

PAULO ROBERTO VIANA GENTIL

**ADAPTAÇÕES NEUROMUSCULARES DO EXERCÍCIO
RESISTIDO: INFLUÊNCIA DA VARIAÇÃO R577X DO GENE
ALFA ACTINA 3**

BRASÍLIA, 2010

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

PAULO ROBERTO VIANA GENTIL

**ADAPTAÇÕES NEUROMUSCULARES DO EXERCÍCIO
RESISTIDO: INFLUÊNCIA DA VARIAÇÃO R577X DO GENE
ALFA ACTINA 3**

Tese apresentada como requisito parcial
para a obtenção do Título de Doutor em
Ciências da Saúde pelo Programa de
Pós-Graduação em Ciências da Saúde
da Universidade de Brasília (UNB)

Orientador: Prof. Dr. Martim Bottaro
Marques

BRASÍLIA

2010

PAULO ROBERTO VIANA GENTIL

**ADAPTAÇÕES NEUROMUSCULARES DO EXERCÍCIO RESISTIDO: INFLUÊNCIA
DA VARIAÇÃO R577X DO GENE ALFA ACTINA 3**

Tese apresentada como requisito parcial
para a obtenção do Título de Doutor em
Ciências da Saúde pelo Programa de
Pós-Graduação em Ciências da Saúde
da Universidade de Brasília (UNB)

Aprovado em 11 de junho de 2010

BANCA EXAMINADORA

Martim Francisco Bottaro Marques (presidente)
Universidade de Brasília

Ricardo Jacó de Oliveira
Universidade de Brasília

Maria de Nazaré Klautau Guimarães Grisólia
Universidade de Brasília

Herbert Gustavo Simões
Universidade Católica de Brasília

Rinaldo Wellerson Pereira
Universidade Católica de Brasília

Carmen Silvia Grubert Campbell (suplente)
Universidade Católica de Brasília

Dedico este trabalho à minha família e aos meus amigos

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador, professor Dr. Martim Bottaro, não só pela orientação no doutorado, mas pelo incentivo e apoio que tem me dado nos meus estudos e vida acadêmica.

Ao professor Dr. Rinaldo Pereira, pelo apoio nas análises genéticas e disponibilização de recursos humanos e materiais.

Aos estudantes e professores que contribuíram com seu valioso trabalho e presença, atuando diretamente na supervisão e orientação dos voluntários durante os treinamentos e dos testes de força e espessura muscular bem como nos procedimentos de análise do DNA.

Aos voluntários que se dedicaram aos treinos e colaboraram com o protocolo dos estudos.

Aos professores e colegas do curso de pós-graduação e especialmente os do nosso Grupo de Estudos pelas idéias e contribuições diretas e indiretas para a realização do projeto.

À minha família pelo incentivo aos estudos e pela confiança, desde minha infância até os dias de hoje. Além da paciência e compreensão nos momentos de ausência.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo suporte financeiro.

RESUMO

Introdução: A variação R577X no gene da alfa actina 3 (ACTN3) tem sido associada às alterações na força e massa muscular bem como à performance atlética. O alelo X, que leva à ausência da proteína ACTN3, supostamente ocasiona queda na quantidade de massa muscular e prejudica a performance de atividades que requerem contrações musculares com altos níveis de força e/ou velocidade. Além de interferir nos fenótipos musculares, é possível que alterações no gene ACTN3 também influenciam na adaptação do músculo esquelético ao exercício. **Objetivo:** O presente estudo teve como objetivo 1) investigar a influência da variação R577X no gene ACTN3 na força e massa muscular de homens jovens e 2) a influência da variação R577X na resposta desses fenótipos a um programa de treinamento resistido. **Métodos:** Cento e quarenta e um homens participaram do estudo ($21,95 \pm 2,69$ anos; $175,10 \pm 6,54$ cm; $71,92 \pm 13,92$ kg), que envolveu duas sessões semanais de treinamento resistido por 11 semanas. Antes e após o treinamento, os participantes foram testados para uma repetição máxima (1RM) no supino reto, pico de torque (PT) de extensores de joelhos e espessura muscular (EM) dos extensores de joelhos. A genotipagem foi conduzida usando a enzima de restrição Ddel. **Resultados e discussão:** a distribuição dos genótipos foi 34,4% para o genótipo RR, 47% para o RX e 18,6% para o XX. De acordo com os resultados não houve diferença entre a carga de 1RM no supino reto, o PT e a EM dos extensores de joelho entre os genótipos R577X. Também não houve diferença entre os ganhos de 1RM no supino reto e PT dos extensores de joelhos entre portadores de diferentes genótipos, no entanto, apenas portadores do alelo R apresentaram ganhos na EM em função do treinamento.

Palavras chave: treinamento resistido, genótipo, polimorfismo, força muscular, massa muscular, pico de torque, hipertrofia muscular

ABSTRACT

Introduction: The R577X polymorphism in the alpha-actin 3 (ACTN3) gene has been associated to alterations in muscle mass and strength, as well as, to athletic performance. The X allele, which leads to the absence of the ACTN3 protein, supposedly results in decreased muscle mass and impairs performance of activities that require high strength and/or velocity muscle contractions. In addition to influence muscle phenotypes, it is possible that alterations in the ACTN3 gene also influence muscle adaptations to exercise. **Objective:** the present study aimed to investigate 1) the effects of the R577X polymorphism in the ACTN3 gene in muscle mass and strength of young men and 2) the effects of the R577X polymorphism in the response of these phenotypes to a resistance training program. **Methods:** one hundred forty one men participated in the study (21.95 ± 2.69 years; 175.10 ± 6.54 cm; 71.92 ± 13.92 kg) that involved two weekly sessions of resistance training for 11 weeks. Before and after training, participants were tested for one repetition maximum (1RM) in the bench press, peak torque (PT) and muscle thickness (EM) of the knee extensors. Genotyping were done using the Ddel restriction enzyme. **Results and discussion:** genotype distribution was 34.4% for the RR genotype, 47% for RX and 18.6% for XX. According to the results, there was no difference in 1RM load, knee extensors PT and EM among R577X genotypes. There was no difference for the alteration in bench press 1RM and knee extensors PT among carriers of the different genotypes; however, only men with the R allele showed significant increases in knee extensors EM in response to training.

Key words: resistance training, genotype, polymorphism, muscle strength, muscle mass, peak torque, muscle hypertrophy

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: exemplo de imagem do gel de agarose 1% usada para quantificação, com padrões em λ DNA nos quatro primeiros poços de cada fileira: 20ng, 50ng, 100ng, e 200ng.	28
Figura 2: exemplo das imagens do resultado da digestão do produto da PCR com a enzima Ddel	31
Figura 3: distribuição dos genótipos ACTN3 nos diferentes clusters de alterações no pico de torque.....	38
Figura 4: distribuição dos genótipos ACTN3 nos diferentes clusters de alterações no teste de 1RM no supino reto.	39
Figura 5: distribuição dos genótipos ACTN3 nos diferentes clusters de alterações na espessura muscular dos extensores de joelho.....	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Características da amostra.....	33
Tabela 2: Características da amostra, de acordo com os genótipos (valores expressos em média \pm desvio padrão).....	35
Tabela 3: Características da amostra, de acordo com os genótipos (valores expressos em média \pm desvio padrão).....	36
Tabela 4: distribuição dos genótipos ACTN3 nos diferentes clusters de acordo com a resposta ao treinamento (quantidade de indivíduos).....	37
Tabela 5: distribuição dos genótipos ACTN3, classificados pela presença ou ausência do alelo R nos diferentes clusters de acordo com a resposta ao treinamento (quantidade de indivíduos).....	38

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACTN – Alfa actina

AIDS – Síndrome da imunodeficiência adquirida, do inglês *Acquired immunodeficiency syndrome*

ANCOVA - Análise de Covariância

ANOVA – Análise de Variância

DNA – Ácido desoxirribonucleico, do inglês *Deoxyribonucleic acid*

EDTA – Ácido etilenodiamino tetra-acético, do inglês *Ethylenediamine tetraacetic acid*

EM – Espessura muscular

ICC – Coeficiente de correlação intraclasse, do inglês *Intraclass correlation*

Kg – Quilogramas

PCR – Reação em cadeia da polimerase, do inglês *Polimerase chain reaction*

PT – Pico de torque

RA-PT – Resposta alta de pico de torque

RA-RM – Resposta alta de espessura muscular

RA-SR – Resposta alta de supino reto

RB-EM – Resposta baixa de espessura muscular

RB-PT – Resposta baixa de pico de torque

RB-SR – Resposta baixa de supino reto

RI-PT – Resposta intermediária de pico de torque

RM – repetição máxima

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	11
1.1. JUSTIFICATIVA	13
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	14
2.1. GENÉTICA, FENÓTIPOS MUSCULARES E ATIVIDADE FÍSICA.....	14
2.2. ALFA-ACTINA 3 (ACTN3) E SUAS RELAÇÕES COM OS FENÓTIPOS NEUROMUSCULARES	16
3. MÉTODOS.....	24
3.1. AMOSTRA	24
3.2. AVALIAÇÃO DA MASSA MUSCULAR	24
3.3. TESTES DE FORÇA.....	25
3.3.1. Teste de 1 repetição máxima (1RM)	25
3.3.2. Teste isocinético	26
3.4. PROTOCOLO EXPERIMENTAL.....	27
3.5. ESTUDO DAS VARIAÇÕES GENÉTICAS	27
3.5.1. Extração de DNA e quantificação	28
3.5.2. Amplificação do DNA – Polimerase Chain Reaction (PCR)	29
3.5.3. Protocolo de genotipagem	30
3.6. PROCEDIMENTOS ESTATÍSTICOS.....	31
4. RESULTADOS	33
4.1. ACTN3	34
5. DISCUSSÃO.....	40
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46
ANEXO (APROVAÇÃO PELO COMITÊ DE ÉTICA).....	59

1. INTRODUÇÃO

O treinamento resistido tem sido utilizado há milhares de anos com o objetivo de aumentar a capacidade física de soldados e atletas e como forma de promoção de saúde. Princípios básicos do treinamento resistido podem ser encontrados desde gravuras do Egito antigo até mitos e lendas das civilizações clássicas, como o personagem Milo de Crotona (Kraemer & Hakkinen, 2004). Atualmente, o treinamento resistido é praticado por um grande número de pessoas e recomendado pelas principais organizações desportivas e de saúde do Mundo (USDHHS, 1996; ACSM, 1998; Kraemer *et al.*, 2002a; ACSM, 2009). No meio desportivo, esta modalidade de exercício tem ganhado destaque por favorecer o desempenho e diminuir a incidência de lesões (Paavolainen *et al.*, 1999; Jung, 2003). No entanto, um dos campos no qual o treinamento resistido vem sendo mais reconhecido é na prevenção e tratamento de doenças e co-morbidades a elas relacionadas, como osteoporose (Layne & Nelson, 1999; Martyn-St James & Carroll, 2006), sarcopenia (Doherty, 2003; Borst, 2004; Nair, 2005), AIDS (Zinna & Yarasheski, 2003; Dudgeon *et al.*, 2004), diabetes (Boule *et al.*, 2001; Willey & Singh, 2003; Sigal *et al.*, 2006), câncer (Milne *et al.*, 2008), hipertensão (Pescatello *et al.*, 2004a; Pescatello *et al.*, 2004b; Fagard & Cornelissen, 2007) e na reabilitação (Bjarnason-Wehrens *et al.*, 2004; Oldervoll *et al.*, 2004), entre outros. Tanto no caso de atletas, quanto na prevenção e reabilitação de doenças, os objetivos mais procurados com o treinamento resistido são os ganhos de força e de massa muscular.

Apesar dos fatores ambientais terem grande importância na determinação da força e massa muscular, atualmente se reconhece que fatores genéticos são responsáveis por grande parte das variações nestes fenótipos (Maes *et al.*, 1996; Loos *et al.*, 1997; Thomis *et al.*, 1997; Carmelli & Reed, 2000; Wolfarth *et al.*, 2005; Stewart & Rittweger, 2006; Bray *et al.*, 2009). Estimativas anteriores revelaram que a herdabilidade pode explicar 44 a 58% das variações interindividuais na força muscular (Beunen & Thomis, 2000; Beunen & Thomis, 2004; Tiainen *et al.*, 2009) e massa magra (Arden & Spector, 1997), sendo a influência dos fatores genéticos maior em jovens do que em idosos (Stewart & Rittweger, 2006; Prior *et al.*, 2007). Nesse sentido, um dos

fatores genéticos que pode ter influência nos níveis de força e massa muscular são polimorfismos no gene da alfa-actina 3 (ACTN3) (Yang *et al.*, 2003; Clarkson *et al.*, 2005; Niemi & Majamaa, 2005).

As alfa-actinas são uma família de proteínas relacionadas à distrofina que se ligam à actina, e são importantes para a ligação e fixação dos miofilamentos, além de terem efeitos na sinalização e no metabolismo muscular (North & Beggs, 1996; Mills *et al.*, 2001; MacArthur & North, 2004). Um polimorfismo funcional no gene ACTN3 foi identificado em humanos por North *et al.* (1999). A mutação, identificada como R577X (rs1815739), resulta na troca de Arginina (alelo R) por um códon de terminação (alelo X) no aminoácido 577. Esta alteração leva à ausência de detecção da proteína em indivíduos homozigotos para o alelo X (North *et al.*, 1999). Estudos anteriores revelaram menor incidência do genótipo XX em atletas de força e potência (Yang *et al.*, 2003; Niemi & Majamaa, 2005), sugerindo que tais variações possam interferir na capacidade do músculo realizar contrações intensas, especificamente das fibras tipo II.

Além de influenciar diretamente nos fenótipos musculares, os fatores genéticos também podem interferir na resposta ao treinamento (Thomis *et al.*, 1998; Beunen & Thomis, 2004; Thomis *et al.*, 2004; Brutsaert & Parra, 2006). Estimativas de Thomis *et al.* (1998) revelam que aproximadamente 20% das variações nos ganhos de força podem ser atribuídas a fatores genéticos. No entanto, poucos estudos conhecidos avaliaram a interação de genótipos específicos com atividade física na determinação dos ganhos de força e massa muscular, especialmente em jovens. Nesse sentido, estudos anteriores sugerem que o polimorfismo R577X no gene ACTN3 pode influenciar a resposta de mulheres ao treinamento resistido (Clarkson *et al.*, 2005; Delmonico *et al.*, 2007), mas os resultados para homens foram controversos (Delmonico *et al.*, 2007). Portanto, devido às controvérsias e a escassez de estudos sobre a influência desse polimorfismo nos ganhos de força e massa muscular em homens submetidos ao treinamento resistido, o objetivo do presente estudo foi analisar a influência da variação R577X do gene ACTN3 nos ganhos de força e massa muscular em homens jovens submetidos a um programa de treinamento resistido, bem como a influência deste genótipo nos níveis de força e massa muscular do grupo estudado.

1.1. JUSTIFICATIVA

A força muscular é um componente importante na determinação de tarefas motoras, com influência tanto no desempenho desportivo (Delecluse, 1997; Kraemer *et al.*, 2002b; Jung, 2003) quanto na saúde, longevidade e qualidade de vida (Rantanen *et al.*, 2000; Visser *et al.*, 2005; Newman *et al.*, 2006; Gale *et al.*, 2007). Atualmente se reconhece o treinamento resistido como o meio mais eficiente para promover alterações neste fenótipo (Kraemer *et al.*, 2002a; Kraemer & Ratamess, 2004; ACSM, 2009). No entanto, grandes variações existem nas respostas individuais a um programa de exercício, o que pode ser determinado, dentre outros fatores, por características genéticas específicas (Thomis *et al.*, 1998; Wolfarth *et al.*, 2005; Bray *et al.*, 2009).

Apesar de ser reconhecido que os ganhos de força e massa muscular em função de um programa de exercício sofrem influência genética, a determinação de genes específicos associados a esse processo ainda não é precisa. A identificação de genes associados aos fenótipos musculares possibilitaria identificar os indivíduos com determinados padrões de resposta e, sendo assim, o conhecimento científico buscado nesse estudo permitirá desenhar intervenções mais eficientes, inclusive com possibilidade de direcionar práticas específicas para determinados grupos de acordo com sua sensibilidade ao treinamento.

A literatura avaliada aponta que o ACTN3 (MacArthur & North, 2004) pode ter influência biológica na determinação da força e massa muscular, o que torna atraente a análise do gene referente a este fator. Apesar dos estudos de associação entre genótipos e a função muscular estarem se tornando relativamente numerosos, ainda são raros os estudos que comparam a resposta de diferentes genótipos a uma intervenção controlada.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. GENÉTICA, FENÓTIPOS MUSCULARES E ATIVIDADE FÍSICA

Fatores ambientais, como dieta e exercício, têm um papel importante no desenvolvimento da função e morfologia do músculo esquelético, no entanto, esses fatores sozinhos não conseguem explicar por completo as variações nos fenótipos musculares. Devido à contribuição de estudos das últimas duas décadas, atualmente se tem a comprovação de que uma parte importante das variações destes fenótipos são devidas a fatores genéticos (Maes *et al.*, 1996; Loos *et al.*, 1997; Thomis *et al.*, 1997; Carmelli & Reed, 2000; Wolfarth *et al.*, 2005; Stewart & Rittweger, 2006; Bray *et al.*, 2009).

As evidências e estimativas iniciais da influência genética no desempenho humano vieram de estudos que compararam indivíduos relacionados (gêmeos e familiares) com indivíduos não relacionados (Macarthur & North, 2005). Nesse sentido, estimou-se que a herdabilidade possa explicar 44 a 58% das variações interindividuais na força muscular (Beunen & Thomis, 2000; Beunen & Thomis, 2004; Tiainen *et al.*, 2009) e na massa magra (Arden & Spector, 1997), sendo a influência mais forte em jovens do que em idosos (Stewart & Rittweger, 2006; Prior *et al.*, 2007).

Após o reconhecimento da influência de fatores genéticos, o passo seguinte é a busca dos fatores específicos que possam ter associação com os fenótipos de interesse. As tentativas pioneiras de identificar marcadores genéticos associados ao desempenho datam da década de 1960, quando um grupo de geneticistas utilizou a ocasião das Olimpíadas do México, em 1968, para investigar diferenças nos marcadores sangüíneos de atletas e não atletas (Rankinen *et al.*, 2001). Os esforços prosseguiram durante as Olimpíadas de 1976, em Montreal, no entanto, essas tentativas iniciais eram limitadas, pois se baseavam em polimorfismos em enzimas e antígenos das células vermelhas. Apenas na década de 1990, as análises começaram

a ser realizadas no nível do DNA (Rankinen *et al.*, 2001). Apesar do progresso lento inicialmente, a evolução tecnológica em conjunto com a pressão das agências fomentadoras de pesquisa e a disponibilidade de recursos financeiros levou a um salto quantitativo e qualitativo nas pesquisas relacionadas à genética e fenótipos musculares (Rankinen *et al.*, 2001; Bray *et al.*, 2009; Rankinen *et al.*, 2010).

Os fenótipos musculares são características extremamente complexas e são determinados por complicadas interações entre fatores genéticos e ambientais, por esse motivo, a compreensão de como os fatores ambientais, como o exercício, interagem com fatores genéticos, tem ganhado importância crescente (Bray *et al.*, 2009; Rankinen *et al.*, 2010). Inclusive, alguns autores consideram necessária a inclusão de variáveis ambientais, como o exercício, nas investigações de fatores genéticos (Bray, 2000).

Deste modo o exercício pode ser uma variável a ser controlada nas pesquisas sobre os efeitos genéticos em determinados fenótipos. Outra forma de se analisar a interação entre fatores genéticos e ambientais é comparar a diferença de resposta entre determinados genótipos, pois a resposta ao exercício é altamente variável entre os indivíduos, o que também pode ser mediado por variações genéticas (Bray, 2000). Portanto, além de influenciar diretamente nos fenótipos musculares, se reconhece que os fatores genéticos podem interferir na resposta ao treinamento (Thomis *et al.*, 1998; Beunen & Thomis, 2004; Thomis *et al.*, 2004; Brutsaert & Parra, 2006). Com relação a isso, há estimativas de que aproximadamente 20% das variações nos ganhos de força podem ser atribuídas a fatores genéticos (Thomis *et al.*, 1998).

As pesquisas relativas à associação entre genética e exercício normalmente envolvem investigações de genes que afetam medidas reconhecidamente influenciadas pelo exercício, como massa muscular, densidade mineral óssea, força muscular, etc. (Gentil *et al.*, 2007; Moreno Lima *et al.*, 2007; Bray *et al.*, 2009; Rankinen *et al.*, 2010). E para que os resultados das pesquisas sejam mais precisos, as buscas são baseadas nos efeitos biológicos dos genes, de modo a selecionar fatores associados diretamente aos fenótipos estudados. Nesse sentido, um dos fatores genéticos que tem recebido destaque por sua suposta influência nos níveis de força e massa muscular é o gene da

alfa-actina 3 (ACTN3) (Yang *et al.*, 2003; Clarkson *et al.*, 2005; Niemi & Majamaa, 2005; Rankinen *et al.*, 2010).

2.2.ALFA-ACTINA 3 (ACTN3) E SUAS RELAÇÕES COM OS FENÓTIPOS NEUROMUSCULARES

As alfa-actinas (ACTN) são uma família de proteínas relacionadas à distrofina que se ligam à actina, e são importantes para a ligação e fixação dos miofilamentos (North & Beggs, 1996; Mills *et al.*, 2001). Quatro genes para alfa-actina foram encontrados em humanos: ACTN1, ACTN2, ACTN3 e ACTN4. As ACTN1 e ACTN4 são proteínas não-musculares, enquanto as ACTN2 e ACTN3 são proteínas miofibrilares localizadas no disco Z. A ACTN3 é uma isoforma característica das fibras rápidas, expressa apenas nas fibras tipo II (Beggs *et al.*, 1992; North *et al.*, 1999; Mills *et al.*, 2001), as quais são responsáveis pela geração de contrações rápidas e intensas, como em atividades de *sprint* e levantamento de peso. As funções exatas da ACTN3 ainda não são conhecidas, mas sugere-se que ela tenha função estrutural na manutenção da integridade mecânica e na contração muscular (Mills *et al.*, 2001; MacArthur & North, 2007) e pode influenciar na tipologia das fibras (Vincent *et al.*, 2007). Esta proteína é parte do mecanismo contrátil das fibras rápidas e duas de suas principais funções são unir os filamentos contidos na actina e estabilizar o aparato contrátil do músculo (Beggs *et al.*, 1992; Squire, 1997; MacArthur & North, 2004). Além do papel mecânico, as alfa-actinas também interagem com proteínas envolvidas na sinalização e metabolismo muscular (Mills *et al.*, 2001; MacArthur & North, 2004).

O gene ACTN3 localiza-se no cromossomo 11q13-q14 e foi clonado por Beggs *et al.* (1992). Posteriormente, um polimorfismo funcional no gene ACTN3 foi identificado em humanos por North *et al.* (1999). O polimorfismo, definido pela troca entre Citosina e Timina na posição do 1747 do exon 16, resulta na troca de Arginina (alelo R) por um códon de terminação (alelo X) no aminoácido 577, sendo identificado como R577X. A mutação leva à ausência de detecção da proteína em indivíduos homozigotos para o

alelo X (North *et al.*, 1999), provavelmente porque a proteína truncada é rapidamente degradada pelo organismo (MacArthur & North, 2004). Apesar da frequência dos alelos diferir entre populações, estima-se que aproximadamente 16% a 21% da população seja homozigoto para o polimorfismo não-funcional, XX (North *et al.*, 1999; Mills *et al.*, 2001; MacArthur & North, 2007; Moran *et al.*, 2007; Papparini *et al.*, 2007).

O genótipo XX não causa mudanças histológicas aparentes, o que sugere que a presença da proteína não seja crítica para as funções musculares (North & Beggs, 1996), de modo que as variações ocorram dentro dos limites da normalidade (MacArthur *et al.*, 2008). Tal fato pode ser explicado por uma possível redundância funcional entre as proteínas ACTN2 e ACTN3, de modo que, na ausência de ACTN3, a ACTN2 pode compensar seus efeitos (North *et al.*, 1999; Mills *et al.*, 2001; MacArthur & North, 2004, 2007). Apesar da compensação aparente, deve-se levar em conta que o gene ACTN3 foi altamente conservado ao longo da evolução humana, sendo que a divergência entre ACTN2 e ACTN3 ocorreu há cerca de 300 milhões de anos (Mills *et al.*, 2001; MacArthur & North, 2004), o que sugere que alguns efeitos do ACTN3 não podem ser compensados pelo ACTN2.

Análises em ratos revelam que a ausência da proteína leva à perda de massa muscular, especificamente relacionada à redução na secção transversa dos músculos compostos predominantemente de fibras rápidas, sendo que os músculos lentos se apresentam até maiores nos portadores do genótipo XX (MacArthur *et al.*, 2008). Em humanos, há estudos com resultados similares. Zempo *et al.* (2010) compararam a área de secção transversa do quadríceps de 109 mulheres japonesas no período pós menopausa e verificaram que as portadoras do genótipo XX apresentavam menor área de secção transversa dos músculos da coxa em comparação com portadoras do alelo R (Zempo *et al.*, 2010).

Com relação à função muscular, análises de MacArthur (2008) revelaram que as atividades de enzimas envolvidas no ciclo de Krebs, cadeia de transporte de elétrons e oxidação de ácidos graxos foram mais altas nos ratos com o genótipo XX, o que pode ajudar a explicar a menor fadigabilidade e maior taxa de recuperação após contrações de intensidade moderadas a alta verificadas nesse grupo. Adicionalmente, as fibras dos ratos com genótipo XX apresentam menor capacidade de realizar trabalho e maior

tempo de relaxamento após as contrações, sugerindo prejuízo na capacidade de gerar contrações musculares intensas e repetitivas (MacArthur *et al.*, 2008). Chan *et al.* (2008) avaliaram o músculo extensor digitorum longus de ratos com deficiência na ACTN3 e verificaram que a ausência da proteína não altera a quantidade de lesões provenientes de ações excêntricas, sugerindo que não havia influencia na estabilidade mecânica do sarcômero. No entanto, quando comparadas com músculos de animais sem deficiência na produção de proteína, houve maior tempo de relaxamento após o estímulo, melhor recuperação da fadiga e menor área de secção transversa nas fibras de animais sem expressão de ACTN3 (Chan *et al.*, 2008).

Com relação aos fenótipos musculares de humanos, Moran *et al.* (2007) avaliaram a associação do ACTN3 com o desempenho muscular em 525 adolescentes do sexo masculino e 467 do sexo feminino, com idade entre 11 e 18 anos. Os autores reportaram que o desempenho no teste de 40 m foi menor para portadores do genótipo XX do sexo masculino, mas não houve diferenças no sexo feminino. Os resultados não foram significativos para o demais testes, como força de preensão manual, arremesso de bola de basquete e salto vertical. Também não houve associação dos genótipos com os resultados da avaliação de composição corporal. Os autores sugerem que a especificidade da relação com o teste de sprint é consistente com o fato de a ACTN3 ter atuação na proteção do sarcômero contra lesões. Como a corrida, ao contrário dos demais testes (preensão manual, salto vertical), gera consecutivas contrações excêntricas, pode ser que a ação do ACTN3 seja mais evidente nesse caso.

San Juan *et al.* (2006) avaliaram se a presença ou ausência da proteína ACTN3 influencia nos efeitos deletérios que a idade causa na função muscular. O estudo envolveu 23 mulheres idosas com idade entre 61 e 80 anos, as quais foram avaliadas para o polimorfismo R577X e para os seguintes testes de função muscular: teste incremental na esteira, teste de 1RM no supino reto, caminhada de uma milha e bateria de testes funcionais. De acordo com os resultados, não houve diferença entre os genótipos para nenhum dos parâmetros avaliados.

Posteriormente, Walsh *et al.* (2008) procuraram determinar a associação do polimorfismo R577X com os fenótipos de força e massa muscular em homens e mulheres de diversas idades. Foram avaliados 848 voluntários de 20 a 90 anos. De

acordo com os resultados, as mulheres com o genótipo XX apresentaram menor torque concêntrico de extensores de joelho e menor massa magra no corpo inteiro e nos membros inferiores quando comparadas com portadoras dos demais genótipos. No entanto, tais diferenças não foram encontradas em homens.

Com a finalidade de examinar a associação entre o polimorfismo R577X e função e desempenho muscular de idosos, Delmonico et al. (2008) mensuraram o pico de torque (PT) dos extensores do joelho, área de secção transversa da coxa e tempo para caminhar 400 metros antes e após um período de 5 anos. A amostra foi composta por 1367 idosos caucasianos de 70 a 79 anos. Os resultados não revelaram diferenças entre os genótipos para os valores iniciais das variáveis estudadas, no entanto, os homens com genótipo XX obtiveram maiores aumentos no tempo da caminhada de 400 metros quando comparados com os portadores do alelo R. Em mulheres, as portadoras do genótipo XX apresentaram um risco 35% maior de apresentar limitações persistentes nos membros inferiores. Os demais fenótipos estudados não foram diferentes entre os genótipos.

McCauley et al. (2009) investigaram a associação entre o polimorfismo ACTN3 e as características contráteis do músculo de jovens caucasianos ingleses. Setenta e nove homens foram submetidos à avaliação de força isocinética de extensores de joelho e a contrações eletricamente estimuladas. A comparação não revelou diferença significativa entre os genótipos ACTN3 e o resultado de nenhum teste. Baseado nesses achados, os autores sugerem que a influência desse polimorfismo individual não parece ter magnitude para se manifestar em jovens saudáveis.

Em outro estudo recente, Norman et al. (2009) investigaram a associação do genótipo R577X com a potência muscular durante um teste de Wingate em 120 voluntários de ambos os sexos moderadamente treinados e também com a força e fadigabilidade dos extensores de joelho em 21 homens. Além dos testes, foram realizadas biopsias para determinar o tipo de fibras no vasto lateral dos participantes e atividade de ACTN2 e ACTN3. Os resultados revelaram que os diferentes genótipos não diferiam em termos de tipologia de fibras, potência, fadigabilidade e relação força-velocidade. Os autores encontraram um aumento na expressão de ACTN2 relacionada

à queda de ACTN3, sugerindo que a esta proteína pode compensar a deficiência encontrada no genótipo XX.

Com a finalidade de testar se o genótipo ACTN3 seria associado a variações na função muscular em humanos, alguns autores estudaram a distribuição dos diferentes genótipos em atletas de diversas modalidades. Nesse sentido, Yang et al. (2003) examinaram o genótipo ACTN3 em 429 atletas de elite australianos e de 436 controles. Em homens, o genótipo XX foi encontrado em 16% dos controles não atletas, mas apenas em 8% dos atletas envolvidos com modalidades que requerem esforços de alta intensidade e curta duração, sendo que entre os atletas de nível olímpico, não havia nenhum portador do genótipo XX. Nas mulheres, 20% dos controles possuíam o genótipo XX e nenhuma atleta de modalidades de sprint ou potência foi identificada como homozigoto XX. Estes resultados sugerem que a presença da proteína ACTN3 seja associada com o desempenho de atividades que exijam contrações musculares intensas e por períodos de tempo relativamente curtos.

Ao contrário do verificado em atletas de sprint ou potência, os resultados revelaram que o alelo X é mais freqüente em atletas de endurance (Yang *et al.*, 2003). Nesse grupo, 20% dos homens e 29% das mulheres foram identificados como homozigotos XX, enquanto em não-atletas os valores foram de 16% e 20%, respectivamente. No entanto, tais diferenças não foram verificadas por Papanini et al. (2007) ao avaliar os genótipos R577X e Q523R em 102 homens e 42 atletas de endurance italianos. De acordo com os resultados, não houve diferença na distribuição de nenhum dos genótipos entre os grupos.

Resultados similares aos obtidos por Yang et al. (2003) foram reportados em um estudo com atletas finlandeses, o qual comparou a freqüência do polimorfismo ACTN3 em 68 atletas de sprint, 40 de endurance e 120 não-atletas (Niemi & Majamaa, 2005). As análises revelaram uma redução na freqüência do genótipo XX em atletas de sprint e aumento (não significativo) em atletas de endurance. É importante ressaltar que, tanto no estudo de Yang et al (2003) quanto de Niemi & Majamaa (2005), as tendências de diferença na distribuição dos genótipos foram mais evidentes nos competidores de nível mais alto.

Posteriormente, Yang et al. (2007) genotiparam o polimorfismo R577X em 198 controles etíopes, 76 atletas de endurance de elite etíopes, 158 controles quenianos, 284 atletas de endurance de elite quenianos, 60 controles nigerianos e 62 atletas de potência de elite nigerianos. O genótipo XX não foi encontrado em nigerianos e foi encontrado em baixa frequência nos quenianos (<1%) de uma maneira geral, enquanto nos etíopes houve uma incidência de 11%. Em nenhum dos grupos houve diferenças na distribuição dos genótipos entre atletas e controle, o que sugere que a deficiência de ACTN3 não tenha influência no desempenho de atletas africanos.

Em um estudo com atletas gregos, Papadimitriou et al. (2008) examinaram as diferenças na distribuição dos polimorfismos R577X entre praticantes de diferentes modalidades (73 de potência e 28 de resistência) e um grupo de 181 não atletas. De acordo com os resultados, os atletas de potência possuíam maior frequência do genótipo RR do que a população em geral (49,94% vs. 25,97%). Os resultados foram ainda mais proeminentes quando se comparou especificamente os velocistas (corredores de provas de 100 a 400m) nos quais o genótipo RR estava presente em 73,53% dos avaliados.

Roth et al. (2008) examinaram a frequência do genótipo XX em fisiculturistas e atletas de força brancos e negros (n = 79) em comparação com a população geral (n = 886). De acordo com os resultados das análises em caucasianos, a frequência do genótipo XX foi menor em atletas (9,7%) em comparação com controles (19,9%). Nenhum atleta negro possuía o genótipo XX, no entanto, a diferença para o grupo controle não foi significativa devido à baixa frequência do genótipo nesse grupo (4,8%). Em um artigo do mesmo ano, Druzhevskaya et al. (2008) apresentaram um estudo que envolveu 486 atletas russos de força e potência, comparados com 1.197 controles. A frequência do genótipo XX foi menor nos atletas em comparação com controles (6,4 vs. 14,2%) sendo que a menor frequência foi encontrada no grupo de atletas de alto nível; dentre os 29 atletas de elite, apenas um apresentou o genótipo XX.

A distribuição de genótipos ACTN3 foi avaliada em 155 atletas israelenses e 240 indivíduos sedentários por Eynon et al. (2009). Os autores reportam que a distribuição do genótipo RR foi significativamente maior em velocistas (52%) do que em fundistas (18%) e sedentários (27,3%), análises adicionais revelaram que em velocistas de alto

nível, a frequência do alelo R é maior do que nos atletas de nível nacional. Por outro lado, uma maior proporção do genótipo XX foi encontrada em fundistas (34%), comparados com controles (18%) e velocistas (13%).

Com relação aos efeitos do genótipo ACTN3 nas adaptações ao exercício, Clarkson et al. (2005) estudaram as associações entre o genótipos R577X e fenótipos musculares (secção transversa do bíceps, força isométrica e força dinâmica dos flexores de cotovelo) em 247 homens e 355 mulheres jovens envolvidos em um programa de 12 semanas de treinamento de força. As análises transversais não revelaram associações entre o genótipo XX e nenhum dos fenótipos estudados em homens. Entretanto, mulheres com o genótipo XX apresentaram menores valores de força isométrica, comparadas aos heterozigotos RX. A análise da força isométrica corrigida pela secção transversa revelou que os genótipos RX e RR apresentaram melhores resultados que o genótipo XX.

O treinamento, realizado duas vezes por semana, foi organizado de maneira periodizada e composto de três exercícios para flexores de cotovelo e dois para os extensores do lado não dominante. Nas primeiras quatro semanas foram realizadas três séries de 12RM em cada exercício; nas semanas 5-9, três séries de oito repetições, e três séries de 6RM nas semanas 10-12. Com relação às alterações promovidas pelo treinamento, os resultados revelaram que o genótipo ACTN3 pode influenciar os ganhos de força, mas não de massa muscular. Nesse sentido, as portadoras do alelo X demonstraram maiores aumentos na carga de 1RM em comparação com portadoras do genótipo RR. A análise dos ganhos ajustados pelos aumentos de secção transversa revelou que a influência do genótipo no aumento da força é independente do ganho de massa muscular. Adicionalmente, houve uma tendência para um efeito dose dependente para o alelo X, de modo que os aumentos de 1RM seguiram o seguinte padrão: XX>RX>RR (Clarkson *et al.*, 2005).

Posteriormente, Delmonico et al. (2007) examinaram os efeitos do polimorfismo R577X no gene ACTN3 nas mudanças na potência muscular em função de 10 semanas de treinamento em 71 mulheres (65±8 anos) e 86 homens (64±9 anos). O treinamento foi realizado três vezes por semana e direcionado para os extensores de joelho do lado direito enquanto o esquerdo permanecia inativo e foi usado como controle. Foram

executadas cinco séries por pessoas com menos de 75 anos e quatro séries por pessoas com mais de 75 anos. Na primeira série, foram realizadas cinco repetições com 50% da carga de 5RM, a segunda série envolveu a realização de 5RM, na terceira série a carga inicial foi 5RM, no entanto, após a falha, a carga foi reduzida sucessivamente até se completar 10 repetições, na quarta e quinta séries o procedimento foi repetido até as repetições chegarem a 15 e 20, respectivamente. Inicialmente, as mulheres com genótipo XX apresentaram maiores valores de potência absoluta e relativa (corrigida pela secção transversa do músculo) em comparação com portadoras do genótipo RX, com utilização da massa magra como covariante. Nenhuma diferença foi reportada em homens. Não houve diferença na massa corporal magra entre os genótipos em homens ou mulheres. Tanto em homens quanto em mulheres, os portadores do genótipo RR apresentaram maiores ganhos de potência do que portadores do genótipo XX, no entanto, as diferenças em homens não atingiram significância. Não foram encontradas diferenças entre os genótipos nos ganhos de 1RM para homens ou mulheres.

Dentre os possíveis mecanismos responsáveis pela interação entre o gene ACTN3 e os fenótipos musculares estão: 1) alterações na propriedade contrátil dos sarcômeros das fibras tipo II, 2) efeitos na diferenciação dos tipos de fibra ou hipertrofia por meio da interação indireta entre o ACTN3 e proteínas sinalizadoras como a calcineurina; 3) modificação da habilidade de resistir ou recuperar de lesões induzidas pelo exercício; 4) mudanças no metabolismo muscular por meio de interações com enzimas como a frutose 1,6-bifosfatase e fosforilase (MacArthur & North, 2004). Nenhum desses mecanismos é mutuamente exclusivo, e é mais provável que o mecanismo real envolva diversos desses processos.

3. MÉTODOS

3.1. AMOSTRA

Os indivíduos foram recrutados por meio do oferecimento de práticas desportivas (musculação) no Centro Olímpico da Universidade de Brasília. Foram adotados como critérios de exclusão a existência de limitações funcionais e presença de lesões articulares ou doenças cardiovasculares que impossibilitassem a realização dos exercícios ou dos testes. Os participantes foram orientados a não mudar seus hábitos alimentares durante o estudo, caso alguma alteração relevante fosse detectada (vegetarianismo, uso de suplementos alimentares, utilização de recursos ergogênicos entre outros), os dados do voluntário seriam excluídos das análises. Todos os indivíduos foram convidados a ler e assinar um termo de consentimento livre e esclarecido antes de optar por participar do estudo. O procedimento foi aprovado pelo Comitê de Ética da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília sob o número 104/2007.

Inicialmente, 210 homens realizaram as avaliações e forneceram material para análise de DNA. Após o emprego dos critérios de exclusão, 141 indivíduos foram incluídos nas análises, os principais motivos para exclusão foram frequência menor que 85% nos treinos e realização de treinos complementares de musculação fora do protocolo do estudo.

3.2. AVALIAÇÃO DA MASSA MUSCULAR

A massa corporal foi mensurada em uma balança com resolução de 0,1 kg (Filizola, modelo Personal Line, São Paulo, Brasil) e a altura mensurada em centímetros

em um estadiômetro (Filizola, modelo Personal Line, São Paulo, Brasil) com resolução de 0,1 cm.

A massa muscular foi estimada pela espessura dos extensores de joelhos, conforme realizado em estudos anteriores (Abe *et al.*, 2000; Chilibeck *et al.*, 2004; Sanada *et al.*, 2006; Nogueira *et al.*, 2009). Essa espessura foi mensurada com um aparelho de ultra-som Ultra Vision Flip, modelo BF (Philips-VMI, Lagoa Santa, MG). Um transdutor linear multifrequencial de 7,5 MHz de alta resolução foi embebido em gel solúvel em água, com a finalidade de fornecer contato acústico sem causar depressão no local. O transdutor foi posicionado a 20 centímetros da borda superior da patela e perpendicular à superfície avaliada. As avaliações foram realizadas com o avaliado deitado, os pés unidos (mantidos nessa posição por auxílio externo) e um rolo com 10 cm de diâmetro posicionado sob os joelhos. A espessura muscular foi medida a partir da imagem de ultra-som, e definida como a distância entre a junção músculo-tecido adiposo subcutâneo e a interface do músculo com o fêmur. Três mensurações foram obtidas em cada local e a média das três avaliações foi utilizada nas comparações. O mesmo avaliador realizou todas as medidas de ultra-som e as mensurações. O coeficiente de variação foi menor que 3%. O coeficiente de correlação intraclassa (ICC) do teste e re-teste foi 0,99 (0,98 – 0,99).

3.3. TESTES DE FORÇA

3.3.1. Teste de 1 repetição máxima (1RM)

Antes de iniciar os treinos e 5 a 7 dias após a última sessão de treino, os indivíduos realizaram testes de 1RM no exercício supino reto com barra, em procedimentos similares aos propostos anteriormente por Kraemer & Fry (1995) e Gentil

et al. (2006). O objetivo do teste foi determinar a máxima carga com a qual é possível efetuar um movimento completo no exercício em questão.

Cinco minutos antes dos testes, os indivíduos realizaram aquecimentos específicos com cargas leves, com duas séries de 10 repetições e intervalos de três a cinco minutos entre as séries. Após o aquecimento, foram realizados os testes de 1RM de supino. Caso a carga não fosse mensurada com precisão na primeira tentativa, o peso foi ajustado em dois a 10 kg e o indivíduo submetido a um novo teste após um intervalo mínimo de cinco minutos. Somente cinco tentativas foram permitidas em cada sessão. O teste foi repetido após cinco a sete dias em 40 indivíduos e foi calculada a correlação de Pearson ($r = 0,97$, $p < 0,001$).

Para minimizar erros, todos os indivíduos foram instruídos com relação aos procedimentos do teste e a técnica correta do exercício e todos os testes foram acompanhados por, no mínimo, dois professores de Educação Física com experiência neste tipo de procedimento. Os indivíduos foram verbalmente encorajados a realizar esforços máximos durante os testes.

3.3.2. Teste isocinético

O pico de torque (PT) na extensão do joelho foi mensurado em um dinamômetro isocinético modelo Biodex System III (Biodex Medical, Inc., Shirley, NY) na velocidade angular de $60^\circ/s$, antes de iniciar os treinos e cinco a sete dias após a última sessão de treino. Os voluntários sentaram-se de modo que o eixo de rotação do dinamômetro ficasse alinhado com o eixo de rotação do joelho direito. O braço de alavanca foi ajustado e fixado aos maléolos do tornozelo direito. Os ajustes da cadeira e do dinamômetro para cada indivíduo foram anotados para assegurar que o posicionamento fosse o mesmo entre os diferentes testes. Os indivíduos foram presos ao equipamento por tiras com velcro nas coxas, pélvis e tronco para estabilizar o corpo e prevenir movimentações indesejadas. Após o posicionamento adequado do indivíduo, foram realizadas duas séries de quatro repetições de extensão do joelho direito, com intervalo

de um minuto entre as séries, partindo de 90° de flexão até a extensão completa (Parcell *et al.*, 2002; Bottaro *et al.*, 2005). Os voluntários foram verbalmente encorajados a realizar contrações máximas durante os testes. A calibração do aparelho foi realizada de acordo com as especificações do fabricante antes de cada teste (Brown, 2000). O coeficiente de correlação intra-classe (ICC) para o PT dos extensores de joelhos foi 0,98.

3.4. PROTOCOLO EXPERIMENTAL

Os treinos foram divididos em treinos A (supino reto barra, mexa flexora, remada sentada articulada, cadeira extensora e flexão de tronco), B (supino reto articulado, cadeira flexora, puxada supinada, leg press vertical e flexão de tronco) e C (supino reto na maquina, mesa flexora, remada polia, leg press 45° e flexão de tronco). Os voluntários realizaram os treinos alternadamente, seguindo a ordem A → B → C.

Foram realizadas duas séries de cada exercício. As séries foram iniciadas a cada três minutos, de modo que o intervalo entre as séries permaneceu entre 2,5 e 1,5 minutos. Os treinos foram realizados duas vezes por semana durante 11 semanas.

A carga foi ajustada continuamente para manter a intensidade adequada. Quando foi possível realizar uma quantidade de repetições superior à estabelecida, a carga foi aumentada em dois a 10 quilos, dependendo do exercício. No caso de não ser possível completar o mínimo de repetições previstas, a carga foi reduzida em dois a 10 quilos para a série subsequente.

Foi mantido um diário de treino para cada participante e todas as sessões foram acompanhadas por professores e estudantes de Educação Física com experiência em treinamento de força. Para ter os dados incluídos nas análises, deveria haver um percentual de freqüência de, no mínimo, 85% das sessões de treino.

3.5. ESTUDO DAS VARIAÇÕES GENÉTICAS

3.5.1. Extração de DNA e quantificação

Um técnico devidamente treinado realizou a coleta de amostra sanguínea (3 a 5 ml) de todos os participantes por meio da veia antecubital. O material biológico foi colhido em tubos com vácuo estéreis contendo anticoagulante EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético do inglês ethylenediamine tetraacetic acid). O DNA genômico de alto peso molecular foi extraído dos leucócitos periféricos pelo método “salting out” (Miller *et al.*, 1988). Todos os procedimentos de análise genética foram realizados no laboratório de Ciências Genômicas e Biotecnologia da Universidade Católica de Brasília.

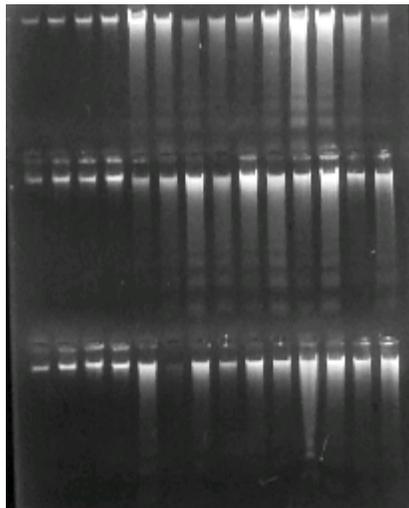


Figura 1: exemplo de imagem do gel de agarose 1% usada para quantificação, com padrões em λ DNA nos quatro primeiros poços de cada fileira: 20ng, 50ng, 100ng, e 200ng.

A concentração do DNA extraído foi estimada em gel de agarose a 1%, corado com brometo de etídio. Em cada poço do gel foi aplicado um volume de 8 μ l (4 μ l de

tampão de carregamento e 4 µl do DNA extraído e conservado em TE). Foi utilizado como padrão para quantificação o lambda DNA em concentrações de 20, 100, 200 e 400ng/µl. Após alguns minutos de eletroforese a 80 V, o gel foi visualizado e fotografado em luz ultravioleta. As “bandas” formadas pelo DNA foram comparadas com as dos marcadores e, por meio da inspeção visual, foi realizada a quantificação do DNA (figura 1). Após a quantificação, todas as amostras de DNA foram diluídas em água deionizada ultra-pura, de forma a ficar numa concentração final de 5 ng/µl.

3.5.2. Amplificação do DNA – Polimerase Chain Reaction (PCR)

A região genômica onde está localizado o sítio polimórfico a ser estudado foi amplificada por meio da técnica da reação em cadeia da polimerase (PCR, do inglês *polymerase chain reaction*) em procedimentos similares aos usados anteriormente (Gentil *et al.*, 2007; Lins *et al.*, 2007). Essa técnica permite que um fragmento específico da molécula de DNA seja amplificado milhares de vezes em poucas horas. A técnica implica na utilização de fragmentos de DNA fita simples (iniciadores) que delimitam a região a ser amplificada. A técnica de PCR é baseada na capacidade da enzima Taq polimerase exercer sua função em temperaturas elevadas que promovem normalmente a desnaturação do DNA. O fato ocorre porque a enzima, extraída de uma bactéria que vive em altas temperaturas denominada *Thermus Aquáticus*, tem característica termoestável, o que é de grande importância uma vez que a reação se processa em diferentes ciclos de temperaturas. Também compõem a reação o MgCl₂ e os dNTPs (dATP, dGTP, dCTP e dTTP).

Para amplificação pela PCR, os iniciadores foram desenhados usando o programa Primer3Plus, o qual está disponível na internet (<http://www.bioinformatics.nl/cgi-bin/primer3plus/primer3plus.cgi>).

Após o preparo, a reação foi colocada em um termociclador (GeneAmp PCR System 9700, Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA), alternando temperaturas variadas, descritas detalhadamente a seguir, com o intuito de promover a desnaturação

do DNA (separação das fitas devido ao rompimento das pontes de hidrogênio), anelamento dos iniciadores às fitas simples de DNA e a síntese de uma nova fita de DNA pela incorporação de dNTPs.

3.5.3. Protocolo de genotipagem

Para amplificação do fragmento de DNA contendo o polimorfismo R577X foram usados os seguintes iniciadores: 5'-CCCACAACCTTTAGGCTCCTG-3' (direto) e 5'-ATGTAGGGATTGGTGGAGCA-3' (reverso).

A PCR foi realizada em um volume final de 12,5 µL, de acordo com o seguinte protocolo: Tampão 10 x (1,25 µL), dNTPs (1,25 µL), BSA (0,8 µL), iniciadores direto e reverso (0,64µL), Taq (0,1µL), DNA (2 µL) e água deionizada ultra-pura para completar o volume da reação. A programação no termociclador foi a seguinte: 5' a 95° (desnaturação); 35 ciclos de 30" a 95°, 30" a 58° e 30" 72° (anelamento); 10' a 72° (extensão), ao final a temperatura foi mantida a 4° para conservação da reação.

O fragmento amplificado de 342pb foi digerido pela enzima Ddel (Promega, Madison, WI, EUA) em uma reação de 15 µL, contendo tampão 10 x (1,5 µL), BSA (0,15 µL), Ddel (0,1 µL), produto de PCR (9,5 µL) e água deionizada ultra-pura para completar o volume da reação. A reação foi encubada a 37°C por 4 horas e, em seguida, analisada por eletroforese a 80V em gel de agarose a 2%, corado com brometo de etídeo. Cada poço do gel foi preenchido com 3 µL de tampão de carregamento (2,5 mg/mL de azul de bromofenol; 400 mg/mL de sacarose; 0,02 mg/mL de brometo de etídio; 12,1mg/mL de Tris-HCl pH 8,0; 1 mM de EDTA pH 8,0) e 5 µL de produto da digestão. Em cada fileira, um dos poços foi preenchido com DNA Ladder 1Kb Plus, para identificação do tamanho dos fragmentos. O gel foi fotografado em luz ultravioleta e visualizado para mensuração dos fragmentos de DNA.

A análise visual trouxe três resultados possíveis: RR (342pb), RX (342, 250, 92pb) ou XX (250, 92pb). Sendo que a banda de 92pb não foi visualizada no gel de agarose (figura 2). Para assegurar o controle interno, foram usados controles negativos

e positivos de diferentes alíquotas de DNA previamente genotipadas pelo mesmo método, de acordo com recomendações anteriores (Chanock *et al.*, 2007)

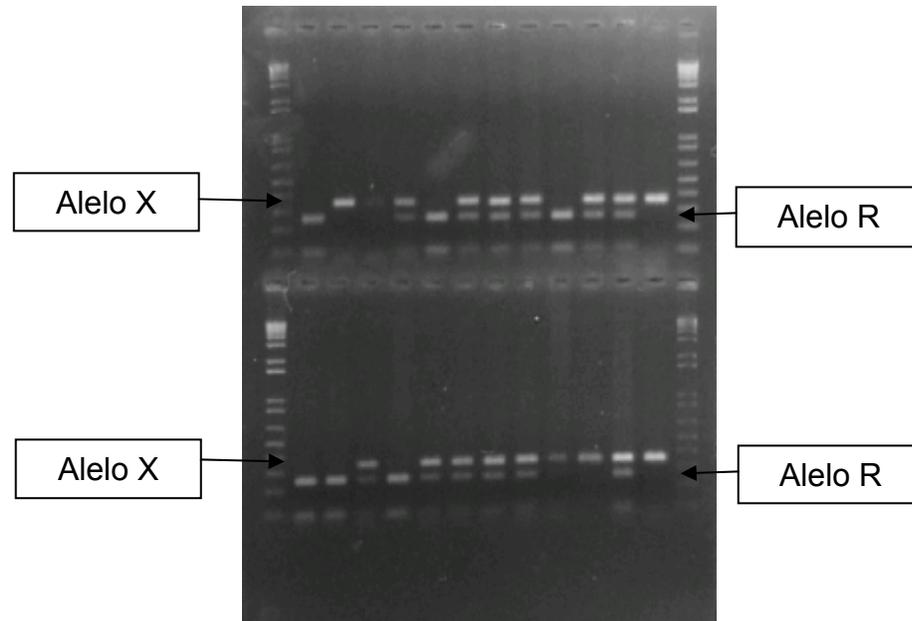


Figura 2: exemplo das imagens do resultado da digestão do produto da PCR com a enzima DdeI

3.6. PROCEDIMENTOS ESTATÍSTICOS

A conformidade da distribuição dos genótipos com o equilíbrio de Hardy-Weinberg foi avaliada por meio do teste Chi Quadrado. Para testar as diferenças na idade, altura, peso, valores iniciais de 1RM no supino, EM e PT de extensores de joelho, foi usada a Análise de Variância (ANOVA) para amostras independentes. As comparações entre as respostas de ganhos de força e massa muscular nos diferentes genótipos foram realizadas por meio de ANOVA fatorial 2 x 3 ou 2 x 2 (tempo x genótipo), dependendo de haver três ou dois grupos de comparação, respectivamente. Quando necessário, foram realizadas comparações múltiplas com correção da significância pelo método de Bonferroni para comparações *post hoc*. As mudanças

relativas para 1RM no supino, EM e PT de extensores de joelho foram calculadas por meio da seguinte equação: $[(\text{Valores finais} - \text{Valores iniciais}) / \text{Valores iniciais} \times 100]$.

O teste Two-Step Cluster foi usado para criar grupos homogêneos de acordo com as alterações obtidas no teste de 1RM no supino, EM e PT de extensores de joelho. Os valores pré e pós treino para cada cluster foram comparados pelo teste T para amostras dependentes. Para comparar as alterações nas variáveis dependentes entre os clusters, foi usada a ANCOVA tendo os valores iniciais como co-variantes. Quando necessário, foram realizadas comparações múltiplas com correção do intervalo de confiança pelo método de Bonferroni para análises *post hoc*. Para avaliar se havia diferença na distribuição dos genótipos entre os clusters foi usado o teste de Chi Quadrado.

As diferenças foram consideradas significativas em caso de $P < 0,05$. Os procedimentos estatísticos foram conduzidos com o programa Statistical Package for the Social Sciences 16.0 (SPSS, Chicago, IL, EUA). Os valores estão expressos como média \pm desvio padrão.

4. RESULTADOS

Ao todo 141 voluntários foram incluídos nas análises. As características dos participantes estão descritas na tabela 1.

Tabela 1: Características da amostra

Variável	Média ± Desvio padrão
Idade (anos)	21,95 ± 2,69
Altura (cm)	175,10 ± 6,54
Massa corporal (kg)	
Pré-teste	71,92 ± 13,92
Pós-teste	72,85 ± 14,59
PT extensores de joelho (N.m)	
Pré-teste	224,52 ± 37,15
Pós-teste	239,96 ± 38,14*
Delta (%)	6,88
1RM de supino (kg)	
Pré-teste	59,65 ± 14,21
Pós-teste	66,44 ± 12,47*
Delta (%)	11,38
Espessura muscular dos extensores de joelho (mm)	
Pré-teste	43,07 ± 6,75
Pós-teste	44,31 ± 6,16*
Delta (%)	2,88

Legendas: PT – pico de torque; 1RM – uma repetição máxima; *diferença significativa entre pré- e pós-teste após 11 semanas de treino

O procedimento de Two-Step Cluster levou à formação de três clusters para as alterações no PT de extensores de joelho: 1) resposta baixa (RB-PT) com diferença de -3,76±5,86% entre os valores pré e pós treino ($p < 0,05$); 2) resposta intermediária (RI-PT) com ganhos de 7,5±3,06% ($p < 0,05$) e 3) resposta alta (RA-PT) com ganhos de

20,78±7,06% ($p < 0,05$). Os grupos foram compostos por 42, 78 e 21 indivíduos, respectivamente. A ANCOVA revelou diferenças significativas nos resultados obtidos pelos clusters, sendo RA-PT > RI-PT > RB-PT.

Para as mudanças no teste de 1RM no supino reto, foram formados dois clusters: 1) resposta baixa (RB-SR), com 49 indivíduos e ganhos médios de 3,43±4,67% ($p < 0,05$) e 2) resposta alta (RA-SR) com ganhos médios de 16,66±5,04% ($p < 0,05$) e composto por 92 participantes. A ANCOVA revelou diferenças significativas nos ganhos entre os clusters, sendo RA-SR > RB-SR.

As avaliações de espessura muscular foram realizadas em 40 voluntários, as análises separadas destes 40 revelaram que seus resultados não diferiam da amostra total, portanto, seus resultados estão inclusos nas tabelas gerais. Dos 40 participantes, 23 foram classificados como de resposta baixa (RB-EM) com alterações -0,49±4,76% de e 17 como de alta resposta (RA-EM), com ganhos de 9,81±4,63%. Sendo que apenas o grupo RA-EM apresentou ganhos significativos ($p < 0,05$) e houve diferenças significativas entre os ganhos nos diferentes clusters ($p < 0,05$).

4.1. ACTN3

De acordo com os resultados, 34,4% dos avaliados portavam o genótipo RR, 47% o RX e 18,6% o XX, em uma distribuição que seguiu o equilíbrio de Hardy-Weinberg ($p > 0,05$). Os dados dos grupos, separados por genótipo, estão descritos na tabela 2. A frequência do alelo X foi de 0,42 e a do alelo R foi de 0,58.

Os valores iniciais de EM e PT para extensores de joelho e 1RM de supino reto não foram diferentes entre os genótipos ($p > 0,05$). Adicionalmente, todos os genótipos obtiveram aumentos significativos nos valores de PT para extensores de joelho e 1RM de supino reto, sem diferença significativa ($p > 0,05$) entre os grupos (tabela 2).

As avaliações de espessura muscular foram realizadas em 40 voluntários, 11 portadores do genótipo RR, 20 do RX e 9 do RX (tabela 2). De acordo com os resultados apenas os portadores do genótipo RX obtiveram aumentos significativos na

espessura muscular ($p < 0.05$), no entanto a comparação entre grupos não mostrou diferenças significativas ($p > 0.05$).

Tabela 2: Características da amostra, de acordo com os genótipos (valores expressos em média \pm desvio padrão)

Variáveis	RR	RX	XX
N	52	71	28
Idade (anos)	21,88 \pm 2,09	21,75 \pm 2,56	22,56 \pm 4,30
Altura (cm)	176,31 \pm 7,07	174,82 \pm 6,46	173,54 \pm 5,62
Massa corporal (kg)			
Pré-teste	73,11 \pm 13,69	71,52 \pm 14,82	70,41 \pm 12,6
Pós-teste	73,99 \pm 14,81	72,71 \pm 16,41	71 \pm 10,61
PT extensores de joelho (N.m)			
Pré-teste	229,38 \pm 43,44	222,53 \pm 35,21	224,04 \pm 26,95
Pós-teste	243,4 \pm 42,29*	237,91 \pm 37,12*	241,18 \pm 32,56*
Delta (%)	6,11	6,91	7,65
1RM de supino (kg)			
Pré-teste	60,24 \pm 14,59	59,08 \pm 12,73	59,5 \pm 17,52
Pós-teste	66,92 \pm 12,87*	66,33 \pm 11,69*	65,2 \pm 13,1*
Delta (%)	11,1	12,27	9,58
Espessura muscular (mm)**			
Pré-teste	44,22 \pm 5,63	42,09 \pm 7,4	43,3 \pm 6,81
Pós-teste	45,37 \pm 4,99	44,03 \pm 7,16*	44,12 \pm 5,41
Delta (%)	2,6	4,6	1,89

Legendas: PT – pico de torque; 1RM – uma repetição máxima; *diferença significativa entre pré e pós-treino ($p < 0,05$); **apenas 40 avaliados, sendo 11 portadores do genótipo RR, 20 do RX e 9 do XX

Também foram realizadas análises separadas em portadores do alelo R e homocigotos para o alelo X (genótipo XX), os dados referentes a essas análises seguem na tabela 3. Assim, como a análise anterior, não houve diferença nos valores iniciais nem nas alterações de EM e PT dos extensores de joelho e 1RM de supino reto entre os grupos ($p > 0,05$). As avaliações de espessura muscular revelaram ganhos significativos apenas para portadores do alelo R, mas não houve diferença entre os grupos (tabela 3).

Tabela 3: Características da amostra, de acordo com os genótipos (valores expressos em média \pm desvio padrão)

Variáveis	R	XX
N	123	28
Idade (anos)	21,8 \pm 2,36	22,71 \pm 3,81
Altura (cm)	175,46 \pm 6,74	173,54 \pm 5,62
Massa corporal (kg)		
Pré-teste	72,2 \pm 14,31	70,41 \pm 12,37
Pós-teste	73,25 \pm 15,64	70,99 \pm 10,62
PT extensores de joelho (N.m)		
Pré-teste	225,4 \pm 38,84	224,04 \pm 26,95
Pós-teste	240,33 \pm 39,4*	241,18 \pm 32,56*
Delta (%)	6,62	7,65
1RM de supino (kg)		
Pré-teste	59,56 \pm 13,5	59,5 \pm 17,52
Pós-teste	66,57 \pm 12,16*	65,2 \pm 13,10*
Delta (%)	11,77	9,58
Espessura muscular (mm)**		
Pré-teste	42,85 \pm 6,81	43,3 \pm 6,81
Pós-teste	44,51 \pm 5,41*	44,12 \pm 5,41
Delta (%)	3,87	1,89

Legendas: PT – pico de torque; 1RM – uma repetição máxima; *diferença significativa entre pré e pós-treino ($p < 0,05$); **apenas 40 avaliados, sendo 31 portadores do alelo R e 9 do genótipo XX

A distribuição dos indivíduos classificados nos diferentes clusters de acordo com o os genótipos ACTN3 está ilustrada na tabela 4. Os resultados revelaram que não houve diferença distribuição dos genótipos nos diferentes grupos ($p > 0,05$).

Tabela 4: distribuição dos genótipos ACTN3 nos diferentes clusters de acordo com a resposta ao treinamento (quantidade de indivíduos)

Variáveis	RR	RX	XX
Pico de torque			
RB-PT	17	21	5
RI-PT	23	35	19
RA-PT	9	10	2
Supino reto			
RB-SR	20	24	6
RA-SR	29	42	20
Espessura muscular			
RB-EM	4	12	7
RA-RM	7	8	2

Legenda: RB-PT (resposta baixa no pico de torque), RI-PT (resposta intermediária no pico de torque); RA-PT (resposta alta no pico de torque); RB-SR (resposta baixa no supino reto); RA-SR (resposta alta no supino reto); RB-EM (resposta baixa na espessura muscular); RA-EM (resposta alta na espessura muscular)

A distribuição dos indivíduos classificados nos diferentes clusters de acordo com a presença do alelo R está ilustrada na tabela 5. A distribuição dos genótipos não foi diferente entre os grupos ($p > 0,05$). As figuras 3, 4 e 5 ilustram a distribuição percentual dos genótipos dentro dos diferentes clusters para as alterações no PT de extensores de joelho, 1RM de supino reto e EM de extensores de joelho, respectivamente.

Tabela 5: distribuição dos genótipos ACTN3, classificados pela presença ou ausência do alelo R nos diferentes clusters de acordo com a resposta ao treinamento (quantidade de indivíduos)

Variáveis	R	XX
Pico de torque		
RB-PT	38	5
RI-PT	58	19
RA-PT	19	2
Supino reto		
RB-SR	44	6
RA-SR	71	20
Espessura muscular		
RB-EM	16	7
RA-RM	15	2

Legenda: RB-PT (resposta baixa no pico de torque), RI-PT (resposta intermediária no pico de torque); RA-PT (resposta alta no pico de torque); RB-SR (resposta baixa no supino reto); RA-SR (resposta alta no supino reto); RB-EM (resposta baixa na espessura muscular); RA-EM (resposta alta na espessura muscular)

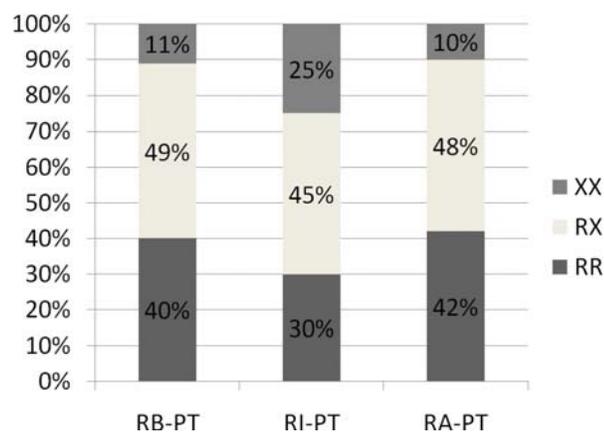


Figura 3: distribuição dos genótipos ACTN3 nos diferentes clusters de alterações no pico de torque. Legenda: RB-PT (resposta baixa no pico de torque), RI-PT (resposta intermediária no pico de torque); RA-PT (resposta alta no pico de torque).

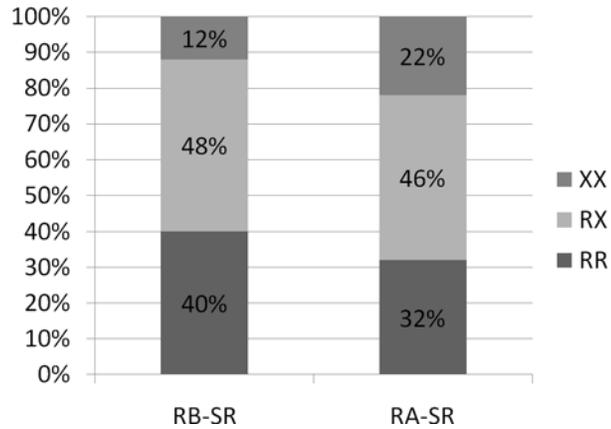


Figura 4: distribuição dos genótipos ACTN3 nos diferentes clusters de alterações no teste de 1RM no supino reto.

Legenda RB-SR (resposta baixa no supino reto); RA-SR (resposta alta no supino reto).

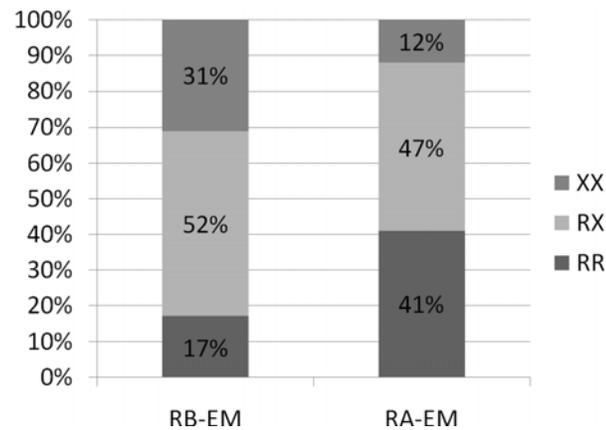


Figura 5: distribuição dos genótipos ACTN3 nos diferentes clusters de alterações na espessura muscular dos extensores de joelho.

Legenda: RB-EM (resposta baixa na espessura muscular); RA-EM (resposta alta na espessura muscular).

5. DISCUSSÃO

A distribuição de genótipos no presente estudo foi similar à reportada nos estudos com caucasianos (Clarkson *et al.*, 2005; Niemi & Majamaa, 2005; Delmonico *et al.*, 2007; Moran *et al.*, 2007; Papparini *et al.*, ; Delmonico *et al.*, 2008; Druzhevskaya *et al.*, 2008; Walsh *et al.*, 2008; Eynon *et al.*, 2009) e hispânicos (Clarkson *et al.*, 2005), no entanto, diferiu das reportadas para negros, que possuem uma freqüência mais baixa do alelo X, e asiáticos, que possuem uma freqüência mais alta (North & Beggs, 1996; Clarkson *et al.*, 2005).

No presente estudo não houve diferença nas variáveis antropométricas e nem na espessura muscular entre os diferentes genótipos. Tais resultados vão ao encontro de Mora *et al.* (2007) e San Juan *et al.* (2006), que não reportaram diferenças na composição corporal entre genótipos R577X em adolescentes e idosos, respectivamente. Clarkson *et al.* (2005) não encontraram associação entre os genótipos R577X e a área de secção transversa do bíceps de homens e mulheres jovens. De maneira similar, Delmonico *et al.* (2008) não encontraram diferenças na área de secção transversa da coxa entre genótipos R577X ao avaliar 848 voluntários de 20 a 90 anos. Por outro lado, Zempo *et al.* (2010) verificaram que mulheres com genótipo XX apresentavam menor área de secção transversa nos músculos da coxa em comparação com portadoras do alelo R; enquanto Walsh *et al.* (2008) reportaram que as mulheres com o genótipo XX apresentaram menor massa magra no corpo inteiro e nos membros inferiores, no entanto, as diferenças não foram significativas nos homens.

Os valores iniciais de força para membros inferiores e superiores não foram diferentes entre os genótipos R577X, o que está de acordo com a maioria dos estudos anteriores (San Juan *et al.*, 2006; Delmonico *et al.*, 2008; McCauley *et al.*, 2009; Norman *et al.*, 2009). Em um estudo com 23 mulheres idosas (61 e 80 anos), San Juan *et al.* (2006) não encontraram diferenças no teste de 1RM de supino entre portadoras de diferentes genótipos R577X. Também em idosos, Delmonico *et al.* (2008) não encontraram diferenças no PT dos extensores do joelho e tempo para caminhar 400 metros ao estudar 1367 voluntários.

Em jovens, McCauley et al. (2009) avaliaram a força isocinética dos extensores de joelho e as características contráteis das fibras musculares de 79 caucasianos ingleses e não encontraram diferenças entre os genótipos R577X. No mesmo ano, Norman et al. (2009) investigaram a associação do genótipo R577X com a tipologia de fibras e a potência muscular durante um teste de Wingate em 120 homens e mulheres moderadamente treinados e também com a força e fadigabilidade dos extensores de joelho em 21 homens. Os resultados revelaram que os diferentes genótipos não diferiam em termos de tipologia de fibras, potência, fadigabilidade e relação força-velocidade. Nesse estudo, (Norman *et al.*, 2009) foi encontrado um aumento na expressão de ACTN2 relacionada à queda de ACTN3, sugerindo que a esta proteína possa compensar a deficiência encontrada no genótipo XX.

Moran et al. (2007) encontraram diferenças entre a performance do teste de 40m nas diferentes variações R577X em adolescentes gregos, com piores resultados para portadores do genótipo XX. Entretanto, não houve diferenças para os testes de preensão manual ou salto vertical. Tais resultados trouxeram a sugestão de que a desvantagem para a ausência da proteína ACTN3 só seria evidente em atividades que gerem consecutivas contrações excêntricas, tendo em vista que a presença da proteína poderia fornecer proteção contra a ocorrência de microlesões, as quais, por sua vez, podem interferir negativamente na performance.

O resultado de alguns estudos pode trazer a sugestão que a influência dos genótipos na força muscular pode ter associação com o gênero, sendo mais facilmente verificada em mulheres do que em homens. Por exemplo, Walsh et al. (2008) avaliaram 848 voluntários de 20 a 90 anos e verificaram que mulheres com o genótipo XX apresentaram menor torque concêntrico de extensores de joelho quando comparadas com portadoras dos demais genótipos, mas não encontraram diferenças em homens. Anteriormente, Clarkson et al. (2005) estudaram as associações entre o genótipo R577X e fenótipos musculares (secção transversa do bíceps, força isométrica e força dinâmica dos flexores de cotovelo) em 247 homens e 355 mulheres e não encontraram associações entre o genótipo XX e nenhum dos fenótipos estudados em homens. Entretanto, mulheres com o genótipo XX apresentaram menores valores de força isométrica, tanto absoluta quanto corrigida pela área de secção transversa, quando

comparadas aos heterozigotos RX. No estudo de Delmonico et al. (2007), as mulheres com genótipo XX apresentaram maiores valores de potência absoluta e relativa (corrigida pela secção transversa do músculo) em comparação com portadoras do genótipo RX, com utilização da massa magra como covariante, mas nenhuma diferença foi reportada em homens. Uma possível explicação para esse efeito gênero dependente é que os hormônios esteróides masculinos produzem um efeito anabólico que pode mascarar os efeitos da ACTN3 na estrutura muscular (MacArthur & North, 2004).

Com relação aos efeitos do gene ACTN3 nas adaptações morfológicas ao exercício, no estudo de Clarkson et al. (2005) não houve diferenças entre os genótipos R577X e as mudanças na espessura muscular do bíceps de homens e mulheres jovens após 12 semanas de treinamento resistido. Nas análises aqui apresentadas, apenas os portadores dos genótipo RX obtiveram aumentos na espessura muscular, quando as análises foram repetidas considerando-se apenas portadores do alelo R, os aumentos foram significativos para esse grupo. No entanto, a comparação entre grupos não revelou diferenças significativas, o que pode ter sido causado pelo baixo número de participantes avaliados.

O fato de apenas os portadores do alelo R responderem ao treinamento com ganhos de espessura muscular pode ter relação com as alterações funcionais promovidas pela ausência de ACTN3. Yang et al. (2003) sugeriram que a ACTN3 promova a formação de fibras tipo II, tal fato foi comprovado em estudos posteriores no qual portadores do genótipo XX possuíam menor quantidade de fibras tipo IIx (Vincent *et al.*, 2007). Se, de fato, os portadores do genótipo XX possuem menor quantidade de fibras rápidas é compreensível que ganhem menos massa muscular, pois as fibras tipo II apresentam maior crescimento em resposta ao exercício (Tesch & Karlsson, 1985; Hather *et al.*, 1991; Fry, 2004; Trappe *et al.*, 2004). Além disso, é possível que a ausência de ACNT3 possa influenciar a atividade da calcineurina (Yang *et al.*, 2003), a qual se liga à alfa actina na linha Z pelas calsarcinas (Frey *et al.*, 2000; Frey & Olson, 2002). A calcineurina é um importante sinalizador celular, cuja ativação contribui para a hipertrofia muscular (Sakuma & Yamaguchi, 2010). Na mesma linha, estudos relacionados à hipertrofia cardíaca sugerem que a linha Z desempenhe um papel importante como sensor mecânico (Chien, 2000), desse modo é possível que a

alteração promovida pela ausência de ACTN3 possa prejudicar a resposta das fibras musculares à sobrecarga.

No tocante às alterações na força muscular, os resultados do presente estudo estão de acordo com análises prévias realizadas em homens (Clarkson *et al.*, 2005; Delmonico *et al.*, 2007). Clarkson *et al.* (2005) estudaram as associações entre o genótipos R577X e fenótipos musculares em homens e mulheres jovens envolvidos em um programa de 12 semanas de treinamento de força, realizado duas vezes por semana e direcionado para flexores e extensores do cotovelo do lado não dominante. De acordo com os resultados, o genótipo R577X não influenciou os ganhos de força em homens. Ao final, as mulheres portadoras do alelo X demonstraram maiores aumentos na carga de 1RM em comparação com portadoras do genótipo RR. A análise dos ganhos ajustados pelos aumentos de secção transversa revelou que a influência do genótipo no aumento da força foi independente do ganho de massa muscular. Adicionalmente, houve uma tendência para um efeito dose dependente para o alelo X, de modo que os aumentos de 1RM seguiram o seguinte padrão: XX>RX>RR (Clarkson *et al.*, 2005).

Posteriormente, Delmonico *et al.* (2007) examinaram os efeitos do polimorfismo R577X nas mudanças na força e potência muscular em função de 10 semanas de treinamento em 71 mulheres e 86 homens idosos. O treinamento foi realizado três vezes por semana e direcionado para os extensores de joelho do lado direito. Em homens, não houve diferenças entre os genótipos para os ganhos de força ou potência. Em mulheres, as portadoras do genótipo RR apresentaram maiores ganhos de potência do que portadoras do genótipo XX, não foram encontradas diferenças entre os genótipos para os ganhos de 1RM. A explicação para a divergência dos resultados obtidos pelas mulheres nos estudos de Delmonico *et al.* (2007) e Clarkson *et al.* (2005) pode estar na característica da amostra, pois em ambos os estudos o grupo que possuía os menores valores iniciais, obteve os maiores resultados, independente do genótipo. Portanto, os resultados podem ter sido relacionados à maior possibilidade de melhora das pessoas com menor desempenho no começo do estudo e não às variações no gene ACTN3.

Apesar do histórico de estudos transversais e experimentais em homens não-atletas apontarem para a ausência de influência do genótipo R577X nos fenótipos musculares, a evidência de que atletas de força e potência apresentam menor incidência de genótipo XX (Yang *et al.*, 2003; Niemi & Majamaa, 2005; Yang *et al.*, 2007; Druzhevskaya *et al.*, 2008; Papadimitriou *et al.*, 2008; Roth *et al.*, 2008; Eynon *et al.*, 2009) é intrigante. Se o sucesso de atletas de modalidades que envolvem contrações musculares intensas parece estar relacionado à presença da proteína ACTN3, torna-se possível a sugestão de que o alelo R esteja associado a um melhor desempenho e também a uma melhor resposta ao treinamento, em termos de força e potência muscular, todavia, isso não foi verificado nos estudos sobre o tema que analisaram indivíduos do sexo masculino.

Uma possível explicação para o fato é que, em não atletas, a magnitude da diferença promovida pelo polimorfismo analisado isoladamente seria muito pequena para se manifestar em diferenças reais no desempenho, especialmente em jovens, conforme sugerido por McCauley *et al.* (2009). Para se tornar um atleta de alto nível, no entanto, provavelmente é necessário ter um conjunto de genes favoráveis, dentre os quais está o ACTN3. Desse modo, os atletas podem ser portadores de um conjunto genotípico favorável, e o ACTN3 é apenas um dentre muitos.

Uma análise de Walsh *et al.* (2008) revelou que o genótipo ACTN3 R577X foi responsável por aproximadamente 1,0–1,4% das variações no PT concêntrico dos extensores de joelho. Apesar da diferença proporcionada pelo polimorfismo ser relativamente pequena, em um contexto altamente competitivo, como no desporto de alto nível, ela pode significar a diferença entre vencer ou perder uma prova. Além disso, a quantidade e intensidade dos treinamentos aos quais os indivíduos foram submetidos no atual estudo e nos demais estudos de intervenção pode ter sido muito reduzida em comparação com a qual os atletas são submetidos ao longo de sua vida. Um atleta comumente é submetido a vários anos de treinamentos intensivos que duram muitas horas semanais, enquanto os estudos de intervenção normalmente duraram, no máximo, 12 semanas, e os treinos raramente excedem duas horas semanais. Portanto, é possível que os protocolos usados nos estudos anteriores e no presente estudo não

tenham intensidade, volume e/ou duração suficientes para que as diferenças funcionais fossem manifestadas.

Em conclusão, o presente estudo demonstra que homens jovens portadores de diferentes genótipos ACTN3 não diferem em termos de espessura muscular dos extensores de joelho, nem em níveis de força no supino reto e nos extensores de joelho. Adicionalmente, não parece haver diferença nos ganhos de força entre homens jovens portadores de diferentes genótipos ACTN3 após 11 semanas de um programa de baixo volume de treinamento resistido. No entanto, apenas portadores do alelo R apresentaram ganhos de massa muscular em resposta ao treinamento, o que sugere que polimorfismos no gene ACTN3 possam influenciar os ganhos de massa muscular em homens jovens praticando treinamento resistido.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abe T, DeHoyos DV, Pollock ML & Garzarella L. (2000). Time course for strength and muscle thickness changes following upper and lower body resistance training in men and women. *Eur J Appl Physiol* **81**, 174-180.
- ACSM. (1998). American College of Sports Medicine Position Stand. The recommended quantity and quality of exercise for developing and maintaining cardiorespiratory and muscular fitness, and flexibility in healthy adults. *Med Sci Sports Exerc* **30**, 975-991.
- ACSM. (2009). American College of Sports Medicine position stand. Progression models in resistance training for healthy adults. *Med Sci Sports Exerc* **41**, 687-708.
- Arden NK & Spector TD. (1997). Genetic influences on muscle strength, lean body mass, and bone mineral density: a twin study. *J Bone Miner Res* **12**, 2076-2081.
- Beggs AH, Byers TJ, Knoll JH, Boyce FM, Bruns GA & Kunkel LM. (1992). Cloning and characterization of two human skeletal muscle alpha-actinin genes located on chromosomes 1 and 11. *J Biol Chem* **267**, 9281-9288.
- Beunen G & Thomis M. (2004). Gene powered? Where to go from heritability (h^2) in muscle strength and power? *Exercise and Sport Science Reviews* **32**, 148-154.
- Beunen G & Thomis MA. (2000). Muscular strength development in children and adolescents. *Pediatric Exercise Science* **12**, 174-197.
- Bjarnason-Wehrens B, Mayer-Berger W, Meister ER, Baum K, Hambrecht R & Gielen S. (2004). Recommendations for resistance exercise in cardiac rehabilitation.

Recommendations of the German Federation for Cardiovascular Prevention and Rehabilitation. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* **11**, 352-361.

Borst SE. (2004). Interventions for sarcopenia and muscle weakness in older people. *Age Ageing* **33**, 548-555.

Bottaro M, Russo A & Oliveira R. (2005). The effects of rest interval on quadriceps torque during an isokinetic testing protocol in elderly. *J Sports Sci & Med* **4**, 285-290.

Boule NG, Haddad E, Kenny GP, Wells GA & Sigal RJ. (2001). Effects of exercise on glycemic control and body mass in type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis of controlled clinical trials. *Jama* **286**, 1218-1227.

Bray MS. (2000). Genomics, genes, and environmental interaction: the role of exercise. *J Appl Physiol* **88**, 788-792.

Bray MS, Hagberg JM, Perusse L, Rankinen T, Roth SM, Wolfarth B & Bouchard C. (2009). The human gene map for performance and health-related fitness phenotypes: the 2006-2007 update. *Med Sci Sports Exerc* **41**, 35-73.

Brown LE. (2000). *Isokinetics in Human Performance*. Human Kinetics, Champaign.

Brutsaert TD & Parra EJ. (2006). What makes a champion? Explaining variation in human athletic performance. *Respir Physiol Neurobiol* **151**, 109-123.

Carmelli D & Reed T. (2000). Stability and change in genetic and environmental influences on hand-grip strength in older male twins. *J Appl Physiol* **89**, 1879-1883.

- Chan S, Seto JT, MacArthur DG, Yang N, North KN & Head SI. (2008). A gene for speed: contractile properties of isolated whole EDL muscle from an alpha-actinin-3 knockout mouse. *Am J Physiol Cell Physiol* **295**, C897-904.
- Chanock SJ, Manolio T, Boehnke M, Boerwinkle E, Hunter DJ, Thomas G, Hirschhorn JN, Abecasis G, Altshuler D, Bailey-Wilson JE, Brooks LD, Cardon LR, Daly M, Donnelly P, Fraumeni JF, Jr., Freimer NB, Gerhard DS, Gunter C, Guttmacher AE, Guyer MS, Harris EL, Hoh J, Hoover R, Kong CA, Merikangas KR, Morton CC, Palmer LJ, Phimister EG, Rice JP, Roberts J, Rotimi C, Tucker MA, Vogan KJ, Wacholder S, Wijsman EM, Winn DM & Collins FS. (2007). Replicating genotype-phenotype associations. *Nature* **447**, 655-660.
- Chien KR. (2000). Genomic circuits and the integrative biology of cardiac diseases. *Nature* **407**, 227-232.
- Chilibeck PD, Stride D, Farthing JP & Burke DG. (2004). Effect of creatine ingestion after exercise on muscle thickness in males and females. *Med Sci Sports Exerc* **36**, 1781-1788.
- Clarkson PM, Devaney JM, Gordish-Dressman H, Thompson PD, Hubal MJ, Urso M, Price TB, Angelopoulos TJ, Gordon PM, Moyna NM, Pescatello LS, Visich PS, Zoeller RF, Seip RL & Hoffman EP. (2005). ACTN3 genotype is associated with increases in muscle strength in response to resistance training in women. *J Appl Physiol* **99**, 154-163.
- Delecluse C. (1997). Influence of strength training on sprint running performance. Current findings and implications for training. *Sports Med* **24**, 147-156.
- Delmonico MJ, Kostek MC, Doldo NA, Hand BD, Walsh S, Conway JM, Carignan CR, Roth SM & Hurley BF. (2007). Alpha-actinin-3 (ACTN3) R577X polymorphism

influences knee extensor peak power response to strength training in older men and women. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* **62**, 206-212.

Delmonico MJ, Zmuda JM, Taylor BC, Cauley JA, Harris TB, Manini TM, Schwartz A, Li R, Roth SM, Hurley BF, Bauer DC, Ferrell RE & Newman AB. (2008). Association of the ACTN3 genotype and physical functioning with age in older adults. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* **63**, 1227-1234.

Doherty TJ. (2003). Invited review: Aging and sarcopenia. *J Appl Physiol* **95**, 1717-1727.

Druzhevskaya AM, Ahmetov, II, Astratenkova IV & Rogozkin VA. (2008). Association of the ACTN3 R577X polymorphism with power athlete status in Russians. *Eur J Appl Physiol* **103**, 631-634.

Dudgeon WD, Phillips KD, Bopp CM & Hand GA. (2004). Physiological and psychological effects of exercise interventions in HIV disease. *AIDS Patient Care STDS* **18**, 81-98.

Eynon N, Duarte JA, Oliveira J, Sagiv M, Yamin C, Meckel Y & Goldhammer E. (2009). ACTN3 R577X polymorphism and Israeli top-level athletes. *Int J Sports Med* **30**, 695-698.

Fagard RH & Cornelissen VA. (2007). Effect of exercise on blood pressure control in hypertensive patients. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* **14**, 12-17.

Frey N & Olson EN. (2002). Calsarcin-3, a novel skeletal muscle-specific member of the calsarcin family, interacts with multiple Z-disc proteins. *J Biol Chem* **277**, 13998-14004.

Frey N, Richardson JA & Olson EN. (2000). Calsarcins, a novel family of sarcomeric calcineurin-binding proteins. *Proc Natl Acad Sci U S A* **97**, 14632-14637.

- Fry AC. (2004). The role of resistance exercise intensity on muscle fibre adaptations. *Sports Med* **34**, 663-679.
- Gale CR, Martyn CN, Cooper C & Sayer AA. (2007). Grip strength, body composition, and mortality. *Int J Epidemiol* **36**, 228-235.
- Gentil P, Lima RM, Lins TC, Abreu BS, Pereira RW & Oliveira RJ. (2007). Physical Activity, Cdx-2 Genotype, and BMD. *Int J Sports Med*.
- Gentil P, Oliveira E & Bottaro M. (2006). Time under tension and blood lactate response during four different resistance training methods. *J Physiol Anthropol* **25**, 339-344.
- Hather BM, Tesch PA, Buchanan P & Dudley GA. (1991). Influence of eccentric actions on skeletal muscle adaptations to resistance training. *Acta Physiol Scand* **143**, 177-185.
- Jung AP. (2003). The impact of resistance training on distance running performance. *Sports Med* **33**, 539-552.
- Kraemer W & Fry A. (1995). Strength testing: development and evaluation of methodology. In *Fitness and sports medicine: A health-related approach*, 3 edn, ed. Maud P & Nieman D. Bull Publishing, Palo Alto, CA.
- Kraemer W & Hakkinen K. (2004). *Treinamento de força para o esporte*. Editora Artmed, Porto Alegre.
- Kraemer WJ, Adams K, Cafarelli E, Dudley GA, Dooly C, Feigenbaum MS, Fleck SJ, Franklin B, Fry AC, Hoffman JR, Newton RU, Potteiger J, Stone MH, Ratamess NA & Triplett-McBride T. (2002a). American College of Sports Medicine position

stand. Progression models in resistance training for healthy adults. *Med Sci Sports Exerc* **34**, 364-380.

Kraemer WJ & Ratamess NA. (2004). Fundamentals of resistance training: progression and exercise prescription. *Med Sci Sports Exerc* **36**, 674-688.

Kraemer WJ, Ratamess NA & French DN. (2002b). Resistance training for health and performance. *Curr Sports Med Rep* **1**, 165-171.

Layne JE & Nelson ME. (1999). The effects of progressive resistance training on bone density: a review. *Med Sci Sports Exerc* **31**, 25-30.

Lins TC, Nogueira LR, Lima RM, Gentil P, Oliveira RJ & Pereira RW. (2007). A multiplex single-base extension protocol for genotyping Cdx2, FokI, BsmI, ApaI, and TaqI polymorphisms of the vitamin D receptor gene. *Genet Mol Res* **6**, 216-224.

Loos R, Thomis M, Maes HH, Beunen G, Claessens AL, Derom C, Legius E, Derom R & Vlietinck R. (1997). Gender-specific regional changes in genetic structure of muscularity in early adolescence. *J Appl Physiol* **82**, 1802-1810.

MacArthur DG & North KN. (2004). A gene for speed? The evolution and function of alpha-actinin-3. *Bioessays* **26**, 786-795.

MacArthur DG & North KN. (2005). Genes and human elite athletic performance. *Hum Genet* **116**, 331-339.

MacArthur DG & North KN. (2007). ACTN3: A genetic influence on muscle function and athletic performance. *Exerc Sport Sci Rev* **35**, 30-34.

MacArthur DG, Seto JT, Chan S, Quinlan KG, Raftery JM, Turner N, Nicholson MD, Kee AJ, Hardeman EC, Gunning PW, Cooney GJ, Head SI, Yang N & North KN.

- (2008). An Actn3 knockout mouse provides mechanistic insights into the association between alpha-actinin-3 deficiency and human athletic performance. *Hum Mol Genet* **17**, 1076-1086.
- Maes HH, Beunen GP, Vlietinck RF, Neale MC, Thomis M, Vanden Eynde B, Lysens R, Simons J, Derom C & Derom R. (1996). Inheritance of physical fitness in 10-yr-old twins and their parents. *Med Sci Sports Exerc* **28**, 1479-1491.
- Martyn-St James M & Carroll S. (2006). High-intensity resistance training and postmenopausal bone loss: a meta-analysis. *Osteoporos Int* **17**, 1225-1240.
- McCauley T, Mastana SS, Hossack J, Macdonald M & Folland JP. (2009). Human angiotensin-converting enzyme I/D and alpha-actinin 3 R577X genotypes and muscle functional and contractile properties. *Exp Physiol* **94**, 81-89.
- Miller SA, Dykes DD & Polesky HF. (1988). A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* **16**, 1215.
- Mills M, Yang N, Weinberger R, Vander Woude DL, Beggs AH, Eastal S & North K. (2001). 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* **10**, 1335-1346.
- Milne HM, Wallman KE, Gordon S & Courneya KS. (2008). Effects of a combined aerobic and resistance exercise program in breast cancer survivors: a randomized controlled trial. *Breast Cancer Res Treat* **108**, 279-288.
- Moran CN, Yang N, Bailey ME, Tsiokanos A, Jamurtas A, MacArthur DG, North K, Pitsiladis YP & Wilson RH. (2007). Association analysis of the ACTN3 R577X polymorphism and complex quantitative body composition and performance phenotypes in adolescent Greeks. *Eur J Hum Genet* **15**, 88-93.

- Moreno Lima R, Silva de Abreu B, Gentil P, Cesar de Lima Lins T, Grattapaglia D, Pereira RW & Jaco de Oliveira R. (2007). Lack of association between vitamin D receptor genotypes and haplotypes with fat-free mass in postmenopausal Brazilian women. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* **62**, 966-972.
- Nair KS. (2005). Aging muscle. *Am J Clin Nutr* **81**, 953-963.
- Newman AB, Kupelian V, Visser M, Simonsick EM, Goodpaster BH, Kritchevsky SB, Tyllavsky FA, Rubin SM & Harris TB. (2006). Strength, but not muscle mass, is associated with mortality in the health, aging and body composition study cohort. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* **61**, 72-77.
- Niemi AK & Majamaa K. (2005). Mitochondrial DNA and ACTN3 genotypes in Finnish elite endurance and sprint athletes. *Eur J Hum Genet* **13**, 965-969.
- Nogueira W, Gentil P, Mello SN, Oliveira RJ, Bezerra AJ & Bottaro M. (2009). Effects of power training on muscle thickness of older men. *Int J Sports Med* **30**, 200-204.
- Norman B, Esbjornsson M, Rundqvist H, Osterlund T, von Walden F & Tesch PA. (2009). Strength, power, fiber types, and mRNA expression in trained men and women with different ACTN3 R577X genotypes. *J Appl Physiol* **106**, 959-965.
- North KN & Beggs AH. (1996). Deficiency of a skeletal muscle isoform of alpha-actinin (alpha-actinin-3) in merosin-positive congenital muscular dystrophy. *Neuromuscul Disord* **6**, 229-235.
- North KN, Yang N, Wattanasirichaigoon D, Mills M, Eastal S & Beggs AH. (1999). A common nonsense mutation results in alpha-actinin-3 deficiency in the general population. *Nat Genet* **21**, 353-354.

- Oldervoll LM, Kaasa S, Hjermland MJ, Lund JA & Loge JH. (2004). Physical exercise results in the improved subjective well-being of a few or is effective rehabilitation for all cancer patients? *Eur J Cancer* **40**, 951-962.
- Paavolainen L, Hakkinen K, Hamalainen I, Nummela A & Rusko H. (1999). Explosive-strength training improves 5-km running time by improving running economy and muscle power. *J Appl Physiol* **86**, 1527-1533.
- Papadimitriou ID, Papadopoulos C, Kouvatsi A & Triantaphyllidis C. (2008). The ACTN3 gene in elite Greek track and field athletes. *Int J Sports Med* **29**, 352-355.
- Paparini A, Ripani M, Giordano GD, Santoni D, Pigozzi F & Romano-Spica V. (2007). ACTN3 genotyping by real-time PCR in the Italian population and athletes. *Med Sci Sports Exerc* **39**, 810-815.
- Parcell AC, Sawyer RD, Tricoli VA & Chinevere TD. (2002). Minimum rest period for strength recovery during a common isokinetic testing protocol. *Med Sci Sports Exerc* **34**, 1018-1022.
- Pescatello LS, Franklin BA, Fagard R, Farquhar WB, Kelley GA & Ray CA. (2004a). American College of Sports Medicine position stand. Exercise and hypertension. *Med Sci Sports Exerc* **36**, 533-553.
- Pescatello LS, Guidry MA, Blanchard BE, Kerr A, Taylor AL, Johnson AN, Maresh CM, Rodriguez N & Thompson PD. (2004b). Exercise intensity alters postexercise hypotension. *J Hypertens* **22**, 1881-1888.
- Prior SJ, Roth SM, Wang X, Kammerer C, Miljkovic-Gacic I, Bunker CH, Wheeler VW, Patrick AL & Zmuda JM. (2007). Genetic and environmental influences on skeletal muscle phenotypes as a function of age and sex in large, multigenerational families of African heritage. *J Appl Physiol* **103**, 1121-1127.

- Rankinen T, Perusse L, Rauramaa R, Rivera MA, Wolfarth B & Bouchard C. (2001). The human gene map for performance and health-related fitness phenotypes. *Med Sci Sports Exerc* **33**, 855-867.
- Rankinen T, Roth SM, Bray MS, Loos R, Perusse L, Wolfarth B, Hagberg JM & Bouchard C. (2010). Advances in exercise, fitness, and performance genomics. *Med Sci Sports Exerc* **42**, 835-846.
- Rantanen T, Harris T, Leveille SG, Visser M, Foley D, Masaki K & Guralnik JM. (2000). Muscle strength and body mass index as long-term predictors of mortality in initially healthy men. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* **55**, M168-173.
- Roth SM, Walsh S, Liu D, Metter EJ, Ferrucci L & Hurley BF. (2008). The ACTN3 R577X nonsense allele is under-represented in elite-level strength athletes. *Eur J Hum Genet* **16**, 391-394.
- Sakuma K & Yamaguchi A. (2010). The functional role of calcineurin in hypertrophy, regeneration, and disorders of skeletal muscle. *J Biomed Biotechnol* **2010**, 721219.
- San Juan AF, Gomez-Gallego F, Canete S, Santiago C, Perez M & Lucia A. (2006). Does complete deficiency of muscle alpha actinin 3 alter functional capacity in elderly women? A preliminary report. *Br J Sports Med* **40**, e1.
- Sanada K, Kearns CF, Midorikawa T & Abe T. (2006). Prediction and validation of total and regional skeletal muscle mass by ultrasound in Japanese adults. *Eur J Appl Physiol* **96**, 24-31.

- Sigal RJ, Kenny GP, Wasserman DH, Castaneda-Sceppa C & White RD. (2006). Physical activity/exercise and type 2 diabetes: a consensus statement from the American Diabetes Association. *Diabetes Care* **29**, 1433-1438.
- Squire JM. (1997). Architecture and function in the muscle sarcomere. *Curr Opin Struct Biol* **7**, 247-257.
- Stewart CE & Rittweger J. (2006). Adaptive processes in skeletal muscle: molecular regulators and genetic influences. *J Musculoskelet Neuronal Interact* **6**, 73-86.
- Tesch PA & Karlsson J. (1985). Muscle fiber types and size in trained and untrained muscles of elite athletes. *J Appl Physiol* **59**, 1716-1720.
- Thomis M, Beunen G, Maes H, Blimkie C, Van Leemputte M, Claessens A, Marchal G, Willems E & Vlietinck R. (1998). Strength training: importance of genetic factors. *Med Sci Sports Exerc* **30**, 724-731.
- Thomis M, Huygens W, Heuninckx S, Chagnon M, Maes H, Claessens A, Vlietinck R, Bouchard C & Beunen G. (2004). Exploration of myostatin polymorphisms and the angiotensin-converting enzyme insertion/deletion genotype in responses of human muscle to strength training. *Eur J Appl Physiol* **92**, 267-274.
- Thomis MA, Van Leemputte M, Maes HH, Blimkie CJ, Claessens AL, Marchal G, Willems E, Vlietinck RF & Beunen GP. (1997). Multivariate genetic analysis of maximal isometric muscle force at different elbow angles. *J Appl Physiol* **82**, 959-967.
- Tiainen K, Sipila S, Kauppinen M, Kaprio J & Rantanen T. (2009). Genetic and environmental effects on isometric muscle strength and leg extensor power followed up for three years among older female twins. *J Appl Physiol* **106**, 1604-1610.

- Trappe TA, Raue U & Tesch PA. (2004). Human soleus muscle protein synthesis following resistance exercise. *Acta Physiol Scand* **182**, 189-196.
- USDHHS. (1996). Physical Activity and Health: A Report of the Surgeon General. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion, Atlanta, GA.
- Vincent B, De Bock K, Ramaekers M, Van den Eede E, Van Leemputte M, Hespel P & Thomis MA. (2007). ACTN3 (R577X) genotype is associated with fiber type distribution. *Physiol Genomics* **32**, 58-63.
- Visser M, Goodpaster BH, Kritchevsky SB, Newman AB, Nevitt M, Rubin SM, Simonsick EM & Harris TB. (2005). Muscle mass, muscle strength, and muscle fat infiltration as predictors of incident mobility limitations in well-functioning older persons. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* **60**, 324-333.
- Walsh S, Liu D, Metter EJ, Ferrucci L & Roth SM. (2008). ACTN3 genotype is associated with muscle phenotypes in women across the adult age span. *J Appl Physiol* **105**, 1486-1491.
- Willey KA & Singh MA. (2003). Battling insulin resistance in elderly obese people with type 2 diabetes: bring on the heavy weights. *Diabetes Care* **26**, 1580-1588.
- Wolfarth B, Bray MS, Hagberg JM, Perusse L, Rauramaa R, Rivera MA, Roth SM, Rankinen T & Bouchard C. (2005). The human gene map for performance and health-related fitness phenotypes: the 2004 update. *Med Sci Sports Exerc* **37**, 881-903.

- Yang N, MacArthur DG, Gulbin JP, Hahn AG, Beggs AH, Easteal S & North K. (2003). ACTN3 genotype is associated with human elite athletic performance. *Am J Hum Genet* **73**, 627-631.
- Yang N, MacArthur DG, Wolde B, Onywera VO, Boit MK, Lau SY, Wilson RH, Scott RA, Pitsiladis YP & North K. (2007). The ACTN3 R577X polymorphism in East and West African athletes. *Med Sci Sports Exerc* **39**, 1985-1988.
- Zempo H, Tanabe K, Murakami H, Iemitsu M, Maeda S & Kuno S. (2010). ACTN3 polymorphism affects thigh muscle area. *Int J Sports Med* **31**, 138-142.
- Zinna EM & Yarasheski KE. (2003). Exercise treatment to counteract protein wasting of chronic diseases. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* **6**, 87-93.



Universidade de Brasília
Faculdade de Ciências da Saúde
Comitê de Ética em Pesquisa – CEP/FS

PROCESSO DE ANÁLISE DE PROJETO DE PESQUISA

Registro do Projeto no CEP: **104/07**

Título do Projeto: “Adaptação ao treinamento resistido em homens jovens portadores de diferentes genótipos CNTF, CNTFR, ACTN3 e de citocinas envolvidas no processo inflamatório”

Pesquisador Responsável: Paulo Roberto Viana Gentil

Data de Entrada: 05/09/2007

Com base na Resolução 196/96, do CNS/MS, que regulamenta a ética em pesquisa com seres humanos, o Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília, após análise dos aspectos éticos e do contexto técnico-científico, resolveu **APROVAR** o projeto **104/07** com o título: “Adaptação ao treinamento resistido em homens jovens portadores de diferentes genótipos CNTF, CNTFR, ACTN3 e de citocinas envolvidas no processo inflamatório”, analisado na 10ª Reunião Ordinária, realizada no dia 13 de novembro de 2007.

O pesquisador responsável fica notificado da obrigatoriedade da apresentação de relatório final sucinto e objetivo sobre o desenvolvimento do Projeto. Este prazo já expirou um ano após a aprovação do projeto (13/11/2008 - item VII.13 da resolução 196/06 CNS). Assim, o pesquisador deverá enviar imediatamente o relatório resumido do desenvolvimento do projeto, que não enviou na data exigida.

Brasília, 14 de abril de 2010.

Prof. Volnei Garrafa
Coordenador do CEP-FS/UnB