

13ª JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

GENÉTICA

DETERMINAÇÃO DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS E SUA INFLUÊNCIA NA PERFORMANCE FÍSICA

1Camila Simeão Fernandes Moça (PIBIC/CNPQ); 1Luiz Claudio Cameron (orientador) ; 1Claudia A. F. Aiub(co – orientadora).

1- Departamento de Genética e Biologia Molecular – DGBM, Laboratório de Genotoxicidade, Instituto Biomédico –IB, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro - UNIRIO

Apoio financeiro: FAPERJ

Palavras Chave: polimorfismo, força muscular, resistência, alta performance.

INTRODUÇÃO

O fenômeno da performance física humana em modalidades esportivas específicas sempre foi alvo de interesse de especialistas em medicina desportiva e fisiologistas do exercício. Esses profissionais confirmavam níveis outline de performance de seus atletas a partir de análises morfológicas e funcionais, com técnicas histoquímicas, dosagens bioquímicas e análise de parâmetros cardiopulmonares. Acreditava-se que altos níveis de performance de atletas eram decorrentes de treinamento e acompanhamento nutricional específicos, essenciais para o desenvolvimento das características dos atletas de elite. No entanto, fatores ambientais, por si sós, se mostraram, ao longo do tempo, insuficientes para caracterizar um fenótipo de status em performance física humana. A partir de então surgiu o interesse por um terceiro fator determinante desse complexo fenótipo para a aptidão física, isto é, a predisposição genética que, se não o mais importante, tem grandes implicações na caracterização do indivíduo como um atleta de destaque.

As diferenças genéticas baseadas em polimorfismos, com potencial em afetar a aptidão e a performance física humana, começaram a ser investigadas nos anos de 1990 (Rankinen et al., 2000).

Um fenótipo bem caracterizado em atletas de diferentes modalidades é o tipo de fibra da musculatura esquelética. Em adultos, esse fenótipo é determinado pela expressão de três genes distintos que, quando transcritos e traduzidos, codificam isoformas de cadeia pesada da miosina (MHC), determinando, em parte, a distribuição percentual dos diferentes tipos de fibra no músculo (Simoneau & Bouchard, 1995). Essa distribuição constitui-se num dos fatores determinantes da performance em modalidades esportivas.

Independente da heterogeneidade e da distribuição das diferentes fibras na musculatura esquelética, a contração muscular é dependente da interação das proteínas miofibrilares miosina e actina (Scott et al., 2001). A organização estrutural e a manutenção do aparato muscular contrátil são dependentes ainda de complexos proteicos que ligam os sarcômeros entre si e os sustentam na membrana da fibra muscular. Nesse contexto, o α -actina constitui a proteína predominante. Ela é uma componente da linha Z sarcomérica (MacArthur & North, 2004), pertencente à família das proteínas ligantes da actina, importante no ancoramento dos miofilamentos de actina e manutenção do arranjo miofibrilar (Clarkson et al., 2005). Quatro genes para o α -actinina foram descritos em humanos (ACTN1, 2, 3 e 4), sendo as isoformas 2 e 3 constituintes do citoesqueleto muscular (Blanchard et al., 1989). Sabe-se ainda que a isoforma ACTN3 é específica das fibras de contração rápida (tipo II) responsáveis pela geração de força contrátil em alta velocidade (Noegel et al., 1987; Gimona et al., 2002; Yang et al., 2003).

No gene ACTN3 há a troca do nucleotídeo C T na posição 1.747 do éxon 16, mutação resultante da conversão do códon para arginina em um stop codon prematuro no resíduo 577 (R577X) (North & Beggs, 1996; North et al., 1999). Homozigotos para o alelo 577X não expressam o α -actinina 3 (Mills et al., 2001) e a deficiência da α -actinina 3 não resulta em fenótipo patológico como as miopatias (North et al., 1999), sugerindo que a isoforma ACTN2 (81% homóloga na sequência de aminoácidos) compensa a ausência da α -actinina 3 (Mills et al., 2001). Se o α -actinina 3 desempenha importante função em fibras musculares do tipo II, pode-se prever diferenças na função muscular esquelética entre indivíduos com diferentes genótipos (R577X) para ACTN3. Indivíduos que expressam o gene ACTN3 (genótipos RR/ RX) podem apresentar vantagem em modalidades de explosão e força muscular quando comparados com indivíduos com genótipo XX. (MacArthur & North, 2004).

Em adição à sua função estrutural na maquinaria contrátil muscular, as α -actininas sarcoméricas estão ainda envolvidas com proteínas reguladoras do metabolismo e de vias de sinalização, como a frutose 1,6 bifosfato e a glicogênio fosforilase (MacArthur & North, 2004).

O sistema renina-angiotensina (SRA) endócrino desempenha importante função no controle e homeostasia do sistema circulatório humano (Myerson et al., 1999). Produzida pelas células renais justaglomerulares, tipo modificado de célula muscular lisa em arteríolas aferentes, a renina atua sobre a globulina angiotensinogênio, liberando um peptídeo de 10 aminoácidos, a angiotensina I. Esse peptídeo possui propriedades vasoconstritoras leves, mas, quando clivada num peptídeo de oito aminoácidos, angiotensina II (Ang II), por ação da enzima conversora de angiotensina (ECA), adquire capacidade vasoconstritora relevantes. Essa resposta fisiológica é mediada predominantemente por ação em receptores específicos para Ang II (AT1 e AT2) localizados na superfície celular (Payne & Montgomery, 2003). Além da ação vasoconstritora, a Ang II provoca aumento da pressão arterial pela retenção de sais e água nos túbulos renais, secundária à ação da aldosterona liberada pelas suprarrenais (Myerson et al., 1999; Payne & Montgomery, 2003). Tem sido documentada também a existência de SRA nos tecidos cardíaco (Dzau, 1988; Myerson et al., 2001), adiposo (Jonsson et al., 1994) e muscular esquelético (Dragovic et al., 1996).

Outra função da ECA concentra-se na hidrólise da bradicinina pela remoção de um dipeptídeo da região C terminal (Coates, 2003), que provoca sua desativação. A bradicinina é um peptídeo de ação vasodilatadora e inibidora do crescimento celular; promove seu efeito por ação em receptores específicos B1R e B2R (Williams et al., 2004).

O gene da ECA (21 Kbp) está no cromossomo 17 q23 e é composto de 26 éxons (Coates, 2003). Uma variante genética comum no gene da ECA consiste na ausência (deleção ou alelo "D") ou presença (inserção ou alelo "I") de 287 pares de base no intron 16. O alelo D está associado com níveis circulatório e tecidual aumentados de ECA (Costerousse et al., 1993; Danser et al., 1995). O polimorfismo I/D da ECA tem atraído atenção a respeito de sua associação com a performance física humana. Estudos demonstraram que o alelo I é mais frequente em atletas de resistência, enquanto que o alelo D, em atletas de força e explosão muscular (Hagberg et al., 1998; Myerson et al., 1999).

No coração, a Ang II é potente fator de crescimento celular (Touyz et al., 1999). Embora não se tenha verificado aumento da massa ventricular esquerda em indivíduos com diferentes

13ª JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

genótipos para a ECA (Kauma et al., 1998; Linhart et al., 2000), a ativação do SRA local com conseqüente aumento da Ang II em resposta à sobrecarga mecânica induzida pelo exercício físico parece aumentar a síntese proteica no miócito cardíaco via receptores AT1 (Kinugawa et al., 1997; Higaki et al., 2000). A hipertrofia do ventrículo esquerdo (VE) é uma característica marcante em atletas de elite (Douglas et al., 1997). Conforme comentado anteriormente, a bradicinina tem efeito antiproliferativo e inibidor do crescimento (Kinugawa et al., 1997). Portanto, maior degradação da bradicinina pode facilitar a hipertrofia do VE. Entretanto, esses resultados não permitem a conclusão de que polimorfismo I/D da ECA é o único mediador do desenvolvimento do VE.

Uma baixa atividade enzimática da ECA no genótipo II poderia melhorar a função contrátil na musculatura cardíaca e esquelética via melhora na eficiência da oxidação mitocondrial, fator este mediado pelo aumento local na concentração de óxido nítrico (Zhao et al., 1999); e a maior eficiência muscular poderia estar relacionada à constituição das fibras musculares, com o genótipo II apresentando maior percentual de fibras do tipo I (fibras de contração lenta), que são mais eficientes do que as fibras de contração rápida (tipo II) quando a atividade contrátil muscular é realizada em baixa velocidade).

Em resumo, dados apresentados sugerem que o alelo I melhora a performance em atletas de resistência, mediado pela maior eficiência mecânica da musculatura esquelética e por seu efeito na proporção das fibras musculares, enquanto que o alelo D mostrou relação com o fenótipo de força e explosão muscular, mediado pelo efeito hipertrofico muscular, secundário ao aumento na concentração plasmática e tecidual de Ang II.

A variabilidade das respostas mecânicas e biológicas dos diferentes sistemas, particulares dos atletas de elite de cada modalidade específica, possibilita o estudo do que no campo da genética é conhecido como rastreamento dos "genes candidatos" (Payne & Montgomery, 2003). Até o presente momento, sabe-se que no mapa genético humano existem 170 seqüências variantes de genes e de marcadores genéticos que estão relacionados aos fenótipos de performance física e de boa condição física relacionada à saúde (Wolfarth et al., 2005). A identificação de talentos parece estar sendo revolucionada por essas descobertas, com a caracterização gênica do indivíduo pesando como parte significativa na decisão da seleção de jovens talentos (MacArthur & North, 2004). Entretanto, é importante ressaltar que múltiplos fatores biológicos e ambientais são determinantes da performance e que a análise de um único gene, isoladamente, não necessariamente determina o fenótipo de um atleta.

OBJETIVO

Associar o perfil genético dos atletas envolvidos com dados de performance física previamente analisadas em projetos correlatos.

METODOLOGIA

Uma amostra de 10 mL de sangue venoso, será coletada de cada atleta com jejum de 8-12h, em tubos com EDTA por técnico flebotomista, para extração de DNA. O sangue será centrifugado (2300 revs.min⁻¹ (rpm)) por 10 minutos a 4°C e as amostras serão mantidas em refrigeração até o momento da extração, não ultrapassando o período de 24h pós coleta. Serão avaliados os polimorfismos de ACE I/D e ACTN3 R/X utilizando a técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) em acordo com os primers e análises descritas em McCauley et al., 2008.

Serão tipados 1000 atletas de alta performance submetidos a diferentes testes de esforço para que se correlacione a força gerada (torque) com o perfil genético estabelecido. Este projeto está amparado pelo processo número CAA 53.0.313.007.

RESULTADOS

A média de idade das pacientes foi de 16,5 anos. Os critérios de Neul permitem classificar em SR clássica e atípica, segundo critérios maiores e de suporte. Foram identificadas oito (53%) pacientes com forma clássica da doença e sete (47%) com atípicas. O percentual de formas atípicas apresentado no estudo supera a estimativa pela literatura (25%), sendo a provável limitação o espaço amostral reduzido. As sete pacientes são formas frustras, não apresentando na amostra as outras três formas atípicas: congênita, de epilepsia de início precoce e de linguagem preservada.

A escala de Downs avalia a função de mãos, de forma que quanto menor a nota, mais prejudicada é a habilidade manual. As categorias 1 e 2 apresentaram média, respectivamente, de 5.25 e 5.34, mostrando uso de mãos parcialmente preservado; enquanto a categoria 3 apresentou média de 1.2, demonstrando apraxia manual grave (p-valor=0.0098). Logo, revela-se uma diferença entre as outras categorias, podendo relacionar-se à evolução da doença. Esses resultados são compatíveis com o que foi descrito por Downs et al.

Comparando-se as habilidades manuais entre as ordens clássica e atípica, foram obtidas as médias de 3.12 e 4.85, respectivamente (p-valor=0.2651). Dessa forma, os grupos não aparentam divergências, possivelmente devido à presença de somente uma forma atípica de SR na amostra e ao tamanho reduzido desta.

CONCLUSÃO

Ainda não foram produzidos artigos ou envio de trabalhos pois novas amostras estão sendo processadas enquanto a avaliação de performance ainda não for finalizada. Ambos testes, são fundamentais para assegurar o polimorfismo como influência da performance física dos atletas.

Embora afete todos os grupos étnicos e seja considerada uma das principais causas de deficiências múltiplas no sexo feminino, os estudos sobre a SR são ainda restritos no Brasil. Diante deste contexto, fica evidente a necessidade de estudos sobre o fenótipo e de como a sintomatologia da síndrome evolui.

REFERÊNCIAS

McCauley, T, Mastana SS, Hossack J, Mac Donald M, Folland JP. Exp. Physiology, 2008.

13ª JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

- Rankinen T, Perusse L, Gagnon J, Chagnon YC, Leon AC, Skinner JS, et al. J Appl Physiol. 2000; 88:1029-35.
- Payne J, Montgomery H. Biochem Soc Trans. 2003;31:1286-9.
- Wolfarth B, Bray MS, Hagberg JM, Perusse L, Rauramaa R, Rivera, MA, et al. Med Sci Sports Exerc. 2005;37:881-903.
- MacArthur DG, North KN. Bioessays. 2004;26:786-95.
- Simoneau JA, Bouchard C. FASEB J. 1995;9:1091-5.
- Scott W, Stevens J, Binder-Macleod SA. Phys Ther. 2001;81:1810-6.
- Clarkson PM, Devaney JM, Gordish-Dressman H, Thompson PD, Hubal MJ, Urso M, et al. J Appl Physiol. 2005;99:154-63.
- Blanchard A, Ohanian V, Critchley D. J Muscle Res Cell Motil. 1989;10:280-9.
- Yang N, MacArthur DG, Gulbin JP, Hahn AG, Beggs AH, Easteal S, et al. Am J Hum Genet. 2003;73:627-31.
- Noegel A, Witke W, Schleicher M. FEBS Lett. 1987; 221:391-6.
- Gimona M, Djinoivic-Carugo K, Kranewitter WJ, Winder SJ. FEBS Lett. 2002;513:98-106.
- North KN, Beggs AH. Neuromuscul Disord. 1996;6:229-35.
- North KN, Yang N, Wattanasirichaigoon D, Mills M, Easteal S, Beggs AH. Nat Genet. 1999;21:353-4.
- Mills M, Yang N, Weinberger R, Vander Woude DL, Beggs AH, et al. Hum Mol Genet. 2001;10:1335-46.
- Myerson S, Hemingway H, Budget R, Martin J, Humphries S, Montgomery H. J Appl Physiol. 1999;87:1313-6.
- Dzau VJ. Circulation. 1988;77:14-13.
- Myerson SG, Montgomery HE, Whittingham M, Budget R, Martin J, Humphries S, et al. Circulation. 2001; 103:226-30.
- Jonsson JR, Game PA, Head RJ, Frewin DB. Blood Press. 1994;3:72-5.
- Dragovic T, Minshall R, Jackman HL, Wang LX, Erdos EG. Diabetes. 1996;45(Suppl1):S34-7.
- Coates D. Int J Biochem Cell Biol. 2003;35:769-73.
- Williams AG, Dhamrait SS, Wootton PT, Day SH, Hawe E, Payne JR, et al. J Appl Physiol. 2004; 96:938-42.
- Costerousse O, Allegrini J, Lopez M, Alhenc-Gelas F. Biochem J. 1993;290(Pt 1):33-40.
- Danser AH, Schalekamp MA, Bax WA, van den Brink AM, Saxena PR, Riegger GA, et al. Circulation. 1995;92:1387-8.
- Hagberg JM, Ferrell RE, McCole SD, Wilund KR, Moore GE. J Appl Physiol. 1998;85: 1842-6.
- Touyz RM, Deng LY, He G, Wu XH, Schiffrin EL. J Hypertens. 1999;17:907-16.



13ª JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

Kauma H, Ikaheimo M, Savolainen MJ, Kiema TR, Rantala AO, Lilja M, et al. Eur Heart J. 1998;19:1109-17.

Linhart A, Sedlacek K, Jachymova M, Jindra A, Beran S, Vondracek V, et al. Blood Press.; 2000;9:47-51.

Kinugawa T, Ogino K, Miyakoda H, Saitoh M, Hisatome I, Fujimoto Y, et al. Gen Pharmacol. 1997;28:225-8.

Higaki J, Aoki M, Morishita R, Kida I, Taniyama Y, Tomita N, et al. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2000;20:428-34.

Douglas PS, O'Toole ML, Katz SE, Ginsburg GS, Hiller WD, Laird RH. Am J Cardiol. 1997;80:1384-8.