



Análise do Polimorfismo do Gene ACE em Atletas de Provas de Fundo e Potência no Atletismo

G. N. Woellner¹, M. A. M. Gonçalves¹, Z.C. Oliveira Netto², F. Salgueirosa², M. R. Ribas³, J.C. Bassan¹.

¹ Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica da Universidade Federal Tecnológica do Paraná (PPGEB),

² Universidade Positivo,

³ Faculdade Bom Bosco.

E-mail: glauciw@hotmail.com.

Resumo: — O desempenho físico humano sofre interferência de fatores ambientais e genéticos. Nos últimos anos o polimorfismo de vários genes têm sido associados a performance física, dentre eles o da Enzima Conversora da Angiotensina (ACE). Ao associar à genética à *performance* esportiva existe a possibilidade de correlacionar indivíduos com capacidade de responder aos estímulos do treinamento e com menores chances de lesões. O presente artigo tem por objetivo analisar o polimorfismo da ACE (Enzima Conversora da Angiotensina) nos atletas de Atletismo de diferentes provas. Por tratar-se de uma modalidade esportiva que possui provas com demandas energéticas diferentes: potência (P) para saltadores, velocistas e lançadores e resistência (R) para corredores de longas distâncias e marcha atlética. É possível observar diferenças destas características com as possíveis variações do alelo D (deleção) e I (inserção). Estudos anteriores relacionaram este polimorfismo à capacidade física demandada em outras modalidades. A amostra foi composta por 25 atletas (16 homens e 10 mulheres), com idade de 13 a 38 anos, participantes de uma equipe de atletismo, que foram então agrupados em função da característica de suas provas (Potência ou Resistência). O estudo apresentou diferenças significativas entre as amostras e o esperado para esta frequência pelo equilíbrio de Hardy-Weinberg ($p=0,0067$ e $p=0,0143$), no que tange a capacidade dominante da prova e também relacionada ao perfil da população brasileira, grupo controle comparado da literatura ($p=0,0223$ e $p=0,024$). O estudo apresentou uma recorrência de 71,7% somados os genótipos DD e ID, corroborando assim com estudos prévios e 33,3% do genótipo II, conflitando assim com pesquisas anteriores.

Palavras-chave: Gene, ACE, Esporte

Abstract: Human physical performance is influenced by environmental and genetic factors. In recent years the polymorphism of several genes has been associated with physical performance, among them that of Angiotensin Converting Enzyme (ACE). When associating with genetics to sports performance there is the possibility of correlating individuals with capacity to respond to training stimuli and with lower chances of injury. This article recurrence of ACE (Angiotensin Converting Enzyme) in Athletics' athletes. Because it is a sport that has tests with different energy demands: power (P) for jumpers, sprinters and throwers and resistance (R) for runners and race walking long distances. It is possible to observe differences in these characteristics with possible variations of the D allele (deletion) and I (insert). Previous studies have linked this polymorphism to the defendant physical capacity in other modes. The sample was composed of 24 athletes (15 men and 10 women) from 13 to 38 years old with participants in a track team, which were then grouped according to the characteristic of this evidence (power or strength). The study showed significant differences between the samples and the expected by the Hardy-Weinberg equilibrium ($p = 0.0067$ and $p = 0.0143$), regarding the ruling ability of the test and also related to the profile of the Brazilian population, control group compared to the literature ($p = 0.0223$ $p = 0.024$). The study showed a recurrence of 71.7% added the DD genotype and ID, corroborating previous studies and 33.3% of genotype II, conflicting with previous research.

Keywords: Gene, ACE, Sports



1 INTRODUÇÃO

A busca implacável para se atingir o sucesso no que se refere ao desempenho humano, nos mais diferentes esportes, tem sido o objetivo almejado pelos diferentes profissionais que fazem parte deste universo¹. Inúmeras variáveis podem interferir neste sucesso esportivo, como programas de treinamento avançados, nutrição adequada e até mesmo tecnologia dos equipamentos. Características genéticas também podem influir no processo de treinamento dos atletas de rendimento, podendo o perfil genotípico indicar um favorecimento em desempenho esportivo².

Pode-se destacar o fator, predisposição genética como um traço de herança que influenciará em um, ou mais campos do desenvolvimento humano, dentre eles o desempenho físico³. Com o auxílio da genética, é possível coligar os indivíduos com a fisiologia e morfologia ideal, bem como aqueles atletas com aptidão de responder ou adaptar-se ao treinamento com menor suscetibilidade a lesões⁴. Nesta linha, as descobertas de novas correlações genéticas têm deslumbrado pesquisadores, médicos, geneticistas, comissões técnicas e atletas⁵.

Com o avanço da biologia molecular, observa-se que a interferência do perfil genético pode ir além, sendo correlacionado a capacidades físicas como força e flexibilidade. Atualmente, já é de conhecimento que existem mais de 200 genes candidatos capazes de intervir no desempenho esportivo, por meio de sua interferência nas capacidades físicas humanas⁶.

Um conceito importante neste aspecto é o do polimorfismo genético, que são sequências de base diferentes em descrições do genoma. Essas sequências nos genes podem interferir na codificação de proteínas e alterar demandas do desempenho esportivo⁷. Esta possível interferência pode ocasionar vantagens tanto em atividades que exijam força e explosão muscular (potência) como em atividades aeróbias e de longa distância (resistência).

Pesquisas que postulam explicar o status atlético, que indique associações de polimorfismos genéticos com fenótipos de desempenho em diferentes grupos de atleta, vêm crescendo no decorrer dos anos⁸. Assim, é

possível intensificar o acompanhamento e aperfeiçoar o investimento em indivíduos com determinadas potencialidades esportivas⁹.

Dentre os diferentes polimorfismos genéticos candidatos ou genes candidatos, com interferência de *performance* atlética, o polimorfismo da ACE, enzima conversora da angiotensina é uma das mais investigadas¹⁰. Com fragmentos de 190 e 490 pares de base, respectivamente, localizadas no cromossomo 17, posição q23¹¹, apresenta-se como o polimorfismo genético mais estudado na literatura ao longo dos anos. A ACE é controladora da pressão arterial exercendo uma função fundamental no sistemarenina-angiotensina (RAS), sendo um agente vasoconstritor, degradando as cininas¹². A maior frequência do alelo I (inserção) da ACE é relatada pela literatura em atletas de modalidades de *endurance*^{13,14} enquanto a do alelo D (deleção) em atletas de modalidade de potência como nadadores e velocistas¹⁵, podendo também ser relacionado às atividades de força¹⁶. Esta correlação pode indicar que o polimorfismo da ACE está associado a vantagens tanto em atividades que exijam força e explosão muscular (potência) como em atividades aeróbias e de longa distância (resistência)¹⁷.

O atletismo é a modalidade esportiva mais antiga da história humana e é considerada um “esporte base” porque contempla atividades básicas, como correr, saltar e lançar¹⁸. Observa-se então a modalidade esportiva mais abrangente no que tange a variação de provas e suas características. Estas diferentes características surgem em virtude do grande número de provas que compõe a modalidade. Para as provas de velocidade, lançamentos, arremessos e saltos à capacidade física dominante é a potência. Já nas provas de corridas de fundo, a capacidade física dominante passa ser a resistência. A dificuldade de tentar descrever possíveis influências genéticas no desempenho atlético se dá pela natureza multifatorial das modalidades esportivas.

O principal desafio é determinar as exigências físicas das modalidades que se demonstram drasticamente diferentes. Portanto, inicialmente os estudos direcionados ao desempenho físico e sua correlação deve ser apropriada ao esporte de interesse da pesquisa¹⁹.

Portanto em uma classificação inicial, levando em conta diferentes demandas energéticas necessárias para a prática, teremos provas



de potência (P) e provas de resistência (R). Entende-se que muitos aspectos interferem na escolha de uma prova no início da especialização do atleta de atletismo, como somatotipo e experiência motora, mas devido à amplitude dos estudos dos polimorfismos candidatos, sua verificação pode se tornar uma nova e importante ferramenta nesta escolha. Portanto, o objetivo do presente estudo é identificar o polimorfismo da ACE, deleção e inserção e correlacionar com a participação dos atletas nas provas do referido esporte. A Enzima Conversora da Angiotensina em sua recorrência poderia influenciar o desempenho dos atletas? A relação entre as diferentes capacidades físicas (potência ou resistência) exigidas nas provas do atletismo podem ser observadas?

2 MATERIAIS E MÉTODOS

A amostra foi composta por 24 atletas da modalidade de Atletismo. A proposta de aplicação deste estudo experimental possui parecer do Comitê de Ética No: 1.424.895/2015. Os participantes experimentais ou responsáveis assinaram o termo de consentimento e a ficha cadastral, identificada numericamente para controle amostral em laboratório, aqui citado com as características de inclusão. A seleção da amostra foi intencional, por conveniência²⁰.

Os critérios de inclusão utilizados no presente estudo foram: atletas do sexo masculino e feminino com experiência em treinamento acima de dois anos na modalidade, que treinem com frequência de cinco sessões semanais e sejam registrados pelos devidos órgãos federais/regionais que representem as categorias. Faixa etária entre 12 e 35 anos, que realizem competições em suas modalidades a nível nacional e/ou internacional. Para exclusão, os que desejarem por livre e espontânea vontade absterem-se de realizar qualquer procedimento relacionado à coleta dos dados para a pesquisa. Os dados de características de prova e resultados dos atletas foram coletados por

intermédio de entrevista com o responsável técnico pela equipe.

Os atletas foram encaminhados à coleta de mucosa jugal determinando-se um bochecho com solução de glicose 3%. Foram colocadas 5mL dessa solução em tubos de coleta tipo *Falcon* de 15 mL rosqueável e autoclavadas a 127° C por 20 minutos (1,5Kgf). Após dois minutos do bochecho com esta solução, foi realizada uma raspagem da mucosa jugal com paletas de madeira autoclavadas. O líquido utilizado no bochecho foi devolvido em um copo plástico, onde esta paleta foi lavada. Este líquido retornou aos tubos *Falcon*, devidamente catalogados, já com a presença das células da mucosa. Após o período de 24 horas, os tubos foram centrifugados os a 3000 RPM durante 10 minutos. Posterior à centrifugação o líquido sobrenadante foi descartado. As células e demais estruturas, chamadas agora de *Pelet*, ficaram no fundo do frasco. Foi adicionado 1300mM de Tampão de Extração (TRIS 10mM, EDTA 5mM, SDS 0,5%). A genotipagem dos atletas foi realizada através da técnica de PCR.

Foram utilizados os procedimentos descritos na literatura para genotipagem do polimorfismo da ACE com os *primers*: 5'TGGAGACCACTCCCATCCTTCT e 5' GATGTGGCCATCACATTCGTCAGAT, nas condições previamente descritas e analisados em eletroforese de gel de agarose a 1,0% colorido com de brometo de etídio¹⁸. O DNA foi amplificado durante 35 ciclos com temperatura de 95° C, durante 10 minutos, desnaturação a 94° C durante 1 minuto, emparelhamento 8 ciclos a 58° C. durante 1 minuto e extensão a 72° durante 2 minutos utilizando o termociclador. O alelo D do gene ACE gera um fragmento de 191 pares de bases (pb), enquanto o alelo I gera um fragmento de 478 pares de base, contendo a inserção de 287 pb. Os tamanhos dos fragmentos amplificados foram determinados por electroforese em gel de agarose a 1%. Figura 1.



16
15
14
13
12
11
10
09
08
07
06
05
04
03
02
01



Figura 1 - - Determinação visual de análise em gel de agarose para ACE. Gel para caracterização dos genótipos ACE I/D. Poço 1 – Ladder de 100pb; poço 2 – NE; poços - 3, 4, 5, 12, 14 e 16 – genótipo DD; poços 9,10 e 12 – genótipo II e poço 6 genótipo ID.

A classificação antecipada de heterozigoto I/D como sendo homozigoto D/D pode ocorrer devido à amplificação preferencial do alelo D e a falta de eficiência da amplificação do alelo I²¹. Foi utilizado o método de PCR iniciador para confirmação do genótipo da ACE (iniciador: 5' TTTGAGACGGAGTCTCGCTC -3', iniciador a: 5'-GATGTGGCCATCACATTTCGTCAG AT-3 '), mudando assim o anelamento. A presença de um fragmento com XX pb indica o alelo I.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A distribuição dos genótipos dos genes ACE I/D estão de acordo com o equilíbrio de Hardy-Weinberg, com $p=0,0223$ em comparação com atletas de potência e $p=0,024$ para os atletas de resistência. A frequência genotípica absoluta e relativa do gene ACE I/D dos 24 atletas que fizeram parte da presente pesquisa, é apresentada na Tabela 1.

A distribuição do genótipo do gene ACE I/D foi significativa seguindo os padrões esperados. A tabela 1 e gráfico 1 mostram a distribuição genotípica do ACE I/D. Os dados de referência da distribuição na população brasileira foram os reportados por Meira-Lima et al.²² que avaliaram 323 sujeitos de ambos os sexos com idades entre 18 e 60 anos e cuja distribuição foi similar ao grupo controle de outros estudos.

A frequência genotípica foi significativa, levando em conta que estudos anteriores previam esta correlação da deleção do gene (DD) e heterozigotos (ID) em atletas de modalidades que exigiam a característica de potência (P). Contudo, apenas 33,3% dos atletas relacionados como participantes de provas considerada de resistência (R), foram identificados com a inserção no gene (II), conflitando assim com estudos da mesma técnica. Nos estudos de Min²³, realizado com 277 atletas de corridas de longa distância, de uma Universidade no Japão, sugerem que o alelo I da ACE tem associação com a capacidade de resistência. O estudo também conflitou com a pesquisa de Montgomery²⁴ que correlacionou o alelo I do polimorfismo da ACE com a capacidade de resistência (R). Já os estudos de Folland et al.²⁵ mostraram que em um treinamento isométrico de 9 semanas associou ao aumento de força dos quadríceps no grupo do alelo D, portanto correlacionado às modalidades de potência.



	DD N (%)	ID N (%)	II N (%)	p
Dados da pesquisa com atletas de Potência (P)	10 (55%)	3 (16,7%)	5 (27,8%)	p=0,0067*
Dados da pesquisa com atletas de Resistência (R)	4 (66,6%)	0 (0%)	2 (33,3%)	p=0,0143*
MEIRA- LIMA <i>et al</i>	104 (32,2%)	155 (47,9%)	64 (19,9%)	p=0,0223* para (P) p=0,024* para (R)

Tabela 1: Distribuição genotípica do Atletismo. Diferença significativa nos dados da pesquisa.

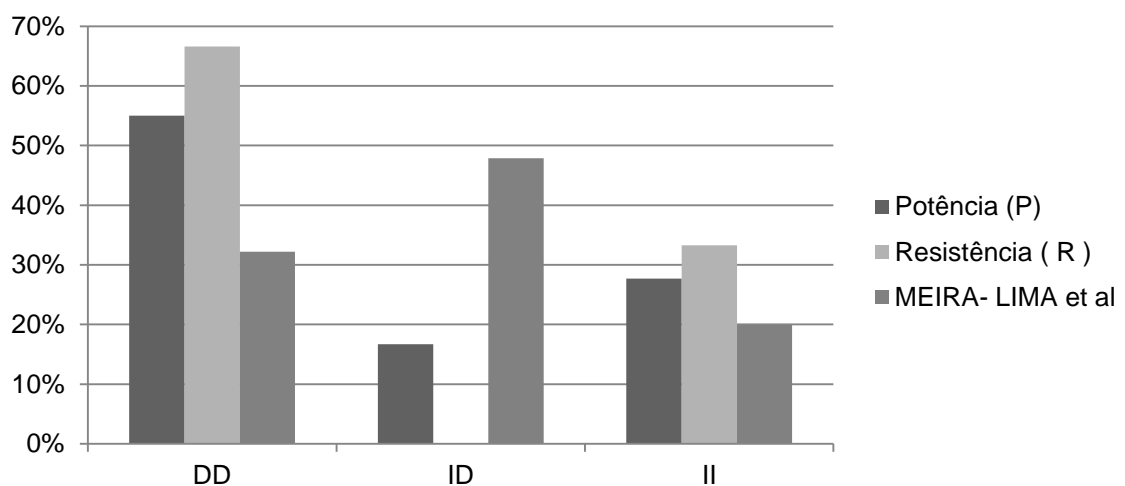


Figura 1: Distribuição genotípica do gene ACE (I/D) nos atletas de Atletismo.



4 CONCLUSÃO

Os resultados do estudo seguiram estudos anteriores, que identificam a recorrência e a correlação do gene ACE nas características físicas das modalidades esportivas. Estes resultados tornam-se desafiadores quando dentro da mesma modalidade, existem valências físicas diferenciadas. Houve uma tendência de possível correlação na deleção (DD) e heterozigotos (ID) do gene com relação à característica da resistência (R), 66,6%. Contudo, esta correlação se mostrou ainda mais forte na característica potência (P), com 71,7% do total das amostras com esta tendência, corroborando com resultados de estudos prévios. Portanto, a correlação se deu em ambas as comparações possíveis. Apesar da forte correlação e de significativa diferença na comparação com o perfil genotípico da população brasileira, o número de amostras se encontra como fator limitante do estudo. O estudo também sugere o aprimoramento do experimento com um número maior de atletas de Atletismo, pois esta variedade de provas com demandas energéticas diferenciadas, podem demonstrar uma maior interferência em uma modalidade com esta característica.

REFERÊNCIAS

1. Artioli GG, Hirata RDC, Lancha JAH., Terapia gênica, doping genético e esporte: fundamentação e implicações para o futuro. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*, Vol. 13, Nº 5 – Set /Out, 2007.
2. Lucia A, Morán M, Zihong H, Ruiz JR. Elite athletes: Are the genes the champions? *International Journal of Sports Physiology and Performance* 2010; 5:98-102.
3. Dias GR, C. A. Pereira, Negrão EC, Krieger EJ. Polimorfismos genéticos determinantes da performance física em atletas de elite. *Revista Brasileira Medicina do Esporte*. Mai/Jun. 2007; 13(3). 209-216.
4. Lippi G, Longo UG, Maffulli N. Genetics and sports. *British medical bulletin*, vol. 93, no. 1, pp. 27–47, 2010.
5. Bairos AV, Prevedello AA, Moraes LLS. Doping genético e possíveis metodologias de detecção. *Revista Brasileira de Ciências do esporte*; Florianópolis, v. 33, n. 4, p.1055-1069, out./dez. 2011.
6. Bray MS, Hagberg JM, Pérusse L, Rankinen T, Roth SM, Wolfarth B, The human gene map for performance and health-related fitness phenotypes: the 2006-2007 update. *Medicine & Science in Sports & Exercise*. 2009; 41: 34-72.
7. Pasqua LA, Artioli GG, Pires FO, Bertuzzi R. ACTN 3 e desempenho esportivo: um gene candidato ao sucesso em provas de curta e longa duração. *Revista Brasileira de Cineantropometria e Desempenho Humano*, 2011, 13(6):477-483.
8. Júnior CRB, Pereira MG. Biologia molecular como ferramenta no esporte de alto rendimento. Possibilidades e Perspectivas. *Revista Brasileira de Ciências do Esporte*. 2010; 31(3): 231-249
9. Ostrander EA, Huson HJ, Ostrander GK. Genetics of athletic performance. *Annual review of genomics and human genetics*, v. 10, p. 407–29, jan. 2009.
10. Folland J, et al. Angiotensin-converting enzyme genotype affects the response of human skeletal muscle to functional overload. *Exp Physiol*, v. 85, n. 5, p. 575-9, Sep 2000.
11. Jones A, Montgomery H E, Woods D R. Human performance: a role for the ACE genotype? *Exercise and sport sciences reviews*, v. 30, p. 184–190, 2002
12. Willians AG, et al. The ACE gene and muscle performance. *Nature*, v. 403, p. 614, 2000.
13. Myerson S, Hemingway H, Budget R, Martin J, Humphries S, Montgomery H. 1999. Human angiotensin I-converting enzyme gene and endurance performance. *J. Appl. Physiol.* 87(4): 1313–1316.
14. Fatini C, Guazzelli R, Manetti P, Battaglini B, Gensini F, Vono R, et al. 2000. RAS genes influence exercise-induced left ventricular hypertrophy: an elite athletes study. *Medicine Science of Sports Exercise* v.32, 2011, 1868–1872.
15. Bouchard C, Sarzynski MA, Rice TK, Kraus WE, Church TS, Sung YJ, Rao DC, Rankinen T.(2011). Genomic predictors of the maximal O₂ uptake response to standardized exercise training



- programs.2011. Journal Appliançe of Physiology,110, 1160–1170.
16. PASQUA L.et al. ACTN3 e desempenho esportivo: um gene candidato ao sucesso em provas de curta e longa duração. Revista Brasileira de Cineantropometria e Desempenho Humano, 2011, 13 (6):477-483.
 17. GUTH, L.,ROTH, S. Genetic influence on athletic performance. Current Opin Pediatry. 25(6): 653–658. December ;2013a.
 18. Oliveira V, Bortolaci E, Gomes AC, Oliveira PR, Vagetti GC, Santos AS.A preparação física no atletismo nas provas de corridas de meio fundo.na cidade de Curitiba, Paraná. Revista Digital Bueno Aires, v.146, 2010.
 19. Gil AC. Métodos e técnicas de pesquisa social, vol. 264. Atlas, 1999, p. 216.
 20. Scott RA, et al. No association between Angiotensin Converting Enzyme (ACE) gene variation and endurance athlete status in Kenyans. Comp Biochemical Physiology a Molecular Integrity Physiology,v. 141, n. 2, p. 169-75, Jun 2005.
 21. ShanmugamV, Sell KW, Saha BK. Mistyping ACE heterozygotes. PCR Methods Appl,v. 3, n. 2, p. 120-1, Oct 1993.
 22. Meira-Lima IV, Pereira AC, Mota GFA, Krieger JE,Vallada H. Angiotensinogen and angiotensin converting enzyme gene polymorphisms and the risk of bipolar affective disorder in humans. Neuroscience Letters, v. 293, n. 2, p. 103-106, 2000.
 23. Min S K, Takahashi K, Ishigami H, Hiranuma K, Mizuno M, Ishii T, Kim C S, Nakazato K. Is there a gender difference between ACE geneand race distance? NRC Research Press,Appl. Physiology Nutr. Metab.34: 926–932 (2009).
 24. Montgomery HE, Marshall R, Hemingway, Myerson S, Clarkson P, Dollery C, et al 1998. Human gene for physical performance. Nature, 393(6682): 221–222.
 25. Folland J, Leach B, Little T, Hawker K, Myerson, S, Montgomery H, e Jones D. 2000. Angiotensin- converting enzyme genotype affects the response of human skeletal musceto functional overload. Exp. Physiol. 85(5): 575–579.