

**Daniel Barbosa Coelho**

Determinação da frequência genotípica do ACTN3 e da sua relação com o desempenho físico, respostas hormonais e indicadores do dano muscular em jogadores de futebol

**Belo Horizonte**

**2011**

**Daniel Barbosa Coelho**

**Determinação da frequência genotípica do ACTN3 e da sua  
relação com o desempenho físico, respostas hormonais e  
indicadores do dano muscular em jogadores de futebol**

Tese apresentada ao programa de pós-graduação stricto sensu em Ciências do Esporte da Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para a obtenção do título de doutor.

Orientador: Prof. Dr. Emerson Silami Garcia.

**Belo Horizonte**

**2011**

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Fisiologia do Exercício da Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional da Universidade Federal de Minas Gerais (LAFISE/EEFFTO/UFMG), em parceria com Laboratório de Genética Humana e Médica (LGHM-ICB-HFMG) na vigência dos auxílios concedidos pela Coordenadoria de Apoio de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Fundação Mineira de Amparo a Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG) e pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

## **AGRADECIMENTOS**

Inicio os agradecimentos afirmando que cometerei injustiças pela minha memória falha em não me lembrar de todos que de forma direta ou indireta contribuíram com este trabalho. Também afirmo que mesmo se eu conseguisse me lembrar de todos, ainda assim não caberiam neste documento todos os nomes e o que eu gostaria de dizer a eles.

Agradeço a Deus pela dádiva da vida e saúde a mim confiados.

Ao povo brasileiro por custear a minha formação desde o ensino fundamental.

Aos voluntários da pesquisa que, independente dos incômodos se dispuseram com grande boa vontade a participar deste estudo.

Aos meus pais, Almir e Judite por terem me proporcionado o melhor “berço” possível e por terem me apoiado em minha decisão de continuar estudando mesmo por tanto tempo. E aos meus irmãos Almir Jr. e Daniela, e ao meu sobrinho Luis Otávio pela convivência e compreensão.

Ao professor Dr. Emerson Silami Garcia, cuja apresentação profissional seria redundante e no trato interpessoal sempre nos surpreendeu positivamente, foi mais que um orientador, foi um grande conselheiro e amigo. Agradeço pelo exemplo profissional e acadêmico, por ter confiado em meu potencial, empreendendo tempo e recursos em meu projeto e em minhas propostas de forma quase incondicional mesmo com tantos afazeres em prol da EEFETO e do LAFISE, entendendo e aceitando minhas limitações que sempre foram muitas. Assim como no mestrado, o desejo, desafio e objetivo, sempre foram somente não decepcioná-lo por isso.

Ao Drnd. Eduardo Pimenta, meu colega de trabalho, parceiro de doutorado, irmão emprestado, co-orientador e antes de tudo isso, se tornou durante o processo de doutorado, um amigo. Agradeço por ter me apresentado o tema “genética e esporte”, pelas incontáveis horas de dedicação sua ao nosso projeto (coleta de dados, revisão de literatura, análises, etc...), pela pro-atividade, pelo exemplo de profissional e homem que representa e fundamentalmente por se importar com minha formação acadêmica e pessoal e por não ter desistido disso.

À Drnda. Izinara Rosse do LGHM-ICB por ter sido peça fundamental do projeto contribuindo na realização das genotipagens da amostra, mas em especial, por não ter se furtado em momento nenhum em doar bem mais do que o necessário de seu tempo para contribuir com várias outras partes importantes do projeto com extrema dedicação, empenho e carinho com nossa pesquisa. Em especial agradeço pela paciência em trabalhar conosco, Eduardo e eu, obrigado também por não ter desistido de nós.

À Profa. Maria Raquel Santos Carvalho, coordenadora do LGHM-ICB, por ter aberto as portas de seu laboratório para o nosso projeto. Também aos demais integrantes de seu laboratório, Marlene Miranda e Pablo Fonseca que contribuíram muito com o andamento de nossas análises genéticas.

Ao Laboratório São Sebastião (Coronel Fabriciano), representado nas pessoas do senhor Elias e da Marcilene, nos receberam de braços abertos para a realização de nossas análises nos auxiliando e nos deixando à vontade para trabalhar em seu laboratório.

Ao Prof. Cristiano Veneroso pela preciosa ajuda na realização das análises de ELISA de nossa amostra.

À professora Dra. Danusa Dias Soares, desde o mestrado, pelo exemplo como pesquisadora e ser humano, colocando o trabalho à frente de todos os interesses.

Ao Prof. Dr. Luciano Sales pela co-orientação informal e companheirismo.

Aos colegas orientandos do prof. Emerson (André Maia, Guilherme Passos, Carol, Cristiano Lino, Lucas Mortmer, Thiago, Lucas Lima e Moisés) pelas várias colaborações nas várias etapas do projeto, em especial na parte de coleta de projeto piloto e crônica ao longo do projeto e pelas lições de relações humanas. Em especial ao colega Emerson Rodrigues pela pro-atividade, boa vontade e energia em auxiliar sempre que foi convidado a ajudar fazendo parecer fácil as tarefas do laboratório sendo esse um exemplo de aluno de pós graduação a ser seguido.

Agradeço aos bolsistas de iniciação científica do laboratório (Matheus, Diogo e Sara) pelas contribuições nas coletas no laboratório e revisão bibliográfica do projeto.

Em especial aos alunos Marco Aurélio, Rodrigo Morandi, Cristian Cabido e Victor Ciminelli pela contribuição específica na área do futebol e nas coletas de campo que foram

muitas. Eles foram a linha de frente de muitas batalhas árduas e sempre corresponderam além das expectativas. Foi uma honra poder ter contado com a ajuda de vocês.

À professora Lenice por auxiliar nas coletas de dados e pelas demais orientações.

Às comissões técnicas dos clubes onde ocorreram as coletas, em especial aos funcionários da Toca da Raposa I.

À Maria Aparecida (Cida), pelas contribuições em qualquer momento em que foi requisitada e pela preocupação e zelo com andamento dos nossos projetos.

A todos aqueles que me auxiliaram em algum momento desse longo processo do mestrado.

Aos demais integrantes do LAFISE que contribuíram e muito com uma convivência acadêmica, profissional e de amizade ao longo destes anos de trabalho:

Angelo Martini

Ana Claudia Alves Serafim

Ana Cançado Kunstetter

Débora Romualdo

Diego de Alcântara Borba

Cletiana Gonçalves

Francisco Teixeira Coelho

Luiz Barcellos

Luciana Gonçalves Madeira

Patrícia Rocha

Reinaldo Teles Paulinelli

Roberta Borges La Guardiã

Tatiana Fonseca

Washington Pires

William Coutinho

Às funcionárias do colegiado de pós-graduação da EEEFTO, principalmente à Karen Cruz.

A todos os funcionários da EEEFTO, representados pela pessoa da Suely, que sempre deixaram nosso ambiente de trabalho funcionando e agradável.

## RESUMO

O objetivo foi determinar a frequência do ACTN3 em jogadores de futebol de diferentes categorias e a sua relação com o desempenho, respostas hormonais e de indicadores de dano muscular pós jogo. Foram avaliados 367 jogadores masculinos das categorias sub-15, sub-17, sub-20 e profissionais, e jogadores amadores (N. 14) e um grupo controle (N. 100). Todos os indivíduos foram genotipados para o polimorfismo ACTN3- RR, RX e XX. Foram realizados testes de capacidade aeróbia, salto agachado (SJ), com contra-movimento (CMJ) e teste de velocidade de 30m (V30) subdividido em 10m (V10) e 20 (V20). Foram realizadas coletas sanguíneas nos momentos pré, pós, 2 e 4h de jogo e foram determinadas as concentrações de Interleucina-6 (IL-6), Cortisol, testosterona, relação testosterona/cortisol (T/C), creatina-quinase (CK) e alfa-actina muscular entre os grupos RR/RX e XX. A frequência do ACTN3 em jogadores não foi diferente do grupo controle. No entanto observou-se que o grupo de jogadores profissionais apresentou uma menor frequência do XX e aumento do RX ( $p<0,05$ ) em relação aos jogadores mais jovens. Não foi encontrada relação da frequência genotípica com o desempenho em testes físicos. As concentrações de CK pós jogo foram maiores para ambos os grupo e se mantiveram altas até o momento 4 h ( $p<0,05$ ), mas não diferiram entre si. Identificou-se aumento da IL-6 pós jogo para o grupo XX ( $p<0,05$ ) retornando aos valores normais no momento 2 h. Houve aumento da testosterona pós jogo no grupo RR/RX que se manteve até 4h ( $p<0,05$ ). Sendo que esse mesmo comportamento não foi observado para o grupo XX. Nos momentos pós, 2 e 4 h as concentrações de testosterona foram maiores no grupo RR/RX em comparação ao grupo XX. O grupo RR/RX apresentou aumento das concentrações de cortisol pós jogo. Em ambos os grupos a concentração de cortisol foi menor nos momentos 2 e 4 h em comparação com a fase pré ( $p<0,05$ ), indicando uma diminuição desta concentração. Conclui-se que a frequência do genótipo XX e o RX diminui e aumenta respectivamente em categorias mais velhas no futebol, indicando uma seleção natural de indivíduos de caráter mais forte e misto neste esporte. Indivíduos XX, apresentam maiores respostas de IL-6 a um jogo de futebol e indivíduos RR/RX apresentam maiores valores de marcadores de CK pós jogo.

**Palavras chave: Futebol. Cortisol. Testosterona. Genética e alfa-actina.**

## ABSTRACT

The objective was to determine the frequency of ACTN3 in soccer players of different categories and their relationship to performance, hormonal responses and indicators of muscle damage after the game. We evaluated 367 male players under-15 category, sub-17, U-20 and professional and amateur players (N. 14) and a control group (N. 100). All subjects were genotyped for the polymorphism ACTN3-RR, RX and XX. Were applied tests of aerobic capacity, squat jump (SJ), counter-movement jump (CMJ) and sprint test of 30 m (V30) subdivided into 10 m (V10) and 20 m (V20). Blood collections were performed in the pre, post, 2 and 4 h after the match and were determined the concentrations of interleukin-6 (IL-6), cortisol, testosterone, ratio testosterone/cortisol (T/C), creatinekinase (CK), muscle alpha-actin and between the groups RR/RX and XX. The frequency of ACTN3 in players was not different from control group. However it was noted that the group of professional players had a lower frequency of XX and an increased frequency RX ( $p < 0.05$ ) compared to younger players. Concentrations of CK were higher after the game for both groups and remained high until the time 4 h ( $p < 0.05$ ) but not different. We identified increased IL-6 post game for the XX group ( $p < 0.05$ ) returning to normal at the time 2 h. There was an increase of testosterone after the game in the group RR/RX that lasted until 4 am ( $p < 0.05$ ). Being that this same pattern was not observed for group XX. In the moments Post, 2 and 4 h testosterone concentrations were higher in RR/RX compared to the group XX. The group RR/RX showed increased levels of cortisol Post the game. In both groups, cortisol concentrations were lower at times 2 and 4 h compared with the pre ( $p < 0.05$ ), indicating a decrease of concentration. We conclude that the frequency of genotype XX and RX decreases and increases respectively in older categories in football, indicating a natural selection of individuals of character stronger and mixed in this sport. The RR genotype and allele R is present in more soccer players with superior physical performance in tests of strength and speed, while the reverse was not proved in relation to resistance. XX individuals have higher responses of IL-6 to a football game and individuals RR/RX have higher values of markers of CK Postgame.

**Key word: Soccer. Cortisol. Testosterone. Genetic and alpha-actin.**

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 – Produção de energia no futebol.	p.16
FIGURA 2– Frequência cardíaca durante um jogo de futebol.	p.18
FIGURA 3 – apresentação esquemática da reposta de IL-6.	p.22
FIGURA 4 – Resposta plasmática de citocinas.	p.23
FIGURA 5 – Possíveis efeitos desencadeados pela liberação IL-6.	p.25
FIGURA 6 – Esquema do possível papel da IL-6 na manutenção	p.27
FIGURA 7–. Regulação da secreção hormonal pelo SNC.	p.30
FIGURA 8–. Localização e estrutura de domínio das $\alpha$ -actinas.	p.45
FIGURA 9 – A) Esquema da restrição. B) Gel de poliacrilamida.	p.57
FIGURA 10 – Esquema de ilustração dos momentos de análise	p.59
FIGURA 11 – Conjunto de cardiofrequencímetros e interface	p.64
FIGURA 12 – Transmissora de FC nos jogadores	p.64
Gráfico 1– Frequência genotípica do ACTN3– (RR, RX e XX)	p.67
Gráfico 2: Frequências alélicas (%) de R e X	p.68
Gráfico 3 – Concentrações de IL-6 nas fases	p.81
Gráfico 4 – Concentrações de alfa-actina nas fases Pré, Pós, 2, 4 h	p.81
Gráfico 5 – Concentrações de CK nas fases Pré, Pós, 2 e 4 h	p.82
Gráfico 6 – Concentrações de testosterona fases Pré, Pós, 2 e 4 h	p.82
Gráfico 7 – Concentrações de Cortisol fases Pré, Pós, 2 e 4 h	p.83
Gráfico 8 – Relação T/C nas fases Pré, Pós, 2 e 4 h de jogo	p.84
Gráfico 9– Monitoramento da FC de um dos jogadores avaliados	p.85

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. – Características da amostra (estudo 1)	p.66
Tabela 2 – Frequências genotípicas e alélica	p.67
Tabela 3 – Características da amostra (estudo 2)	p.73
Tabela 4 – Comparação das Frequências genotípicas	p.74
Tabela 5 – Comparação das Frequências Alélicas (R e X)	p.75
Tabela 6 – Características da amostra (Estudo 3).	p.79
Tabela 7 – Valores de alfa-actina, Interleucina 6 (IL-6)...	p.80
Tabela 8 – Valores de frequência cardíaca (BPM e %FCMáx) ...	p.84
Tabela 9 – Condições ambientais média dos jogos monitorados.	p.85

## LISTA DE ABREVIÇÕES

ACTN3 557R= alelo 577R do gene  $\alpha$ -actinina 3,  
ACTN3 577X= alelo 577X do gene A-actinina 3,  
ACTN3= gene  $\alpha$ -actinina 3,  
ADP= adenosina difosfato  
ATP = adenosina trifosfato  
BCAA= (Branch Chain Amino Acids) Aminoácidos De Cadeia Ramificada  
CBF = Confederação Brasileira de Futebol  
CDNT = Centro de Desenvolvimento de Tecnologia Nuclear  
CK = creatina-quinase  
CK-BB = CK cerebral  
CK-MB = CK cardíaca  
CK-MM = CK muscular  
CP= creatina fosfato  
CRH = Hormônio liberador de coricotropina  
ECA-I/D = Gene da enzima conversora de agiotensina  
FC = Frequência cardíaca  
FC<sub>máx</sub>= Frequência cardíaca máxima  
FIFA = Federação Internacional de Associações de Futebol  
GH = hormônio do crescimento  
GHRH = Hormônio Liberador do Hormônio do crescimento  
HPA = hipotalâmico-hipofisário-adrenal  
HPA = hipotálamo – hipófise - adrenal  
HSL = lipase hormônio sensível  
IGF = Fator de crescimento semelhante à insulina  
IL-1B=intrleucina 1 BETA  
IL6= interleucina 6  
IL-ra = antagonista de receptor  
JNK = c-Jun amino-terminal kinase  
Taq= DNA polimerase termoestável utilizada na amplificação de fragmentos de DNA através da técnica de PCR.  
LDH = lactato desidrogenase  
MHC= cabeça pesada de miosina  
NFAT = fator nuclear de células T ativadas  
O/N= ao longo da noite,  
PCR= Reação em Cadeia da Polimerase,  
PPD = éster fosfato de adamantil dioxetano  
RM= repetição máxima  
Relação T/C = relação entre as concentrações de testosterona e cortisol  
SRA = sistema renina angiotensina  
SNAS= sistema nervoso autônomo simpático  
sTNF-R=. receptor solúvel de fator de necrose tumoral  
T/C = testosterona/cortisol  
TNF- $\alpha$ = Fator de Necrose Tumoral  
TRH = Hormônio liberador de tireotrofina.

## SUMÁRIO

1	<b>INTRODUÇÃO</b>	p.9
1.1	Objetivos, questões e hipóteses	p.12
1.2	Justificativa	p.13
2	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b>	p.14
2.1	Futebol	p.14
2.1.1	Perfil da atividade (Caracterização do Futebol)	p.14
2.1.2	Produção aeróbica de energia	p.16
2.1.3	Capacidade aeróbica máxima dos jogadores	p.17
2.1.4	Produção anaeróbica de energia	p.18
2.1.5	Metabolismo anaeróbico alático no futebol	p.19
2.1.6	Metabolismo anaeróbico láctico no futebol	p.19
2.2	Marcadores da demanda fisiológica.	p.21
2.2.1	Interleucina-6	p.21
2.2.1.1	Resposta de IL6 ao exercício	p.21
2.2.1.2	Sinalização intracelular para a produção de IL-6	p.25
2.2.1.3	Cálcio como sinalizador	p.25
2.2.1.4	Glicogênio como sinalizador	p.26
2.2.2	Exercício e ativação do eixo HPA	p.28
2.2.2.1	Cortisol e exercício	p.31
2.2.2.2	Testosterona e exercício	p.32
2.2.2.3	Relação cortisol testosterona no exercício	p.34
2.2.3	Dano muscular e exercício	p.37
2.2.3.1	Creatina quinase (CK) e sua função	p.38
2.2.3.2	Creatina quinase como marcador de dano muscular	p.39
2.2.4	Alfa-Actina como marcador específico de dano	p.41
2.3	Alfa-actininina 3	p.42
2.3.1	ACTN3-R/X o gene da força e velocidade	p.44
2.3.1.1	Perfil Genético e rendimento esportivo	p.44
2.3.1.2	ACTN3-R/X e o rendimento esportivo	p.45
2.3.1.3	Treinabilidade relacionados ao ACTN3-R/X	p.51
3	<b>MÉTODOS</b>	p.53
3.1	Cuidados Éticos	p.53

3.2	Amostra	p.53
3.2.1	Caracterização da amostra.	p.54
3.3	Delineamento experimental	p.55
3.3.1	Estudo 1: Determinação da frequência do genotípica...	p.55
3.3.1.2	Genotipagem do polimorfismo R577X no gene ACTN3	p.55
3.3.2	Estudo 2: Associação do desempenho de jogadores ...	p.57
3.3.2.1	Testes físicos	p.58
3.3.3	Estudo 3: Relação da expressão do ACTN3 ...	p.59
3.3.3.1	Colheita sanguínea	p.60
3.3.3.2	Variáveis analisadas	p.61
3.3.3.3	Monitoramento dos jogos	p.63
3.4	Análise estatística	p.65
4	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	p.66
4.1	Estudo 1	p.66
4.1.1	Resultados estudo 1	p.66
4.1.2	Discussão estudo 1	p.67
4.2	Estudo 2	p.73
4.2.1	Resultados Estudo 2	p.74
4.2.2	Discussão estudo 2	p.76
4.3	Estudo 3	p.79
4.3.1	Resultados estudo 3	p.79
4.3.2	Discussão estudo 3	p.85
5	<b>CONCLUSÃO</b>	p.93
	<b>REFERÊNCIAS</b>	p.94
	<b>APÊNDICE</b>	p.108

## 1 INTRODUÇÃO

O futebol é um esporte coletivo de abrangência mundial que em campeonatos internacionais alcança uma audiência maior que as olimpíadas. Na atualidade é praticado por pessoas de ambos os sexos e de todas as idades. É considerado como uma atividade intermitente e de alta intensidade, que, por essa característica, e por ser realizado em dois períodos de 45 min com 15 min de intervalo, também pode ser caracterizado como de longa duração.

Em um jogo de futebol, a distância percorrida é em média de 10 km (BANGSBO; LINDQUIST, 1992; EKBLÖM, 1986; RIENZI *et al.*, 2000), a uma intensidade média de 70-80% do VO<sub>2</sub>máx, (BANGSBO; 1994 b), 165 bpm ou 85% da frequência cardíaca máxima (%FCmáx) (KRÜSTRUP *et al.*, 2005; HELGERUD *et al.*, 2001; MORTIMER *et al.*, 2006), representando um gasto energético médio de 11.34 kcal.min<sup>-1</sup>, variando entre 6.49 a 16.87 kcal.min<sup>-1</sup> (SILAMI-GARCIA *et al.*, 2005), em um total de 1539.86 ± 130.07 kcal (COELHO *et al.*, 2011) e apresentando altas concentrações de lactato (BANGSBO; 1994b). Atividades de força e potência como saltos, *sprints* e disputas de bola também estão presentes nesta modalidade (REILLY, 1997).

O exercício representa um estresse significativo em treinamentos e competições. Tal aspecto é associado com processos celulares periféricos, cerebrais centrais, regulação neuronal e hormonal, bem como a mecanismos de transmissão. Durante sessões agudas de exercício as alterações celulares periféricas são associadas principalmente ao fornecimento de energia e envolvem reações hormonais e de algumas citocinas. O microtrauma muscular também é relacionado a essas reações, mas com objetivo de restauração do sistema. Estímulos muito intensos e pausas insuficientes para a recuperação, e ainda outros possíveis fatores estressantes, podem desencadear um processo de supertreinamento (STEINACKER *et al.*, 2004).

Têm-se buscado ao longo dos anos a identificação de marcadores fisiológicos que representem a exigência física imposta a esportistas. Destes pode-se citar fatores indicativos de microtraumas musculares como a creatina quinase (CK), lactato desidrogenase (LDH), fragmentos da cadeia pesada de miosina (MHC), troponina-I, mioglobina e a alfa-actina, sendo sugerida como um candidato marcador

mais específico do micro-trauma muscular decorrente da demanda músculo-esquelética (MARTÍNEZ-AMAT *et al.*, 2005; MARTÍNEZ-AMAT *et al.*, 2007).

Além dos marcadores citados previamente, outros marcadores são considerados para o monitoramento da exigência física de forma aguda e crônica como a Interleucina-6 (IL-6) (STEINACKER *et al.*, 2004), associada à magnitude da exigência metabólica da atividade (FEBBRAIO; PEDERSEN, 2002; PEDERSEN; FEBBRAIO, 2008) e parâmetros hormonais, como concentrações de cortisol, testosterona e a relação testosterona/cortisol (T/C) (UCHIDA *et al.*, 2004; SIMÕES *et al.*, 2004; CORMACK; NEWTON; MCGUIGAN, 2008).

A prática do futebol, com suas características, representam uma intensidade de esforço parecida para todos os praticantes, no entanto pode ser que o perfil genético dos atletas interfira na demanda imposta a estes praticantes de forma diferente. O rendimento esportivo em atividades de predominância de força e velocidade tem sido associado ao gene ACTN3 que é responsável pela expressão da alfa-actinina-3. Essa proteína intrassarcomérica e específica das fibras do tipo II desempenha um papel estrutural de arranjo e transferência de tração entre os filamentos de actina e a linha Z (CLARKSON *et al.*, 2005a; DIAS *et al.*, 2007) conferindo aos sujeitos que a expressam (ACTN3-RR e RX) maiores características de força e velocidade (MACARTHUR *et al.*, 2008; MACARTHUR; NORTH, 2004; 2007). Os indivíduos que expressam o genótipo ACTN3-XX apresentariam maior aptidão para modalidades de resistência (AHMETOV *et al.*, 2008).

Sugere-se que exista uma seleção natural para os esportes praticados em alto nível de rendimento (AHMETOV *et al.*, 2008) de acordo com sua predominância de fornecimento de energia aeróbia ou anaeróbia. Com esse pressuposto, a investigação da distribuição genotípica em diferentes modalidades de diferentes países tem sido recorrente (AHMETOV *et al.*, 2008; LUCIA *et al.*, 2006; NIEMI, MAJAMAA, 2005; PAPARINI *et al.*, 2007; SANTIAGO *et al.*, 2009; SAUNDERS *et al.*, 2007; YANG *et al.*, 2007).

A seleção natural para determinadas modalidades pode ocorrer por maior aptidão de alguns genótipos ao treinamento (DELMONICO *et al.*, 2007; NORMAN *et al.*, 2009).

Especula-se que indivíduos que não expressam a alfa-actinina-3, durante a realização de atividades de força e potência com uma mesma intensidade relativa, apresentem maiores graus de microlesões, representados como maiores

concentrações de marcadores biológicos desse quadro, em comparação com indivíduos RR/RX. Tal fato ocorreria por um efeito protetor da alfa-actinina-3 nas fibras do tipo II (CLARKSON, *et al.*, 2005; LEK; NORTH, *et al.*, 2010; LINNEMANN *et al.*, 2010; VICENT *et al.*, 2010). No entanto em atividades de intensidade máxima, como no caso do futebol, indivíduos RR/RX, desempenhariam maiores magnitudes em atividades de força e potência, incorrendo em uma situação de microtrauma muscular absoluta maior pós atividade.

## 1.1 Objetivos, questões e hipóteses desta pesquisa

### Estudo 1:

Determinar a frequência dos genótipos ACTN3 em jogadores de futebol brasileiros de diferentes categorias.

HO: A frequência genotípica dos jogadores de futebol brasileiros para o ACTN3 não é diferente da frequência observada na população normal e em diferentes categorias.

H1: A frequência genotípica dos jogadores de futebol brasileiros para o ACTN3 é diferente da frequência observada na população normal e em diferentes categorias.

### Estudo 2:

Avaliar a interferência da expressão gênica do ACTN3 no desempenho de atletas de futebol em testes físicos de força, velocidade e resistência.

HO: Não existe diferença entre o desempenho de atletas de futebol em testes físicos de força, velocidade e resistência entre os diferentes genótipos do ACTN3 (RR, RX e XX).

HO: Existe diferença entre desempenho de atletas de futebol em testes físicos de força, velocidade e resistência entre os diferentes genótipos do ACTN3 (RR, RX e XX).

### Estudo 3:

Avaliar as respostas hormonais e de indicadores do dano muscular em decorrência de jogos de futebol e sua relação com a expressão gênica do ACTN3. (ACTN3- XX versus XR/RR).

H0: Não existe diferença entre as respostas hormonais e de indicadores do dano muscular em jogos de futebol em relação à expressão gênica do ACTN3?

H1: Existe diferença das respostas hormonais e de indicadores do dano muscular em jogos de futebol e sua relação com a expressão gênica do ACTN3?

## 1.2 Justificativa

Um jogo de futebol pode representar um estresse fisiológico significativo para os jogadores, o que pode demandar medidas paliativas ou um período de recuperação suficiente para que o atleta esteja pronto para novos estímulos de treinamentos ou jogos. Um dos reflexos da magnitude desse estresse pode ser determinado por respostas do sistema endócrino, sistema imunológico, ou danos musculares (microtraumas), que podem ser identificados pela mensuração de variáveis como citocinas, cortisol, testosterona e marcadores sanguíneos específicos.

A identificação dessas variáveis tem sido motivo de investigações no meio esportivo, uma vez que, dispondo dessa informação, a comissão técnica pode interpretar melhor o significado destes estímulos para desencadear adaptações ao treinamento e períodos de recuperação entre eles.

A identificação da pré-disposição genética dos atletas a atividades de força e velocidade, que é o que predomina no futebol, traz informações importantes para a comissão técnica no planejamento individualizado das cargas de treinamento, em especial no que tange os períodos de recuperação entre elas, tendo em vista que alguns treinamentos e jogos são de caráter coletivo. Tal fato se justifica porque alguns atletas não pré-dispostos geneticamente podem ser super-exigidos nos treinamentos ou se recuperarem pouco em comparação aos seus colegas. Sendo que o inverso também pode ocorrer e os atletas mais aptos serem sub-exigidos.

Em esportes de alto rendimento em que mais de uma capacidade física interferem no resultado e que aspectos cognitivos são fundamentais, como o futebol, o conhecimento do perfil genético dos atletas pode contribuir na interpretação de diferentes desempenhos em treinos e jogos. Atletas que não se apresentariam pré-dispostos para estes esportes apresentariam compensações que o fazem atuar neste nível competitivo, o que por si só já é um fator importante a se considerar e justifica um maior cuidado com os mesmos.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Futebol

#### 2.1.1 Perfil da atividade (Caracterização do Futebol)

O futebol é um esporte praticado em todos os continentes e a adesão à modalidade vem aumentando a cada ano entre os gêneros e todas as idades (REILLY, 1997). Atualmente existem mais de duzentos milhões de jogadores de futebol em atividade ao redor do mundo (FIFA, 2011). Outro fator que demonstra a abrangência desta modalidade é a audiência que cresce de forma impressionante a cada evento esportivo mundial (TUMILTY, 1993).

A maioria das atividades no futebol é de intensidade submáxima mas, com um volume significativo de situações de alta intensidade e de curta duração (RIENZI *et al.*, 2000). No entanto, as atividades realizadas em alta intensidade de esforço constituem o componente anaeróbico do futebol, e freqüentemente, o desempenho nestas ações, determina o resultado do jogo (REILLY *et al.*, 2000; 1997).

Admitindo a distância percorrida pelos jogadores durante um jogo como uma referência da intensidade de esforço, alguns autores demonstraram que os jogadores percorrem, em média, 10 km durante um jogo, podendo existir diferenças significativas entre os jogadores, de acordo com as posições ocupadas pelos mesmos em campo (BARROS *et al.* 2007; BANGSBO; MICHALSIK, 2002; SHEPHARD, 1992; SILVA; BARROS, 2005; STOLEN *et al.*, 2005; REILLY, 1997).

Baseado na relação individual entre Frequência cardíaca (FC) e o consumo máximo de oxigênio ( $VO_{2máx}$ ) obtida em testes padronizados de laboratório (SHEPHARD, 1992) pode-se estimar que a intensidade relativa de esforço de um jogo de futebol é de aproximadamente 75% do  $VO_{2máx}$  (BANGSBO 1994 a; EKBLUM, 1986; REILLY, 1997; REILLY; THOMAS, 1979). Além disso, os jogadores se esforçam a cerca de 85% da  $FC_{máx}$ , 165 bpm (HELGERUD *et al.*, 2001; MORTIMER *et al.* 2006), representando  $13.1 \pm 1.68$  METs, implicando em um gasto energético de  $17.11 \pm 1.45$  kcal.min<sup>-1</sup>, em um total de  $1539.86 \pm 130.07$  kcal (COELHO *et al.*, 2011).

Durante uma partida de futebol, tem se observado que somente em torno de 2% da distância total é percorrida com posse da bola, sendo a maioria das

atividades é desenvolvida sem bola em manobras posicionais, com grande contribuição aeróbica (REILLY, 1997). Por outro lado, as atividades diretamente ligadas ao jogo, tais como disputas de bola (divididas), saltos e chutes, são no geral, predominantemente anaeróbicas.

Pode-se inferir, pois, que as atividades anaeróbicas podem se constituir nos momentos decisivos de um jogo e podem contribuir diretamente para as disputas de bola e a realização ou tomadas de gols (BALSOM; SEGER; EKBLUM, 1992; REILLY *et al.*, 2000).

Quanto ao padrão de movimento dos jogadores, identificou-se em valores percentuais médios, que durante um jogo, os jogadores permanecem parados 17,1% do tempo total, andando 40,4% (6 km/h), em corrida de baixa intensidade os jogadores permanecem 35,1% do tempo total de jogo, sendo este valor subdividido em 16,7% de trote (8 km/h), 17,1% de corrida em jogging (12 km/h), e 1,3% de corrida para trás (12 km/h). Já as corridas de alta intensidade perfazem 8,1% do tempo total, consistindo de 5,3% de corrida de velocidade moderada (15 km/h), 2,1% de corrida de alta velocidade (18 km/h) e 0,7% de *sprints* (30km/h) (BANGSBO; NORREGAARD; THORSO, 1991).

Em termos globais, pode-se observar que os jogadores andam ou estão parados durante a maior parte do tempo, e que a velocidade média durante uma partida de futebol é de 7,2 km/h (SHEPHARD, 1992). No entanto, a intensidade do jogo quando interpretada somente como valores médios de distância percorrida e velocidade, não reflete a intensidade real da modalidade, pois não considera fatores importantes, tais como cabeceadas, divididas, frenagens e acelerações, que são atividades que também influenciam na demanda energética deste esporte e são inerentes à modalidade (REILLY, 1997; WISLOFF *et al.*, 1998).

Observa-se, portanto, que as exigências físicas têm interferência direta no desempenho durante um jogo, visto que Jogadores com grande habilidade técnica e tática só podem demonstrá-las durante um jogo de 90 minutos se tiverem altas capacidades de força, velocidade e resistência, as quais têm relação direta com o rendimento da equipe (WISLOFF *et al.*, 1998).

Desta forma, o futebol que é um esporte coletivo de oposição/cooperação em que os praticantes utilizam um espaço comum (GARGANTA; PINTO, 1998) é caracterizado como uma atividade intermitente de alta intensidade, cujas

características variam com sua função em campo (posição), podendo ser influenciado ainda pelo estilo de jogo individual (RIENZI *et al.*, 2000; SOUZA *et al.*, 2004).

### 2.1.2 Produção aeróbica de energia

A produção de energia aeróbica é alta no futebol (Figura. 1) em comparação com outros esportes coletivos, e muitos jogadores se exercitam em uma zona próxima da frequência cardíaca máxima (FCmáx) por um longo período de jogo (EKBLUM, 1986). Isto sugere que no futebol, é a capacidade aeróbica que irá determinar o grau para o qual um alto índice de trabalho muscular de alta intensidade poderá ser sustentado ao longo de uma partida (CASAJÚS, 2001; REILLY, 1997).

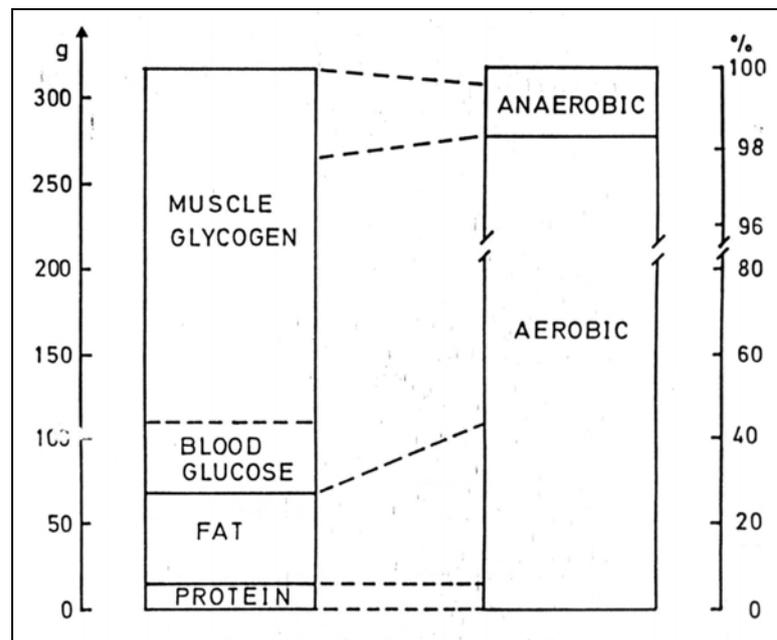


FIGURA 1 - Produção de energia no futebol.  
Estimativa relativa do consumo de energia aeróbica e anaeróbica e suas respectivas fontes durante um jogo de futebol.  
Fonte: BANGSBO (1994 a).

Com o passar dos anos foram realizadas várias tentativas de se determinar a intensidade de esforço durante uma partida de futebol, mas nenhuma dessas parece ter sido bem sucedida em obter valores reais e fidedignos sobre o assunto (REILLY;

BALL, 1984). Visto que várias análises foram feitas em jogos amistosos (ALI; FARRALY, 1991; MOHR *et al.*, 2004; RAINER, 2002), jogos simulados (FLANAGAN; MERRICK, 2002; TUMILTY, 1993), com um número pequeno de jogadores (MILES *et al.*, 1992; OGUSHI *et al.*, 1993; OHASHI *et al.*, 1993), com jogadores recreacionais (CAPRANICA *et al.*, 2001; REILLY; KEANE, 2002) com a utilização de métodos inadequados, como simulações em laboratório (BANGSBO; LINDQUIST, 1992; DRUST; REILLY; CABLE, 2002; PUGA *et al.*, 1993) ou filmagens (BANGSBO; NORREGAARD; THORSO, 1991; GREHAINGNE; MARCHAL; DUPRA, 2002; O'CONNOR, 2002; OHASHI *et al.*, 2002; RIENZI *et al.*, 2000).

Tendo em vista a impossibilidade da determinação do consumo de oxigênio por medida direta no futebol, o que seria o padrão ouro, a avaliação do custo energético durante um jogo de futebol é provavelmente melhor obtida através da medida de outros parâmetros fisiológicos indicadores de desempenho durante ou imediatamente após um jogo.

A FC, a temperatura retal ou a concentração de glicogênio muscular têm sido utilizados para tal análise (BANGSBO, 1994 a). Destas medidas, o comportamento da FC apresenta-se como uma variável aplicável e prática para determinação da produção da energia aeróbica (FLANAGAN; MERRICK, 2002; HILIOSCORPI *et al.*, 2003) durante um jogo de futebol (CAPRANICA *et al.*, 2001). Esta premissa baseia-se na relação existente entre a FC e o VO<sub>2</sub> durante um exercício (figura 2) (ASTRAND; RYHMING, 1954; MILES *et al.*, 1992; OGUSHI, *et al.*, 1993; SHEPHARD, 1992; SILAMI-GARCIA *et al.*, 2005; SMITH *et al.*, 1993; SWAIN *et al.*, 1994).

### **2.1.3 Capacidade aeróbica máxima dos jogadores de futebol**

Os jogadores de futebol, assim como pode ser observado também em outros esportes coletivos, devem ter um bom condicionamento aeróbico. No entanto, o condicionamento aeróbico destes atletas é menor quando comparado com outros esportes tipicamente de resistência, como por exemplo, os corredores de longa distância (BANGSBO; MICHALSIK, 2002) ou os esquiadores de “cross-country” (TUMILTY, 1993).

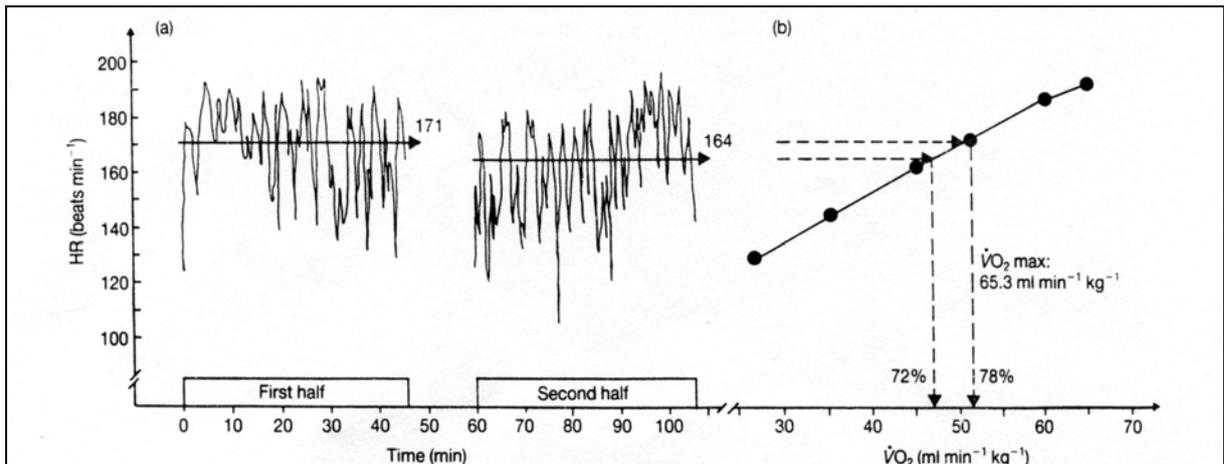


FIGURA 2- Frequência cardíaca durante um jogo de futebol e sua relação com o consumo máximo de oxigênio de oxigênio obtida durante um teste em esteira rolante para um jogador profissional. As médias de FC, 163 e 171 bpm, para o primeiro e segundo tempos de jogo respectivamente, foram convertidas para 51,1 e 42,2 ( $\text{mL}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ ), correspondentes a 78% (primeiro tempo) e 71% (segundo tempo) do consumo máximo de oxigênio. ( $65,3 \text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ )

Fonte: (BANGSBO, 1994 a).

Os valores de  $\text{VO}_2\text{máx}$  para jogadores de futebol variam em torno de  $60 \text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$  (BANGSBO; LINDQUIST, 1992; OSTOJIÉ, 2000; SANTOS; SOARES, 2002; STRUDWICK *et al.*, 2002) sendo encontrados valores mínimos e máximos que variam entre  $51 \text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$  (CASAJÚS, 2001) até  $70 \text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$  (TUMILTY, 1993) respectivamente.

Os valores de capacidade aeróbica de jogadores profissionais das primeiras divisões das federações e confederações a que eles pertencem, tendem a ser maiores que os valores de jogadoras femininas (MILES *et al.*, 1992), jogadores de categorias mais jovens e de divisões inferiores, neste último caso, provavelmente atribuído ao sistema de treinamento inadequado (BANGSBO, 1994 a). Já Santos e Soares, (2002) e Brewer e Davis (1992) não encontraram diferença entre os valores de consumo máximo de oxigênio entre divisões diferentes.

#### 2.1.4 Produção anaeróbica de energia

As atividades em intensidade elevada constituem o componente anaeróbico do futebol e, freqüentemente, o desempenho adequado nestas ações determina o resultado do jogo (BALSOM; SEGER; EKBLUM, 1992; REILLY, 1997). Para jogadores profissionais de alto nível do sexo masculino, a duração total de exercícios de alta intensidade realizados durante um jogo de futebol é de

aproximadamente 7 minutos. Isto inclui cerca de 19 *sprints* com uma média de duração de 2.0 s cada (BANGSBO; NORREGAARD; THORSO, 1991). A maioria dos outros exercícios realizados durante o jogo é realizada em baixa ou moderada intensidade e é de demanda predominantemente aeróbica (REILLY, 1997), a demanda anaeróbica se torna nas atividades de curta duração e explosivas inerentes ao futebol, como saltos, quedas, freadas e divididas (SHEPHARD, 1992).

### **2.1.5 Metabolismo anaeróbico alático no futebol**

No futebol, a concentração muscular de CP alterna-se constantemente como resultado da natureza intermitente do jogo. Embora a quantidade total de CP nos músculos seja relativamente pequena, esta substância têm grande importância enquanto fornecedora de energia para os músculos durante exercícios com elevações rápidas na intensidade de esforço (BANGSBO, 1994 a, b).

Constantemente no futebol, determina-se a capacidade de produção anaeróbica alática de energia através de medidas de atividades de curta duração e intensas, como saltos e *sprints*. Têm-se identificado valores de salto com contramovimento (*Counter movement jump*) para jogadores de futebol em torno de 45 cm (OSTOJIÉ, 2000; SANTOS, 1999; TUMILTY, 1993), e valores de velocidade de “sprint” em uma distância de 30 metros em torno de 7 m/s (YOUNG *et al.*, 2001).

Deve-se considerar que durante um jogo de futebol a frequência de saltos é maior entre os zagueiros e atacantes do que entre laterais e meio campistas (DI SALVO; PIGOZZI, 1998).

### **2.1.6 Metabolismo anaeróbico láctico no futebol**

A produção anaeróbica de energia pelos jogadores durante um jogo de futebol é refletida pela concentração de lactato sanguíneo nos mesmos (EKBLUM, 1986). Entretanto, assim como observado anteriormente, o quanto de energia durante um jogo de futebol é fornecido por este sistema necessita de maiores esclarecimentos. Portanto, com o objetivo de determinar a contribuição do sistema anaeróbico de produção de energia, medidas de lactato têm sido feitas durante ou após jogos de futebol (BANGSBO, 1994 a; EKBLUM, 1986; SMITH *et al.*, 1993).

Em uma investigação com jogadores observou-se valores que variaram entre 1,84 mM e 12 mM ao longo de partidas de futebol (EKBLÖM, 1986; SMITH *et al.*, 1993; BANGSBO, 1994 a) sendo que valores menores são encontrados no segundo tempo de jogo (ALI; FARRALY, 1991; BANGSBO, 1994a; MOHR *et al.*, 2004).

As análises de lactato ao longo de uma partida de futebol enfrentam limitações metodológicas e provocam variações nas medidas encontradas. Estas variações são provavelmente causadas pelas diferentes atividades realizadas pelos jogadores antes da colheita sanguínea. Tem sido demonstrado que existe uma relação direta entre a medida da concentração de lactato sanguíneo e a incidência da realização de atividades de alta intensidade antes da amostra de sangue ser colhida (BANGSBO; NORREGAARD; THORSO, 1991).

Em suma, tendo em vista que o futebol é uma atividade de alta intensidade, intermitente e de longa duração, já era esperado que valores de monitoramento de variáveis aeróbias e anaeróbias fossem considerados altos. Ainda assim, quando o padrão de movimento desta atividade é avaliado, em que é observado que os atletas percorrem em média 10 km, o que determinaria uma velocidade média de 7 km/h, ou uma FC média de 85%FC<sub>máx</sub> tais aspectos representam aspectos importantes da demanda fisiológica imposta pela atividade, mas não refletem toda ela. Isso pode ser questionado, quando se observa que o futebol apresenta atividades que demandam muita força e velocidade realizadas por vezes de forma máxima. Estas atividades que também demanda muita energia são as acelerações, frenagens, mudanças de direção, *sprints*, saltos e contrações musculares estáticas, as quais não são detectadas pela análise da distância percorrida em um jogo ou monitoramento da FC (BANGSBO, 1994 a, b; DRUST; REILLY; CABLE, 2002; RIENZI *et al.*, 2000; SHEPHARD, 1992).

Desta forma, outros fatores ou variáveis fisiológicas que expressem a demanda fisiológica imposta aos atletas decorrentes de diferentes sistemas fisiológicos, e com diferentes interpretações podem ser interessantes.

## **2.2 Marcadores biológica demanda fisiológica**

### **2.2.1 Interleucina-6**

#### **2.2.1.1 Resposta de IL6 ao exercício**

A identificação de IL6 depois de exercícios tem sido consistente. No entanto a concentração desta citocina na circulação depende de vários fatores que incluem a intensidade, duração, tipo de exercício (FEBBRAIO; PEDERSEN, 2002; PEDERSEN; FEBBRAIO, 2008), massa envolvida e capacidade de resistência do atleta (GOKHALE; CHANDRASHEKARA; VASANTHAKUMAR, 2007; PETERSEN; PEDERSEN, 2006). Esse aumento acontece em geral ao final do exercício, ou logo após, sendo de maneira exponencial e tem relação maior com a duração do exercício do que com a intensidade (Figura 3) (FISCHER, 2006).

Exercícios extenuantes e de longa duração levam ao aumento da concentração de algumas citocinas. Tipicamente a IL6 é a primeira delas presente na circulação durante o exercício e sua liberação é uma das mais marcantes e ela parece preceder o aparecimento de outras citocinas (Figura 4) (FEBBRAIO; PEDERSEN, 2002; PETERSEN; PEDERSEN, 2006; PEDERSEN; FEBBRAIO, 2008).

Na verdade, citocinas pró-inflamatórias clássicas como a TNF- $\alpha$  e a IL-1 $\beta$ , no geral não aumentam com o exercício, indicando que a cascata de liberação de citocinas induzidas pelo exercício é diferente da cascata induzida por infecções. Outra descoberta em relação ao exercício é o aumento dos níveis de citocinas anti-inflamatórias, citocinas inibidoras como o antagonista de receptor de IL (IL-1ra) e sTNF-R. Primeiramente o exercício causa aumento da IL-6 que é seguido de um aumento da IL-1ra e IL-10 (PETERSEN; PEDERSEN, 2006).

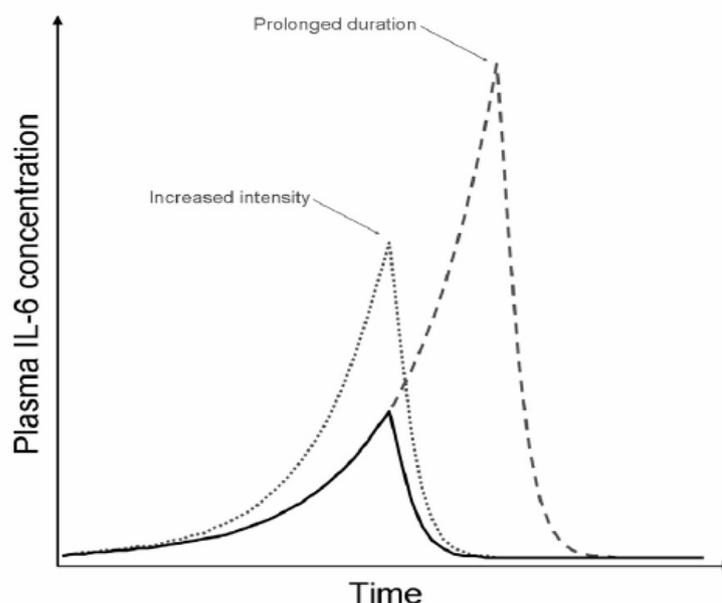


FIGURA 3: apresentação esquemática da resposta de IL-6 plasmática ao exercício que aumenta de forma não linear ao longo do tempo e que ela possui um pico de concentração logo depois do exercício (linha sólida). Quando a intensidade do exercício aumenta, aumenta-se a concentração de IL-6 (linha pontilhada fina), mas esse aumento é mais proeminente quando a duração do exercício é aumentada (linha pontilhada grossa).  
Fonte: (FISCHER, 2006).

A IL-6 produzida durante o exercício é derivada da musculatura esquelética em contração (BANZET *et al.*, 2005; PEDERSEN; FEBBRAIO, 2008) e não é decorrente principalmente das microlesões musculares em comparação a padrões de exercício com predominância de contração excêntrica ou concêntrica (FEBBRAIO; PEDERSEN, 2002; FISCHER, 2006; PETERSEN; PEDERSEN, 2006). Em relação às microlesões e a produção de IL-6, muito presente nas contrações excêntricas, essa ocorre mais tarde, de liberação mais lenta e pelos macrófagos que invadem o tecido em decorrência da inflamação local (FEBBRAIO; PEDERSEN, 2002).

A IL-6 induz a produção de proteína-C-reativa que vão induzir as citocinas antiinflamatórias nos monócitos circulantes e na supressão da síntese de citocinas proinlfamatorias nos macrófagos. Desta forma sugere-se que o papel da IL-6 derivada da musculatura é combater a atuação do TNF- $\alpha$ . Recomendando-se que a IL-6 desempenha primariamente um papel antiinflamatório (FEBBRAIO; PEDERSEN, 2002).

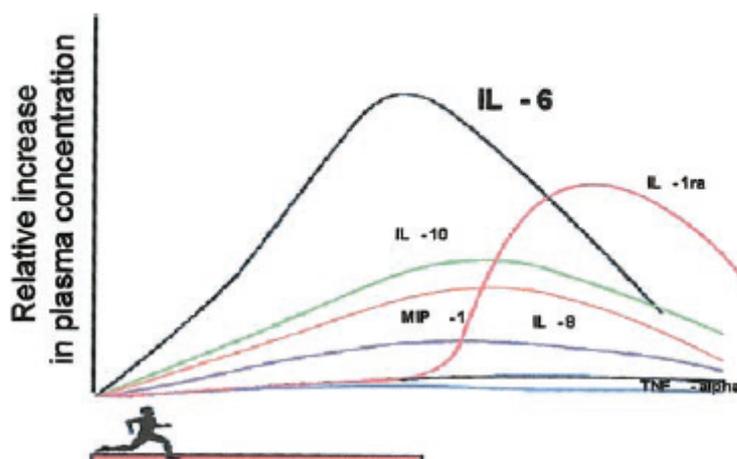


FIGURA 4: resposta plasmática de citocinas em relação a exercícios extenuantes.  
Fonte: (FEBBRAIO; PEDERSEN, 2002)

Pela identificação de IL6 mRNA na musculatura esquelética atuante, assume-se que esse tecido é o responsável pela produção de IL-6 em função do exercício (FEBBRAIO; PEDERSEN, 2002; PEDERSEN; FEBBRAIO, 2008; BANZET *et al.*, 2005).

Também foram identificadas expressões de IL-6 mRNA em células musculares em repouso, em especial nas fibras musculares do tipo I. Tal fato identifica a capacidade deste tecido em produzir IL-6 bem como da especificidade das fibras musculares a essa produção durante o exercício (PLOMGAARD; PENKOWA; PEDERSEN, 2005).

Tem-se identificado maiores concentrações de IL-6 em músculos com predominância de fibra tipo I (BANZET *et al.*, 2005), em sessões com uma intensidades altas mais do que moderadas (EDWARDS *et al.*, 2006) e em exercícios intermitentes (MEYER *et al.*, 2001), e no caso deste último, quando as pausas foram menores (RONSEN *et al.*, 2002).

Avaliando 10 maratonistas em medidas logo após a prova até quatro horas depois, identificou-se que a atividade provocou grande produção de citocinas pró-inflamatórias (TNF- $\alpha$ , IL1-beta e IL-6) e em resposta, produziu-se também uma concentração muito alta de citocinas anti-inflamatórias (IL-10). O estudo sugere que as citocinas inibidoras e anti-inflamatórias restringem a magnitude e duração das respostas inflamatórias ao exercício. A IL-6 pode ser classificada com uma citocina

responsiva a inflamação, mas não pró-inflamatória. Porque sozinha ela não induz a inflamação (OSTROWSKI *et al.*, 1999).

Em pessoas treinadas, as concentrações de IL-6 em repouso são menores, bem como nas respostas ao exercício, elas têm a sensibilidade a IL-6 aumentada e as reservas de glicogênio muscular também são maiores, o que torna a musculatura esquelética menos dependentes da glicose sanguínea (FISCHER *et al.*, 2004).

Ainda sobre as adaptações ao treinamento e concentrações basais e agudas de IL6, pessoas treinadas conseguem por adaptações ao treinamento, aumentar a oxidação de gorduras, o que deixa a musculatura menos dependente do glicogênio muscular. Tendo em vista que a produção de IL6 tem ligação direta com as concentrações de glicogênio muscular, para o mesmo esforço relativo, pessoas treinadas apresentam menores produções de IL6 e IL6mRNA na musculatura (FISCHER *et al.*, 2004; PEDERSEN; FEBBRAIO, 2008). E desta forma, baixos níveis de atividade física são relacionados com altos níveis basais de IL6.

A produção de IL6 decorrente do exercício é marcante ao longo do mesmo e tem seu pico logo após a atividade tendo sido identificado que em maratonistas que o aumento pós atividade de IL-6 e IL6mRNA, retornaram aos níveis normais entre duas e seis horas (OSTROWSKI *et al.*, 1998 a, b). Em jogadores de futebol 24 h após um jogo os níveis de IL6 retornam aos valores basais (ISPIRLIDIS *et al.*, 2008). Já estudos sobre as concentrações de IL6 nos instantes que se seguem, devem detalhar melhor esse comportamento.

Assim, vários mecanismos podem estar ligados a contração muscular e a síntese de IL-6. Alterações na homeostase do cálcio, disponibilidade de glicose, aumento da formação de espécies reativas de oxigênio são capazes de induzir os fatores de transcrição regulando a transcrição gênica de IL-6. A IL-6 sintetizada pode atuar localmente na musculatura contrátil em atividade de uma maneira parácrina ao ser liberada na circulação, assim induzindo efeitos sistêmicos. No fígado, a IL-6 circulante pode aumentar a liberação de glicose e de proteínas-C-reativas. No tecido adiposo, a IL-6 aumenta a lipólise. Pela ativação do eixo hipotalâmico-hipofisário-adrenal (HPA), a IL-6 circulante pode estimular a liberação de cortisol, que pode aumentar a lipólise. Nos linfócitos, macrófagos, e monócitos, a IL-6 circulante pode estimular a produção de IL-1ra e IL-10 (Figura 5) (FISCHER, 2006).

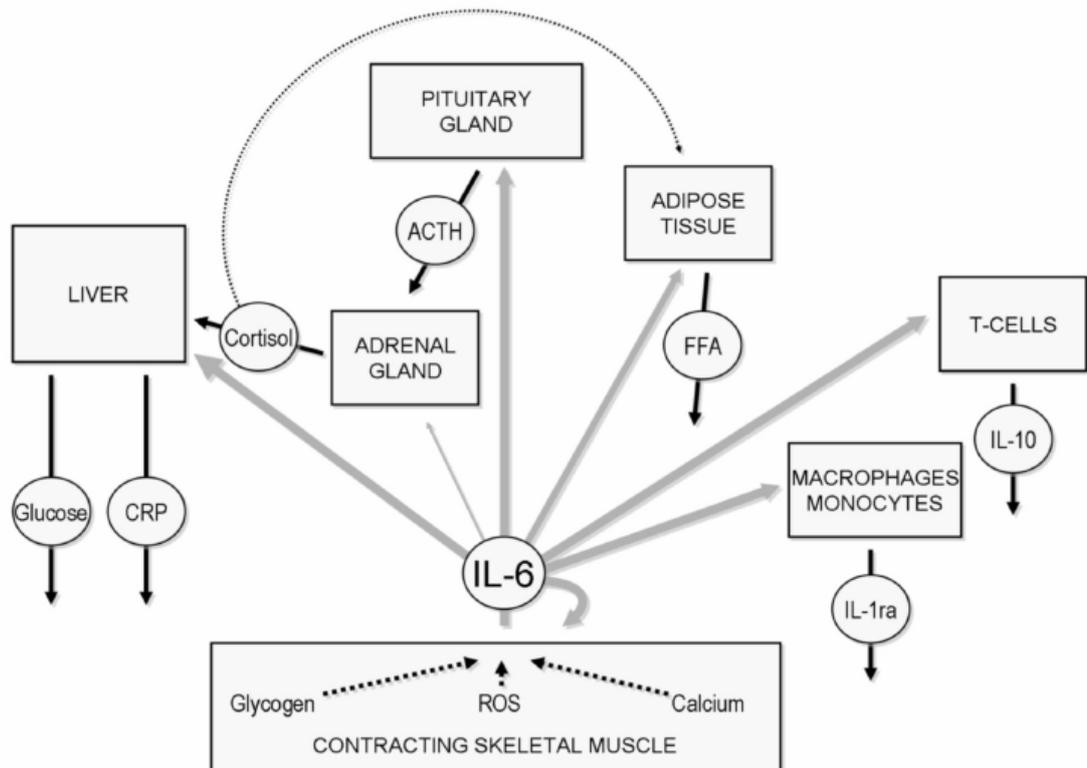


FIGURA 5- Possíveis efeitos desencadeados pela liberação de IL-6 derivada da musculatura esquelética em resposta ao exercício.  
Fonte: (FISCHER, 2006)

### 2.2.1.2 Sinalização intracelular para a produção de IL-6 na musculatura esquelética.

A IL-6 é a citocina de maior expressão durante e logo após o exercício e precede a liberação de outros mediadores da resposta ao exercício. No entanto, qual a via de sinalização para sua produção ainda está sendo discutida tendo em vista que ela exerce uma função imunológica, mas também metabólica. No caso do exercício em especial, parece que a sua função metabólica é predominante.

### 2.2.1.3 Cálcio como sinalizador

Tendo em vista que em exercícios intensos e de curta duração ocorre um aumento na concentração de IL-6 em cerca de 20 a 30 vezes em comparação ao repouso, muito provavelmente a transcrição de IL-6 não estaria relacionada à concentração de Glicogênio neste caso. Sugere-se que existe uma cascata de

sinalização em decorrência da concentração aumentada ou diminuída de  $\text{Ca}^{2+}$  para a transcrição de IL-6 (BANZET *et al.*, 2005; FEBBRAIO; PEDERSEN, 2002).

Nos linfócitos-B a amplitude e duração da concentração de  $\text{Ca}^{2+}$  controla a ativação diferenciada da transcrição pró-inflamatória de reguladores de transcrição como o fator nuclear  $\text{k}\beta$  (NF- $\text{k}\beta$ ), c-Jun amino-terminal kinase (JNK), e o fator nuclear de células T ativadas (NFAT). Assim o NF- $\text{k}\beta$  e o JNK são seletivamente ativados por grandes concentrações de cálcio inorgânico, que é o caso das atividades de alta intensidade e curta duração, enquanto o NFAT é induzido por baixas concentrações de cálcio sustentadas, no caso de atividades de longa duração e baixa intensidade. Assim, sugere-se que durante contrações prolongadas que resultam em um aumento da IL-6 mRNA na musculatura que a transcrição inicial ocorre via relação  $\text{Ca}^{2+}$ /NFAT. Tal fato tem sido sugerido também por que o NFAT em outras células, incluindo o miócito é ativado tendo a calcineurina como pré-cursora (FEBBRAIO; PEDERSEN, 2002).

Banzet *et al.* (2005) corroboram o argumento de que contrações prolongadas que caracterizam sustentação das concentrações de cálcio levam a um aumento da atividade da Calcineurina que por efeito cascata ativariam a transcrição da IL-6.

Banzet *et al.* (2007) com o objetivo de identificar a interferência da Calcineurina e da p38 MAPK na produção de IL-6 durante o exercício, bloquearam a ativação da Calcineurina em ratos que se submeteram ao exercício até a exaustão. Os autores identificaram que quando a Calcineurina é bloqueada, a produção de IL-6 também foi. Determinando o papel crucial da calcineurina na transcrição gênica e liberação da IL-6 plasmática. Ainda foi indicado que a ativação da p38 MAPK aumenta a atividade da calcineurina que é um dos sinalizadores da transcrição gênica da IL6.

#### **2.2.1.4 Glicogênio como sinalizador**

Embora mais pesquisas sejam necessárias para a determinação precisa da cascata de sinalização que levaria a transcrição gênica da IL-6 em decorrência da depleção de glicogênio, sugere-se que o processo pode ser envolvido pela ativação da proteína quinase mitogênica-ativada (p,38-MAP-quinase) (FEBBRAIO; PEDERSEN, 2002).

Foi indicado que a ativação da p38 MAPK aumenta a atividade da calcinerina que é um dos sinalizadores da transcrição gênica da IL-6 (BANZET *et al.*, 2007) principalmente em atividades de baixa intensidade e longa duração (FEBBRAIO; PEDERSEN, 2002). Banzet *et al.* (2005) identificaram que a depleção de glicogênio foi maior nas fibras tipo I e IIa e apontaram uma maior ativação da Calcinerina nestas fibras.

Algumas evidências sugerem que IL-6 pode ter uma importante influência no metabolismo de glicose hepática, sendo que ela parece inibir a glicogênio-sintase e acelerar a atividade da glicogênio-fosforilase. Ainda, parece induzir por meio de uma cascata de sinalização, a translocação do Glut-4 para a membrana celular aumentando a captação de glicose pela musculatura (Figura 6,) (FEBBRAIO; PEDERSEN, 2002). Uma das conseqüências deste processo é a manutenção da glicemia durante o exercício.

Tendo em vista o exposto acima, um dos motivos pelo qual a IL-6 é produzida em condições de baixas concentrações de glicogênio, provocadas artificialmente ou pelo exercício, é que essa citocina funciona como um sensor de suprimento de energia, tendo em vista que uma das funções da IL-6 é aumentar a glicemia através da glicogenólise hepática e aumentar a captação de glicose pelas fibras musculares (BANZET *et al.*, 2005). Baixas concentrações de glicogênio pré-exercício induzem a menores produções de IL-6 durante o exercício (FISCHER, 2006).

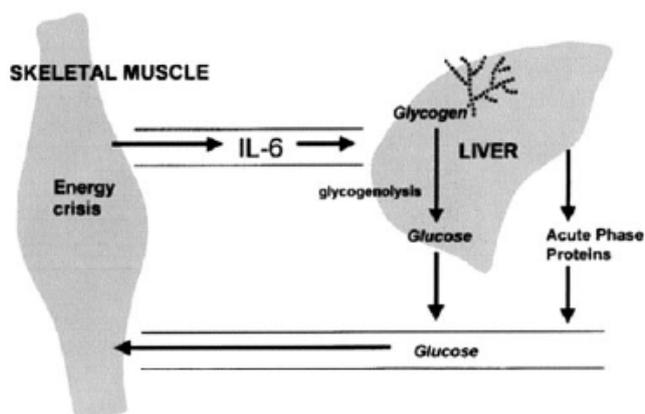


FIGURA 6 - Esquema do possível papel da IL-6 na manutenção da homeostase da glicose durante a contração muscular.

Fonte: (FEBBRAIO; PEDERSEN, 2002)

Com o aumento da concentração de IL-6 aumenta-se a disponibilidade de glicose hepática bem com sua absorção por outros tecidos. Aumenta-se a lipólise

bem como a oxidação de gorduras. Identifica-se maiores concentrações de IL-6 mRNA no tecido adiposo durante o exercício. Essa ação acontece provavelmente pela diminuição da sinalização de insulina nestes tecidos e concomitante aumento da expressão de mRNA da lipase hormônio sensível (HSL) (FISCHER, 2006).

Um aumento nas concentrações de IL-6 leva a concentração de outros hormônios como glucagon, cortisol, hormônio do crescimento (GH), corticotrofina (ACTH) e hormônio liberador de corticotrofina (CRH) (FISCHER, 2006), sendo que estes direta ou indiretamente vão contribuir com o aumento da glicemia.

### **2.2.2 Exercício e ativação do eixo hipotalâmico-hipofisário-adrenal**

A habilidade dos sistemas corporais, como endócrino e neuromuscular, em se recuperar de atividades extenuantes, dos estresses psicológicos dos treinamentos e competições, podem também influenciar no rendimento físico (KRAEMER *et al.*, 2004).

O exercício representa uma forma de estresse para o organismo (BEHR *et al.*, 2009). A relação intensidade-duração de um exercício pode influenciar na resposta do sistema neuroendócrino, assim como outros fatores como tipo de atividade, condições climáticas, idade, gênero, estado nutricional, ritmo circadiano, perfil genético e estado de treinamento (INDER *et al.*, 1998; VOLEK *et al.*, 1997).

Após algum tempo de treinamento o sistema neuroendócrino se adapta respondendo de maneira atenuada a mesma carga imposta (UCHIDA *et al.*, 2004). O destreinamento implica em respostas exacerbadas do sistema endócrino para o mesmo esforço relativo e absoluto (SMORAWINSKI *et al.*, 2001)

Uma sessão de exercícios físicos capaz de gerar respostas significativas do sistema neuroendócrino seria caracterizada por envolver uma grande massa muscular, como atividade aeróbia, tipo corrida, por aproximadamente 30-45 minutos em uma intensidade de moderada a intensa a cerca de 70% do VO<sub>2</sub>máx ou 80%FCmáx (BEHR *et al.*, 2009; DEL CORRAL *et al.*, 1998; INDER *et al.*, 1998). Sessões de treinamento com pesos (FRY; KRAEMER; RAMSEY, 1998; NINDL *et al.*, 2001; VOLEK *et al.*, 1997; WADE *et al.*, 2004), ou atividades agudas máximas (BEHR *et al.*, 2009) podem gerar perturbações significativas do eixo HPA.

As respostas neuro-endócrinas ao estresse do exercício podem ser apresentadas em quatro fases (Figura 7) (HACKNEY, 2006). Sendo a primeira o

início do exercício que consiste em um aumento da ativação do sistema nervoso autônomo simpático (SNAS). O aumento do SNAS é uma antecipação do estresse causado pelo exercício. Isso resulta em aumento da liberação de catecolaminas. Ocorre inibição da produção de insulina e liberação de glucagon.

A segunda fase, se inicia no hipotálamo um processo de liberação de hormônios como CRH, GHRH, e TRH, provocando alterações na hipófise para liberação de Corticotropinas, GH e TRH.

A terceira fase é a mais prolongada. Nesta fase as respostas do eixo simpático adrenal estão aumentadas. Durante esta fase a musculatura cardíaca e esquelética inicia a liberação de citocinas, agentes hormonais na circulação. A regulação hormonal começa a acontecer por pré-alimentação negativo e não por retroalimentação, com o objetivo de regular os fatores metabólicos. A quarta fase se inicia no final do exercício com o objetivo de o organismo retornar a homeostase de repouso. A duração desta depende de quanto severa for a atividade e sugere-se que esta ela possa ser dividida em duas fases, uma inicial e uma posterior. A maior parte da recuperação aconteceria na primeira fase.

A ativação do eixo HPA desempenha funções metabólicas imunológicas, que estas sofrem adaptações em decorrência do treinamento.

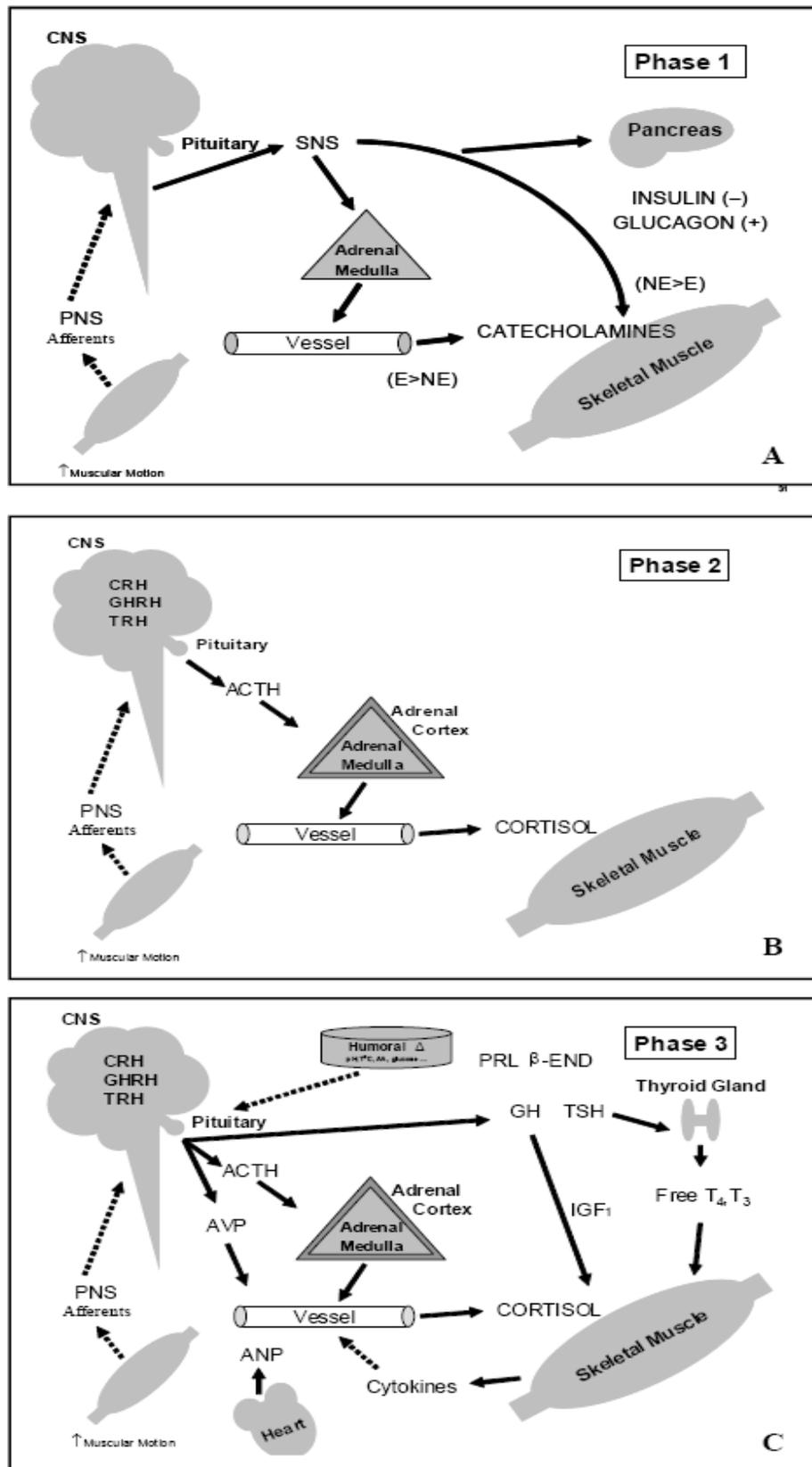


FIGURA 7-. Regulação da secreção hormonal pelo SNC, hipófise e glândulas subordinadas, bem como tecidos musculares ao longo das fases A (fase inicial), B (fase intermediária e C (fase prolongada).  
 Fonte: (HACKNEY, 2006).

### 2.2.2.1 Cortisol e exercício

O cortisol é um hormônio catabólico secretado pelo córtex adrenal em resposta ao estresse físico e psicológico. Exercícios acima de 60% do VO<sub>2</sub>máx são considerados fatores estressantes capazes de causar aumento da concentração de cortisol (BEHR *et al.*, 2009; DEL CORRAL *et al.*, 1998; INDER *et al.*, 1998), bem como exercícios com pesos (NINDL *et al.*, 2001) e atividades em intensidade máxima e curta duração (BEHR *et al.*, 2009). As concentrações de cortisol aumentam durante exercícios de intensidade alta e moderada e longa duração (DEL CORRAL *et al.*, 1998; INDER *et al.*, 1998), e seus efeitos ocorrem também após o exercício durante a recuperação (NINDL *et al.*, 2001).

Em repouso o cortisol desempenha funções metabólicas como: aumento modesto da produção de glicose hepática, proteólise que permite maior oxidação de aminoácidos e sua utilização para a gliconeogênese, lipólise que contribui para o aumento da oxidação de ácidos graxos livres, a utilização de glicerol na gliconeogênese e aumento da síntese de enzimas glicolíticas pelo fígado (DEL CORRAL *et al.*, 1998).

A liberação de cortisol durante ou após o exercício ocorre com o objetivo de manutenção da glicose circulante, o que ocorre em parte por sua ação catabólica no tecido muscular e através da lipólise para aumentar a quantidade de aminoácido e mobilização de lipídios. Contribuindo com este processo, o cortisol ainda estimula a produção de enzimas pelo fígado que são envolvidas com a glicogenólise e a gliconeogênese permitindo a conversão de aminoácidos e glicerol em glicose e glicogênio (DEL CORRAL *et al.*, 1998; NINDL *et al.*, 2001). Ele diminui a captação de glicose pela musculatura atuante para que o fornecimento cerebral não seja prejudicado e também desempenha um papel imunossupressor (GUYTON; HALL, 1997).

Com objetivo de se investigar as alterações hormonais decorrentes do exercício, Inder *et al.* (1998) avaliaram as respostas hormonais ao longo de um exercício de longa duração (1hr) seguido de uma fase de aumentos progressivos da intensidade até a fadiga. Foram identificados aumentos de cortisol e ACTH após uma hora de atividade e uma magnitude maior deste aumento após a fase de aumento progressivo da carga.

Um comportamento de aumento das concentrações de cortisol ao longo de um exercício de intensidade moderada e longa duração também foi encontrado por Del Corral *et al.* (1998) que avaliaram jovens saudáveis durante um exercício com intensidade moderada de 2h de duração e identificou-se que houve um aumento das concentrações de cortisol ao longo do mesmo. Confirmando a função metabólica do cortisol durante o exercício os autores também monitoram as concentrações de glicose ao longo da atividade, que se mantiveram normais, bem como identificaram que houve aumento das concentrações de glicerol, aminoácido de cadeia ramificada (BCAA), catecolaminas e glucagon. Concomitantemente, foi identificada uma diminuição ao longo da atividade das concentrações de insulina.

Avaliando a interferência do destreinamento sobre respostas fisiológicas em atletas de diferentes modalidades Smorawinski *et al.* (2001) realizaram testes máximos após três dias de repouso absoluto. Além de queda de rendimento e respostas fisiológicas aumentadas para o mesmo esforço relativo após este período de destreinamento, foi identificado também que houve alteração das concentrações de cortisol pós exercício máximo progressivo em corredores, mas não houve alteração na concentração de testosterona.

Após testes supramáximos foi encontrado um aumento significativo de cortisol circulante e esses valores foram maiores 30 min após a atividade (BEHR *et al.*, 2009). Tal fato identifica que mesmo após exercícios extenuantes, respostas hormonais ocorrem com objetivo de suprimento de energia ou recuperação de tecidos que possam ter sido microlesionados (NINDL *et al.*, 2001).

### **2.2.2.2 Testosterona e exercício**

A concentração plasmática de testosterona funciona comumente como um marcador fisiológico do estado anabólico (UCHIDA *et al.*, 2004). Além dos seus efeitos diretos sobre a síntese do tecido muscular, através da ativação de células satélites, a testosterona pode afetar indiretamente o conteúdo protéico das fibras musculares por promover a liberação de hormônio do crescimento de (GH), que acarreta a síntese e a liberação do fator de crescimento semelhante à insulina (IGF) pelo fígado (HACKNEY, 2006). Com o treinamento as respostas agudas da produção de testosterona ao mesmo estímulo relativo tendem a ser atenuadas bem

como respostas a estímulos absolutos apresentam tendência de aumento (UCHIDA *et al.*, 2004).

Linnamo *et al.* (2005) tiveram como objetivo avaliar as respostas hormonais decorrentes de treinamentos resistidos com diferentes intensidades em homens e mulheres. Os autores identificaram que um programa de treinamento com peso que inclui grandes grupos musculares, um volume significativo representado pelo número de séries e repetições, bem como uma alta intensidade, em relação a programas menos intensos ou com padrão de contração explosivo, provocou maiores concentrações de GH e testosterona nos participantes em relação aos valores basais, em especial nos homens. Duas horas depois da sessão de treinamento esses valores não foram diferentes dos níveis basais. Esse grupo também apresentou maiores concentrações de lactato sanguíneo.

Os autores citados concluíram que sessões de treinamento intensas são capazes de provocar a produção de GH e testosterona, que são hormônios anabólicos que influenciam no ganho de força máxima e hipertrofia.

Em outra investigação Derbré *et al.* (2010) identificaram respostas hormonais em jovens (14-15) anos de idade após 6 meses de treinamento de sprint. Foram determinadas as concentrações de testosterona e lactato antes, após, 5 e 20 min após um sprint antes e após seis meses do grupo treinamento e do grupo controle. Identificou-se que após o treinamento, maiores concentrações de testosterona foram encontradas após *sprints* bem como maiores concentrações de lactato. Maiores respostas hormonais à atividade acompanham maiores intensidades absolutas como consequência do treinamento. Atividades de alta intensidade implicam na produção e elevação da testosterona plasmática em adolescentes muito provavelmente pelo aumento da concentração de adrenalina e lactato influenciando na atividade gonadal. A influência do lactato na liberação de testosterona via maior produção do hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH) e LH estimulando a adenosina cíclica 3:5 fosfato (cAMP) foi observado em exercícios de natação com ratos (Lu *et al.*, 1997).

Já Nindl *et al.* (2001) avaliaram as respostas hormonais ao longo de uma noite após uma sessão de treinamentos com peso de jovens saudáveis. Os autores identificaram que houve um aumento da concentração de cortisol e diminuição da concentração de testosterona associada a uma menor liberação de LH sanguínea ao longo da noite. Os autores justificam os baixos valores de testosterona pós exercício

devido à necessidade do suprimento de energia por um estado catabólico com a maior produção de cortisol, para um correto fornecimento de energia durante a recuperação e regeneração de tecidos que possam ter sido microlesionados. Também é especulado que o horário do treinamento, relacionado ao ciclo circadiano, e o alto volume de treinamento com pesos utilizado no estudo, tenha interferido nos resultados do estudo.

Assim como outros hormônios, a testosterona é utilizada para o monitoramento do estado de treinamento e da demanda fisiológica de determinadas atividades agudas e crônicas e a sua diminuição após eventos esportivos identifica um estado menos anabólico que deve ser avaliado em relação a outros hormônios, como no caso do cortisol que é catabólico (FILAIRE *et al.*, 2001; KRAEMER *et al.*, 2004; WADE *et al.*, 2005).

### **2.2.2.3 Relação testosterona/cortisol no exercício**

Têm sido identificadas respostas agudas e crônicas das concentrações de cortisol e testosterona em decorrência da prática de exercícios físicos (KRAEMER *et al.*, 2004; SIMÕES *et al.*, 2004, CORMACK; NEWTON; McGUIGAN, 2008; UCHIDA *et al.*, 2004; WADE *et al.*, 2005).

O objetivo do programa de treinamento é prover um estímulo para adaptações gerais e específicas para o esporte que resultarão no aumento do desempenho esportivo. Para prevenir o supertreinamento e assegurar que os treinamentos aumentarão o rendimento, ou pelo menos farão a manutenção deste, é necessário que sejam incluídos testes de monitoramento ao longo deste programa de treinamento (FILAIRE *et al.*, 2001).

A determinação da concentração de cortisol agudo, pós exercício, fornece informações sobre o estresse fisiológico que o mesmo representou (BEHR *et al.*, 2009; HACKNEY, 2006; UCHIDA *et al.*, 2004). E sua mensuração em repouso pode indicar que o indivíduo ainda não está recuperado de estímulos anteriores (CORMACK; NEWTON; McGUIGAN, 2008; WADE *et al.*, 2005).

A síndrome do excesso de treinamento, ou supertreinamento, que é caracterizado por altas cargas de treinamento e períodos de recuperação insuficientes, pode se caracterizar por diminuições das concentrações de

testosterona e aumento das concentrações de cortisol em repouso (WADE *et al.*, 2005).

Cargas de treinamento bem aplicadas em tempos ótimos de trabalho que respeitam os períodos de recuperação resultam na não alteração ou diminuição das concentrações de cortisol, sendo que situações de supertreinamento apresentam altas concentrações deste hormônio (FRY; KRAEMER; RAMSEY, 1998).

A determinação da relação entre as concentrações de testosterona e cortisol (relação T/C) pós exercício e em repouso, indica o estado de catabolismo determinado pelo exercício ou no qual o indivíduo se encontra em repouso (UCHIDA *et al.*, 2004; SIMÕES *et al.*, 2004; CORMACK; NEWTON; McGUIGAN, 2008).

A identificação do estado hormonal em resposta aos treinamentos em que o atleta se encontra de forma aguda e ao longo destes é um fator a ser considerado para o planejamento das cargas de treinamento e o tempo de recuperação entre elas. Diminuições maiores que 30% na relação T/C em comparação com a situação de repouso, na condição aguda indicam um perfil catábólico que se persistir no repouso pode definir um estado de síndrome de excesso de treinamento (FILAIRE *et al.*, 2001; SIMÕES *et al.*, 2004).

Acompanhando as respostas neuro-endócrinas de mulheres ao longo de um programa de treinamento de força Uchida *et al.* (2004) identificaram uma maior relação T/C em repouso por menores concentrações de cortisol e maiores concentrações de cortisol em resposta a sessões agudas de treinamento em decorrência de maiores exigências das cargas de treinamento. Sugeriram-se adaptações endócrinas ao treinamento de força em prol do anabolismo crônico.

Também com o objetivo de se avaliar as adaptações do sistema neuroendócrino de forma aguda e crônica em decorrência do treinamento específico de corredores fundistas e velocistas Simões *et al.* (2004) avaliaram os atletas ao final de uma temporada preparatória e início de um novo mesociclo de oito semanas, e logo após esse mesociclo. As concentrações de cortisol, testosterona e a relação T/C foram determinadas em repouso, após um teste máximo e um teste progressivo.

Os autores citados acima identificaram que os fundistas apresentaram uma diminuição da relação T/C que foi correlacionada com o alto volume de treinamento. Os corredores velocistas apresentaram maiores concentrações de testosterona em todas as situações, o que identificou um perfil mais anabólico do seu programa de treinamento. Não foram encontradas diferenças entre os valores de relação T/C

entre as situações pré, pós treinamento, nem em repouso nem nos testes, há não ser em relação à situação repouso tanto pré treinamento quanto pós treinamento e as respostas ao teste progressivo intermitente. Os autores concluíram que atividades intermitentes são mais eficazes para produção de cortisol e que a avaliação da relação T/C deve ser individualizada.

Para avaliação da cinética da produção hormonal decorrente de um jogo de rúgbi que tem um perfil de deslocamento parecido com o futebol, Cormack *et al.* (2008), avaliaram 22 jogadores nas situações; pré, imediatamente após, 24, 48, 72, 92 e 120 horas depois de um jogo competitivo. Das alterações hormonais, o aumento do cortisol e diminuição da relação T/C foram marcantes tanto pós jogo, 34% maior e 36% menor respectivamente, quanto 24 hr depois, 41% maior e 43,7% menor respectivamente. Tal aspecto representa o perfil catabólico pós jogo e o equilíbrio entre o anabolismo e catabolismo somente se restabeleceu cerca de 72 horas após a competição.

Para o monitoramento de uma equipe de jogadores de futebol ao longo de uma temporada, Filaire *et al.* (2001) avaliaram 17 jogadores em quatro situações que foram, antes da pré-temporada de treinamento que durou 7 semanas, ao final desta e início da temporada, mais uma medida ao longo e uma ao final da temporada que durou 16 semanas tendo sido quatro momentos. As concentrações de cortisol e testosterona foram determinadas pela saliva e também foi avaliado o perfil de humor dos atletas através do questionário de perfil de humor (POM'S). Estes jogadores treinavam cerca de 20hrs por semana a uma intensidade média de 70-75% do VO<sub>2</sub>máx.

No estudo supracitado houve aumento nas concentrações de cortisol ao longo da temporada em comparação com a pré-temporada bem com o houve diminuição da relação T/C maiores que 30%, o que poderia indicar supertreinamento. Os autores relatam que mesmo os resultados do POMS sendo positivos e número de vitória na temporada tendo sido positivo, a queda na relação T/C ocorreu. O POMS foi interessante para identificar a queda do humor dos jogadores em uma fase de muitas derrotas na temporada que foi o final da temporada, mas não houve correlação entre o POMS e os valores hormonais.

Kraemer *et al.* (2004) avaliaram 25 jogadores de futebol sub 20 não profissionais durante 11 semanas em que ocorreram 19 jogos. Ao longo desta temporada de competição os jogadores foram avaliados em seis momentos

diferentes. Sendo a primeira após a pré-temporada e uma semana antes do primeiro jogo, em intervalos regulares das seis medidas e após o término da competição. Os autores encontraram variações tanto de testosterona quanto de cortisol ao longo da temporada de 11 semanas e aumento dessa relação ao final da temporada.

Tendo em vista o que foi apresentado, a produção de cortisol, testosterona e a relação T/C são aspectos que devem ser considerados como indicadores da ativação do eixo HPA em decorrência da demanda fisiológica da atividade e da situação catabólica ou anabólica em que o atleta se encontra de forma aguda ou ao longo dos treinamentos.

### **2.2.3 Dano muscular (microlesões) e exercício**

O dano muscular, entendido aqui como microlesões decorrentes da demanda imposta pela ação muscular, pode ocorrer em diferentes magnitudes dependendo do tipo de contração, com ênfase nas ações musculares excêntricas, tipo de exercício, principalmente o treinamento de força (CLARKSON, 2002; TRICOLI, 2001; ZOPPI, 2003), corrida em plano declinado (CLARKSON, 2002), velocidade de movimento (CHAPMAN *et al.*, 2006; FARTHING, 2003), tempo de intervalo entre séries de exercícios (MAYHEW *et al.*, 2005), treinabilidade do indivíduo, acometendo principalmente iniciantes (LIEBER, 2002).

Segundo Clarkson e Hubal (2002), danos à fibra muscular após exercício são normalmente atribuídos à desorganização na estrutura das fibras musculares, mais especificamente à ruptura, alargamento ou prolongamento da linha Z. McHugh (2003) caracteriza a linha Z como sendo o ponto de contato das proteínas contráteis, fornecendo suporte estrutural para a transmissão de força quando as fibras musculares são encurtadas. O dano muscular também parece ocorrer em outros componentes celulares, como o sarcolema, os túbulos transversos e as próprias miofibrilas após o treinamento de força (CLARKSON, 2002).

A ação excêntrica causa maior magnitude de dano muscular (TRICOLI, 2001). Um dos motivos é que, em ações excêntricas, ocorre a ativação de um menor número de unidades motoras, o que induz a um estresse mecânico elevado nas fibras musculares, pois haverá maior tensão por área de secção transversa ativa. Além disso, o tecido conectivo é alongado, gerando uma maior tensão passiva sobre

o citoesqueleto. O aumento da tensão às fibras ativas somado ao aumento da tensão passiva do tecido conectivo é responsável por maior ocorrência de dano muscular em ações excêntricas do que concêntricas e isométricas (FOSCHINI *et al.*, 2007).

O dano muscular parece diminuir com o treinamento sistemático, processo denominado “efeito protetor da carga repetida” (LIEBER, 2002).

### 2.2.3.1 Creatina quinase (CK) e sua função

A CK é uma proteína dimérica globular composta por duas sub-unidades com uma massa molecular de 43kDa. Ela interfere nas concentrações de ATP e ADP por catalisar a reação reversível de mudança de um fosfato de alta energia entre a fosfocreatina e o ADP durante as contrações musculares (BRANCACCIO; MAFFULLI; LIMONGELLI, 2007).

Pelo menos cinco isoformas de CK são encontradas: três isoformas no citoplasma, que são a CK muscular (CK-MM), CK cardíaca (CK-MB) e a CK cerebral (CK-BB), e duas isoenzimas (não sarcoméricas e sarcoméricas) na mitocôndria. As duas últimas são proteínas octoméricas conhecidas como macro-CK tendo em vista seus altos pesos moleculares devidos a polimerização das isoenzimas CK-MM e CK-BB com a IgG no tipo I e de IgC com a CK-mitocondrial no tipo II (BRANCACCIO; MAFFULLI; LIMONGELLI, 2007).

As isoenzimas CK fornecem uma informação específica de dano dos seus respectivos tecidos de localização. Sendo a CK-MB aumentada no caso de infarto do miocárdio, a CK-BB aumentada no caso de lesões cerebrais, a CK-mitocondrial no caso de miopatias e a CK-MM o caso de danos musculares. A CK-MM é especificamente ligada a Linha-M da estrutura miofibrilar localizada no sarcômero (BRANCACCIO; MAFFULLI; LIMONGELLI, 2007).

Em sujeitos saudáveis a concentração de CK é derivada principalmente da musculatura esquelética e quase que somente composta por CK-MM. As diferenças nessas concentrações têm relação com:

- Gênero: as mulheres apresentam menores concentrações de CK em comparação aos homens. Após o exercício essas diferenças permanecem e são muito provavelmente derivadas da proteção que o estrogênio pode dar a estabilidade da membrana limitando os danos musculares.

- Raça: sujeitos negros apresentam maiores concentrações que caucasianos, muito provavelmente pela maior massa muscular apresentada.
- Atividade física: atletas apresentam maiores concentrações de CK em repouso em comparação com sedentários em decorrência da atividade.
- Massa muscular: indivíduos com maiores massas musculares apresentam maiores concentrações de CK.
- Adaptações ao treinamento: atletas apresentam maiores concentrações em repouso, mas as respostas ao mesmo estímulo relativo geram menores respostas nos indivíduos treinados.
- Temperatura: atividades realizadas em ambientes frios geram maiores repostas quanto à concentração de CK (BRANCACCIO; MAFFULLI; LIMONGELLI, 2007).

### **2.2.3.2 Creatina quinase (CK) como marcador de dano muscular**

Atividade física gera uma demanda fisiológica e mecânica ao sistema musculoesquelético. Em decorrência da atividade, e quanto mais intensa e duradoura, geram-se microlesões musculares. Com o dano muscular decorrente do exercício a membrana celular se rompe e algumas proteínas extravasam para o sangue. Algumas dessas enzimas e proteínas são comumente analisadas após o exercício como forma de avaliação do dano muscular e algumas delas são a CK, LDH, aspartato transaminase e a mioglobina. De todas essas, a CK plasmática parece ser um dos melhores indicadores da severidade do exercício e seus efeitos sobre os tecidos (LAZARIMA *et al.*, 2007).

Exercícios extenuantes que provocam danos a estrutura da célula muscular no nível do sarcolema e nos discos-Z resultam em um aumento da concentração total de CK plasmática. Quando a intensidade do exercício é baixa ou moderada, não ocorre alteração da permeabilidade da membrana, mas quando a atividade é intensa a permeabilidade da membrana é alterada e as enzimas são liberadas (BRANCACCIO; MAFFULLI; LIMONGELLI, 2007).

Existe uma faixa de liberação de [CK] pós exercício entre 300-500 U/L e a sua liberação é modulara individualmente apresentando pico em 24h. Os sujeitos podem ser classificados como altamente responsivos e ou baixo responsivos (BRANCACCIO; MAFFULLI; LIMONGELLI, 2007), mas Lazarima *et al.* (2007) que

monitoraram 128 jogadores ao longo de uma temporada de futebol encontraram valores de repouso médios de  $493 \pm 315$  U/L entre os jogadores. Neste mesmo estudo, os jogadores que antes de treinamentos apresentavam valores de [CK] de cerca de 950 U/L eram aconselhados a não fazerem parte dos treinamentos daquele dia.

Tem-se tentado determinar valores de referência de [CK] para o monitoramento de modalidades esportivas em geral, como no caso do futebol (MOUGIOS *et al.*, 2007) tendo-se determinado concentrações pico de [CK] de  $785,8 \pm 95,5$  U/L entre 12-24 h pós jogo e crônicas em períodos de treinamento de cerca de 350 U/L (COELHO *et al.*, 2011).

As concentrações plasmáticas de CK têm relação com o estado muscular, sendo que altas concentrações em sujeitos saudáveis estão correlacionados com o estado de treinamento. Entretanto, se os níveis de [CK] persistirem em repouso, pode ser um sinal de doenças musculares ou do estado de fadiga muscular do atleta. Uma das adaptações ao treinamento é que indivíduos treinados têm respostas atenuadas ao mesmo estímulo em comparação com sujeitos destreinados submetidos ao mesmo estímulo relativo. Atividades muito intensas como treinamentos de futebol duas vezes por dia geram respostas aumentadas de CK até quatro dias após os estímulos (BRANCACCIO; MAFFULLI; LIMONGELLI, 2007).

Ostrowski *et al.* (1998a) avaliaram jovens saudáveis submetidos a 2,5h de corrida a 75 %VO<sub>2</sub>máx e identificaram que as concentrações de CK aumentaram gradativamente até 2 h após a atividade e tiveram seu pico no segundo dia após a atividade. Em outro estudo Ostrowski *et al.* (1998b) identificaram que em maratonistas houve aumento de CK de 225 U/L antes da prova, para 2360 U/L e 1193 U/L para o primeiro e Segundo dias respectivamente.

#### **2.2.4 Alfa-actina como marcador específico de dano muscular (microtrauma)**

Idealmente, um marcador bioquímico de dano muscular esquelético deveria ser determinado com uma metodologia simples, que permitisse sua medida às 24hs do dia e que fosse de tão rápida realização como a ressonância magnética ou uma ecografia. O marcador ideal deveria ser músculo-específico, sua concentração intracelular alta, ser liberado com rapidez em caso de lesão, manter sua concentração elevada durante um tempo suficiente no sangue e ser estável. No soro

de pessoas saudáveis, este marcador deveria ser indetectável ou encontrar-se em uma concentração muito baixa que se diferenciava claramente de sua presença ao produzir-se dano no tecido. Deveria ter uma elevada sensibilidade diagnóstica, especialmente nas primeiras horas da lesão e, finalmente, possuir uma especificidade diagnóstica tão próxima aos 100% (os não lesionados ou traumatizados deveriam poder ser reconhecidos confiavelmente) (MARTÍNEZ - AMAT, 2005).

Os métodos utilizados para análise dos danos causados ao músculo induzidos pelo exercício físico podem ser efetuados através de medidas diretas e indiretas. Os métodos diretos são realizados através das análises de amostras do músculo ou de imagens por técnica de ressonância magnética.

Os métodos indiretos adotados para análise do dano muscular são os mais utilizados nos estudos em função da facilidade de coleta e, sobretudo, pelo baixo custo quando comparado aos métodos diretos. A CK, LDH, Cabeça pesada de miosina (MHC), troponina-I e mioglobina são encontradas como marcadores de dano muscular, isso porque essas moléculas são citoplasmáticas e não têm a capacidade de atravessar a barreira da membrana sarcoplasmática. Por esse fato, o aumento da concentração sérica dessas moléculas é utilizado como indicativo de dano na membrana muscular e outras estruturas teciduais. Tem sido relatado que esses marcadores não parecem ser os mais adequados quanto a sua sensibilidade, reprodutibilidade e especificidade (MARTÍNEZ-AMAT *et al.*, 2005; MARTÍNEZ-AMAT *et al.*, 2007).

Martínez-Amat *et al.* (2005) ao avaliar indivíduos sedentários, esportistas e lesionados identificaram que os valores de concentração de alfa-actina nos esportistas lesionados foi maior em comparação com os outros grupos, o que já não foi observado em relação a CK, que teve uma concentração plasmática menor no grupo de não atletas lesionados em comparação com os não atletas saudáveis. Tal fato identificou que a CK pode sofrer a interferência de outros fatores que não decorrentes da lesão muscular ou sobrecarga de treinamento, por sua presença no sangue sofrer interferência de outros fatores e, além disso, a mensuração total da CK circulante pode estar captando outras isoformas de CK decorrentes de outros tecidos, como a do miocárdio (CK-MB), do cérebro (CK-BB) e do próprio músculo esquelético (CK-MM). No grupo de esportistas não lesionados, tanto os valores de CK quanto os de alfa-actinina foram maiores em comparação com o grupo de

sedentários saudáveis, o que representa que a alfa-actina, bem como a CK representaram a sobrecarga de treinamento.

Também com objetivo de se determinar um marcador de dano muscular, Martínez-Amat *et al.* (2007) compararam a mensuração de CK, troponin -T e I com a alfa-actinina sanguínea em pessoas lesionadas e não lesionadas. Tendo em vista que a alfa-actinina pode ser um marcador de dano muscular cardíaco, foram mensuradas também as troponinas que são específicas do dano muscular, e garantiriam que não seria este o caso dos voluntários. Identificando maiores concentrações de alfa-actina plasmática em comparação a CK os autores consideraram a alfa-actina como um bom marcador de dano muscular em comparação com a CK em pessoas lesionadas. No entanto os autores relatam que a cinética de liberação da alfa-actina seria de uma hora após a lesão, o que não é bem determinado em caso de microlesões provocadas pela atividade física com predominância de força e potência.

### **2.3 Alfa-actinina 3**

A organização estrutural e a manutenção do aparelho muscular contrátil dependem de complexos protéicos que ligam os sarcômeros entre si. Nesse contexto, a alfa-actinina constitui a proteína predominante para essa função (WANG *et al.*, 2005). Esta proteína é um componente da linha Z sarcomérica (MACARTHUR; NORTH, 2004), pertencente à família das proteínas ligantes da actina, importante para a manutenção espacial dos miofilamentos de actina, transferência de tração entre o filamento de actina e a linha Z e também manutenção e reparação miofibrilar (Figura 8) (CLARKSON *et al.*, 2005 a; DIAS *et al.*, 2007; VINCENT *et al.*, 2007).

As alfa actininas (alfa-actinina 1, 2, 3 e 4) são proteínas anciãs da família das proteínas de ligação da actina à linha Z no sarcômero. A alfa actinina-3 é a mais especializada das quatro existentes nos mamíferos. A sua especialização no ser humano tem relação com a evolução humana, em comparação com outras espécies como as aves, e muito provavelmente com fatores de seleção natural (MACARTHUR; NORTH, 2004).

Esta proteína forma parte do aparelho contrátil (sarcomérico) nas fibras glicolíticas rápidas do músculo esquelético humano - as fibras responsáveis pela geração de contrações rápidas. As funções precisas da alfa-actinina-3 ainda são

desconhecidas, mas provavelmente incluem um papel estrutural na manutenção da integridade mecânica do músculo e possivelmente outras funções relacionadas com a sinalização e metabolismo do músculo (DIAS *et al.*, 2007; MACARTHUR; NORTH, 2004).

Várias hipóteses plausíveis foram planejadas tendo como base as funções conhecidas das alfa-actininas sarcoméricas: por exemplo, alterações para as propriedades contráteis do sarcômero nas fibras do tipo rápido do músculo, efeitos sobre a diferenciação do tipo de fibra do músculo ou hipertrofia através de interações indiretas entre alfa-actinina-3 e proteínas de sinalização como o calcineurina, modificação da habilidade para resistir e/ou recuperar-se do dano muscular induzido pelo exercício, ou mudanças para o perfil metabólico das fibras do músculo através de interações alteradas com enzimas metabólicas como a frutose-1,6-bisfosfatase e fosforilase (MACARTHUR; NORTH, 2007). Nenhum destes cenários é mutuamente exclusivo, e é provável que o mecanismo real seja uma combinação de vários destes processos (MACARTHUR; NORTH, 2004).

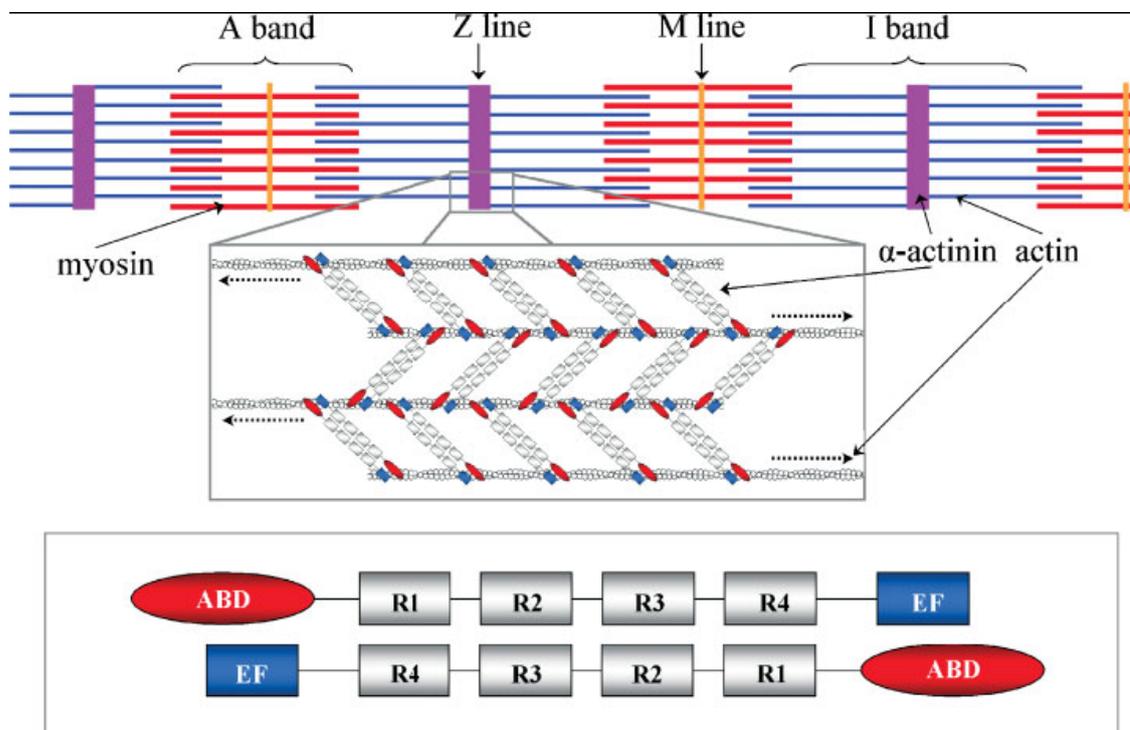


FIGURA 8-. Localização e estrutura de domínio das alfa-actinas sarcoméricas. Elas são encontradas na linha Z, onde elas ancoram os filamentos de actina advindos do sarcômero adjacente. Filamentos de alfa-actina dimérica e em sentido contrário (anti-paralelas) ligam o filamento de actina e estabilizam as mesmas em relação as forças contrárias geradas pelo aparelho contrátil (ver linhas de direção da força). A parte inferior da figura ilustra a estrutura de domínio das alfa-actinas e o seu alinhamento inversodas estruturas diméricas. (ABD), Domínio de ligação de actina; (R1-4), espectrina repetida 1-4; (EF), EF região de ligação.

Fonte: MacArthur; North, 2004.

### 2.3.1 ACTN3-R/X o gene da força e velocidade

#### 2.3.1.1 Perfil Genético e rendimento esportivo

As diferenças na aptidão física e no rendimento esportivo baseadas em polimorfismos genéticos começaram a ser investigadas nos anos de 1990 (RANKINEN *et al.*, 2000).

Uma alteração na sequência de bases do DNA, ou deleção de algumas destas, em um gene que codifica uma determinada proteína pode influenciar tanto sua expressão quanto sua atividade.

Sugere-se que exista uma seleção genética natural para os esportes (AHMETOV *et al.*, 2008) de acordo com sua predominância metabólica (aeróbia, anaeróbia ou mista). Em análises de populações de atletas observou-se que quanto maior o nível competitivo maior a identificação de genes relacionados às características da modalidade (força ou resistência) (AHMETOV *et al.*, 2008; AHMETOV *et al.*, 2009; COLLINS *et al.*, 2004; GÓMEZ-GALLEGO *et al.*, 2009; NIEMI; MAJAMAA, 2005; YANG *et al.*, 2003). Ainda assim outras análises não encontraram relação entre aptidão física e a expressão de genes como o ACTN3-R/X e do ECA-I/D, relacionados a essas capacidades (LUCIA *et al.*, 2006; MACARTHUR; NORTH, 2005; McCAULLEY *et al.*, 2010; YANG *et al.*, 2007; SAUNDERS *et al.*, 2007).

Os fatores genéticos determinam entre 20 e 80% da variação relacionada ao rendimento esportivo, em parâmetros como consumo máximo de oxigênio e débito cardíaco (MACARTHUR; NORTH, 2007). Estes podem ainda interferir no rendimento esportivo quando determinam a adaptabilidade ao treinamento (CLARKSON *et al.*, 2005 a, b; DELMONICO *et al.*, 2007; NORMAN *et al.*, 2009) ou a proporção de distribuição de tipos de unidades motoras (MACARTHUR *et al.*, 2008; MACARTHUR; NORTH, 2007; NORMAN *et al.*, 2009; VINCENT *et al.*, 2007).

A avaliação do perfil genético do indivíduo pode ser importante para que ele seja direcionado, caso seja de interesse dele, para modalidades em que ele apresenta maior aptidão e que isso seja uma forma de descoberta ou simplesmente direcionamento. Em caso de atletas que tenham o seu perfil genético determinado a adaptação do seu programa de treinamento ou períodos de recuperação ao longo da

competição, pode ser feita se estes parâmetros forem considerados (MACARTHUR; NORTH, 2007).

É importante ressaltar que múltiplos fatores biológicos e ambientais influenciam também o rendimento esportivo e que a análise de um único gene de forma isolada, não necessariamente determina o fenótipo de um atleta (MACARTHUR; NORTH, 2005; 2007). Ainda assim, considerando todos os fatores ambientais na formação do atleta, entre os esportistas de mais alto nível competitivo, pode ser que a expressão genética seja o fator de diferenciação entre eles.

### 2.3.1.2 ACTN3-R/X e o rendimento esportivo

Quatro genes da alfa-actinina foram descritos em humanos (ACTN1, 2, 3 e 4), sendo as isoformas 2 e 3 constituintes do citoesqueleto muscular (BLANCHARD; OHANIAN; CRITCHLEY, 1989; DIAS *et al.*, 2007). Sabe-se que a isoforma ACTN3 é específica das fibras de contração rápida (tipo II) responsáveis pela geração de força contrátil a alta velocidade (MACARTHUR *et al.*, 2008; MACARTHUR; NORTH, 2004; 2005; 2007; LUCIA *et al.*, 2006; SCOTT *et al.*, 2001).

Foi identificada no gene ACTN3 a mudança do nucleotídeo C pelo T na posição / 1.747 do éxon 16, isto é, uma mutação resultante na conversão do aminoácido arginina em um stop codon prematuro no resíduo 577 (R577X) (SCOTT *et al.*, 2001). Indivíduos homocigotos para o alelo 577X não expressam a alfa-actinina-3 (MACARTHUR; NORTH, 2007; MILLS *et al.*, 2001). Curiosamente, a deficiência da alfa-actinina-3 não resulta em um fenótipo patológico como distrofia muscular ou miopatias (SCOTT *et al.*, 2001), sugerindo que a isoforma ACTN2 (81% de homologia na seqüência de aminoácidos) poderia compensar a ausência da alfa-actinina-3 (MILLS *et al.*, 2001).

Se a alfa-actinina-3 desempenha importante função em fibras musculares do tipo II, seria razoável prever diferenças na função muscular esquelética entre indivíduos com diferentes genótipos (R577X) para o ACTN3. Sugere-se que, indivíduos que expressam o gene ACTN3 (genótipos RR ou RX) e por consequência expressam a alfa-actinina-3, podem apresentar vantagem em modalidades que exigem explosão e força muscular quando são comparados com indivíduos com genótipo XX, que não expressam a alfa-actinina-3 (MACARTHUR; NORTH, 2004;

2007), bem como o genótipo XX apresentar características que aumentassem a aptidão para esportes de resistência (MACARTHUR; NORTH, 2005).

O gene R577X expresso de forma homozigota determina a deficiência da proteína alfa-actinina-3 em ~18% da população de origem européia saudável, sendo que outras populações apresentam diferentes frequências (MILLS *et al.*, 2001; YANG *et al.*, 2007).

Santiago *et al.* (2008) verificaram que os genótipos e a frequência dos alelos de atletas de futebol genotipados para o gene ACTN3 comparados com indivíduos sedentários, e atletas de resistência, foram significativamente diferentes. Foi determinado que a frequência do genótipo RR foi maior no grupo de jogadores em comparação ao grupo controle e de atletas de resistência e a frequência de RX apresentou o papel inverso. Além desse fator, foi identificado que a proporção de atletas RR nos jogadores da primeira divisão foi maior em comparação com as categorias inferiores e mesmo que somente dois jogadores XX tenham sido determinados entre os jogadores da primeira divisão (11%), isso não foi diferente do grupo controle (~18%). A Frequência alélica representou que o alelo R foi maior nos jogadores de futebol em comparação com os outros dois grupos. Estes resultados revelam uma relação direta com a dinâmica e característica do jogo de futebol com as necessidades físicas dos atletas da modalidade. Assim, embora recordando a importância de outros fatores de aptidão para a prática do futebol (particularmente, táticas de equipe e técnico individual) e outros fenótipos de capacidade de exercício não diretamente relacionado com a habilidade para gerar contrações musculares potentes, os resultados sugerem uma associação entre genótipos de ACTN3 e desempenho de futebol de elite.

Foi avaliada a relação da expressão genética do ACTN3 e do ECA em 46 ciclistas comparados com um grupo controle de igual número em relação aos resultados de rendimento em testes físicos. Foi identificado que a combinação genética de ACTN3-RR/RX e ECA-DD, gene que será discutido posteriormente, apresentaram maiores força e potência em comparação com os grupos de combinação intermediária (ACTN3-RX/RR e ECA-II ou ACTN3-XX e ECA-DD) sendo que os grupos ACTN3-XX e ECA-DD demonstraram maiores valores de capacidade aeróbia (GÓMEZ-GALLEGO *et al.*, 2009).

Em um estudo sobre perfil genético e rendimento esportivo Ahmetov *et al.*, (2008) avaliaram 230 remadores classificados em diferentes níveis competitivos e

relacionaram a classificação dos mesmos, bem como avaliações de parâmetros fisiológicos com a identificação de genes relacionados ao rendimento esportivo. No caso dos remadores, estes foram classificados como atletas especialistas em resistência aeróbia, mas foi admitido que para a prática desta modalidade, a aptidão para a produção de energia anaeróbia é significativa. Tal aspecto é similar no futebol. Os autores determinaram que a frequência do gene ACTN3-XX, que é uma expressão genética desfavorável para o desenvolvimento da força e velocidade, foi duas vezes menor nos remadores em comparação com o grupo controle. O mesmo também ocorreu com o ECA-II, que apresentou maior frequência dentre os atletas em comparação com o grupo controle. A frequência dos alelos ECA-I, ACTN3-R, dentre outros genes, foi correlacionada positivamente com o aumento do nível competitivo dos atletas, e os autores argumentam que este fato pode ser uma característica de um processo de seleção natural genética para o esporte.

Os autores supracitados sugerem ainda um perfil genético ideal para atletas de remo, que seriam de características aeróbias e anaeróbias e com expressões genéticas específicas como seguem; ACE-I/I: aumento da vascularização muscular facilitando a resistência aeróbia e anaeróbia, ACTN3-R/R: expressão da alfa-actinina-3 possibilitando atividades de grande geração de força e potência, NOS3-5/5: aumento da síntese de óxido nítrico possibilitando maior tolerância a hipóxia gerada em altas altitudes por vasodilatação, UCP2-Val/Val: aperfeiçoamento termorregulatório e aumento da eficiência e atividade muscular, UCP3-T/T: aumento do gasto energético basal por aperfeiçoamento do transporte de ácidos graxos e oxidação com baixo risco de obesidade (AHMETOV *et al.*, 2008).

Yang *et al.* (2003) demonstraram a associação entre os diferentes genótipos do ACTN3 e o rendimento de atletas de elite. Foi realizada a genotipagem de atletas de diferentes modalidades esportivas cujas predominâncias das mesmas eram força e velocidade ou resistência, e compararam entre homens e mulheres atletas e em relação ao grupo controle. Os autores identificaram que a frequência dos Genes ACTN3-RR foram maiores em esportes de força e potência quando comparados com os esportes de resistência. No grupo de atletas classificados como esportes de força e potência femininos e olímpicos, não foram encontrados genótipos ACTN3-XX. A frequência do genótipo XX no grupo de atletas de resistência foi de 20% que é

o que foi encontrado normalmente na população, mas no grupo de corredores de longa distância femininos essa frequência foi de 29%.

Saunders *et al.* (2007) avaliaram 457 triatletas de provas de *Ironman* e estes foram divididos de acordo com o seu rendimento na prova como rápidos, médios e lentos e foi feita a associação do ACTN3-XX com os mesmos e um grupo controle de 143 indivíduos. Não foi encontrada diferença entre os alelos (X ou R) e nem entre os genótipos (XX, RX, RR) entre os grupos concluindo no estudo que não houve relação entre o desempenho em provas de resistência com o alelo X e o genótipo ACTN3-XX. Os autores relatam que tendo em vista que o rendimento esportivo é multifatorial e ainda outros perfis genéticos podem influenciar, que mesmo não tendo sido encontrada relação no presente estudo essa possibilidade não pode ser descartada.

Com o objetivo de se investigar a associação entre o rendimento esportivo e a expressão do ACTN3, Lucia *et al.* (2006) avaliaram 50 ciclistas de alto nível, 52 corredores de nível olímpico e também um grupo de 123 sedentários saudáveis. Não foram encontradas diferenças significativas para a frequência do ACTN-XX em comparação com os outros grupos mesmo que os autores tenham indicado que tenha havido uma tendência de um valor percentual maior de XX no grupo de ciclistas justificando o fato da não existência de diferença ao N reduzido. Também não foram encontradas diferenças entre o VO<sub>2</sub>máx entre os grupos genéticos.

Já Niemi e Majamaa (2005) avaliaram atletas de alto nível competitivo de diferentes modalidades de corridas relacionadas a provas curtas de velocidade até maratonistas além de um grupo controle. Estes foram classificados de acordo com o seu nível competitivo. Foi encontrada uma relação linear e inversa da frequência do ACTN3-XX partindo dos atletas de mais alto nível competitivo de esportes de resistência até os corredores de velocidade mais bem posicionados no ranking internacional sendo que neste último grupo não foram encontrados indivíduos que expressassem o ACTN3-XX.

Quando foram avaliados os corredores jamaicanos e americanos com o objetivo de justificar os resultados positivos das olimpíadas de Pequim, em que todos os finalistas das corridas velocidade eram destes países, não foram encontradas diferenças entre os atletas e uma amostra de pessoas de mesma nacionalidade, mas foram identificadas baixas frequências de ACTN3-XX na população. Esse perfil genético é pré-disposto para eventos de força e velocidade. Tal fato identifica que a

população dessas nações como um todo, possui aptidão para esportes desta característica. Também foram identificados baixos valores de frequência para o ECA-II na população de atletas (SCOTT *et al.*, 2010),

Também com o objetivo de investigar a associação entre o rendimento esportivo de alguns países e o perfil genético dos mesmos, mas neste caso em relação ao sucesso em provas de longa distância, Yang *et al.* (2007) avaliaram a distribuição do gene ACTN3-X/R numa população de corredores africanos. Foram avaliados atletas de elite kenianos, etíopes e nigerianos e seus respectivos grupos controles. Foi determinado que o ACTN3-XX é extremamente baixa na população africana estudada (~1%) sendo maior nos etíopes (~11%). Desta forma não foi associado o sucesso dos corredores destes países ao perfil genético do mesmos, e os autores alegam que neste caso o fator ambiental, como treinamentos em altitude, e cultural, prática do esporte desde criança, sejam mais predominantes.

Também com objetivo de se relacionar o perfil genético com aptidão para a capacidade física força, mas em não atletas, Walsh *et al.* (2008) avaliaram 454 homens e 394 mulheres não atletas em testes isocinéticos. Foi identificado que as mulheres XX apresentaram menores valores de força de extensão de joelho em comparação ao grupo (R/X + RR). Os autores relatam que possivelmente não foram encontradas diferenças entre o grupo dos homens por questões de interferência hormonal. Como a testosterona desempenha papel anabólico isso poderia compensar a deficiência da alfa-actinina-3 no grupo XX. Como as mulheres não têm esse perfil hormonal, a dependência das características músculoesqueléticas é mais relevante.

Ainda sobre a população de não atletas e desempenho físico relacionado ao ACTN3, foram avaliados adolescentes em um grande grupo de garotos e garotas e foi encontrada associação entre o tempo de *sprint* num percurso de 40m e a expressão do ACTN3 sendo que os indivíduos ACTN3-XX gastaram mais tempo para percorrer a pista. Os autores não encontram associação entre o ACTN3 e outros parâmetros como prensão manual, saltos e percentual de gordura (MORAN *et al.*, 2006).

Uma das questões levantadas além da maior aptidão em atividades de força e potência associada à expressão da alfa-actinina-3, a treinabilidade associada a este genótipo, mesmo em não atletas, também tem sido motivo de investigações. Desta forma Delmonico *et al.* (2007) avaliaram o rendimento em testes de força em 71

idosos antes e após 10 semanas de treinamento de força e compararam o aumento de força em um teste de repetição máxima (RM) entre os diferentes genótipos do ACTN3 (XX, RX, RR). Identificou-se que houve um aperfeiçoamento maior entre os indivíduos RR pós treinamento como já era esperado pelo autor.

Ainda assim, os autores levantam algumas questões sobre as limitações do estudo como o programa de treinamento de força utilizado com velocidade moderada a 70% de um RM. Segundo os autores, esse é um protocolo normalmente utilizado em idosos com objetivo de evitar a sarcopenia e priorizar a hipertrofia, mas tal aspecto, o não treinamento de potência, pode ter interferido para que ganhos maiores não tivessem sido observados. Além desse aspecto, o número de participantes da pesquisa também é considerado pequeno, em especial que posteriormente foram agrupados em gênero e genótipos diferentes.

MacArthur *et al.* (2008) avaliaram camundongos knockout para o ACTN3, ou seja, todos ACTN3-XX em comparação com camundongos ACTN3-RX e RR selvagens. Os camundongos XX apresentaram redução da geração de força de grip em comparação com os outros animais.

Foi determinado ainda no estudo de MacArthur *et al.* (2008) que houve redução do diâmetro das fibras rápidas dos indivíduos XX. Não houve redução da proporção de fibras de contração rápidas e lentas, mas houve diminuição da massa magra nos animais XX e identificação de diminuição do diâmetro das fibras do tipo II. Determinou-se que a atividade enzimática de várias enzimas relacionadas ao metabolismo aeróbio foi aumentada, o que tem influência direta no metabolismo celular dos animais knockout. O tempo de relaxamento das fibras musculares dos animais knockout foi aumentado em comparação com os animais selvagens, bem como a recuperação à fadiga, identificando alterações nessas propriedades de contração.

Tais aspectos sugeriram uma alteração das propriedades das fibras rápidas em direção às funções das fibras lentas. Essas características fenotípicas do ACTN3-XX corroboram o rendimento em atividades de resistência aeróbia.

Chan *et al.* (2008) em um estudo parecido com o de MacArthur (2008) sobre as propriedades de um músculo isolado de ratos knockout (ACTN3-XX) encontrou resultados similares ao estudo supracitado e corrobora a idéia de que o gene ACTN3-XX confere propriedades mais oxidativas às fibras do tipo II destes indivíduos.

Norman *et al.* (2009) também não encontraram diferença entre o percentual de tipo de fibra entre os genótipos do ACTN3 e também foi identificado uma maior expressão de mRNA de alfa-actinina-2 nos indivíduos XX. Tal aspecto indica que a alfa-actinina-2 pode suprir fisiologicamente a ausência da alfa-actinina-3.

Já Vincent *et al.* (2007) avaliaram 90 indivíduos agrupados nos grupos ACTN3 (RR, RX e XX) compararam os seus resultados em diferentes velocidades de testagem em aparelho isocinético. Identificaram que os sujeitos RR apresentaram melhores resultados em velocidades angulares maiores de teste e que estes apresentaram maior proporção de fibras tipo II. A determinação de tipo de fibra foi realizada através da identificação da cadeia pesada de miosina.

### **2.3.1.3 Treinabilidade relacionada ao ACTN3-R/X**

Sobre a treinabilidade e a expressão do ACTN3 foram avaliados 247 homens e 355 mulheres ao longo de 12 semanas de treinamento. Foram relacionados menores valores de força isométrica inicial para os indivíduos ACTN3-XX nas mulheres, mas não nos homens. Após o treinamento, os indivíduos XX apresentaram maiores valores de ganho de força o que foi um resultado inesperado pelos autores (CLARKSON *et al.*, 2005b).

Os autores supracitados argumentam que como a alfa-actinina-3 tem uma função estrutural, sua ausência pode ter representado um estímulo mais significativo para os indivíduos ACTN3-XX, a alta magnitude de microlesões, estimulando o remodelamento sarcomérico, provavelmente fez com que eles se adaptassem mais rapidamente para compensar essa deficiência.

Em outro estudo com o objetivo de avaliar a susceptibilidade de microtraumas musculares em decorrência da classificação genética do ACTN3, não foi encontrada relação entre a atividade plasmática de CK e mioglobina após uma atividade excêntrica entre os diferentes grupos do ACTN3 (XX, RX, RR). Ainda assim, diferente do esperado, os autores encontraram menores valores de CK em repouso nos indivíduos XX. Os autores alegam que a diferença étnica entre os participantes pode ter sido um fator determinante para não se ter encontrado a hipótese esperada, bem como a massa muscular dos indivíduos, já que esta não foi avaliada nos voluntários e pode interferir diretamente nos valores basais de CK (CLARKSON *et al.*, 2005a).

Com objetivo de avaliar a possibilidade de diferença de aptidão física entre diferentes expressões do ACTN3 Norman *et al.* (2009) avaliaram indivíduos fisicamente ativos em relação a testes isométricos, fadiga, teste isoscínético e biopsia. Não foram encontradas diferenças entre os grupos em relação aos parâmetros avaliados a não ser pelo pico de torque no teste isoscínético que foi maior os indivíduos RR em comparação aos XX. Tal aspecto pode interferir na treinabilidade de programas de treinamento de força

### **3 MÉTODOS**

#### **3.1 Cuidados Éticos**

Este estudo respeitou todas as normas estabelecidas pelo Conselho Nacional da Saúde (Res. 196/96) envolvendo pesquisas com seres humanos.

Todos os voluntários, ou os responsáveis, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (APÊNDICE I) após as explicações sobre procedimentos e possíveis riscos.

Todos os dados coletados durante a realização deste estudo foram utilizados apenas para fins de pesquisa e somente os pesquisadores envolvidos neste estudo tiveram acesso às informações. Estas precauções foram adotadas com o intuito de preservar a privacidade, a saúde e o bem-estar dos voluntários.

Este projeto foi submetido à análise pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG e foi aprovado para sua realização (ETIC 291/09).

O grupo controle foi derivado do banco de dados do laboratório de genética humana e médica (LGHM) que foi parceiro deste trabalho e essa amostra fez parte de um estudo do laboratório citado e foi aprovado pelo mesmo comitê de ética em pesquisa sob nº ETIC 42/08.

#### **3.2 Amostra**

Participaram do estudo 367 jogadores masculinos (tabela 1, pag. 67). Os jogadores das categorias pré-infantil (P-INF), infantil (INF), juvenil (JV), júnior (JR) e profissionais (PRO) que faziam parte de clubes da primeira divisão de futebol brasileiro que mantinham treinamentos sistematizados, regulares e disputavam competições organizadas e/ou reconhecidas pela Confederação Brasileira de Futebol (CBF). Estes jogadores treinavam em média seis dias por semana, em cerca de nove sessões de treinamento por semana, com aproximadamente 2 h cada sessão de treinamento além dos períodos de competição. Estar inserido em um clube de futebol com essas características foi considerado como critério de inclusão.

Um grupo de jogadores amadores que fazia parte de um time universitário em que não eram remunerados para desempenhar a função de atletas foi avaliado. O volume de treino destes representava menos de 30% do volume de treinamento dos jogadores profissionais do presente estudo. Considerando o N reduzido (14) deste grupo estes jogadores foram apresentados em caráter de ilustração e não foram considerados nos cálculos estatísticos para comparação.

Também foram avaliados 100 indivíduos como grupo controle. Este grupo foi selecionado de forma aleatória e representativa da população escolar da cidade de Belo Horizonte, Minas Gerais.

Em relação ao tamanho da amostra para o estudo de frequência genotípica entre jogadores de futebol (estudo 1), deve-se observar que cada categoria dos clubes brasileiros possui em média 30 jogadores indicando um universo de aproximadamente 600 jogadores por categoria na primeira divisão de futebol brasileiro. Desta forma os diferentes grupos do presente estudo representam em média 10% deste universo.

No presente estudo o fator disponibilidade de jogadores por equipe, bem como número de atletas por jogo (estudo 3), também foi considerado como uma limitação do mesmo. Ainda assim, o cálculo do tamanho da amostra considerando um N mínimo para identificação de diferença significativa entre as variáveis mensuradas, considerando a variabilidade das mesmas, e um poder estatístico do teste de 0,8 foi realizado.

A variabilidade das variáveis mensuradas foi baseada em uma análise de estudos similares anteriores. De todas elas, a variável que apresentou o maior coeficiente de variação foi o Cortisol e o N mínimo de cada grupo foi 11 indivíduos considerando um IC de 95% (SAMPAIO, 1998).

Atletas com experiência mínima inferior a 2 anos com treinamentos sistematizados em futebol não foram considerados para o estudo de genotipagem dos atletas sendo este critério de exclusão. Em relação à situação aguda (jogo), foram excluídos jogadores que participaram menos  $\frac{3}{4}$  do tempo total de jogo.

### **3.2.1 Caracterização e avaliação física dos voluntários.**

Os sujeitos foram submetidos à avaliação física para a caracterização da amostra em que foram mensuradas massa corporal, estatura e dobras cutâneas. A

massa corporal (kg) foi determinada com os voluntários descalços e nus utilizando-se uma balança digital (Filizola<sup>®</sup>) com precisão de 0,02 kg, calibrada previamente. A estatura (cm) foi medida utilizando-se um estadiômetro com precisão de 0,5 cm acoplado a uma balança (Filizola<sup>®</sup>).

As dobras cutâneas subescapular, tríceps, bíceps, peitoral, subaxilar, suprailíaca, abdominal, coxa e perna foram medidas utilizando-se um plicômetro (Lange<sup>®</sup>), graduado em milímetros, de acordo com o protocolo proposto por (JACKSON; POLLOCK, 1978). Os valores de cada dobra foram utilizados para a obtenção do somatório das dobras ( $\Sigma$  dobras) e estimativa do percentual de gordura.

### **3.3 Delineamento experimental**

#### **3.3.1 Estudo 1: Determinação da frequência do genotípica do ACTN3 em diferentes categorias de jogadores de futebol brasileiro**

Uma amostra sanguínea para genotipagem dos atletas foi coletada em 2 tubos á vácuo com EDTA de 4 mL cada (Vacuette<sup>®</sup>). Esta amostra foi coletada através de punção venosa realizada por um pesquisador ou enfermeiro previamente treinados em técnicas de punctura de veias periféricas com agulha para coletas múltiplas. Os tubos foram armazenados a uma temperatura de 4° até a extração do DNA genômico.

##### **3.3.1.2 Genotipagem do polimorfismo R577X no gene ACTN3**

Jogadores de diferentes categorias foram genotipados para o polimorfismo da alfa-actinina-3 e divididos em grupos de mesmo genótipo RR, RX e XX, através da técnica de RFLP-PCR (Reação em Cadeia da Polimerase e Poliformismo de Comprimento de Fragmento de Restrição) com enzima de restrição (Ddel) após a extração do DNA.

A extração de DNA genômico das amostras de sangue periférico foi realizada conforme protocolo descrito na literatura, com utilização de proteinase K seguida de precipitação salina (MILLER *et al.*, 1988). Um fragmento de DNA contendo o exon 16 do gene ACTN3 foi amplificado a partir do DNA genômico e os iniciadores utilizados foram: forward, 5'-CTGTTGCCTGTGGTAAGTGGG-3'; reverse, 5'-

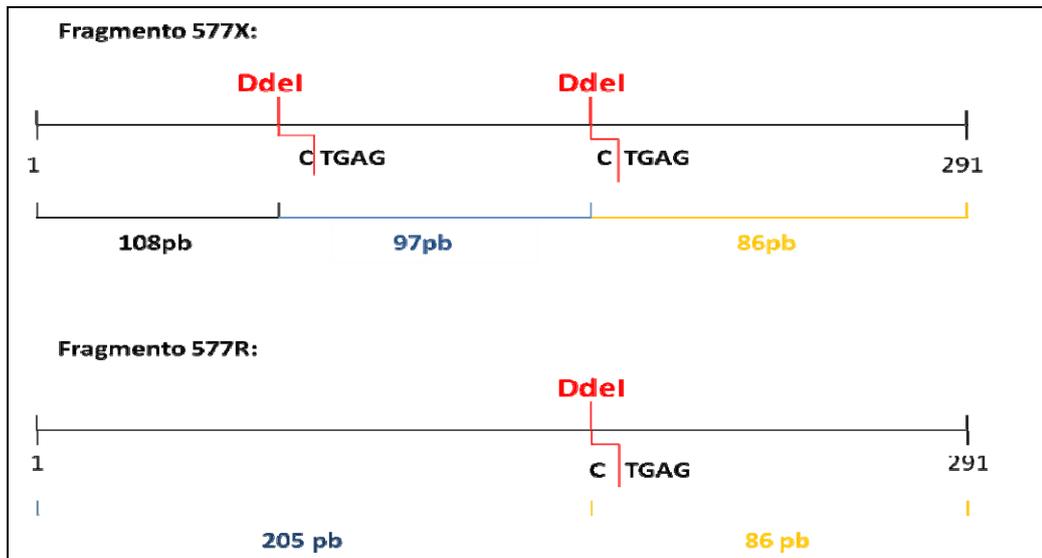
TGGTCACAGTATGCAGGAGGG-3', ancorados nas sequências intrônicas adjacentes (MILLS *et al.*, 2001).

As reações de PCR tiveram um volume final de 25 µL, com 10 mM Tris, pH 8.4, 50 mM KCl, 1,75 mM MgCl<sub>2</sub>, 0,1% Triton X-100), 0,2 mM de cada dNTP (Invitrogen, Carlsbad, CA), 1 U *Taq* DNA polimerase (Phoneutria Biotecnologia e Serviços, Belo Horizonte, MG, Brasil) e 1,0 µM de cada iniciador (SINAPSE BIOTECNOLOGIA, São Paulo, SP, Brasil), usando aproximadamente 100 ng de DNA genômico como molde. O programa de amplificação foi composto por uma desnaturação inicial a 94 °C por 5 minutos, seguida de 30 ciclos, compostos por 94 °C por 1 minuto, 64 °C por 1 minuto e 72 °C por 1 minuto, com uma extensão final de 72 °C por 5 minutos. Os alelos R577X (códon CGA e TGA) foram distinguidos pela presença (577X) ou ausência (577R) de um sítio de restrição da enzima *Ddel* (MILLS *et al.*, 2001).

Após a amplificação por PCR, 1 µL do produto de PCR foi digerido com 20 U da enzima *Ddel* em um volume final de 15µL. As reações foram incubadas Over night (O/N) a 37 °C. Posteriormente, os fragmentos digeridos foram separados por eletroforese em gel de poliacrilamida 8%, corados com solução de nitrato de prata (SAMBROOK; RUSSEL, 2001). O alelo ACTN3 577R gera fragmentos de 205 e 86 pares de bases (pb), enquanto o alelo ACTN3 577X gera fragmentos de 108, 97 e 86 pb (YANG *et al.*, 2003) Figuras 9.

Como pode ser observado, quando os sítios de restrição da enzima *Ddel* (CTNAG) são encontrados na sequência de DNA que foi amplificada através da PCR ocorre a clivagem da sequência gerando fragmentos. De acordo com a existência e posição dos sítios de restrição em cada indivíduo, os fragmentos gerados terão números de pares de bases diferentes que serão identificados através da eletroforese em gel de poliacrilamida. Sendo possível assim diferenciar o genótipo de cada indivíduo. A separação no gel de eletroforese obedece ao princípio de separação por número de pares de bases em que os fragmentos menores (possuem menor quantidade de pares de bases) conseguem passar mais facilmente pela malha do gel e por isso são identificados mais próximos do pólo positivo da cuba de eletroforese (posição inferior do gel).

A)



B)

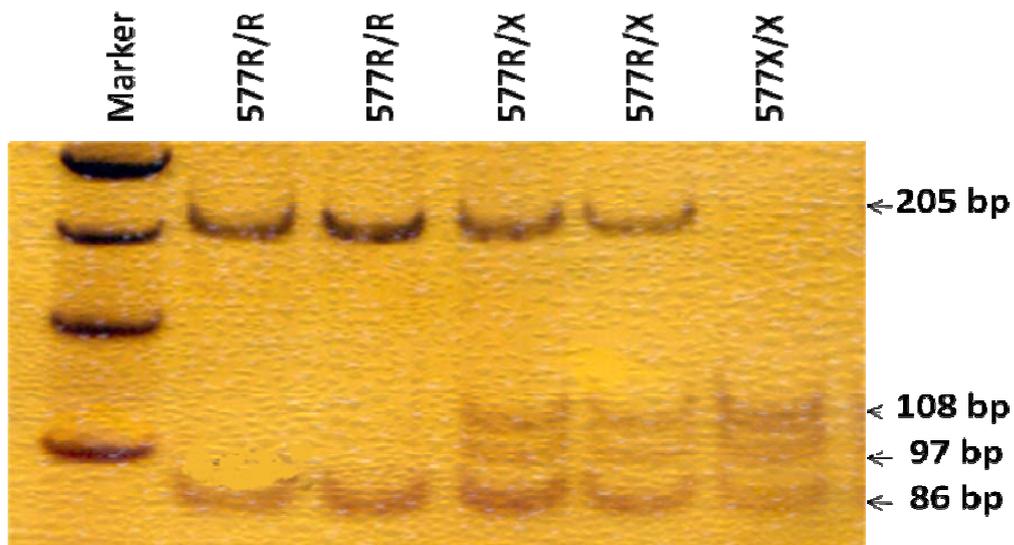


FIGURA 9 - A) Esquema da restrição com enzima DdeI. B) Gel de poliacrilamida da restrição. Indivíduos com genótipo 577R/R apresentam fragmentos na altura de 205 e 86 pb; genótipo 577R/X, 205, 108, 97 e 86 pb; e genótipo 577X/X 108, 97 e 86 pares de bases.

### 3.3.2 Estudo 2: Associação do desempenho de jogadores de futebol em testes físicos de força, velocidade e resistência com a expressão do ACTN3

Já obtidos os dados de genotipagem dos atletas os jogadores foram submetidos a testes específicos para a mensuração de força, velocidade e resistência aeróbia.

### 3.3.2.1 Testes físicos

O VO<sub>2</sub>máx foi avaliado pelo teste de campo Yoyo endurance test (Bangsbo, 1994). Este teste é específico para jogadores de futebol e esportes intermitentes (KRUSTRUP *et al.*, 2005) em que a distância percorrida em caráter intermitente possui relação direta com a capacidade aeróbia dos atletas (CASTAGNA *et al.*, 2006).

Em um teste de *sprint* de trinta metros foram determinadas as velocidades dos jogadores em 10m (V10), 20m (V20) e no total de 30m (V30) em pista de grama, com de medição eletrônica através de barreiras foto-elétricas (posicionadas aproximadamente na altura do quadril dos voluntários a 1m do chão), com precisão de 0,001s, localizadas a 0m, 10m e 30m do trajeto. Todas estas conectadas a um computador com software específico (*MultiSprint*<sup>®</sup>) para análise da velocidade.

Testes de salto com contramovimento (*counter-movement-jump* (CMJ)) e salto agachado (*squat jump* (SJ)) foram avaliados utilizando-se tapete de contato ligado a um computador com o mesmo software. No teste de impulsão vertical o desempenho é medido indiretamente pela equação  $h = (g \cdot t^2)/8$ , na qual  $h$  representa a altura do salto (cm),  $g$  a aceleração da gravidade (9,81 m/s<sup>2</sup>) e  $t$  o tempo de vôo (s) (KLAVORA, 2000).

Estes testes aconteceram no início da temporada de treinamento antes que os atletas iniciassem o período de preparação física. Todos os atletas eram familiarizados com os testes tendo em vista que estes fazem parte da rotina de avaliação dos atletas dos clubes que participaram do estudo. Todos os testes foram realizados três vezes consecutivas com recuperação completa entre as tentativas, sendo o melhor resultado de cada atleta utilizado para as análises. Com exceção do teste de yoyo que foi realizado somente duas vezes por questões de fadiga.

Os jogadores a partir de 16 anos, ou seja, das categorias sub-17, sub-20 e profissionais, foram agrupados de acordo com o seu desempenho em cada teste. Para este procedimento, os jogadores foram ordenados de forma decrescente do seu desempenho em cada um dos testes e sub-divididos em quartis. Assim obteve-se o primeiro quartil (0-25%), segundo quartil (25-50%), terceiro quartil (50-75%) e quarto quartil (75-100%) do total de jogadores em cada teste. Em cada grupo de classificação de desempenho os jogadores foram agrupados em seus grupos

genotípicos (RR, RX e XX) e a comparação da frequência genotípica entre os grupos de classificação foi realizada.

Os jogadores avaliados no estudo dois foram selecionados a partir de 16 anos para minimizar a interferência de fatores de maturação e experiência com os testes físicos.

### 3.3.3 Estudo 3: Relação da expressão do ACTN3 com respostas hormonais e indicadores do dano muscular decorrente de um jogo de futebol

Tendo em vista a semelhança fenotípica do ACTN3- RR e RX os indivíduos com este genótipo foram agrupados para as comparações em relação ao grupo XX. Os jogadores foram monitorados e algumas variáveis fisiológicas foram mensuradas as concentrações plasmáticas de cortisol, testosterona, relação T/C, alfa-actina e IL-6 em diferentes fases em relação ao jogo (pré jogo, pós jogo, 2 e 4 h após o jogo (figura-10)

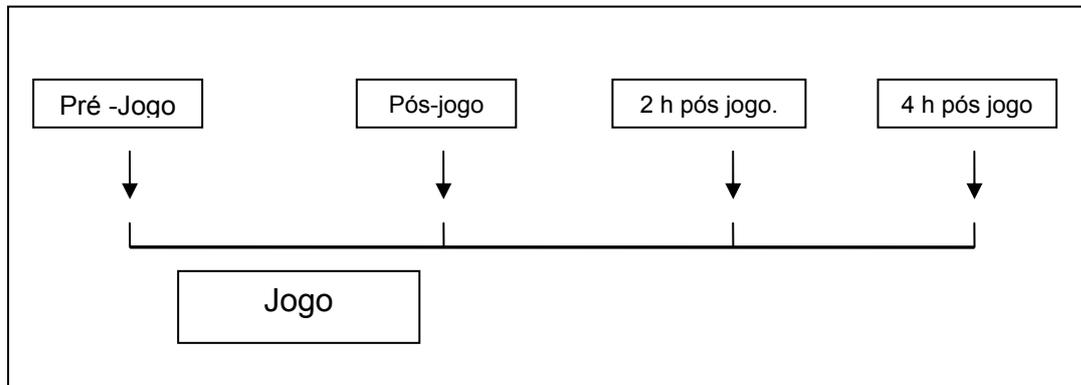


Figura 10: Esquema de ilustração dos momentos de análise da situação jogo

Com o propósito de se compor o número mínimo por grupo, três jogos amistosos foram monitorados em datas diferentes com no máximo 4 dias de intervalo entre os mesmos. Estes jogos foram realizados no mesmo local (campo oficial com gramado sintético) e horário (início às 9:00h e término às 10:15h). As regras foram as oficiais deste esporte. Em um dos jogos ambos os times foram avaliados e as coletas ocorreram entre novembro e dezembro. Após o jogo, no intervalo entre as coletas pós jogo, os jogadores almoçaram e estiveram confinados nas dependências do centro de treinamento e mantidos em repouso.

Os jogos desta categoria (INF) são compostos por dois períodos de 30min com 15min de intervalo entre os tempos. Todos os jogadores faziam parte de um de um mesmo clube de futebol. Tal fato se mostra importante para a padronização de treinamentos e alimentação crônicos antes e durante os períodos de coleta.

Os jogadores não tinham conhecimento de seu perfil genético, mas somente o pesquisador responsável tinha. O objetivo principal da realização de três jogos foi a disponibilidade dos jogadores para a composição dos grupos genotípicos, em especial do genótipo XX que é mais raro.

### **3.3.3.1 Colheita sanguínea**

As amostras sanguíneas para avaliação das variáveis foram coletadas por punção venosa com agulha para coletas múltiplas com inserção na veia mais proeminente da fossa antecubital dos voluntários. A punção sanguínea ocorreu em sala apropriada (departamento médico do clube) imediatamente antes dos jogos e preparação dos atletas para o jogo (*aquecimento*) e nos momentos posteriores previamente mencionados, sendo mantida a ordem de coleta dos atletas em todos os momentos e o espaço de tempo entre o primeiro e último voluntário coletado em cada jogo nunca foi maior que 30min.

Todos os atletas passavam a noite no centro de treinamento onde ocorriam os jogos possuindo a mesma alimentação no dia anterior ao jogo, bem como no café da manhã que acontecia entre 7 e 8 h e com um período de repouso médio de 24 h desde o último treinamento sendo este considerado leve (SCHEEN, 1998). Em cada uma das colhetas sanguíneas foi preenchido 1 tubo com ativador de coágulo de 8 mL de sangue para análise das variáveis monitoradas.

Os tubos foram centrifugados a 1500 g durante 10 min e as alíquotas (0,5 mL) de soro foram armazenadas a -80°.

A dieta dos atletas ao longo da semana foi padronizada e ajustada para atletas de futebol pelo departamento de nutrição do clube e os atletas realizaram todas as refeições juntos e nos mesmos horários (VOLEK *et al.*, 1997). Este é um procedimento de rotina no clube de futebol que participou do estudo.

### **3.3.3.2 Variáveis analisadas**

Foram avaliados as concentrações plasmáticas ds variáveis creatina-quinase (CK), Cortisol, Testosterona, Alfa-actina e IL-6.

#### **Dosagem de Interleucina-6**

A análise das concentrações plasmáticas de IL-6 foram realizadas pelo método ELISA, utilizando o kit de alta sensibilidade (Quantikine® HS, R&D Systems). Neste teste, um anticorpo de captura específico para IL-6 deve cobrir previamente as microplacas, interagindo por meio de reação hidrofóbica com a placa (96 poços). Amostras padronizadas são introduzidas nos poços, e a IL-6, quando presente, é ligada ao anticorpo imobilizado.

As placas foram lavadas por seis vezes, retirando-se as substâncias não ligadas, e um anticorpo policlonal específico ligado à enzima foi adicionado. Foi então novamente realizada a lavagem dos poços por seis vezes e uma solução de substrato foi adicionada. As microplacas, em posição horizontal, permaneceram num vibrador de microplacas em 500 + 50 rpm por um período de incubação de duas horas. Uma solução de amplificação foi adicionada aos poços para que a cor se desenvolvesse proporcionalmente à concentração de IL-6.

Após incubação por 30 min, foi adicionada uma solução paralisadora, e a leitura da intensidade da cor (índices plasmáticos de IL-6) foi feita por um leitor de microplacas ajustado para 490 nm, com correção do comprimento de onda a 650 nm, dentro de 30 min.

#### **Dosagem de cortisol**

As concentrações plasmáticas de cortisol foram analisadas pelo princípio da enzima-imunoensaio quimiluminescente. Para tanto, a amostra do soro sanguíneo do voluntário e a fosfatase alcalina conjugada ao cortisol foram simultaneamente introduzidos na unidade de teste, e incubadas por 30 min. a 37° C, com agitação

intermitente. Durante este período, o cortisol da amostra compete com o cortisol marcado com enzima para um número limitado de sítios ligantes do anticorpo da pérola.

A enzima conjugada, não ligada, foi então removida pela lavagem por centrifugação, o substrato foi adicionado à unidade teste e incubado por mais de 10 minutos. O substrato quimiluminescente, PPD (éster fosfato de adamantil dioxetano), foi submetida à hidrólise em presença da fosfatase alcalina, gerando um intermediário instável. A produção contínua deste intermediário resulta na emissão de luz. O complexo ligado, assim como sua emissão de fótons, foram medidos pelo luminômetro, sendo inversamente proporcional à concentração de cortisol na amostra.

### **Dosagem de Creatina quinase (CK) plasmática**

Para avaliação da CK foi utilizado o método por espectofotometria. Estas análises foram feitas utilizando-se o kit “MPR3 CK Nac-ativado” (Boehringer Mannheim). Para tal, foram juntas à solução plugue (frasco de 2,5 mL) um reagente específico, deixando-os em banho-maria a 37 °C por um minuto. Em seguida, foi somada 50 µL de plasma à solução reativa, deixando novamente a mistura em banho-maria a 37 °C por mais um minuto.

De forma imediata, realizaram-se quatro leituras das absorbâncias de uma mesma mostra a 334 nm, com um minuto de intervalo entre uma leitura e outra, para que fosse obtido um valor D. O cálculo da atividade do CK (U/L) na amostra foi feito pela equação  $CKP = 8252 \times D \text{ absorbância/minuto}$ .

### **Dosagem de alfa-actina plasmática**

As amostras de plasma foram diluídas em tampão apropriado (*coating buffer*; composição em g/L: Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 1,59; NaHCO<sub>3</sub> 1,93; pH 9,6). Placas de 96 poços foram sensibilizadas com 100µL das amostras diluídas por um período aproximado de 12h à 4°C. Após este período, todo o líquido foi removido das placas e as mesmas foram lavadas delicadamente com tampão de lavagem (NaCl 0,9% + Tween-20 0,05%). Em seguida, foi realizado um bloqueio de ligações inespecíficas pela adição em

cada poço de 100µl de PBS acrescido de leite desnatado (Molico) a 2% por 1h a 37°C.

Após este período a placa foi novamente lavada com tampão de lavagem e foi acrescido o anticorpo primário monoclonal anti-alfa-actina (St. Louis, USA, Sigma) diluído na proporção 1:1000 em PBS-T (PBS + Tween-20 0,05%). Após incubação por 1h à 37°C, o anticorpo primário foi removido, a placa foi novamente lavada e foi então acrescido o anticorpo secundário policlonal anti-mouse na diluição 1:3000 PBS-T + leite 2%.

Foram realizadas duas lavagens e foi adicionado substrato da reação (OPD 0,2 mg/mL em tampão citrato 5,2g/L pH 5,0). Após 20 minutos, a reação foi paralisada com 20 µl de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 4N e foi realizada leitura em leitor de microplaca a 492 nm. Foram realizados controles negativos (somente coating buffer) e positivos (10; 5; 1; 0,5 µg de alfa-actina).

### **3.3.3.3 Monitoramento dos jogos**

Os jogadores avaliados tiveram a sua intensidade em FC absoluta e relativa (%FCmáx), bem como distância percorrida monitorados.

#### **FC máxima**

Durante os treinamentos, antes dos jogos que foram avaliados, foram realizados os testes para a determinação da frequência cardíaca máxima individual. Sendo estes dois testes: um teste de corrida de 1000m em velocidade subjetiva máxima e o teste de Margaria de 2400m (MARGARIA, 1975).

Os valores de FCmáx dos jogadores identificados durante o jogo também foram registrados. Foi considerada a FCmáx do atleta o maior valor encontrado entre as três situações (teste de 1000 m, 2400 m ou jogos). Este valor foi utilizado para determinar do percentual da FCmáx (%FCmáx) os jogos e treinamentos foram realizados (ANTONACCI *et al.*, 2007).

A FCmáx individual determinada dentre as situações foi utilizada para relativizar o esforço dos jogadores enquanto percentual da FCmáx. A apresentação da intensidade de esforço dos indivíduos e dos grupos não se justifica quando feita através dos valores absolutos de FC em batimentos por minuto (bpm), pela

existência de fatores que interferem na FC<sub>máx</sub> individual (KARVONEN; VUORIMAA, 1988).

### **Monitoramento da FC e distância percorrida ao longo dos jogos**

A FC dos jogadores foi medida e registrada durante os jogos com a utilização de um conjunto de cardiofrequencímetros marca Polar<sup>®</sup> modelo Team System<sup>®</sup> (Figura. 11). O aparelho permite o registro da FC durante uma atividade sem a utilização de um monitor de pulso, o que é proibido em jogos pelas regras do futebol, por oferecer risco à integridade do atleta, de seus companheiros e adversários.

Os dados de FC referentes à atividade foram registrados em um transmissor (aparelhos utilizados para medição, transmissão e registro da FC) colocado junto ao peito do jogador antes do início dos jogos e ajustados com o auxílio de uma tira elástica (Figura 12). Não é necessário nenhum tipo de acionamento ou comando para que os transmissores funcionem, sendo que a FC começa a ser registrada 15 segundos após o contato com a pele. Os transmissores foram retirados logo após os jogos, higienizados e tão logo quanto possível os dados serão transferidos para o computador através de um aparelho *interface* catalogados e analisados no *software* “Polar Precision Performance SW 3,0”.

Os transmissores medem e registram a FC durante toda atividade sem interrupções. A taxa de amostragem da FC é de 5s em 5s com uma capacidade de memória de até 12 horas de dados armazenados. Os aparelhos encerram um arquivo de FC dez segundos após perderem o contato com a pele, o que permite ajustes para o conforto do atleta durante as atividades realizadas durante o jogo.

Os transmissores se adaptam anatomicamente ao corpo do jogador, não comprometendo o rendimento, o andamento do jogo e nem oferecendo nenhum risco à integridade física do jogador, de seus adversários e companheiros. A FC de todos os jogadores de uma equipe pode ser monitorada ao mesmo tempo caso não haja nenhum problema ou imprevisto.



FIGURA 11 – Conjunto de cardiofrequencímetros e interface para computador.



FIGURA 12 – Transmissora de FC nos jogadores

Os transmissores são revestidos de material impermeável, de fácil higiene, flexível, sem arestas ou pontas contundentes. As especificações dos mesmos são; 3 mm de espessura, 4 cm de largura, 30 cm de comprimento e pesam cerca de 50 g cada um. O elástico que prende o transmissor junto ao tórax do atleta é regulável por fivelas plásticas.

Para a coleta da FC dos jogadores, os transmissores foram colocados junto ao peito dos jogadores antes da preparação para o jogo (exercícios preparatórios para o esforço, como alongamentos, corridas leves e toques de bola) e só foram retiradas ao final da partida.

Para a determinação da distância percorrida foi utilizado GPS de pulso marca Garmin® e modelo 405.

### **Condições ambientais**

As condições ambientais foram monitoradas pelas medidas da temperatura seca (TS), temperatura úmida (TU), índice de bulbo úmido e temperatura de globo (IBUTG) (RS214, WIBGET®, USA). Estas foram determinadas a cada 10 minutos ao longo dos jogos.

### **3.4 Análise estatística**

Os dados descritivos da amostra estão apresentados como média  $\pm$  desvio padrão. Os resultados comparativos estão apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM).

Para o estudo 1 e 2 as variáveis foram apresentadas através de frequências absolutas e relativas. Foi aplicado o teste qui-quadrado para verificar a associação entre as variáveis qualitativas em estudo.

Para as comparações entre as variáveis com distribuição normal (IL-6, cortisol, testosterona, relação T/C) ao longo do tempo foi utilizada uma análise de variância com medida repetida com dois fatores (grupo genético e fases do jogo) seguida do teste de *Post Hock* de Tukey quando apropriado. Para as análises de [CK] ao longo das fases foi utilizado o teste de *Friedman* (para comparações intragrupo genético) e em cada fase foi utilizado o teste de Mann-Whitney (para comparações intergrupos genéticos). Em todos os testes foi adotado um nível de significância de 0,05.

Os resultados dos testes físicos foram usados para determinar o coeficiente de correlação intraclassa (ICC-1,1) (WEIR, 2005) e o erro padrão de medida (EPM) dos resultados da amostra.

Para análise estatística, foi utilizado o software *Statistical Package for the Social Sciences for Windows*, versão 11.0.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Estudo 1: Determinação da frequência genotípica do ACTN3 em diferentes categorias de jogadores de futebol brasileiro

#### 4.1.1 Resultados estudo 1

A tabela 1 apresenta as características da amostra dos voluntários nos diferentes grupos classificados de acordo com sua idade ou nível competitivo.

TABELA 1- Características da amostra. Estatura (cm), peso (kg), composição corporal (%G) e idade das categorias pré-infantil (P-INF), infantil (INF), juvenil (JV), júnior (JR), profissionais (PRO) e amadores (AMA).

<b>Categoria(N)</b>	<b>Massa corp. (kg)</b>	<b>Estatura (cm)</b>	<b>G%</b>
P-INF (43)	69,12 ± 7,53	178,21 ± 9,72	10,43 ± 3,51
INF (68)	68,42 ± 9,42	177,57 ± 8,52	9,49 ± 2,00
JV (44)	73,30 ± 6,79	181,36 ± 7,04	9,15 ± 1,89
JR (115)	73,36 ± 7,90	180,65 ± 8,20	9,21 ± 2,08
PRO (83)	74,25 ± 5,79	182,60 ± 8,55	8,20 ± 2,34
AMA (14)	74,12 ± 3,43	180,33 ± 5,69	10,12 ± 3,48

Dados apresentados em média e desvio padrão.

A tabela 2 e os gráficos 1 e 2 mostram as frequências genotípica e alélica observadas nos diferentes grupos.

Não foram encontradas diferenças significativas entre as frequências genotípicas observadas em cada categoria, quando se compararam simultaneamente todas elas. Entretanto, na comparação par a par, observa-se uma frequência mais baixa do genótipo XX entre os profissionais, quando comparados a todas as outras mais jovens especificamente ( $p < 0,05$ ), bem como do mesmo genótipo especificamente em relação à categoria INF ( $p < 0,05$ ). Também observa-se um aumento do genótipo RX na categoria profissional em relação à categoria P-INF ( $p < 0,05$ ).

As frequências alélicas e genotípicas se encontram em Equilíbrio de Hardy-Weinberg ( $p=0,442$ ), teste realizado com o software GENEPOP versão 4.0.10. Não houve diferença entre as frequências alélicas dos diferentes grupos.

TABELA 2. Frequências genotípicas e alélicas em valores absolutos e relativos (%) observadas para o locus ACTN3 nas categorias, Pré-infantil (PRE-INF), Infantil (INF), Juvenil (JV), Júnior (JR), Profissional (PRO), Amador (AMA) e Controle (CON).

Grupos (N)	GEN. N. (%)			Fr. alélica N (%)	
	RR	RX	XX	R	X
CON. (100)	40 (0,40)	46 (0,46)	14 (0,14)	126 (0,63)	74 (0,37)
AMA.(14)	8 (0,57)	3 (0,21)	3 (0,21)	19 (0,68)	9 (0,32)
PRE-INF.(43)	25 (0,58)	13 (0,30)*	5 (0,12)	63 (0,73)	23 (0,27)
INF.(68)	25 (0,37)	32 (0,47)	11 (0,16)*	82 (0,60)	54 (0,40)
JUV.(44)	18 (0,41)	20 (0,45)	6 (0,14)	56 (0,64)	32 (0,36)
JUN.(115)	50 (0,43)	50 (0,43)	15 (0,13)	150 (0,65)	80 (0,35)
PROF.(83)	36 (0,43)	43 (0,52)	4 (0,05) <sup>#</sup>	115 (0,69)	51 (0,31)

Diferença em relação o mesmo genótipo da categoria PROF. <sup>#</sup> Diferença em relação ao mesmo genótipo da somatória de todas as outras categorias mais jovens.

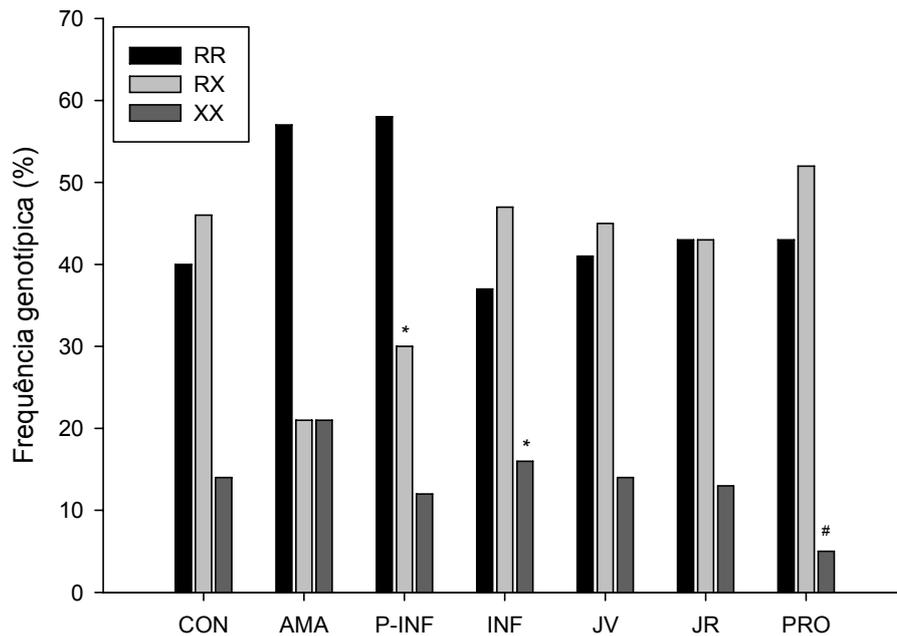


GRÁFICO 1- Frequência genotípica do ACTN3- (RR, RX e XX) nas diferentes categorias de jogadores de futebol e grupo controle. # Diferença em relação às categorias mais jovens (JR, JV, INF e P-INF). \* Diferença em relação à categoria Profissional (PRO) para o pré-infantil (P-INF) e infantil (INF) ( $p < 0,05$ ).

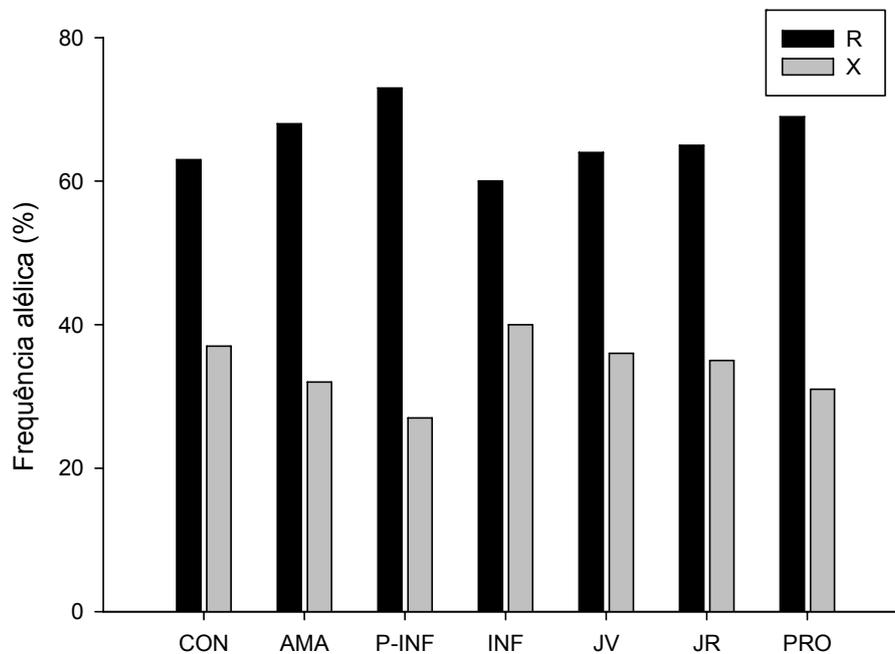


GRÁFICO 2: Frequências alélicas (%) de R e X nas diferentes categorias.

#### 4.1.2 Discussão estudo 1

O principal achado do presente estudo foi o aumento da frequência do ACTN3-RX e diminuição da frequência do ACTN3-XX em categorias mais velhas em que o nível competitivo é maior, sugerindo que ocorra uma seleção natural para o futebol.

Tendo em vista as características do futebol, em que cada vez mais são determinantes no resultado do jogo a força e velocidade (STOLEN, 2005) e que as exigências físicas de jogos e treinamentos aumentam em categorias mais velhas, a diminuição da frequência do genótipo ACTN3-XX na categoria profissional era esperada. No entanto, o aumento do genótipo RX é um indicativo do caráter misto deste esporte, em que a capacidade de resistência também é importante.

Outras pesquisas encontraram relação da frequência do ACTN3-RR e o nível competitivo de alguns atletas (YANG *et al.* 2003; NIEMI; MAJAMAA, 2005; AHMETOV *et al.*, 2008) ou classificando o desempenho em níveis de rendimento (SANTIAGO *et al.*, 2009). Outras pesquisas com a mesma metodologia de avaliação não encontraram relação entre a frequência genotípica e o desempenho (EYNON *et al.*, 2010; SAUNDERS *et al.*, 2007).

Também como no presente estudo, Saunders *et al.* (2007) também não encontraram diferença entre a frequência alélica em do R ou X entre níveis competitivos superiores, o que não ocorreu com Yang *et al.* (2003) que encontraram aumento da frequência do alelo R em níveis competitivos superiores.

Santiago *et al.* (2008) também avaliaram jogadores de futebol, mas de diferentes divisões do campeonato espanhol. Os autores verificaram que os genótipos RR e RX e a frequência do alelo R de atletas de futebol foram maiores quando comparadas com indivíduos sedentários, e atletas de resistência. Os autores relataram que o percentual de jogadores XX na primeira divisão foi menor. Dados parecidos foram identificados no presente estudo, mas na comparação entre as categorias e não com o grupo controle.

Outros estudos avaliaram de forma transversal a frequência do ACTN3-R/X em atletas de diferentes modalidades e encontraram resultados variados. Tendo sido identificada maior frequência do genótipo ACTN3-RR/RX atletas em modalidades de predominância de força e potência (NIEMI *et al.*, 2005; NORMAN *et al.*, 2009) e do ACTN3-XX em modalidades de predominância de resistência aeróbia

(MACARTHUR; NORTH, 2005). No entanto, nem sempre essa relação pôde ser estabelecida (LUCIA *et al.*, 2006; SAUNDERS *et al.*, 2007; HANSON *et al.*, 2010; PAPARINI *et al.*, 2007; RODRIGUEZ-ROMO *et al.*, 2010), sendo justificada por alguns autores por vezes pelo N pequeno em estudos deste tipo ou pelo baixo nível competitivo dos atletas (LUCIA *et al.*, 2006; HANSON *et al.*, 2010; PAPARINI *et al.*, 2007)

Outra forma de se interpretar os estudos em relação ao rendimento esportivo e genética é a avaliação da pré-disposição gênica de determinadas populações. No presente estudo não houve diferença significativa entre o grupo controle e nenhuma das categorias avaliadas. Tal fato deve ser interpretado com cuidado e não possibilita a afirmação de que existe uma pré disposição da população brasileira para esportes com predominância de força e potência, ou especificamente para o futebol, mas este é mais um dado a ser interpretado.

Scott *et al.* (2010) já encontraram relação entre a frequência do ACTN3-RR entre atletas finalistas olímpicos de provas de curta distância americanos e jamaicanos e das populações destes países. Mas Yang *et al.* (2007) não encontraram a mesma relação entre atletas de resistência e populações africanas. Indicando desta forma que a relação entre populações de determinados países e aptidão gênica para determinada modalidade ainda não pode ser estabelecida com segurança.

O interesse em pesquisas sobre a interferência do perfil genético e sua influência no rendimento esportivo vem aumentando ao longo dos anos (RANKINEN *et al.*, 2006; BRAY *et al.*, 2009) no entanto é fundamental que essas pesquisas aumentem sua qualidade (RANKINEN *et al.*, 2010).

O ACTN3 é um dos genes relacionados ao rendimento esportivo mais estudados nos últimos tempos, mas considerando que já foram catalogados 239 genes relacionados ao sucesso no esporte na atualidade (BRAY *et al.*, 2009), deve-se observar a combinação de mais de um gene para se avaliar a expressão fenotípica.

Avaliando essa interferência da combinação gênica no rendimento esportivo Gómez-Gallego *et al.* (2009) estudaram a expressão do ACTN3 e do ECA em 46 ciclistas comparados com um grupo controle de igual número em relação aos resultados de rendimento em testes físicos. Foi identificado que a combinação genética de ACTN3-RR/RX e ECA-DD apresentou maiores força e potência em

comparação com os grupos de combinação intermediária (ACTN3-RX/RR e ECA-II ou ACTN3-XX e ECA-DD) sendo que os grupos ACTN3-XX e ECA-DD demonstraram maiores valores de capacidade aeróbia. Outros estudos não encontraram associação para o rendimento da mesma combinação gênica (McCAULEY *et al.*, 2010; RODRIGUEZ-ROMO *et al.*, 2010).

Ahmetov *et al.* (2008) sugerem ainda um perfil genético ideal para atletas de características aeróbias/anaeróbias, como no caso dos remadores e jogadores de futebol, sendo que no seu estudo, avaliaram cinco genes relacionados ao rendimento esportivo e identificaram que entre os atletas mais bem posicionados ocorria no máximo a combinação de três destes genes. Concluindo desta forma que a probabilidade de um modelo ideal genotípico ocorrer é rara e a interação com o meio é determinante. Outros estudos também encontraram associação entre o aumento da aptidão aeróbia (AHMETOV *et al.*, 2009) e anaeróbia (EYNON *et al.*, 2010), com o aumento da expressão de genes relacionados ao desempenho de forma combinada.

Tal aspecto ressalta a importância da presença e combinação de um maior número possível de genes relacionados ao rendimento esportivo em modalidades com predominância específica, diminuindo a probabilidade da expressão de um só gene ser responsável por uma maior aptidão aeróbia ou anaeróbia destes atletas.

A alfa-actinina-3 é um componente da linha Z sarcomérica (MACARTHUR; NORTH, 2004), pertencente à família das proteínas ligantes da actina, importante para a manutenção espacial dos miofilamentos de actina, transferência de tração entre os filamentos de actina e a linha Z e também manutenção e reparação miofibrilar (CLARKSON *et al.*, 2005a; DIAS *et al.*, 2007; VINCENT *et al.*, 2007). A sua especialização no ser humano tem relação com a evolução humana e muito provavelmente com fatores de seleção natural (MACARTHUR; NORTH, 2004). Além do papel estrutural e manutenção da integridade mecânica do músculo, possivelmente está também relacionada a outras funções como a sinalização e metabolismo musculares (DIAS *et al.*, 2007; LEK; NORTH. 2010; MACARTHUR; NORTH, 2004).

A alfa-actinina tem sido relacionada a alterações das propriedades contráteis do sarcômero nas fibras do tipo II, efeitos sobre a diferenciação do tipo de fibra muscular ou hipertrofia através de interações indiretas entre alfa-actinina-3 e proteínas de sinalização como o calcineurina, modificação da habilidade para resistir

e/ou recuperar-se do dano muscular induzido pelo exercício, ou mudanças para o perfil metabólico das fibras musculares através de interações alteradas com enzimas metabólicas como a frutose-1,6-bisfosfatase e fosforilase (LEK; NORTH, 2010; MACARTHUR; NORTH, 2007). Nenhum destes cenários é mutuamente exclusivo, e é provável que o mecanismo real seja uma combinação de vários destes processos (MACARTHUR; NORTH, 2004).

Estudos com modelo animal têm demonstrado tendências mais oxidativas da musculatura esquelética em ratos knockout ACTN-XX (CHAN *et al.*, 2008; 2009; MACARTHUR *et al.*, 2008; QUINLAN *et al.*, 2010), como maior atividade enzimática oxidativa, maiores concentrações de glicogênio, tempo de relaxamento aumentado e maior recuperação à fadiga. Tais características apontam para uma interferência negativa do ACTN3-XX com esportes de força e potência, mas indicam uma interferência positiva para atividades de resistência. Estes aspectos não se diferenciaram em relação ao gênero, mas se agravaram em relação à idade (CHAN *et al.*, 2010).

A avaliação do perfil genético do indivíduo pode ser importante para que ele seja direcionado, caso seja de interesse dele, para modalidades em que ele apresente maior aptidão e que isso seja uma forma de descoberta ou simplesmente direcionamento de um talento em potencial. Em caso de atletas que tenham o seu perfil genético determinado a adaptação do seu programa de treinamento ou períodos de recuperação ao longo da competição, pode ser feita se estes parâmetros forem considerados (MACARTHUR; NORTH, 2007). Tendo sido identificado maior propensão a microtrauma muscular dos indivíduos ACTN3-XX após exercícios excêntricos em humanos (LEK; NORTH, 2010; VICENT *et al.*, 2010), o que não foi confirmado em outros estudos (CLARKSON *et al.*, 2005a) em especial com modelo animal (CHAN *et al.*, 2008).

O gene R577X expresso de forma homozigota (XX) determina a deficiência da proteína alfa-actinina-3 em ~18% da população de origem européia saudável, sendo que outras populações apresentam diferentes frequências (MILLS *et al.*, 200) como no caso dos etíopes (~11%) (YANG *et al.*, 2007). No presente estudo o ACTN3-XX apresentou uma frequência de 14% e não diferiu dos grupos de jogadores de futebol.

A deficiência na alfa-actina-3 é relacionada à redução do rendimento das fibras musculares rápidas em atletas e não atletas. Muito provavelmente a

determinação do ACTN3 seja um fator de seleção de atletas, mas isso ainda não é confiável, tendo em vista que a expressão gênica é responsável por uma parte do sucesso do atleta, e as questões ambientais não podem ser desprezadas (MACARTHUR; NORTH, 2005; 2007; SAUNDERS *et al.*, 2007).

## 4.2 Estudo 2: Associação do desempenho de jogadores de futebol em testes físicos de força, velocidade e resistência com a expressão do ACTN3

### 4.2.1 Resultados estudo 2

Os dados referentes às características da amostra utilizada estão representados na tabela 3.

Os valores de Consistência (ICC, 1.1) e o Erro padrão de medida (EPM) (WEIR, 2005) para os resultados dos testes físicos foram; V10: 0,98 e 2,5%, V20: 0,96 e 2,9%, V30: 0,96 e 2,8%, SJ: 0,94 e 3,5%, CMJ: 0,95 e 3,1% e Yoyo: 0,92 e 3,6%.

As frequências genotípicas foram comparadas entre os grupos de acordo com sua classificação de desempenho nos testes físicos simultaneamente e não foram encontradas associações entre as variáveis em estudo.

Como pode ser observado nas tabelas 4 e 5 não foram identificadas diferenças entre as frequências genotípicas nem alélicas entre os diferentes quartis de classificação de desempenho

Tabela 3- Características da amostra. Os dados referentes à estatura (cm), peso (kg), composição corporal (%G) e idade para as categorias juvenil (JV), júnior (JR) e profissionais (PRO).

<b>Categoria (N)</b>	<b>Massa corporal (kg)</b>	<b>Estatura (cm)</b>	<b>G%</b>
JV (32)	73,30 ± 6,79	181,33 ± 7,04	9,15 ± 1,89
JR (38)	73,36 ± 7,90	180,61 ± 8,20	9,21 ± 2,08
Prof (68)	75,50 ± 4,89	185,64 ± 7,05	8,11 ± 1,33

Dados apresentados em média e desvio padrão.

TABELA 4 - Comparação das Frequências genotípicas (ACTN3- RR, RX, XX) de jogadores classificados de acordo com o seu desempenho (1º, 2º, 3º e 4º quartis) nos diferentes testes físicos. Valores apresentados em valores absolutos (N) e relativos (%).

	Gen.	Quartis de desempenho				Valor p
		4º N(%)	3º N(%)	2º N(%)	1º N(%)	
<b>V10</b>	RR	16(53)	14(47)	17(57)	9(30)	<b>0,384</b>
	RX	13(43)	13(43)	10(33)	18(60)	
	XX	1(3)	3(10)	3(10)	3(10)	
	Total	30(100)	30(100)	30(100)	30(100)	
<b>V20</b>	RR	20(67)	14(47)	13(43)	9(30)	<b>0,176</b>
	RX	8(27)	14(47)	15(50)	17(57)	
	XX	2(7)	2(7)	2(7)	4(13)	
	Total	30(100)	30(100)	30(100)	30(100)	
<b>V30</b>	RR	17(57)	17(57)	13(43)	9(30)	<b>0,361</b>
	RX	11(37)	10(33)	15(50)	18(60)	
	XX	2(7)	3(10)	2(7)	3(10)	
	Total	30(100)	30(100)	30(100)	30(100)	
<b>Cap. Aeróbia</b>	RR	13(42)	15(48)	12(40)	16(53)	<b>0,409</b>
	RX	13(42)	14(45)	14(47)	14(47)	
	XX	5(16)	2(6)	4(13)	0(0)	
	Total	31(100)	31(100)	30(100)	30(100)	
<b>CMJ</b>	RR	18(56)	17(53)	13(42)	11(35)	<b>0,141</b>
	RX	11(34)	14(44)	17(55)	14(45)	
	XX	3(9)	1(3)	1(3)	6(19)	
	Total	32(100)	32(100)	31(100)	31(100)	
<b>SJ</b>	RR	7(47)	7(47)	10(67)	4(29)	<b>0,163</b>
	RX	7(47)	7(47)	5(33)	6(43)	
	XX	1(7)	1(7)	0(0)	4(29)	
	Total	15(100)	15(100)	15(100)	14(100)	

Teste Qui – Quadrado \*p≤0,05.

TABELA 5 - Comparação das Frequências Alélicas (R e X) de jogadores classificados de acordo com o seu desempenho (1º, 2º, 3º e 4º quartis) nos diferentes testes físicos. Valores apresentados em valores absolutos (N) e relativos (%).

	Alelo	Quartis de desempenho				Valor p
		4º N(%)	3º N(%)	2º N(%)	1º N(%)	
<b>V10</b>	R	45(75)	41(68)	44(73)	36(60)	<b>0,280</b>
	X	15(25)	19(32)	16(27)	24(40)	
	Total	60(100)	60(100)	60(100)	60(100)	
<b>V20</b>	R	48(80)	42(70)	41(68)	35(58)	<b>0,084</b>
	X	12(20)	18(30)	19(32)	25(42)	
	Total	60(100)	60(100)	60(100)	60(100)	
<b>V30</b>	R	45(75)	44(73)	41(68)	36(60)	<b>0,280</b>
	X	15(25)	16(27)	19(32)	24(40)	
	Total	60(100)	60(100)	60(100)	60(100)	
<b>Cap. Aeróbia</b>	R	39(63)	44(71)	38(63)	46(77)	<b>0,300</b>
	X	23(37)	18(29)	22(37)	14(23)	
	Total	62(100)	62(100)	60(100)	60(100)	
<b>CMJ</b>	R	47(73)	48(75)	43(69)	36(58)	<b>0,162</b>
	X	17(27)	16(25)	19(31)	26(42)	
	Total	64(100)	64(100)	62(100)	62(100)	
<b>SJ</b>	R	21(70)	21(30)	25(83)	14(50)	<b>0,056</b>
	X	9(30)	49(70)	5(17)	14(50)	
	Total	30(100)	70(100)	30(100)	28(100)	

Teste Qui – Quadrado \*p≤0,05.

#### 4.2.2 Discussão estudo 2

No presente estudo esperava-se identificar maiores frequências dos genótipos RR e RX, e do alelo R em grupos de desempenho superiores nos testes de força e velocidade considerando o perfil de força e velocidade do futebol. Também esperava-se identificar maiores frequências do genótipo XX e do alelo X

em grupos de desempenho superior para o teste de capacidade aeróbia. No entanto nenhuma das expectativas se confirmou para jogadores de futebol.

A não identificação da relação da frequência genotípica com o desempenho físico corrobora outros estudos que também não encontraram associação do nível competitivo de atletas em testes de velocidade de 30 m e saltos (SJ e CMJ) (RUIZ *et al.*, 2010; SANTIAGO *et al.*, 2009), ou do desempenho em provas de longa distância como o ironman (SAUNDERS *et al.*, 2007) com a frequência genotípica ou alélica do ACTN3. Corrobora também estudos que avaliaram indivíduos saudáveis e não foram encontradas diferenças entre os genótipos do ACTN3 em relação a testes de velocidade e potência (SANTIAGO *et al.*, 2009; MCCAULEY *et al.*, 2009; NORMAN *et al.*, 2009), ou consumo máximo de oxigênio (LUCIA *et al.*, 2006)

Os dados do presente estudo vão de encontro aos achados de Yang *et al.* (2003) que também relacionaram a frequência genotípica e alélica do ACTN3 com o nível competitivo de atletas de diferentes provas com predominância de resistência e força. No entanto os autores identificaram um aumento da frequência do genótipo ACTN3-RR e do alelo R em indivíduos atletas especialistas em força e potência de maiores níveis competitivos e aumento da frequência do ACTN3-XX e alelo X em atletas de modalidades de predominância de resistência.

Outras investigações também encontraram relação entre a frequência genotípica do ACTN3 e o desempenho em modalidades como corridas (NIEMI; MAJAMAA, 2005), remo (AHMETOV *et al.*, 2008) e indivíduos saudáveis (MORAN *et al.*, 2007). Considerando que todas essas modalidades também são modalidades de caráter individual.

Deve-se observar que os testes aplicados na amostra deste estudo são testes de campo que apresentam grande aplicabilidade e praticidade para este esporte. No entanto avaliações de campo apresentam uma variabilidade de medida maior do que testes padronizados de laboratório.

Ainda se faz necessário considerar que aspectos coordenativos em especial no que se refere à estratégia de execução, podem interferir no desempenho em ações de corrida e salto que são multiarticulares (RODRIGUEZ-ROMO *et al.*, 2010), que foram utilizados no presente estudo, diferentes de ações uniarticulares utilizadas comumente em laboratório.

Em testes isocinéticos em laboratório homens (VINCENT *et al.*, 2007) e mulheres (WALSH *et al.*, 2008) do genótipo ACTN3-RR demonstraram melhor

desempenho em velocidades angulares superiores. O que não foi observado por Hanson *et al.* (2010) em testes isocinético e de Wingate, mas realizado em jovens saudáveis.

Outros estudos que não encontraram associação entre o desempenho e a expressão genotípica do ACTN3 têm justificado o fato pelo N pequeno ou pelo baixo nível competitivo dos atletas avaliados (LUCIA *et al.*, 2006; HANSON *et al.*, 2010; PAPARINI *et al.*, 2007)

Garganta *et al.*, (2002) afirmam que o futebol é uma modalidade esportiva com grande variedade motora. Devido ao fato de cada posição tática desempenhar funções específicas em um jogo, supõe-se que ocorra uma minimização da sobreposição do treinamento esportivo sobre a potencialidade genética. O que não ocorre em modalidades mais puras de expressão da força ou resistência, como no caso do atletismo.

Considerando que o gene do ACTN3 influencia na força muscular em alta potência, esperava-se que os indivíduos RR e RX apresentassem maior frequência nos grupos de maior desempenho nos testes CMJ, V20 e V30. Tal fato se deve porque nos testes CMJ, V20 e V30 ocorre uma maior atuação do padrão de contração muscular no ciclo de alongamento encurtamento, ações de alta potência, em comparação aos testes de SJ e V10 (COELHO *et al.*, 2011, VESCOVI *et al.*, 2008), o que seria influenciado pela presença da alfa-actinina-3 genótipos RR e RX.

Tem sido sugerido com modelo animal (ALMEIDA-SILVEIRA *et al.*, 1994), mas não em humanos (LAMAS *et al.*, 2007), que o treinamento de pliometria provoca maior hipertrofia em fibras do tipo II, aperfeiçoamento da conformidade dos componentes elásticos em série, diminuindo o tempo de contração aumentando o rendimento no CAE. O que pode ser considerado uma adaptação ao treinamento de pliometria, inerente ao futebol. A alfa-actinina-3 tem por característica tolerar tração entre os filamentos actina ligados à linha Z em altas magnitudes de contração especificamente em fibras do tipo II. Desta forma espera-se que os indivíduos RR/RX, que expressam a alfa-actina, apresentem percentuais de adaptação ao treinamento pliométrico maiores em comparação aos indivíduos XX, apresentando maiores desempenhos em ações com esse padrão de ação muscular. No entanto isso não pode ser comprovado no presente estudo.

Muito provavelmente a determinação do ACTN3 seja um fator de seleção de atletas, mas isso ainda não é confiável, tendo em vista que a expressão genética é

responsável por uma parte do sucesso do atleta, e as questões ambientais não podem ser desprezadas (MACARTHUR; NORTH, 2007).

É importante ressaltar que múltiplos fatores biológicos e ambientais influenciam também o rendimento esportivo e que a análise de um único gene de forma isolada, não necessariamente determina o fenótipo de um atleta (MACARTHUR; NORTH, 2005; 2007; SAUNDERS *et al.*, 2007).

### 4.3 Estudo 3: Relação da expressão do ACTN3 com respostas hormonais e indicadores do dano muscular decorrente de um jogo de futebol

#### 4.3.1 Resultados estudo 3

Participaram do estudo 30 indivíduos jogadores de futebol em que as características são apresentadas na tabela 6.

TABELA 6- Características da amostra. Os dados referentes à estatura (cm), peso (kg), composição corporal (%G) e idade para as categorias sub-15.

Gen. (N)	Idade	Massa c. (kg)	Estatura (cm)	G(%)
RR/RX (20)	15,50 ± 0,50	67,92 ± 6,52	175,57 ± 6,38	10,21 ± 1,16
XX (10)	15,83 ± 0,25	66,30 ± 4,69	173,25 ± 8,66	9,95 ± 2,01

Dados apresentados em média e desvio padrão.

Na tabela 7 são apresentados os resultados das respostas hormonais e de dano muscular dos diferentes agrupamentos genotípicos (RR/RX e XX) nos diferentes momentos referentes ao jogo (pré, pós, 2 e 4h após).

Como pode ser observado, os valores de alfa-actina não apresentaram diferença intergrupos e nem intragrupo ao longo das fases avaliadas (gráfico 4). Os valores de IL-6 também não apresentaram diferença intergrupos em nenhuma das fases, mas no grupo XX a situação pós foi maior do que as demais. Indicando um aumento da concentração de IL-6 após o jogo, mas retorno aos níveis basais já em duas horas após (tabela 7, gráfico 3).

TABELA 7 – Valores de alfa-actina, Interleucina 6 (IL-6), creatina quinase (CK), Testosterona, Cortisol e relação Testosterona/Cortisol (T/C) pré e pós jogo entre os agrupamentos genótipos RR/RX e XX.

marcador	Gen.	Pré	Pós	2h	4h
IL-6(pg/dL)	RR/RX	2,00 ± 0,82	3,59 ± 0,82	3,11 ± 0,75	3,18 ± 0,85
	XX	3,99 ± 2,31	5,93 ± 1,74 <sup>#</sup>	3,33 ± 0,89 <sup>†</sup>	3,02 ± 0,99 <sup>†</sup>
α-act.(U/L)	RX/RR	0,082 ± 0,003	0,076 ± 0,004	0,074 ± 0,003	0,085 ± 0,008
	XX	0,091 ± 0,006	0,090 ± 0,009	0,092 ± 0,007	0,093 ± 0,006
CK(U/L)	RX/RR	418,57 ± 47,94 <sup>*</sup>	591,89 ± 72,92 <sup>*#</sup>	600,16 ± 72,73 <sup>*#</sup>	541,21 ± 85,32 <sup>#</sup>
	XX	249,10 ± 22,05	345,10 ± 32,43 <sup>#</sup>	353,20 ± 37,89 <sup>#</sup>	367,60 ± 39,28 <sup>#</sup>
Test.(ng/dL)	RX/RR	444,95 ± 46,35	615,24 ± 69,77 <sup>#</sup>	570,69 ± 79,52 <sup>*#</sup>	515,40 ± 89,94 <sup>*#</sup>
	XX	404,97 ± 52,70	434,60 ± 56,39	315,20 ± 51,96	328,42 ± 44,60
Cort.(µg/dL)	RX/RX	10,72 ± 0,71 <sup>*</sup>	13,74 ± 1,06 <sup>#</sup>	6,81 ± 0,47 <sup>#†</sup>	5,44 ± 0,52 <sup>#†</sup>
	XX	14,89 ± 1,12	14,12 ± 1,51	9,49 ± 1,25 <sup>#†</sup>	4,75 ± 0,78 <sup>#†‡</sup>
Rel. T/C	RX/RR	41,69 ± 3,89	36,77 ± 6,98	42,04 ± 5,69	60,03 ± 6,70
	XX	33,24 ± 4,35	34,89 ± 5,66	27,77 ± 4,52	74,96 ± 14,11

\* Diferença entre os genótipos na mesma fase. <sup>#</sup> dif em relação à primeira fase. <sup>†</sup> Diferença em relação à segunda fase. <sup>‡</sup> Diferença em relação à terceira fase. Valores apresentados em média (X) e erro padrão (EP).

As concentrações de CK foram maiores em relação à fase pré em todas as outras fases em ambos os grupos. Entre os grupos genéticos, desde a fase pré até a fase 2 h as concentrações de CK foram maiores para o grupo RR/RX em comparação ao grupo XX (gráfico 5).

Foi observado um aumento da concentração de testosterona após o jogo e uma estabilização até 4 h após. Além deste fato, observou-se que nas fases 2 h e 4 h a concentração de testosterona foi maior no grupo RR/RX em comparação com o grupo XX. No grupo XX não foi observada diferença entre as fases (gráfico 6).

As concentrações de cortisol no grupo RR/RX foram maiores na situação pós em comparação com a fase pré, 2 h e 4 h. já no grupo XX a fase 2 h foi menor do que as fases pré e pós, e a fase 4 h foi menor do que as demais. Tal fato indica uma diminuição da concentração de cortisol ao longo de 4 h após o jogo. A fase pré entre

os grupamentos genótipos apresentou menores concentrações de cortisol para o grupo RR/RX (gráfico 7).

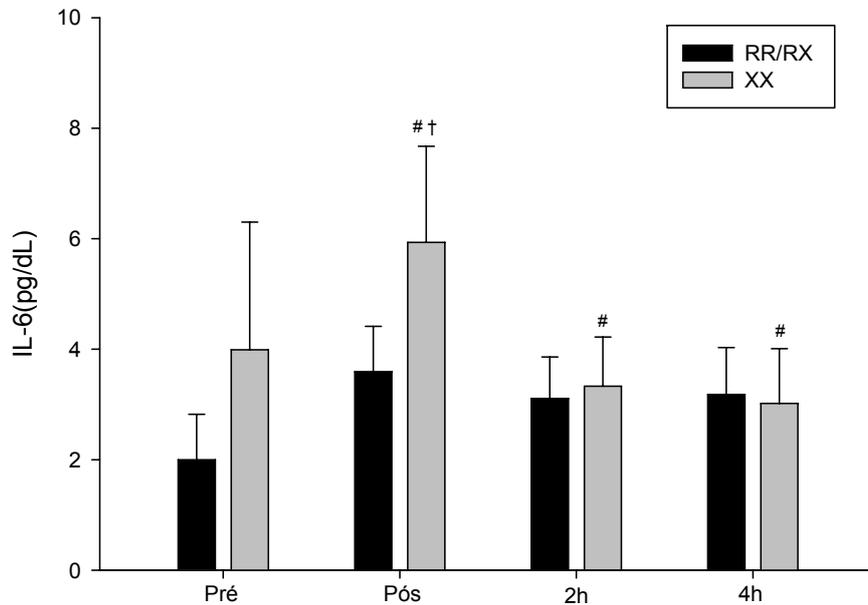


GRÁFICO 3 – Concentrações de IL-6 nas fases Pré, Pós, 2 e 4 h de jogo. \* Diferença entre os genótipos na mesma fase. # Diferença em relação à primeira fase. † Diferença em relação à segunda fase. Valores apresentados em média (X) e erro padrão (EP).

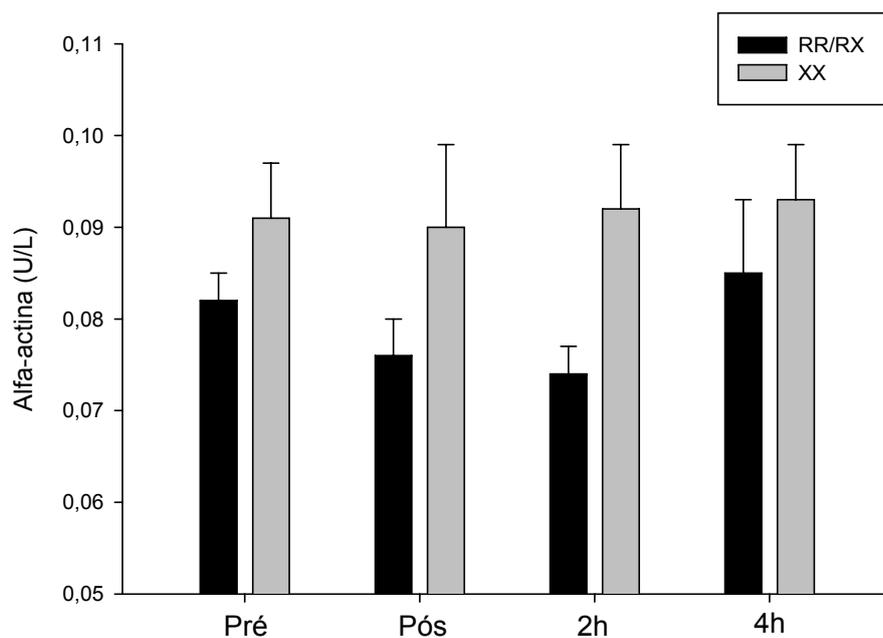


GRÁFICO 4 – Concentrações de alfa-actina nas fases Pré, Pós, 2 e 4 h de jogo. Valores apresentados em média (X) e erro padrão (EP).

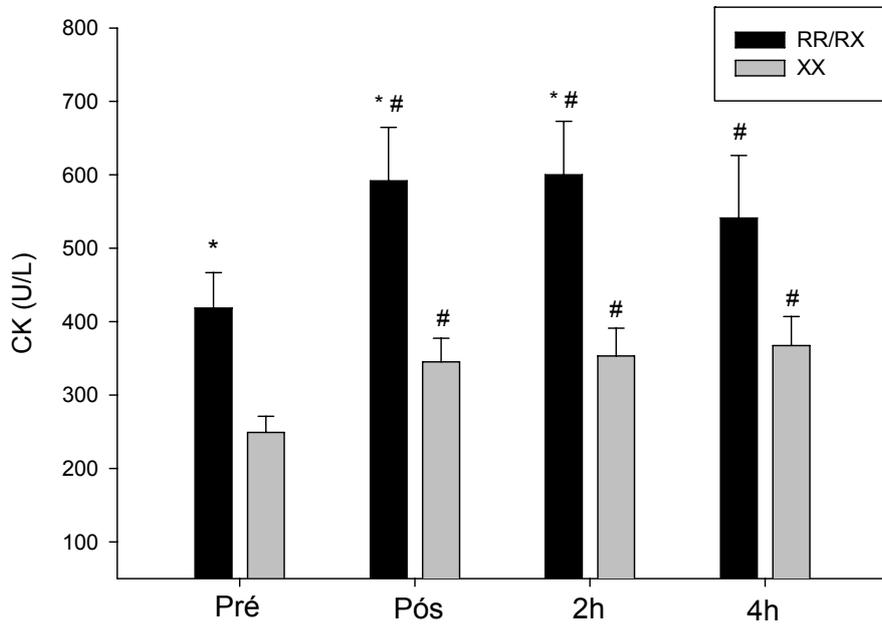


GRÁFICO 5 – Concentrações de CK nas fases Pré, Pós, 2 e 4 h de jogo. \*Diferença entre os genótipos na mesma fase. # dif em relação à primeira fase. Valores apresentados em média (X) e erro padrão (EP).

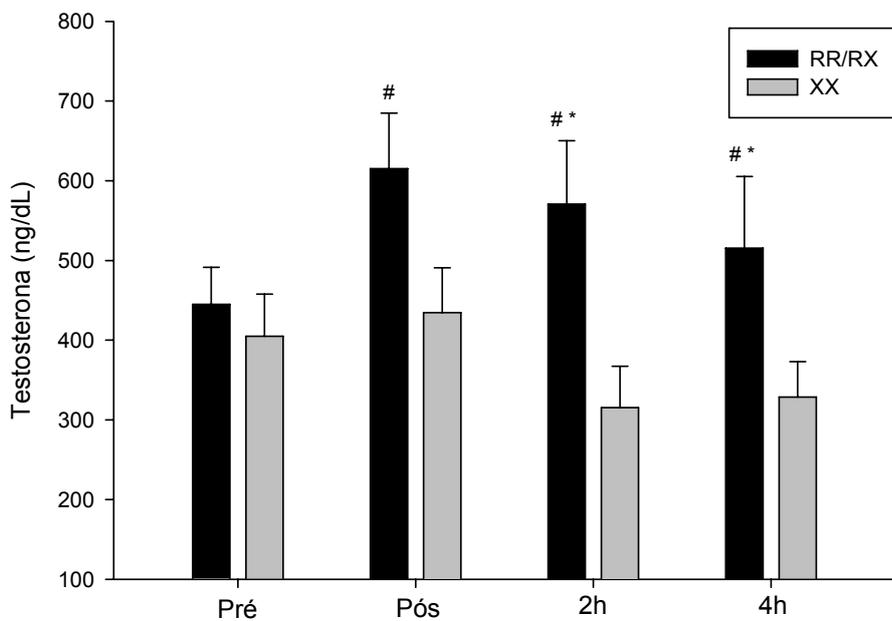


GRÁFICO 6 – Concentrações de testosterona nas fases Pré, Pós, 2 e 4 h de jogo. \* Diferença entre os genótipos na mesma fase. # dif em relação à primeira fase. Valores apresentados em média (X) e erro padrão (EP).

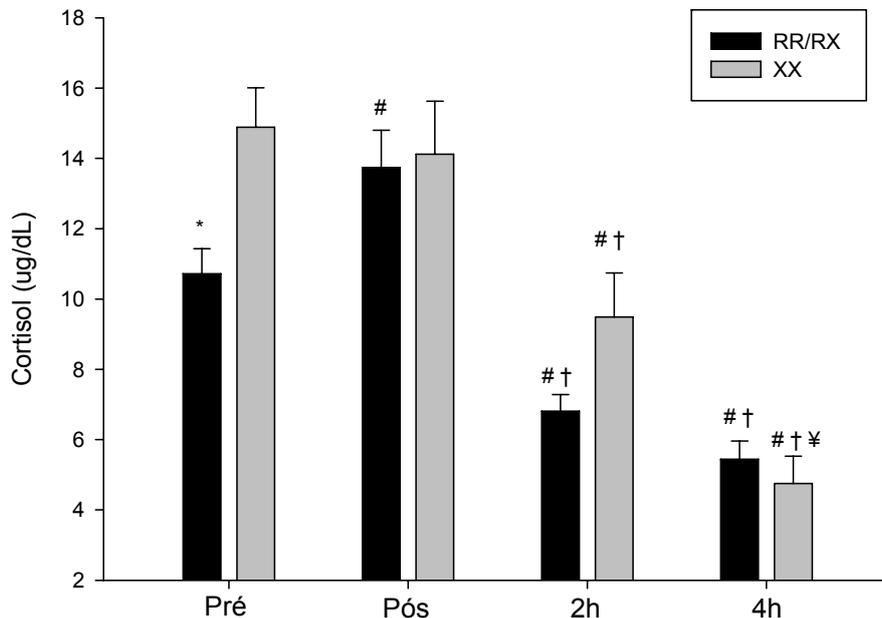


GRÁFICO 7 – Concentrações de Cortisol nas fases Pré, Pós, 2 e 4 h de jogo. \* Diferença entre os genótipos na mesma fase. # dif em relação à primeira fase. † Diferença em relação à segunda fase. ‡ Diferença em relação à terceira fase. § Diferença em relação à quarta fase. Valores apresentados em média (X) e erro padrão (EP).

A Relação T/C também não apresentou diferença entre as fases e nem entre os grupos genotípicos em nenhuma das fases. No entanto, como esta relação é dependente dos valores de testosterona e cortisol, pode-se observar valores absolutos maiores do grupo RR/RX. Identificou-se uma diminuição de cerca de 10% na relação T/C pós jogo do grupo RR/RX. No grupo XX na fase 2 h houve uma diminuição de cerca de 20%. Em ambos os grupos 4 h após o jogo a relação T/C indicou uma situação anabólica pelo seu aumento (gráfico 8).

A tabela 8 apresenta os valores de monitoramento da intensidade média dos jogos monitorados no presente estudo representada como FC e distância percorrida. Como pode ser observado no gráfico 9 o comportamento e os valores de FC são compatíveis com outros estudos que descrevem essa variável decorrente de jogos competitivos (MORTIMER *et al.*, 2006) ou simulados (FLANAGAN; MERRICK, 2002). O que indica que mesmo tendo sido jogos amistosos a intensidade de esforço dos jogadores foi comparável a intensidade de jogos oficiais.

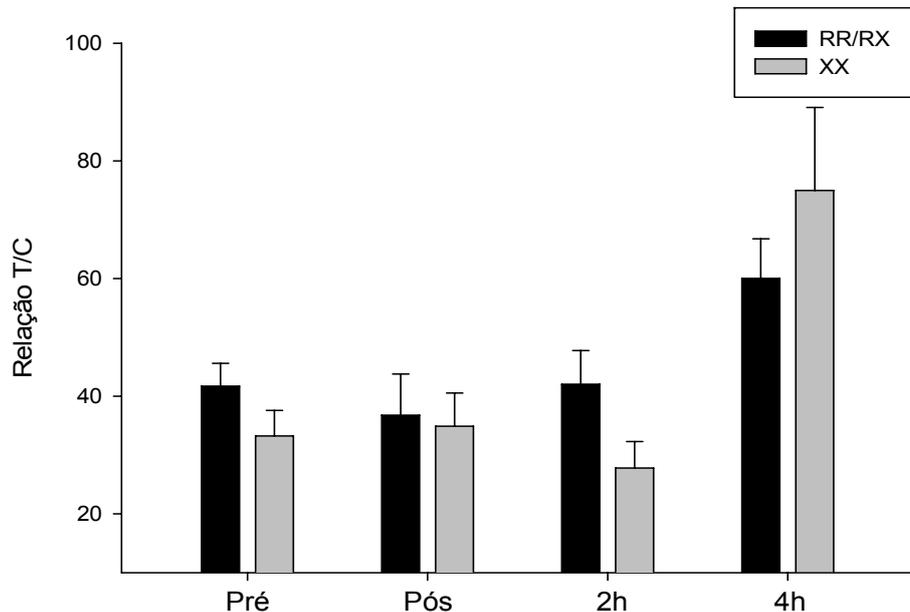


GRÁFICO 8 – Relação T/C nas fases Pré, Pós, 2 e 4 h de jogo. Valores apresentados em média (X) e erro padrão (EP).

TABELA 8 - Valores de frequência cardíaca (BPM e %FCMáx) e distância percorrida (km) nos jogos monitorados.

	Bpm	%FCMáx	Distância (km)
X e DP	167,7± 9,97	84,41 ± 2,53	8,2 ± 1,3
Variação	149 - 186	78,83 - 87,31	6,5 - 9,8

Dados apresentados como média e desvio padrão.

A distância percorrida observada foi menor em valores absolutos quando comparada a outros relatos na literatura (Tabela 8) (BARROS *et al.* 2007). No entanto deve-se observar que esses dados são referentes a jogos de categorias mais velhas e por conseqüência durações de jogo maiores. Quando a distância percorrida no presente estudo é avaliada em valores proporcionais de tempo de duração, ela é compatível com os valores relatados para jogos com 90min de duração.

A tabela 9 apresenta os valores de monitoramento das condições ambientais com base no índice de bulbo úmido e temperatura de globo.

TABELA 9 - Condições ambientais média dos jogos monitorados. Temperatura seca, Temperatura úmida, Índice de bulbo úmido e temperatura de globo.

Temperaturas	Seca (°C)	Úmida (°C)	Bulbo (°C)	IBUTG
X e DP	25,98 ± 1,91	22,96 ± 1,11	31,93 ± 2,36	25,03 ± 1,33
Variação	20,30 - 28,55	18,63 - 26,83	26,45 - 36,80	21,54 - 29,12

Dados apresentados em media e desvio padrão.



GRÁFICO 9- Monitoramento da FC de um dos jogadores avaliados no presente estudo. No eixo x é apresentada a média da FC e a duração do jogo.

### 4.3.2 Discussão estudo 3

#### Marcadores de dano muscular (CK e alfa-actina)

O futebol é um esporte coletivo caracterizado por esforços intermitentes e de alta intensidade (GREIG *et al.*, 2006). Várias movimentações demandam muita força e potência implicando em ações do tipo excêntricas, observadas em frenagens e saltos (STOLEN *et al.*, 2005; ISPIRLIDIS *et al.*, 2008). Estas ações em treinamentos e jogos estão relacionadas ao aumento do microtrauma muscular e aumento de indicadores sanguíneos como elevação de citocinas, proteínas contratéis e hormônios (CLARKSON; HUBAL, 2002; ISPIRLIDIS, 2008; ANDERSSON *et al.*, 2010).

Em função das propriedades mecânicas da alfa-actinina-3 no processo de ancoramento dos filamentos de actina na linha Z, tem sido postulado que ela pode

conferir maior capacidade de absorção e transmissão da força nas fibras tipo II promovendo um fator de proteção maior contra danos musculares (LEK; NORTH, 2010; LINNEMANN *et al.*, 2010; MILLS *et al.*, 2001; MACARTHUR; NORTH, 2004; VICENT *et al.*, 2010).

No presente estudo esperava-se que o grupo XX apresentasse maiores concentrações de marcadores de microtrauma muscular (CK e alfa-actina), o que pode ser observado em todas as fases com exceção da fase 4 h em relação à CK. Ainda assim não pode ser afirmado que o grupo RR/RX tenha apresentado maiores magnitudes de microtrauma dano muscular pelo fato de que desde a fase pré o grupo RR/RX já havia apresentado maiores concentrações de CK. Além disso, o aumento entre as fases pré e pós para ambos os grupo foi proporcional, de cerca de 40%, que se manteve até a fase 4 h.

Clarkson *et al.* (2005) relataram não haver maior propensão de microtrauma muscular entre diferentes grupos genotípicos do ACTN3 por não identificar diferentes concentrações plasmáticas de CK e mioglobina após uma atividade excêntrica. Contrastando com, Vicent *et al.* (2010) que identificaram maiores concentrações de CK pós atividade excêntrica em indivíduos XX sugerindo um papel protetor da alfa-actinina-3 em treinamentos excêntricos e uma melhor sinalização de reparo tecidual.

Em animais KO para o alelo R do ACTN3, foi identificada força muscular diminuída, menor diâmetro das fibras musculares tipo II, maior recuperação à fadiga por maior atividade de enzimas oxidativas e diminuição da atividade glicolítica, (MACARTHUR *et al.* 2007; MACARTHUR *et al.* 2008; QUINLAM *et al.*, 2010; CHAN *et al.*, 2008). Também foi identificado um retardo na recaptção de cálcio  $Ca^{+2}$  pelo reticulo sarcoplasmático, sem alterar a proporção de tipos de fibra (LEK; NORTH, 2010; CHAN *et al.*, 2010; QUINLAM *et al.*, 2010; SETO *et al.*, 2010).

Estas alterações determinadas pela ausência da alfa-actinina-3 nas fibras tipo II, considerando que essa proteína além de desempenhar uma função mecânica também atua como sensor metabólico (LEK; NORTH, 2010), dificultariam as respostas musculares em contrações excêntricas ou de alta potência nos indivíduos XX, o que levaria a uma sobrecarga destas fibras e consequentemente um quadro catabolico maior.

Deve-se considerar que as concentrações de CK responsivas à atividade física sofrem influência de vários fatores como raça, gênero, volume muscular,

temperatura e estado de treinamento (BRANCACCIO; MAFFULLI; LIMONGELLI, 2007), sendo que nem todos puderam ser padronizados ou mensurados no presente estudo. Tal fato pode ter interferido para a identificação de maiores concentrações de CK do grupo RR/RX na fase pré, bem como nas demais.

Em atividades como no caso do futebol, que é considerado máximo pelo caráter de disputa, os jogadores lidam com a fadiga a todo o momento e realizam uma auto regulação da intensidade de esforço de forma estratégica para que tenham um bom desempenho durante o mesmo.

O exercício de intensidade autorregulada é caracterizado quando em determinada atividade objetiva-se o máximo desempenho no menor tempo possível cabendo ao indivíduo estabelecer estratégias adequadas para tal (MARINO, 2004). Nesse tipo de exercício o sistema nervoso central (SNC) seleciona e ajusta a intensidade do exercício baseado em diversas informações de sistemas fisiológicos periféricos, do ambiente e de acordo com a experiência prévia do praticante (GIBSON *et al.*, 2006). Isso permitiria uma estratégia ótima para que a tarefa fosse completada eficientemente, sem que houvesse prejuízos para os sistemas fisiológicos (GIBSON; NOAKES, 2004).

Considerando que a percepção de fadiga se relaciona então com a avaliação da relação risco/benefício (RODRIGUES; SILAMI-GARCIA, 1998) inerentes à realização ou continuidade da ação, a percepção da fadiga por indivíduos mais áptos, supostamente neste caso os Indivíduos RR/RX, pode ser favorável em atividades de força e potência, inerentes ao futebol. Essa percepção favorável pode implicar em um maior volume de atividades com essas características ou mesmo uma maior magnitude de força. Este quadro de maior exigência musculoesquelética, em especial de fibras do tipo II, induziria a um um alto grau de microtrauma muscular

Este aspecto poderia ter inteferido nas respostas de maiores concentrações de CK na fase pré do grupo RR/XX, já que estes valores correspondem ao estado de treinamento dos atletas em decorrência da temporada competitiva em andamento, bem como nas maiores concentrações de CK pós jogo deste grupo em valores absolutos.

Outro fato que reforça o exposto anteriormente é que quando se observa valores relativos os aumentos de CK para ambos os grupos pós jogo estes foram proporcionais em cerca de 40% em relação a fase pré. Ou seja, atletas mais fortes

desempenhariam atividades com maior intensidade absoluta gerando respostas de marcadores absolutas maiores e respostas relativas similares para o caso de atividades com intensidade auto-regulada como o futebol.

Este cenário se difere como no caso de um volume de saltos e sprints controlados para jogadores de futebol em que desta forma os indivíduos XX apresentaram maiores concentrações de marcadores de dano muscular com CK e alfa-actina (PIMENTA *et al.*, 2011). Ou ainda no caso de atividades mais padronizadas como testes isoscínéticos (VICENT *et al.*, 2010; CLARKSON *et al.*, 2005).

O grupo RR/RX no presente estudo apresentou valores próximos aos valores que vêm sendo encontrados no monitoramento pós jogos de futebol profissional na atualidade (COELHO *et al.*, 2011; MOUGIOS *et al.*, 2007).

Martínez-Amat, (2005) sugerem que a alfa-actina fosse um marcador específico do dano muscular por ser facilmente identificável e específico da musculatura. Estes autores afirmam isso por terem identificado maiores concentrações de alfa-actina e CK em esportistas em relação a indivíduos sedentários. No entanto, especula-se sobre o grande número de fatores que interferem na liberação de CK. Também Martínez-amat *et al.* (2007) encontraram maiores concentrações de alfa-actina em indivíduos com lesão muscular.

No presente estudo não foi encontrada diferença entre as fases posteriores em relação à fase pré, nem entre os grupos nas respectivas fases. Desta forma, no presente estudo, a alfa-actina muscular não se representou como um bom marcador de microtrauma muscular em decorrência de um jogo de futebol desta categoria. Já a CK no presente estudo se apresentou responsiva ao exercício avaliado.

## **IL-6**

No presente estudo a IL-6 não apresentou diferença entre as fases no grupo RR/RX e nem entre os grupos. No entanto, pode-se observar que na fase pré e na fase pós os valores do grupo XX são quase o dobro da concentração em relação ao grupo RR/RX. Justamente pela grande variabilidade da IL-6 e dificuldade de mensuração em soro humano normalmente essa variável biológica é considerada para comparações como quantidade de vezes de aumento em relação ao repouso ou grupo controle (BANZET *et al.*, 2005; FEBBRAIO; PEDERSEN, 2002).

No grupo XX observou-se um aumento significativo da concentração de IL-6 no momento pós jogo, que retornou aos valores basais já em duas horas após a atividade. O mesmo comportamento cinético de aumento pós atividade foi observado com jogadores de futebol masculinos (ISPIRLIDIS *et al.*, 2008) e femininos (ANDERSSON *et al.*, 2010) e também em maratonistas (OSTROWSKI *et al.*, 1998 a, b).

A IL-6 derivada do exercício também desempenha papéis antiinflamatórios, mas sua principal função neste âmbito é de manutenção de substratos energéticos para realização da atividade (FISCHER, 2006). Sua produção tem relação com a sinalização de cálcio intracelular. Em atividades de longa duração a sustentação da disponibilidade de cálcio ao longo do tempo é característica, sendo este um cenário propício para a produção de IL-6. Por questões de padrão de recrutamento e adaptações bioquímicas este perfil de atuação é referente às fibras do tipo I.

Pelo exposto, e não por acaso, a produção de IL-6 e IL-6 mRNA ocorre principalmente na musculatura com maior predominância de fibras tipo I (BANZET *et al.*, 2005; PLOMGAARD; PENKOWA; PEDERSEN, 2005), em atividades intensas de longa duração (EDWARDS *et al.*, 2006), intermitentes (MEYER *et al.*, 2001) em especial com pausas diminuídas (RONSEN *et al.*, 2002), situação que caracteriza alta demanda e gradiente de cálcio intracelular desencadeando a produção de IL-6.

Tendo em vista que o genótipo XX proporciona características oxidativas das fibras músculo-esqueléticas do tipo II, sem interferir no percentual de distribuição das mesmas (CHAN *et al.*, 2008; 2010; MACARTHUR *et al.*, 2008; QUINLAN *et al.*, 2010) sugere-se que esse perfil é característico para uma maior produção de IL-6 para a mesma atividade (BANZET *et al.*, 2005; PLOMGAARD; PENKOWA; PEDERSEN, 2005). Tal fato justifica que os jogadores do grupo XX tenham apresentado diferença das concentrações de IL-6 pré e pós jogo e o grupo RR/RX não (gráfico 3) e um aumento da concentração em número de vezes maior que o grupo RR/RX.

## **Cortisol**

Alterações no equilíbrio hormonal anabólico-catabólico e mediadores inflamatórios podem ser usados como uma ferramenta objetiva para avaliação aguda e crônica de uma temporada esportiva (COUTTS *et al.*, 2007; FILAIRE *et al.*,

2001; KRAEMER *et al.*, 2004; SIMÕES *et al.*, 2004). O cortisol é um hormônio catabólico secretado pelo córtex adrenal em resposta ao estresse físico e psicológico. Exercícios em média acima de 70% do VO<sub>2</sub>máx são considerados fatores estressantes capazes de causar aumento da concentração de cortisol (BEHR *et al.*, 2009; DEL CORRAL *et al.*, 1998; INDER *et al.*, 1998), bem como exercícios com pesos (NINDL *et al.*, 2001), atividades em intensidade máxima e curta duração (BEHR *et al.*, 2009) e exercícios de intensidade alta e moderada de longa duração (DEL CORRAL *et al.*, 1998; INDER *et al.*, 1998). E seus efeitos ocorrem também após o exercício durante a recuperação (NINDL *et al.*, 2001).

Cunniffe *et al.* (2010) e Cormack *et al.*, (2008) mostraram um aumento significativo nas concentrações de cortisol após um jogo Rugby. Resultado semelhante encontrado em jogadores de futebol (ISPIRLIDIS *et al.*, 2008). No presente estudo identificou-se um aumento da concentração de cortisol pós jogo no grupo RR/RX, sendo que no grupo XX não houve diferença entre a fase pré e pós. Em ambos os grupos nos momentos 2 h e 4 h as concentrações foram diferentes da fase pós indicando uma diminuição da concentração de cortisol até este momento.

Na situação pré o grupo XX apresentou maiores concentrações do que o grupo RR/RX, indicando uma situação mais catabólica para este grupo. Considerando que a concentração de cortisol na situação pré jogo corresponde à situação de estado de treinamento crônico que os indivíduos se encontravam, um estado de treinamento mais catabólico por parte do grupo XX pode ser consequência de uma menor recuperação às cargas de treinamento. Já que estas são as mesmas para todos os atletas, pois todos eles faziam parte da mesma categoria. Este aspecto pode ser reforçado pela relação T/C do grupo XX se apresentar cerca de 25% menor do que o grupo RR/RX na fase pré. No entanto a determinação das respostas crônicas ao treinamento de futebol em relação aos genótipos não foi um dos objetivos deste estudo e para essa avaliação mais dados referentes ao controle da carga de treinamento deveriam ser monitorados.

## **Testosterona**

No presente estudo, os indivíduos do grupo RR/RX apresentaram maiores concentrações de testosterona pós jogo e até 4 h após em relação à fase pré

(gráfico 6). Ainda, a concentração de testosterona nos momentos avaliados após o jogo foram maiores em comparação com o grupo XX.

Treinamentos muito intensos provocam maiores respostas hormonais (LINNAMO *et al.*, 2005; UCHIDA *et al.*, 2004) em especial a realização de sprints (DERBRÉ *et al.* 2010) que é uma atividade inerente ao futebol. Atividades de alta intensidade requerem uma produção elevação da testosterona (CANALI; KRUEL, 2001) muito provavelmente pelo aumento da concentração de adrenalina e lactato influenciando a atividade gonadal (DERBRÉ *et al.*, 2010). Como identificado por Lu *et al.* (1997), ao longo do exercício ocorrem aumentos de testosterona e LH. No entanto com a infusão de lactato, ocorre também o aumento das concentrações de gonadotrofina (GnRH) e testosterona. O aumento da testosterona nas células testiculares foi associado à adenosina cíclica 3:5 fosfato (cAMP).

Assim como discutido anteriormente, e observado no presente estudo (estudo 2) a alfa-actinina-3 está relacionada à força e velocidade e jogadores de futebol dos genótipos que expressam essa proteína (RR/RX) podem desempenhar em um jogo atividades com magnitudes de força e velocidade maiores em relação aos indivíduos XX. Caso tenha sido esse o ocorrido no presente estudo tal fato pode ter acarretado maiores produções de adrenalina e lactato nos indivíduos RR/RX e por conseqüência maiores produções de testosterona (DERBRÉ *et al.* 2010).

A descrição e monitoramento das atividades realizadas nos jogos de forma individual não foi realizada neste estudo, o que pode ser feito por filmagem. Esse ponto pode ser considerado uma limitação deste estudo. No entanto, muito provavelmente a diferença das atividades desenvolvidas entre os indivíduos de diferentes genótipos pode não ser relacionada ao volume e sim à intensidade e velocidade de realização destas atividades, o que seria de difícil identificação tendo em vista a precisão das análises.

### **Relação T/C**

Mesmo tendo sido observada diferença entre as concentrações de testosterona nos momentos posteriores ao jogo do grupo RR/RX em relação ao grupo XX, não foram encontradas diferenças estatísticas entre a relação T/C entre os grupos. Também não foi encontrada diferença itragrupos em relação às fases do grupo.

Cormack *et al.* (2008) também avaliaram as respostas hormonais pós jogo de huggy e identificaram maiores concentrações de cortisol pós jogo, assim como no presente estudo, mas também encontraram diminuição da relação T/C, assim como Uchida *et al.* (2004) que também determinaram situações catabólicas pós treinamento de força.

No presente estudo observou-se uma situação catabólica de forma aguda pela diminuição de cerca de 10% na relação T/C pós jogo do grupo RR/RX e de 20% na fase 2 h no grupo XX. Em ambos os grupos 4 h após o jogo a relação T/C indicou uma situação anabólica.

A diminuição da relação T/C também foi identificada de forma aguda pós treinamentos de corrida (SIMÕES *et al.*, 2004), jogos de rugby (CORMACK; NEWTON; McGUIGAN, 2008) e futebol (ISPIRLIDIS *et al.*, 2008).

## 5 Conclusão

A distribuição genotípica do ACTN3 não é diferente em jogadores de futebol em relação à população brasileira. No entanto observa-se um aumento da do genótipo RX e diminuição do XX na categoria profissional em relação às categorias mais jovens, o que pode indicar uma seleção natural para o futebol de indivíduos de caráter misto (força/resistência) em detrimento dos mais fracos.

Não foi encontrada associação entre a expressão genotípica nem alélica em jogadores de futebol com o desempenho em testes físicos de força, velocidade e resistência. No entanto, tal informação deve ser observada com cuidado, pois em esportes em que não somente a capacidade física define o sucesso no esporte, a expertise pode ser um fator multifatorial.

Indivíduos RR/RX apresentam maiores valores de marcadores de microtrauma muscular após um jogo, bem como maiores valores de testosterona em relação aos indivíduos XX. Já que o futebol pode ser considerado uma atividade de intensidade autorregulada os indivíduos RR/RX, provavelmente podem apresentar um envolvimento maior em atividades de força e potência que são inerentes ao futebol. No entanto, uma possível inaptidão dos indivíduos XX aos treinamentos de futebol é sugerida por um quadro mais catabólico nas situações de repouso. Estes indivíduos ainda apresentam alterações nas concentrações de IL-6 acentuadas pós jogo, o que pode ocorrer pelo perfil mais oxidativo deste fenótipo.

## REFERÊNCIAS

AHMETOV, I. I.; POPOV, D. V.; ASTRATENKOVA, I. V.; DRUZHEVSKAYA, A. M.; MISSINA, S. S.; VINOGRADOVA, O. L.; ROGOZKIN, V. A. The Use of Molecular Genetic Methods for Prognosis of Aerobic and Anaerobic Performance in Athletes. *Hum. Physiol.*, v. 34, n. 3, p. 338–34, 2008.

AHMETOV, I. I.; WILLIAMS, A.; POPOV, D.; LYUBAEVA, E.; HAKIMULLINA, A.; FEDOTOVSKAYA, O.; MOZHAYSKAYA, I.; VINOGRADOVA, O.; ASTRATENKOVA, I.; MONTGOMERY, H.; ROGOZKIN, V. The combined impact of metabolic gene polymorphisms on elite endurance athlete status and related phenotypes. *Hum. Genet.*, v. 126, p. 751–761, 2009.

ALMEIDA-SILVEIRA, MI.; PÉROT, C.; POUSSON, M.; GOUBEL, F. Effects of stretch-shortening cycle training on mechanical properties and fibre type transition in the rat soleus muscle. *Pflugers Arch.*, v. 3-4, n. 427, 289-94, 1994.

ALI, A.; FARRALLY, M. Recording soccer players' heart rates during matches. *Jour. Spor. Scie.*, v. 9, p. 183-189, 1991.

ANDERSSON, H.; BØHN, S.; RAASTAD, T.; PAULSEN, G.; BLOMHOFF, R.; KADI, F. Differences in the inflammatory plasma cytokine response following two elite female soccer games separated by a 72-h recovery. *Scand J Med Sci Sports*, v. 20, p. 740–747, 2010.

ANTONACCI, L.; MORTIMER, L. A. C. F.; RODRIGUES, V. M.; COELHO, D. B.; SOARES, D. D.; SILAMI-GARCIA, E. Competition, estimated, and test maximum heart rate. *Jour. Spor. Med. Phys. Fit.*, v. 47, p. 418 - 421, 2007.

ASTRAND, P. O.; RYHMING. A nomogram for calculation of aerobic capacity (physical fitness) from pulse rate during submaximal work. *Jour. Appl. Phy.*, v. 7, p. 218, 1954.

BALSOM, P. D.; SEGER, J. Y.; EKBLUM, B. Physiological evaluation of high intensity intermittent exercise. *Jour. Spor. Scie.*, v. 10, p. 161, 1992.

BANGSBO, J. The physiology of soccer, with special reference to intense intermittent exercise. *Acta Phy. Sca.: An In. Jour. of Physiolo. Scie.*, v. 151, supplementum 619, 1994.

\_\_\_\_\_ Energy demands in competitive soccer. *Jour. Spor. Scie.*, v. 12, S5-S12, 1994.

BANGSBO, J.; LINDQUIST, F. Comparison of various exercise tests with endurance performance during soccer in professional players. *In. Jour. Spor. Med.*, v. 13, n. 2. p. 125-132, 1992.

BANGSBO, J.; MICHALSIK, L. Assessment of physiological capacity of elite soccer players. In: WORLD CONGRESS OF SCIENCE AND FOOTBALL, 4, 1999, Sydney. London: E & FN Spon, 2002, p. 53-62.

BANGSBO, J.; NORREGAARD, L.; THORSO, F. Activity profile of competition soccer. *Can. Jour. Spor. Scie.*, v. 16, n. 2, p. 110-116, 1991.

BANZET, S.; KOULMANN, N.; SANCHEZ, H.; SERRURIER, B.; PEINNEQUIN, A.; ALONSO, A.; BIGARD X. Contraction-Induced Interleukin-6 Transcription in Rat Slow-Type Muscle is Partly Dependent on Calcineurin Activation. *Jour. of Cell. Physiol.*, p. 596-601, 2007.

BANZET, S.; KOULMANN, N.; SIMLER, N.; BIROT, O.; SANCHEZ, H.; CHAPOT, R.; PEINNEQUIN, A.; BIGARD X. Fibre-type specificity of interleukin-6 gene transcription during muscle contraction in rat: association with calcineurin activity. *Jour. Physiol.*, v. 566, n. 3, p. 839-847, 2005.

BARROS, R.; MISUTA, M. S.; MENEZES, R. P.; FIGUEROA, P. J.; MOURA, F. A.; CUNHA, S. A.; ANIDO, R.; LEITE, N. J. Analysis of the distances covered by first division Brazilian Soccer players obtained with an automatic tracking method. *J. Sports Sci. Med.*, v. 6, p. 233-242, 2007.

BEHR, M. B.; GERRAUGHTY, L. E.; ONDRAK, K. S.; BATTAGLINI, C. L.; HACKNEY, A. C. Cortisol responses to supra-maximal exercise. *Braz. Jour. of Biomot.*, v. 3, n. 3, p. 281-286, 2009.

BLANCHARD, A.; OHANIAN, V.; CRITCHLEY, D. The structure and function of alpha-actinin. *Jour. Mus. Res. Cell. Motil.*, v. 10, p. 280-9, 1989.

BRANCACCIO, P.; MAFFULLI, N.; LIMONGELLI F. Creatine kinase monitoring in sport medicine. *Brit. Med. Bull.*, v. 81 and 82, p. 209-230, 2007.

BREWER, J.; DAVIS, J. A. A physiological comparison of English professional and semi-professional soccer players. *Jour. Spor. Scie.*, v. 10, n. 2, p.146-147, 1992.

BRAY, M. S.; HAGBERG, J. M.; PERUSSE, L.; RANKINEN, T.; ROTH, S. M.; WOLFARTH, B.; BOUCHARD, C. The Human Gene Map for Performance and Health-Related Fitness Phenotypes: The 2006-2007 Update. *Med. Sci. Sports Exerc*, v. 41, N. 1, p. 34-72, 2009.

CANALI, E.; KRUEL, L. Respostas hormonais ao exercício. *Rev. Paul. Educ. Fis.* V. 15, n. 2, p. 141-53, 2001.

CAPRANICA, L.; TESSITORE, A.; GUIDETTI, L.; FIGURA, F. Heart rate and match analysis in pre-pubescent soccer players. *Jour. Spor. Scie.*, v. 19, n. 6, p. 379-384, Jun. 2001.

CASAJÚS, A. J. Seasonal variation in fitness variables in professional soccer players. *Jour. Spor. Med. Phy. Fitn.*, v. 41, p. 463-469, 2001.

CASTAGNA, C.; IMPELLIZZERI, F. M.; CHAMARI, K.; CARLOMAGNO, D.; RAMPININI, E. Aerobic fitness and yo-yo continuous and intermittent tests performances in soccer players: A correlation study. *Jour. Stren. Cond. Res.*, v. 20, p. 320–325, 2006.

CHAN, S.; SETO, J.T.; MACARTHUR, D.G.; YANG, N.; NORTH, K.N.; HEAD, S.I. A gene for speed: contractile properties of isolated whole EDL muscle from an  $\alpha$ -actinin-3 knockout mouse. *Am. Jour. Physiol. Cell. Physiol.*, V. 295, p. C897–C904, 2008.

CHAPMAN, D.; NEWTON, M.; SACCO, P.; NOSAKA, K. Greater muscle damage induced by fast versus slow velocity eccentric exercise. *Int. Jour. Sports Med.* v.27, pag. 591– 598, 2006.

CLARKSON, P. M.; DEVANEY, J. M.; GORDISH-DRESSMAN, H.; THOMPSON, P. D.; HUBAL, M. J.; URSO, M.; PRICE, T. B.; ANGELOPOULOS, T. J.; GORDON, P. M.; MOYNA, N. M.; PESCATELLO, L. S.; VISICH, P. S.; ZOELLER, R. F.; SEIP, R. L.; HOFFMAN E. P. ACTN3 genotype is associated with increases in muscle strength in response to resistance training in women. *Jour. Appl. Physiol.*, v. 99, p. 154Y163, 2005.

CLARKSON, P. M.; HOFFMAN, E. P.; ZAMBRASKI, E.; GORDISH-DRESSMAN, H.; KEARNS, A.; HUBAL, M.; HARMON, B. DEVANEY, J. ACTN3 and MLCK genotype associations with exertional muscle damage. *Jour. Appl. Physiol.*, v. 99, p. 564-569, 2005.

CLARKSON, P.M.; HUBAL, M.J. Exercise-induced muscle damage in humans. *Am. J. phys. Rehabil.* v.81, 2002

COELHO, D. B.; COELHO, L. G. M.; BRAGA, M. L.; PAOLUCCI, A.; CABIDO, C. E. T.; FERREIRA JUNIOR, J. B.; MENDES, T. T.; PRADO, L. S.; SILAMI-GARCIA, E. Correlação entre o desempenho de jogadores de futebol no teste de sprint de 30m e no teste de salto vertical. *Motriz*, v. 17, n. 1, p. 63-70, 2011.

COELHO, D. B.; COELHO, L. G. M.; Mortimer, L.; Conessa, L.; FERREIRA JUNIOR, Borba, D.; Bouzas Marins, J.; Soares., D.; SILAMI-GARCIA, E. Energy expenditure during official soccer matches. *Braz. Jour. Biomotr.* V. 4, p. 246-255, 2011.

COELHO, D.; MORANDI, R.; MELO, M.; SILAMI-GARCIA, E. Cinética da creatina quinase em jogadores de futebol profissional em uma temporada competitiva Rev Bras Cineantropom Desempenho Hum. v. 13, n. 3, p. 189-194, 2011,. DOI: 10.5007/1980-0037.2011v13n3p189.

COLLINS, M.; XENOPHONTOS, S. L.; CARILOU, M. A.; MOKONE, G. G.; HUDSON, D. E.; ANASTASIADES, L.; NOAKES T. D. The ACE Gene and Endurance Performance during the South African Ironman Triathlons. *Med. Sci. Spor. Exerc.*, v. 36, n. 8, p. 1314-1320, 2004.

CORMACK, S.; NEWTON, R.; MCGUIGAN, M. Neuromuscular and Endocrine Responses of Elite Players to an Australian Rules. Football Match. *Inter. Jour. of Spor. Physiol. Perf.*, v. 3, p. 359-374, 2008.

DERBRÉ, F.; VINCENT, S.; MAITEL, B.; JACOB, C.; DELAMARCHE, P.; ZOUHAL, H. Androgen responses to sprint exercise in young men. *Int. Jour. Spor. Med.*, v. 31, p. 291-297, 2010.

DELMONICO, M. J.; KOSTEK, M. A.; DOLDO, N. A.; HAND, B. D.; WALSH, S.; CONWAY, J. M.; CARIGNAN, C.; ROTH, S. M.; HURLEY, B. F. The alfa-actinin-3 (ACTN3) R577X polymorphism influences knee extensor peak power response to strength training in older men and women. *Jour. Geronto. Med. Scien.*, v. 62, p. 206–212, 2007.

DEL CORRAL, P.; HOWLEY, E. T.; HARTSELL, M.; ASHRAF, M.; YOUNGER, M. S. Metabolic effects of low cortisol during exercise in humans. *Jour. Appl. Physiol.*, v. 84, n. 3, p. 939–947, 1998.

DI SALVO, V.; PIGOZZI, F. Physical training of football players based on their positional rules in the team. *Jour. Spor. Med. Phy. Fitn.*, v. 38, p. 294-297, 1998.

DIAS, R. G.; PEREIRA, A. C.; NEGRÃO, C. E.; KRIEGER J. E. Polimorfismos genéticos determinantes da performance física em atletas de elite. *Rev. Bra. Med. Esp.*, v. 13, n. 3, Mai/Jun, 2007.

DRUST, B.; REILLY, T.; CABLE, N. T. Metabolic and physiological responses to a laboratory-based soccer-specific intermittent protocol on a non-motorized treadmill. In: WORLD CONGRESS OF SCIENCE AND FOOTBALL, 4, 1999, Sydney. London: E & FN Spon, 2002. p. 217-225.

EDWARDS, K. M.; BURNS, V. E.; RING, C.; CARROLL, D. Individual differences in the interleukin-6 response to maximal and submaximal exercise tasks. *Jour. of Spor. Scie.*, v. 24, n. 8, p. 855 – 862, august 2006.

EKBLOM, B. Applied Physiology of soccer. *Spor. Med.*, v. 3, p. 50 – 60 , 1986.

FARTHING, J. P. E.; CHILIBECK, P.D. The effects of eccentric and concentric training at different velocities on muscle hypertrophy. *Eur. Jour. appl. Physiol.* v. 89, n. 6, p. 578-586, 2003.

FEBBRAIO, M. A.; PEDERSEN, B. K. Muscle-derived interleukin 6: mechanisms for activation and possible biological roles. *Fas. Jour.*, v. 16, p. 1335–1347, 2002.

FIFA - FEDERATION INTERNATIONALE DE FOOTBALL ASSOCIATION. Disponível em: <[www.fifa.com](http://www.fifa.com)>. Acessado em: janeiro de 2011.

FILAIRE, E.; BERNAIN, X.; SAGNOL, M.; LAC, G. Preliminary results on mood state, salivary testosterone: cortisol ratio and team performance in a professional soccer team. *Eur. Jour. App. Physiol.*, v. 86, p. 179-184, 2001.

FISCHER C. Interleukin-6 in acute exercise and training: what is the biological relevance? *Exerc. Immunol. Rev.*, v. 12, p. 6-33, 2006.

FISCHER, C. P.; PLOMGAARD, P.; HANSEN A. K.; PILEGAARD H.; SALTIN, B.; PEDERSEN, B. K. Endurance training reduces the contraction-induced interleukin-6 mRNA expression in human skeletal muscle. *Am. Jour. Physiol. Endocrinol. Metab.*, v. 287, p. E1189–E1194, 2004.

FLANAGAN, T.; MERRICK, E. Quantifying the work-load of soccer players. In: WORLD CONGRESS OF SCIENCE AND FOOTBALL, 4, 1999, Sydney. London: E & FN Spon, 2002, p. 341-349.

FOSCHINI, D.; PRESTES, J.; CHARRO, M. Relação entre exercício físico, dano muscular e dor muscular de início tardio. *Rev. Bras.Cineantropom. Des. Hum.* v. 9, n. 1, p.101-106, 2007.

FRY, A. C.; KRAEMER, W. J.; RAMSEY, L. T. Pituitary - adrenal - gonadal responses to high-intensity resistance exercise overtraining. *Jour. Appl. Physiol.*, v. 85, n. 6, p. 2352–2359, 1998.

GARGANTA, J.; PINTO, J. O ensino do futebol. In: GRAÇA, A.; OLIVEIRA, J. (Eds). *O Ensino dos Jogos Desportivos*. CEJD, FCDEF. Universidade do Porto, 1998. p. 95-136.

GARGANTA, J.; MARQUES, A.; MAIA, J. Modelacao Tactica do jogo de futebol. Estudo da organizacao ofensiva em equipas de alto rendimento. In: GARGANTA, J.; ARDA SUAREZ, A.; PENAS, C. (Eds.). *A Investigacao em futebol*. Estudos Ibéricos. 2002. p.51-66.

GIBSON, ST. C.; NOAKES, T. D. Evidence for complex system integration and dynamic neural regulation of skeletal muscle recruitment during exercise in humans. *Br. Jour. Sports Med.*, v. 38, p. 797-806, 2004.

GIBSON, ST. C.; LABERT, E. V.; RAUCH, L. H. G.; TUCKER, R.; BADE, D. A.; FOSTER, C.; NOAKES, T. D. The role of information processing between the brain and peripheral physiological systems in pacing and perceptions of effort. *Br. Jour. Spor. Med.*, v. 38, n. 6, p. 797-806, 2006.

GOKHALE, R.; CHANDRASHEKARA, S.; VASANTHAKUMAR, K. Cytokine response to strenuous exercise in athletes and non-athletes-an adaptive response. *Cytok.*, v. 40, n. 2 p. 123–127, 2007.

GÓMEZ-GALLEGO, F.; SANTIAGO, C.; GONZÁLEZ-FREIRE, M.; MUNIESA, C.A.; FERNÁNDEZ, M.; PÉREZ, M.; FOSTER, C.; LUCIA, A. Endurance performance: genes or gene combinations? *Int. Jour. Spor. Med.*, v. 30, p. 66–72, 2009.

GREHAINGNE, J. F.; MARCHAL, D.; DUPRA, E. Regaining possession of the ball in the defensive area in soccer. In: WORLD CONGRESS OF SCIENCE AND FOOTBALL, 4, 1999, Sydney. London: E & FN Spon, 2002, p. 113-121.

GUYTON, A.; HALL, J. *Tratado de fisiologia médica*. 9 ed. Rio de Janeiro, RJ: Guanabara Koogan, 1997.

HACKNEY A. Exercise as a stressor to the human neuroendocrine system *Medicina. Kaun.*, v. 42, n. 10, 2006.

HELGERUD, J.; ENGEN, L. C.; WISLOFF, U.; HOFF, J. Aerobic endurance training improves soccer performance. *Med. Scie. Spor. Exer.*, v. 33, n. 11, p. 1925-1931, 2001.

HILIOSCORPI, H. K.; PASANEN, M. E.; FOGELHOIM, M. G.; LAUKKANEN, R. M.; MANTTARI, A. T. Use of Heart rate to predict energy expenditure from low to high activity levels. *In. Jour. Spor. Med.*, v. 24, p. 332-336, 2003.

INDER, W. J.; HELLEMANS, J.; SWANNEY, M. P.; PRICKETT, T. C. R.; DONALD, R. A. Prolonged exercise increases peripheral plasma ACTH, CRH, and AVP in male athletes. *Jour. Appl. Physiol.*, v. 85, n. 3, p. 835-841, 1998.

ISPIRLIDIS, I.; FATOUROS, I. G.; JAMURTAS, A. Z.; NIKOLAIDIS, M. G.; MICHAILIDIS, I.; DOUROUDOS, I.; MARGONIS, K.; CHATZINIKOLAOU, A.; KALISTRATOS, E.; KATRABASAS, I.; ALEXIOU, V.; TAXILDARIS, K. Time-course of Changes in Inflammatory and Performance Responses Following a Soccer Game. *Clin. Jour. Spor. Med.*, v. 18, n. 5, 2008.

JACKSON, A. S.; POLLOCK, M. L. Generalized equations for predicting body density of men. *Brit. Jour. of Nutrit.*, v. 40, n. 3, p. 497-504, 1978

KARVONEN, J.; VUORIMAA, T. Heart rate and exercise intensity during sports activities: practical application. *Spor. Med.*, v. 5, p. 303-312, 1988.

KLAVORA, P. Vertical jump: a critical review. *Stren. Con. Jour.*, v. 22, n. 5, p. 70-75, 2000.

KRAEMER, W.; FRENCH, D.; PAXTON, N.; KINEN, K.; VOLEK, J.; SEBASTIANELLI, W.; PUTUKIAN, M.; NEWTON, R.; RUBIN, M.; MEZ, A.; VESCOVI, J.; RATAMESS, N.; FLECK, S.; LYNCH, J.; KNUTTGEN, H. Changes in exercise performance and hormonal concentrations over a big ten soccer season in starters and nonstarters. *Jour. Stren. Cond. Res.*, v. 18, n. 1, p. 121-128, 2004.

KRUSTRUP, P.; MOHR, M.; ELLINGSGAARD, H.; BANGSBO, J. Physical demands during an elite female soccer game: Importance of training status. *Med. and Scien. in Spor. Exer.*, v. 37, p. 1242-1248, 2005.

LAMAS, L.; UGRINOWITSCH, C.; CAMPOS, G.; AOKI, M.; FONSECA, R.; REGAZZINI, M.; MORISCOT, A.; TRICOLI, V. Treinamento de força máxima x treinamento de potência: alterações no desempenho e adaptações morfológicas. *Rev. Bras. Educ. Fís. Esp.*, v. 21, n.4, p.331-40, 2007.

LAZARIMA F.; ANTUNES-NETO J.; SILVA F.; NUNES, L.; CAMERON A.; CAMERON L.; ALVES A.; BREZIKOFER, R.; MACEDO D. The upper values of

plasma creatine kinase of professional soccer players during the Brazilian National Championship. *Jour. Scie. Med. Sport*, 2007.

LEK, M.; NORTH, K.; Are biological sensors modulated by their structural scaffolds? The role of the structural muscle proteins  $\alpha$ -actinin-2 and  $\alpha$ -actinin-3 as modulators of biological sensors. *FEBS Letters*. v. 584, p. 2974–2980, 2010

LIEBER, R.L.; SHAH, S.; FRIDÉN, J. Cytoskeletal disruption after eccentric contraction-induced muscle injury. *Clin. Orthop.* pag.403, 2002.

LINNAMO, V.; PAKARNEN, A.; KOMI, P.; KRAEMER, W.; HAKKINEN, K. Acute hormonal responses to submaximal and maximal heavy resistance and explosive exercises in men and women. *Jour. Stren. Cond. Res.*, v. 19, n. 3, p. 566-571, 2005.

LU, S.; LAU, C.; TUNG, Y.; HUANG, S.; CHEN, Y.; SHIH, H.; TSAI, S.; LU, C.; WANG, S.; CHEN, J.; CHIEN, E.; CHIEN, C.; WANG, S. Lactate and the effects of exercise on testosterone secretion: evidence for the involvement of a cAMP-mediated mechanism. *Med. Sci. Spor. Exer.*, v. 29, n. 8, 1997, pp. 1048-1054.

LUCIA, A.; GÓMEZ-GALLEGO, F.; SANTIAGO, C.; BANDRÉS, F.; EARNEST, C.; RABADÁN, M.; ALONSO, J. M.; HOYOS, J.; CÓRDOVA, A.; VILLA, G.; FOSTER, C. ACTN3 genotype in Professional Endurance Cyclists. *In. Jour. Spor. Med.*, v. 27, p. 880Y884, 2006.

MacARTHUR, D.G.; NORTH, K.N. ACTN3: A genetic influence on muscle function and athletic performance. *Exerc. Sport. Sci. Rev.*, v. 35, n. 1, p. 30Y34, 2007.

MacARTHUR, D.G.; NORTH, K.N. A gene for speed? The evolution and function of alphaactinin- 3. *Bioes.*, v. 26, p. 786-95, 2004.

MacARTHUR, D.; NORTH, K. Genes and human elite athletic performance. *Hum. Genet.* v. 116, p. 331–339, 2005. OI 10.1007/s00439-005-1261-8

MacARTHUR, D.; SETO, J.; CHAN, S.; QUINLAN, K.; RAFTERY, J.; TURNER, N.; NICHOLSON, M.; KEE, A.; HARDEMAN, E.; GUNNING, P.; COONEY, G.; HEAD, S.; YANG, S.; NORTH, K. An Actn3 knockout mouse provides mechanistic insights into the association between  $\alpha$ -actinin-3 deficiency and human athletic performance. *H. Mol. Gen.*, V. 17, 2008.

McHUGH M. Recent advances in the understanding of the repeated bout effect: the protective effect against muscle damage from a single bout of eccentric exercise. *Scand. Jour. Med. Sci. Sports*. v.13, pag.88-97, 2003.

MARINO, F. Anticipatory regulation and avoidance of catastrophe during exercise-induced hyperthermia. *Comp. Bioch. Physiol.*, v. 139, p. 561-569, 2004.

MARGARIA, R.; AGHEMO, P.; PINERA, L. F.; A simple relation between performance in running and maximal aerobic power. *Jour. Appl. Phy.*, v. 38, n. 2, p. 351-352, 1975.

MARTÍNEZ - AMAT, A.; CORRALES, J. A. M.; SERRANO, F. R.; BOULAIZ, H.; SALAZAR, J. C. P.; CONTRERAS, F. H.; PEREZ, O. C.; DELGADO, E. C.; MARTÍN, I.; JIMENEZ, A. A. Role of  $\alpha$ -actin in muscle damage of injured athletes in comparison with traditional markers. *Br. Jour. Spor. Med.*, v. 41, p. 442–446, 2007.

MARTÍNEZ-AMAT, A.; BOULAIZ, H.; PRADOS, J.; MARCHAL, J. A.; PUCHE, P. P.; CABA, O.; RODRÍGUEZ-SERRANO, F.; ARANEGA, A. Release of  $\alpha$ -actin into serum after skeletal muscle damage. *Br. Jour. Spor. Med.*, v. 39, p. 830–834, 2005.

MAYHEW, D.L.; THYFAULT, J.P.; KOCH, A.J.. Rest-interval length affects leukocyte levels during heavy resistance exercise. *Jour. Stregth.Cond. Res.* V.19, pag.16-22, 2005.

MacARTHUR, D.; NORTH, K. Genes and human elite athletic performance. *Hum. Genet.* v. 116, p. 331–339, 2005. OI 10.1007/s00439-005-1261-8

MacARTHUR, D.; SETO, J.; CHAN, S.; QUINLAN, K.; RAFTERY, J.; TURNER, N.; NICHOLSON, M.; KEE, A.; HARDEMAN, E.; GUNNING, P.; COONEY, G.; HEAD, S.; YANG, S.; NORTH, K. An Actn3 knockout mouse provides mechanistic insights into the association between  $\alpha$ -actinin-3 deficiency and human athletic performance. *H. Mol. Gen.*, V. 17, 2008.

MacARTHUR, D.G.; NORTH, K.N. A gene for speed? The evolution and function of alphaactinin- 3. *Bioes.*, v. 26, p. 786-95, 2004.

MacARTHUR, D.G.; NORTH, K.N. ACTN3: A genetic influence on muscle function and athletic performance. *Exerc. Sport. Sci. Rev.*, v. 35, n. 1, p. 30Y34, 2007.

McCAULEY, T.; MASTANA, S.; FOLLAND, J. ACE I/D and ACTN3 R/X polymorphisms and muscle function and muscularity of older Caucasian men. *Eur Jour. Appl. Physiol.*, 2010. DOI 10.1007/s00421-009-1340-y

MEYER, T.; GABRIEL, H.; RATZ, M.; MULLER, H.; KINDERMANN, W. Anaerobic exercise induces imoderate acute phase response. *Med. Scie. Sports. Exerc.*, v. 33, n. 4, p. 549-555, 2001.

MILES, A.; MACLAREN, D.; REILLY, T.; YAMANAKA, K. An analysis of physiological strain in four-a-side women's soccer. *Jour. Spor. Scie.*, v. 10, p. 142-143, 1992.

MILLER, A. S.; DYKES, D. D.; POLESKI, H. F. A simple salting out procedure for extracting DNA from human cells. *Nucl. Acid. Res.*, n.16, p.1215, 1988.

MILLS, M.; YANG, N.; WEINBERGER, R.; VANDER WOUDE, D. L.; BEGGS, A. H.; EASTEAL, S.; NORTH, K. Differential expression of the actin-binding proteins, alpha-actinin-2 and-3, in different species: implications for the evolution of functional redundancy. *Hum. Mol. Genet.*, v. 10, p. 1335-46, 2001.

MOHR, M.; KRUSTRUP, L.; NYBO, L.; NIELSEN, J. J.; BANGSBO, J. Muscle temperature and sprint performance during soccer matches – beneficial effect of re-warm-up at half-time. *Scan. Jour. Med. Scie. Spor.*, v. 14, p. 156-162, 2004.

MORAN, C.N.; YANG, N.; BAILEY, M. E. S.; TSIOKANOS, A.; JAMURTAS, A.; MACARTHUR, D. G.; NORTH, K.; PITSILADIS, Y. P.; WILSON, R. H. Association analysis of the ACTN3 R577X polymorphism and complex quantitative body composition and performance phenotypes in adolescent Greeks. *Eur. Jour. Hum. Genet.*, 2006. doi: 10.1038/sj.ejhg.5201724

MORTIMER, L.; CONDESSA, L.; RODRIGUES, V.; COELHO D.; SOARES. D.; SILAMI-GARCIA, E. Comparison between the effort intensity of young soccer players in the first and second halves of the soccer game. *Rev. Port. Cien. Desp.*, v. 6, p. 154-159, 2006.

MOUGIOS M. Reference intervals for serum creatine kinase in athletes. *Br J Sports Med.*, v. 41, n. 10, 2007, p.674–678.

NIEMI, A. K.; MAJAMAA, K. Mitochondrial DNA and ACTN3 genotypes in Finnish elite endurance and sprint athletes. *Eur. Jour. Hum. Genet.*, v. 13, n. 8, p. 965–969, 2005.

NINDL, B. C.; KRAEMER, W. J.; DEAVER, D. R.; PETERS, J. L.; MARX, J. O.; HECKMAN, J. T.; LOOMIS, G. A. LH secretion and testosterone concentrations are blunted after resistance exercise in men. *Jour. Appl. Physiol.*, v. 91, p. 1251–1258, 2001.

NORMAN, B.; ESBJÖRNSSON, M.; RUNDQVIST, H.; ÖSTERLUND, T.; VON WALDEN, F.; TESCH, P. A. Strength, power, fiber types, and mRNA expression in trained men and women with different ACTN3 R577X genotypes. *Jour. Appl. Physiol.*, v. 106, p. 959–965, 2009.

O'CONNOR, D. TIME – Motion analysis of elite touch players. In: WORLD CONGRESS OF SCIENCE AND FOOTBALL, 4, 1999, Sydney. London: E & FN Spon, 2002, p. 126 – 136.

OGUSHI, T.; OHASHI. J.; NAGAHAMA. H.; ISOKAWA, S.; SUZUKI, S. Work intensity during soccer match-play (a case study). In: WORLD CONGRESS OF SCIENCE AND FOOTBALL, 2, 1991, Eindhoven. *Proceedings...* London: E & FN Spon, 1993, p. 121 –123.

OHASHI, J.; ISOKAWA, M.; NAGAHAMA, H.; OGUSHI, T. The ratio of physiological intensity of movements during soccer match-play. In: WORLD CONGRESS OF SCIENCE AND FOOTBALL, 2, 1991, Eindhoven. London: E & FN Spon, 1993, p. 124 –128.

OHASHI, J.; MIYAGI; NAGAHAMA, H.; OGUSHI, T.; OHASHI, K. Application of an analysis system evaluating intermittent activity during a soccer match. In: WORLD CONGRESS OF SCIENCE AND FOOTBALL, 4, 1999, Sydney. London: E & FN Spon, 2002, p. 132-136.

OSTOJIĆ, S. M. Physical and physiological characteristics of elite Serbian soccer players. *Phy. Educa. Spor.*, v. 1, n. 7, p. 23-29, 2000.

OSTROWSKI, K.; HERMANN, C.; BANGASH, A.; SCHJERLING, P.; NIELSEN, J.; PEDERSEN, B. A trauma-like elevation of plasma cytokines in humans in response to treadmill running. *Jour. Physiol.*, v. 513, p. 889-894, 1998.

OSTROWSKI, K.; ROHDE, T.; ASP, S.; SCHJERLING, P.; PEDERSEN, B. Pro- and anti-inflammatory cytokine balance in strenuous exercise in humans. *Jour. Physiol.*, v. 515, n. 1, p. 287—291 287, 1999.

OSTROWSKI, K.; ROHDE, T.; ZACHO, M.; ASP, S.; PEDERSEN, B. K. Evidence that interleukin-6 is produced in human skeletal muscle during prolonged running. *Jour. Physiol.*, v. 508, p. 949-953, 1998.

PEDERSEN, B.K.; FEBBRAIO, M. A.; Muscle as an Endocrine Organ: Focus on Muscle-Derived Interleukin-6. *Physiol. Rev.*, v. 88, p. 1379–1406, 2008; doi:10.1152/physrev.90100.2007

PETERSEN, A.; PEDERSEN B. The Role Of Il-6 In Mediating The Anti-Inflammatory Effects Of Exercise. *Jour. Physiol Pharm.*, v. 57, Suppl 10, p. 43-51, 2006.

PIMENTA, E.; · COELHO, D.; ·CRUZ, I.; · MORANDI, R.; ·VENEROSO, C.; · PUSSIELDI, G.; · CARVALHO M.; · SILAMI-GARCIA E.; FERNÁNDEZ, J. The ACTN3 genotype in soccer players in response to acute eccentric training. *Eur J Appl Physiol* (no prelo) 2011.

PLOMGAARD, P.; PENKOWA, M.; PEDERSEN, B. Fiber type specific expression of TNF-alpha, IL-6 and IL-18 in human skeletal muscles. *Exerc. Immunol. Rev.*, v. 11, p. 53-63, 2005.

PUGA, N.; RAMOS, J.; AGOSTINHO, J.; LOMBA, I.; COSTA, O.; FREITAS, F. Physical profile of a first division portuguese professional soccer team. In: SECOND WORLD CONGRESS OF SCIENCE AND FOOTBALL, 2, 1991, Eindhoven. *Proceedings...* London: E & FN Spon, 1993, p. 40-42.

QUINLAN, K.; SETO, J.; TURNER, N.; VANDEBROUCK, A.; FLOETENMEYER, M.; MACARTHUR, D.; RAFTERY, J.; LEK, M. YANG, N.; , PARTON, R; COONEY, G.; NORTH, K. alfa-Actinin-3 deficiency results in reduced glycogen phosphorylase activity and altered calcium handling in skeletal muscle. *H. Mol. Gen.*, v.1, p.12, 2010

RAINER, P. The physiological effect of playing three simulated matches in a week: implications for overtraining. In: WORLD CONGRESS OF SCIENCE AND FOOTBALL, 4, 1999, Sydney. London: E & FN Spon, 2002, p. 350-354.

RANKINEN, T.; PÉRUSSE, L.; GAGNON, J.; CHAGNON, Y. C.; LEON, A. S.; SKINNER, J. S.; WILMORE, J. H.; RAO, D. C.; BOUCHARD, C. Angiotensin-converting enzyme ID polymorphism and fitness phenotype in the HERITAGE Family Study. *Jour. Appl. Physiol.*, v. 88, p. 1029-35, 2000.

RANKINEN, T., S. M. ROTH, M. S. BRAY, R. LOOS, L. PE´RUSSE, B. OLFARTH, J. M. HAGBERG, and C. BOUCHARD. Advances in Exercise, Fitness, and Performance Genomics. *Med. Sci. Sports Exerc.*, v. 42, N. 5, p.. 835-846, 2010.

REILLY, T. Energetic of high intensity exercise (soccer), with particular reference to fatigue. *Jour. Spor. Scie.*, v. 15, p. 257-263, 1997.

REILLY, T.; BALL, D. The net physical cost of dribbling soccer ball. *Res. Quar. Exer. Spor.*, v. 55, n. 31, p. 267-271, 1984.

REILLY, T.; BANGSBO, J.; FRANKS, A. Anthropometrics and physiological predispositions for elite soccer. *Jour. Spor. Scie.*, v. 18, p. 669-683, 2000.

REILLY, T.; THOMAS, V. Estimated daily energy expenditures of professional association. *Erg.*, v. 22, p. 541-548, 1979.

REILLY, T; KEANE, S. Estimation of physiological strain on Gaelic football players during match-play. In: WORLD CONGRESS OF SCIENCE AND FOOTBALL, 4, 1999, Sydney. London: E & FN Spon, 2002. p. 157-159.

RIENZI, E.; DRUST, B.; REILLY, T.; CARTER, J. E. L.; MARTIN, A. Investigation of anthropometrics and work-rate profiles of elite south American international soccer player. *Jour. Spor. Med. Phy. Fitn.*, v. 40, p. 162-9, 2000.

RODRIGUES, L. O. C.; SILAMI-GARCIA, E. Fadiga – falha ou mecanismo de proteção? In: *Temas atuais em Educação Física e Esportes III*, Belo Horizonte: UFMG, p.25-48, 1998.

RODRIGUEZ-ROMO, G.; RUIZ, J.; SANTIAGO, C.; FIUZA-LUCES, C.; GONZALEZ-FREIRE, M.; GOMEZ-GALLEGO, F.; MORAN, M.; LUCIA, A. Does the ACE I/D polymorphism, alone or in combination with the ACTN3 R577X polymorphism, influence muscle power phenotypes in young, non-athletic adults? *Eur. J. Appl. Physiol.*, v. 110:1099–1106, 2010.

RONSEN, O.; LEA, T.; BAHR, R.; PEDERSEN B. Enhanced plasma IL-6 and IL-1ra responses to repeated vs. single bouts of prolonged cycling in elite athletes. *Jour. Appl. Physiol.*, v. 92, p. 2547–2553, 2002.

SAMBROOK, J; RUSSEL, D. W. *Molecular cloning: a laboratory manual*. 3. ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory, p. 999, 2001.

SAMPAIO, I. B. M. *Estatstica aplicada à experimentao animal*. Belo Horizonte: Fundação de ensino e pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 1998.

SANTIAGO, C.; GONZÁLEZ-FREIRE, M.; SERRATOSA, L.; MORATE, F. J.; MEYER, T.; GÓMEZ-GALLEGO, F.; LUCIA. A. ACTN3 genotype in professional soccer players. *Br. Jour. Spor. Med.*, v. 42, n. 1, p. 71-3, 2008.

SANTOS, J. A. R. Estudo comparativo, fisiológico, antropométrico e motor entre futebolistas de diferente nível competitivo. *Rev. Paul. Educ. Fís.*, v. 13, n. 2, p.146-59, Dez. 1999.

SANTOS, P.; SOARES, J. Determinação do limiar aeróbico-anaeróbico em futebolistas de elite, em função da posição ocupada na equipa. In: GARGANTA, J.; SUAREZ, A. A.; PEÑAS, L. C. (Ed.). *A investigação em futebol: estudos Ibéricos*. Porto: Faculdade de Ciências do Desporto e de Educação Física da Universidade do Porto, 2002. p. 137-143.

WADE, C.; STANFORD, T. P.; STEIN, J.; GREENLEAF, E. Intensive exercise training suppresses testosterone during bed rest. *J Appl Physiol* v.99, p. 59–63, 2005.

SAUNDERS, C. J.; SEPTEMBER, A. V.; XENOPHONTOS, S. L.; CARILOU, M. A.; ANASTASSIADES, L. C.; NOAKES T. D.; COLLINS, M. Association of the ACTN3 Gene R577X Polymorphism with Endurance Performance in Ironman Triathlons. *Ann. Hum. Gene.*, v. 71, p. 777–781, 2007.

SCOTT, R. A.; IRVING, R.; IRWIN, L.; MORRISON, E.; CHARLTON, V.; AUSTIN, K.; TLADI, D.; DEASON, M.; HEADLEY, S. A.; KOLKHORST, F. W.; YANG, N.; NORTH, K.; PITSILADIS, Y. P. ACTN3 and ACE Genotypes in Elite Jamaican and US Sprinters. *Med. Sci. Spor. Exerc.*, v. 42, n. 1, p. 107-112, 2010.

SCOTT, W.; STEVENS, J.; BINDER-MACLEOD, S. A. Human skeletal muscle fiber type classifications. *Phys. Ther.*, v. 81, p. 1810-6, 2001.

SCHEEN, A. J.; BUXTON, O. M.; JISON, M.; REETH, O.; LEPROULT, R.; L'HERMITE-BALÉRIAUX, M.; CAUTER, E. Effects of exercise on neuroendocrine secretions and glucose regulation at different times of day. *Am. Jour. Physiol. Endocrinol. Metab.* p. E1040-E1049, 1998.

SETO, J.; CHAN, C.; TURNER, N.; MACARTHUR, D.; RAFTERY, J.; BERMAN, Y.; QUINLAN, K.; STEWART, G.; YANG, N.; NORTH, K. The effect of  $\alpha$ -actinin-3 deficiency on muscle aging. *Exp. Geront.*, 2010.

SHEPHARD, R. J. The energy needs of the soccer player. *Clin. Jour. Spor. Med.*, v. 2, n. 1, p. 62-70, 1992.

SILAMI-GARCIA. E.; ESPIRITO SANTO, L. C.; GARCIA, A. M. C.; NUNES, V. N. G. Energy expenditure of professional soccer players during official games. *Med. Scie. Spor. Exerc.*, v. 37, n. 5, supplement, S87 (Abstract 471), 2005.

SILVA, N. P.; BARROS, T. L. Motion patterns of Brazilian Young soccer players. *Med. Scie. Spor. Exerc.*, v. 37, n. 5, supplement, S18 (Abstract 123), 2005.

SIMÕES, H.; MARCON, F.; OLIVEIRA, F.; SILVIA, C.; CAMPBELL, G.; BALDISSERA, V; COSTA ROSA, L. Resposta da razão testosterona/cortisol durante o treinamento de corredores velocistas e fundistas. *Rev. Bras. Educ. Fís. Esp.*, São Paulo, v. 18, n. 1, p. 31-46, jan./mar. 2004.

SMITH, M.; GLARKE, G.; HALE, T.; MCMORRIS, T. Blood lactate levels in college soccer players during match-play. In: WORLD CONGRESS OF SCIENCE AND FOOTBALL, 2, 1991, Eindhoven. London: E & FN Spon, 1993. p. 129 – 134.

SMORAWINSKI, J.; NAZAR, K.; KACIUBA-USCILKO, H.; KAMINSKA, E.; CYBULSKI, G.; KODRZYCKA, A.; BICZ, B.; GREENLEAF, J. E. Effects of 3-day bed rest on physiological responses to graded exercise in athletes and sedentary men. *Jour. Appl. Physiol.*, v. 91, p. 249–257, 2001.

SOUZA, E. N; DALLEMOLE, C.; BORIN, J. P. Análise da potência anaeróbica em futebolistas jovens. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE CIÊNCIAS DO ESPORTE, 27. São Paulo, 7-9 out., (Tema livre 24, p.44), 2004.

STEINACKER, J. M.; LORMES, W.; REISSNECKER, S.; LIU, Y. New aspects of the hormone and cytokine response to training. *Eur. Jour. Appl. Physiol.*, v. 91, p. 382–391, 2004. DOI 10.1007/s00421-003-0960-x

STOLEN, T.; CHAMARI, K.; CASTAGNA, C.; WISLOFF, U. Physiology of soccer: *An update. Spor. Med.*, v. 35, p. 501-536, 2005.

SWAIN, D. P; ABERNATHY, S. K; SMITH, C. S.; LEE, S. J.; BUNN, S. Target heart rates for the development of cardiorespiratory fitness. *Med. Scie. Spor. Exer.*, v. 26, n. 1, p. 112-116, 1994.

TRICOLI, V. Mecanismos envolvidos na etiologia da dor muscular tardia. *Rev. Bras. Cien. Mov.* v.9, pág.39-44, 2001

TUMILTY, D. Physiological Characteristics of elite Soccer Players. *Spor. Med.*, v. 16, p. 80 – 96, 1993.

UCHIDA, M.; BACURAU, R.; NAVARRO, F.; PONTES Jr., F.; TESSUTI, V.; MOREAU, R.; COSTA-ROSA, F.; AOKI, M. Alteração da relação testosterona: cortisol induzida pelo treinamento de força em mulheres *Rev. Bras. Med. Esp.*, v. 10, n. 3, Mai/Jun, 2004.

VESCOVI, J.D.; McGUIGAN, M.R. Relationship between sprinting, agility, and jump ability in female athletes. *J. Sports Sci.*, v.26, n.1, p.97-107. 2008.

VINCENT, B.; De BOCK, K.; RAMAEKERS, M.; EEDE, E.; LEEMPUTTE, M.; HESPEL, P.; THOMIS, M. ACTN3 (R577X) genotype is associated with fiber type distribution. *Physiol. Geno.*, v. 32, p. 58–63, 2007.

VOLEK, J. S.; KRAEMER, W. J.; BUSH, J. A.; INCLEDON, T.; BOETES, M. Testosterone and cortisol in relationship to dietary nutrients and resistance exercise. *Jour. Appl. Physiol.*, v. 82, n. 1, p. 49–54, 1997.

WALSH, S.; LIU, D.; METTER, E. J.; FERRUCCI, L.; ROTH, S. M. ACTN3 genotype is associated with muscle phenotypes in women across the adult age span. *Jour. Appl. Physiol.*, v. 105, p. 1486–1491, 2008. doi:10.1152/jappphysiol.90856.2008.

WANG, J.; SHANER, N.; MITTAL, B.; ZHOU, Q.; CHEN, J.; SANGER, J.; SANGER, J. Dynamics of Z-Band Based Proteins in Developing Skeletal Muscle Cells. *Cel. Moti. Cyt.*, v. 61, n. 1, p. 34-48, 2005.

WISLOFF, U.; HELGERUD, J.; HOFF, J. Strength and Endurance of elite soccer players. *Med. Scie. Spor. Exer.*, v. 30, n. 3, p. 462-467, 1998.

WEIR, J.P. Quantifying test-retest reliability using ICC and the SEM. *Jour. Stren. Cond Res.* V.19, p. 231 – 240, 2005.

YANG, N.; MACARTHUR, D. G.; GULBIN, J. P.; HAHN, A. G.; BEGGS, A. H.; EASTEAL, S.; NORTH, K. ACTN3 Genotype Is Associated with Human Elite Athletic Performance. *Am. Jour. Hum. Genet.*, v. 73, p. 627–631, 2003.

YANG, N.; MACARTHUR, D. G.; WOLDE, B.; ONYWERA, V. O.; BOIT, M. K.; LAU, S. Y.; WILSON, R. H.; SCOTT, R. A.; PITSILADIS, Y. P.; NORTH, K. The ACTN3 R577X polymorphism in East and West African athletes. *Med. Scien. Spor. Exerc.*, v. 39, n. 11, p. 1985-8, 2007.

YOUNG, W. B.; MCDOUWELL, M. H.; SCARLETT, B. J. Specificity of sprint and agility training methods. *Jour. Stren. Condi. Res.*, v. 15, n. 3, p. 315-319, 2001.

ZOPPI, C.; ANTUNES-NETO, J.; CATANHO, F. O.; GOULART, L. F.; MOTTA E MOURA, N.; MACEDO, D. V. 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.119-30, 2003.

## **APÊNDICES**

### **Apêndice A**

#### **TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (DE ACORDO COM O ITEM IV DA RESOLUÇÃO 196/96 DO CNS)**

##### **TÍTULO DO PROJETO DE PESQUISA**

Análise da demanda fisiológica do futebol e a sua relação com a expressão genética do ACTN3 e o ACE dos jogadores.

##### **OBJETIVO**

Analisar a demanda fisiológica de jogos e ao longo de uma temporada competitiva de futebol tendo em vista a genotipagem dos atletas para o ACTN3.

##### **PROCEDIMENTOS**

Em uma data eletiva você deverá comparecer ao laboratório para a realização de testes físicos para a determinação de sua composição corporal e capacidade aeróbia máxima através de um teste ergoespirométrico que ocorrerá em uma esteira rolante em um teste progressivo até a fadiga.

Antes de algum dos jogos de uma competição serão coletadas uma amostra sanguínea por punção venosa por um pesquisador, previamente treinado em técnicas de punctura de veias periféricas, escolherá a veia mais proeminente da fossa antecubital dos voluntários para tal. Para cada colheita de sangue, 3 amostras de 10 mL de sangue serão coletadas nos períodos antes do jogo, logo após, duas e quatro horas após o jogo. Também serão realizadas coletas sanguíneas antes da temporada de treinamento, 3 vezes ao longo da temporada e mais uma vez ao final da temporada.

##### **CONFIDENCIALIDADE DOS DADOS**

Todos os seus dados são confidenciais, sua identidade não será revelada publicamente em hipótese alguma e somente os pesquisadores envolvidos neste estudo terão acesso a estas informações que serão utilizadas para fins de pesquisa.

##### **BENEFÍCIOS**

Obter informações sobre a demanda fisiológica imposta ao seu organismo em decorrência do futebol.

##### **RISCOS**

Você poderá apresentar um certo desconforto pelas punções sanguíneas ou Hematomas também podem aparecer no local da colheita de sangue, regredindo no máximo após uma semana, dores musculares, tardias ou não, e sensação de cansaço, em decorrência da prática do futebol que devem desaparecer entre 2 e 5 dias. Riscos gerais que envolvem a prática de atividades físicas devem ser considerados, como lesões músculo-esqueléticas e traumatismo em geral. Entretanto, você realizará uma atividade física em condições conhecidas, com toda assistência necessária se for o caso.

## EVENTUAIS DESPESAS MÉDICAS

Não está prevista qualquer forma de remuneração ou pagamento de eventuais despesas médicas para os voluntários. Todas as despesas especificamente relacionadas com o estudo são de responsabilidade do Laboratório de Fisiologia do Exercício (LAFISE) da Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional da UFMG.

Você dispõe de total liberdade para esclarecer questões que possam surgir durante o andamento da pesquisa. Qualquer dúvida, por favor, entre em contato com os pesquisadores responsáveis pelo estudo: Emerson Silami Garcia, tel. 3409-2350 e Daniel Barbosa coelho tel 98594346.

Você poderá recusar-se a participar deste estudo e/ou abandoná-lo a qualquer momento, sem precisar se justificar. Você também deve compreender que os pesquisadores podem decidir sobre a sua exclusão do estudo por razões científicas, sobre as quais você será devidamente informado.

## CONSENTIMENTO

Concordo com tudo o que foi exposto acima e, voluntariamente, aceito participar deste estudo, que será realizado no Laboratório de Fisiologia do Exercício da Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional da Universidade Federal de Minas Gerais. Os resultados desta pesquisa serão utilizados na elaboração de uma tese de doutorado.

Belo Horizonte, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 200\_\_

Assinatura do voluntário: \_\_\_\_\_

Assinatura da testemunha: \_\_\_\_\_

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

\_\_\_\_\_  
Daniel Barbosa Coelho  
Doutorando / Pesquisador

## **APÊNDICE B**

### **TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO DIRECIONADO AOS PAIS OU RESPONSÁVEIS.**

#### **(DE ACORDO COM O ITEM IV DA RESOLUÇÃO 196/96 DO CNS)**

O projeto de pesquisa denominado “Análise da demanda fisiológica do futebol e a sua relação com a expressão genética do ACTN3 e do ACE dos jogadores.” tem por objetivo analisar a demanda fisiológica de jogos e ao longo de uma temporada competitiva de futebol tendo em vista a genotipagem dos atletas para o ACTN3.

Antes de algum dos jogos de uma competição será coletada do seu filho ou menor pelo qual se responsabiliza uma amostra sanguínea por punção venosa por um pesquisador, previamente treinado em técnicas de punctura de veias periféricas, escolherá a veia mais proeminente da fossa antecubital dos voluntários para tal. Para cada colheita de sangue, 1 amostra de 10 mL de sangue será coletada nos períodos antes do jogo, logo após, duas e quatro horas após o jogo. Também serão realizadas coletas sanguíneas antes da temporada de treinamento, 2 vezes ao longo da temporada e mais uma vez ao final da temporada.

Parte dessa amostra sanguínea será utilizada para a determinação da genotipagem, tipo genético, referente ao gene ACTN3, que tem relação com a expressão de determinada proteína muscular dos voluntários.

Todos os dados dos voluntários (seu filho ou menor pelo qual você é responsável) são confidenciais, a identidade dele não será revelada publicamente em hipótese alguma e somente os pesquisadores envolvidos neste estudo terão acesso a estas informações que serão utilizadas para fins de pesquisa.

Este estudo pode como benefício para o voluntário, a obtenção de informações sobre a demanda fisiológica imposta ao seu organismo em decorrência do futebol. Com esses dados o planejamento das cargas de treinamento, aplicação das mesmas e recuperação entre elas poderá ser melhor elaborado. Além disso, no caso de atletas recessivos para o gene ACTN3 poderão ter seu treinamento adequado às suas realidades de relação carga/recuperação, que tendem a serem diferentes dos demais.

Como possíveis riscos referentes aos procedimentos do projeto, o voluntário poderá apresentar um certo desconforto pelas punções sanguíneas ou Hematomas também podem aparecer no local da colheita de sangue, regredindo no máximo após uma semana, dores musculares, tardias ou não, e sensação de cansaço, em decorrência da prática do futebol que devem desaparecer entre 2 e 5 dias. Riscos gerais que envolvem a prática de atividades físicas devem ser considerados, como lesões músculo-esqueléticas e traumatismo em geral, mas que não é parte do estudo e sim parte do seu dia-a-dia como atleta.

Não está prevista qualquer forma de remuneração ou pagamento de eventuais despesas médicas para o voluntário. Todas as despesas especificamente relacionadas com o estudo são de responsabilidade do Laboratório de Fisiologia do Exercício (LAFISE) da Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional da UFMG.

O voluntário, bem como seus pais e responsável, dispõe de total liberdade para esclarecer questões que possam surgir durante o andamento da pesquisa. Qualquer dúvida, por favor, entre em contato com os pesquisadores responsáveis pelo estudo: Emerson Silami Garcia, tel. 3409-2350 e Daniel Barbosa coelho tel 98594346.

Você, pai ou responsável poderá recusar que o seu filho participe deste estudo caso seja de sua vontade ou mesmo do voluntário, bem como o mesmo poderá abandoná-lo a qualquer momento, sem precisar se justificar. Também deve ser compreendido pelas partes que os pesquisadores podem decidir sobre a exclusão dos voluntários do estudo por razões científicas, as quais serão devidamente informadas ao voluntário e aos pais ou responsáveis.

## CONSENTIMENTO

Concordo com tudo o que foi exposto acima e, voluntariamente, aceito que meu filho ou menor pelo qual sou responsável participe deste estudo, que será realizado pelo Laboratório de Fisiologia do Exercício da Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional da Universidade Federal de Minas Gerais. Os resultados desta pesquisa serão utilizados na elaboração de uma tese de doutorado.

Belo Horizonte, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_

Nome do Voluntário: \_\_\_\_\_

Assinatura do pai ou responsável pelo voluntário:

\_\_\_\_\_  
Grau de parentesco ou relação de responsabilidade que responsável possui sobre o voluntário: \_\_\_\_\_

Assinatura da testemunha:

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

\_\_\_\_\_  
Daniel Barbosa Coelho  
Doutorando / Pesquisador

\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Emerson Silami Garcia  
(Orientador)

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (COEP) da Universidade Federal de Minas Gerais e pelo Colegiado de Pós-Graduação em Ciências do Esporte M/D da Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional. Qualquer consideração ou reclamação entre em contato com o COEP/ UFMG: Av. Antônio Carlos, 6627. Unidade Administrativa II, 2º andar, sala 2005. Campus Pampulha. Belo Horizonte – MG CEP 31270-901. Tel: 34094592. E-mail: [coep@prpq.ufmg.br](mailto:coep@prpq.ufmg.br).