

ANÁLISE DAS FREQUÊNCIAS DOS POLIMORFISMOS I/D DO GENE DA ENZIMA CONVERSORA DE ANGIOTENSINA I (ECA I) E R577X DO GENE ACTN3 EM JOGADORES DE FUTEBOL AMERICANO

Cárita Cavalcante Gomes¹, Tiago Abreu Souza e Sillva¹
 Whendel Mesquita do Nascimento¹, Spartaco Astolfi-Filho¹
 Cintia Mara da Costa Oliveira¹, Agnelo Weber de Oliveira Rocha²

RESUMO

O objetivo deste estudo foi analisar a frequência do polimorfismo I/D do gene da ECA I, e do polimorfismo R577X do gene ACTN3 em atletas de futebol americano. Foram avaliados 22 atletas amadores, o diagnóstico do polimorfismo da ECA I foi realizado mediante a reação em cadeia de polimerase (PCR), na identificação do polimorfismo R577X do ACTN3 os produtos amplificados por PCR foram digeridos pela enzima de restrição Ddel. Os resultados indicaram a frequência genotípica de (36%) II, (55%) ID e (9%) DD ($p=0,178$) e a frequência alélica de 53% I e 47% D ($p=0,058$) da ECA I. Para o ACTN3 identificou-se (23%) RR, (41%) RX e (36%) XX ($p=0,07$), na frequência alélica foram identificados 43% R e 57% X ($p=0,064$), na frequência da presença (RR ou RX) ou ausência (XX) da proteína alfa-actinina-3, os resultados apontaram 67% RR/RX e 33% XX ($p=0,025$). Os resultados indicam que a frequência dos genótipos da ECA I diferiu de achados em outros estudos, bem como na frequência dos genótipos do gene ACTN3 em populações europeias, norte americanas e das regiões sul e sudeste do Brasil, corroborando com resultados encontrados em investigações realizadas no continente asiático.

Palavras-chave: Futebol Americano, Polimorfismo Genético, Genótipo.

1-Universidade Federal do Amazonas, Manaus-AM, Brasil.

2-Universidade Paulista, Manaus-AM, Brasil.

E-mail dos autores:

gomescarita@gmail.com.

abreutiago59@gmail.com

whendelmesquita_ledehu@hotmail.com

spartaco.biotec@gmail.com

cmaraoliveira.cmc@gmail.com

agneloweber18@gmail.com

ABSTRACT

Analysis of the frequency of polymorphism of angiotensin converting enzyme I (ace I) and r577x of gene actn3 in american football players

The purpose of this study was to analyze the frequency of the I / D polymorphism of the ACE I gene and the R577X polymorphism of the ACTN3 gene in soccer players. Twenty-two amateur athletes were evaluated, the diagnosis of the ACE I polymorphism was performed by the polymerase chain reaction (PCR), in the identification of the R577X polymorphism of the ACTN3 the products amplified by PCR were digested by the restriction enzyme Ddel. The results indicated the genotype frequency of (36%) II, (55%) ID and (9%) DD ($p = 0.178$) and allelic frequency of 53% I and 47% D ($p = 0.058$) of RCT I. For the ACTN3, RR (41%) RX and (36%) XX ($p = 0.07$) were identified in the allele frequency, 43% R and 57% X ($p = 0.064$) were identified in the frequency of the presence (RR or RX) or absence (XX) of the alpha-actinin-3 protein, the results indicated 67% RR / RX and 33% XX ($p = 0.025$). The results indicate that the frequency of ACE I genotypes differed from findings in other studies, as well as the frequency of ACTN3 gene genotypes in European, North American and South and Southeastern Brazilian populations, corroborating with results found in investigations conducted in the Asian continent.

Key words: Football; Polymorphism, Genetic, Genotype.

Autor Correspondente:

Agnelo Weber de Oliveira Rocha.

Av. Mário Ypiranga, 4390.

Parque 10 de Novembro, Manaus-AM.

CEP: 69050-030.

INTRODUÇÃO

A Performance física em atletas sempre despertou interesse de profissionais envolvidos com a medicina do esporte, embora considerassem que o aumento do desempenho esportivo estivesse relacionado exclusivamente com os métodos de treinamento associado a uma dieta específica.

Com o passar dos anos observou-se que outros fatores influenciavam para o alcance do alto nível de rendimento esportivo, como o favorecimento genético (Dias e colaboradores, 2007; Payne e Montgomery, 2003).

Em conformidade com as diferentes demandas físicas das modalidades esportivas, determinados genótipos podem favorecer a melhora do desempenho físico dos atletas.

Bray e colaboradores (2009) identificaram 214 genes autossômicos que podem ser associados ao desempenho esportivo, sendo o gene da enzima conversora de angiotensina I (ECA I) e o ACTN3 dos genes que aparentemente apresentam maior correlação positiva com desempenho esportivo, sendo assim considerados fortes candidatos quanto a associação da performance física humana (Ginevičienė e colaboradores, 2011).

O ACTN3 está localizado no cromossomo 11q13-14 e tem informação para a síntese da alfa-actinina-3, uma proteína sarcomérica localizada na linha Z exclusivamente em fibras musculares do tipo II (Yang e colaboradores, 2003). O éxon 16 deste gene apresenta um polimorfismo de nucleotídeo simples (SNP) que é identificado pela troca de uma citosina (C) por uma timina (T), da posição 1747, resultando na alteração na sequência do códon 577 modificando um resíduo de arginina (alelo funcional, R) para um Stop Códon (alelo polimórfico, X), configurando assim o polimorfismo R577X (Beggs e colaboradores, 1992; North e colaboradores, 1999).

Esses processos metabólicos geram uma proteína truncada que sofre degradação durante as reações pós traducionais, sendo considerados homocigotos dominantes (RR), aqueles que apresentam duas cópias do alelo funcional, heterocigotos os que apresentam uma cópia do alelo funciona e uma do alelo polimórfico (RX) e homocigotos recessivos (XX), os que apresentam duas cópias do alelo polimórfico (Ahmetov e colaboradores, 2016).

A ausência da alfa-actinina-3 nas fibras do tipo II não confere nenhuma patologia, desta maneira o metabolismo muscular é suprido por uma isoforma proteica conhecida como alfa-actinina-2 (Vincent e colaboradores, 2007).

Aparentemente os sujeitos que apresentam pelo menos uma cópia do alelo R têm maior capacidade para produzir força potência e de resistir mais a esforços intensos que os sujeitos homocigotos XX (Yang e colaboradores, 2003).

A ECA é uma proteína transmembrana sintetizada como um polipeptídeo com 1306 aminoácidos, sendo sua forma composta por 1277 aminoácidos e massa molecular de 1466 kDa, possuindo duas áreas internas, domínios N e C terminal, com homologia entre aminoácidos, portando aproximadamente 612 aminoácidos cada (Bernstein e colaboradores, 2013), contém um polimorfismo que consiste na presença (inserção ou alelo "I") ou ausência (deleção ou alelo "D") de 287 pares de bases, podendo ocasionar a diminuição ou o aumento da atividade dessa enzima (Montgomery e colaboradores, 1998; Rigat e colaboradores, 1990).

A associação do reconhecimento das características físicas mais presentes nas modalidades esportivas e a identificação dos genótipos que mais auxiliam nestas características, pode ser utilizado como um método de seleção e detecção de atletas de alto rendimento (Rossignol e colaboradores, 2014; Veale e colaboradores, 2008).

Tendo como característica ser um esporte coletivo, tático e estratégico, envolvendo jogadas que exigem alta intensidade e curta duração, divididas por momentos de baixa intensidade, determinando o sistema energético anaeróbio como característica principal (Condello, Schultz e Tessitore, 2013; Hoffman, 2008; Kin-Isler e colaboradores, 2008; Perrella, Noriyuki e Rossi, 2005).

O Futebol Americano é uma modalidade em que os atletas podem ser favorecidos por genótipos que influenciem nas propriedades musculoesqueléticas e metabólicas.

No entanto, há uma crescente demanda de investigações que relacionem o perfil genotípico dos atletas ao alto desempenho esportivo em determinadas modalidades esportivas (Moran e colaboradores, 2007).

Posto isso, o presente estudo propõe analisar a frequência do polimorfismo I/D do gene da ECA, o polimorfismo R577X do gene ACTN3 e o polimorfismo XXX do gene XXX em atletas de futebol americano.

MATERIAIS E MÉTODOS

Amostra

Participaram do estudo 22 atletas amadores de futebol americano no estado do Amazonas com idade de 25±3,4 anos e tempo de prática na modalidade superior a cinco anos, sem histórico de lesão osteomioarticular e com participação em competições estaduais, nacionais ou internacionais nos últimos dois anos.

Procedimentos

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com seres Humanos da Universidade Federal do Amazonas, obtendo registro 49475214.0.0000.5020. Após a aprovação todos os atletas assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) permitindo o início da coleta de dados.

Foram coletados 5 ml de sangue em seringa estéril descartável e transferido para tubos vacutainer com ácido etilenodiaminotetraacético (EDTA).

Após a coleta, as amostras foram armazenadas em geladeira a 4°C, no Laboratório de Diagnóstico Molecular da UFAM, até a realização da extração de DNA.

A extração e a purificação do DNA foram realizadas com o Kit QIAamp® DNA Mini and Blood Mini Handbook (QIAGEN).

Para a quantificação e a análise da integridade do material extraído utilizou-se o Nanodrop® ND-1000 (Thermo Scientific) e eletroforese em gel de agarose a 0,8% corado com brometo de etídeo.

Genotipagem ECA

A amplificação do polimorfismo I/D do gene da ECA foi realizada por Reação em Cadeia de Polimerase (PCR), e utilizados iniciadores direto (5' CTGGAGAGCCACTCCCATCCTTTCT 3') e reverso (5' GATGTGGCCATCACATTCGTCAGAT 3') ancorados nas extremidades do íntron 16, devido (Rigat e colaboradores, 1990) afirmarem que essa região pode possuir uma

deleção (D) ou inserção (I) de 287 pares de bases. O alelo D do gene da ECA segundo Salgueiros e colaboradores (2017) produz um amplicon de 191 pares de bases, à medida que o alelo I produz um amplicon de 478 pares de bases, contendo a inserção de 287pb. Dessa forma, são identificadas três possibilidades de genótipos nos atletas: D/D, I/D e I/I.

O protocolo do ciclo termal foi programado a 95° C por 5 minutos para desnaturação; seguido por 35 ciclos de anelamento a 94° C por 30 segundos, 51° C por 30 segundos e 72° C por 60 segundos, com uma extensão final a 72° C por 5 minutos.

Os produtos amplificados foram submetidos a electroforese em gel de agarose a 2% corado com brometo de etídeo e visualizado em um transiluminador de luz ultravioleta.

Genotipagem ACTN3

A sequência do *primer* iniciador: 5' CTGTTGCCTGTGGTAAGTGGG 3', e do *primer* reverso: 5' TGGTCACAGTATGCAGGAGGG 3' foi ancorada nos íntrons adjacentes ao referido éxon (Mills e colaboradores, 2001).

O sistema reacional para amplificação do DNA teve um volume final de 20 microlitros (ul) utilizando: tampão 10x (2 ul), MgCl 2,5mM (1,2 ul), dNTPs 2,5mM (1,6 ul), *primers* 10pmol (5 ul), enzima taq polimerase (0,3 ul) e DNA 10ng/ul (2,0 ul), para completar volume total utilizou-se 7,9 ul de água ultrapura.

Para a amplificação do fragmento foi utilizado o termociclador *Mastercycler Gradient Personal (Eppendorf®)* programado em 95° C durante 5 minutos para a desnaturação; seguidos de 30 ciclos de anelamento a 94° C por 30 segundos, 58° C por 30 segundos e 72° C durante 30 segundos, com uma extensão final de 72° C durante 5 minutos.

Após a amplificação, o produto da PCR foi digerido com a endonuclease *Ddel* e analisada através da eletroforese em gel de agarose a 3%, corado com brometo de etídeo, visualizado no transiluminador de luz ultravioleta. Para o processo de digestão do fragmento amplificado foi adicionado 1,5ul de tampão 10X, 0,3ul de BSA, 2U da enzima de digestão *Ddel* (promega) e 9ul do produto da PCR, o restante da reação será completada com água ultrapura (Rocha, 2015).

Foi possível distinguir os alelos 577R e 577X pela presença (577X) ou ausência

(577R) de um sítio de restrição da *Ddel* (5'-C↓TNA G-3'). A Digestão dos produtos de PCR dos alelos 577X e 577R produz um polimorfismo de tamanho dos fragmentos de restrição, como apontam outros estudos da mesma linha os fragmentos RR (205 e 86 bp) RX (205, 108, 97 e 86 bp) e XX (108, 97 e 86 bp) (Fiuza-Luces e colaboradores, 2011).

Análise Estatística

A análise dos dados foi desenvolvida por meio de estatística descritiva. A distribuição do genótipo em conformidade com o equilíbrio de Hardy-Weinberg, as frequências alélicas no grupo de atletas, e a sua significância foram avaliadas pelo teste de qui-quadrado (χ^2) usando o software Statistical Package for Social Sciences (SPSS) versão 21.0. Os valores de $p < 0,05$ foram considerados estaticamente significativos.

RESULTADOS

Após a análise do gene ECA I em todas as amostras, detectou-se que o genótipo II está presente em 8 sujeitos representando 36% da amostra.

Entretanto, o genótipo ID foi identificado em 10 atletas que equivale a 55% da amostra, o genótipo DD encontrou-se presente em 4 indivíduos, correspondendo a 9% das amostras como descrito no quadro 1.

Como apresentado no quadro 2 detectou-se que o genótipo RR está presente em 5 sujeitos, que representa 23% das amostras.

Entretanto, o genótipo RX foi identificado em 9 atletas que equivale a 41% da amostra, já o genótipo XX encontrou-se presente em 8 indivíduos, correspondendo a 36% das amostras.

Quadro 1 - Caracterização da amostra, frequência genotípica e distribuição alélica do gene ECA I.

Eca I			p - Value	Alelo		P - Value
II	ID	DD		I	D	
n (%)	n (%)	n (%)		n (%)	n (%)	
8 (36)	10 (55)	4 (9)	0,178	26 (53)	14 (47)	0,058

Quadro 2 - Caracterização da Amostra, frequência genotípica e distribuição alélica do gene ACTN3.

Frequência Genotípica			p - Value	Frequência Alélica		p - Value	Presença/Ausência		p - Value
RR	RX	XX		R	X		RR/ RX	XX	
n (%)	n (%)	n (%)		n (%)	n (%)		n (%)	n (%)	
5 (23)	9 (41)	8 (36)	0,07	19 (43)	25 (57)	0,064	14 (67)	8 (36)	0,025

DISCUSSÃO

O objetivo do presente estudo foi avaliar a frequência alélica e genotípica do polimorfismo R577X do gene ACTN3 e I/D do gene ECA I em atletas amazonenses de futebol americano, os principais resultados apontam que em ambos os genes o genótipo heterozigoto está presente em maior percentual da amostra, equivalendo a 55% (I/D) no gene ECA I e 41% (RX) do gene ACTN3 porém não apresentando diferença estatisticamente significativa na frequência genotípica ($p = 0,07$) e frequência alélica ($p = 0,064$) do polimorfismo, apenas na presença do alelo R ($p = 0,025$) do gene ACTN3, bem como para o gene Eca I, rejeitando assim a hipótese verdadeira, que estima maior frequência dos genótipos RR e

DD nos jogadores, pois favoreceriam eventos de força e potência, bem presentes no futebol americano.

As frequências genotípicas do gene ECA I encontradas foram: 36% II, 55% ID e 9% DD, no entanto, comparando com os resultados obtidos por Amir e colaboradores (2007), no qual foram avaliados atletas israelenses, foi possível identificar uma frequência inferior de genótipos II e uma frequência superior de genótipos DD (12% II, 36% ID e 52% DD) corroborando com o estudo realizado por Can e colaboradores (2005) em que 88 atletas turcos foram submetidos a um teste de esforço de 60 m e uma corrida de 2 km, resultaram na frequência de 20% II, 41% ID e 39% DD, identificando que os portadores do genótipo DD obtiveram melhores resultados em ambos os testes,

indicando que a variação genotípica pode adquirir uma vantagem em exercícios de média duração.

Myerson e colaboradores (1999) identificaram maior frequência do alelo I entre corredores de elite de provas de longa distância em comparação aos indivíduos sedentários saudáveis, revelando uma tendência linear e crescente na frequência do alelo I de 91 corredores de nível olímpico: 0,35; 0,53 e 0,62 nas especialidades \leq 200m (n = 20), 400-3.000m (n = 37) e \geq 5.000m (n = 34), respectivamente.

Devido à presença deste alelo revelar-se mais frequente à medida que aumenta a distância da prova percorrida pode-se sugerir que a performance de atletas de resistência encontra-se em parte na dependência de sua presença.

A relação entre força muscular e a frequência dos genótipos da ECA I em atletas de alto nível, Costa e colaboradores (2009) avaliaram 58 indivíduos de nível olímpico, sendo: 35 nadadores e 23 triatletas de ambos os sexos, em testes de força de preensão manual e salto vertical, os resultando apontam maior predisposição do desenvolvimento de força muscular nos avaliados com o alelo D.

Apresentando frequências genotípicas: 23% RR, 41% RX e de 8% XX do gene ACTN3, os resultados do presente estudo corroboram com os achados por Yang e colaboradores (2003) que ao avaliarem 429 atletas de elite de *sprint* e *endurance* australianos e 436 indivíduos no grupo controle, obtiveram maior frequência de indivíduos heterozigotos 38% RR, 45% de RX e 17% XX. Resultados diferentes foram encontrados por Rocha (2015) que avaliou 96 atletas de ambos os sexos, de diferentes modalidades com distintas características obtendo: 16% RR, 47% RX, 37% XX.

Contrariando o que é encontrado na literatura, em um estudo feito por Moran e colaboradores (2007) foram avaliados 992 jovens submetidos a diversos testes físico, obtendo a frequência de: RR=34%, RX=48% e X=18%, onde os resultados apontaram melhor desempenho físico no *sprint* de 40m nos portadores do genótipo XX do sexo masculino.

Contudo há evidências que relacionam positivamente as frequências genotípicas dos genes ACTN3 e ECA I, porém tais resultados podem ser refutados.

CONCLUSÃO

No presente estudo pode-se observar que as frequências dos polimorfismos da ID do gene da ECA e R577X do gene ACTN3 diferiram de grande parte dos estudos disponíveis na literatura que estudaram europeus, norte americanos e de outras regiões do Brasil.

Pelo fato do futebol americano se caracterizar como modalidade predominantemente anaeróbia esperava-se encontrar frequência superior dos genótipos DD e RR, fato que não ocorreu.

Porém os dados desta investigação apresentaram valores semelhantes aos encontrados em outros estudos com amostras da mesma região, o que indica que tais frequências genotípicas podem ser características desta região.

Além disso, os dados deste estudo sugerem que os genótipos II da ECA e XX do ACTN3 podem estar associados a eventos de força/potência na população local.

CONFLITO DE INTERESSES

Os autores declaram que não há nenhum conflito de interesse.

REFERÊNCIAS

- 1-Ahmetov, I. I.; Egorova, E. S.; Gabdrakhmanova, L. J.; Fedotovskaya O. N. Genes and athletic performance: an update. In: Genetics and Sports. Vol. 61. 2016. p. 41-54.
- 2-Amir, O.; Amir, R.; Yamin, C.; Attias, E.; Eynon, N.; Sagiv, M. e colaboradores. The ACE deletion allele is associated with Israeli elite endurance athletes. *Experimental Physiology*. Vol. 92. Num. 5. 2007. p. 881-886.
- 3-Beggs, A. H.; Byers, T. J.; Knoll, J. H.; Boyce, F. M.; Bruns, G. A. P.; Kunkel, L. M. Cloning and characterization of two human skeletal muscle [alpha]-actinin genes located on chromosomes 1 and 11. *J. Biol. Chem.* Vol. 267. Num. 13. 1992. p. 9281-9288.
- 4-Bernstein, K. E.; Ong, F. S.; Blackwell, W. B.; Giani, J. F.; Gonzalez-Villalobos, R. A.; e colaboradores. A modern understanding of the traditional and nontraditional biological functions of angiotensin-converting enzyme. *Pharmacological reviews*. Vol. 65. Núm. 1. 2013. p. 1-46.
- 5-Bray, M. S.; Hagberg, J. M.; Pérusse, L.; Rankinen, T.; Roth, S. M.; Wolfarth, B.; e

colaboradores. The human gene map for performance and health-related fitness phenotypes: The 2006-2007 update. *Medicine and Science in Sports and Exercise*. Vol. 41. Num. 1. 2009. p. 34-72.

6-Can, F.S.; Colakoglu, M.; Sekuri, C.; Colakoglu, S.; Sahan, Ç.; Berdeli, A. Association Between the ACE I/D Gene Polymorphism and Physical Performance in a Homogeneous Non-Elite Cohort. *Journal of applied physiology*. Vol. 30. Num. 1. 2005. p. 74-87.

7-Condello, G.; Schultz, K.; Tessitore, A. Assessment of sprint and change-of-direction performance in College Football Players. *International journal of sports physiology and performance*. Vol. 8. Num. 2. 2013. p. 211-212.

8-Costa, A. M.; Silva, A. J.; Garrido, N. D.; Louro, H.; Oliveira, R. J.; Breitenfeld, L. Association between ACE D allele and elite short distance swimming. *European Journal of Applied Physiology*, Vol. 106. Num. 6. 2009. p. 785-790.

9-Dias, R. G.; Pereira, A. C.; Negrão, C. E.; Krieger, J. E. Polimorfismos genéticos determinantes da performance física em atletas de elite. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*. Vol. 13. Num. 3. 2007. p. 209-216.

10-Fiuza-Luces, Carmen; Ruiz, Jonatan R; Rodríguez-Romo, Gabriel. Santiago C, Gómez-Gallego F.; Yvert, T.; e colaboradores. Are "endurance" alleles "survival" alleles? Insights from the ACTN3 R577X polymorphism. *PLoS ONE*. Vol. 6. Num. 3. 2011. p. 1-6.

11-Ginevičienė, V.; Pranculis, A.; Jakaitienė, A. Milašius, K.; Kučinskis, V. Genetic Variation of the Human ACE and ACTN3 Genes and Their Association With Functional Muscle Properties in Lithuanian Elite Athletes. *Medicina (Kaunas) Investigations Medicina (Kaunas)*. Vol. 4747. Num. 55. 2011. p. 284-90.

12-Hoffman, J. R. The applied physiology of American football. *International journal of sports physiology and performance*. Vol. 3. Num. 3. 2008. p. 387-392.

13-Kin-Isler, A.; Ariburun, B.; Ozkan, A.; Aytar, A.; Tandogan, R. The relationship between anaerobic performance, muscle strength and

sprint ability in American football players. *Isokinetics and Exercise Science*. Vol. 16. Num. 2. 2008. p. 87-92.

14-Mills, M. A.; Yang, N.; Weinberger, R. P.; Woude, D. L. V.; Beggs, A. H.; Eastale, S. Differential expression of the actin-binding proteins, α -actinin-2 and-3, in different species: implications for the evolution of functional redundancy. *Human molecular genetics*. Vol. 10. Num. 13. 2001. p. 1335-1346.

15-Montgomery, H. E.; Marshall, R.; Hemingway, H.; Myerson, S.; Clarkson, P.; Dollery, C. Human gene for physical performance. *Nature*. Vol. 393. 1998. p. 221.

16-Moran, C. N.; Yang, N.; Bailey, M. E.S.; Tsiokanos, A.; Jamurtas, A.; MacArthur, D. G. Association analysis of the ACTN3 R577X polymorphism and complex quantitative body composition and performance phenotypes in adolescent Greeks. *European Journal of Human Genetics*. Vol. 15. Num. 1. 2007. p. 88-93.

17-Myerson, S.; Hemingway, H.; Budget, R.; Martin, J.; Humphries, S.; Montgomery, H. Human angiotensin I-converting enzyme gene and endurance performance. *Journal of Applied Physiology*. Vol. 87. Num. 4. 1999. p. 1313-1316.

18-North, K. N.; Yang, N.; Wattanasirichaigoon, D.; Mills, M.; Eastale, S.; Beggs, A. H. A common nonsense mutation results in α -actinin-3 deficiency in the general population. *Nature Genetics*. Vol. 21. Num. 4. 1999. p. 353-354.

19-Payne, J.; Montgomery, H. The renin-angiotensin system and physical performance. *Biochemical Society Transactions*. Vol. 31. Num. 6. 2003. p. 1286-1289.

20-Perrella, M. M.; Noriyuki, P. S.; Rossi, L. Avaliação da perda hídrica durante treino intenso de rugby. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*. Vol. 11. Num. 4. 2005. p. 229-232.

21-Rigat, B.; Hubert, C.; Alhenc-Gelas, F.; Cambien, F.; Corvol, P.; Soubrier, F. An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum

enzyme levels. The Journal of clinical investigation. Vol. 86. Num. 4. 1990. p. 1343-6.

22-Rocha, A. W. O. Avaliação de genes relacionados ao desempenho esportivo em atletas do estado do Amazonas. Dissertação de Mestrado. UFAM. 2015.

23-Rossignol, P. L. E.; Gabbett, T. J.; Comerford, D.; Stanton, W. R. Repeated-sprint ability and team selection in Australian football league players. International journal of sports physiology and performance. Vol. 9. Num. 1. 2014. p. 161-165.

24-Salgueirosa, F.; e colaboradores. ACTN3 R577X and ACE I/D Genotype Frequencies of Professional Soccer Players in Brazil. Journal of Exercise Physiology. Vol. 20. Num. 6. 2017. p. 129-138.

25-Veale, J. P.; Pearce, A. J.; Koehn, S.; Carlson, J. S. e colaboradores. Performance and anthropometric characteristics of prospective elite junior Australian footballers: A case study in one junior team. Journal of Science and Medicine in Sport. Vol. 11. Num. 2. 2008. p. 227-230.

26-Vincent, B.; De Bock, K.; Ramaekers M, Van den Eede, E.; Van Leemputte, M.; Hespel, P.; e colaboradores. ACTN3 (R577X) genotype is associated with fiber type distribution. Physiological Genomics. Vol. 32. Num. 1. 2007. p. 58-63.

27-Yang, N.; MacArthur, D. G.; Gulbin, J. P.; Hahn, A. G.; Beggs, A. H.; Eastal, S.; e colaboradores. ACTN3 Genotype Is Associated with Human Elite Athletic Performance. The American Journal of Human Genetics. Vol. 73. Num. 3. 2003. p. 627-631.

Recebido para publicação 21/01/2019

Aceito em 19/08/2019