



## FREQÜÊNCIA GENOTÍPICA DA ALFA ACTININA 3 (ACTN 3) E ENZIMA CONVERSORA (ECA) EM NADADORES DO ESTADO DO PARANÁ.

Tatianna Bobroff Daros (GB Academia), Antonio Carlos Dourado (UEL-SEET),  
Daniele Sartori (UEL), Raul Osiecki (UFPR), Larissa Bobroff Daros (UNICENTRO)

---

### RESUMO

O estudo teve como objetivo analisar a distribuição Genotípica da ACTN3 e ECA em nadadores do Paraná. A amostra foi composta por 15 atletas (Masculino n=8 e Feminino n=7) com média de idade 15,47 anos. A amostra de DNA foi retirada de 4ml de sangue por meio da veia antecubital. A genotipagem do polimorfismo R577X do gene *ACTN3* foi realizada com o uso de sonda do tipo TaqMan, ID rs1815739 (Applied Biosystems, Foster city, CA,USA). A genotipagem do polimorfismo da ECA I/D foi realizada por reação em cadeia da polimerase (PCR), sendo que a visualização ocorreu por meio da eletroforese. Para o Genótipo ACTN3 foi encontrado no gênero feminino RR (14,3%), RX (42,8%) e XX (42,8%), no gênero masculino encontrou-se para RR (12,5%), RX (50%) e XX(37,5%). Para o Genótipo ECA foi encontrado no gênero feminino DD (14,3%), DI (71,4%) e II (14,3%), no gênero masculino foi encontrado para DD (25%), DI (50%) e II (25%). Conclui-se que pode verificar que no genótipo da ACTN3 para o gênero feminino houve um percentual igual para RX e XX. Para o gênero masculino predominantemente o gene RX. Em relação ao gene ECA houve uma predominância no DI em ambos os gêneros.  
Palavras-chave: polimorfismo; genótipos; desempenho físico.

---

### INTRODUÇÃO

A  $\alpha$  actinina-3 (ACTN 3) é um dos mais examinados e discutido gene estrutural na ciência do esporte. A ACTN3 são proteínas miofibrilares localizadas no disco Z, importante no ancoramento dos miofilamentos de actina e manutenção do arranjo miofibrilar. Esta 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 contração rápidas e intensas, como em atividades de sprint e levantamento de peso.

O gene ACTN3 localiza-se no cromossomo 11q13-q14 e foi clonado por Beggs et al (1992). Posteriormente, um polimorfismo funcional do gene ACTN3 foi identificado em humanos por North et al (1999). O polimorfismo, definido pela troca entre Citosina e Timina na posição do 1747do 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 á ausência de detecção da proteína em indivíduos homocigotos para o alelo X(North et al.,1999), provavelmente porque a proteína truncada é rapidamente degradada pelo organismo (MacArthur & North, 2004). Apesar da freqüência dos alelos diferir entre populações, estima-se que aproximadamente 16% a 21% da população seja homocigotos para o polimorfismo não-funcional, XX. (North et al., 1999; Mills et al., 2001; MacArthur & North, 2007; Moran et al., 2007; Pararini et al., 2007).

O polimorfismo da Enzima Conversora da Angiotensina (ECA) foi a primeira variante genética a ser associada com o desempenho físico humano por Montgomery et al. (1998) que demonstraram maior e menor frequência dos alelos I e D, respectivamente, em montanhistas, quando comparados ao controle e ainda uma maior resposta a um teste de “endurance” muscular localizada pós- treinamento no genótipo II quando comparados aos outros genótipos (ID e DD). Desde então o polimorfismo do ECA ganhou atenção dos pesquisadores da área da atividade física e do esporte. O gene humano que codifica a ECA está localizado no cromossomo 17 (q22-24) e apresenta polimorfismo que consiste na ausência (deleção, D) ou presença (inserção I) de 287 pares de base íntron 16 (Rigat et al., 1990). O estudo teve como objetivo analisar a distribuição Genotípica da ACTN3 e ECA em nadadores do estado do Paraná.

## METODOLOGIA

Este estudo tem como objetivo analisar a frequência genotípica da ACTN3 e ECA em nadadores do estado do Paraná. Participaram do estudo 15 atletas de natação. Os atletas foram selecionados como os melhores atletas do Estado do Paraná de acordo com a Federação Paranaense de Desportos Aquáticos (FDAP).

Para a realização da análise dos polimorfismos genético ACTN3 e ECA, um profissional de enfermagem realizou a coleta da amostra sanguínea (4 ml) de todos os participantes do estudo por meio da veia antecubital. O material biológico foi colhido em tubos estéreis a vácuo contendo EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético). As amostras foram analisadas em um laboratório de genética Toxicológica, à temperatura de 4<sup>o</sup> C e mantidas nesta mesma temperatura por 24 horas, para separação de células mononucleares do sangue periférico (PBMC).

A genotipagem do polimorfismo R577X do gene *ACTN3* foi realizada com o uso de sonda do tipo TaqMan, ID rs1815739 (Applied Biosystems, Foster city, CA, USA). Para análise do polimorfismo da ECA (I/D) seguiu-se o estudo realizado por Lindpaintner, K. et al (1995), onde os alelos I e D foram identificados com base na amplificação da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) amplificando os respectivos fragmentos no íntron 16 do gene da ECA e fracionando a amostra, sendo que a visualização ocorreu por eletroforese.

Este estudo foi aprovado pelo comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual de Londrina (UEL). (Registro CONEP 5231).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pode-se observar na tabela 1 a distribuição do número de sujeitos que compõe a amostra.

Tabela 1 – Características descritivas dos 15 sujeitos da amostra

	Média	±DP	Mínimo	Máximo
Idade (anos)	15,47	±1,36	13	18
Peso (KG)	66,73	±8,23	53	83,9
Estatuta (cm)	1,71	±0,07	1,59	1,81

Massa Magra(%)	85,63	±4,95	76,4	91,7
Massa Gorda (%)	14,37	±4,95	8,3	23,6

Os 15 sujeitos da amostra apresentam características de: idade média foi de 15,47 anos, o peso de 66,73 kg a estatura média foi de 1,71cm, o percentual da massa magra foi de 85,63 e da massa gorda foi de 14,37. Com isso pode-se dizer que amostra é de jovens atletas.

Na tabela 2 e 3 verifica-se a distribuição Genotípica individual em nadadores em relação à prova específica.

Tabela 2 – Genótipos Individuais da ACTN3 e ECA para Gênero Feminino

Atletas	ACTN3	ECA	Prova
1	XX	DI	50 e 100 livre
2	RX	II	50 livre
3	RX	DI	50 e 100 livre
4	RX	DI	100/200 peito-200/400 medley
5	XX	DI	200/400 livre
6	RR	DD	50/100 e 200 livre
7	XX	DI	meia maratona (5km)

Na tabela 2 em relação ao genótipo individual da ACTN3 e ECA para o Gênero Feminino obtivemos os resultados:

O atleta 1 apresenta genótipo da ACTN3 é XX caracterizando preferência pela resistência e o genótipo da ECA é DI caracterizando força e potência, de acordo com sua prova 50 e 100 livre o genótipo ECA assemelha-se. O atleta 2 tem o genótipo da ACTN3 é RX caracterizando preferência de força e potência e o genótipo ECA é II caracterizando resistência, de acordo com a prova 50 livre o genótipo da ACTN3 assemelha-se. Os atletas 3 e 4 apresentam o genótipo da ACTN3 são RX caracterizando força e potência e o genótipo ECA são DI também de força e potência, suas provas respectivamente são 50 e 100 livre assemelhando-se. E o atleta 4 com sua prova 100 e 200 peito/ 200 e 400 medley também assemelha-se à sua prova. O atleta 5 com genótipo ACTN3 é XX predominando resistência e genótipo da ECA é DI caracterizando força e potência, de acordo com sua prova de 200/400 livre o genótipo da ACTN3 assemelha-se. O atleta 6 e seu genótipo ACTN3 é RR predominando força e potência e o genótipo ECA é DD também de força e potência, sendo 50, 100 e 200 livre sua prova os dois genótipos assemelha-se a prova. Para o atleta 7, o genótipo ACTN3 é XX predominando resistência e o genótipo ECA é DI predomínio força e potência, de acordo com sua prova meia maratona o genótipo da ACTN3 assemelha-se. Verificamos que na maioria dos casos que as características de provas estão estreitamente relacionada com o polimorfismo.

Tabela 3 – Genótipos Individuais da ACTN3 e ECA para Gênero Masculino

<b>Atletas</b>	<b>ACTN3</b>	<b>ECA</b>	<b>Prova</b>
1	RX	DI	50 livre, 50 e 100 costas
2	RX	DI	100 borboleta
3	RX	DD	1500 livre
4	RR	DD	200 borboleta
5	XX	DI	100 costas
6	XX	II	100m borboleta
7	RX	DI	Maratona Aquática (10 km)
8	XX	II	100/ 200 costas

Na tabela 3 em relação ao genótipo individual da ACTN3 e ECA para o Gênero Masculino obtivemos os resultados:

Os atleta 1 e 2 tem genótipo da ACTN3 é RX predominando força e potência e o genótipo da ECA é DI também caracterizando força e potência suas provas respectivamente 50 livre/ 50 e 100 costas sendo que os dois genótipos assemelham-se as provas. O atleta 2 que nada 100 borboleta também os dois genes assemelham-se às provas. O atleta 3 apresenta o genótipo da ACTN3 é RX caracterizando força e potência e o genótipo da ECA é DD também caracterizando força e potência, de acordo com o gene que o atleta apresenta não corresponde à sua prova de 1.500m. O atleta 4 com genótipo da ACTN3 é RR caracterizando força e potência e o genótipo da ECA é DD, também caracterizando força e potência, de acordo com sua prova 200 borboleta os dois genes assemelham-se à sua prova. No atleta 5 temos o genótipo da ACTN3 é XX caracterizando resistência e o genótipo da ECA é DI caracterizando força e potência, de acordo com sua prova 100 costas o gene da ECA, assemelha-se à sua prova. Nos atleta 6 e 8 encontramos o genótipo da ACTN3 é XX caracterizando resistência e o genótipo da ECA é II caracterizando resistência, o atleta 6 sua prova é 100 borboleta, portando nenhum gene assemelha-se à sua prova. E o atleta 8 sua prova é 100/200 costas, também nenhum gene assemelha-se à sua prova. No atleta 7 o genótipo da ACTN3 é RX caracterizando força e potência e o genótipo da ECA é DI caracterizando força e potência, de acordo com sua prova que é maratona aquática nenhum gene assemelha-se.

Sabe-se que provas de natação de 50,100e 200 livre são provas de força e potência, enquanto provas como meia maratona e maratona aquáticas são provas de resistência. Pode-se verificar que a atleta feminino 6 e o masculino 4 são homozigotos, apresentando características de força e potência e conseqüentemente competem em provas com as mesmas características.

Tabela 4 – Frequência Genotípica Feminino (F) e Masculino (M) da ACTN3 e da ECA

<b>Genótipo ACTN3, n (%)</b>	<b>Genótipo ECA, n (%)</b>
------------------------------	----------------------------

Gênero	RR	RX	XX	DD	DI	II
F (n=7)	1 (14,3%)	3 (42,8%)	3 (42,8%)	1 (14,3%)	5 (71,4%)	1 (14,3%)
M (n=8)	1 (12,5%)	4 (50%)	3 (37,5%)	2 (25%)	4 (50%)	2 (25%)

Na tabela 4 verificou-se a freqüência Genotípica Feminino e Masculino da ACTN3 e ECA. Verificando uma predominância para o dimorfismo heterozigótico em ambos os sexos entre os genes da ACTN3 e da ECA em percentuais, exceto para a ACTN3 no sexo feminino.

Wang et al (2012) avaliou nadadores asiáticos e europeus caucasianos com o genótipo da ECA com os seguintes resultados para os europeus caucasianos (n=200) DD= 35%, DI=43% e II=22% houve uma semelhança com o percentual encontrado e para os asiáticos (n=326) os resultados foram DD=9%, DI=42% e II=49% no qual não houve semelhança com os resultados obtidos no presente estudo.

Em estudo realizado com atletas turcos não-elite (n=88) com o genótipo da ECA apresentou os valores de DD=38,60%, DI=40,90 e II=20,50 (Cam et al, 2005) mostrando uma concentração maior no gene DD e DI. Nesse estudo a predominância no genótipo ECA obteve uma maior concentração no gene DI.

## CONCLUSÃO

Como conclusão desse estudo pode verificar que no genótipo da ACTN3 para o gênero feminino houve um percentual igual para RX e XX. Para o gênero masculino predominantemente o gene RX. Em relação ao gene ECA houve uma predominância no DI em ambos os gêneros. Em função do n analisado são necessários mais estudos relacionando os genes estudados com a natação.

---

### GENOTYPIC FREQUENCY OF ALFA ACTININ 3 (ACTN 3) AND CONVERTING ENZYME (ACE) IN THE STATE OF PARANÁ SWIMMERS.

#### ABSTRACT

The aim of this study was to identify the association between ACTN3 (R577X) and ACE (I/D) gene polymorphisms and athletic performance type (endurance, speed/power and mixed). The sample consisted of 15 swimmers (7 men and 8 women) with mean age of 15.47 years  $\pm$  1.36. We studied 1 sports; all athletes were chosen from the best in their Federation Aquatics Sports of the State of Paraná. DNA samples were withdrawn from 4ml of blood from the median cubital vein. Genotyping of the ACTN3 – R577X gene polymorphism were performed using a TaqMan probe ID rs1815739 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA ). Genotyping of the ACE I / D polymorphism were performed by polymerase chain reaction (PCR), followed by visualization by electrophoresis. The physical tests were vertical jumps (Squat Jump, Jump and Countermovement Jump with help of the arms), speed in the 30m sprint (in seconds) and maximum oxygen consumption (VO<sub>2</sub>max).

Key-words: Polymorphisms, Genotypes, Physical performance.

---

## REFERÊNCIAS

BEGGS A.H., BYERS T.J., KNOLL J.H., BOYCE F.M., BRUNS G.A., KUNKEL L.M.(1992) Cloning and characterization of two human skeletal muscle alpha-actinin genes located on chromosomes 1 and 11. *J Biol Chem* 26, 9281-9288.

CAM, F.S., COLAKOGLU, M., SEKURI, C., COLAKOGLU, S., SAHAN, Ç. AND BERDELI, A. (2005) Association Between the ACE I/D Gene Polymorphism and Physical Performance in a Homogeneous Non-Elite Cohort. *Can. J. Appl. Physiol.* 30(1): 74-86.

MACARTHUR D.G., NORTH K.N. (2004) A gene for speed? The evolution and function of  $\alpha$ -actinin-3. *BioEssays* 26, 786–795.

MILLS M., YANG N., WEINBERGER R., VANDER WOUDE D.L., BEGGS A.H., EASTEAL 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.

MONTGOMERY H.E, MARSHALL R, HEMINGWAY H, MYERSON S, CLARKSON P, DOLLERY C, et al. (1998) Human gene for physical performance. *Nature* 393:221–222.

MORAN C.N., YANG N., BAILEY M.E., TSIOKANOS A., JAMURTAS A., MACARTHUR D.G., NORTH K., PITSILADIS Y.P. WILSON R.H. (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.

NORTH K.N., YANG N., WATTANASIRICHAIGOON D., MILLS M., EASTEAL S., BEGGS A.H. (1999) A common nonsense mutation results in alpha-actinin-3 deficiency in the general population. *Nat Genet* 21: 353-354.

PAPARINI, A., RIPANI, A.M., GIORDANO, G.D., et al (2007) ACTN3 Genotyping by Real-Time PCR in the Italian Population and Athletes. *Med. Sci. Sports Exerc.* 39: 810-815.

RIGAT, B. et al. (1990) An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. *J Clin Invest*, 86 (4), 1343 – 1346.

WANG, G., MIKAMI, E., CHIU, L., et al (2013) Association Analysis os ACE and ACTN3 in elite Caucasian and East Asian Swimmers. *Med. Sci. Sports Exerc.* 45 (5): 892 – 900.