 Genotype on Sports Performance, Exercise-Induced Muscle Damage, and Injury Epidemiology. **Sports**, v. 8, n. 7, 1 jul. 2020.
- BANDEIRA, F. *et al.* Pode a termografia auxiliar no diagnóstico de lesões musculares em atletas de futebol? **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 18, n. 4, p. 246–251, ago. 2012.

- BANGSBO, J. The physiology of soccer-with special reference to intense intermittent exercise. **Acta physiologica Scandinavica. Supplementum**, v. 619, p. 1–155, 1 jan. 1994.
- BARAGONE, A.; COLOMBO, G.; GARAGIOLA, U. Correlation between clinical and telethermographic evaluation in overuse injuries treatment. **The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness**, v. 27, n. 1, p. 64–69, 1987.
- BARCELOS, E. Z. *et al.* A combined method for segmentation and registration for an advanced and progressive evaluation of thermal images. **Sensors (Switzerland)**, v. 14, n. 11, p. 21950–21967, 19 nov. 2014.
- BAUMERT, P. *et al.* Polygenic mechanisms underpinning the response to exercise-induced muscle damage in humans: In vivo and in vitro evidence. **Journal of Cellular Physiology**, v. 237, n. 7, p. 2862–2876, 1 jul. 2022.
- BEGGS, A. H. *et al.* Cloning and Characterization of Two Human Skeletal Muscle α -Actinin Genes Located on Chromosomes 1 and 11*. **Of Biological Chemistry Inc**, v. 267, n. 13, p. 9281–9288, 1992.
- BELLI, T.; CRISP, A. H.; VERLENGIA, R. Greater muscle damage in athletes with ACTN3 R577X (RS1815739) gene polymorphism after an ultra-endurance race: A pilot study. **Biology of Sport**, v. 34, n. 2, p. 105–110, 2017.
- BENBOW, S. J. *et al.* The Prediction of Diabetic Neuropathic Plantar Foot Ulceration by Liquid-Crystal Contact Thermography. **Diabetes Care**, v. 17, n. 8, p. 835–839, 1 ago. 1994.
- BERMAN, Y.; NORTH, K. N. A gene for speed: The emerging role of α -actinin-3 in muscle metabolism. **Physiology**, ago. 2010.
- BEZERRA, J. DE A. *et al.* RESPOSTAS DE INDICADORES FISIOLÓGICOS A UM JOGO DE FUTEBOL. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 22, n. 3, p. 200–205, 1 jun. 2016.
- BHARGAVA, A.; CHANMUGAM, A.; HERMAN, C. Heat transfer model for deep tissue injury: a step towards an early thermographic diagnostic capability. **Diagnostic Pathology**, v. 9, n. 1, p. 36, 20 dez. 2014.
- BLANCHARD, A.; OHANIAN, V.; CRITCHLEY, D. The structure and function of OE-actinin. **Journal of Muscle Research and Cell Motility**, v. 10, p. 280–289, 1989.
- BOUCHARD, C. *et al.* Aerobic performance in brothers, dizygotic and monozygotic twins. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 18, n. 6, p. 639–646, 1986.

BRANCACCIO, P. *et al.* Serum Enzyme Monitoring in Sports Medicine. **Clinics in Sports Medicine**, v. 27, n. 1, p. 1–18, jan. 2008.

BRANDENBURG, K. Isothermal titration calorimetric investigations of endotoxin binding to macrophages and the inhibition by polymyxin B. **Thermochimica Acta**, v. 415, n. 1–2, p. 63–67, 7 jun. 2004.

BROOS, S. *et al.* History-dependent force, angular velocity and muscular endurance in ACTN3 genotypes. **European Journal of Applied Physiology**, v. 115, n. 8, p. 1637–1643, 25 ago. 2015.

CAŁKOSIŃSKI, I. *et al.* The Use of Infrared Thermography as a Rapid, Quantitative, and Noninvasive Method for Evaluation of Inflammation Response in Different Anatomical Regions of Rats. **BioMed Research International**, v. 2015, p. 1–9, 2015.

CHEUNG, K.; HUME, P. A.; MAXWELL, L. Delayed Onset Muscle Soreness. **Sports Medicine**, v. 33, n. 2, p. 145–164, 2003.

CLARKSON, P. M.; HUBAL, M. J. Authors: Exercise-Induced Muscle Damage in Humans Literature Review Contraction-Induced Muscle Injury. **Am. J. Phys. Med. Rehabil.**, v. 81, n. 11, 2001.

CLOS, E. *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, 1 dez. 2019.

CLYNE, B.; OLSHAKER, J. S. Clinical Laboratory in Emergency Medicine THE C-REACTIVE PROTEIN. **The Journal of Emergency Medicine**, v. 17, n. 6, p. 1019–1025, 1999.

COELHO, D. B. *et al.* Cinética da creatina quinase em jogadores de futebol profissional em uma temporada competitiva. **Revista Brasileira de Cineantropometria e Desempenho Humano**, v. 13, n. 3, p. 189–194, 2011.

COELHO, D. B. *et al.* Analysis of chronic physiological demand of an annual soccer season. **Revista Brasileira de Cineantropometria e Desempenho Humano**, v. 17, n. 4, p. 400–408, 7 jul. 2015.

COELHO, D. B. *et al.* Comparison of different ways of expressing creatine kinase concentration of soccer players during a competitive season. **Motriz: Revista de Educação Física**, v. 22, n. 3, p. 160–165, 1 set. 2016.

COLLARES, G.; PAULINO, U. APLICAÇÕES CLÍNICAS ATUAIS DA PROTEÍNA C REATIVA. **Rev Med Minas Gerais**, v. 16, n. 4, p. 227–233, 2006.

CÔRTE, A. C. R. E.; HERNANDEZ, A. J. Termografia médica infravermelha aplicada à medicina do esporte. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 22, n. 4, p. 315–319, 1 jul. 2016.

DAHMEN, S. A obra de Boltzmann em Física. **Revista Brasileira de Ensino de Física**, v. 28, p. 281–295, 2006.

DEL COSO, J. *et al.* ACTN3 X-allele carriers had greater levels of muscle damage during a half-ironman. **European Journal of Applied Physiology**, v. 117, n. 1, p. 151–158, 1 jan. 2017a.

DEL COSO, J. *et al.* ACTN3 genotype influences exercise-induced muscle damage during a marathon competition. **European Journal of Applied Physiology**, v. 117, n. 3, p. 409–416, 1 mar. 2017b.

DEL COSO, J. *et al.* **More than a ‘speed gene’: ACTN3 R577X genotype, trainability, muscle damage, and the risk for injuries.** **European Journal of Applied Physiology** Springer Verlag, , 30 jan. 2019.

DEL COSO, J. *et al.* Association of the ACTN3 rs1815739 Polymorphism with Physical Performance and Injury Incidence in Professional Women Football Players. **Genes**, v. 13, n. 9, 12 set. 2022.

DELAVAL, B. *et al.* Recovery During a Congested Schedule and Injury in Professional Football. **International journal of sports physiology and performance**, v. 17, n. 9, p. 1399–1406, 1 set. 2022.

DEVANEY, J. M. *et al.* IGF-II gene region polymorphisms related to exertional muscle damage. **J Appl Physiol**, v. 102, p. 1815–1823, 2007.

DJAROVA, T. *et al.* ACTN3 and TNF gene polymorphism association with C-reactive protein, uric acid, lactate and physical characteristics in young African cricket players. **African Journal of Biochemistry Research**, v. 5, n. 1, p. 22–27, 2011.

DUARTE, W. *et al.* C-Reactive Protein and Skin Temperature of the lower limbs of Brazilian elite soccer players like load markers following three consecutive games. **Journal of Thermal Biology**, v. 105, 1 abr. 2022.

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

FATOUROS, I. G. *et al.* Time-Course of Changes in Oxidative Stress and Antioxidant Status Responses Following a Soccer Game. **Journal of Strength and Conditioning Research**, v. 24, n. 12, p. 3278–3286, dez. 2010.

FELDENS, B.; DIAS, P.; SANTOS, W. E assim se fez o quantum. **Revista Brasileira de Ensino de Física**, v. 32, p. 1–11, jun. 2010.

FERNANDES, A. DE A. *et al.* Effect of a professional soccer match in skin temperature of the lower limbs: A case study. **Journal of Exercise Rehabilitation**, v. 13, n. 3, p. 330–334, 1 jun. 2017.

FERNANDES, T. L. *et al.* Clinical application of thermography for energy balance in athletes – State of the art and new paradigms. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 24, n. 6, p. 483–485, 2018.

FERNÁNDEZ-CUEVAS, I. *et al.* Monitoring Skin Thermal Response to Training with Infrared Thermography. **New Stud Athl**, v. 29, n. 1, p. 57–71, 2014.

FERNÁNDEZ-CUEVAS, I. *et al.* Classification of factors influencing the use of infrared thermography in humans: a review. **Infrared Physics & Technology**, v. 71, p. 28–55, jul. 2015.

FRIEDLANDER, S. M. *et al.* ACTN3 Allele Frequency in Humans Covaries with Global Latitudinal Gradient. **PLoS ONE**, v. 8, n. 1, 30 jan. 2013.

GARAGIOLA, U.; GIANI, E. Use of Telethermography in the Management of Sports Injuries. **Sports Medicine**, v. 10, n. 4, p. 267–272, 1990.

GIANI, E. *et al.* Telethermographic evaluation of NSAIDs in the treatment of sports injuries. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 21, n. 1, p. 1–6, 1989.

GLEESON, M. Immune function in sport and exercise. **Journal of Applied Physiology**, v. 103, n. 2, p. 693–699, ago. 2007.

GÓMEZ-CARMONA, P. *et al.* Infrared thermography protocol on reducing the incidence of soccer injuries. **Journal of Sport Rehabilitation**, v. 29, n. 8, p. 1222–1227, 2020.

GRISON, M. *et al.* α -Actinin/titin interaction: A dynamic and mechanically stable cluster of bonds in the muscle Z-disk. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 114, n. 5, p. 1015–1020, 31 jan. 2017.

HEAD, S. I. *et al.* Altered Ca²⁺ Kinetics Associated with α -Actinin-3 Deficiency May Explain Positive Selection for ACTN3 Null Allele in Human Evolution. **PLoS Genetics**, v. 11, n. 1, 2015.

HERSCHEL, W. Experiments on the refrangibility of the invisible rays of the sun. **Royal Society**, v. 90, p. 284–292, 1800.

HORTOBÁGYI, T.; DENAHAN, T. Variability in Creatine Kinase: Methodological, Exercise, and Clinically Related Factors. **International Journal of Sports Medicine**, v. 10, n. 02, p. 69–80, 14 abr. 1989.

HOUWELING, P. J. *et al.* **Is evolutionary loss our gain? The role of ACTN3 p.Arg577Ter (R577X) genotype in athletic performance, ageing, and disease.** *Human Mutation* John Wiley and Sons Inc., , 1 dez. 2018.

HYLDAHL, R. D.; HUBAL, M. J. Lengthening our perspective: Morphological, cellular, and molecular responses to eccentric exercise. *Muscle & Nerve*, v. 49, n. 2, p. 155–170, fev. 2014.

IMPELLIZZERI, F. M. *et al.* Effect of plyometric training on sand versus grass on muscle soreness and jumping and sprinting ability in soccer players. *British Journal of Sports Medicine*, v. 42, n. 1, p. 42–46, 5 jun. 2007.

IOANNOU, S. Functional Infrared Thermal Imaging: A Contemporary Tool in Soft Tissue Screening. *Scientific Reports*, v. 10, n. 1, p. 9303, 9 dez. 2020.

ISPIRLIDIS, I. *et al.* Time-course of Changes in Inflammatory and Performance Responses Following a Soccer Game. *Clinical Journal of Sport Medicine*, v. 18, n. 5, p. 423–431, set. 2008a.

ISPIRLIDIS, I. *et al.* Time-course of Changes in Inflammatory and Performance Responses Following a Soccer Game. *Clinical Journal of Sport Medicine*, v. 18, n. 5, p. 423–431, set. 2008b.

JACKSON, A. S.; POLLOCK, M. L. Generalized equations for predicting body density of men. *British Journal of Nutrition*, v. 40, n. 3, p. 497–504, 9 nov. 1978.

JATENE, P.; DOS SANTOS, G. S.; PORTELLA, D. L. C-Reactive Protein Serum Levels as an Internal Load Indicator of Sprints in Competitive Football Matches. *International Journal of Sports Medicine*, v. 40, n. 12, p. 762–767, 2019.

JIANG, L. J. *et al.* A perspective on medical infrared imaging. *Journal of Medical Engineering and Technology*, 1 dez. 2005.

JUBAN, G.; CHAZAUD, B. Metabolic regulation of macrophages during tissue repair: insights from skeletal muscle regeneration. *FEBS Letters*, v. 591, n. 19, p. 3007–3021, 1 out. 2017.

KATIRIJI, B.; AL JABERI, M. M. Creatine Kinase Revisited. *Journal of Clinical Neuromuscular Disease*, v. 2, n. 3, p. 158–164, mar. 2001.

KEYL, W.; LENHART, P. [Thermography in sport injuries and lesions of the locomotor system due to sport]. *Fortschritte der Medizin*, v. 93, n. 3, p. 124–6, 23 jan. 1975.

KOSTRZEWA-NOWAK, D. *et al.* Effect of 12-week-long aerobic training programme on body composition, aerobic capacity, complete blood count and blood lipid profile among young women. **Biochemia Medica**, v. 25, n. 1, p. 103–113, 2015.

LARRUSKAIN, J. *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.

LAZARIM, F. L. *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, 2009.

LEE, F. X. Z. *et al.* **How does α -actinin-3 deficiency alter muscle function? Mechanistic insights into ACTN3, the “gene for speed”.** **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research** Elsevier, 1 abr. 2016.

LEK, M.; QUINLAN, K. G. R.; NORTH, K. N. **The evolution of skeletal muscle performance: Gene duplication and divergence of human sarcomeric α -actinins.** **BioEssays**, 2010.

LI, J.; LIAN, K. Investigation of hydroxide ion-conduction in solid polymer electrolytes via electrochemical impedance spectroscopy. **Electrochimica Acta**, v. 288, p. 1–11, 20 out. 2018.

LIEBER, R. L. *et al.* Muscle cytoskeletal disruption occurs within the first 15 min of cyclic eccentric contraction. **Journal of Applied Physiology**, v. 80, n. 1, 1996.

LOIKE, J. D.; SILVERSTEIN, S. C.; STURTEVANT, J. M. Application of differential scanning microcalorimetry to the study of cellular processes: heat production and glucose oxidation of murine macrophages. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 78, n. 10, p. 5958–5962, out. 1981.

MACALUSO, F.; ISAACS, A. W.; MYBURGH, K. H. Preferential Type II Muscle Fiber Damage From Plyometric Exercise. **Journal of Athletic Training**, v. 47, n. 4, p. 414–420, 1 jul. 2012.

MACARTHUR, D. G. *et al.* Loss of ACTN3 gene function alters mouse muscle metabolism and shows evidence of positive selection in humans. **Nature Genetics**, v. 39, n. 10, p. 1261–1265, out. 2007.

MACARTHUR, D. 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, 15 abr. 2008.

MACARTHUR, D. G.; NORTH, K. N. **A gene for speed? The evolution and function of α -actinin-3.** **BioEssays**, jul. 2004.

MARINS, J. C. B. *et al.* Thermographic profile of soccer players' lower limbs. **Revista Andaluza de Medicina del Deporte**, v. 7, n. 1, p. 1–6, 2014.

MASSIDDA, M. *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, 1 jan. 2019.

MCHUGH, M. P. Recent advances in the understanding of the repeated bout effect: the protective effect against muscle damage from a single bout of eccentric exercise. **Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports**, v. 13, n. 2, p. 88–97, abr. 2003.

MILLER, S. A.; DYKES, D. D.; POLESKY, H. F. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. **Nucleic Acids Research**, v. 16, n. 3, p. 1215–1215, 1988.

MILLS, M. 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, 1 jun. 2001.

MOHR, M. *et al.* Muscle damage, inflammatory, immune and performance responses to three football games in 1 week in competitive male players. **European Journal of Applied Physiology**, v. 116, n. 1, p. 179–193, 1 jan. 2016.

MOREIRA, D. G. *et al.* A checklist for measuring skin temperature with infrared thermography in sports and exercise medicine. **Thermology International**, v. 27, n. 4, p. 141–143, 2017.

MOUGIOS, V. Reference intervals for serum creatine kinase in athletes. **British Journal of Sports Medicine**, v. 41, n. 10, p. 674–678, 1 out. 2007.

NÉDÉLEC, M. *et al.* Recovery in Soccer Part I-Post-Match Fatigue and Time Course of Recovery. **Sports Med**, v. 42, n. 12, p. 997–1015, 2012.

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

NORTH, K. 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, ago. 2008.

NORTH, K. N.; BEGGST, A. H. Deficiency of a skeletal muscle isoform of α -actinin (α -actinin-3) in merosin-positive congenital muscular dystrophy. **Neuromusc. Disord.**, v. 6, n. 4, p. 229–235, 1996.

NOSAKA, K.; SAKAMOTO, K. Effect of elbow joint angle on the magnitude of muscle damage to the elbow flexors. **Med. Sci. Sports Exerc**, v. 33, n. 1, p. 22, 2001.

OLIVEIRA, S. Â. F. *et al.* Measuring of skin temperature via infrared thermography after an upper body progressive aerobic exercise. **Journal of Physical Education and Sport**, v. 18, n. 1, p. 184–192, 2018.

OWEN, A. *et al.* The relationship between lower-limb strength and match-related muscle damage in elite level professional European soccer players. **Journal of Sports Sciences**, v. 33, n. 20, p. 2100–2105, 14 dez. 2015.

PEAKE, J. M. *et al.* Muscle damage and inflammation during recovery from exercise. **J Appl Physiol**, v. 122, p. 559–570, 2017.

PEPYS, M. B. C-reactive protein and the acute phase response. **Nature**, v. 296, n. 5852, p. 12–12, mar. 1982.

PEREIRA PANZA, V. S.; DIEFENTHAELER, F.; DA SILVA, E. L. Benefits of dietary phytochemical supplementation on eccentric exercise-induced muscle damage: Is including antioxidants enough? **Nutrition**, v. 31, n. 9, p. 1072–1082, 1 set. 2015.

PICKERING, C.; KIELY, J. ACTN3: More than Just a Gene for Speed. **Frontiers in Physiology**, v. 8, n. DEC, 18 dez. 2017.

PICKERING, C.; KIELY, J. ACTN3, Morbidity, and Healthy Aging. **Frontiers in Genetics**, v. 9, n. JAN, 24 jan. 2018.

PIEMONTE, V. *et al.* **Biomedical Engineering Challenges**: a chemical engineering insight. 1. ed. [s.l.] John Wiley and Sons, 2018.

PIMENTA, E. 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, abr. 2012.

PROSKE, U.; MORGAN, D. L. Muscle damage from eccentric exercise: Mechanism, mechanical signs, adaptation and clinical applications. **Journal of Physiology**, 1 dez. 2001.

QUESADA, J. I. P. **Application of Infrared Thermography in Sports Science**. [s.l.] Springer International Publishing, 2017.

QUESADA, J. I. P.; CARPES, F. P. Application of Infrared Thermography in the Assessment of Sport Equipment. Em: **Materials in Sports Equipment**. [s.l.] Elsevier, 2019. p. 37–69.

QUINLAN, K. G. R. *et al.* α -Actinin-3 deficiency results in reduced glycogen phosphorylase activity and altered calcium handling in skeletal muscle. **Human Molecular Genetics**, v. 19, n. 7, p. 1335–1346, 20 jan. 2010.

RAMÍREZ-CAMPILLO, R. *et al.* Effects of plyometric training on maximal-intensity exercise and endurance in male and female soccer players. **Journal of Sports Sciences**, v. 34, n. 8, p. 687–693, 17 abr. 2016.

RAMPININI, E. *et al.* Match-related fatigue in soccer players. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 43, n. 11, p. 2161–2170, 2011.

RASK, M. R. Thermography and the human spine. **Orth. Rev.**, v. 8, p. 73–82, 1979.

RIBEIRO, E. D. A. *et al.* The structure and regulation of human muscle α -Actinin. **Cell**, v. 159, n. 6, p. 1447–1460, 4 dez. 2014.

RIDKER, P. M. Clinical Application of C-Reactive Protein for Cardiovascular Disease Detection and Prevention. **Circulation**, v. 107, n. 3, p. 363–369, 28 jan. 2003.

RING, E. The historical development of thermometry and thermal imaging in medicine. **Journal of Medical Engineering and Technology**, v. 30, n. 4, p. 192–198, 1 jul. 2006.

RING, E. F. J. The historical development of temperature measurement in medicine. **Infrared Physics and Technology**, v. 49, n. 3 SPEC. ISS., p. 297–301, 2007.

RODAS, G. *et al.* **Alpha-Actinin-3 Deficiency Might Affect Recovery from Non-Contact Muscle Injuries: Preliminary Findings in a Top-Level Soccer Team.** 2021.

RODRIGUES JÚNIOR, J. L. *et al.* Correlation between strength and skin temperature asymmetries in the lower limbs of Brazilian elite soccer players before and after a competitive season. **Journal of Thermal Biology**, v. 99, p. 102919, 1 jul. 2021.

RUSSELL, M. *et al.* Changes in acceleration and deceleration capacity throughout professional soccer match-play. **Journal of Strength and Conditioning Research**, v. 30, n. 10, p. 2839–2844, 1 out. 2016.

RYAN, J. Thermography. **Australasian Radiology**, v. 13, n. 1, p. 23–36, fev. 1969.

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

SANTIAGO, C. *et al.* Is there an association between ACTN3 R577X polymorphism and muscle power phenotypes in young, non-athletic adults? **Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports**, v. 20, n. 5, p. 771–778, out. 2010.

SCOTT, R. 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, jan. 2010.

SETO, J. *et al.* ACTN3 genotype influences muscle performance through the regulation of calcineurin signaling. **Gale Academic OneFile**, v. 123, n. 10, p. 4255–4262, 2013.

SETO, J. T. *et al.* Deficiency of α -actinin-3 is associated with increased susceptibility to contraction-induced damage and skeletal muscle remodeling. **Human Molecular Genetics**, v. 20, n. 15, p. 2914–2927, ago. 2011.

SETO, J. T. *et al.* ACTN3 genotype influences skeletal muscle mass regulation and response to dexamethasone. **Science Advances**, v. 7, n. 27, 2 jul. 2021.

SILVA, F. O. C. DA; MACEDO, D. V. Exercício físico, processo inflamatório e adaptação: uma visão geral. DOI: 10.5007/1980-0037.2011v13n4p320. **Revista Brasileira de Cineantropometria e Desempenho Humano**, v. 13, n. 4, p. 320–328, 4 ago. 2011.

SILVA, J. R. *et al.* Neuromuscular function, hormonal and redox status and muscle damage of professional soccer players after a high-level competitive match. **European Journal of Applied Physiology**, v. 113, n. 9, p. 2193–2201, set. 2013.

SILVA, J. R. *et al.* **Acute and Residual Soccer Match-Related Fatigue: A Systematic Review and Meta-analysis.** **Sports Medicine** Springer International Publishing, , 1 mar. 2018.

SINGER, B. D.; CHANDEL, N. S. Immunometabolism of pro-repair cells. **Journal of Clinical Investigation**, v. 129, n. 7, p. 2597–2607, 13 maio 2019.

SMITH, L. L. Tissue trauma: the underlying cause of overtraining syndrome? **Journal of Strength and Conditioning Research**, v. 18, n. 1, p. 185–193, 2004.

SOUGLIS, A. *et al.* Comparison of Inflammatory Responses and Muscle Damage Indices Following a Soccer, Basketball, Volleyball and Handball Game at an Elite Competitive Level. **Research in Sports Medicine**, v. 23, n. 1, p. 59–72, 2 jan. 2015.

SOUGLIS, A. *et al.* Time Course of Oxidative Stress, Inflammation, and Muscle Damage Markers for 5 Days After a Soccer Match: Effects of Sex and Playing Position. **Journal of Strength and Conditioning Research**, v. 32, n. 7, p. 2045–2054, jul. 2018.

SPROSTON, N. R.; ASHWORTH, J. J. **Role of C-reactive protein at sites of inflammation and infection.** **Frontiers in Immunology** Frontiers Media S.A., , 13 abr. 2018a.

SPROSTON, N. R.; ASHWORTH, J. J. Role of C-Reactive Protein at Sites of Inflammation and Infection. **Frontiers in Immunology**, v. 9, n. APR, 13 abr. 2018b.

- STOLEN, T. *et al.* Physiology of Soccer: an update. **Sports Medicine**, v. 35, n. 6, p. 501–536, 2005.
- SZENTKUTI, A.; KAVANAGH, H.; GRAZIO, S. Infrared thermography and image analysis for biomedical use. **Periodicum Biologorum**, v. 113, n. 4, p. 385–392, 2011.
- TOTSUKA, M. *et al.* Break point of serum creatine kinase release after endurance exercise. **Journal of Applied Physiology**, v. 93, n. 4, p. 1280–1286, 1 out. 2002.
- UMADEVI, V.; RAGHAVAN, S. Infrared Thermography Based Image Construction for Bio-Medical Applications. **3rd International Conference on Bioinformatics and Biomedical Engineering**, p. 1–5, 2009.
- VINCENT, B. *et al.* Protective role of actinin-3 in the response to an acute eccentric exercise bout. **J Appl Physiol**, v. 109, p. 564–573, 2010.
- VIOLA, A. *et al.* The Metabolic Signature of Macrophage Responses. **Frontiers in Immunology**, v. 10, n. JULY, 3 jul. 2019.
- VOLP, A. C. P. *et al.* Capacidade dos biomarcadores inflamatórios em prever a síndrome metabólica: Inflammation biomarkers capacity in predicting the metabolic syndrome. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 52, n. 3, p. 537–549, abr. 2008.
- WANG, L. *et al.* Entropy is a Simple Measure of the Antibody Profile and is an Indicator of Health Status: A Proof of Concept. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 18060, 22 dez. 2017.
- WIIG, H. *et al.* External load variables affect recovery markers up to 72 h after semiprofessional football matches. **Frontiers in Physiology**, v. 10, n. JUN, 2019.
- YAMIN, C. *et al.* IL6 (-174) and TNFA (-308) promoter polymorphisms are associated with systemic creatine kinase response to eccentric exercise. **European Journal of Applied Physiology**, v. 104, n. 3, p. 579–586, 30 out. 2008.
- YANG, N. *et al.* The ACTN3 R577X polymorphism in east and west African athletes. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 39, n. 11, p. 1985–1988, nov. 2007.
- ZOPPI, C. *et al.* Alterações em biomarcadores de estresse oxidativo, defesa antioxidante e lesão muscular em jogadores de futebol durante uma temporada competitiva. **Rev Paul Educ Fís**, v. 17, n. 2, p. 119–130, 2003.

APÊNDICE

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TÍTULO DO PROJETO DE PESQUISA: Associação do *polimorfismo ACTN3 R577X* (rs1815739) com respostas inflamatórias e termografia em atletas de futebol.

Convidamos você para ser voluntário do projeto de pesquisa *intitulado* “Associação do *polimorfismo ACTN3 R577X* (rs1815739) com respostas inflamatórias e termografia em atletas de futebol.”, cujo objetivo é correlacionar o polimorfismo genético da ACTN3 com as respostas termográficas de membros inferiores e marcadores inflamatórios e dano muscular de jogadores de futebol Sub20 em prova de caráter excêntrico.

Você treinará normalmente em seu clube de futebol e seguirá a programação de treinos do mesmo. Inicialmente, serão realizadas medidas antropométricas. A massa corporal (kg) será medida com uma balança digital (Filizola®) com precisão de 0,02 kg previamente calibrada. A estatura (cm) será medida utilizando-se um estadiômetro acoplado à balança digital (Filizola®) com precisão de 0,5 cm. As dobras cutâneas (subescapular, tricipital, peitoral, suprailíaca, supraespinhal, abdominal, coxa e panturrilha) serão obtidas utilizando-se um plicômetro graduado em milímetros (Lange®). Em seguida serão realizados os testes de campo específicos para o futebol, já rotineiros em seu clube.

Após esse momento inicial, no período da manhã do dia 2 do estudo, ocorrerá a primeira coleta de sangue para a genotipagem e análise dos biomarcadores (CK e PCR). Nesse mesmo período também será realizada a aquisição de imagens termográficas. Em seguida você realizará a sessão de treinamento excêntrico.

Após essa sessão de treinamento, serão realizadas mais coletas sanguíneas para a análise dos biomarcadores. Essas coletas serão realizadas nos momentos 24 e 48

horas após a sessão de treinamento. Nos momentos 24 e 48 horas após também será realizada a coleta de imagens termográficas. No momento de aquisição das imagens termográficas você deverá ficar de sunga. Todas essas coletas serão realizadas pelo fisiologista responsável do clube, individualmente, em uma sala separada e aclimatizada a 22°C e 65%URA.

Para monitoramento da sessão de treinamento, 30 minutos antes, lhe será entregue no vestiário por um dos pesquisadores um aparelho de posicionamento por satélite (GPS) com um cardiofrequencímetro acoplado (Polar Team System®, Finlândia) para serem utilizados durante o treino.

A coleta de sangue para a genotipagem será realizada através de 4 mL de sangue retirado da uma veia do antebraço. O material coletado será acondicionado em isopor térmico com gelox e encaminhado para análise imediata em laboratório externo ao departamento médico do clube logo após a coleta, as amostras coletadas serão analisadas e toda sobra de material biológico será descartada após a análise. Não será realizado armazenamento das amostras após sua análise. Para a medição da Proteína C Reativa (PCR) será utilizado o equipamento ECO® F200 e para a medição da Creatina-quinase (CK) será utilizado o equipamento ECO® Simplex, ambos os equipamentos realizam o exame com coleta do sangue capilar (um furo com equipamento descartável na ponta de um dos dedos da mão) de 5µl e 20µl respectivamente. Os exames serão realizados dentro das dependências do Departamento Médico do clube por profissionais habilitados nos equipamentos descritos e os resultados serão obtidos no próprio equipamento em 3 minutos. As amostras logo em seguida ao exame serão descartadas, não haverá armazenamento de amostra.

Todos os seus dados pessoais serão confidenciais, sua identidade não será revelada publicamente em hipótese alguma e somente os pesquisadores envolvidos neste estudo terão acesso a essas informações. Os dados coletados utilizados para fins de pesquisa e ensino, estarão sob a responsabilidade do Dr. Eduardo Mendonça Pimenta

e não serão armazenados, serão utilizados nas análises e as sobras serão devidamente descartadas.

Os pesquisadores tratarão a sua identidade com padrões profissionais de sigilo, atendendo a legislação brasileira (Resoluções Nº 466/12; 441/11 e a Portaria 2.201 do Conselho Nacional de Saúde e suas complementares), utilizando as informações somente para fins acadêmicos e científicos. Além disto, os dados serão tratados e divulgados de forma agregada, não rastreável. Todos os recursos serão disponibilizados pelo clube de coleta, dessa forma, não haverá necessidade de apoio financeiro da Escola de Educação Física da Universidade Federal de Minas Gerais.

Os riscos deste estudo são relativamente pequenos e estão associados com dores musculares, cansaço e possível desconforto devido à atividade física. Outro risco está relacionado com a coleta sanguínea. No entanto, a coleta de sangue será feita pela equipe médica responsável pelo departamento médico do clube seguindo todas as recomendações necessárias para esse tipo de procedimento.

Outro risco possível é o de constrangimento. Para minimizá-lo, as coletas serão realizadas sempre individualmente, pela equipe médica do clube, em uma sala separada e a confidencialidade dos dados será sempre mantida. Por outro lado, sua participação nesta pesquisa proporcionará benefícios como produção e disseminação de conhecimento através de artigos científicos que serão gerados, ajudando no processo de trabalho de treinadores esportivos.

Não está prevista qualquer forma de remuneração para os voluntários. Todas as despesas especificamente relacionadas ao estudo são de responsabilidade da UFMG.

Você dispõe de total liberdade para esclarecer as questões que possam surgir durante a pesquisa. Qualquer dúvida, por favor, entre em contato com os pesquisadores responsáveis pelo estudo: Dr. Eduardo Mendonça Pimenta, tel. (31) 99156-3142 e ou Miller Gomes de Assis (31) 991119011 com o Comitê de Ética em Pesquisa: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 – Unidade Administrativa II – 2º andar, sl. 2005 cep.

31270901 - BH/MG, tel. 34094592, email: *coep@prpq.ufmg.br*. Você poderá se recusar a participar deste estudo e/ou abandoná-lo a qualquer momento, sem precisar se justificar e sem que isso seja motivo de qualquer tipo de constrangimento para você. Os pesquisadores podem decidir sobre a sua exclusão do estudo por razões científicas, sobre as quais você será devidamente informado.

Antes de concordar em participar desta pesquisa e assinar este termo, os pesquisadores deverão responder todas as suas dúvidas e, se você concordar em participar do estudo, deve ser entregue uma via deste termo para você. Em caso de danos provenientes da pesquisa você poderá buscar indenização nos termos da Res.466/12.

CONSENTIMENTO

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito de todos os dados que li e concordo, voluntariamente, em participar do estudo: “Associação do *polimorfismo ACTN3 R577X (rs1815739)* com respostas inflamatórias e termografia em atletas de futebol.”

Belo Horizonte _____ de _____ de 2022

Assinatura do voluntário: _____

Nome: _____

Declaro que expliquei os objetivos deste estudo para o voluntário, dentro dos limites dos meus conhecimentos científicos.

Dr. Eduardo Mendonça Pimenta
Orientador e Professor da EEFFTO/ UFMG

Miller Gomes de Assis

Mestrando em Ciências do Esporte – EEEFTO/ UFMG

CONTATOS

Pesquisador: Prof. Dr. Eduardo Mendonça Pimenta
Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional da Universidade
Federal de Minas Gerais (EEFFTO/UFMG).
Av. Pres. Antônio Carlos, 6627, Campus Pampulha, Belo Horizonte, MG
CEP 31270-901.
Tel: (31)3409-2325 / (31) 3409-7443
Email: des@eeffto.ufmg.br / empimenta@uol.com.br

COEP – Comitê de Ética em Pesquisa
Av. Pres. Antônio Carlos, 6627 - Unidade Administrativa II – 2º andar/Sala 2005
Campus Pampulha – Belo Horizonte, MG - CEP: 31270.901
Email: coep@prpq.ufmg.br
Telefax: (31) 3409-4592

PARECER DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 2.481.549

RESPOSTA: Solicitação atendida conforme texto grifado: Em estudos de genética as amostras são armazenadas para estudos futuros e criação de bancos de dados. O BANCO DE DADOS SÓ SERÁ CRIADO APÓS A DEVIDA APROVAÇÃO DA CONEP, MEDIANTE SUBMISSÃO DE PROTOCOLO DE DESENVOLVIMENTO, CONFORME ANEXO II DA NORMA OPERACIONAL Nº 001 DE 2011. Os dados de cada participante receberão um código e não terão nenhuma identificação que permita associá-lo a um participante em particular. O cadastro das amostras é realizado através de um banco de dados, onde apenas a equipe de pesquisadores, envolvida no projeto, tem acesso. As amostras restantes serão acondicionadas a 4 graus (por um período máximo de 05 anos), no Laboratório de Neurociências da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, devidamente identificadas com os respectivos códigos. Caso algum pesquisador queira utilizá-la futuramente, o mesmo deverá submeter um novo projeto e, somente depois da aprovação do mesmo no Comitê de Ética, terá acesso ao banco de dados. Reforçamos que todos os dados gerados nessa pesquisa serão mantidos em sigilo.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA

Considerações Finais a critério da CONEP:

Diante do exposto, a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - Conep, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS nº 466 de 2012 e na Norma Operacional nº 001 de 2013 do CNS, manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa proposto.

Situação: Protocolo aprovado.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_922547.pdf	14/11/2017 20:23:26		Aceito
Outros	Carta_Resposta_CONEP2.pdf	14/11/2017 20:22:12	Eduardo Mendonça Pimenta	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_para_responsaveis.docx	14/11/2017 20:19:34	Eduardo Mendonça Pimenta	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de	TALE.docx	14/11/2017 20:16:24	Eduardo Mendonça Pimenta	Aceito

Endereço: SEPN 510 NORTE, BLOCO A 3º ANDAR, Edifício Ex-INAN - Unidade II - Ministério da Saúde
Bairro: Asa Norte CEP: 70.750-521
UF: DF Município: BRASÍLIA
Telefone: (61)3315-5878 E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 2.481.549

Ausência	TALE.docx	14/11/2017 20:16:24	Eduardo Mendonça Pimenta	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.docx	14/11/2017 20:16:09	Eduardo Mendonça Pimenta	Aceito
Outros	Carta_de_anuencia.pdf	16/10/2017 06:43:05	Eduardo Mendonça Pimenta	Aceito
Outros	692534171parecerassinado.pdf	12/07/2017 13:59:33	Vivian Resende	Aceito
Outros	692534171aprovacaoassinada.pdf	12/07/2017 13:59:26	Vivian Resende	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_detalhado_Estudo_de_associacao_ampla_do_genoma_em_atletas_de_futebol.docx	28/06/2017 10:45:20	Eduardo Mendonça Pimenta	Aceito
Outros	Parecer_Consubstanciado.pdf	02/06/2017 10:17:39	Eduardo Mendonça Pimenta	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_Rosto.pdf	31/05/2017 10:19:01	Eduardo Mendonça Pimenta	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

BRASILIA, 02 de Fevereiro de 2018

Assinado por:
Jorge Alves de Almeida Venancio
(Coordenador)

Endereço: SEPN 510 NORTE, BLOCO A 3º ANDAR, Edifício Ex-INAN - Unidade II - Ministério da Saúde
Bairro: Asa Norte CEP: 70.750-521
UF: DF Município: BRASILIA
Telefone: (61)3315-5878 E-mail: conep@saude.gov.br