

UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO

ESCOLA DE FARMÁCIA



YANO SALUM SCETTINI

**ANÁLISE DA INTERAÇÃO GÊNICA ENTRE *ACTN3*, *ACE* E *LIN28A*, COM
RELAÇÃO À PERFORMANCE ESPORTIVA EM JOGADORES DE FUTEBOL
BRASILEIROS**

Ouro Preto, MG

2021

YANO SALUM SCETTINI

**ANÁLISE DA INTERAÇÃO GÊNICA ENTRE *ACTN3*, *ACE* E *LIN28A*, COM
RELAÇÃO À PERFORMANCE ESPORTIVA EM JOGADORES DE FUTEBOL
BRASILEIROS**

Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado à
Universidade Federal de Ouro Preto, como parte
das exigências para a obtenção do título de
Bacharel em Farmácia.

Orientadora: Profa. Dra. Izinara Rosse

Coorientadora: Dra. Fernanda Caroline Dos Santos

Ouro Preto, MG

2021

SISBIN - SISTEMA DE BIBLIOTECAS E INFORMAÇÃO

S327a Schettini, Yano Salum .
Análise da interação gênica entre ACTN3, ACE e LIN28A, com relação à performance esportiva em jogadores de futebol brasileiros.
[manuscrito] / Yano Salum Schettini. - 2021.
53 f.: il.: . + Quadro.

Orientadora: Profa. Dra. Izinara Rosse da Cruz.
Coorientadora: Dra. Fernanda Caroline dos Santos.
Monografia (Bacharelado). Universidade Federal de Ouro Preto.
Escola de Farmácia. Graduação em Farmácia .

1. Genética humana. 2. Polimorfismo (Genética). 3. Esportes - Padrões de desempenho. 4. Jogadores de futebol. I. Cruz, Izinara Rosse da. II. Santos, Fernanda Caroline dos. III. Universidade Federal de Ouro Preto. IV. Título.

CDU 608.1:575:612.6.05

Bibliotecário(a) Responsável: Soraya Fernanda Ferreira e Souza - SIAPE: 1.763.787



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
REITORIA
ESCOLA DE FARMÁCIA
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA



FOLHA DE APROVAÇÃO

Yano Salum Schettini

Análise da interação gênica entre *ACTN3*, *ACE* E *LIN28A* com relação à performance esportiva em jogadores de futebol brasileiros

Monografia apresentada ao Curso de Farmácia da Universidade Federal de Ouro Preto como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Aprovada em 16 de dezembro de 2021

Membros da banca

Prof^a Dr^a Izinara Rosse da Cruz - Orientadora - Universidade Federal de Ouro Preto
Dr^a Fernanda Caroline dos Santos - Coorientadora - Centre for Addiction and Mental Health (CAMH)
Prof. Dr. Daniel Barbosa Coelho - Universidade Federal de Ouro Preto
MSc. João Locke F. Araújo - Universidade Federal Minas Gerais

Izinara Rosse da Cruz, orientadora do trabalho, aprovou a versão final e autorizou seu depósito na Biblioteca Digital de Trabalhos de Conclusão de Curso da UFOP em 05/01/2022.



Documento assinado eletronicamente por **Izinara Rosse da Cruz, PROFESSOR DE MAGISTERIO SUPERIOR**, em 05/01/2022, às 19:39, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ufop.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0265006** e o código CRC **7632E48A**.

Referência: Caso responda este documento, indicar expressamente o Processo nº 23109.000189/2022-41

SEI nº 0265006

R. Diogo de Vasconcelos, 122, - Bairro Pilar Ouro Preto/MG, CEP 35400-000
Telefone: 3135591649 - www.ufop.br

RESUMO

O futebol é reconhecidamente um esporte que exige diversos tipos de habilidades para sua prática, ou seja, são diversos movimentos e técnicas combinadas que geram um bom desempenho esportivo. A performance esportiva é caracterizada como um fenótipo multifatorial, ou seja, controlado pela interação entre diversos fatores ambientais e fatores genéticos. Dentre os fatores genéticos que contribuem para a modulação do desempenho esportivo estão os Polimorfismos de Nucleotídeo Único (SNPs - Single Nucleotide Polymorphisms). Os polimorfismos ACE-I/D, ACTN3 R577X e LIN28A A/G tem sido associados na literatura à melhora da performance em atividades físicas aeróbicas e anaeróbicas. Porém até o presente estudo esses polimorfismos haviam sido estudados separadamente, sendo então, este o primeiro trabalho a analisar se há interação gênica entre os polimórficos supracitados. Devido a isso, o presente estudo objetivou verificar se há interação gênica entre polimorfismos nos genes *ACTN3* e *ACE* para a probabilidade de um indivíduo ser ou não ser jogador de futebol; e de verificar se há interação gênica entre os genes *ACTN3*, *ACE* e *LIN28A* para a performance esportiva mensurada através do VO₂ máx em jogadores de futebol de elite. Quando analisada a amostra de jogadores de futebol e não jogadores observou-se uma associação entre os polimorfismos ACE-I/D e ACTN3 R577X, indicando que eles possuem interação gênica e as combinações genótípicas mais frequentes em jogadores de futebol foram, RX/II (OR=4,80), RR/ID (OR=3,00), quando comparada a uma amostra da população em geral. Além disso, quando analisada a amostra contendo apenas jogadores de futebol, observou-se que os polimorfismos ACE-I/D, ACTN3 R577X e LIN28A A/G possuem interação gênica, sendo as combinações de genótipos ID/XX/AG (OR=5,00) e ID/XX/GG (OR= 2,5) as que mais contribuem para uma performance esportiva aeróbica acima da média (VO₂ máx acima da média). Esses resultados foram observados tanto quando os polimorfismos foram analisados par-a-par quanto em trio, indicando assim, que esses *loci* interagem para a modulação da performance esportiva em jogadores de futebol brasileiros. Esse resultado sugere que as interações gênicas entre esses polimorfismos são de magnitude suficiente

para influenciar o desempenho de jogadores de futebol de elite, pelo menos em atletas brasileiros.

Palavras chaves: Interação gênica, ACE-I/D, ACTN3 R577X, LIN28A A/G, jogadores de futebol, performance esportiva.

ABSTRACT

Football is recognized as a sport that requires different types of skills for its practice, in other words, there are several movements and combined techniques that generate a good sporting performance. Sports performance is characterized as a multifactorial phenotype, that is, controlled by the interaction between different environmental factors and genetic factors. Among the genetic factors that contribute to the modulation of sports performance are the Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs). The ACE-I/D, ACTN3 R577X and LIN28A A/G polymorphisms have been associated in the literature with improvement performance in aerobic and anaerobic physical activities. However, until the present study, these polymorphisms had been only studied separately, thus, this being the first work to analyze whether there is a gene interaction between those polymorphisms. Because of that, the present study aimed to verify if there is a genetic interaction between polymorphisms in the *ACTN3* and *ACE* genes for the probability of an individual be or not be a soccer player; and to verify if there is a genetic interaction between the *ACTN3*, *ACE* and *LIN28A* genes for sports performance measured through VO_2 max in elite soccer players. When analyzing the sample of soccer players and non-players, an association was observed between the polymorphisms ACE-I/D and ACTN3 R577X, indicating that they have gene interaction and the most frequent genotypic combinations in soccer players were, RX/II (OR=4.80), RR/ID (OR=3.00), when compared to a sample of the general population. Furthermore, when the sample containing only soccer players was analyzed, it was observed that the polymorphisms ACE-I/D, ACTN3 R577X and LIN28A A/G have gene interaction, with the genotype combinations being ID/XX/AG (OR=5.00) and ID/XX/GG (OR= 2.5) which most contribute to an aerobic sports performance above the average (VO_2 max above the average). These results were observed both when the polymorphisms were analyzed pair-by-pair and in a trio, thus indicating that these *loci* interact for the modulation of sports performance in Brazilian soccer players. This result suggests that the genetic interactions between these polymorphisms are of sufficient magnitude to influence the performance of elite soccer players, at least in Brazilian athletes.

Keywords: Gene interaction, ACE-I/D, ACTN3 R577X, LIN28A A/G, soccer players, sports performance.

Lista de Figuras

Figura 1: Representação gráfica do teste de Yo-Yo nível 2.	25
Figura 2: Análise de interação gene-gene entre os polimorfismos ACE-I/D, ACTN3 R577X e considerando apenas o polimorfismo ACTN3 R577X na amostra de jogadores de futebol e não jogadores.....	32
Figura 3: Análise de interação gene-gene entre os polimorfismos ACE-I/D, ACTN3 R577X e considerando apenas o polimorfismo ACTN3 R577X da amostra de jogadores de futebol.	36
Figura 4: Análise de interação gene-gene entre os polimorfismos ACE-I/D, LIN28A A/G e considerando apenas o polimorfismo LIN28A A/G da amostra de jogadores de futebol.	39
Figura 5: Análise de interação gene-gene entre os polimorfismos LIN28A A/G, ACTN3 R577X e considerando apenas o polimorfismo ACTN3 R577X da amostra de jogadores de futebol.	42
Figura 6: Análise de interação gene-gene entre os polimorfismos ACE-I/D, ACTN3 R577X, LIN28A A/G e considerando apenas o polimorfismo ACTN3 R577X e do ACE-I/D da amostra de jogadores de futebol.	45

Lista de Quadros

Quadro 1: Síntese dos estudos já publicados relatando associação entre os polimorfismos ACTN3 R577X, ACE I/D e LIN28A A/G com uma melhor performance esportiva.	18
Quadro 2: Descrição das características antropométricas da amostra de jogadores de futebol que compuseram o presente estudo.	22
Quadro 3: Frequência genotípica observada para os polimorfismos ACTN3 R577X e ACE-I/D na amostra de jogadores de futebol e não jogadores.	28
Quadro 4: Resultado dos modelos de interação dos polimorfismos ACE-I/D e ACTN3 R577X para jogadores e não jogadores de futebol. Análise desenvolvida no Software MDR 3.0.2 (v 2).	31
Quadro 5: Frequência genotípica observada para os polimorfismos ACE-I/D, ACTN3 R577X e LIN28A A/G na amostra de jogadores de futebol.	33
Quadro 6: Resultado dos modelos de interação do ACE-I/D e ACTN3 R577X da amostra de jogadores de futebol Análise desenvolvida no Software MDR 3.0.2 (v 2).	35
Quadro 7: Resultado dos modelos de interação entre os polimorfismos ACE-I/D e LIN28A A/G da amostra de jogadores de futebol Análise desenvolvida no Software MDR 3.0.2 (v 2)	38
Quadro 8: Resultado dos modelos de interação dos polimorfismos LIN28A A/G e ACTN3 R577X da amostra de jogadores de futebol. Análise desenvolvida no Software MDR 3.0.2 (v 2)	40
Quadro 9: Resultado dos modelos de interação dos polimorfismos ACE-I/D, ACTN3 R577X e LIN28A A/G da amostra de jogadores futebol. Análise desenvolvida no Software MDR 3.0.2 (v 2)	44

Lista de Abreviaturas

SNPs - Single Nucleotide Polymorphisms

ACE - *Enzima conversora de angiotensina*

ACTN3 - *α -actinina-3*

LIN28A - *Lin-28 homóloga A*

ANG-I - angiotensina I

ANG-II - angiotensina II

VO₂ máx. - Volume de oxigênio máximo

CVC - Cross-validation consistency

MDR - Multifactor Dimensionality Reduction

PCR - Reações em cadeia da polimerase

RFLP-PCR - Reação em Cadeia da Polimerase e Polimorfismo de Comprimento de Fragmento de Restrição

TrBA - Training balance accuracy

TBA - Testing balance accuracy

OR - Odds Ratio

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
1.1 Influência do perfil genético no esporte	14
1.2 Gene <i>ACTN3</i>	15
1.3 Gene <i>ACE</i>	16
1.4 Gene <i>LIN28A</i>	17
1.5 Interação gênica	17
1.6 Perfil da atividade esportiva no futebol	19
1.7 Possíveis aplicações no futebol	19
2 OBJETIVOS	21
2.1 Objetivo Geral	21
2.1 Objetivos específicos	21
3 MATERIAIS E MÉTODOS	22
3.1 Amostra	22
3.2 Genotipagem	23
3.2.1 Genotipagem do polimorfismo <i>ACTN3</i> R577X	23
3.2.2 Genotipagem do polimorfismo <i>ACE</i> /I/D (rs4646994)	24
3.2.3 Genotipagem do polimorfismo <i>LIN28A</i> A/G (rs6598964)	24
3.3 Teste de resistência Yo-Yo	24
3.4 Consumo máximo de oxigênio	25
3.5 Análises genéticas e estatísticas	26
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
4.1 Interações entre polimorfismos dos genes relacionados à performance esportiva na amostra de jogadores de futebol e não jogadores	28
4.1.1 Frequências alélicas e genotípicas dos polimorfismos <i>ACE</i> -I/D e <i>ACTN3</i> R577X na amostra de jogadores de futebol e não jogadores	28
4.1.2 Análise de interação gênica entre os polimorfismos <i>ACE</i> -I/D e <i>ACTN3</i> R577X	30

4.2 Interações entre polimorfismos dos genes relacionados à performance esportiva na amostra de jogadores de futebol	33
4.2.1 Frequências alélicas e genótípicas dos polimorfismos ACE-I/D, ACTN3 R577X e LIN28A A/G na amostra de jogadores de futebol	33
4.2.2 Análise de interação gênica entre os polimorfismos ACE-I/D e ACTN3 R577X	35
4.2.3 Análise de interação gênica entre os polimorfismos ACE-I/D e LIN28A A/G	38
4.2.4 Análise de interação gênica entre os polimorfismos LIN28A A/G e ACTN3 R577X	40
4.2.5 Análise de interação gênica entre os polimorfismos ACE-I/D, ACTN3 R577X e LIN28A A/G	43
5 CONCLUSÃO	47
6 PERSPECTIVAS.....	48
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	49

1 INTRODUÇÃO

1.1 Influência do perfil genético no esporte

Atualmente vivemos a era ômica, na qual as análises moleculares do organismo como um todo, como o mapeamento e sequenciamento do genoma humano, tornaram possível identificar variações genéticas associadas à expressão de características, dentre elas, as ligadas à performance esportiva. Tal análise é aplicável para todos os esportes, porém ela vem ganhando cada vez mais atenção no futebol, muito em decorrência da sua popularidade em todo o mundo, seu grande impacto nas mídias, além do mercado financeiro expressivo ligado a esse esporte (SARMENTO et al., 2014, 2018).

A performance esportiva é caracterizada como um fenótipo multifatorial, ou seja, é uma característica influenciada por fatores ambientais e fatores genéticos. Dentre os fatores genéticos que contribuem para a modulação do desempenho esportivo estão os Polimorfismos de Nucleotídeo Único (SNPs - Single Nucleotide Polymorphisms). Os SNPs podem ser originados a partir de mutações pontuais no DNA e se tornarem frequentes na população ao longo de múltiplas gerações, tornando-se variações comuns no genoma (frequência do alelo mais raro superior a 5%). SNPs são a classe mais abundante de variação genética encontrada em genomas humanos, eles podem causar efeitos biológicos importantes. Contribuindo assim, para a variabilidade fenotípica observada em diversas características humanas sendo uma delas a performance esportiva (MARTH et al., 1999).

Outro tipo de polimorfismo que desempenha importante papel para a modulação do desempenho esportivo é o polimorfismo de inserção de elementos Alu, que são marcadores diméricos definidos pela ausência e presença de algumas sequências repetitivas com cerca de 300 bp. Esses elementos Alu impactam a organização e expressão do genoma humano em muitos níveis, incluindo os processos de recombinação, transcrição e tradução (PARDO PÉREZ; CAVADÍA MARTÍNEZ; CRUZ CANTERO, 2019; ROWOLD; HERRERA, 2000).

Desta forma, os estudos que levam em consideração as possíveis associações de polimorfismos com as características fisiológicas, que influenciam o treinamento físico, pode ser considerado o cerne para a compreensão do potencial genético de

um atleta e de como isso implicará em seu treinamento e tratamento de lesões (COELHO et al., 2019).

Em estudos de revisão sobre genes associados ao futebol, os genes mais investigados são o da *enzima conversora de angiotensina (ACE)* e *α -actinina-3 (ACTN3)*, demonstrando assim suas relevâncias e impactos na associação com a performance esportiva (MCAULEY et al., 2020; SARMENTO et al., 2020).

Adicionalmente, Kanope e colaboradores (2021) observaram associação do polimorfismo do gene *LIN28A* com uma melhor performance esportiva no futebol. Todos os genes mencionados apresentam polimorfismos que estão associados à melhora da performance em atividades físicas aeróbicas e anaeróbicas.

1.2 Gene ACTN3

A proteína *α -actinina-3* é codificada pelo gene *ACTN3*. Essa proteína é estruturalmente similar à *α -actinina-2* e ambas são componentes importantes para constituir a linha Z do sarcômero, responsável pelas contrações musculares. A *α -actinina-3* pode conferir fibras do tipo II com maior capacidade de absorção/transmissão de força na linha Z durante contrações rápidas (MILLS, 2001).

Além disso, esta proteína promove uma maior proteção contra danos musculares, a caracterizando assim, como essencial para a compreensão da predisposição para melhor desempenho físico e dano muscular, fatores esses que podem acarretar a uma melhor performance esportiva (LINNEMANN et al., 2010; MACARTHUR; NORTH, 2004; VINCENT et al., 2010).

O polimorfismo R577X do gene *ACTN3* foi identificado por North e colaboradores e tem sido associado a performance esportiva (NORTH et al., 1999). Trata-se de uma substituição do nucleotídeo C pelo T na posição 1.747 do exon 16 que resulta na substituição da arginina por um stop códon prematuro no resíduo 577 da proteína (NORTH et al., 1999; SCOTT; STEVENS; BINDER-MACLEOD, 2001).

Indivíduos com genótipo XX não expressam a proteína *α -actinina-3* no músculo esquelético (MACARTHUR; NORTH, 2004). Essa ausência de expressão da proteína *α -actinina-3* pode resultar em alterações funcionais no músculo esquelético, como por exemplo, redução da força muscular. Devido a isso, atletas que possuem genótipo RR/RX têm apresentado melhor desempenho em exercícios

físicos que exijam força e velocidade, enquanto os que possuem o genótipo XX têm apresentado melhor desempenho em exercícios físicos que exigem resistência (LINNEMANN et al., 2010; MACARTHUR; NORTH, 2004; MILLS, 2001; VINCENT et al., 2010; PIMENTA et al., 2013).

O presente grupo de pesquisa tem observado que o polimorfismo ACTN3 R577X tem influência na capacidade de desempenho esportivo em atletas do futebol brasileiros (PIMENTA et al., 2013). Além disso, está relacionado com o tempo de recuperação dos atletas por ter envolvimento no nível de dano muscular, na resposta hormonal e na concentração de IL-6 no plasma sanguíneo (COELHO et al., 2019; PIMENTA et al., 2012).

1.3 Gene ACE

O gene *ACE* é caracterizado por codificar a enzima conversora de angiotensina, que atua no sistema renina-angiotensina. Aumentando, a atividade ACE, leva a respostas hipertensas (aumento da ativação de AT1R) e diminui as respostas hipotensivas (reduzidas Ativação de BK2R), desempenhando assim um papel crucial na regulação da pressão sanguínea humana e equilíbrio de sal e água. Também tem atuação em tecidos, através da regulação das respostas de crescimento e lesão dos mesmos (PUTHUCHEARY et al., 2011).

No gene *ACE*, o polimorfismo mais investigado é o ACE I/D (rs4646994), caracterizado pela presença (alelo I) ou ausência (alelo D) de um elemento de repetição *Alu* (287 bp) na posição 1640 do íntron 16. Essa sequência de pares de bases está associada ao aumento da transcrição do mRNA e, conseqüentemente, à maior expressão do gene (MACARTHUR; NORTH, 2005; RIEDER et al., 1999). O alelo D foi associado à maiores concentrações de *ACE* no plasma, sendo que essa enzima conversora de angiotensina é responsável por catalisar a conversão de ANG-I (angiotensina I) em ANG-II (angiotensina II), levando assim à maior produção de fatores de crescimento e hipertrofia muscular (ALVAREZ et al., 2000). Já o alelo I, foi relacionado a altas concentrações de bradicinina, um hormônio que estimula a vasodilatação e o fluxo sanguíneo estimulando a aptidão aeróbia (MACARTHUR; NORTH, 2005). Devido a isso, atletas que possuem os genótipos DD ou DI, apresentam melhor desempenho em exercícios físicos que exijam força e velocidade, já os que carregam o genótipo II têm apresentado melhor

desempenho em exercícios físicos de resistência (ALVAREZ et al., 2000; COELHO et al., 2021; MACARTHUR; NORTH, 2005).

O presente grupo de pesquisa tem observado que jogadores de futebol portadores do genótipo DD para o polimorfismo ACE I/D (rs4646994), possuem melhor desempenho em testes anaeróbicos, enquanto os portadores de genótipo II possuem melhor desempenho nos testes aeróbicos (COELHO et al., 2021).

1.4 Gene *LIN28A*

O gene *LIN28A* (Lin-28 homóloga A), está localizado no cromossomo 1 em humanos, sendo responsável por codificar a proteína Lin-28 homóloga A, que tem funções de ligação ao RNA. Além disso, é um gene que foi descrito como um importante modulador do processamento e maturação do miRNA let-7 (SHYH-CHANG; DALEY, 2013). Estudos anteriores também indicaram que esse gene tem um papel importante nos metabolismos de glicose e fosforilação oxidativa, os quais são essenciais para o suprimento de energia, evidenciando assim sua importância para os atletas de alto rendimento (DOCHERTY; SALT; MERCER, 2016; ZHANG et al., 2016).

Kanope e colaboradores (2021) observaram que o polimorfismo rs6598964 (A > G) está associado à performance esportiva. Esse polimorfismo está localizado no intron 2 do gene *LIN28A*. Indivíduos portadores do genótipo AA e os AG expressam uma proteína que tem funcionalidade aumentada na regulação da homeostase de glicose, sugerindo assim que os portadores desse genótipo estariam associados a um melhor desempenho em exercícios físicos de resistência (KANOPE et al., 2021).

Com relação ao polimorfismo *LIN28A* A>G (rs6598964), o presente grupo de pesquisa observou que os jogadores de futebol brasileiros portadores do genótipo AA apresentaram valores mais elevados de VO₂ máx., um indicador de performance esportiva aeróbica (KANOPE et al., 2021).

1.5 Interação gênica

Todos os estudos mencionados, verificaram apenas a associação individual de cada um dos genes com a performance esportiva. Entretanto, as múltiplas evidências aqui citadas reforçam e sugerem que os três genes contribuem para a construção dos mesmos fenótipos.

Levando-se em consideração o perfil multifatorial dos fenótipos relacionados à performance esportiva e as evidências de que os genes *ACTN3*, *ACE* e *LIN28A* contribuem individualmente para os mesmos fenótipos, a hipótese do presente trabalho é de que ocorre interação gênica entre *ACTN3*, *ACE* e *LIN28A* para a modulação do desempenho de atletas em atividades esportivas.

O Quadro 1 apresenta uma síntese dos resultados já publicados pelo presente grupo de pesquisa, evidenciando a relação entre esses genes como a performance esportiva. Nestes trabalhos foram observadas associações entre os polimorfismos nos três genes com uma melhor performance esportiva. Como pode ser observado nesse quadro, os polimorfismos *ACTN3* R577X, *ACE* I/D e *LIN28A* A/G estão associados à melhor performance nas mesmas atividades esportivas, indicando, assim, que esses polimorfismos possivelmente possuem interação. Neste contexto, a hipótese do presente trabalho é de que *ACTN3*, *LIN28A*, *ACE* interagem para modular a performance esportiva de jogadores de futebol brasileiros.

	AG/ GG	AA
	DD/ DI	II
RR/RX	Melhor desempenho em atividades esportivas anaeróbicas	
XX		Melhor desempenho em atividades esportivas aeróbicas

Quadro 1: Síntese dos estudos já publicados relatando associação entre os polimorfismos *ACTN3* R577X, *ACE* I/D e *LIN28A* A/G com uma melhor performance esportiva (COELHO et al., 2016, 2019, 2021; KANOPE et al., 2021; PIMENTA et al., 2012, 2013).

Fonte: Elaborado pelo autor.

No presente estudo, consideramos que há interação gênica quando existe atuação conjunta dos genótipos na performance esportiva, ou seja, quando os resultados obtidos através de modelos estatísticos indicam que há correlação entre os genes de modo que quando eles estão sendo analisados conjuntamente, acarretam uma performance esportiva modificada (GILBERT-DIAMOND; MOORE, 2011; MANI et al., 2008).

1.6 Perfil da atividade esportiva no futebol

O futebol é reconhecidamente um esporte que exige diversos tipos de habilidades para sua prática, ou seja, são diversos movimentos e técnicas combinadas que geram um bom desempenho esportivo, e é caracterizado por ser um esporte coletivo de oposição/cooperação (COELHO, 2011; REILLY, 1997).

Assim, a análise tanto de performance aeróbica, que é exigida em atividades que são desenvolvidas sem bola em manobras posicionais, quanto anaeróbica, exigida em atividades tais como divididas, saltos e chutes são importantes para inferir excelência. Porém é um esporte que predominantemente exige mais do perfil anaeróbico do indivíduo para sua prática (COELHO et al., 2011; GEORGIADES et al., 2017; REILLY, 1997).

Em decorrência do futebol, ser caracterizado como uma atividade intermitente (aeróbica) de alta intensidade (anaeróbica), ele exige que as características dos jogadores e as necessidades das diferentes aptidões variem de acordo com a necessidade da sua posição em campo, podendo ser influenciado ainda pelo estilo de jogo individual dos jogadores (COELHO, 2011; RIENZI et al., 2000). Ou seja, diferentes posições no campo irão exigir perfis de aptidão dos jogadores.

Então, as diferentes exigências físicas que regem o futebol têm influência direta na performance esportiva, visto que, os jogadores com grande habilidade técnica e tática apenas terão a possibilidade de demonstrá-las durante a partida de futebol, se tiverem altas capacidades de força, velocidade (performance anaeróbica) e resistência (performance aeróbica), gerando assim um impacto direto no rendimento coletivo (WISLOFF; HELGERUD; HOFF, 1998).

1.7 Possíveis aplicações no futebol

Este é o primeiro trabalho a analisar se há interação gênica entre os genes *ACTN3*, *ACE* e *LIN28A* com a *performance* esportiva. Esse tipo de abordagem é importante para melhor compreender a variabilidade na expressão do fenótipo, já que as interações entre os genes podem contribuir para mascarar, suprimir ou aumentar um fenótipo (GILBERT-DIAMOND; MOORE, 2011; MANI et al., 2008; PHILLIPS, 2008). Além disso, como o futebol é um esporte com atletas de alto rendimento, que movimenta um mercado global bilionário, os clubes sempre estão em busca de tecnologias e estudos que lhes ofereçam alguma vantagem competitiva. Diante

disso, o presente estudo aponta marcadores moleculares que poderiam ser utilizados em conjunto para que os clubes tomem decisões informadas sobre o planejamento de treinos, jogos, descansos e prevenção de lesões.

Quando se diz respeito a atletas de clubes profissionais, o nível de exigência para desempenharem suas funções é extremamente alto, (MCAULEY et al., 2020) fatores que contribuam para variações na performance esportiva, tais como as mutações genéticas, podem inferir num ganho substancial na coletividade (GEORGIADES et al., 2017). Isso é em decorrência do futebol ser um esporte coletivo, onde ganhos individuais acarretam a uma melhor performance da equipe. De posse dessas informações, começa a ser possível individualizar o modo como é feito o cronograma de treinamento dos atletas, respeitando a individualidade biológica dos atletas, explorando as cargas, deficiências e ganhos que são influenciados, também, por características genéticas dos indivíduos (JACOB; CHIVERS; ANDERTON, 2019; SARMENTO et al., 2020).

Em decorrência desse fato, os atletas ACE-DD/DI, ACTN3-RR/RX e LIN28A-GG/AG podem se adaptar melhor ao treinamento de força e velocidade, e os atletas ACE-II, ACTN3-XX e LIN28A-AA podem apresentar melhor perfil de treinamento específico de resistência aeróbia. Além disso o monitoramento de estresse (dano) quando os atletas tem os mesmos estímulos, por exemplo, em jogos, é interessante porque atletas de diferentes genótipos podem apresentar diferentes graus de lesão muscular (COELHO et al., 2021).

Sendo assim, através da análise de interação gênica, quando existe atuação conjunta dos polimorfismos na performance esportiva, será possível potencializar o auxílio que a análise dos fatores genéticos geram os clubes de futebol, para que assim seja possível tomar decisões informadas sobre o planejamento de treinos, jogos, descansos e prevenção de lesões de maneira ainda mais assertiva. Além disso, espera-se que as combinações ACE-II, ACTN3-XX e LIN28A-AA possuam interação para uma melhor performance esportiva aeróbica.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Verificar se há interação gênica entre os genes *ACTN3*, *ACE* e *LIN28A* com relação à *performance* esportiva em jogadores de futebol brasileiros, através da análise de interação entre polimorfismos.

2.1 Objetivos específicos

- Selecionar a amostra de jogadores de futebol e de indivíduos controles a partir de projetos anteriores do nosso grupo de pesquisa (COELHO et al., 2016, 2019, 2021; KANOPE et al., 2021; PIMENTA et al., 2012, 2013);
- Selecionar os polimorfismos identificados nos genes *ACTN3*, *ACE* e *LIN28A* na amostra que podem estar envolvidos na *performance* esportiva de jogadores de futebol;
- Inferir a frequência alélica e genotípica dos polimorfismos selecionados para cada uma das amostras;
- Definir quais fenótipos serão analisados para verificar a interação gene a gene com relação à *performance* esportiva;
- Verificar se há interação gênica entre polimorfismos nos genes *ACTN3* e *ACE* para a probabilidade de ser ou não ser um jogador de futebol;
- Verificar se há interação gênica entre os genes *ACTN3*, *ACE* e *LIN28A* para a *performance* esportiva mensurada através do VO_2 máx em jogadores de futebol.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Amostra

A base de dados com as amostras analisadas no presente projeto foi adquirida através de estudos anteriores do grupo de pesquisa, onde a classificação e caracterização dos indivíduos também foram realizadas (COELHO et al., 2016, 2019, 2021; KANOPE et al., 2021; PIMENTA et al., 2012, 2013).

Tendo como base esse banco de informações, os dados foram divididos em duas amostras, a intitulada “Jogadores de futebol”, que é composta por 227 jogadores de futebol brasileiros, sendo que todos os indivíduos são do sexo masculino, englobando diferentes faixas etárias descritas no Quadro 2.

Categoria	Tamanho (n)	Idade (anos)	Peso (kg)	Altura (cm)
sub-15	67	15 ± 0,42	70,42 ± 9,52	177,57 ± 8,52
sub-17	43	16 ± 0,84	74,30 ± 4,79	181,36 ± 7,04
sub-20	79	19 ± 0,52	72,36 ± 6,90	180,65 ± 8,20
Profissional	38	24 ± 2,57	76,25 ± 4,79	182,60 ± 8,55

Quadro 2: Descrição das características antropométricas da amostra de jogadores de futebol que compuseram o presente estudo.

Fonte: Feito pelo autor.

Os pais de todos os jogadores de futebol nasceram no Brasil, caracterizando uma amostra de etnia americana diversa. Todos os jogadores participaram regularmente em sessões de treinamento (duração média de 90 min, seis vezes por semana), competiram em eventos organizados pela Confederação Brasileira de Futebol e tiveram em média 8 ± 4 anos de experiência no futebol.

Além disso, uma amostra contendo 100 indivíduos não atletas (controle) foi selecionada de maneira aleatória, formando assim uma amostra representativa da população de Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. Esse grupo era composto por crianças em idade escolar, estudantes de escolas públicas de Belo Horizonte que não treinavam futebol.

3.2 Genotipagem

As genotipagens dos polimorfismos *ACE-I/D*, *ACTN3 R577X* e *LIN28A A/G*, foram previamente realizadas pelo grupo de pesquisa (COELHO et al., 2016, 2019, 2021; KANOPE et al., 2021; PIMENTA et al., 2012, 2013). A extração do DNA genômico foi feita a partir de amostras de sangue periférico, usando proteinase K seguida de precipitação em solução salina (MILLER; DYKES; POLESKY, 1988).

3.2.1 Genotipagem do polimorfismo *ACTN3 R577X*

Conforme descrito por Coelho, Pimenta e colaboradores (COELHO et al., 2019; PIMENTA et al., 2012, 2013), a técnica utilizada na genotipagem foi a de PCR-RFLP (Reação em Cadeia da Polimerase e Polimorfismo de Comprimento de Fragmento de Restrição) com enzima de restrição (*Ddel*) após amplificação.

Um fragmento de DNA contendo o exon 16 do gene *ACTN3* foi amplificado a partir do DNA genômico, e foram utilizadas as seguintes sequências de primers para amplificação: *forward*, 5`-CTGTTGCCTGTGGTAAGTGGG-3`; *reverse*, 5`TGGTCACAGTATGCAGGAGGG-3`. As reações em cadeia da polimerase (PCR) apresentaram um volume final de 25 µl, com 10 mM de Tris, pH 8,4, 50 mM de KC, 1,75 mM de MgCl₂, 0,1% Triton X-100, 0,2 mM de cada desoxinucleotídeos trifosfatos (dNTP) (Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA), 1 U Taq DNA polimerase (Phoneutria Biotecnologia, Belo Horizonte, Brasil), e 1,0 µM de cada iniciador (Sinapse Biotecnologia, São Paulo, Brasil), usando aproximadamente 100 ng de DNA genômico como molde. O programa de amplificação consistia em uma desnaturação inicial a 94°C por 5 minutos, seguido por 30 ciclos, compreendendo 94°C por 1 minuto, 64°C por 1 minuto e 72°C por 1 minuto, com uma extensão final de 72°C por 5 minutos. Os alelos do polimorfismo *ACTN3 R577X* foram distinguidos pela presença (577X) ou ausência (577R) de um sítio de restrição da enzima *Ddel*. Depois da amplificação por PCR, 1 µl do produto da PCR foi digerido com 20 U da enzima *Ddel* em um volume final de 15 µl. As reações foram incubadas *overnight* a 37°C. Posteriormente, os fragmentos digeridos foram visualizados por eletroforese em gel de poliacrilamida 8%, corado com solução de nitrato de prata. O alelo *ACTN3 577R* representa fragmentos de 205 e 86 pares de bases (bp), enquanto o alelo *ACTN3 577X* representa fragmentos de 108, 97 e 86 bp.

3.2.2 Genotipagem do polimorfismo ACE/ID (rs4646994)

Segundo Coelho e colaboradores, para a genotipagem do polimorfismo ACE I/D foram realizadas duas PCRs (COELHO et al., 2016, 2021). Na primeira, é possível se observar um fragmento de 319 bp quando o alelo D (deleção) está presente e um fragmento de 597 pb quando o alelo I (inserção) está presente, após a eletroferese em gel de poliácridamida 8%. A sequência dos *primers* utilizados foi: *forward*, 5'-GCCCTGCAGGTGTCTGCAGCATGT-3'; e *reverse*, 5'-GGATGGCTCTCCCCGCCTTGTCTC-3'. A segunda PCR tem como objetivo, evitar erros na identificação das amostras heterozigotas (ID) dentre as amostras homozigotas DD. A segunda PCR foi realizada com iniciadores específicos para o alelo I: *foward*, 5'-TGGGACCACAGCGCCCGCCACTAC-3'; e *reverse*, 5'-TCGCCAGCCCTCCCATGCCCATAA-3'. Esta reação permite observar um fragmento de 335bp quando o alelo I está presente, e nenhum amplicon para amostras homozigotas DD. Para identificar os genótipos, os produtos de amplificação foram separados por eletroforese em gel de poliácridamida (8%) e coloração com prata.

3.2.3 Genotipagem do polimorfismo LIN28A A/G (rs6598964)

Segundo Kanope e colaboradores (KANOPE et al., 2021), o polimorfismo LIN28A A/G (rs6598964) foi genotipado usando um ensaio de genotipagem SNP TaqMan (C__29321722_10, Thermo Fisher Scientific, EUA) em um sistema PCR em tempo real (ABI7900, Applied Biosystems, EUA). As análises foram conduzidas usando o software TaqMan Genotyper (Thermo Fisher Scientific, EUA).

3.3 Teste de resistência Yo-Yo

O teste de resistência Yo-Yo nível 2 é específico para futebol e esportes intermitentes, sendo que o total da distância percorrida está positivamente correlacionada com a capacidade aeróbica dos atletas (SILVA et al., 2011).

O teste físico para determinação da performance esportiva foi realizado apenas nos atletas. Além disso, esse teste também foi previamente realizado pelo grupo de

pesquisa (COELHO et al., 2016, 2019, 2021; KANOPE et al., 2021; PIMENTA et al., 2012, 2013).

Esse teste foi realizado uma semana antes do início do campeonato e todos os jogadores estavam familiarizados com o mesmo. O teste de Yo-Yo nível 2 consiste em corridas repetidas de 2 x 20 m para frente e para trás, entre a linha de partida e a de chegada, conforme pode ser visto na representação da Figura 1.

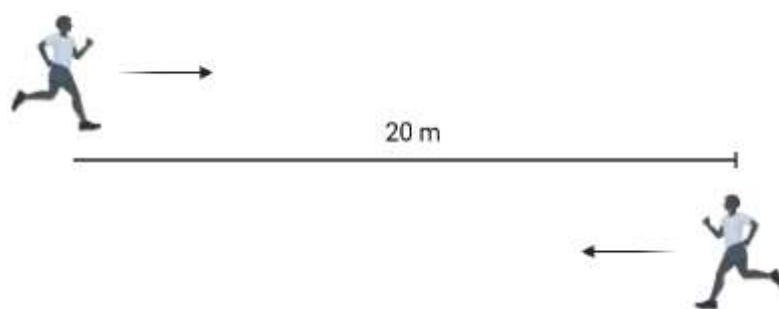


Figura 1: Representação gráfica do teste de Yo-Yo nível 2.

Descrição: O teste de Yo-Yo nível 2 consiste em corridas repetidas de 2 x 20 m ida e volta, entre a linha de partida e a de chegada, controlado por sinal sonoro.

Fonte: Elaborado pelo autor.

No teste havia um aumento progressivo da velocidade, que foi controlada por bipes de áudio feitos através do dispositivo portátil iPad (Apple Inc., Cupertino, CA), que estava conectado por Bluetooth em um alto-falante portátil (JBL Inc., Los Angeles, CA), localizado adjacientemente às pistas de corrida de 20m indicadas por marcadores. O final do teste foi considerado quando, por duas vezes, o jogador não conseguiu chegar à linha de frente a tempo hábil, ou ele se sentiu incapaz para completar outra bateria na velocidade pré-estipulada.

3.4 Consumo máximo de oxigênio

A aptidão aeróbia é um fator determinante do desempenho em atletas de alto rendimento, sendo assim, a verificação da capacidade funcional cardiorrespiratória, é muito importante para inferir excelência (KRAVCHYCHYN et al., 2015).

O consumo máximo de oxigênio (VO_2 máx.), no presente estudo, foi utilizado para classificar a capacidade funcional cardiorrespiratória e como um preditor de

performance esportiva em jogadores de futebol. O VO_2 máx. mensura o maior volume de oxigênio por unidade de tempo que um indivíduo consegue captar, respirando ar atmosférico durante o exercício (MAGALHÃES et al., 2021).

Ou seja, essa análise verificou a provável capacidade dos jogadores de futebol brasileiros de realizarem exercícios de longa e média duração, através da realização do Teste de Yo-Yo nível 2. Esses exercícios são extremamente dependentes do metabolismo aeróbio.

3.5 Análises genéticas e estatísticas

As frequências alélicas e genótípicas foram estimadas utilizando o software GENEPOP (ROUSSET, 2008) para os polimorfismos ACE-I/D e ACTN3 R577X na amostra de jogadores de futebol e controles. Além disso, na amostra contendo apenas jogadores de futebol foram estimadas as frequências para cada um dos três polimorfismos. O teste de Equilíbrio de Hardy-Weinberg realizado nessas amostras foi feito utilizando o GENEPOP, considerando $p > 0,05$ quando não existe evidência de que o *locus* está em desequilíbrio.

Para a investigação da presença de interação gênica, alguns métodos estatísticos de análise de interação entre fatores podem ser aplicados como por exemplo, o de regressão logística e redes de interação gênica. Dentre esses métodos, um dos mais utilizados é a regressão linear múltipla. Porém, esse método possui algumas limitações para análises de interações envolvendo muitos fatores e grande tamanho amostral. Devido a isso, uma abordagem de redução de dimensionalidade multifatorial (MDR), um método que visa reduzir a dimensionalidade de genótipos multiloci, facilitando a identificação de interações (CHUNG et al., 2007; FERNÁNDEZ-TORRES et al., 2020; HAHN; RITCHIE; MOORE, 2003; RITCHIE; HAHN; MOORE, 2003; RITCHIE; MOTSINGER, 2005), foi o método escolhido para avaliar a presença de interação gênica no presente trabalho.

As análises de interação gênica e associação à performance esportiva foram realizadas a partir da utilização de um método de redução multifatorial de dimensionalidade, implementado no Software MDR 3.0.2 (v 2) (HAHN; RITCHIE; MOORE, 2003). Interações foram consideradas significativas se $p < 0,05$. Além disso,

modelos de interação que possuíam valores mais altos testing balance accuracy (TBA) e cross-validation consistency (CVC) foram considerados os melhores modelos para indicar o modelo de interação mais provável.

O Software MDR 3.0.2 (v 2) (HAHN; RITCHIE; MOORE, 2003) divide a amostra em quadrantes para todas as possíveis combinações entre os genótipos que estão sendo analisados. Assim, é calculada a razão entre casos e controles para cada um desses quadrantes (OR - Odds Ratio). Em seguida, esses resultados são comparados com a razão entre casos e controles de toda a amostra (Class ratio), para que assim, esses quadrantes sejam classificados como de baixo risco, quando a razão do quadrante é menor do que a da amostra total, e de alto risco, quando a razão do quadrante é maior do que a da amostra total (RITCHIE et al., 2001).

O melhor modelo de interação obtido é o modelo com maior pontuação nos testes de training balance accuracy (TrBA) e testing balance accuracy (TBA) (RITCHIE et al., 2001).

Para a análise de interação que buscava identificar se existe interação entre esses polimorfismos, de forma a afetar a probabilidade de um indivíduo ser jogador de futebol, os indivíduos foram divididos e classificados, sendo que jogadores de futebol (caso) foram classificados como "Class 1" e os não jogadores de futebol (controle) como "Class 0". Para a análise que visou verificar se existe interação entre esses polimorfismos, de forma a modular a performance esportiva aeróbica de jogadores de futebol, uma amostra composta apenas de jogadores de futebol foi analisada. Para esta análise, os jogadores foram divididos e classificados, de forma que jogadores que apresentaram VO_2 máx. acima da média foram classificados como "Class 1" e os jogadores que apresentaram VO_2 máx. abaixo da média, como "Class 0". A média foi calculada através do Software SPSS 26 e obtida através da análise de todo o grupo de jogadores (Média de VO_2 máx = 54,345 ml/kg/min).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Interações entre polimorfismos dos genes relacionados à performance esportiva na amostra de jogadores de futebol e não jogadores

Foi analisada uma amostra composta por 227 jogadores de futebol e 100 não jogadores, para realizar a análise de interação que busca identificar se existe interação entre esses polimorfismos, de forma que isso altere a chance de um indivíduo ser jogador de futebol.

4.1.1 Frequências alélicas e genótípicas dos polimorfismos ACE-I/D e ACTN3 R577X na amostra de jogadores de futebol e não jogadores

As frequências alélicas e genótípicas observadas para os 227 jogadores de futebol brasileiros e 100 não jogadores de futebol com relação aos polimorfismos ACE-I/D e ACTN3 R577X são apresentados no Quadro 3.

<i>Loci</i>	Frequências genótípicas					
	ACTN3 R577X			ACE-I/D		
Grupo (n)	RR (%)	RX (%)	XX (%)	II (%)	ID (%)	DD (%)
Jogadores de futebol (227)	101 (0,44)	97 (0,43)	29 (0,13)	47 (0,21)	114 (0,50)	66 (0,29)
Não jogadores (100)	40 (0,40)	46 (0,46)	14 (0,14)	19 (0,19)	53 (0,53)	28 (0,28)

Quadro 3: Frequência genotípica observada para os polimorfismos ACTN3 R577X e ACE-I/D na amostra de jogadores de futebol e não jogadores.

Fonte: Elaborado pelo autor.

As frequências alélicas observadas para os jogadores de futebol para o polimorfismo ACTN3 R577X foram, 0,66 (299) para o alelo R, e 0,34 (155) para o alelo X, e para os não jogadores foram, 0,63 (126) para o alelo R, e 0,37 (74) para o alelo X. As

frequências genotípicas foram 0,44 para RR, 0,43 para RX, 0,13 para XX na amostra de jogadores de futebol. Para a amostra de não jogadores as frequências genotípicas foram 0,40, 0,46 e 0,14 para RR, RX e XX, respectivamente. Na literatura, foram observados perfis similares de frequências para os genótipos RR, RX, XX relatadas na população geral de brasileiros de 0,37, 0,47 e 0,16, respectivamente. Além disso, para jogadores de futebol profissionais brasileiros Silva e colaboradores (2011) observaram diferença entre as frequências genotípicas da população geral e a de jogadores de futebol, sendo que os resultados encontrados pelos pesquisadores para RR, RX, XX foram de 0,45, 0,50 e 0,05, respectivamente (SILVA et al., 2011). Porém na amostra do presente trabalho não se observou diferença no perfil entre as frequências genotípicas observadas para os jogadores de futebol e não jogadores.

As frequências alélicas observadas para o polimorfismo ACE-I/D no presente trabalho foram 0,54 (246) para o alelo D e 0,46(208) para o alelo I para os jogadores de futebol e para os não jogadores foram 0,54 (109) para o alelo D e 0,46(91) para o alelo I. As frequências genotípicas para a amostra de jogadores de futebol foram 0,21, 0,50 e 0,29 para II, ID e DD, respectivamente. Na amostra de não jogadores a frequência genotípica observada foi 0,19, 0,53 e 0,28 para II, ID e DD, respectivamente. Esses resultados tem mesmo perfil do que foi encontrado na literatura, onde foram observadas frequências dos genótipos II, ID e DD de 0,25, 0,50 e 0,25, respectivamente, para população geral de caucasianos (JONES; MONTGOMERY; WOODS, 2002). Além disso, os resultados encontrados no presente estudo para jogadores de futebol profissionais tem mesmo perfil dos relatados na literatura, cujas frequências foram de 0,23 para II, 0,46 para ID e 0,29 para DD, em jogadores de futebol lituanos (GINEVICIENE et al., 2014); 0,14 para II, 0,26 para ID e 0,60 para DD em jogadores de futebol italianos; 0,14 para II, 0,50 para ID e 0,36 para DD em jogadores espanhóis (GINEVICIENE et al., 2014).

Assim como os pesquisadores supracitados, no presente trabalho não se observou diferença no perfil da frequência genotípica quando comparada a população geral com a de jogadores de futebol. Essa similaridade na frequência encontrada para ambos os polimorfismos sugere que qualquer influência desses polimorfismos não é

de magnitude suficiente para influenciar significativamente para que um indivíduo seja jogador de futebol.

As frequências genótípicas observadas para os polimorfismos ACE-I/D e ACTN3 R577X atenderam ao Equilíbrio de Hardy-Weinberg, com valor de p de 0,6613 e 0,4767, respectivamente para toda a amostra contendo casos e controle.

Para verificar se as categorias/idade da amostra, tinham impacto na homogeneidade das frequências genótípicas foi verificado se havia diferença nas frequências genótípicas de cada categoria, usando o teste de qui-quadrado. O resultado do teste foi 5,173 ($p= 0.270$), indicando que não foi observada diferença. Assim, a amostra de jogadores de futebol poderia ser analisada no geral, não havendo a necessidade de subdivisão levando em consideração as categorias/idade.

4.1.2 Análise de interação gênica entre os polimorfismos ACE-I/D e ACTN3 R577X

A fim de testar se há interação entre os *loci* ACE-I/D e ACTN3 R577X quando se compara jogadores de futebol e não jogadores de futebol, foi utilizada a análise de redução de dimensionalidade multifatorial. O quadro 4 e a figura 2 resumem os resultados do software MDR, o qual avalia todas as combinações de genótipos possíveis, calculando para cada uma delas a razão de jogadores/não jogadores de futebol (razão observada ou OR). Esta razão é comparada com a razão de jogadores/não jogadores de futebol obtida a partir da amostra total (razão esperada ou *class ratio*). Combinações genótípicas apresentando razões observadas que desviam da razão esperada são consideradas como possível evidência de interação e destacadas na figura em tons de cinza mais escuro. O quadro 4 apresenta ainda os valores de TrBA, TBA, CVC e os valores de p referentes a cada modelo testado (sem interação ou com interação). O modelo mais provável, foi definido com base nesses valores e está destacado em negrito (Quadro 4).

Modelo	TrBA	TBA	CVC	p-value
ACTN3 R577X	0,5259	0,4298	6/10	0,4497
ACTN3 R577X, ACE-I/D	0,5716	0,5043	10/10	0,026

Quadro 4: Resultado dos modelos de interação dos polimorfismos ACE-I/D e ACTN3 R577X para jogadores e não jogadores de futebol. Análise desenvolvida no Software MDR 3.0.2 (v 2).

Fonte: Elaborado pelo autor.

O modelo mais provável foi o modelo de interação incluindo ambos os polimorfismos ACE-I/D e ACTN3 R577X. Este modelo apresentou um TBA de 0,504, um CVC de 10/10 e um valor de $p=0,026$. Este resultado sugere, portanto, que combinações genóticas específicas nos *loci* ACE-I/D e ACTN3 R577X, como DD/RR, ID/RR, ID/XX e II/RX estão mais presentes na amostra de jogadores de futebol do que na população em geral, aqui representada pela amostra de não jogadores.

Dado que a razão esperada foi de 2,27, os maiores desvios observados ocorreram para as combinações genóticas RX/II (OR=4,80) e RR/ID (OR=3,00). Além disso, os genótipos RR/DD (OR=2,73) e XX/ID (OR=2,30) também foram considerados mais presentes na categoria jogadores quando comparados a não jogadores.

É bem conhecido, em decorrência de estudos anteriores, que o futebol é um esporte caracterizado por exigir do indivíduo um perfil metabólico misto, aeróbio e anaeróbio, para que o mesmo tenha uma alta performance. As combinações genóticas RX/II (OR=4,80) e XX/ID (OR=2,30) reforçam essas evidências, pois os genótipos RX e ID apresentam correlação individual a um melhor desempenho em atividades esportivas anaeróbicas e os genótipos XX e II estão relacionados a um melhor desempenho em atividades esportivas aeróbicas. Além disso, podemos observar na Figura 2, como a inclusão do polimorfismo ACE I/D contribui consideravelmente para aumentar o poder de discriminação entre os grupos de jogadores e não jogadores, já que a razão observada para o genótipo RX no modelo sem interação foi apenas de 2,11 (Figura 2B). No modelo de interação, observamos razões de até 4,80 (Figura 2A).

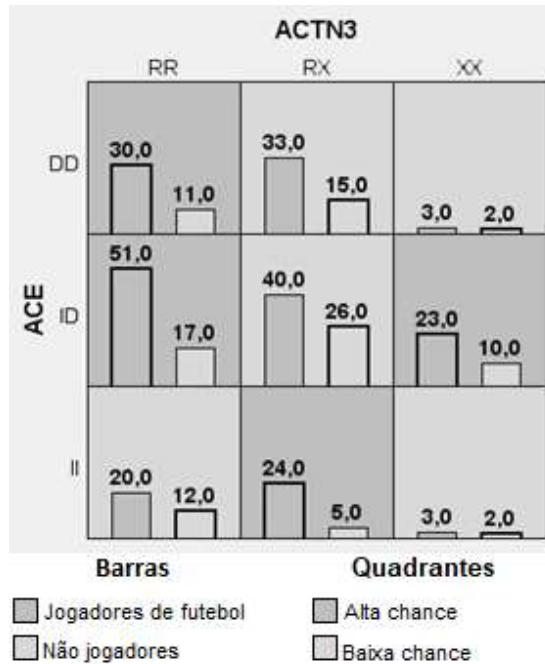


Figura 2A: Análise de interação gene-gene entre os polimorfismos ACE-I/D e ACTN3 R577X na amostra de jogadores de futebol e não jogadores.

Descrição: Distribuição de jogadores e não jogadores de futebol de acordo com as classes genotípicas para A) o modelo de interação dos polimorfismos ACE-I/D e ACTN3 R577X; e para B) o modelo sem interação (apenas ACTN3 R577X). Imagem obtida através do Software MDR 3.0.2 (v 2). Os quadrantes foram classificados como de alta chance se a razão de casos para controles $\geq 2,27$, e de baixa chance, se a razão $< 2,27$.

Fonte: Elaborado pelo autor

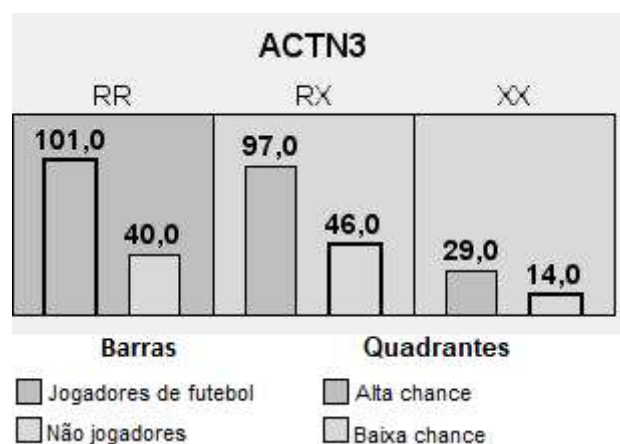


Figura 2B: Análise de interação gene-gene considerando apenas o polimorfismo ACTN3 R577X da amostra de jogadores de futebol e não jogadores.

Descrição: Distribuição de jogadores e não jogadores de futebol de acordo com as classes genotípicas no modelo do polimorfismo ACTN3 R577X de acordo com os resultados da análise feita

no Software MDR 3.0.2 (v 2). Os quadrantes foram classificados como de alta chance se a razão de casos para controles $\geq 2,27$, e de baixa chance, se a razão $< 2,27$.

Fonte: Elaborado pelo autor

4.2 Interações entre polimorfismos dos genes relacionados à performance esportiva na amostra de jogadores de futebol

Foi utilizada uma amostra composta por 226 jogadores de futebol, para a análise que visa verificar se existe interação entre os polimorfismos ACE-I/D, ACTN3 R577X e LIN28A A/G, de forma a modificar a chance do jogador de futebol ter valor de VO₂ máx acima da média, ou seja, uma melhor performance esportiva aeróbica.

A fim de testar se há interação entre os *loci* ACE-I/D, ACTN3 R577X e LIN28A A/G, quando comparamos jogadores de futebol, utilizamos a análise de redução de dimensionalidade multifatorial. Os resultados foram representados através de figuras e dados angariados por meio do software MDR.

4.2.1 Frequências alélicas e genóticas dos polimorfismos ACE-I/D, ACTN3 R577X e LIN28A A/G na amostra de jogadores de futebol

As frequências genóticas observadas para os 226 jogadores de futebol brasileiros com relação aos polimorfismos ACE-I/D, ACTN3 R577X e LIN28A A/G são apresentados no Quadro 5.

Frequências genóticas									
Loci	ACTN3 R577X			ACE-I/D			LIN28A A/G		
Grupo (226)	RR (%)	RX (%)	XX (%)	II (%)	ID (%)	DD (%)	AA (%)	AG (%)	GG (%)
Jogadores de futebol	101 (0,45)	97 (0,43)	28 (0,12)	47 (0,21)	113 (0,50)	66 (0,29)	17 (0,08)	114 (0,50)	95 (0,42)

Quadro 5: Frequência genotípica observada para os polimorfismos ACE-I/D, ACTN3 R577X e LIN28A A/G na amostra de jogadores de futebol.

Fonte: Elaborado pelo autor.

As frequências alélicas observadas para o polimorfismo ACTN3 R577X foram, 0,66 (299) para o alelo R, e 0,34 (153) para o alelo X. As frequências genotípicas observadas para a amostra de jogadores de futebol foram 0,44 para RR, 0,43 para RX, 0,13 para XX. Anteriormente, Silva e colaboradores descreveram as frequências genotípicas de jogadores de futebol brasileiros, sendo que os resultados encontrados pelos pesquisadores para RR, RX, XX foram de 0,45, 0,50 e 0,05 respectivamente (SILVA et al., 2011). Neste caso é possível observar que o perfil genotípico diferente entre as duas amostras, sendo o genótipo RR o mais frequente na amostra do presente trabalho e o RX o mais frequente na amostra de Silva e colaboradores.

As frequências alélicas observadas para o polimorfismo ACE-I/D no presente trabalho foram 0,54 (245) para D e 0,46 (208) para I 0,46 (207). As frequências genotípicas observadas para a amostra de jogadores de futebol foram 0,21 para II, 0,50 para ID, 0,29 para DD. Esses resultados, encontrados no presente estudo para jogadores de futebol profissionais, tem perfil próximo ao relatado na literatura, cuja frequência foi de 0,23 para II, 0,46 para ID e 0,29 para DD , em jogadores de futebol lituanos (GINEVICIENE et al., 2014). Porém, quando comparado com jogadores de futebol italianos de frequência 0,14 para II, 0,26 para ID e 0,60 para DD e com jogadores espanhóis de frequência 0,14 para II, 0,50 para ID e 0,36 para DD (GINEVICIENE et al., 2014) encontrou-se diferença no perfil de frequência de DD e ID em jogadores de futebol italianos e mesmo perfil para jogadores espanhóis.

As frequências alélicas observadas para o polimorfismo LIN28A A/G no presente trabalho foram 0,54 (245) para o alelo D e 0,46 (207) para o alelo I. As frequências genotípicas observadas para a amostra de jogadores de futebol foram 0,08 para AA, 0,50 para AG, 0,42 para GG. O presente trabalho utilizou a mesma amostra que Kanope e colaboradores (2021), o qual foi o primeiro trabalho a inferir a frequência alélica e genotípica do polimorfismo LIN28A A/G e a apontá-lo como associado à performance esportiva. Esses resultados podem sugerir que o tamanho amostral utilizado no presente estudo foi suficiente para inferir as frequências genotípicas dos polimorfismos ACE-I/D, ACTN3 R577X e LIN28A A/G dos jogadores brasileiros.

As frequências genóticas observadas para os polimorfismos ACE-I/D e ACTN3 R577X atenderam ao Equilíbrio de Hardy-Weinberg ($p=0.5580$ e $p=1.0000$, respectivamente). Já a frequência genótica observada para o polimorfismo LIN28A A/G não atendeu ao Equilíbrio de Hardy-Weinberg ($p= 0.0368$), apresentando um excesso de heterozigotos ($p=0,0211$) na amostra contendo apenas jogadores de futebol.

A média de VO_2 máx observada para todos os jogadores foi de 54,34 ml/kg/min. O valor mais elevado de VO_2 máx observado foi de 66,34 ml/kg/min e o inferior foi 43,66 ml/kg/min.

4.2.2 Análise de interação gênica entre os polimorfismos ACE-I/D e ACTN3 R577X

O modelo mais provável foi o modelo de interação incluindo ambos os polimorfismos ACE-I/D e ACTN3 R577X (Quadro 6). Este modelo apresentou um TrBA de 0,6835, um TBA de 0,6582, um CVC de 10/10 e um valor de $p < 0,0001$. Este resultado sugere, portanto, que combinações genóticas específicas dos *loci* ACE-I/D e ACTN3 R577X, como ID/XX, DD/RX, II/RR estão associadas a valores de VO_2 máx acima da média.

Modelo	TrBA	TBA	CVC	p-value
ACTN3 R577X	0,6029	0,5196	9/10	< 0,0001
ACTN3 R577X * ACE-I/D	0,6835	0,6582	10/10	< 0,0001

Quadro 6: Resultado dos modelos de interação do ACE-I/D e ACTN3 R577X da amostra de jogadores de futebol Análise desenvolvida no Software MDR 3.0.2 (v 2).

Fonte: Elaborado pelo autor.

Dado que a razão esperada foi de 0,8016, os maiores desvios observados ocorreram para as combinações genóticas XX/ID (OR=4,75) e RX/DD (OR=2,30). O genótipo RR/II (OR=1,00) também foi considerado mais presente na categoria jogadores futebol que possuem valor de VO_2 máx acima da média.

As combinações genotípicas XX/DD e XX/II também tiveram valor de razão observada superior ao da razão esperada, porém por serem classes genotípicas pouco frequentes na presente amostra, optamos por desconsiderar esses resultados.

Levando em consideração que os genótipos XX e II sozinhos estão correlacionados a um melhor desempenho em atividades esportivas aeróbicas, a combinação genotípica que esperava-se ter o maior desvio, é a XX/II, além disso as combinações XX/ID, XX/DD, RX/II, RR/II também estão relacionados o um melhor desempenho em atividades esportivas aeróbicas. Devido a isso, os valores de razão observados para as combinações XX/ID (OR=4,75) e RR/II (OR=1,00) estão de acordo com o esperado. Adicionalmente, levando em consideração o valor de OR da combinação XX/ID, que foi o valor mais elevado encontrado na presente análise, e as combinações XX/DD e XX/II, que mesmo sendo desconsideradas aqui, corroboram que o genótipo XX tem influência expressiva no valor de VO₂ máx. Porém, como pode ser observado na figura 3, quando incluímos a informação do segundo loci, ACE-I/D, contribui consideravelmente para aumentar o poder de discriminação entre os grupos de jogadores com valores de VO₂ máx acima e abaixo da média, quando o indivíduo além de ter o genótipo XX também apresenta o ID, há maior chance do valor de VO₂ máx estar acima da média.

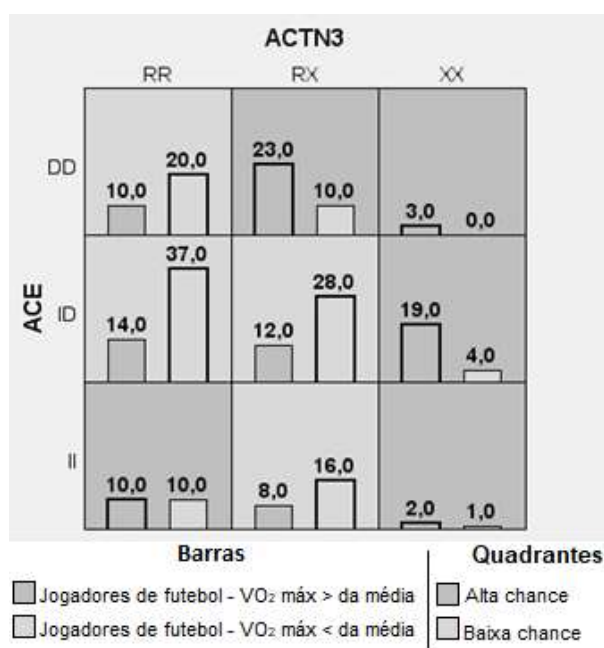


Figura 3A: Análise de interação gene-gene entre os polimorfismos ACE-I/D e ACTN3 R577X da amostra de jogadores de futebol com relação a VO₂ máx.

Descrição: Distribuição de jogadores e não jogadores de futebol de acordo com as classes genóticas para A) o modelo de interação dos polimorfismos ACE-I/D e ACTN3 R577X; e para B) o modelo sem interação (apenas ACTN3 R577X). Imagem obtida através do Software MDR 3.0.2 (v 2) . Os quadrantes foram classificados como de alta chance se a razão de casos para controles $\geq 0,8016$, e de baixa chance, se a razão $< 0,8016$.

Fonte: Elaborado pelo autor

Podemos observar na Figura 3, como a inclusão do polimorfismo ACE I/D contribui consideravelmente para aumentar o poder de discriminação entre os grupos de jogadores, já que a razão observada para o genótipo RR no modelo sem interação foi apenas de 0,51 (Figura 3B). No modelo de interação, observamos razões de até 1,00 (Figura 3A). Além disso, reforça a indicação de que o genótipo XX tem forte influência na discriminação pois no modelo sem interação possui razão de 4,8.

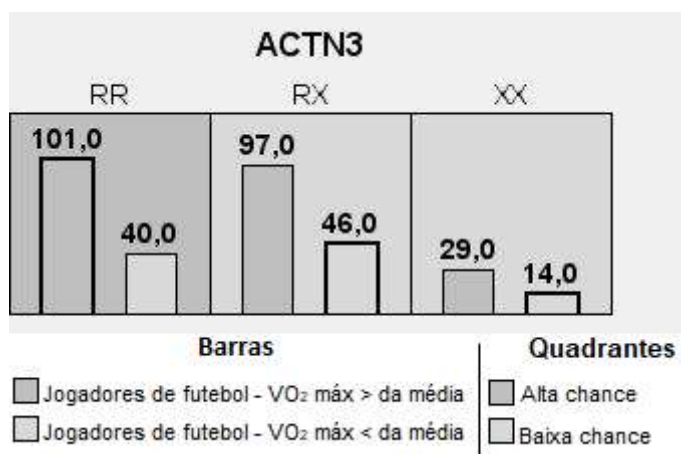


Figura 3B: Análise de interação gene-gene considerando apenas o polimorfismo ACTN3 R577X da amostra de jogadores de futebol.

Descrição: Distribuição de jogadores e não jogadores de futebol de acordo com as classes genóticas no modelo do polimorfismo ACTN3 R577X, de acordo com os resultados da análise feita no Software MDR 3.0.2 (v 2). Os quadrantes foram classificados como de alta chance se a razão de casos para controles $\geq 0,8016$, e de baixa chance, se a razão $< 0,8016$.

Fonte: Elaborado pelo autor.

4.2.3 Análise de interação gênica entre os polimorfismos ACE-I/D e LIN28A A/G

O modelo mais provável foi o modelo de interação incluindo ambos os polimorfismos ACE-I/D e LIN28A A/G. Este modelo apresentou um TrBA de 0,6205, um TBA de 0,5742, um CVC de 10/10 e um valor de $p=0,0003$ (Quadro 7). Este resultado sugere, portanto, que combinações genotípicas específicas dos *loci* ACE-I/D e LIN28A A/G, como DD/AG, DD/GG, II/AG estão associados na amostra de jogadores de futebol a indivíduos que possuem valor de VO_2 máx acima da média.

Modelo	TrBA	TBA	CVC	p-value
LIN28A A/G	0,5858	0,5515	10/10	< 0,0001
LIN28A A/G * ACE-I/D	0,6205	0,5742	10/10	0,0003

Quadro 7: Resultado dos modelos de interação entre os polimorfismos ACE-I/D e LIN28A A/G da amostra de jogadores de futebol Análise desenvolvida no Software MDR 3.0.2 (v 2).

Fonte: Elaborado pelo autor.

Dado que a razão esperada foi de 0,7937, os maiores desvios observados ocorreram para as combinações genotípicas AG/DD (OR=1,07) GG/DD (OR=0,93) e AG/II (OR=0,85).

As combinações genotípicas AA/DD, AA/ID e AA/II também tiveram valor de razão observada superior ao de razão esperada, porém por terem um n amostral muito baixo, seus resultados foram desconsiderados.

Levando em consideração que os genótipos AA e II sozinhos estão correlacionados a um melhor desempenho em atividades esportivas aeróbicas, a combinação genotípica que esperava-se ter o maior desvio, é a AA/II, além disso as combinações AA/ID, AA/DD, AG/II, GG/II também estão correlacionados com um melhor desempenho em atividades esportivas aeróbicas. Devido a isso, os valores de razão observados para as combinações AG/DD (OR=1,07) e AG/II (OR=0,85) estão de acordo com o esperado. Além disso, como pode ser observado na figura 4, quando incluímos a informação do segundo *loci*, ACE-I/D, contribui consideravelmente para aumentar o poder de discriminação entre os grupos de jogadores, por exemplo, o genótipo DD teve influência considerável nessa melhor

caracterização, mesmo que segundo a literatura, ele esteja correlacionado com melhor desempenho em atividades esportivas anaeróbicas.

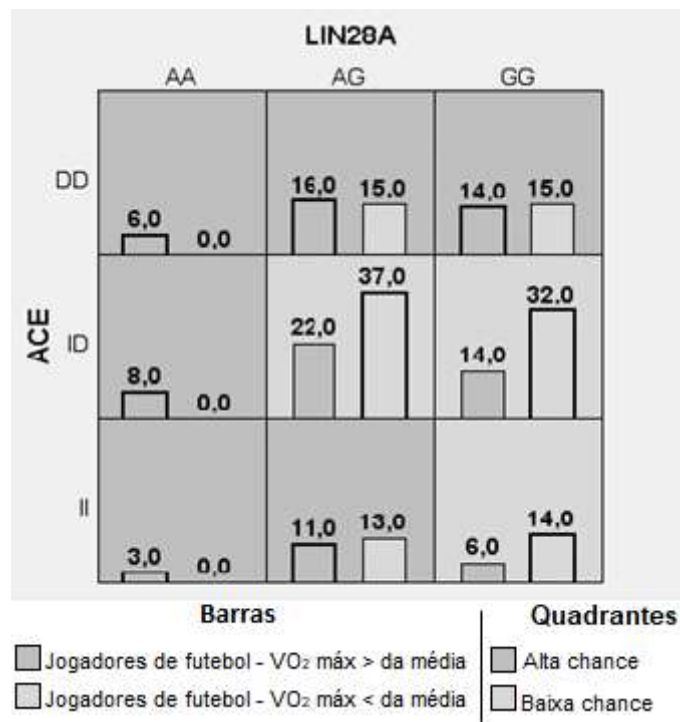


Figura 4A: Análise de interação gene-gene entre os polimorfismos ACE-I/D e LIN28A A/G da amostra de jogadores de futebol.

Descrição: Distribuição de jogadores e não jogadores de futebol de acordo com as classes genóticas para A) o modelo de interação dos polimorfismos ACE-I/D e LIN28A A/G; e para B) o modelo sem interação (apenas LIN28A A/G). Imagem obtida através do Software MDR 3.0.2 (v 2). Os quadrantes foram classificados como de alta chance se a razão de casos para controles $\geq 0,7937$, e de baixa chance, se a razão $< 0,7937$.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Podemos observar na Figura 4, que a razão observada para o genótipo AG e GG no modelo sem interação foram apenas de 0,75 e 0,56, respectivamente (Figura 4B). No modelo de interação, observamos razões de até 1,07 (Figura 4A).

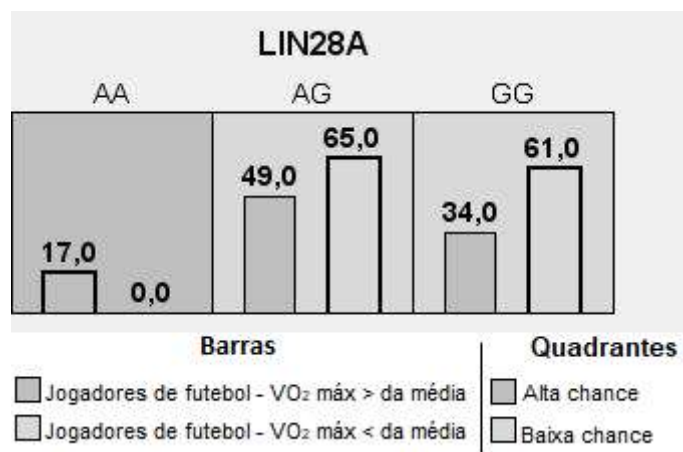


Figura 4B: Análise de interação gene-gene considerando apenas o polimorfismo LIN28A A/G da amostra de jogadores de futebol.

Descrição: Distribuição de jogadores e não jogadores de futebol de acordo com as classes genotípicas no modelo do polimorfismo LIN28A A/G, de acordo com os resultados da análise feita no Software MDR 3.0.2 (v 2). Os quadrantes foram classificados como de alta chance se a razão de casos para controles $\geq 0,7937$, e de baixa chance, se a razão $< 0,7937$.

Fonte: Elaborado pelo autor

4.2.4 Análise de interação gênica entre os polimorfismos LIN28A A/G e ACTN3 R577X

O modelo mais provável foi o modelo de interação incluindo ambos os polimorfismos LIN28A A/G e ACTN3 R577X. Este modelo apresentou um TrBA de 0,6606, um TBA de 0,6225, um CVC de 10/10 e um valor de $p < 0,0001$ (Quadro 8). Este resultado sugere, portanto, que combinações genotípicas específicas nos loci LIN28A A/G e ACTN3 R577X, como XX/AG, XX/GG apresentam associação na amostra de jogadores de futebol que possuem valor de VO₂ máx acima da média.

Modelo	TrBA	TBA	CVC	p-value
ACTN3 R577X	0,5996	0,5580	10/10	0,004
ACTN3 R577X * LIN28A A/G	0,6606	0,6225	10/10	< 0,0001

Quadro 8: Resultado dos modelos de interação dos polimorfismos LIN28A A/G e ACTN3 R577X da amostra de jogadores de futebol. Análise desenvolvida no Software MDR 3.0.2 (v 2).

Fonte: Elaborado pelo autor.

Dado que a razão esperada foi de 0,7937, os maiores desvios observados ocorreram para as combinações genóticas XX/AG (OR=4,67), XX/GG (OR=2,50).

As combinações genóticas RR/AA, RX/AA e XX/AA também tiveram valor de razão observada superior ao de razão esperada, porém por terem o n amostral muito baixo, seus resultados foram desconsiderados.

Levando em consideração que os genótipos XX e AA sozinhos estão correlacionados o um melhor desempenho em atividades esportivas aeróbicas, a combinação genotípica que esperava-se ter o maior desvio, é a XX/AA, além disso as combinações XX/AG, XX/GG, RX/AA, RR/AA também estão correlacionados com um melhor desempenho em atividades esportivas aeróbicas. Devido a isso, os valores de razão observados para as combinações XX/AG (OR=4,67) e XX/GG (OR=2,50) estão de acordo com o esperado. Adicionalmente, levando em consideração o valor de OR da combinação XX/AG, que foi o valor mais elevado encontrado na presente análise, e as combinações RR/AA, RX/AA e XX/AA, que mesmo não sendo consideradas significativas, corroboram a tendência dos genótipos XX e AA contribuírem para um maior valor de VO₂ máx. Como pode ser observado na figura 5, quando incluímos as informações dos dois *loci*, contribui consideravelmente para aumentar o poder de discriminação entre os grupos de jogadores.

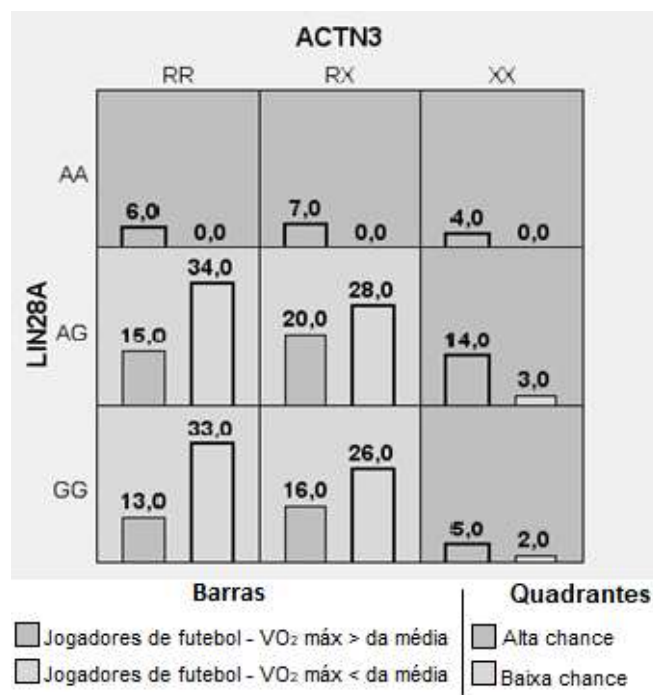


Figura 5A: Análise de interação gene-gene entre os polimorfismos LIN28A A/G e ACTN3 R577X da amostra de jogadores de futebol.

Descrição: Distribuição de jogadores e não jogadores de futebol de acordo com as classes genóticas para A) o modelo de interação dos polimorfismos ACTN3 R577X e LIN28A A/G; e para B) o modelo sem interação (apenas ACTN3 R577X). Imagem obtida através do Software MDR 3.0.2 (v 2). Os quadrantes foram classificados como de alta chance se a razão de casos para controles $\geq 0,7937$, e de baixa chance, se a razão $< 0,7937$

Fonte: Elaborado pelo autor.

Podemos observar na Figura 5, como a inclusão do polimorfismo LIN28A A/G que a razão observada para o genótipo XX no modelo sem interação foi de 4,6 (Figura 5B). No modelo de interação, observamos razões de XX/AG (OR=4,67), XX/GG (OR=2,50) (Figura 5A), evidenciando que o genótipo GG contribui para gerar um valor de razão inferior.

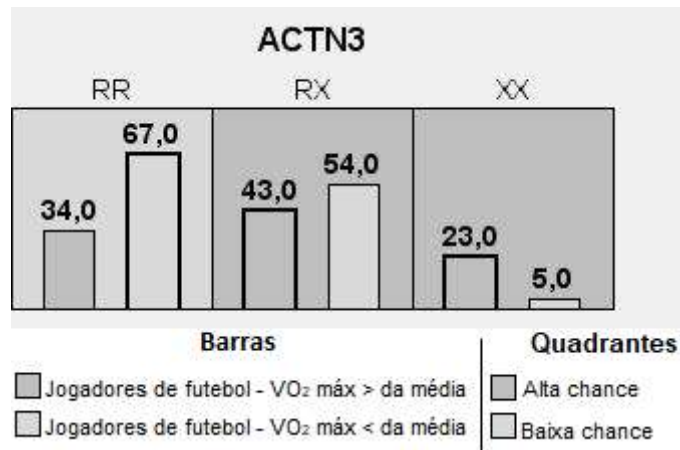


Figura 5B: Análise de interação gene-gene considerando apenas o polimorfismo ACTN3 R577X da amostra de jogadores de futebol.

Descrição: Distribuição de jogadores e não jogadores de futebol de acordo com as classes genotípicas no modelo do polimorfismo ACTN3 R577X, de acordo com os resultados da análise feita no Software MDR 3.0.2 (v 2). Os quadrantes foram classificados como de alta chance se a razão de casos para controles $\geq 0,7937$, e de baixa chance, se a razão $< 0,7937$.

Fonte: Elaborado pelo autor

4.2.5 Análise de interação gênica entre os polimorfismos ACE-I/D, ACTN3 R577X e LIN28A A/G

Após realizar as análises de interação gene-gene separadamente entre os polimorfismos ACE-I/D, ACTN3 R577X e LIN28A A/G e identificar que em todas as análises eles apresentaram interação buscou-se verificar se os polimorfismos dos 3 genes, possuíam todos, em conjunto, interação gênica.

Primeiramente, foi realizada a análise de interação gênica entre os genótipos de cada um dos três polimorfismos ACE-I/D, ACTN3 R577X e LIN28A A/G e foi observada interação gênica.

O melhor modelo para prever performance esportiva foi composto pelos polimorfismos ACE-I/D, ACTN3 R577X e LIN28A A/G. Este modelo apresentou um TrBA de 0,7319, um TBA de 0,7089, um CVC de 10/10 e um valor de $p < 0,0001$ (Quadro 9). Este resultado sugere, portanto, que combinações genotípicas específicas nos *loci* ACE-I/D, ACTN3 R577X e LIN28A A/G, como ID/XX/AG, ID/XX/GG, DD/RX/GG, DD/RX/AG estão mais presentes na amostra de jogadores de futebol que possui valor de VO₂ máx acima da média.

Modelo	TrBA	TBA	CVC	p-value
ACTN3 R577X	0,5996	0,558	10/10	0,0004
ACTN3 R577X * ACE-I/D	0,6808	0,6808	10/10	< 0,0001
ACTN3 R577X * ACE-I/D LIN28A A/G	0,7319	0,7089	10/10	< 0,0001

Quadro 9: Resultado dos modelos de interação dos polimorfismos ACE-I/D, ACTN3 R577X e LIN28A A/G da amostra de jogadores futebol. Análise desenvolvida no Software MDR 3.0.2 (v 2).

Fonte: Elaborado pelo autor.

Dado que a razão esperada foi 0,7937 os maiores desvios observados ocorreram para as combinações genóticas ID/XX/AG (OR=5,00), ID/XX/GG (OR= 2,5), DD/RX/GG (OR=2,40). Também foram associados com valores de VO₂ máx acima da média, os genótipos DD/RX/AG (OR=1,60), II/RR/AG (OR=1,25), II/RR/GG (OR=0,83).

As combinações genóticas DD/XX/AG e II/XX/AG também tiveram valor de razão observada superior ao de razão esperada, porém foram pouco frequentes na nossa amostra e, portanto, foram desconsiderados.

Levando em consideração que os genótipos II, XX e AA isoladamente foram associados a um melhor desempenho em atividades esportivas aeróbicas, os valores de razão observados para as combinações ID/XX/AG (OR=5,00), ID/XX/AG (OR= 2,5), obteve melhor resultado, conforme pode ser visualizado na figura 6A, onde o modelo levando em consideração apenas o ACTN3 R577X teve razão de XX (OR=3,8) e o que tinha o ACE-I/D, ACTN3 R577X razão para ID,XX (OR=3,75), reforçando assim a evidência, de que quando adiciona-se a informação dos três loci, contribui consideravelmente para aumentar o poder de discriminação entre os grupos de jogadores.

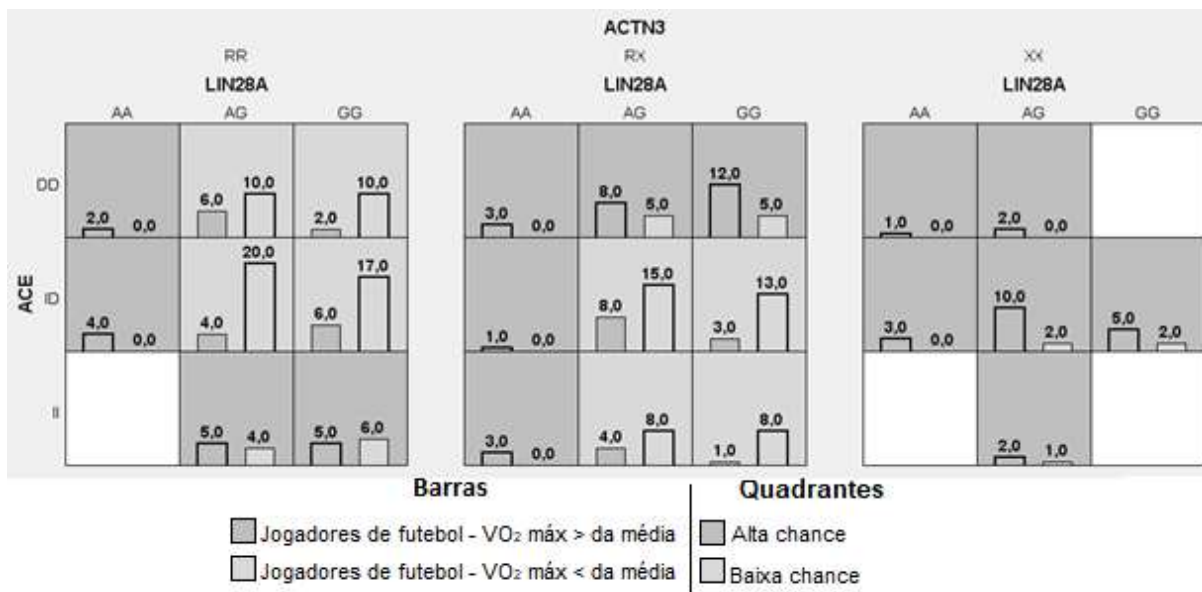


Figura 6A: Análise de interação gene-gene entre os polimorfismos ACE-I/D, ACTN3 R577X e LIN28A A/G da amostra de jogadores de futebol.

Descrição: Distribuição de jogadores e não jogadores de futebol de acordo com as classes genóticas para A) o modelo de interação dos polimorfismos ACE-I/D, ACTN3 R577X e LIN28A A/G; e para B) o modelo sem interação (apenas ACTN3 R577X e ACE-I/D, ACTN3 R577X). Imagem obtida através do Software MDR 3.0.2 (v 2). Os quadrantes foram classificados como de alta chance se a razão de casos para controles $\geq 0,7937$, e de baixa chance, se a razão $< 0,7937$

Fonte: Feito pelo autor.

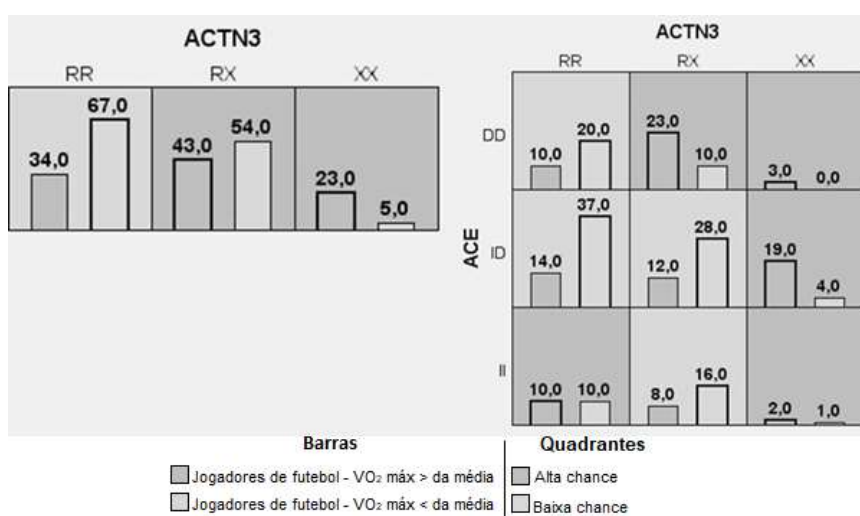


Figura 6B: Análise de interação gene-gene considerando apenas o polimorfismo ACTN3 R577X e do ACE-I/D da amostra de jogadores de futebol.

Descrição: Distribuição de jogadores e não jogadores de futebol de acordo com as classes genóticas nos modelos dos polimorfismos ACTN3 R577X e do ACE-I/D, de acordo com os resultados da análise feita no Software MDR 3.0.2 (v 2). Os quadrantes foram classificados como de alta chance se a razão de casos para controles $\geq 0,7937$, e de baixa chance, se a razão $< 0,7937$.

Fonte: Feito pelo auto

5 CONCLUSÃO

No presente trabalho, observamos a presença de interação gênica entre os polimorfismos ACE-I/D e ACTN3 R577X ao compararmos jogadores de futebol brasileiros e não jogadores. Este foi o primeiro trabalho a avaliar a presença de interação gênica entre os genes *ACTN3*, *ACE* e *LIN28A* com relação à *performance* esportiva. Em conjunto, nossos resultados sugerem que polimorfismos associados de forma individual com performance esportiva, como ACE-I/D, ACTN3 R577X e LIN28A A/G, interagem para a modulação do desempenho de jogadores de futebol de elite e têm, portanto, potencial para serem aplicados na medicina esportiva. Os *loci* aqui investigados têm o potencial de serem utilizados em um painel de marcadores moleculares que poderia auxiliar os clubes de futebol a tomar decisões informadas sobre o planejamento de treinos, jogos, descansos e prevenção de lesões, potencializando assim a chance de vantagem competitiva num esporte que é tão disputado, como é o futebol. Portanto, de acordo com o presente estudo, os indivíduos ID/XX/AG (OR=5,00), ID/XX/GG (OR= 2,5), DD/RX/GG (OR=2,40), podem apresentar melhor perfil de treinamento específico de resistência aeróbia. Além disso, é possível monitorar o estresse (dano) quando os atletas sofrem os mesmos estímulos, sendo então a junção desses conhecimentos, capaz de fornecer uma informação mais acertiva sobre os jogadores, que pode ser utilizada pela comissão técnica e departamento médico para que seja feito cronogramas de treinamento e descansos que respeitem a individualidade biológica dos atletas. Porém, é importante ressaltar que o desempenho em esportes coletivos é um fator multifatorial e não necessariamente atletas que possuem combinações genotípicas diferentes das citadas acima, terão um desempenho aeróbico inferior.

6 PERSPECTIVAS

Após observar interação gênica entre os polimorfismos ACE-I/D, ACTN3 R577X e LIN28A na amostra de jogadores de futebol brasileiros, seria interessante, em futuros trabalhos, compreender os mecanismos que geram tal interação. Isso pode ser feito através de uma metodologia que inicialmente mapeia-se os possíveis mecanismos de co-atuação, se é através da mesma via bioquímica, se é por uma interação entre as proteínas e verifica-se há interação gênica devido a esses fatores. A interação também pode ser comprovada através da análise do fenótipo em cobaias animais após uma manipulação genética para expressão ou deleção dos genes investigados (ELBAU; CRUCEANU; BINDER, 2019).

Além disso, seria interessante confirmar se o resultado desse estudo também pode ser encontrado em outras amostras, contendo indivíduos de diferentes etnias e se esse perfil de interação também está presente em outros esportes, pois os polimorfismos ACE-I/D, ACTN3 R577X e LIN28A estão associados não só a performance esportiva no futebol, como também em outras modalidades.

Os polimorfismos ACE-I/D, ACTN3 R577X e LIN28A também estão correlacionados a fatores além da performance esportiva aeróbia (VO_2 máx acima da média), como performance esportiva anaeróbica e resposta inflamatória, sendo assim relevante analisar a interação gênica também com relação a esses fenótipos, através da análise de testes de força e de dano muscular, respectivamente.

Ademais, seria pertinente analisar a interação gênica com outros polimorfismos que venham a ser relacionados com performance esportiva e fatores ambientais, tais como os polimorfismos da PPAR α , IL-6, MSTN e AGT.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

CHUNG, Y. et al. Odds ratio based multifactor-dimensionality reduction method for detecting gene - Gene interactions. **Bioinformatics**, v. 23, n. 1, p. 71–76, 2007.

COELHO, D. B. Determinação da frequência genotípica do ACTN3 e da sua relação com desempenho físico, respostas hormonais e indicadores do dano muscular em jogadores de futebol. **Tese de Doutorado Universidade Federal de Minas Gerais - Programa de Pós-graduação em Ciências do Esporte da Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional**, p. 115, 2011.

COELHO, D. B. et al. Intensidade de jogos de futebol de uma competição real e entre jogadores de diferentes posições táticas. DOI: 10.5007/1980-0037.2011v13n5p341. **Revista Brasileira de Cineantropometria e Desempenho Humano**, v. 13, n. 5, p. 341–347, 29 ago. 2011.

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

COELHO, D. B. et al. Alpha-Actinin-3 R577X Polymorphism Influences Muscle Damage and Hormonal Responses After a Soccer Game. **Journal of Strength and Conditioning Research**, v. 33, n. 10, p. 2655–2664, out. 2019.

COELHO, D. B. et al. Polymorphism of the angiotensin converting enzyme gene (ACE-I/D) differentiates the aerobic and speed performance of football players. **The Journal of sports medicine and physical fitness**, 17 mar. 2021.

DOCHERTY, C. K.; SALT, I. P.; MERCER, J. R. Lin28A induces energetic switching to glycolytic metabolism in human embryonic kidney cells. **Stem Cell Research and Therapy**, v. 7, n. 1, p. 1–9, 2016.

ELBAU, I. G.; CRUCEANU, C.; BINDER, E. B. Genetics of Resilience: Gene-by-Environment Interaction Studies as a Tool to Dissect Mechanisms of Resilience. **Biological Psychiatry**, v. 86, n. 6, p. 433–442, set. 2019.

FERNÁNDEZ-TORRES, J. et al. Epistasis of polymorphisms related to the articular cartilage extracellular matrix in knee osteoarthritis: Analysis-based multifactor dimensionality reduction. **Genetics and Molecular Biology**, v. 43, n. 2, p. 1–10, 2020.

GEORGIADES, E. et al. Why nature prevails over nurture in the making of the elite athlete. **BMC Genomics**, v. 18, n. S8, p. 835, 14 nov. 2017.

GILBERT-DIAMOND, D.; MOORE, J. H. Analysis of Gene-Gene Interactions. In: **Current Protocols in Human Genetics**. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., 2011. v. 23p. 1–7.

GINEVICIENE, V. et al. Variation in the ACE , PPARGC1A and PPARA genes in Lithuanian football players. **European Journal of Sport Science**, v. 14, n. sup1, p. S289–S295, 31 jan. 2014.

HAHN, L. W.; RITCHIE, M. D.; MOORE, J. H. Multifactor dimensionality reduction software for detecting gene-gene and gene-environment interactions. **Bioinformatics**, v. 19, n. 3, p. 376–382, 2003.

JACOB, Y.; CHIVERS, P.; ANDERTON, R. S. Genetic predictors of match performance in sub-elite Australian football players: A pilot study. **Journal of Exercise Science & Fitness**, v. 17, n. 2, p. 41–46, maio 2019.

JONES, A.; MONTGOMERY, H. E.; WOODS, D. R. Human Performance: A Role for the ACE Genotype? **Exercise and Sport Sciences Reviews**, v. 30, n. 4, p. 184–190, out. 2002.

KANOPE, T. et al. Is lin28a polymorphism associated with endurance performance in soccer players? **Sport Sciences for Health**, n. 0123456789, 8 jul. 2021.

KRAVCHYCHYN, A. C. P. et al. Comparação entre os métodos direto e indireto de determinação do VO₂máx de praticantes de corrida. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 21, n. 1, p. 17–21, 2015.

LINNEMANN, A. et al. The sarcomeric Z-disc component myopodin is a multiadapter protein that interacts with filamin and α -actinin. **European Journal of Cell Biology**, v. 89, n. 9, p. 681–692, 2010.

- MACARTHUR, D. G.; NORTH, K. N. A gene for speed? The evolution and function of alfa-actinin-3. **BioEssays**, v. 26, n. 7, p. 786–795, jul. 2004.
- MACARTHUR, D. G.; NORTH, K. N. Genes and human elite athletic performance. **Human Genetics**, v. 116, n. 5, p. 331–339, 22 abr. 2005.
- MAGALHÃES, M. W. B. et al. Estudo comparativo do volume de oxigênio máximo entre diferentes modalidades esportivas. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 11, p. e231101118501, 2021.
- MANI, R. et al. Defining genetic interaction. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 105, n. 9, p. 3461–3466, 4 mar. 2008.
- MARTH, G. T. et al. A general approach to single-nucleotide polymorphism discovery. **Nature Genetics**, v. 23, n. 4, p. 452–456, 1999.
- MCAULEY, A. B. T. et al. Genetic association research in football: A systematic review. **European Journal of Sport Science**, v. 0, n. 0, p. 1–39, 2020.
- MILLER, S. A.; DYKES, D. D.; POLESKY, H. F. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. **Nucleic Acids Research**, v. 16, n. 3, p. 1215–1215, 1988.
- MILLS, M. Differential expression of the actin-binding proteins, alpha-actinin-2 and -3, in different species: implications for the evolution of functional redundancy. **Human Molecular Genetics**, v. 10, n. 13, p. 1335–1346, 1 jun. 2001.
- NORTH, K. N. et al. A common nonsense mutation results in α -actinin-3 deficiency in the general population. **Nature Genetics**, v. 21, n. 4, p. 353–354, abr. 1999.
- PARDO PÉREZ, E.; CAVADÍA MARTÍNEZ, T. I.; CRUZ CANTERO, A. E. Diversidad genética en humanos mediante polimorfismos de inserción de Alu en la población de San Pelayo, Córdoba (Colombia). **Revista Logos, Ciencia & Tecnología**, v. 11, n. 2, p. 86–92, 30 nov. 2019.
- PHILLIPS, P. C. Epistasis — the essential role of gene interactions in the structure and evolution of genetic systems. **Nature Reviews Genetics**, v. 9, n. 11, p. 855–867, nov. 2008.
- PIMENTA, E. M. et al. The ACTN3 genotype in soccer players in response to acute

eccentric training. **European Journal of Applied Physiology**, v. 112, n. 4, p. 1495–1503, 2012.

PIMENTA, E. M. et al. Effect of ACTN3 Gene on Strength and Endurance in Soccer Players. **Journal of Strength and Conditioning Research**, v. 27, n. 12, p. 3286–3292, dez. 2013.

PUTHUCHEARY, Z. et al. The ACE Gene and Human Performance. **Sports Medicine**, v. 41, n. 6, p. 433–448, jun. 2011.

REILLY, T. Energetics of high-intensity exercise (soccer) with particular reference to fatigue. **Journal of Sports Sciences**, v. 15, n. 3, p. 257–263, jan. 1997.

RIEDER, M. J. et al. Sequence variation in the human angiotensin converting enzyme. **Nature Genetics**, v. 22, n. 1, p. 59–62, 1999.

RIENZI, E. et al. Investigation of anthropometric and work-rate profiles of elite South American international soccer players. **The Journal of sports medicine and physical fitness**, v. 40, n. 2, p. 162–9, jun. 2000.

RITCHIE, M. D. et al. MDR: reveals high-order interactions among estrogen-metabolism genes in sporadic breast cancer. **Am. J. Hum. Genet**, v. 69, p. 138–147, 2001.

RITCHIE, M. D.; HAHN, L. W.; MOORE, J. H. Power of multifactor dimensionality reduction for detecting gene-gene interactions in the presence of genotyping error, missing data, phenocopy, and genetic heterogeneity. **Genetic Epidemiology**, v. 24, n. 2, p. 150–157, fev. 2003.

RITCHIE, M. D.; MOTSINGER, A. A. Multifactor dimensionality reduction for detecting gene–gene and gene–environment interactions in pharmacogenomics studies. **Pharmacogenomics**, v. 6, n. 8, p. 823–834, dez. 2005.

ROUSSET, F. genepop'007: a complete re-implementation of the genepop software for Windows and Linux. **Molecular Ecology Resources**, v. 8, n. 1, p. 103–106, jan. 2008.

ROWOLD, D. J.; HERRERA, R. J. Alu elements and the human genome. **Genetica**, v. 108, n. 1, p. 57–72, 2000.

SARMENTO, H. et al. Match analysis in football: a systematic review. **Journal of Sports Sciences**, v. 32, n. 20, p. 1831–1843, 2014.

SARMENTO, H. et al. What Performance Analysts Need to Know About Research Trends in Association Football (2012–2016): A Systematic Review. **Sports Medicine**, v. 48, n. 4, p. 799–836, 14 abr. 2018.

SARMENTO, H. et al. Genetic influence on football performance: A systematic review. **Human Movement**, v. 21, n. 4, p. 1–17, 2020.

SCOTT, W.; STEVENS, J.; BINDER–MACLEOD, S. A. Human Skeletal Muscle Fiber Type Classifications. **Physical Therapy**, v. 81, n. 11, p. 1810–1816, 1 nov. 2001.

SHYH-CHANG, N.; DALEY, G. Q. Lin28: Primal Regulator of Growth and Metabolism in Stem Cells. **Cell Stem Cell**, v. 12, n. 4, p. 395–406, abr. 2013.

SILVA, C. D. DA et al. Yo-Yo IR2 test e teste de margaria: validade, confiabilidade e obtenção da frequência cardíaca máxima em jogadores jovens de futebol. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 17, n. 5, p. 344–349, out. 2011.

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

WISLOFF, U.; HELGERUD, J.; HOFF, J. Strength and endurance of elite soccer players. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 30, n. 3, p. 462–467, mar. 1998.

ZHANG, J. et al. LIN28 Regulates Stem Cell Metabolism and Conversion to Primed Pluripotency. **Cell Stem Cell**, v. 19, n. 1, p. 66–80, jul. 2016.