



# Polimorfismos genéticos determinantes da *performance* física em atletas de elite

Rodrigo Gonçalves Dias<sup>1,2,3</sup>, Alexandre da Costa Pereira<sup>1</sup>, Carlos Eduardo Negrão<sup>2</sup> e José Eduardo Krieger<sup>1</sup>

## RESUMO

Este artigo direciona-se à revisão de publicações sobre os “genes candidatos” e sua relação com os fenótipos de *performance* física humana em atletas de elite. Nosso objetivo é trazer ao conhecimento do leitor informações atualizadas sobre marcadores e variantes genéticas que podem levar certos indivíduos a sobressair-se em modalidades esportivas específicas. Além disso, serão descritos os mecanismos pelos quais um gene pode contribuir para a *performance* física, detalhando em cada momento as propriedades celulares, fisiológicas e moleculares do sistema em questão. Por esse motivo, limitamos nossa discussão a um número pequeno de variantes genéticas: polimorfismos R577X do gene da  $\alpha$ -actinina 3 (ACTN3), C34T do gene da AMP deaminase (AMPD1), I/D da enzima conversora de angiotensina (ECA), -9/+9 do receptor  $\beta_2$  de bradicinina (BDKRB2) e 985+185/1170 do gene da enzima creatina quinase M (CK-M). Esperamos com este artigo informar e sensibilizar o leitor para o fato de que a identificação de talentos e a otimização do potencial individual do atleta, com conseqüente sucesso no esporte, estão diretamente associados a variantes genéticas.

## ABSTRACT

### **Genetic polymorphisms determining of the physical performance in elite athletes**

*This article is focused on the review of studies looking for “candidate genes” and their relationship with physical performance phenotypes in elite athletes. Our goal is to bring to readers what makes some individuals excel in some sports modalities, based on variants in genetic loci and markers. In addition, we assume the necessity to describe by what mechanisms a gene can contribute in physical performance, detailing in each part the cellular, physiological and molecular pathways involved. For this reason, we limited our discussion to a small number of genetic variants: polymorphisms R577X  $\alpha$ -actinin 3 gene (ACTN3), C34T AMP deaminase gene (AMPD1), I/D angiotensin converting enzyme gene (ACE), -9/+9  $\beta_2$  bradykinin receptor gene (BDKRB2), and 985+185/1170 creatine kinase M gene (CK-M). We hope that this article bring some new information and refine the knowledge to the fact*

1. Laboratório de Genética e Cardiologia Molecular, Instituto do Coração – InCor (HC-FMUSP), São Paulo, SP.

2. Unidade de Reabilitação Cardiovascular e Fisiologia do Exercício, Instituto do Coração – InCor (HC-FMUSP), São Paulo, SP.

3. Laboratório de Estudo Cardiovascular, Departamento de Fisiologia e Biofísica/IB, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP.

Aceito em 15/7/06.

**Endereço para correspondência:** Dndo. Rodrigo Gonçalves Dias, Laboratório de Genética e Cardiologia Molecular, Instituto do Coração – InCor (HC-FMUSP), Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 44 (10º andar), Cerqueira César – 05403-000 – São Paulo, SP, Brasil. Tel.: (5511) 3069-5579/5068, fax: (5511) 3069-5022. E-mail: diasrg99@yahoo.com.br

**Palavras-chave:** Genes. Polimorfismo genético. *Performance* física humana.

**Keywords:** Gene. Genetic polymorphism. Human physical performance.

*that the process of talent identification and an individual athletic potential maximization resulting in sport success are strongly associated with genetic variants.*

## INTRODUÇÃO

O fenômeno da *performance* física humana em modalidades esportivas específicas sempre foi alvo de interesse de médicos especialistas em medicina desportiva e fisiologistas do exercício. Esses profissionais confirmavam os níveis *outline* de *performance* de seus atletas a partir de análises morfológicas e funcionais, utilizando-se para isso de técnicas histoquímicas, dosagens bioquímicas e análise de parâmetros cardiopulmonares. Acreditava-se que os altos níveis de *performance* dos atletas eram decorrentes de treinamento e acompanhamento nutricional específicos, fatores estes essenciais para o desenvolvimento das características dos *atletas de elite*. No entanto, tais fatores ambientais, por si sós, se mostraram, ao longo do tempo, insuficientes para caracterizar um fenótipo de *status* em *performance* física humana. A partir dessa constatação 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.

A identificação da estrutura do ácido desoxirribonucléico (DNA), por James Watson e Francis Crick, em 1953, e o rápido avanço das técnicas de biologia molecular tornaram possível a identificação de seqüências variantes no DNA de genes específicos, relacionando tal heterogeneidade gênica a diferentes fenótipos<sup>(1)</sup>. 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<sup>(2)</sup>. Uma alteração na seqüência de bases do DNA de um gene que codifica uma proteína pode influenciar tanto sua expressão quanto sua atividade. Dessa forma, uma modificação na seqüência de nucleotídeos no cromossomo 10 q24-q26, isto é, gene que codifica o adrenoceptor  $\alpha_{2A}$ , que ao ser estimulado por catecolaminas no tecido adiposo inibe a lipólise, poderia alterar os níveis plasmáticos de ácidos graxos livres durante o exercício. Portanto, um polimorfismo que aumentasse a afinidade desse receptor por seu ligante reduziria a oferta do substrato, sugerindo um suprimento inadequado à demanda energética de atletas de resistência em provas de longa duração.

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”<sup>(3)</sup>. 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<sup>(4)</sup>. 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<sup>(6)</sup>. 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.

Um grande número de genes e marcadores genéticos já está documentado, mostrando associação com fenótipos de *performance* física e de boa condição física relacionada à saúde. Não obstante, nosso objetivo é trazer ao leitor o conhecimento sobre a importância de algumas variantes genéticas nos fenótipos relacionados à *performance* física humana em atletas de elite. A atenção estará voltada a alguns genes com potencial de influenciar o desempenho de atletas em modalidades que exigem resistência ou força/potência muscular, discutindo detalhadamente, para cada um deles, os mecanismos biológicos pelos quais o polimorfismo contribui para a caracterização do indivíduo como um atleta de elite.

### POLIMORFISMO R577X DO GENE DA $\alpha$ -ACTININA 3 (ACTN3)

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, sintetizam isoformas de cadeia pesada da miosina (MHC), determinando, em parte, a distribuição percentual dos diferentes tipos de fibra no músculo. Aproximadamente 45% das variações do tipo de fibra no músculo são explicadas por fatores genéticos<sup>(6)</sup>. Essa distribuição constitui-se num dos fatores determinantes da *performance* em modalidades esportivas.

Independente da heterogeneidade e da distribuição dos diferentes tipos de fibra na musculatura esquelética, a contração muscular é dependente da interação das proteínas miofibrilares miosina e actina<sup>(7)</sup>. 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, a  $\alpha$ -actinina constitui a proteína predominante. Ela é uma componente da linha Z sarcomérica<sup>(8)</sup>, pertencente à família das proteínas ligantes da actina, importante no ancoramento dos miofilamentos de actina e manutenção do arranjo miofibrilar<sup>(8)</sup>. Quatro genes para a  $\alpha$ -actinina foram descritos em humanos (ACTN1, 2, 3 e 4), sendo as isoformas 2 e 3 constituintes do citoesqueleto muscular<sup>(9)</sup>. 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<sup>(10-12)</sup>.

Foi identificada no gene ACTN3 a troca de nucleotídeo C  $\rightarrow$  T na posição 1.747 do éxon 16, isto é, uma mutação resultante na conversão do aminoácido arginina num *stop codon* prematuro no resíduo 577 (R577X)<sup>(13-14)</sup>. Indivíduos homocigotos para o alelo 577X não expressam a  $\alpha$ -actinina 3<sup>(15)</sup>. Curiosamente, a deficiência da  $\alpha$ -actinina 3 não resulta num fenótipo patológico como distrofia muscular ou miopatias<sup>(14)</sup>, sugerindo que a isoforma ACTN2 (81% de homologia na seqüência de aminoácidos) poderia compensar a ausência da  $\alpha$ -actinina 3<sup>(15)</sup>. Yang *et al.*<sup>(10)</sup> demonstraram haver associação entre os diferentes genótipos da ACTN3 e a *performance* em atletas de elite. Se a  $\alpha$ -actinina 3 desempenha importante função em fibras musculares do tipo II, seria razoável prever diferenças na função muscular esquelética entre indivíduos com diferentes genótipos (R577X) para ACTN3. Para alguns<sup>(6)</sup>, indivíduos que expressam o gene ACTN3 (genótipos RR ou RX) podem apresentar vantagem em modalidades que exigem explosão e força muscular quando comparados com indivíduos com genótipo XX. Para testar tal hipótese, Yang *et al.*<sup>(10)</sup> compararam os genótipos e a freqüência dos alelos de 107 atletas de elite velocistas/força (72 masculinos e 35 femininos), 194 atletas de elite de provas de res-

sistência (122 masculinos e 72 femininos) e 436 indivíduos saudáveis não atletas, todos genotipados para o gene ACTN3. Esses autores verificaram uma diferença significativa na freqüência dos alelos entre os atletas velocistas/força e os indivíduos controles, tanto para o sexo masculino ( $p < 0,001$ ) quanto para o feminino ( $p < 0,01$ ). Esses atletas, quando analisados no total (72 masculinos + 35 femininos = 107) apresentaram menor freqüência do genótipo XX quando comparados com os indivíduos controles (6% vs. 18%, respectivamente). Das 35 atletas velocistas/força (sexo feminino), nenhuma apresentou genótipo XX. Quando analisados no total, atletas velocistas/força (107 indivíduos) apresentaram maior freqüência do genótipo RR e menor freqüência do genótipo RX (50% e 45%, respectivamente), comparados com grupo controle (39% e 52%, respectivamente). O ponto interessante do estudo foi a comparação entre atletas velocistas/força e atletas de resistência que mostraram freqüência dos alelos em direções opostas, sendo os valores significativamente diferentes para ambos os sexos. A freqüência do genótipo XX no sexo masculino foi de 20% para atletas de resistência e 8% para atletas de velocistas/força; no sexo feminino 29% para atletas de resistência e 0% para atletas velocistas/força. A freqüência do genótipo RR no sexo masculino foi de 28% para atletas de resistência e 53% para atletas velocistas/força; no sexo feminino 36% para atletas de resistência e 43% para atletas de velocistas/força.

O aparente benefício da presença do alelo 577R em atletas velocistas/força é consistente com a localização da  $\alpha$ -actinina 3 em fibras da musculatura esquelética de rápida contração. Por outro lado, alguns<sup>(5)</sup> sugerem que a ausência da expressão do gene ACTN3 (genótipo XX) estaria relacionada à melhor *performance* em provas de resistência. No entanto, os mesmos autores alertam para o fato de que estudos de associação em genética apresentam limitações e que a interpretação da associação de um único gene com um determinado fenótipo deve ser cautelosa.

Em adição à sua função estrutural na maquinaria contrátil muscular, as  $\alpha$ -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<sup>(5)</sup>.

### POLIMORFISMO C34T DO GENE DA AMP DEAMINASE (AMPD1)

Durante contrações musculares intensas e de curta duração, a súbita demanda de ATP excede a capacidade da célula de sua ressíntese. A depleção do ATP, nessa situação, pode atingir valores de aproximadamente 40%<sup>(16-17)</sup>. O conseqüente aumento do ADP (queda na razão ATP/ADP) em atividade contrátil intensa, isto é, um fator inibidor do processo contrátil<sup>(18)</sup> e componente característico da fadiga muscular<sup>(19)</sup>, é antagonizado por vias bioquímicas, mediadas por enzimas com atividade quinase e deaminase. Na tentativa de manter as necessidades energéticas da célula, a reação catalisada pela AMP deaminase ( $AMP \rightarrow IMP + NH_3$ ) minimiza indiretamente o acúmulo de ADP por remover o AMP e deslocar o equilíbrio da reação da adenilato quinase ( $2ADP \rightarrow ATP + AMP$ )<sup>(18)</sup>. Essa reação catalisada pela AMP deaminase e ativada durante a atividade metabólica intensa no músculo esquelético é mediada pela isoforma M (mioadenilato deaminase) codificada pelo gene AMPD1, localizado no cromossomo 1 p13-p21<sup>(20)</sup>. Essa isoforma corresponde a mais de 95% do total de AMPD<sup>(21)</sup> e está presente principalmente em fibras musculares do tipo II<sup>(22)</sup>. Uma mutação do tipo *nonsense*, transição do nucleotídeo C  $\rightarrow$  T na posição 34 do éxon 2 do gene AMPD1, converte o códon CAA (glutamina) num *stop codon* (TAA), resultando na interrupção prematura da síntese da proteína<sup>(23)</sup>. Em conseqüência, indivíduos que apresentam a seqüência polipeptídica mutante, homocigoto TT ou heterocigoto CT apresentam, respectivamente, menor e intermediária atividade enzimática da mioadenilato deaminase, quando comparados com os indivíduos homocigotos CC<sup>(24)</sup>. Segundo al-

guns<sup>(25-26)</sup>, parte da população que expressa o gene mutante (2% da população caucasiana é homocigota e aproximadamente 20% é heterocigota) é suscetível a sintomas de câimbras musculares, dores e fadiga prematura durante exercícios.

De forma geral, o *rationale* para a reduzida capacidade ao exercício em conexão com a deficiência de mioadenilato deaminase estaria fundamentada no acentuado acúmulo de ADP e AMP durante o exercício<sup>(18)</sup>. Para testar essa hipótese, alguns investigadores utilizaram um teste com exercícios de curta duração e alta intensidade (Wingate) em 18 indivíduos com diferentes genótipos para AMPD1. O teste de Wingate, teste de potência anaeróbia com duração de 30 segundos, induz expressiva ativação da AMP deaminase<sup>(27-28)</sup>. Eles não verificaram diferença no pico de potência e na média da potência gerada durante os 30 segundos de teste entre os diferentes genótipos. No entanto, apesar de a distribuição dos tipos de fibra entre os genótipos CC (*wild-type*), CT e TT (mutante) ser semelhante (51%, 48% e 62% de fibras do tipo I, respectivamente), foi verificada pronunciada diferença na atividade da enzima AMP deaminase, com valores variando de 1.010-2.169mmol/kg tecido seco/min. para CC, 337-632mmol/kg tecido seco/min. para CT e 4-14mmol/kg tecido seco/min. para TT. Homocigotos para o gene mutante têm atividade da AMP deaminase inferior a 1% da atividade enzimática encontrada nos indivíduos *wild-type*. Consistente com a baixa atividade da AMP deaminase encontrada em indivíduos TT, não foi verificado aumento nos níveis de amônia (NH<sub>3</sub>) após o exercício, nem acúmulo de IMP. Paralelamente, foi verificado aumento de 25 vezes no conteúdo de adenosina no músculo de indivíduos TT após o exercício e modesto aumento de duas vezes em indivíduos CT. A adenosina é um metabólito proveniente da desfosforilação da AMP, pela enzima citosólica 5' nucleotidase e mediadora de vasodilatação, exercendo importante papel na regulação do fluxo sanguíneo coronário e menor importância na regulação do fluxo sanguíneo muscular<sup>(29-30)</sup>. A enzima 5' nucleotidase é abundante na musculatura estriada cardíaca e esquelética e, neste estudo, mostrou desfosforilar mais AMP em adenosina na presença do genótipo mutante em decorrência da reduzida atividade da AMP deaminase. Esse reduzido fluxo pela via da AMP deaminase e conseqüente aumento de 25 e duas vezes no conteúdo muscular de adenosina nos genótipos TT e CT, respectivamente, sugere aumento do fluxo sanguíneo local, o que pode favorecer o metabolismo oxidativo local. O maior acúmulo de AMP pode ainda ativar proteínas quinase ativadas por AMP, o que parece aumentar a oxidação de ácidos graxos e o transporte de glicose do sangue para o músculo<sup>(31)</sup>.

Rico-Sanz *et al.*<sup>(32)</sup>, buscando associação entre o polimorfismo C34T da AMPD1 e fenótipos cardiorrespiratórios e de *performance*, submetem indivíduos sedentários a um programa de treinamento físico por 20 semanas. Esses autores verificaram que: 1) antes do início do treinamento, os indivíduos com genótipo TT apresentaram maiores valores de percepção de esforço (escala de Borg), comparados com os indivíduos dos genótipos CT e CC ( $P = 0,0002$ ). Além disso, a carga absoluta de 50W representava intensidade relativa de exercício 7% superior nos indivíduos TT quando comparados com os indivíduos CT e CC; 2) após o período de treinamento, os valores de ventilação minuto máxima,  $\dot{V}O_{2\text{máx}}$  e  $\dot{V}CO_{2\text{máx}}$  eram menores nos indivíduos TT ( $P = 0,01$ ). Esses resultados sugerem que indivíduos homocigotos para o alelo mutante apresentam capacidade ao exercício reduzida quando sedentários e menor adaptação ventilatória em resposta ao treinamento.

Rubio *et al.*<sup>(33)</sup> foram os primeiros a verificar a distribuição do polimorfismo C34T do gene da AMPD1 em atletas de elite de resistência (ciclistas e corredores). Esses autores observaram frequência de 4,8% do alelo T nesses atletas, enquanto em indivíduos saudáveis não atletas a frequência foi de 8,5% (~50% superior). Entre os atletas, não foi verificada diferença no  $\dot{V}O_{2\text{máx}}$ , limiar ventilatório e ponto de compensação respiratória entre os diferentes genótipos. Apesar de alguns autores<sup>(34-36)</sup> terem veri-

cado que o acúmulo de AMP pode ocorrer também durante exercício submáximo prolongado até a exaustão (ex.: 70-75% do  $\dot{V}O_{2\text{máx}}$ ), particularmente na presença de baixa reserva muscular de glicogênio, não fica descartada a possibilidade de que uma potencial limitação do estudo estaria no fato de esses atletas não estarem enquadrados em modalidades de curta duração e intensidade supramáxima (ex.: > 110% do  $\dot{V}O_{2\text{máx}}$ ).

## POLIMORFISMO I/D DA ENZIMA CONVERSORA DE ANGIOTENSINA (ECA)

O sistema renina-angiotensina (SRA) endócrino desempenha importante função no controle e homeostasia do sistema circulatório humano<sup>(37)</sup>. Produzida pelas células renais justaglomerulares, um tipo modificado de célula muscular lisa localizada nas arteríolas aferentes, a renina atua sobre a globulina angiotensinogênio, liberando um peptídeo de 10 aminoácidos, a angiotensina I. Esse peptídeo possui propriedades vasoconstritoras leves, porém, quando clivada num peptídeo de oito aminoácidos, angiotensina II (Ang II), por ação da enzima conversora de angiotensina (ECA), adquire capacidade vasoconstritora das mais relevantes. Essa resposta fisiológica é mediada predominantemente por ação em receptores específicos para Ang II (AT<sub>1</sub> e AT<sub>2</sub>) localizados na superfície celular<sup>(3)</sup>. Além da sua 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 supra-renais<sup>(3,37)</sup>. Tem sido documentada também a existência de SRA nos tecidos cardíaco<sup>(38-39)</sup>, adiposo<sup>(40)</sup> e muscular esquelético<sup>(41)</sup>. Outra função determinante da ECA concentra-se na hidrólise da bradicinina pela remoção de um dipeptídeo da região C terminal<sup>(42)</sup>, o que provoca sua desativação. A bradicinina é um peptídeo de ação vasodilatadora e inibidora do crescimento celular e promove seu efeito por ação em receptores específicos B<sub>1</sub>R e B<sub>2</sub>R<sup>(43)</sup>.

O gene da ECA (21 Kbp) está localizado no cromossomo 17 q23 e é composto de 26 éxons<sup>(42)</sup>. Uma variante genética comum no gene da ECA foi descrito e consiste na ausência (deleção ou alelo "D") ou presença (inserção ou alelo "I") de 287 pares de base no íntron 16<sup>(2)</sup>. O alelo D está associado com níveis circulatório e tecidual aumentados de ECA<sup>(44-45)</sup>. O polimorfismo I/D da ECA tem atraído considerável atenção a respeito de sua associação com a *performance* física humana. Estudos recentes demonstram que o alelo I é mais freqüente em atletas de resistência, enquanto que o alelo D, em atletas de força e explosão muscular<sup>(37,46)</sup>.

No coração, a Ang II é um potente fator de crescimento celular<sup>(47)</sup>. Embora não se tenha verificado aumento da massa ventricular esquerda em indivíduos com diferentes genótipos para a ECA<sup>(48-49)</sup>, 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 AT<sub>1</sub><sup>(50-51)</sup>. A hipertrofia do ventrículo esquerdo (VE) é uma característica marcante em atletas de elite<sup>(52)</sup>. No entanto, foram verificados, em atletas de resistência submetidos a regime de treinamento semelhante, níveis variados de hipertrofia do VE, sugerindo que essa adaptação é mediada geneticamente. Em atletas de resistência (sexo masculino) foi encontrada distribuição de 44%, 51% e 5% para os genótipos DD, DI e II, respectivamente<sup>(53)</sup>. E atletas com genótipo DD mostraram valores significativamente superiores de índice de massa ventricular esquerda quando comparados com os atletas com genótipo ID. Interessante foi o fato de que 70,4% dos atletas DD, 42% dos atletas DI e 0% dos atletas II atingiram os critérios de caracterização de hipertrofia de VE. Vale ainda ressaltar que a ativação do SRA local pelo exercício físico encontra-se exacerbado em indivíduos homocigotos para o alelo D, resultando em maior degradação da bradicinina. Conforme comentado anteriormente, a bradicinina tem efeito antiproliferativo e inibidor do crescimento<sup>(50)</sup>. Portanto, maior degradação da bradicinina pode facilitar a hipertrofia do VE. Entretanto, esses re-

sultados não permitem a conclusão de que polimorfismo I/D da ECA é o único mediador do desenvolvimento do VE.

Com o intuito de esclarecer o papel da Ang II na associação entre o polimorfismo I/D da ECA e a massa do VE, Myerson *et al.*<sup>(39)</sup> submeteram 141 recrutas da Armada britânica distribuídos em 79 DD (38 losartan e 41 placebo) e 62 II (28 losartan e 34 placebo) a um período de 10 semanas de treinamento e tratamento com 25mg/dia de losartan ou placebo. Após o período experimental, verificou-se que o losartan não influencia a massa do VE, com os recrutas do grupo losartan apresentando resposta hipertrofica semelhante à de seus respectivos grupos placebo. No entanto, os recrutas com genótipo DD apresentaram massa do VE significativamente superior no período pós-treinamento quando comparada com aquela do período pré-treinamento. Interessante foi o fato de que esses resultados persistiram quando o aumento da massa do VE foi corrigido pelo aumento verificado no peso corporal magro, sugerindo, dessa forma, uma hipertrofia cardíaca em excesso. Os autores confirmaram o efeito do polimorfismo I/D da ECA na hipertrofia cardíaca induzida pelo treinamento físico, atribuindo o resultado verificado no grupo losartan à possível interação da Ang II com outro subtipo de receptor AT.

A pergunta que poderia ser feita neste momento é: como a variante genética da ECA poderia influenciar as propriedades biológicas e mecânicas dos tecidos? Já foi documentada a existência de um SRA completo na musculatura esquelética com potencial para influenciar o balanço energético corporal total<sup>(41,54)</sup>.

Williams *et al.*<sup>(55)</sup> estudaram em 58 indivíduos saudáveis (sexo masculino) (35 II e 23 DD) a eficiência contrátil muscular avaliada em cicloergômetro, antes e após 11 semanas de um programa de treinamento físico. A energia utilizada por unidade de potência, "delta da eficiência" (% de alteração no trabalho realizado por minuto/% de alteração na energia expendida por minuto) não mostrou ser diferente entre os genótipos II e DD (24,5% e 24,9%, respectivamente) no período pré-treinamento; no entanto, em resposta ao treinamento, essa variável aumentou significativamente entre os indivíduos com genótipo II. Essa diferença representa aumento na eficiência, relativa ao período pré-treinamento, de 8,62% para o genótipo II e -0,39% para o genótipo DD. Os autores desconhecem os mecanismos pelos quais o alelo I estaria potencializando a eficiência mecânica em indivíduos treinados. No entanto, fundamentaram seus achados em duas possíveis explicações: 1) a 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<sup>(56)</sup>; e 2) 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).

Zhang *et al.*<sup>(57)</sup>, posteriormente, vieram confirmar uma das hipóteses de Williams *et al.*<sup>(55)</sup>. Os autores, após biópsia do músculo vasto lateral de 41 indivíduos sedentários, verificaram uma associação entre os genótipos da ECA e a distribuição percentual de fibras I, IIa e IIb. Indivíduos com genótipo II quando comparados com o genótipo DD apresentaram maior média percentual de fibras do tipo I (~50% vs. ~30%, respectivamente) e menor média percentual de fibras do tipo IIb (~16% vs. ~32%, respectivamente). Não houve diferença entre os genótipos para os valores de média percentual para as fibras do tipo IIa. Embora não esteja claro o mecanismo pelo qual o gene da ECA determina a distribuição dos diferentes tipos de fibra no músculo, esses resultados vêm corroborar estudos que mostraram associação do alelo I e alta performance em atletas de resistência.

Myerson *et al.*<sup>(37)</sup> observaram maior frequência do alelo I entre corredores de elite de longa distância quando comparados com

indivíduos sedentários saudáveis. Mais interessante foi o fato de que a análise de 91 corredores de nível olímpico revelou tendência linear e crescente na frequência do alelo I: 0,35 0,53 e 0,62 nas especialidades ≤ 200m (n = 20), 400-3.000m (n = 37) e ≥ 5.000m (n = 34), respectivamente. O fato de a presença desse alelo mostrar-se mais freqüente à medida que cresce a distância da prova percorrida sugere que a performance de atletas de resistência esteja, pelo menos em parte, na dependência de sua presença.

Hagberg *et al.*<sup>(46)</sup>, testando a hipótese de que o  $\dot{V}O_2$  máx. poderia ser afetado pelo polimorfismo I/D da ECA, avaliaram 58 mulheres sedentárias, fisicamente ativas, e atletas no período pós-me-nopausa. A distribuição do alelo não diferiu entre os grupos. Quando estes foram analisados conjuntamente, a frequência dos genótipos foi de: 21% II (n = 12), 57% ID (n = 33) e 22% DD (n = 13). Nos três grupos conjuntamente, o genótipo II apresentou  $\dot{V}O_2$  máx 6,3ml/kg/min (23%) superior ao do genótipo DD e 3,3ml/kg/min (11%) superior ao do ID. Ao contrário do esperado, a diferença no  $\dot{V}O_2$  máx. entre os genótipos não pôde ser explicada por diferenças no volume sistólico e no débito cardíaco. Os valores para essas variáveis foram similares entre os grupos; no entanto, os maiores valores de  $\dot{V}O_2$  máx. na presença do alelo I foram decorrentes da maior máxima dif a- $vO_2$  (II = 16,5 ± 2,0ml/dl; ID = 15,4 ± 1,6ml/dl e DD = 14,4 ± 1,2ml/dl).

Em resumo, os dados apresentados sugerem que o alelo I melhora a performance em atletas de resistência, fato este 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.

## POLIMORFISMO -9/+9 DO RECEPTOR $\beta_2$ DE BRADICININA (BDKRB2)

A enzima conversora de angiotensina (ECA) é responsável pela gênese da substância vasoconstritora angiotensina II e pela degradação da bradicinina<sup>(37-38)</sup>. Se a ECA desempenha importante papel no metabolismo da bradicinina, seria pertinente associarmos que os níveis de bradicinina apresentam relação inversa com o polimorfismo I/D da ECA, ou seja, concentrações elevadas de ECA (associada ao alelo "D") estão vinculadas a reduzidos níveis de bradicinina, enquanto que baixas concentrações de ECA (associada ao alelo "I") estão vinculadas a níveis altos de bradicinina. Em resumo, os níveis de bradicinina são dependentes dos genótipos da ECA e podem influenciar tanto a captação de glicose e o fluxo sanguíneo muscular<sup>(58)</sup>, quanto prevenir o crescimento do ventrículo esquerdo (VE) via ativação dos receptores  $\beta_2$  ( $B_2R$ ) para bradicinina<sup>(43,59)</sup>.

Para o gene do receptor  $\beta_2$  ( $B_2R$ ) da bradicinina, BDKRB2, localizado no cromossomo 14 q32.1-q32.2, foi encontrada uma variante no éxon 1, na qual a ausência (-9) e não a presença (+9) de um segmento de nove pares de base está associada com a alta atividade transcricional do gene e, conseqüentemente, alta resposta do receptor ao agonista<sup>(3)</sup>. Dessa forma, se a bradicinina pode modular a resposta hipertrofica do VE, é de esperar que os diferentes genótipos do gene BDKRB2 teriam potencial em alterar a magnitude desse crescimento.

Para testar tal hipótese, Brull *et al.*<sup>(59)</sup> submeteram 109 recrutas da Armada britânica a um período de 10 semanas de treinamento e verificaram os efeitos dos polimorfismos -9/+9 do gene BDKRB2 e I/D da ECA na hipertrofia do VE. Houve tendência em a média da resposta hipertrofica ao treinamento ser menor nos indivíduos II comparada com a dos indivíduos DD para o gene da ECA (+6,9g vs. +11,2g, respectivamente; p = 0,09). No entanto, para os genótipos -9/-9 (n = 16), -9/+9 (n = 60) e +9/+9 (n = 33) do gene BDKRB2, a média da resposta hipertrofica ao treinamento foi de:

4,6g vs. 8,3g vs. 13,7g, respectivamente;  $p = 0,009$ ). A resposta hipertrófica associada a ambos os genótipos revelou um fato interessante. Nos indivíduos com baixa concentração de bradicinina e baixa atividade transcricional do receptor  $B_2R$  (genótipos DD e +9/+9), a alteração na massa do VE foi de 9,5%, enquanto que, nos indivíduos com alta concentração de bradicinina e alta atividade transcricional do receptor  $B_2R$  (genótipos II e -9/-9), a alteração na massa do VE foi de -0,4%. Os autores sugerem que alterações na concentração de bradicinina (determinada pelo genótipo de ECA) e no nível transcricional do receptor  $B_2R$  (determinado pelo genótipo BDKRB2) interagem biologicamente para a determinação da resposta fisiológica. O efeito da ECA na hipertrofia do VE parece ser mediado, pelo menos em parte, pela bradicinina<sup>(3)</sup>.

Williams *et al.*<sup>(43)</sup>, acreditando que parte dos efeitos da ECA na função contrátil muscular pode ser mediada pela bradicinina, estudaram em duas populações distintas (115 indivíduos saudáveis e 81 atletas olímpicos britânicos) a eficiência muscular contrátil para os diferentes genótipos do gene BDKRB2, verificada pela energia utilizada por unidade de potência "delta da eficiência" (% de alteração no trabalho realizado por minuto/% de alteração na energia expendida por minuto) e avaliada em cicloergômetro. Para os 115 indivíduos saudáveis, o delta da eficiência mostrou associação com os genótipos +9/+9, +9/-9 e -9/-9 ( $23,84 \pm 2,41$  vs.  $24,25 \pm 2,81$  vs.  $26,05 \pm 2,26\%$ , respectivamente;  $p = 0,002$ ). Interessante a observação de que os mesmos autores<sup>(65)</sup> haviam demonstrado previamente (estudo apresentado na seção anterior) não haver associação entre o delta da eficiência e o genótipo I/D da ECA, fato que levou o grupo a verificar a existência de uma interação biológica entre o polimorfismo I/D da ECA e o -9/+9 do BDKRB2. Como resultado, entre os indivíduos DD, o delta da eficiência mostrou tendência em ser maior nos indivíduos homocigotos -9/-9. No entanto, o genótipo -9/-9 do BDKRB2 mostrou influenciar o delta da eficiência nos indivíduos com genótipo II para ECA ( $24,34 \pm 2,51$  vs.  $24,26 \pm 2,41$  vs.  $27,41 \pm 2,61\%$  para os genótipos +9/+9 vs. +9/-9 vs. -9/-9;  $p = 0,005$ ). O delta da eficiência mostrou ser extremamente superior no genótipo (II; -9/-9) quando comparado com o genótipo (DD; +9/+9) ( $p = 0,0007$ ). Dentre os atletas olímpicos houve tendência ao aumento da frequência do alelo -9 à medida que aumentava a distância da prova percorrida (0,382, 0,412 e 0,569 para os atletas especialistas em  $\leq 200m$  ( $n = 17$ ), 400-3.000m ( $n = 35$ ) e  $\geq 5.000m$  ( $n = 29$ ), respectivamente). Em adição, foi verificada grande proporção dos alelos ("D" e "+9") em atletas especialistas em provas  $< 5.000m$  e grande proporção dos alelos ("I" e "-9") em atletas competidores em provas  $> 5.000m$  ( $p = 0,003$ ). Esses dados sugerem que o polimorfismo I/D da ECA está em forte associação com variantes funcionais de genes adjacentes, auxiliando na determinação da característica fenotípica do atleta.

Embora já esteja descrita a existência da expressão de  $B_2R$ <sup>(60)</sup> e liberação de bradicinina pela musculatura esquelética<sup>(61)</sup>, não está precisamente definido como a bradicinina poderia afetar tais fenótipos de *performance* física. De fato, mediada pela ativação dos  $B_2R$ , a bradicinina aumenta a translocação de GLUT4 para a membrana durante o exercício via aumento da atividade da tirosina quinase induzida pela insulina nos seus receptores<sup>(62)</sup>, leva a aumento transiente do inositol 1,4,5-trifosfato, envolvido no mecanismo de acoplamento excitação-contração via aumento do cálcio citoplasmático<sup>(63)</sup>. As variantes no gene da ECA e do  $B_2R$  constituem-se em potenciais mediadores da *performance* física humana.

## **POLIMORFISMO 985+185/1170 DO GENE DA ENZIMA CREATINA QUINASE M (CK-M)**

Um treinamento de resistência de suficiente intensidade e duração induz aumento no  $\dot{V}O_{2\text{máx}}$ <sup>(64)</sup>. No entanto, as diferenças interindividuais envolvidas no processo de regeneração de ATP e em outras vias metabólicas potencialmente relacionadas à *perfor-*

*mance* em provas de resistência despertaram o interesse pelo rastreamento de genes com possibilidade de afetar tal fenótipo.

O gene da creatina quinase M ou CK-M (M = *muscle*) é um legítimo candidato mediador da *performance* física humana com potencial em influenciar o  $\dot{V}O_{2\text{máx}}$  e a resposta desta variável (delta  $\dot{V}O_{2\text{máx}}$ ) a um programa de treinamento físico<sup>(65)</sup>. As diferentes isoformas da CK juntamente com a creatina fosfato (PCr) formam importante sistema metabólico de tamponamento em células com dramáticas flutuações de demanda energética. Em adição a essa função, caracterizada como temporal, o sistema CK-PCr desempenha ainda uma função de tamponamento espacial, envolvida no transporte do composto fosforil de alta energia da mitocôndria e das enzimas glicolíticas, para os sítios de hidrólise do ATP<sup>(66)</sup>. Alta concentração celular de PCr e alta atividade da CK poderiam, dessa forma, tamponar o acúmulo de ADP, dando suporte à manutenção favorável da relação ATP/ADP durante períodos de atividade metabólica intensa.

A CK é uma proteína enzimática que, na sua forma ativa, é constituída de duas subunidades expressas por genes distintos. O gene da subunidade M (CK-M), com 17,5 Kbp oito éxons e sete íntrons, está localizado no cromossomo 19 q13.2-q13.3<sup>(4)</sup> e o gene da subunidade B (CK-B; B = *brain*) está localizado no cromossomo 14 q32.3<sup>(65)</sup>. Dessa forma, três isoformas diméricas são formadas pela hibridização das subunidades CK-M e CK-B, estruturando-se em CK-MM e CK-BB (homodímeros) e CK-MB (heterodímero). Em consistência com o transporte do grupo fosforil de alta energia do compartimento mitocondrial para os sítios de hidrólise do ATP (função espacial do sistema CK-PCr), uma terceira isoforma de CK é expressa. Localizada no espaço intermembrana da mitocôndria, esta é predominantemente encontrada no tecido muscular, sendo referida como sarcoméricas (Scmit-CK). Apesar de ser expressa por um gene distinto, localizado no cromossomo 5 q13.3, esta isoforma apresenta alto grau de homologia com as seqüências codificadoras das isoformas citosólicas CK-MM, CK-MB e CK-BB.

Todas as isoformas são expressas de maneira diferenciada por diferentes tecidos. CK-MM é abundante no músculo esquelético, mantendo alta concentração de ATP na região da cabeça da miosina, enquanto que a CK-MB tem alta atividade no músculo cardíaco e menor atividade no músculo esquelético<sup>(67)</sup>. Apesar de a CK-MM ser preferencialmente expressa no músculo esquelético, a atividade dessa enzima mostrou ser pelo menos duas vezes menor em fibras musculares do tipo I quando comparado com as fibras do tipo II<sup>(64)</sup>. Interessante o fato de que fibras musculares do tipo I, predominantemente recrutadas em atividades de resistência e reconhecidas pela predominância de atividade enzimática oxidativa, apresentam relação inversa com a atividade da CK-MM. Apple e Billardelo<sup>(68)</sup>, preocupados com a expressão dos genes da CK, verificaram aumento de 40% no RNAm da CK-B e redução de 42% no RNAm da CK-M no músculo gastrocnêmio de ratos submetidos ao treinamento de resistência. Esses dados com modelos animais são consistentes com a não verificação do aumento da atividade da CK-MM nos estudos com humanos, sugerindo que essa isoforma exerce sua predominante função em células musculares glicolíticas e está negativamente relacionada, talvez limitando, ao metabolismo aeróbio<sup>(65)</sup>.

Um polimorfismo no gene da CK-M foi detectado por reação de polimerase em cadeia e digestão do DNA com a enzima endonuclease de restrição *NcoI*. O alelo com sítio suscetível à digestão para *NcoI* foi designado como alelo 985+185pb, enquanto que o alelo sem o sítio de restrição para *NcoI* foi designado como alelo 1170pb<sup>(69)</sup>. Essa variante definida como *NcoI* está localizada na região 3' do gene<sup>(70)</sup>.

Rivera *et al.*<sup>(64)</sup>, testando a hipótese da existência de uma relação entre o polimorfismo 985+185/1170 da CK-M e sua influência na variável  $\dot{V}O_{2\text{máx}}$ , submetem 240 indivíduos (80 pais, 80 mães e 80 filhos) a um programa de treinamento de resistência por 20 semanas. A frequência dos alelos 985+185 e 1.170 foi de 0,3 e

0,7, respectivamente, para os 160 pais. Nessa mesma amostra, a frequência dos genótipos 985+185/985+185, 985+185/1170 e 1170/1170 foram de 0,49, 0,44 e 0,07, respectivamente. Quando a resposta ( $\Delta\dot{V}O_2\text{máx.}$ ) ao programa de treinamento associada aos diferentes genótipos da CK-M foi ajustada para as co-variáveis sexo, idade, peso corporal e  $\dot{V}O_2\text{máx.}$  inicial, foi encontrada diferença significativa para os 160 pais ( $p = 0,0004$ ) e 80 filhos ( $p = 0,025$ ). Os homocigotos para o raro alelo (1.170/1.770) mostraram menor  $\Delta\dot{V}O_2\text{máx.}$  quando comparado com os homocigotos e heterocigotos para o alelo comum 985+185 (genótipos 985+185/1170 e 985+185/985+185). A magnitude da diferença foi de pelo menos três vezes menor para os 160 pais e 1,5 vez menor para os 80 filhos homocigotos para o raro alelo comparado com os outros dois genótipos. Esses resultados explicam, em parte, a heterogeneidade na resposta do  $\dot{V}O_2\text{máx.}$  ao treinamento de resistência e sustentam a hipótese da interferência do componente genético nessa variável. No estado sedentário, o  $\dot{V}O_2\text{máx.}$  foi diferente apenas para os pais, com os indivíduos heterocigotos apresentando maiores valores quando comparados com os homocigotos. Este foi o primeiro estudo a mostrar uma significativa associação entre um polimorfismo e resposta ( $\Delta\dot{V}O_2\text{máx.}$ ) a um programa de treinamento. No entanto, o polimorfismo *Ncol* analisado localiza-se na região 3' do gene, fora da região codificadora e da região reguladora do gene. Por esse motivo, é pequena a probabilidade de essa mutação ser a causa direta da associação verificada<sup>(64)</sup>, sugerindo, dessa forma, que tal polimorfismo serviria como um marcador da diferença genética<sup>(65)</sup>.

Embora a CK-MM seja geralmente reportada como a isoforma mais ativa, estudos têm verificado alta correlação entre o aumento da atividade da CK-MB e capacidade oxidativa, estimada pelo aumento da atividade da citrato sintase no músculo cardíaco<sup>(71)</sup> e em fibras musculares esqueléticas do tipo I de indivíduos submetidos a um programa de treinamento de resistência<sup>(72)</sup>. Esse fenômeno é controlado em nível transcricional, com o gene da subunidade CK-B mostrando consistente regulação positiva, principalmente em fibras musculares oxidativas. Opostamente, a subunidade CK-M mostrou sofrer regulação negativa em resposta ao treinamento de resistência, sugerindo, dessa forma, uma relação inversa com a resistência muscular e cardiorrespiratória. O aumento da expressão da subunidade CK-B e, conseqüentemente, no conteúdo das isoformas CK-MB e CK-BB pode ser energeticamente favorável. Estudos de cinética enzimática verificaram menor constante de Michaelis-Menten (Km) por ADP dessas isoformas quando comparado com a isoforma CK-MM<sup>(73)</sup>. Ainda assim, o estudo de Sylven *et al.*<sup>(74)</sup> também mostrou alta correlação entre o aumento da atividade da Scmit-CK acompanhada do aumento da capacidade oxidativa e aumento da atividade da CK-MB. Esses resultados sugerem uma adaptação específica ao treinamento de resistência, o aumento da capacidade oxidativa acompanhada pelo aumento da atividade da CK-MB<sup>(72,75)</sup>. Essas evidências dão suporte ao fato de que o sistema CK-PCr, além de sua função clássica de fornecimento de energia em condições de rápida atividade muscular contrátil (atividades anaeróbias), está também relacionado ao metabolismo aeróbio e, conseqüentemente, às atividades de resistência.

## CONCLUSÃO

Por décadas, cientistas e fisiologistas do exercício perguntaram-se sobre a intrigante questão: o que fazia com que certos indivíduos superassem marcas em modalidades específicas que os colocavam à parte do resto da população? Sempre se acreditou que fatores favoráveis como *status* nutricional, composição corporal e circunstâncias psicológicas e sociais deveriam estar presentes e, quando em equilíbrio com uma variedade de propriedades biológicas e mecânicas, estariam, portanto, determinando características específicas de *performance* física. No entanto, a otimização de todos esses fatores não seria suficiente, levando

em consideração a variabilidade e, conseqüentemente, as diferenças interindividuais nas adaptações anatômicas, fisiológicas e bioquímicas, dependentes da constituição genética de cada indivíduo.

O genoma humano partilha aproximadamente 30 mil genes. Teoricamente, os genes determinantes das características estruturais e funcionais intrínsecas da nossa espécie deveriam apresentar exatamente o mesmo código genético, o que deixa de ser verdade a partir do momento em que temos conhecimento das pequenas variações na seqüência de bases do DNA, descritas como polimorfismos ou variantes genéticas. Tal diversidade genética em interação com condições ambientais específicas determina um fenótipo, o que explica muitas das variações observadas na *performance* física humana. Com o advento das técnicas de seqüenciamento genético, tem crescido nos últimos cinco anos o número de estudos de identificação de seqüências variantes de genes candidatos relacionados às características de *performance*<sup>(6)</sup>. Embora nesta revisão tenhamos tratado de uma pequena parcela dos genes já descritos como potenciais candidatos a influenciar a *performance* física humana em modalidades específicas, nosso primordial objetivo foi o de apresentar ao leitor como esses estudos envolvendo a genética são delineados. Dessa forma, optamos por um desenvolvimento descritivo elaborado, revisando os mecanismos celulares, fisiológicos e moleculares dos genes tratados, possibilitando ao leitor melhor compreensão de como uma variável genética estaria determinando, em diferentes indivíduos, responsabilidades distintas.

Que fique claro ao leitor que a caracterização de um fenótipo não é produto de um único gene exclusivamente. A primeira evidência da influência da genética na *performance* física humana veio de estudos comparando a resposta de variáveis fisiológicas ao treinamento físico entre gêmeos e indivíduos sem parentes<sup>(76)</sup>. Como exemplo, 60-80% das variações na massa muscular esquelética e mais de 50% das variações da massa do ventrículo esquerdo são explicadas por fatores genéticos.

Embora o reconhecimento de que o resultado final (fenótipo) represente a integração de múltiplos genes mais os fatores ambientais, a identificação de talentos e prescrição de programas de treinamento que maximizem o potencial individual do atleta com base na caracterização de variantes genéticas poderão revolucionar a ciência do esporte.

---

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

---

## REFERÊNCIAS

1. Wolfarth B, Rivera MA, Oppert JM, Boulay MR, Dionne FT, Chagnon M, et al. A polymorphism in the alpha2a-adrenoceptor gene and endurance athlete status. *Med Sci Sports Exerc.* 2000;32:1709-12.
2. Rankinen T, Perusse L, Gagnon J, Chagnon YC, Leon AC, Skinner JS, et al. Angiotensin-converting enzyme ID polymorphism and fitness phenotype in the HERITAGE Family Study. *J Appl Physiol.* 2000;88:1029-35.
3. Payne J, Montgomery H. The renin-angiotensin system and physical performance. *Biochem Soc Trans.* 2003;31:1286-9.
4. Wolfarth B, Bray MS, Hagberg JM, Perusse L, Rauramaa R, Rivera, MA, et al. The human gene map for performance and health-related fitness phenotypes: the 2004 update. *Med Sci Sports Exerc.* 2005;37:881-903.
5. MacArthur DG, North KN. A gene for speed? The evolution and function of alpha-actinin-3. *Bioessays.* 2004;26:786-95.
6. Simoneau JA, Bouchard C. Genetic determinism of fiber type proportion in human skeletal muscle. *FASEB J.* 1995;9:1091-5.
7. Scott W, Stevens J, Binder-Macleod SA. Human skeletal muscle fiber type classifications. *Phys Ther.* 2001;81:1810-6.
8. Clarkson PM, Devaney JM, Gordish-Dressman H, Thompson PD, Hubal MJ, Urso M, et al. ACTN3 genotype is associated with increases in muscle strength in response to resistance training in women. *J Appl Physiol.* 2005;99:154-63.
9. Blanchard A, Ohanian V, Critchley D. The structure and function of alpha-actinin. *J Muscle Res Cell Motil.* 1989;10:280-9.

10. Yang N, MacArthur DG, Gulbin JP, Hahn AG, Beggs AH, Eastale S, et al. ACTN3 genotype is associated with human elite athletic performance. *Am J Hum Genet.* 2003;73:627-31.
11. Noegel A, Witke W, Schleicher M. Calcium-sensitive non-muscle alpha-actinin contains EF-hand structures and highly conserved regions. *FEBS Lett.* 1987; 221:391-6.
12. Gimona M, Djinovic-Carugo K, Kranewitter WJ, Winder SJ. Functional plasticity of CH domains. *FEBS Lett.* 2002;513:98-106.
13. North KN, Beggs AH. Deficiency of a skeletal muscle isoform of alpha-actinin (alpha-actinin-3) in merosin-positive congenital muscular dystrophy. *Neuromuscul Disord.* 1996;6:229-35.
14. North KN, Yang N, Wattanasirichaigoon D, Mills M, Eastale S, Beggs AH. A common nonsense mutation results in alpha-actinin-3 deficiency in the general population. *Nat Genet.* 1999;21:353-4.
15. Mills M, Yang N, Weinberger R, Vander Woude DL, Beggs AH, et al. 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.* 2001;10:1335-46.
16. Cheatham ME, Boobis LH, Brooks S, Williams C. Human muscle metabolism during sprint running. *J Appl Physiol.* 1986;61:54-60.
17. Stathis CG, Febbraio MA, Carey MF, Snow RJ. Influence of sprint training on human skeletal muscle purine nucleotide metabolism. *J Appl Physiol.* 1994;76: 1802-9.
18. Norman B, Sabina RL, Jansson E. Regulation of skeletal muscle ATP catabolism by AMPD1 genotype during sprint exercise in asymptomatic subjects. *J Appl Physiol.* 2001;91:258-64.
19. Westerblad H, Dahlstedt AJ, Lannergren J. Mechanisms underlying reduced maximum shortening velocity during fatigue of intact, single fibres of mouse muscle. *J Physiol.* 1998;510(Pt 1):269-77.
20. Sabina RL, Morisaki T, Clarke P, Eddy R, Shows TB, Morton CC, et al. Characterization of the human and rat myoadenylate deaminase genes. *J Biol Chem.* 1990; 265:9423-33.
21. Fishbein WN, Sabina RL, Ogasawara N, Holmes EW. Immunologic evidence for three isoforms of AMP deaminase (AMPD) in mature skeletal muscle. *Biochim Biophys Acta.* 1993;1163:97-104.
22. Van Kuppevelt TH, Veerkamp JH, Fishbein WN, Ogasawara N, Sabina RL. Immunolocalization of AMP-deaminase isozymes in human skeletal muscle and cultured muscle cells: concentration of isoform M at the neuromuscular junction. *J Histochem Cytochem.* 1994;42:861-8.
23. Morisaki T, Gross M, Morisaki H, Pongratz D, Zollner N, Holmes EW. Molecular basis of AMP deaminase deficiency in skeletal muscle. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1992;89:6457-61.
24. Norman B, Mahnke-Zizelman DK, Vallis A, Sabina RL. Genetic and other determinants of AMP deaminase activity in healthy adult skeletal muscle. *J Appl Physiol.* 1998;85:1273-8.
25. Fishbein WN, Armbrustmacher VW, Griffin JL. Myoadenylate deaminase deficiency: a new disease of muscle. *Science.* 1978;200:545-8.
26. Kar NC, Pearson CM. Muscle adenylate deaminase deficiency. Report of six new cases. *Arch Neurol.* 1981;38:279-81.
27. Bogdanis GC, Nevill ME, Boobis LH, Lakomy HK, Nevill AM. Recovery of power output and muscle metabolites following 30 s of maximal sprint cycling in man. *J Physiol.* 1995;482(Pt 2):467-80.
28. Hargreaves M, McKenna MJ, Jenkins DG, Warmington SA, Li JL, Snow RJ, et al. Muscle metabolites and performance during high-intensity, intermittent exercise. *J Appl Physiol.* 1998;84:1687-91.
29. Hellsten Y, Maclean D, Radegran G, Saltin B, Bangsbo J. Adenosine concentrations in the interstitium of resting and contracting human skeletal muscle. *Circulation.* 1998;98:6-8.
30. MacLean DA, Sinoway LI, Leuenberger U. Systemic hypoxia elevates skeletal muscle interstitial adenosine levels in humans. *Circulation.* 1998;98:1990-2.
31. Winder WW. Energy-sensing and signaling by AMP-activated protein kinase in skeletal muscle. *J Appl Physiol.* 2001;91:1017-28.
32. Rico-Sanz J, Rankinen T, Joanisse DR, Leon AS, Skinner JS, Wimore JH, et al. Associations between cardiorespiratory responses to exercise and the C34T AMPD1 gene polymorphism in the HERITAGE Family Study. *Physiol Genomics.* 2003;14:161-6.
33. Rubio JC, Martin MA, Rabadan M, Gomez-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.* 2005;98: 2108-12.
34. Broberg S, Sahlin K. Adenine nucleotide degradation in human skeletal muscle during prolonged exercise. *J Appl Physiol.* 1989;67:116-22.
35. Norman B, Sollevi A, Jansson E. Increased IMP content in glycogen-depleted muscle fibres during submaximal exercise in man. *Acta Physiol Scand.* 1988; 133:97-100.
36. Sahlin K, Katz A, Broberg S. Tricarboxylic acid cycle intermediates in human muscle during prolonged exercise. *Am J Physiol.* 1990;259:C834-41.
37. Myerson S, Hemingway H, Budget R, Martin J, Humphries S, Montgomery H. Human angiotensin I-converting enzyme gene and endurance performance. *J Appl Physiol.* 1999;87:1313-6.
38. Dzau VJ. Circulating versus local renin-angiotensin system in cardiovascular homeostasis. *Circulation.* 1988;77:14-13.
39. Myerson SG, Montgomery HE, Whittingham M, Budget R, Martin J, Humphries S, et al. Left ventricular hypertrophy with exercise and ACE gene insertion/deletion polymorphism: a randomized controlled trial with losartan. *Circulation.* 2001; 103:226-30.
40. Jonsson JR, Game PA, Head RJ, Frewin DB. The expression and localization of the angiotensin-converting enzyme mRNA in human adipose tissue. *Blood Press.* 1994;3:72-5.
41. Dragovic T, Minshall R, Jackman HL, Wang LX, Erdos EG. Kinase II-type enzymes. Their putative role in muscle energy metabolism. *Diabetes.* 1996;45(Suppl 1):S34-7.
42. Coates D. The angiotensin converting enzyme (ACE). *Int J Biochem Cell Biol.* 2003;35:769-73.
43. Williams AG, Dhamrait SS, Wootton PT, Day SH, Hawe E, Payne JR, et al. Bradykinin receptor gene variant and human physical performance. *J Appl Physiol.* 2004; 96:938-42.
44. Costerousse O, Allegrini J, Lopez M, Alhenc-Gelas F. Angiotensin I-converting enzyme in human circulating mononuclear cells: genetic polymorphism of expression in T-lymphocytes. *Biochem J.* 1993;290(Pt 1):33-40.
45. Danser AH, Schalekamp MA, Bax WA, van den Brink AM, Saxena PR, Riegger GA, et al. Angiotensin-converting enzyme in the human heart. Effect of the deletion/insertion polymorphism. *Circulation.* 1995;92:1387-8.
46. Hagberg JM, Ferrell RE, McCole SD, Wilund KR, Moore GE.  $\dot{V}O_2$  max is associated with ACE genotype in postmenopausal women. *J Appl Physiol.* 1998;85: 1842-6.
47. Touyz RM, Deng LY, He G, Wu XH, Schiffrin EL. Angiotensin II stimulates DNA and protein synthesis in vascular smooth muscle cells from human arteries: role of extracellular signal-regulated kinases. *J Hypertens.* 1999;17:907-16.
48. Kauma H, Ikaheimo M, Savolainen MJ, Kiema TR, Rantala AO, Lilja M, et al. Variants of renin-angiotensin system genes and echocardiographic left ventricular mass. *Eur Heart J.* 1998;19:1109-17.
49. Linhart A, Sedlacek K, Jachymova M, Jindra A, Beran S, Vondracek V, et al. Lack of association of angiotensin-converting enzyme and angiotensinogen genes polymorphisms with left ventricular structure in young normotensive men. *Blood Press.* 2000;9:47-51.
50. Kinugawa T, Ogino K, Miyakoda H, Saitoh M, Hisatome I, Fujimoto Y, et al. Responses of catecholamines, renin-angiotensin system, and atrial natriuretic peptide to exercise in untrained men and women. *Gen Pharmacol.* 1997;28:225-8.
51. Higaki J, Aoki M, Morishita R, Kida I, Taniyama Y, Tomita N, et al. In vivo evidence of the importance of cardiac angiotensin-converting enzyme in the pathogenesis of cardiac hypertrophy. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000;20:428-34.
52. Douglas PS, O'Toole ML, Katz SE, Ginsburg GS, Hiller WD, Laird RH. Left ventricular hypertrophy in athletes. *Am J Cardiol.* 1997;80:1384-8.
53. Hernandez D, de la Rosa A, Barragan A, Barrios Y, Salido E, Torres A, et al. The ACE/DD genotype is associated with the extent of exercise-induced left ventricular growth in endurance athletes. *J Am Coll Cardiol.* 2003;42:527-32.
54. Montgomery H, Clarkson P, Barnard M, Bell J, Brynes A, Dollery C, et al. Angiotensin-converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism and response to physical training. *Lancet.* 1999;353:541-5.
55. Williams AG, Rayson MP, Jubb M, World M, Woods DR, Hayward M, et al. The ACE gene and muscle performance. *Nature.* 2000;403:614.
56. Zhao G, Bernstein RD, Hintze TH. Nitric oxide and oxygen utilization: exercise, heart failure and diabetes. *Coron Artery Dis.* 1999;10:315-20.
57. Zhang B, Tanaka H, Shono N, Miura S, Kiyonaga A, Shindo M, et al. The I allele of the angiotensin-converting enzyme gene is associated with an increased percentage of slow-twitch type I fibers in human skeletal muscle. *Clin Genet.* 2003; 63:139-44.
58. Wicklmayr M, Dietze G, Brunnbauer H, Rett K, Mehnert H. Dose-dependent effect of bradykinin on muscular blood flow and glucose uptake in man. *Hoppe Seylers Z Physiol Chem.* 1983;364:831-3.
59. Brull D, Dhamrait S, Myerson S, Erdmann J, Woods D, World M, et al. Bradykinin B2BKR receptor polymorphism and left-ventricular growth response. *Lancet.* 2001;358:1155-6.
60. Figueroa CD, Dietze G, Muller-Esterl W. Immunolocalization of bradykinin B2 receptors on skeletal muscle cells. *Diabetes.* 1996;45(Suppl 1):S24-8.
61. Langberg H, Bjorn C, Boushel R, Hellsten Y, Kjaer M. Exercise-induced increase in interstitial bradykinin and adenosine concentrations in skeletal muscle and peritendinous tissue in humans. *J Physiol.* 2002;542:977-83.
62. Taguchi T, Kishikawa H, Motoshima H, Sakai K, Nishiyama T, Yoshizato K, et al. Involvement of bradykinin in acute exercise-induced increase of glucose uptake

- and GLUT-4 translocation in skeletal muscle: studies in normal and diabetic humans and rats. *Metabolism*. 2000;49:920-30.
63. Rabito SF, Minshall RD, Nakamura F, Wang LX. Bradykinin B2 receptors on skeletal muscle are coupled to inositol 1,4,5-trisphosphate formation. *Diabetes*. 1996;45(Suppl 1):S29-33.
  64. Rivera MA, Dionne FT, Simoneau JA, Perusse L, Chagnon M, Chagnon Y, et al. Muscle-specific creatine kinase gene polymorphism and  $\dot{V}O_2$ max in the HERITAGE Family Study. *Med Sci Sports Exerc*. 1997;29:1311-7.
  65. Echegaray M, Rivera MA. Role of creatine kinase isoenzymes on muscular and cardiorespiratory endurance: genetic and molecular evidence. *Sports Med*. 2001;31:919-34.
  66. Steeghs K, Heerschap A, de Haan A, Ruitenbeek W, Oerlemans F, van Deursen J, et al. Use of gene targeting for compromising energy homeostasis in neuromuscular tissues: the role of sarcomeric mitochondrial creatine kinase. *J Neurosci Methods*. 1997;71:29-41.
  67. Fontanet HL, Trask RV, Haas RC, Strauss AW, Abendschein DR, Billadello JJ. Regulation of expression of M, B, and mitochondrial creatine kinase mRNAs in the left ventricle after pressure overload in rats. *Circ Res*. 1991;68:1007-12.
  68. Apple FS, Billadello JJ. Expression of creatine kinase M and B mRNAs in treadmill trained rat skeletal muscle. *Life Sci*. 1994;55:585-92.
  69. Rivera MA, Perusse L, Simoneau JA, Gagnon J, Dionne FT, Leon AS, et al. Linkage between a muscle-specific CK gene marker and  $\dot{V}O_2$ max in the HERITAGE Family Study. *Med Sci Sports Exerc*. 1999;31:698-701.
  70. Coerwinkel-Driessen M, Schepens J, van Zandvoort P, van Oost B, Mariman E, Wieringa B. NcoI RFLP at the creatine kinase-muscle type gene locus (CKMM, chromosome 19). *Nucleic Acids Res*. 1988;16:8743.
  71. Sylven C, Jansson E, Olin C. Human myocardial and skeletal muscle enzyme activities: creatine kinase and its isozyme MB as related to citrate synthase and muscle fibre types. *Clin Physiol*. 1983;3:461-8.
  72. Apple FS, Tesch PA. CK and LD isozymes in human single muscle fibers in trained athletes. *J Appl Physiol*. 1989;66:2717-20.
  73. Bittl JA, DeLayre J, Ingwall JS. Rate equation for creatine kinase predicts the in vivo reaction velocity:  $^{31}P$  NMR surface coil studies in brain, heart, and skeletal muscle of the living rat. *Biochemistry*. 1987;26:6083-90.
  74. Sylven C, Jansson E, Kallner A, Book K. Human creatine kinase. Isoenzymes and logistics of energy distribution. *Scand J Clin Lab Invest*. 1984;44:611-5.
  75. Yamashita K, Yoshioka T. Activities of creatine kinase isoenzymes in single skeletal muscle fibres of trained and untrained rats. *Pflugers Arch*. 1992;421:270-3.
  76. Bouchard C, Leon AS, Rao DC, Skinner JS, Wilmore JH, Gagnon J. The HERITAGE family study. Aims, design, and measurement protocol. *Med Sci Sports Exerc*. 1995;27:721-9.