

EFEITOS DAS VARIAÇÕES GENÉTICAS DE MLCK2, AMPD1 E COL5A1 SOBRE A RESISTÊNCIA MUSCULAR

EFFECTS OF GENETIC VARIATIONS OF MLCK2, AMPD1, AND COL5A1 ON MUSCLE ENDURANCE

EFFECTOS DE LAS VARIACIONES GENÉTICAS DE MLCK2, AMPD1 Y COL5A1 SOBRE LA RESISTENCIA MUSCULAR

Cem Horozoglu¹ 
(Profissional de Medicina Molecular)
Halid Emre Aslan² 
(Profissional de Ciências do Esporte)
Ali Karaagac³ 
(Fisioterapeuta)
Ozlem Kucukhuseyin⁴ 
(Profissional de Medicina Molecular)
Tugce Bilgic¹ 
(Fisioterapeuta)
Solen Himmetoglu¹ 
(Profissional de Bioquímica Médica)
Arezo Gheybi⁴ 
(Profissional de Bioquímica Médica)
Ilhan Yaylim⁴ 
(Profissional de Bioquímica Médica)
Umit Zeybek⁴ 
(Profissional de Bioquímica Médica)

1. Biruni University, School of Medicine, Departamento de Bioquímica Médica, Istanbul, Turquia.
2. Istanbul Gelisim University, Instituto de Ciências da Saúde, Departamento de Ciências do Esporte e do Exercício, Istanbul, Turquia.
3. Istanbul Gelisim University, Departamento de Técnicas de Fisioterapia, Istanbul, Turquia.
4. Istanbul University, Instituto Aziz Sanca de Medicina Experimental, Departamento de Medicina Molecular, Istanbul, Turquia.

Correspondência:

Cem Horozoglu
Department of Medical
Biochemistry, School of Medicine,
Biruni University. Protokol Yolu
No:45, 10. Yil Cd., 34010 Zeytinburnu,
Istanbul, Turkey
chorozoglu@biruni.edu.tr

RESUMO

Introdução: Embora tenham sido detectadas possíveis relações entre variantes genéticas de MLCK2, AMPD1 e COL5A1 em estudos moleculares que avaliam o desempenho esportivo do ponto de vista genético, os dados são limitados no que diz respeito à resistência muscular e à aptidão física. **Materiais e Métodos:** Este estudo objetivou avaliar essas variantes quanto à resistência muscular dos membros inferiores e à aptidão física em trinta e três jogadores de futebol. Os genótipos foram determinados por análise de fusão de alta resolução (HRM) em qPCR depois de o DNA genômico ter sido isolado de amostras de esfregaço bucal dos participantes. As medidas de resistência muscular dos membros inferiores, do salto dinâmico e teste de equilíbrio (DLBT) e de testes de salto em largura parado (SBJ) foram realizadas em todos os participantes. **Resultados:** Estatura maior ($p = 0,006$), escores mais altos de DLBT ($p = 0,016$) e SBJ ($p = 0,033$), bem como maior adução do quadril esquerdo ($p < 0,001$) foram detectados nos participantes com genótipo CT para AMPD1 em comparação aos com genótipo CC. Para MLCK rs28497577, verificou-se que os jogadores com genótipo AA eram mais altos ($p = 0,046$), mais pesados ($p = 0,049$), e tinham maior extensão do joelho esquerdo ($p = 0,014$) e flexão plantar do pé esquerdo ($p = 0,040$) do que os que têm o alelo C. Os jogadores com genótipo CT para COL5A1 rs12722 tiveram maior extensão de quadril direito ($p = 0,040$) e extensão de joelho direito ($p = 0,048$) do que os com genótipo CC. **Conclusões:** Nossos resultados mostraram que as variantes dos genes MLCK2 e COL5A1 estão associadas à composição corporal e resistência muscular dos membros inferiores e que a presença do genótipo AMPD1 CT pode contribuir positivamente para o equilíbrio, o posicionamento correto, a força controlada e a mobilidade do quadril. **Nível de evidência II; Estudo prospectivo comparativo.**

Descritores: Músculo esquelético; Performance atlética; Variação genética.

ABSTRACT

Introduction: Although potential relationships with genetic variants of MLCK2, AMPD1 and COL5A1 have been detected in molecular studies evaluating sports performance from the genetic perspective, there are limited data in terms of muscle endurance and physical fitness. **Materials and Methods:** This study aimed to evaluate these variants in terms of lower limb muscle endurance and physical fitness in thirty-three soccer players. Genotypes were determined by High Resolution Melting (HRM) analysis in qPCR after genomic DNA was isolated from buccal swab samples from the participants. Measurements of lower limb muscle endurance, the dynamic leap and balance test (DLBT), and the standing broad jump test (SBJ) were taken for all the participants. **Results:** Greater height ($p = 0.006$), higher DLBT ($p = 0.016$) and SBJ ($p = 0.033$) scores, as well as greater left hip adduction ($p < 0.001$), were detected in those with the CT genotype for AMPD1 as compared to those with CC. For MLCK rs28497577, it was found that the players carrying the AA genotype were taller ($p = 0.046$), heavier ($p = 0.049$), and had greater left knee extension ($p = 0.014$) and left foot plantar flexion ($p = 0.040$) than those carrying the C allele. Those with the CT genotype for COL5A1 rs12722 had greater right hip extension ($p = 0.040$) and right knee extension ($p = 0.048$) than those with the CC genotype. **Conclusions:** Our results showed that MLCK2 and COL5A1 gene variants are associated with body composition and lower limb muscle endurance, and the presence of the AMPD1 CT genotype may contribute positively to balance, correct positioning, controlled strength, and hip mobility. **Evidence level II; Comparative prospective study.**

Keywords: Skeletal muscle; Athletic performance; Genetic variation.

RESUMEN

Introducción: Aunque se han detectado posibles relaciones entre variantes genéticas de MLCK2, AMPD1 y COL5A1 en estudios moleculares que evalúan el rendimiento atlético desde un punto de vista genético, los datos son limitados en términos de resistencia muscular y aptitud física. **Materiales y Métodos:** El objetivo del estudio era evaluar estas variantes en relación con la resistencia muscular de las extremidades inferiores y la aptitud física en treinta y tres jugadores de fútbol. Los genotipos se determinaron mediante análisis de fusión de alta resolución (HRM) en qPCR después de aislar el ADN genómico de las muestras de hisopos bucales de los participantes. Se realizaron mediciones



de resistência muscular de las extremidades inferiores, prueba de salto dinámico y equilibrio (DLBT) y pruebas de salto amplio de pie (SBJ) en todos los participantes. Resultados: Se detectó una mayor altura ($p = 0,006$), mayor puntuación DLBT ($p = 0,016$) y SBJ ($p = 0,033$), así como una mayor aducción de la cadera izquierda ($p < 0,001$) en los participantes con genotipo CT para AMPD1 en comparación con los que tenían genotipo CC. En el caso de MLCK rs28497577, los jugadores que portaban el genotipo AA tenían mayor estatura ($p = 0,046$), mayor peso ($p = 0,049$), mayor extensión de la rodilla izquierda ($p = 0,014$) y flexión plantar del pie izquierdo ($p = 0,040$) que los que portaban el alelo C. Aquellos con genotipo CT para COL5A1 rs12722 tenían una mayor extensión de la cadera derecha ($p = 0,040$) y de la rodilla derecha ($p = 0,048$) que aquellos con genotipo CC. Conclusiones: Nuestros resultados mostraron que las variantes de los genes MLCK2 y COL5A1 están asociadas con la composición corporal y la resistencia muscular de las extremidades inferiores y que la presencia del genotipo AMPD1 CT puede contribuir positivamente al equilibrio, el posicionamiento correcto, la fuerza controlada y la movilidad de la cadera. **Nivel de evidencia II; Estudio prospectivo comparativo.**

Descriptor: Músculo esquelético; Rendimiento atlético; Variación genética.

DOI: http://dx.doi.org/10.1590/1517-8692202228042021_0180

Artigo recebido em 18/05/2021 aprovado em 05/10/2021

INTRODUÇÃO

A genética do esporte como um sub-ramo da fisiologia do esporte visa examinar os fatores genéticos que afetam o desempenho esportivo a partir de perspectivas fisiológicas, físicas, neurológicas e psicológicas.¹ Nesse eixo, especialmente os polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) são usados com frequência para determinar relações genótipo-fenótipo vantajosas ou desvantajosas em termos de parâmetros de desempenho esportivo. As variantes genéticas hoje identificadas contribuem para a seleção de atletas para jogos em equipe, planejamento individual de exercícios e desenvolvimento de estratégias contra lesões esportivas.²

MLCK2, uma isoforma de Quinases de Cadeia Leve de Miosina (MLCK ou MYLK), tem alta expressão em fibras musculares esqueléticas de contração rápida. O processo bioquímico que começa com a ligação de MLCK2 ao complexo Ca(2+)/calmodulina resulta na fosforilação da cadeia leve e na contração muscular. Embora o mecanismo de MLCK seja importante na fisiologia do músculo liso, seu papel e variantes gênicas no músculo esquelético não foram totalmente caracterizados.³

Em maratonistas espanhóis, rs28497577, que é uma das variantes genéticas "missense" (de sentido incorreto) de MLCK2, o genótipo CC de tipo selvagem foi observado em 88% e o genótipo CA foi observado em 22%, mas o genótipo AA mutante não foi detectado. No mesmo estudo, constatou-se que portadores do genótipo CC tinham proporção de mioglobina sérica alta e força muscular baixa.⁴ Foi observado que os níveis de creatina quinase estavam altos e a flexibilidade muscular era fraca em atletas que realizaram exercícios excêntricos de flexão de cotovelo padrão e os que tinham genótipo AA para rs28497577.⁵ Em outro estudo, foi encontrada uma relação entre a intensidade do exercício e níveis aumentados de creatina quinase e genótipo AA, enquanto a frequência do genótipo foi considerada alta, especialmente em afro-americanos.⁶

A adenosina monofosfato desaminase (AMPD), como um importante regulador do metabolismo da energia celular na biomecânica do esporte, catalisa a desaminação do monofosfato de adenosina (AMP) em monofosfato de inosina (IMP), alterando o equilíbrio de sua reação na direção da formação de ATP.⁷ Determinou-se que a deficiência de AMPD1 e o genótipo TT para rs17602729, uma variante "missense", foram associados ao baixo desempenho aeróbico,^{8,9} enquanto a presença do alelo C foi associada à atividade muscular anaeróbica, alta velocidade e força.¹⁰ Da mesma forma, nenhuma diferença significativa foi encontrada para os genótipos rs17602729 em atletas de elite israelenses,¹¹ enquanto o portador do alelo T foi associado à força explosiva e velocidade em remadores poloneses.¹² Em atletas lituanos, o portador do alelo T foi associado à suscetibilidade a lesões e baixo escore, e o genótipo CC foi associado à força e capacidade de salto.¹³ Por outro lado, houve correlação

entre o transporte do alelo T e a baixa saturação de oxigênio durante a escalada.¹⁴ Em jogadores de futebol brasileiros, constatou-se que o genótipo CC era alto com a corrida em distância, e entre lutadores de sumô,¹⁵ os portadores do alelo T era alto.¹⁶

O colágeno V (COL5) possui diferentes isoformas e a forma mais comum é A1 (COL5A1). Os SNPs de mutação e 3'-UTR de COL5A1, que é um importante regulador da matriz extracelular nas articulações, músculos, tendões e tecidos conectivos, refletem-se na clínica em forma de problemas de elasticidade.¹⁷

Embora tenha sido determinado que os níveis do teste funcional de flexão (FBT) e do teste passivo de elevação da perna estendida (SLR) estavam baixos em atletas adolescentes com genótipo CT para COL5A1 rs12772,¹⁸ essa relação não foi detectada em atletas japoneses.¹⁹ O alto risco de lesão musculoesquelética e o escore de sentar e alcançar (SR) foram determinados em jogadores de futebol da liga profissional italiana com genótipo TT.^{20,21} Embora nenhuma associação tenha sido encontrada para o SNP relevante em corredores brasileiros,²² o alelo C foi associado a resistência a danos em tecidos moles em jogadores de rúgbi.²³ Em atletas do sexo feminino, determinou-se a correlação de ter o alelo T com fadiga e danos musculares.^{24,25}

O objetivo do nosso estudo é examinar em conjunto esses três SNPs, que apresentam resultados diferentes em parâmetros, como desempenho aeróbico, flexibilidade e mobilidade articular em diversos ramos do esporte, em termos de resistência muscular dos membros inferiores e aptidão física em jogadores de futebol.

MATERIAIS E MÉTODOS

Participantes

A amostra da pesquisa foi formada por 33 jogadores de futebol do sexo masculino da Liga Super Amadora, com idades entre 18 e 25 anos, sem diagnóstico de três gerações de doenças genéticas, história de doenças cardiovasculares, lesões esportivas graves e doenças do sistema musculoesquelético. Todos os exames clínicos e medidas laboratoriais nos casos selecionados foram realizados de acordo com a Declaração de Helsinque (2008), com a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa Clínica da Faculdade de Medicina da Universidade de Istambul, número 25/01/2019-02.

Amostragem biológica e genotipagem

Para a amostragem biológica, os participantes foram primeiro solicitados a enxaguar a boca com soro fisiológico e saliva e, em seguida, as células epiteliais foram coletadas por esfregaço no interior das bochechas de 5 a 6 vezes em posição aberta. Depois da coleta por esfregaço, a amostra foi armazenada a -20 °C, até o início dos procedimentos de

laboratório. A extração de DNA genômico foi realizada a partir de amostras de esfregaço bucal retiradas dos participantes usando o QIAamp DNA Mini Kit (ID: 51304, Qiagen, Alemanha), de acordo com as instruções do fabricante. A medição espectrofotométrica foi realizada para avaliar a pureza e a quantidade de DNA genômico.

A qPCR (Rotor-Gene Q Real Time PCR, Qiagen, Alemanha) foi realizada com primers F: 5'-GTGCG-GTGACACAGCTGCCG-3' ve R: 5'-CAGCT-TGGTCAA-AGACATTGAGG-3' para MLCK (rs28497577), F: 5'-CTTCATA-CAGCTGAAGAGACA-3' ve R: 5'- GAATCCAGAAAAGCCATGAGC-3' para AMPD1 (rs17602729), F: 5'-GCAGTCAGCAGCGTGGGTCTGGTTATCT-3' ve R: 5'-TTTGGGGTGGCACTTGACACTGGTTCG-3' para COL5A1 (rs1277) e misturador Master Type-it® HRM (ID: 206544, Qiagen, Alemanha) de amostras de DNA de pureza e quantidade apropriadas. As condições de reação foram as seguintes: retenção inicial a 94 °C por 3 minutos, 35 ciclos de desnaturação a 94 °C por 60 segundos, hibridação a 53 °C por 60 segundos e extensão a 72 °C por 60 segundos, e uma etapa final de extensão de 8 minutos a 72 °C. A determinação do genótipo foi então realizada por análise de HRM por coleta de fluorescência durante uma rampa de temperatura de 52 °C a 95 °C em intervalos de 0,1 °C.

Avaliações de resistência muscular e aptidão física dos membros inferiores

As medidas isocinéticas foram realizadas com dinamômetro manual, com os participantes nas posições adequadas, como decúbito ventral ou dorsal, para a mensuração de cada grupo muscular. O salto dinâmico e o teste de equilíbrio (DLBT) e os testes de salto em distância parado (SBJ) foram avaliados em um dia separado, independentemente dos exames isocinéticos.

No teste DLBT, os participantes ficaram apoiados no membro inferior dominante, enquanto o membro inferior não dominante era semiflexionado. O teste terminava se o participante não conseguisse manter a posição de teste. O tempo de permanência nessa posição foi determinado pelo cronômetro. O teste foi repetido com olhos abertos e fechados. No teste SBJ, quando a articulação do joelho do membro não dominante está semi-infectada e os membros superiores são fixados para trás, os participantes são solicitados a pular para frente. São feitas três medidas e a média é obtida.

Estatística

O método de contagem de genes foi usado na frequência de alelos. O nível de significância estatística foi aceito como $p \leq 0,05$ usando o SPSS versão 20 e a relação entre a resistência muscular, e os valores de desempenho físico foram avaliados pelos genótipos com o teste *t* e o teste U de Mann-Whitney.

RESULTADOS

A média de idade do grupo do estudo foi $19,38 \pm 0,99$ anos. A frequência dos jogadores de acordo com as posições de jogo foi de 14 meio-campistas (42%), 10 zagueiros (30%), 6 atacantes (18%) e 3 goleiros (10%). A média de estatura, peso e IMC dos jogadores foi determinada em $178,68 \pm 6,51$ cm, $72,37 \pm 6,68$ kg e $22,68 \pm 1,90$, respectivamente. A média de DLBT foi de $181,62 \pm 95,87$ segundos com os olhos abertos, e $21,25 \pm 8,30$ segundos com os olhos fechados. A média de SBJ foi $182,59 \pm 15,85$ cm.

A média da extensão do quadril esquerdo foi $301,25 \pm 69,73$ Nm, e a de flexão foi $403,03 \pm 54,32$ Nm. A abdução média do quadril esquerdo foi $197,68 \pm 40,43$ Nm e a adução foi $186,68 \pm 46,13$ Nm. A média da extensão do joelho esquerdo foi $377,25 \pm 64,08$ Nm e a flexão foi $274,25 \pm 50,19$ Nm. A média da dorsiflexão do tornozelo esquerdo foi de $294,96 \pm 33,19$ Nm e a flexão plantar foi $367,21 \pm 81,09$ Nm. A extensão do quadril direito foi de $303,93 \pm 52,35$ Nm e a flexão foi $416,96 \pm 67,48$ Nm. A abdução média do quadril direito foi de $193,75 \pm 32,40$ Nm e a adução foi de $203,12 \pm 35,47$ Nm. A extensão do joelho direito foi $391,71 \pm 56,89$

Nm, e a flexão foi de $292,53 \pm 50,79$ Nm em média. Os valores médios de dorsiflexão e flexão plantar do tornozelo direito foram registrados como $296,65 \pm 34,10$ Nm e $381,75 \pm 77,12$ Nm.

A frequência alélica e genotípica do grupo de estudo é apresentada na Tabela 1. Para MLCK rs28497577, foram detectados dois goleiros com genótipo CC e um com genótipo AA. O genótipo CC foi detectado em 5 atacantes e o genótipo AA foi detectado em 1 atacante. O genótipo CC foi detectado em 8 zagueiros, os genótipos CA e AA em 1 zagueiro cada, respectivamente. O genótipo CC foi detectado em 11 meio-campistas e o genótipo CA em três. Para AMPD1 rs17602729, o genótipo TT não foi detectado em nenhum jogador. O genótipo CC foi detectado em todos os meio-campistas, zagueiros e atacantes, enquanto o genótipo CT foi detectado apenas em goleiros. Para a variante COL5A1 rs12722, nenhum dos 33 jogadores tinha genótipo TT. Por outro lado, o genótipo CC foi detectado em todos os goleiros ($n = 3$), CC foi encontrado em 3 atacantes e o genótipo CT em 3 atacantes. O genótipo CC foi detectado em 7 dos zagueiros e o genótipo CT, em 3 deles. Determinou-se que 10 dos meio-campistas tinham genótipo CC e 4, genótipo CT.

A Tabela 2 mostra a distribuição dos genótipos MLCK2 rs28497577 de acordo com a resistência muscular dos membros inferiores e a aptidão física. Os jogadores portadores do genótipo AA para MLCK2 rs28497577 tinham maior estatura ($p = 0,046$), maior peso ($p = 0,049$), maior extensão do joelho esquerdo ($p = 0,014$) e maior flexão plantar do tornozelo esquerdo ($p = 0,040$) do que os com alelo C.

A distribuição das medidas de resistência muscular e testes de aptidão física de acordo com os genótipos AMPD1 rs17602729 foi mostrada na Tabela 3. Os jogadores com genótipo CT tinham maior estatura ($p = 0,006$), maior score em DLBT ($p = 0,016$) e SBJ ($p = 0,033$) e maior adução de quadril esquerdo ($p < 0,001$) do que os com genótipo CC.

Conforme mostra a Tabela 4, os jogadores com genótipo CT para a variante COL5A1 rs12722 tinham maior extensão do quadril direito ($p = 0,040$) e extensão do joelho direito ($p = 0,047$) do que os com genótipo CC.

Tabela 1. Genótipo e distribuição de alelos nos grupos do estudo.

Variações gênicas	Total de participantes (n=33)	Grupo goleiros (n=3)	Grupo atacantes (n= 6)	Grupo zagueiros (n=10)	Grupo meio-campistas (n= 14)	
Genótipos						
MLCK rs28497577	CC	26 (78,8%)	2 (66,7%)	5 (83,3%)	8 (80,0%)	11 (78,6%)
	CA	4 (12,3%)	-	-	1 (10,0%)	3 (21,4%)
	AA	3 (9,0%)	1 (33,3%)	1 (16,7%)	1 (10,0%)	-
Alelos						
MLCK rs28497577	C	56 (84,85%)	4 (66,7%)	10 (83,3%)	17 (85,0%)	25 (89,3%)
	A	10 (15,15%)	2 (33,3%)	2 (16,7%)	3 (15,0%)	3 (10,7%)
Genótipos						
AMPD1 rs17602729	CC	30 (90,9%)	-	6 (100,0%)	10 (100,0%)	14 (100,0%)
	CT	3 (9,1%)	3 (100,0%)	-	-	-
	TT	-	-	-	-	-
Alelos						
AMPD1 rs17602729	C	63 (95,5%)	3 (50,0%)	12 (100,0%)	20 (100,0%)	28 (100,0%)
	T	3 (4,5%)	3 (50,0%)	-	-	-
Genótipos						
COL5A1 rs1277	CC	23 (69,7%)	3 (100,0%)	3 (50,0%)	7 (70,0%)	10 (71,4%)
	CT	10 (30,3%)	-	3 (50,0%)	3 (30,0%)	4(28,6%)
	TT	-	-	-	-	-
Alelos						
COL5A1 rs1277	C	56 (84,8%)	6 (100,0%)	9 (75,0%)	17 (85,0%)	24 (85,7%)
	T	10 (15,2%)	-	3 (25,0%)	3 (15,0%)	4 (14,3%)

A frequência de genótipos e alelos é apresentada em números (n) e em %. Os valores de p não foram calculados entre os grupos do estudo, porque o número de participantes era limitado.

Tabela 2. Distribuição das medidas de resistência muscular e testes de aptidão física de acordo com os genótipos de MLCK2 rs28497577.

Variáveis	MLCK2 Genótipos	Média ± Desvio padrão	valor de p
Estatura (cm)	AA	187,5±0,5	0,046
	Alelo C	178,1±1,14	
Peso (kg)	AA	75,5±5,5	0,049
	Alelo C	72,2±1,2	
IMC	AA	21,5±1,4	0,353
	Alelo C	22,8±0,3	
Circunferência da cintura (cm)	AA	78,5±1,5	0,829
	Alelo C	79,3±0,9	
DLBT - Olhos abertos (s)	AA	256,5±43,5	0,276
	Alelo C	176,6±18,17	
DLBT - Olhos fechados (s)	AA	29,0±2,1	0,695
	Alelo C	20,7±5,2	
SBJ (cm)	AA	194,0±4,0	0,301
	Alelo C	181,8±2,9	
Extensão do quadril esquerdo (Nm)	AA	307,5±12,5	0,731
	Alelo C	300,8±13,14	
Flexão do quadril esquerdo (Nm)	AA	420,0±50,0	0,656
	Alelo C	401,9±9,93	
Abdução do quadril esquerdo (Nm)	AA	177,5±27,5	0,475
	Alelo C	199,0±7,4	
Adução do quadril esquerdo (Nm)	AA	185,5±45,4	0,971
	Alelo C	186,8±8,43	
Extensão do joelho esquerdo (Nm)	AA	404,0±1,0	0,014
	Alelo C	375,5±12,02	
Flexão do joelho esquerdo (Nm)	AA	258,0±58,0	0,644
	Alelo C	275,3±9,02	
Dorsiflexão do tornozelo esquerdo (Nm)	AA	292,0±32,0	0,899
	Alelo C	295,2±6,07	
Flexão plantar do tornozelo esquerdo (Nm)	AA	460,0±20,0	0,040
	Alelo C	361,0±14,57	
Extensão do quadril direito (Nm)	AA	330,0±50,0	0,476
	Alelo C	302,2±9,50	
Flexão do quadril direito (Nm)	AA	445,0±65,0	0,576
	Alelo C	415,1±12,27	
Abdução do quadril direito (Nm)	AA	181,0±11,0	0,486
	Alelo C	194,6±6,06	
Adução do quadril direito (Nm)	AA	160,0±30,0	0,193
	Alelo C	206,0±6,18	
Extensão do joelho direito (Nm)	AA	410,0±20,0	0,320
	Alelo C	390,5±10,6	
Flexão do joelho direito (Nm)	AA	295,0±85,0	0,838
	Alelo C	292,4±8,67	
Dorsiflexão do tornozelo direito (Nm)	AA	307,5±7,50	0,254
	Alelo C	295,9±35,1	
Flexão plantar do tornozelo direito (Nm)	AA	460,0±40,0	0,184
	Alelo C	382,9±13,98	

O teste t de Student foi usado para determinar a significância entre os genótipos. IMC, índice de massa corporal; DLBT, salto dinâmico e teste de equilíbrio; SBJ, testes de salto em largura parado; Nm, Newton-metro. Os valores p < 0,05 em negrito foram aceitos como estatisticamente significantes.

Tabela 3. Distribuição das medidas de resistência muscular e testes de aptidão física de acordo com os genótipos de AMPD1 rs17602729.

Variáveis	AMPD1 Genótipos	Média ± Desvio padrão	valor de p
Estatura (cm)	CC	177,9±6,3	0,006
	CT	186,7±1,5	
Peso (kg)	CC	72,7±6,8	0,470
	CT	69,7±5,5	
IMC	CC	23,0±1,7	0,07
	CT	20,0±1,3	
Circunferência da cintura (cm)	CC	79,5±5,1	0,422
	CT	77,0±3,0	
DLBT - Olhos abertos (s)	CC	168,3±68,1	0,016
	CT	310,0±105,3	
DLBT - Olhos fechados (s)	CC	17,7±3,7	0,096
	CT	55,7±5,7	
SBJ (cm)	CC	181,0±15,7	0,033
	CT	198,3±5,5	
Extensão do quadril esquerdo (Nm)	CC	301,9±73,2	0,874
	CT	295,0±15,0	
Flexão do quadril esquerdo (Nm)	CC	406,6±55,2	0,252
	CT	368,3±32,5	
Abdução do quadril esquerdo (Nm)	CC	196,7±42,1	0,682
	CT	207,0±20,1	
Adução do quadril esquerdo (Nm)	CC	182,1±46,1	<0,001
	CT	231,0±1,0	
Extensão do joelho esquerdo (Nm)	CC	374,6±64,5	0,468
	CT	403,3±65,5	
Flexão do joelho esquerdo (Nm)	CC	269,9±50,6	0,129
	CT	316,3±16,5	
Dorsiflexão do tornozelo esquerdo (Nm)	CC	292,0±32,9	0,113
	CT	324,0±24,0	
Flexão plantar do tornozelo esquerdo (Nm)	CC	359,7±80,9	0,103
	CT	440,0±40,0	
Extensão do quadril direito (Nm)	CC	305,8±53,7	0,534
	CT	285,7±38,8	
Flexão do quadril direito (Nm)	CC	421,9±68,3	0,201
	CT	369,0±37,7	
Abdução do quadril direito (Nm)	CC	193,9±33,9	0,938
	CT	192,3±12,5	
Adução do quadril direito (Nm)	CC	204,4±36,8	0,521
	CT	190,3±15,5	
Extensão do joelho direito (Nm)	CC	391,9±58,9	0,957
	CT	390,0±40,0	
Flexão do joelho direito (Nm)	CC	290,4±49,5	0,465
	CT	313,3±70,2	
Dorsiflexão do tornozelo direito (Nm)	CC	296,2±35,6	0,821
	CT	301,0±16,5	
Flexão plantar do tornozelo direito (Nm)	CC	384,4±79,7	0,456
	CT	420,0±40,0	

O teste t de Student foi usado para determinar a significância entre os genótipos. IMC, índice de massa corporal; DLBT, salto dinâmico e teste de equilíbrio; SBJ, testes de salto em largura parado; Nm, Newton-metro. Os valores p < 0,05 em negrito foram aceitos como estatisticamente significantes.

DISCUSSÃO

Os dados obtidos nos estudos de genética do esporte contribuirão para a melhoria do desempenho individual e coletivo, identificação de indivíduos talentosos em ramos específicos do esporte no eixo do genótipo e para escolher a posição correta em jogos coletivos. Ao mesmo tempo, um melhor entendimento dos mecanismos da fisiologia do esporte nesse eixo e de problemas médicos, como lesões e lesões em atletas, contribuirão para os processos de avaliação e prática da medicina do esporte.

Apesar de sua alta expressão em fibras musculares de contração rápida, pensamos que MLCK2, que tem poucas informações sobre seu mecanismo fisiológico, pode ser um fator de apoio à inervação

do músculo esquelético. Para MLCK2 rs28497577, determinou-se que, embora o genótipo CC seja vantajoso em termos de força muscular em corredores de maratona, o genótipo AA proporcionava vantagem em termos de composição corporal, extensão do joelho esquerdo e flexão plantar do pé esquerdo.⁴ Existem algumas diferenças em termos de biomecânica do movimento em corredores e jogadores de futebol, grupo em que o membro inferior é ativamente usado. Enquanto o movimento que começa com energia explosiva em corredores de maratona continua com aceleração, em jogadores de futebol, ele continua como flutuações intermitentes e repentinas. Nesse eixo, pode-se pensar que o genótipo AA contribui para contrações repentinas de curto prazo, como apoio/escora. Em nosso estudo, a maior taxa do alelo A em goleiros,

Tabela 4. Distribuição das medidas de resistência muscular e testes de aptidão física de acordo com os genótipos de COL5A1 rs12722.

Variáveis	COL5A1 Genótipos	Média ± Desvio padrão	valor de p
Estatura (cm)	CC CT	178,2±1,5 179,8±5,1	0,524
Peso (kg)	CC CT	71,5±1,4 74,3±2,1	0,279
IMC	CC CT	22,5±0,41 23,0±0,58	0,533
Circunferência da cintura (cm)	CC CT	78,9±1,10 80,1±1,53	0,561
DLBT - Olhos abertos (s)	CC CT	189,7±22,62 163,9±26,23	0,503
DLBT - Olhos fechados (s)	CC CT	25,5±6,75 11,9±5,21	0,213
SBJ (cm)	CC CT	182,7±3,65 182,3±4,22	0,945
Extensão do quadril esquerdo (Nm)	CC CT	287,6±13,58 331,2±24,14	0,102
Flexão do quadril esquerdo (Nm)	CC CT	401,2±9,89 407,1±22,60	0,708
Abdução do quadril esquerdo (Nm)	CC CT	194,7±9,16 204,2±11,17	0,548
Adução do quadril esquerdo (Nm)	CC CT	181,7±10,41 197,7±12,51	0,371
Extensão do joelho esquerdo (Nm)	CC CT	368,4±13,21 396,7±21,36	0,254
Flexão do joelho esquerdo (Nm)	CC CT	274,6±9,20 273,5±20,80	0,956
Dorsiflexão do tornozelo esquerdo (Nm)	CC CT	299,6±7,52 284,7±8,49	0,244
Flexão plantar do tornozelo esquerdo (Nm)	CC CT	368,5±16,18 364,5±30,32	0,901
Extensão do quadril direito (Nm)	CC CT	291,3±8,81 331,8±20,47	0,040
Flexão do quadril direito (Nm)	CC CT	410,7±14,61 430,7±21,03	0,447
Abdução do quadril direito (Nm)	CC CT	196,3±7,03 188,1±10,13	0,515
Adução do quadril direito (Nm)	CC CT	197,7±7,47 215,0±11,13	0,207
Extensão do joelho direito (Nm)	CC CT	379,0±10,34 419,7±20,94	0,050
Flexão do joelho direito (Nm)	CC CT	298,6±10,55 279,1±16,96	0,321
Dorsiflexão do tornozelo direito (Nm)	CC CT	295,5±6,73 299,3±40,8	0,773
Flexão plantar do tornozelo direito (Nm)	CC CT	381,9±16,33 400,6±25,54	0,534

O teste t de Student foi usado para determinar a significância entre os genótipos. IMC, índice de massa corporal; DLBT, salto dinâmico e teste de equilíbrio; SBJ, testes de salto em largura parado; Nm, Newton-metro. Os valores $p < 0,05$ em negrito foram aceitos como estatisticamente significantes.

com 33,3%, entre todas as posições, apoia essa ideia. A frequência do alelo A foi observada em 16,7% dos atacantes, 10% dos zagueiros e 0% dos meio-campistas. Considerando que os meio-campistas percorrem distâncias maiores do que os zagueiros e atacantes, mas que a atividade é leve e moderadamente prolongada, isso nos faz pensar que o portador do alelo A não é vantajoso para a posição de meio-campistas.

Foi relatado na literatura que o genótipo AA pode estar associado a níveis elevados de creatina quinase, perda de flexibilidade e dano muscular.^{5,6} A hipertrofia, que ocorre como resultado de exercícios voltados ao desenvolvimento dos músculos regionais, está associada ao aumento do nível de creatina quinase, e atinge nível crítico em caso de lesão muscular. Na situação ambivalente, que pode ser vista como a

desvantagem do benefício em termos de hipertrofia muscular, os exercícios não intensos e com distribuição no tempo podem ser preferidos, principalmente nos que têm genótipo AA nesse SNP.

Foi determinado que o alelo C para a variante rs17602729 de AMPD1, que também desempenha um papel na desaminação de AMP, está associado à velocidade e força em ramos esportivos distintos, e a frequência portadora do alelo T foi relatada como superior a 13%.^{10,11,12} Em nosso estudo, verificou-se que a frequência do alelo T é de aproximadamente 4,5% em jogadores de futebol turcos. Embora o genótipo TT não tenha sido encontrado em nenhum jogador de futebol, constatou-se que todos os goleiros tinham genótipo CT. Examinando a relação entre variantes genéticas e lesões esportivas em jogadores de futebol do sexo masculino, o estudo descobriu que os genótipos TT e CT estavam associados ao risco de lesões e baixos escores de jogo para AMPD1 rs17602729.²⁶ Em atletas de elite lituanos, relações significativas foram verificadas em termos de escore de genótipo total que consiste em marcadores genéticos e suscetibilidade ao desempenho atlético, que foram examinados em modelos de regressão logística mista de resistência-força, em termos de gênero, resistência e força. Para AMPD1 rs17602729, um desses marcadores genéticos, o genótipo TT foi detectado em apenas dois casos na amostra, e foram determinados dados que indicam que ele pode estar associado ao escore de potência.²⁷ Em apoio a esses estudos, nossa pesquisa constatou que o equilíbrio e os grupos musculares dos membros inferiores foram associados à resistência em jogadores de futebol com genótipo CT. Foram encontradas diferenças significativas em estudos de interação multilocus, incluindo AMPD1 rs17602729, em corredores de maratona poloneses classificados de acordo com o tempo de corrida. Além disso, semelhante ao nosso estudo, o genótipo CC foi dominante na amostra, e foi determinado que o portador do alelo T completou a distância de corrida mais rápido do que os que portavam CC.²⁸ Embora os dados da literatura e nossos próprios achados sugiram que ser portador do alelo T propicia vantagem em termos de corrida e força, deve-se observar que a potência eventual pode ser um fator adicional para o desencadeamento de lesões esportivas se o posicionamento e o controle corretos não forem aplicados. Se olharmos essa situação do ponto de vista que os goleiros permanecem passivos durante o jogo e usam a força explosiva de curto prazo em comparação com jogadores de outras posições, isso sugere que o genótipo CT pode ser um fator importante no equilíbrio de velocidade e força.

A distribuição do genótipo para a variante rs12722 de COL5A1, um dos reguladores da matriz extracelular, não pôde ser associada a lesões musculoesqueléticas em jogadores de futebol poloneses²⁹ e caucasianos que têm atividade física intensa e os que são sedentários.³⁰ Por outro lado, em estudos nos quais a variante COL5A1 rs12722 foi avaliada no eixo do desempenho físico, determinou-se que ela apresentou correlação negativa com os escores de FBT e SLR em atletas com genótipo CT;¹⁸ em outro estudo verificou-se que o genótipo TT foi associado aos escores SLR e SR.²⁰ Embora não tenhamos detectado o genótipo TT em nosso estudo, o genótipo CT foi observado em taxa de 30,3%. Enquanto o genótipo CT não foi detectado em goleiros, os atacantes (50,0%) foram seus maiores portadores, seguidos por zagueiros (30,0%) e meio-campistas (28,6%). Considerando que os atacantes executam *sprints* mais longos do que os meio-campistas e os zagueiros, acredita-se que o portador do genótipo CT pode ter um efeito funcional sobre a resistência muscular dos membros inferiores. Considerando que o genótipo TT aumenta o risco de lesão musculoesquelética em jogadores de futebol italianos,²¹ e a relação entre o ter o alelo C e a resistência a danos nos tecidos moles em outro estudo^{23,25} sugere-se que o genótipo heterozigoto CT pode ser um fator de equilíbrio em termos de uso de força muscular. Embora haja dados originais e relatados pela primeira vez em nosso estudo, o baixo

número de casos e o fato de que as medidas de resistência muscular não foram avaliadas em conjunto com os genótipos antes e depois da aplicação de um modelo de treinamento específico para resistência muscular de membros inferiores é um fator limitante.

CONCLUSÕES

Embora tenhamos realizado nosso estudo em uma amostra pequena, o alelo mutante ou genótipo heterozigoto foi detectado em todos os SNPs de MLCK2, AMPD1 e COL5A1. As frequências alélicas e genotípicas são semelhantes às obtidas em diferentes ramos do esporte na literatura. Na variante MLCK2 rs28497577, estatura, peso, extensão do joelho e flexão plantar do tornozelo foram significativamente maiores nos portadores de genótipos AA mutantes em comparação com outros genótipos.

Na variante AMPD1 rs17602729, a estatura, o tempo de equilíbrio, a distância do salto e a adução do quadril foram significativamente maiores em pacientes heterozigotos com CT. Na variante COL5A1 rs12722, a diferença significativamente maior foi na direção da extensão do quadril e joelho nos que tinham CT.

À luz desses dados, pensamos que alelos mutantes ou genótipos dos três SNPs podem ter efeitos funcionais em termos de resistência muscular e aptidão física. Não se deve esperar que essa situação aumente a lesão e a incapacidade do atleta devido a movimentos descontrolados excessivos com efeito de resposta hipertrófica excessiva e fatores psicossomáticos.

Todos os autores declararam não haver qualquer potencial conflito de interesses referente a este artigo.

CONTRIBUIÇÃO DE AUTORES: Cada autor contribuiu individual e significativamente para o desenvolvimento deste artigo. CH, elaboração do desenho do estudo, análise de dados e redação do artigo. HEA e AK, medição da resistência muscular. TB, avaliação de resultados fisioterapêuticos apresentados neste artigo. AG, estudos de laboratório. ŞH, revisão das tabelas e fontes do artigo. ÜZİ Y e ÖK, consultoria das avaliações estatísticas. CH, organização, estágios experimentais e redação. Todos os autores leram e aprovaram a versão final do artigo.

REFERÊNCIAS

1. Tanisawa K, Wang G, Seto J, Verdouka I, Twycross-Lewis R, Karanikolou A, et al. Sport and exercise genomics: the FIMS 2019 consensus statement update. *Br J Sports Med.* 2020;54(16):969-75.
2. Collins M, O'Connell K, Posthumus M. Genetics of Musculoskeletal Exercise-Related Phenotypes. *Med Sport Sci.* 2016;61:92-104.
3. McCarthy MR, Savich Y, Cornea RL, Thomas DD. Resolved Structural States of Calmodulin in Regulation of Skeletal Muscle Calcium Release. *Biophys J.* 2020;118(5):1090-100.
4. Del Coso J, Valero M, Lara B, Salinero JJ, Gallo-Salazar C, Arces F. Myosin Light Chain Kinase (MLCK) Gene Influences Exercise Induced Muscle Damage during a Competitive Marathon. *PLoS One.* 2016;21(8):e0160053.
5. Clarkson PM, Hoffman EP, Zambraski E, Gordish-Dressman H, Kearns A, Hubal M, et al. ACTN3 and MLCK genotype associations with exertional muscle damage. *J Appl Physiol* (1985). 2005;99(2):564-9.
6. Landau ME, Kenney K, Deuster P, Gonzalez RS, Contreras-Sesvold C, Sambuughin N, et al. Investigation of the relationship between serum creatine kinase and genetic polymorphisms in military recruits. *Mil Med.* 2012;177(11):1359-65.
7. Rubio JC, Martín MA, Rabadán M, Gómez-Gallego F, San Juan AF, Alonso JM, et al. Frequency of the C34T mutation of the AMPD1 gene in world-class endurance athletes: does this mutation impair performance? *J Appl Physiol* (1985). 2005;98(6):2108-12.
8. Fischer H, Esbjörnsson M, Sabina RL, Strömberg A, Peyrard-Janvid M, Norman B. AMP deaminase deficiency is associated with lower sprint cycling performance in healthy subjects. *J Appl Physiol* (1985). 2007;103(1):315-22.
9. Lucia A, Martín MA, Esteve-Lanao J, San Juan AF, Rubio JC, Oliván J, et al. C34T mutation of the AMPD1 gene in an elite white runner. *Br J Sports Med.* 2006;40(3):e7.
10. Fedotovskaya ON, Danilova AA, Akhmetov II. Effect of AMPD1 gene polymorphism on muscle activity in humans. *Bull Exp Biol Med.* 2013;154(4):489-91.
11. Meckel Y, Nemet D, Alves AJ. The AMPD1 C34T mutation is not associated with the status of Israeli athletes. *Eur J Sport Sci.* 2012;12(3):244-8.
12. Cięszczyk P, Eider J, Ostanek M, Leońska-Duniec A, Ficek K, Kotarska K, et al. Is the C34T polymorphism of the AMPD1 gene associated with athlete performance in rowing? *Int J Sports Med.* 2011;32(12):987-91.
13. Ginevičienė V, Jakaitienė A, Prančulis A, Milašius K, Tubelis L, Utkus A. AMPD1 rs17602729 is associated with physical performance of sprint and power in elite Lithuanian athletes. *BMC Genet.* 2014;15:58.
14. Thomaes T, Thomis M, Onkelinx S, Fagard R, Mattheijs G, Buys R, et al. A genetic predisposition score for muscular endophenotypes predicts the increase in aerobic power after training: the CAREGENE study. *BMC Genet.* 2011;12:84.
15. Dionísio TJ, Thiengo CR, Brozoski DT, Dionísio EJ, Talamoni GA, Silva RB, et al. The influence of genetic polymorphisms on performance and cardiac and hemodynamic parameters among Brazilian soccer players. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2017;42(6):596-604.
16. Bondareva EA, Godina EZ. Search for association between C/T polymorphism of AMPD1 gene and sports achievement in sambo wrestling. *Theory and Practice of Physical Culture.* 2016;6:13-13.
17. Khoshnoodi J, Cartailleur JP, Alvares K, Veis A, Hudson BG. Molecular recognition in the assembly of collagens: terminal noncollagenous domains are key recognition modules in the formation of triple helical protomers. *J Biol Chem.* 2006;281(50):38117-21.
18. Stastny P, Lehnert M, De Ste Croix M, Petr M, Svoboda Z, Maixnerova E, et al. Effect of COL5A1, GDF5, and PPARA Genes on a Movement Screen and Neuromuscular Performance in Adolescent Team Sport Athletes. *J Strength Cond Res.* 2019;33(8):2057-65.
19. Miyamoto-Mikami E, Miyamoto N, Kumagai H, Hirata K, Kikuchi N, Zempo H, et al. COL5A1 rs12722 polymorphism is not associated with passive muscle stiffness and sports-related muscle injury in Japanese athletes. *BMC Med Genet.* 2019;20(1):192.
20. Collins M, Mokone GG, September AV, van der Merwe L, Schwellnus MP. The COL5A1 genotype is associated with range of motion measurements. *Scand J Med Sci Sports.* 2009;19(6):803-10.
21. Massidda M, Bachis V, Corrias L, Piras F, Scorcu M, Calò CM. Influence of the COL5A1 rs12722 on musculoskeletal injuries in professional soccer players. *J Sports Med Phys Fitness.* 2015;55(11):1348-53.
22. Bertuzzi R, Pasqua LA, Bueno S, Lima-Silva AE, Matsuda M, Marquezini M, et al. Is the COL5A1 rs12722 gene polymorphism associated with running endurance? *PLoS One.* 2014;9(9):e106581.
23. Heffernan SM, Kilduff LP, Erskine RM, Day SH, Stebbings GK, Cook CJ, et al. COL5A1 gene variants previously associated with reduced soft tissue injury risk are associated with elite athlete status in rugby. *BMC Genomics.* 2017;18(suppl 8):820.
24. Sivertsen EA, Haug KBF, Kristianslund EK, Trøseid AS, Parkkari J, Lehtimäki T, et al. No Association Between Risk of Anterior Cruciate Ligament Rupture and Selected Candidate Collagen Gene Variants in Female Elite Athletes From High-Risk Team Sports. *Am J Sports Med.* 2019;47(1):52-8.
25. Baumert P, G-REX Consortium, Stewart CE, Lake MJ, Drust B, Erskine RM. Variations of collagen-encoding genes are associated with exercise-induced muscle damage. *Physiol Genomics.* 2018;50(9):691-3.
26. McCabe K, Collins C. Can Genetics Predict Sports Injury? The Association of the Genes GDF5, AMPD1, COL5A1 and IGF2 on Soccer Player Injury Occurrence. *Sports (Basel).* 2018;6(1):21.
27. Pranckeviciene E, Ginevičienė V, Jakaitienė A, Januska L, Utkus A. Total Genotype Score Modelling of Polygenic Endurance-Power Profiles in Lithuanian Elite Athletes. *Genes (Basel).* 2021;12(7):1067.
28. Groniek P, Groniek J, Lulińska-Kuklik E, Spieszny M, Niewczas M, Kaczmarczyk M, et al. Polygenic Study of Endurance-Associated Genetic Markers NOS3 (Glu298Asp), BDKRB2 (-9/+9), UCP2 (Ala55Val), AMPD1 (Gln45Ter) and ACE (I/D) in Polish Male Half Marathoners. *J Hum Kinet.* 2018;64:87-98.
29. Lulińska-Kuklik E, Rahim M, Domańska-Senderowska D, Ficek K, Michałowska-Sawczyn M, Moska W, et al. Interactions between COL5A1 gene and risk of the anterior cruciate ligament rupture. *J Hum Kinet.* 2018;62:65-71.
30. Leźnicka K, Żyżniewska-Banaszak E, Gębska M, Machoy-Mokrzyńska A, Krajewska-Pędzik A, Maciejewska-Skrendo A, et al. Interactions between Gene Variants within the COL1A1 and COL5A1 Genes and Musculoskeletal Injuries in Physically Active Caucasian. *Genes (Basel).* 2021;12(7):1056.