

**Universidad de Costa Rica**

**Facultad de Ciencias Básicas**

**Escuela de Biología**

**Frecuencias alélicas y genotípicas del gen que codifica por la Actinina  
(ACTN3) en la población costarricense y su asociación con el  
rendimiento físico en jóvenes no atletas.**

Trabajo Final de Graduación para optar por el grado de Licenciatura en  
Biología con énfasis en Genética Humana

Arturo Orozco Díaz

982635

## **Miembros del Tribunal**

Dr. Alejandro Leal Esquivel  
Director del Trabajo Final de Graduación.

Dra. Gabriela Chavarría Soley  
Lectora del Trabajo Final de Graduación

Dr. José Moncada Jiménez  
Lector del Trabajo Final de Graduación

Dr. Jorge Azofeifa Navas  
Miembro del Tribunal

M.Sc. Manfred Sandí Díaz  
Representante del Decanato de Ciencias y Presidente del Tribunal

Arturo Orozco Díaz  
Postulante

# ÍNDICE

|  |    |
|--|----|
| INTRODUCCIÓN.....                          | 5  |
| Tipos de fibras musculares.....            | 9  |
| $\alpha$ -actinina 3.....                  | 15 |
| JUSTIFICACIÓN.....                         | 19 |
| OBJETIVO GENERAL.....                      | 20 |
| Objetivos específicos.....                 | 20 |
| METODOLOGÍA.....                           | 21 |
| Tipo de diseño.....                        | 21 |
| Participantes.....                         | 22 |
| Protocolo de pruebas físicas.....          | 22 |
| Instrumentos de medición del fenotipo..... | 25 |
| Obtención de la muestra.....               | 26 |
| Determinación del gen ACTN3.....           | 26 |
| Análisis Estadístico.....                  | 27 |
| RESULTADOS.....                            | 28 |
| DISCUSIÓN.....                             | 34 |
| CONCLUSIONES.....                          | 46 |
| RECOMENDACIONES.....                       | 48 |
| AGRADECIMIENTOS.....                       | 49 |

REFERENCIAS..... 51

ANEXOS..... 57

## **INTRODUCCIÓN**

Para el ser humano como para otros animales, poseer la capacidad de moverse significa supervivencia. Aparte de pensar, toda actividad humana requiere movimiento, al menos una contracción muscular, ya sea para caminar, correr, observar, escuchar, o incluso mantenerse en pie. Esta enorme variedad de funciones musculares está reflejada en la diversidad de tamaños y formas de los músculos (McComas 1996).

Las células musculares al igual que las neuronas pueden ser excitadas química, eléctrica y mecánicamente, para producir un potencial de acción que se transmite a lo largo de la membrana celular. Ellas contienen proteínas contráctiles y, a diferencia de las neuronas, este mecanismo contráctil es activado por el potencial de acción (Ganong 1988). Si diversas células son excitadas, un músculo puede hacer posible el movimiento del organismo.

Los músculos se dividen generalmente en 3 tipos: a) esquelético, b) cardíaco y c) liso. El músculo esquelético comprende a la gran masa de la musculatura somática, posee estrías transversales bien desarrolladas, no se contrae normalmente en ausencia de estímulos nerviosos, carece de conexiones anatómicas y funcionales entre las fibras individuales y usualmente se encuentra bajo el gobierno de la voluntad (Ganong 1988). Este tipo de músculo, se compone de numerosas fibras musculares, y cada una

de ellas es una única célula. Una fibra muscular concreta suele tener un diámetro de 10-80  $\mu\text{m}$  y alcanza hasta 35 cm de longitud, en algunos músculos de la pierna. El tejido conjuntivo rodea el músculo por completo y lo ancla al esqueleto, y suele cruzar una articulación, lo que permite una acción de palanca (Berne & Levy 2006).

Cada fibra muscular individual contiene entre varios centenares y varios miles de unidades cilíndricas pequeñas llamadas miofibrillas, las cuales son las responsables de la contracción y relajación de la fibra (McComas 1996). Las miofibrillas representan aproximadamente el 80% del volumen de una fibra muscular, y se caracterizan por ser estructuras contráctiles compuestas por miofilamentos, que normalmente se encuentran paralelos a lo largo del eje de la célula muscular y se extienden por toda la longitud de la célula. Los miofilamentos son los elementos contráctiles del músculo esquelético, y aparecen como largos filamentos de subunidades todavía más pequeñas llamadas sarcómeros (Plowman & Smith 2003).

El sarcómero es la unidad funcional básica de una miofibrilla. Una unidad de sarcómero contiene 2 tipos de filamentos, gruesos y delgados. Los miofilamentos gruesos están compuestos principalmente de miosina, mientras que los delgados principalmente de actina. Los filamentos delgados también contienen proteínas regulatorias, como la troponina y la tropomiosina. Por lo tanto todas estas proteínas pueden ser diferenciadas en una miofibrilla individual (Plowman & Smith 2003). Una miofibrilla se

compone de numerosos sarcómeros unidos de un extremo a otro en las líneas Z. Cada sarcómero incluye lo que se halla entre cada par de líneas Z en la secuencia: una banda I, una banda A, una zona H, el resto de la banda A, y una segunda banda I (Wilmore & Costill 2007) (Figura 1).

Dentro de cada miofibrilla hay aproximadamente 3000 filamentos de actina y 1500 de miosina, uno al lado del otro. Las estriaciones observadas en las fibras musculares son el resultado de la alineación de estos filamentos. La banda I clara indica la región donde solo hay filamentos delgados de actina, la banda oscura A contiene tanto los filamentos gruesos de miosina como los filamentos delgados de actina, la zona H es la porción central de la banda A que aparece solamente cuando el sarcómero se halla relajada o en reposo. Sólo está ocupada por los filamentos gruesos de miosina. La ausencia de los filamentos de actina hace que la zona H aparezca más clara que la banda A adyacente. La zona H es visible solamente cuando el sarcómero está relajada, ya que ésta se acorta durante la contracción y los filamentos de actina son arrastrados hacia esta zona (Wilmore & Costill 2007).

Cada molécula de miosina se compone de 2 hilos de proteínas juntos enrollados y uno de los extremos de cada hilo está doblado formando una cabeza globular, por lo tanto cada filamento contiene 2 de estas cabezas (Vander *et al.*, 2001). Estas moléculas están orientadas de tal manera que sus colas forman la estructura central del filamento. Las cabezas globulares

de la miosina sobresalen del filamento de miosina para formar puentes cruzados que interactúan durante la acción muscular. Las cabezas de miosina poseen 2 sitios reactivos: uno permite la unión al filamento de actina, y el otro al ATP (Marieb 2001).

Cada filamento de actina se compone realmente de 3 tipos diferentes de moléculas: la actina, la tropomiosina y la troponina. La actina forma la columna vertebral del filamento. Individualmente, las moléculas de actina son globulares y se unen entre sí para formar hilos de moléculas de actina, luego 2 hilos se enrollan formando un diseño helicoidal. Los filamentos de actina, poseen uno de sus extremos insertado en una línea Z, con el extremo contrario extendiéndose hacia el centro del sarcómero, tendido en el espacio entre los filamentos de miosina. Cada filamento de actina contiene un punto activo al que puede adherirse la cabeza de miosina (Robergs & Roberts 1997).

La tropomiosina es una proteína que se enrolla alrededor de los hilos de actina, encajando en las hendiduras entre ellos, y su función es bloquear el sitio activo en la actina, por lo tanto inhibe la unión de miosina y actina en condiciones de reposo. La troponina es una proteína compleja que se une a intervalos regulares a los 2 hilos de actina y a la tropomiosina. La tropomiosina y la troponina actúan juntas, y al estar unidas, un cambio en la forma de esta última, provoca que la tropomiosina sea removida de su



posición de bloqueo, por lo tanto expone el sitio activo a la actina (Marieb 2001) (Figura 2).

### **Tipos de fibras musculares**

La resistencia y velocidad de los individuos dependen en gran medida de la capacidad de sus músculos para transformar la energía potencial en energía mecánica que se observa en la contracción muscular. Así como existen distintos tipos de músculos, dentro de ellos también existen distintos tipos de fibras musculares. Estas generalmente son descritas por dos características: propiedades de contracción y propiedades metabólicas. Con base en las diferencias en propiedades contráctiles, las fibras musculares humanas son divididas en dos tipos; las de contracción o “sacudida lenta” (slow twitch, ST, en inglés) y las de contracción rápida (“fast twitch”, FT, en inglés) (Wilmore&Costill 2001). Las fibras ST son llamadas Tipo I, y las fibras FT, Tipo II. Las diferencias entre ambos tipos de fibra es clara, las fibras FT se contraen y relajan a una más alta velocidad que las fibras lentas. Sin embargo los distintos tipos de fibras derivan sus nombres de las diferentes formas de miosina ATPasa. Las fibras ST tienen una forma lenta de miosina ATPasa, mientras que las FT tienen una forma rápida, lo cual contribuye también a la variación en velocidad de las fibras (Plowman & Smith 2003).

Con respecto a las diferencias en propiedades metabólicas, las fibras musculares humanas pueden ser glicolíticas, oxidativas o una combinación de ambas: es decir, intermedias. Todas las fibras musculares pueden producir energía anaeróbica y aeróbica; sin embargo, a pesar de esta habilidad de las fibras, uno u otro proceso ha de predominar en la producción de energía (Plowman & Smith 2003).

El músculo esquelético puede producir el ATP requerido para llevar a cabo la contracción muscular a partir de una o de la combinación de tres vías metabólicas: a) la transferencia del fosfato de la fosfato creatina (CrP) al ADP para formar ATP, b) la glicólisis, y c) el uso de oxígeno en la mitocondria. La producción de ATP a partir de CrP y glicólisis no requiere la presencia de oxígeno y es conocida como metabolismo anaeróbico. En tanto, la producción ATP de la respiración celular en la mitocondria utiliza oxígeno y es conocido como metabolismo aeróbico (Robergs & Roberts 1997).

Las fibras lentas (ST) usan primariamente el metabolismo oxidativo para producir energía, por lo que se llaman fibras lentas oxidativas, en tanto que las fibras rápidas (FT) tienen la capacidad de trabajar bajo condiciones oxidativas y glicolíticas, por tanto se conocen como fibras rápidas oxidativas glicolíticas, o como fibras rápidas Tipo A (FT<sub>a</sub> o Tipo II<sub>a</sub>). Otro tipo son las fibras rápidas glicolíticas, que como su nombre lo hace notar, actúan bajo condiciones glicolíticas, y son llamadas fibras rápidas Tipo B (FT<sub>b</sub>, Tipo II<sub>b</sub>) (Plowman & Smith 2003).

La mayoría de los músculos están compuestos por aproximadamente 50% de fibras ST, y un 25% FT<sub>a</sub>. El restante 25% son principalmente fibras FT<sub>b</sub>, formando las fibras FT<sub>c</sub> solamente del 1 al 3% del músculo. Las características de las fibras musculares parecen quedar determinadas en una fase temprana de la vida, quizás antes de transcurridos los primeros años. Las fibras musculares se diferencian (o especializan) según el tipo de neurona que las estimula. A medida que se envejece, los músculos tienden a perder fibras FT, por tanto aumenta el porcentaje de fibras ST (Wilmore & Costill 2001).

Cuando se activan más fibras musculares, se produce más fuerza por el principio de reclutamiento motor, y cuando se necesita poca fuerza, sólo se activan unas pocas fibras. La acción muscular esquelética implica una movilización selectiva de fibras musculares ST o FT, dependiendo de las demandas de la actividad que se ejecuta. En los ejercicios de baja intensidad, la mayor parte de la fuerza muscular es generada por fibras ST. Cuando las demandas de tensión muscular aumentan a intensidades de ejercicio más altas como trotar, las fibras FT<sub>a</sub> se suman a la fuerza de trabajo, y en pruebas en las que se necesita fuerza máxima, las fibras FT<sub>b</sub> también se activan (Wilmore & Costill 2001).

Sin embargo incluso durante la realización de esfuerzos máximos, el sistema nervioso no moviliza el 100% de las fibras disponibles, solamente una fracción de nuestras fibras musculares son estimuladas en un momento específico. Esto ayuda a prevenir lesiones en los músculos y tendones (Wilmore & Costill 2001).

El conocimiento de la composición y el uso de fibras musculares sugiere que los deportistas que tienen un alto porcentaje de fibras ST pueden tener cierta ventaja en las pruebas prolongadas de resistencia, mientras que quienes tienen un predominio de fibras FT pueden estar mejor dotados para las actividades breves y explosivas (Wilmore & Costill 2001).

La capacidad de un individuo para realizar un ejercicio determinado depende de la naturaleza del ejercicio en sí, y es influenciado por una variedad de factores; psicológicos, ambientales, y genéticos, entre otros (Lippi *et al.*, 2010). Se han realizado esfuerzos para tratar de cuantificar la escala de contribución genética en fenotipos deportivos como tiempos de carrera o los también llamados fenotipos intermedios, los cuales se cree poseen una influencia global en el rendimiento deportivo. Los últimos estudios se han llevado a cabo relacionando rasgos anatómicos (densidad ósea, masa muscular), fisiológicos (capacidad anaeróbica), bioquímicos e incluso de comportamiento (Montgomery 2007) con la contribución genética, como en el caso del gen ACTN3.

El rendimiento atlético es un rasgo humano complejo, y se encuentra bajo la influencia de parámetros ambientales como dieta, entrenamiento, oportunidades, entre otros. Los factores genéticos determinan el 20 – 80% de la variación en una amplia variedad de rasgos relevantes para rendimiento atlético como lo son consumo de oxígeno ( $VO_2$ ), frecuencia cardiaca (FC) y la proporción relativa de fibras lentas y rápidas en músculo esquelético, entre otros (Mc Arthur & North 2007).

En el estudio de Yang y colaboradores (2003), se comparó el genotipo y la frecuencia de los alelos para ACTN3 en una población de 107 atletas élite (72 hombres y 35 mujeres) en eventos de velocidad/fuerza y 194 atletas de élite (172 hombres, 72 mujeres) para eventos de resistencia y 436 individuos sanos no atletas. Estos autores identificaron diferencias significativas en las frecuencias de los alelos entre los atletas de velocidad/fuerza y los controles tanto para hombre como para mujeres.

Una mutación “nonsense”, sustitución de C→T en la posición 1747 del exón 16 en el gen ACTN3 convierte una arginina (R) en un codón de terminación prematuro (X) en el residuo 577 (R577X). La homocigosis del alelo X resulta en la ausencia de expresión del gen ACTN3, sin asociación aparente con fenotipos de enfermedad muscular (Delmonico *et al.*, 2007). Cuando se analizaron estos atletas en su totalidad, se presentó baja frecuencia del genotipo XX (X=alelo codificante de un codón de terminación), cuando se comparó con los individuos control 6% vs 18% respectivamente,

.Ninguna de las 35 mujeres atletas de fuerza/velocidad presentaron el genotipo XX. Cuando se analizaron en totalidad los atletas de fuerza/velocidad, estos presentaron una frecuencia elevada del genotipo RR comparado con el grupo control (50% vs 39%).

De igual interés fue la evaluación las frecuencias alélicas entre los atletas de fuerza/velocidad y los de resistencia, los que mostraron frecuencias de los alelos en direcciones opuestas encontrándose diferencias significativas en los valores determinados para ambos géneros. Se genotiparon 668 individuos cuacásicos (363 hombres, 305 mujeres), y 208 afrodescendientes (98 hombres, 110 mujeres). La frecuencia del genotipo XX en hombres fue 20% para atletas de resistencia y 8% para atletas de fuerza/velocidad. En las mujeres se encontraron valores de 29% para atletas de resistencia y 0% para las participantes de fuerza/velocidad. La frecuencia del genotipo RR en hombres fue de 28% para atletas de resistencia y 53% para los de fuerza/velocidad, en las mujeres las frecuencias fueron de 36% y 43 respectivamente (Roth *et al.*, 2008).

Las  $\alpha$ -actinas conforman una familia de proteínas que son importantes en la unión y anclaje de los filamentos de actina. Cuatro genes de  $\alpha$ -actininas han sido hallados en humanos: ACTN1, ACTN2, ACTN3 y ACTN4. La ACTN1 y ACTN4 son proteínas no musculares, en tanto que ACTN2 Y ACTN3 son proteínas miofibrilares localizadas en el disco Z. ACTN2 y ACTN3 están altamente conservadas a través de la evolución, y ACTN3 es una isoforma

específica de fibras rápidas, y se expresa en las FT II, especialmente en las menos oxidativas II<sub>b</sub> (Clarkson *et al.*, 2005).

En el músculo esquelético, las  $\alpha$ -actininas se encuentran localizadas en las líneas Z de los sarcómeros y crean interacciones actina-actina (Taylor *et al.*, 2000; Luther & Squire, 2002). Por esta razón, las  $\alpha$ -actininas se consideran un componente estructural importante en la generación y transmisión de fuerza contráctil muscular, así como de mantenimiento de los arreglos miofibrilares (Ogura 2009).

### **$\alpha$ -actinina 3**

Las frecuencias alélicas relativas reportadas del alelo 577X varían desde un 25% en poblaciones asiáticas hasta menos de un 1% en poblaciones Bantú Africanas (Yang *et al.*, 2003). En tanto que otro estudio reporta que son de alrededor de 0.09 en africanos, hasta 0.52 en asiáticos, mientras que los caucásicos presentan una frecuencia de 0.55. Se estima que aproximadamente un 18% de la población mundial son homocigotos para este polimorfismo que produce pérdida de función (Berman & North 2010).

La sustitución ACTN3 577X precede el arribo de los humanos anatómicamente modernos en Europa y Asia, hace 40 000 – 60 000 años. Desde la evolución de los humanos modernos aproximadamente hace 100 000 – 200 000 años, las poblaciones han ocupado un amplio rango de

hábitats y se han adaptado al uso de distintos recursos. Por lo tanto es posible que diferencias en las frecuencias de ACTN3 577XX se hayan incrementado durante el pasado reciente, en relación especialmente al gradiente latitudinal global (Friedlander *et al.*, 2013). De ahí la importancia de hacer estos estudios en diversas poblaciones, ya que esto permitirá identificar la presencia del efecto o asociación de interés en poblaciones no analizadas hasta el momento, y a la vez será de gran utilidad para que otros investigadores puedan comparar y utilizar criterios semejantes a la hora de diseñar estudios con objetivos similares (Argimon & Jiménez 2004).

Dado que el gen ACTN2 se expresa en ambos tipos de fibras I y II, y las proteínas ACTN2 y ACTN3 son funcionalmente redundantes, la proteína ACTN2 compensa la pérdida de ACTN3 en fibras tipo II<sub>b</sub> de homocigotos XX. No obstante la frecuencia del alelo mutado X, y en especial en condición homocigota, es marcadamente bajo en atletas élite de velocidad y potencia. Esto indica que la isoforma  $\alpha$ -actinina 3 es crítica en actividades que implican velocidad o potencia. En contraste, en atletas de resistencia el genotipo recesivo XX es más común, lo que indica que la falta de  $\alpha$ -actinina 3 ayuda en eventos que requieren capacidad aeróbica mayor (Norman *et al.*, 2009).



En sí el gen de  $\alpha$ -actinina 3, se localiza en la posición q 13.2 del cromosoma 11 humano, consta de 21 exones, y codifica para una proteína de 901 aminoácidos. La  $\alpha$ -actinina es un homodímero antiparalelo funcional, y está compuesto por un dominio de unión a actina N-terminal, seguido por un dominio rod, que consiste en 4 repeticiones de espectrina, y un dominio de calmodulina C-terminal. El dominio de unión a actina consiste de dos dominios de homología calponina consecutivos. Los dominios de unión a calmodulina están formados por dos motivos EF-hands (Yläne *et al.*, 2001).

Las  $\alpha$ -actininas de músculo estriado, donde predomina la isoforma 2 que se encuentra en el cromosoma 10, interactúa con dos clases de sitios de unión para la porción titina (proteína) del disco Z. La altamente homóloga  $\alpha$ -3 muestra un patrón de unión muy similar. Las repeticiones Z de titina proveen muchos sitios de unión para los dominios de calmodulina C-terminales de  $\alpha$ -actinina. En la periferia del disco Z, un sitio único interactúa con 2 repeticiones de espectrina centrales de la  $\alpha$ -actinina (Yläne *et al.*, 2001).

En  $\alpha$ -actinina 3 un pequeño segmento de 8 residuos conecta los 2 dominios CH, en una conformación "hairpin" estable. Su orientación hacia la región de unión a actinina, es estabilizada por interacciones con las hélices N y C-terminal del dominio CH2 (Yläne *et al.*, 2001).

Aunque el genotipo del desempeño físico es claramente multifactorial, diversos estudios respaldan que la participación de los polimorfismos anteriormente descritos es significativa en el desempeño de los atletas (Clarkson *et al.*, 2011).

Por lo tanto se planteó probar la hipótesis de que existe una asociación entre los genotipos del gen ACTN3 y el rendimiento en pruebas físicas que causan la utilización de la vía metabólica láctica en una población de individuos no atletas.

## **JUSTIFICACIÓN**

El presente estudio pretende conocer las frecuencias génicas del gen ACTN3 en Costa Rica, con el fin de evaluar una posible personalización de programas de entrenamiento, así como observar si hay asociación entre los genotipos y las habilidades en individuos jóvenes no atletas. En particular, se pretende poner las bases para una futura evaluación del desempeño físico del individuo heterocigoto del gen ACTN3, y su adaptabilidad al entrenamiento, lo cual representará una novedad en la investigación de dicho gen.

Este trabajo permitirá la integración y colaboración de dos disciplinas científicas, como lo son la biología y las ciencias del movimiento humano. La realización de esta investigación permitirá crear una línea de investigación pionera en el área centroamericana.

Esta es una investigación pionera en genética en el deporte en Costa Rica. Ulteriores estudios, tienen como objetivo el crecimiento y consolidación de una línea nueva de investigación en Costa Rica.

## **OBJETIVOS GENERALES**

1. Determinar las frecuencias alélicas y genotípicas del gen ACTN3 en la población costarricense.
2. Determinar si hay asociación entre genotipos del gen ACTN3 y el tipo de rendimiento físico en individuos jóvenes no atletas de la población de estudiantes de la Universidad de Costa Rica.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Determinar los genotipos del gen ACTN3 en individuos no atletas.
2. Determinar el rendimiento físico con pruebas de velocidad/fuerza y resistencia en individuos no atletas.
3. Establecer si existe asociación entre los genotipos del gen ACTN3 de los individuos no atletas y las diversas pruebas de rendimiento físico tomando en cuenta diversas variables concomitantes
4. Determinar el tipo de metabolismo principal utilizado por el genotipo RX del gen ACTN3.

## **METODOLOGÍA**

### **Tipo de Diseño**

El presente estudio es observacional descriptivo, debido a que pretende describir las frecuencias alélicas del gen ACTN3 en la población de Costa Rica. Esta parte se basa en la definición precisa de una población de estudio y la obtención de una muestra representativa de ella, en la que se determina la frecuencia de individuos que presentan la característica de estudio, sin darles ningún seguimiento posterior a los sujetos. La validez de los resultados dependerá de la representatividad de la muestra, de la calidad de los datos obtenidos y de que el número de no respuestas sea pequeño. (Argimon & Jiménez 2004).

La segunda parte del presente estudio es observacional analítico transversal debido a que trata de determinar si existe relación lineal entre dos variables (el genotipo y el tipo de rendimiento físico), así como el grado de asociación entre las variables (Moya 2000) haciendo una única medición de las variables en el tiempo. Este tipo de estudio analiza si la correlación entre dos variables se debe a que una de ellas es causa de la otra. Sin embargo cuando se analizan coeficientes de correlación, siempre debe tenerse en mente que el hecho de que dos variables muestren cierta asociación lineal no indica necesariamente, que una de ellas tenga efecto o indirecto sobre la otra (Gómez 2001).

## **Participantes**

En la primera parte del estudio se utilizó 166 individuos de la población tomados al azar del Programa Nacional de Tamizaje Neonatal. Para la segunda parte, se utilizó una muestra de 94 estudiantes (27 hombres y 67 mujeres) matriculados en los cursos del primer semestre del 2013 de actividad deportiva de la Universidad de Costa Rica, quienes voluntariamente participaron en el estudio.

## **Protocolo de pruebas físicas**

Para medir el metabolismo aeróbico, los individuos fueron sometidos a una prueba de consumo máximo de oxígeno ( $VO_{2max}$ ), la cual es considerada como el estándar de oro (*gold standard*) para determinar la capacidad aeróbica. Esta prueba se realiza mediante un análisis de calorimetría indirecta, en el cual se miden los gases espirados por el individuo mientras realiza ejercicio físico en una banda sin fin, siguiendo un protocolo estándar (Plowman & Smith 2003). En este caso se utilizó el protocolo de Bruce, en el cual cada persona cumplió etapas de 3 min de duración, durante las cuales se cambia la velocidad y el grado de inclinación de la banda sin fin (Cuadro 01).

**Cuadro 01.** Protocolo de Bruce.

| Fase | Minutos | Inclinación (%) | Velocidad (km/h) |
|------|---------|-----------------|------------------|
| 1    | 1-3     | 10              | 2.7              |
| 2    | 4-6     | 12              | 4.0              |
| 3    | 7-9     | 14              | 5.5              |
| 4    | 10-12   | 16              | 6.8              |
| 5    | 13-15   | 18              | 8.0              |
| 6    | 16-18   | 20              | 8.9              |

American College of Sports Medicine.(2005). *ACSM's Guidelines for exercise testing and prescription*.Philadelphia, PA: Lippincott Williams y Wilkins.

( $r= 0.906$  para personas sedentarias) (Robergs & Roberts 1997).El criterio que se utilizó para determinar que la persona alcanzó el  $VO_{2max}$  y finalizar la prueba fue el utilizado en otras investigaciones (Moncada-Jiménez *et al.*, 2009), en donde se toma la decisión si la persona alcanza dos de los siguientes criterios:

1. Solicitud del sujeto de finalizar la prueba.
2. Una tasa de intercambio respiratorio (RER)  $\geq 1.15$
3. Una meseta de  $\pm 2$  ml  $O_2$ /kg/min con un cambio de etapa.

En la evaluación del metabolismo anaeróbico láctico, se aplicó la prueba de Wingate, en el cual se utiliza el cicloergómetro Lode<sup>®</sup> como instrumento de medición de la capacidad y poder anaeróbico. La prueba consiste en 3-5 minutos de calentamiento, al cumplirse este, el sujeto debe realizar el ejercicio físico (pedalear en este caso) a su mayor capacidad durante 30 segundos sin detenerse, contra una resistencia de  $0.7 \times$  peso corporal en Nm. Al finalizar los 30 s de la prueba, el sujeto debe recuperarse

durante al menos 3-5 minutos pedaleando contra una resistencia de 100 W. Con esta prueba se obtienen los valores de potencia pico (PP), potencia promedio (PM), e índice de fatiga (IF) (Heck 2003).

La PP se define como la mayor potencia mecánica alcanzada en alguna etapa de la prueba. Representa las características explosivas de la potencia muscular de una persona. Para calcular la PP se toman muchas muestras, y entre más frecuentes sean las muestras, mayor será la PP calculada. Con el cicloergómetro Lode<sup>®</sup>, que es automático, se pueden obtener valores de potencia instantáneos que brindan la mayor PP de la persona. Este valor es muy cercano a la mayor potencia mecánica “real” de un sujeto. La PM representa la resistencia muscular promedio durante la prueba Wingate. Finalmente, el IF es el descenso o caída de la potencia desde la PP hasta el valor mínimo, y se representa en Watts/s. La menor potencia generalmente aparece al final del test (Inbar 1996).

Para el metabolismo anaeróbico aláctico, se utilizó la prueba de salto vertical, en el que cada individuo realizó sobre una plataforma de medición de tiempo de vuelo un total de 6 saltos, 3 correspondientes al salto contra movimiento (CMJ), y 3 correspondientes al “squat jump” (SJ). Cada individuo realizó las pruebas en una misma sesión, con un tiempo de descanso de 5 minutos entre cada una. Con el tiempo de vuelo, se utilizó la fórmula de caída libre para determinar la distancia en cm alcanzada por cada participante en el salto vertical, de la siguiente manera:



$$\text{Altura salto (cm)} = (1.226 * [\text{Tiempo en segundos}]^2) * 100$$

### **Instrumentos de medición del fenotipo**

Se utilizó un estadiómetro marca Novel Products INC. DES 290 237 para medir la estatura corporal en centímetros. El peso de las personas en kilogramos se midió en una báscula marca OCONY, modelo BF-350.

Para medir la capacidad aeróbica se hizo uso de la Prueba de  $VO_{2\text{max}}$ , en la cual se utilizó un carro metabólico marca Cosmed<sup>®</sup>, modelo Quark b<sup>2</sup> (Italia). Este instrumento se calibró con gases certificados de conocida concentración: 5%  $CO_2$ , 16 %  $O_2$  y Balance  $N_2$ . Para la determinación de la capacidad anaeróbica láctica se utilizó el cicloergómetro marca Lode<sup>®</sup>, modelo Excalibur Sport (Holanda). La prueba de salto vertical se utilizó para obtener la capacidad anaeróbica aláctica, y se midió con una alfombra de salto marca Lafayette Instrument, modelo 54035, la cual está conectada a un cronómetro.

La potencia pico, potencia promedio e índice de fatiga fueron obtenidas mediante la aplicación del Test de Wingate por medio del Lode Ergometry Manager software, Wingate Test Plus Module, que posee el cicloergómetro marca Lode<sup>®</sup>, modelo Excalibur Sport (Holanda).

## **Obtención de la muestra**

Se visitaron diferentes grupos de cursos de actividad deportiva ofrecidos por la Escuela de Educación Física y Deportes (EDUFI) de la UCR donde se expuso a los estudiantes el objetivo del estudio, de manera que conocieran los posibles beneficios y riesgos de su participación voluntaria. Este procedimiento se realizó con luego la aprobación del docente responsable del grupo de actividad deportiva, a la cual asistían dos horas, un día por semana. Estos debían presentarse en la fecha y hora acordada en el Laboratorio de Ciencias del Movimiento Humano, donde debían llenar un Formulario de Historial de Salud y Estilo de Vida antes de iniciar las pruebas.

Para ser calificados como no atletas, los individuos no debían realizar actividad física regularmente (más de dos veces por semana, al menos 2 horas cada sesión).

## **Determinación del gen ACTN3**

Se citó a los estudiantes al Laboratorio de Ciencias del Movimiento Humano de EDUFI para extraer una muestra de aproximadamente unos 4 ml de sangre. A partir de estas muestras, se realizó la extracción de ADN genómico bajo el procedimiento de extracción por Fenol - Cloroformo. Asimismo, se utilizó ADN genómico como template para realizar la amplificación de un fragmento de 303 pb del gen *ACTN3* por medio de PCR.

Para la amplificación del gen ACTN3 se utilizaron los primers *forward*: **cgatcagtgggacaacctg** y *reverse*: **ctcctccagagagccagcta**. Las concentraciones de la reacción de PCR se muestran en el cuadro 4. El perfil de PCR utilizado fue: desnaturalización inicial de 95 °C por 5 minutos; 35 ciclos a 95 °C por 30 segundos, 60 °C por 30 segundos, 72 °C 30 segundos y una extensión final a 72 °C por 10 minutos (Santiago *et al.*, 2010).

El fragmento amplificado fue digerido con la enzima de restricción Ddel para determinar los genotipos en la posición R577X. El tamaño de los fragmentos esperados con el alelo R577 es 205 y 86 pb. Los tamaños con el alelo X577 son 108, 97 y 86 pb. Por lo tanto, se analizará la presencia de un fragmento de 205 o de 108 pb, para determinar los genotipos. En tanto que para el genotipo R577X los tamaños esperados son 205, 108, 97 y 86. La determinación de los genotipos se realizó por medio de geles de poliacrilamida al 10% (Santiago *et al.*, 2010).

### **Análisis estadístico**

Para realizar los análisis estadísticos se utilizó el *Statistical Package for the Social Sciences (SPSS)*, versión 20. Se calculó estadística descriptiva ( $M \pm DE$ ) para las variables dependientes. Se realizaron pruebas de análisis de varianza 2 (sexo) x 3 (genotipos) para grupos independientes para cada una de las variables dependientes del rendimiento físico. En caso de resultados significativos, se realizó el análisis de seguimiento apropiado. La significancia estadística se estableció a priori en  $p < 0.05$ .

## **RESULTADOS**

### **Frecuencias alélicas y genotípicas de las poblaciones en estudio**

Las frecuencias genotípicas obtenidas para la población de Costa Rica fueron de 27.10% para el genotipo RR, 53,6% para el genotipo RX y 19.2% para el genotipo XX. Las frecuencias alélicas del alelo R y del alelo X obtenidas son respectivamente 54% y 46%

En el estudio participaron 27 hombres (28.7%) y 67 mujeres (71.3%), para un total de 94 sujetos pertenecientes a los grupos de actividad deportiva del I semestre del 2013. La frecuencia genotípica encontrada fue 30.9% para RR, 51.1% para RX, y 18.1% para XX. Las frecuencias alélicas de los alelos R y X, son respectivamente 56% y 44%.

No hubo diferencias significativas entre el sexo y la frecuencia del genotipo en el grupo de participantes estudiados ( $\chi^2 = 3.73$ , g.l.= 2,  $p= 0.155$ ) (Cuadro 2).

**Cuadro 2.** Frecuencia genotípica por sexo.

|        | Genotipo |    |    |
|--------|----------|----|----|
|        | RR       | RX | XX |
| Hombre | 12       | 10 | 5  |
| Mujer  | 17       | 38 | 12 |

( $\chi^2 = 3.73$ , g.l. = 2,  $p = 0.155$ )

Las estadísticas descriptivas ( $M \pm DE$ ) para las variables dependientes de todos los participantes se presenta en el cuadro 3.

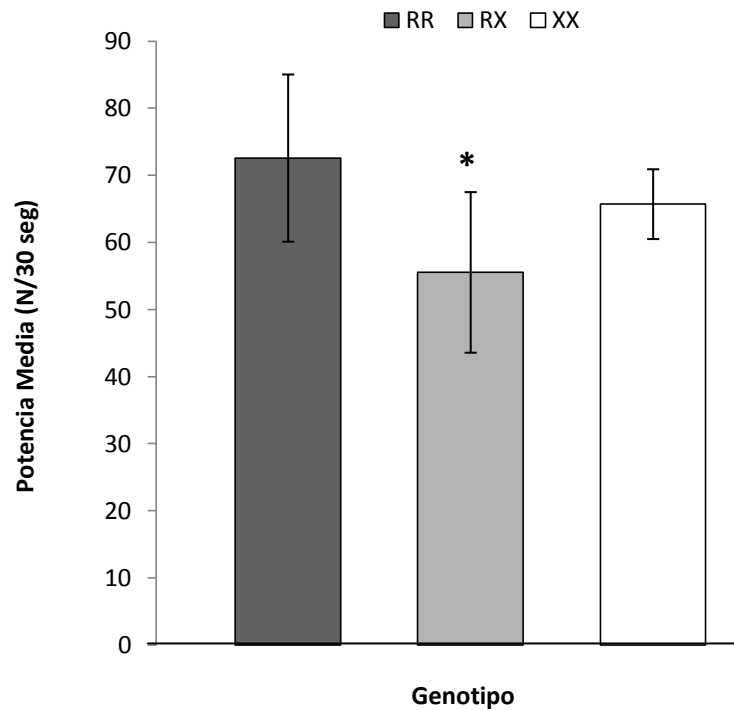
**Cuadro 3.** Estadística descriptiva para todos los participantes ( $n = 94$ ).

| Variable  | Mujeres<br>( $n = 67$ ) |          | Hombres<br>( $n = 27$ ) |          |
|---|-------------------------|----------|-------------------------|----------|
|   | Media                   | $\pm DE$ | Media                   | $\pm DE$ |
| Peso (kg)   | 58.09                   | 10.92    | 67.68                   | 11.26    |
| Estatura (cm)   | 160.68                  | 7.92     | 172.58                  | 6.56     |
| Potencia Pico (N)   | 529.67                  | 191.96   | 897.56                  | 252.13   |
| Potencia Promedio (N)   | 319.53                  | 87.09    | 521.11                  | 125.39   |
| Índice de Fatiga (%)  | 58.45                   | 15.05    | 65.00                   | 13.44    |
| Tiempo a Potencia Pico (s)                                    | 1.45                    | 1.07     | 1.35                    | 0.64     |
| Salto desde sentadilla (cm)                                   | 28.07                   | 6.28     | 30.15                   | 8.05     |
| Salto contra movimiento (cm)                                  | 31.54                   | 7.62     | 33.92                   | 7.86     |
| VO <sub>2</sub> max (ml·kg <sup>-1</sup> ·min <sup>-1</sup> ) | 30.23                   | 5.86     | 41.82                   | 9.47     |

En el cuadro 5 (anexos) se presenta la estadística descriptiva por sexo y genotipo para cada variable de rendimiento físico.

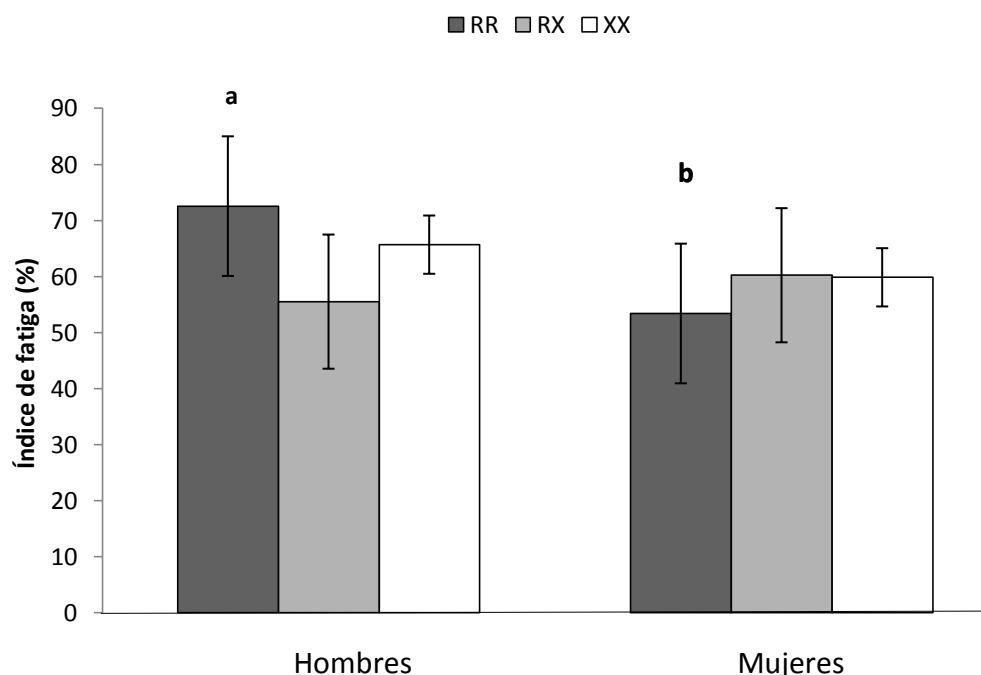
La prueba de ANOVA 2 x 3 para grupos independientes reveló un efecto principal significativo de sexo ( $p \leq 0.001$ ) en la variable potencia pico. Así, independientemente del genotipo, los hombres generaron una mayor potencia pico ( $901.65 \pm 43.39$  N) que las mujeres ( $505.71 \pm 28.76$  N).

La prueba de ANOVA 2 x 3 para grupos independientes reveló efectos principales significativos de sexo ( $p \leq 0.001$ ) y genotipo ( $p = 0.030$ ) en la variable de potencia media. El análisis post hoc de diferencias menos significativas indicó que los hombres presentan una mayor potencia media ( $523.66 \pm 20.12$  N) que las mujeres ( $310.79 \pm 13.34$  N). También se encontró que las personas con predominancia el genotipo RR presentan una potencia media significativamente menor que quienes poseen un genotipo RX (Figura 3), pero no comparados con quienes poseen un genotipo XX ( $p = 0.420$ ). Tampoco se encontraron diferencias significativas en la potencia media entre los genotipos RX y XX ( $p = 0.182$ ).



**Figura 3.** Potencia media de individuos analizados en función del genotipo (RX>XX  $p=0.009$ ).

La prueba de ANOVA 2 x 3 para grupos independientes reveló una interacción significativa entre el sexo y el genotipo en la variable índice de fatiga ( $p = 0.006$ ) (Figura 4). El análisis de efecto simple de la interacción reveló que para individuos cuya predominancia era del genotipo RR el índice de fatiga fue mayor en hombres que en mujeres. Por su parte no se encontraron diferencias entre sexos para los genotipos RX ( $p = 0.350$ ) y XX ( $p = 0.440$ ).



**Figura 4.** Índice de fatiga en hombres y mujeres en función del genotipo predominante ( $a > b$ ,  $p = 0.001$ ).

La prueba de ANOVA 2 x 3 para grupos independientes no reveló una interacción significativa entre el sexo ( $p = 0.819$ ) y el genotipo ( $p = 0.097$ ) en la variable de tiempo requerido para alcanzar la potencia pico ( $p = 0.945$ ). Sin embargo sí reveló un efecto principal significativo del genotipo ( $p \leq 0.001$ ) en la variable de salto desde sentadilla (Squat Jump). Así, independientemente del sexo, las personas con un genotipo RR alcanzaron mayores distancias en el salto vertical ( $35.34 \pm 1.01$  cm) que las personas con genotipo RX ( $25.85 \pm 0.95$  cm,  $p \leq 0.001$ ) y las personas con genotipo XX ( $24.33 \pm 1.42$  cm,  $p \leq 0.001$ ). No se encontraron diferencias significativas en la altura del salto entre los sujetos con genotipos RX y XX ( $p = 0.380$ ).



Adicionalmente la prueba de ANOVA 2 x 3 para grupos independientes reveló un efecto principal significativo del genotipo ( $p \leq 0.001$ ) en la variable de salto contra movimiento (CMJ). Así, independientemente del sexo, las personas con un genotipo RR alcanzaron mayores distancias en el salto vertical ( $38.599 \pm 1.20$  cm) que las personas con genotipo RX ( $30.85 \pm 1.13$  cm,  $p \leq 0.001$ ) y las personas con genotipo XX ( $25.71 \pm 1.70$  cm,  $p \leq 0.001$ ). También se encontraron diferencias significativas en la altura del salto entre los sujetos con genotipos RX y XX ( $p = 0.014$ ).

La prueba de ANOVA 2 x 3 para grupos independientes reveló efectos principales significativos de sexo ( $p \leq 0.001$ ) y genotipo ( $p = 0.019$ ) en la variable de  $VO_2\text{max}$ . El análisis post hoc de diferencias menos significativas indicó que los hombres presentan un mayor  $VO_2\text{máx}$  ( $42.54 \pm 1.42$  ml·kg<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>) que las mujeres ( $29.93 \pm 0.94$  ml·kg<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>). También se encontró que las personas con predominancia el genotipo RR presentan un  $VO_2\text{max}$  significativamente menor ( $33.15 \pm 1.30$  ml·kg<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>) que quienes poseen un genotipo RX ( $38.11 \pm 1.23$  ml·kg<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>,  $p = 0.007$ ), pero no comparados con quienes poseen un genotipo XX ( $37.44 \pm 1.84$  ml·kg<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>,  $p = 0.060$ ). Tampoco se encontraron diferencias significativas en el  $VO_2\text{max}$  entre los genotipos RX y XX ( $p = 0.762$ ).

## **DISCUSIÓN**

Las frecuencias genotípicas obtenidas en el presente estudio difieren de las reportadas por Clarkson y colaboradores en el 2005, estudio en el cual reportan que para poblaciones hispanas las frecuencias en la población son RR 20%, RX 44 %, XX 36%, sin embargo no se menciona de que país o países se tomaron muestras consideradas de hispanos, y la muestra de individuos hispanos fue 25 de un total de 602 individuos, lo que corresponde a un 4.15% del total de la muestra. En nuestro caso la distribución de frecuencias para Costa Rica se asemeja a las reportadas por Yang *et al.* en 2003, donde la frecuencia del genotipo XX es de aproximadamente 18%, específicamente de un 19,2% para el presente estudio. Friedlander y colaboradores en el 2013 sometieron a prueba la hipótesis de que la frecuencia de este gen en humanos, covaría con el gradiente de latitud global, debido a muchos cofactores como lo son temperatura anual, disponibilidad de alimentos, riqueza de especies entre otros. Sin embargo esta hipótesis no resultó validada. A la vez estiman que la frecuencia de esta mutación pudo aumentar en poblaciones al migrar fuera de África aproximadamente hace 40 000- 60 000 años.

Para la obtención de las frecuencias de la población, el tamaño de la muestra se definió con base en los siguientes parámetros: nivel de confianza del 95%, varianza maximizada ( $p=0.50$ ), error máximo permitido 5%, y el conocimiento de las frecuencias alélicas en la población tal para una muestra de  $n=284$ , sin embargo debido a complicaciones con la amplificación en PCR de las muestras de ADN se debió reducir a un total de 166. Aún así, como se puede notar las frecuencias obtenidas de los individuos participantes en las pruebas físicas ( $n=94$ ), y las frecuencias obtenidas de las muestras de neonatos ( $n=166$ ), no muestran una gran variación, por lo que se estima que 100 muestras más no tendrían gran influencia en las frecuencias alélicas respectivas.

En la población de estudio no se encontró diferencias significativas entre el sexo y la frecuencia del genotipo. Esto concuerda con los resultados obtenidos por Clarkson *et al.* 2005 y por Norman *et al.* 2009.

Existen diferencias en generación de potencia pico entre hombres y mujeres independientemente del genotipo ( $p \leq 0.001$ ): los hombres generaron casi el doble de potencia que las mujeres en la medición de esta variable. También en la variable potencia media se obtuvieron efectos principales significativos de sexo; así, los hombres presentan una mayor potencia media que las mujeres ( $p \leq 0.001$ ). En términos de fuerza absoluta las mujeres tienen generalmente dos tercios de la fuerza de los hombres, debido a su menor cantidad de masa muscular (Baechle & Earle, 2007). Esto

concuerta con lo obtenido por Norman *et al.*(2009) donde se encontraron diferencias entre las potencias pico generadas por cada sexo, no obstante no se estableció ninguna asociación con el genotipo (ANOVA, sexo X genotipo;  $p>0.05$ ), posiblemente debido a que ciertamente a pesar que la prueba utilizada en este estudio mide la potencia, existe claramente un componente de medición de la resistencia en ella también, por lo que en el presente estudio se utilizó como una medida que nos indicara asociación con el genotipo RX, cuya posible explicación se presenta al final de la discusión.

Una probable explicación parcial o total de los valores de fuerza inferiores encontrados en mujeres podría ser que las mujeres tienen menos actividad física en volumen, frecuencia e intensidad que los hombres. Teniendo en cuenta lo anterior, estudios transversales realizados parecen indicar que en general, las mujeres presentan valores de fuerza máxima absoluta que son inferiores a los de los hombres. La diferencia en fuerza máxima absoluta entre hombres y mujeres es mayor en los miembros superiores (razón de fuerza mujeres/hombres= 0.56), que en los miembros inferiores (razón=0.72). Es posible que la mayor talla (~10%), peso (~11Kg), porcentaje de masa muscular, tamaño de la fibra muscular y concentración sanguínea basal de testosterona que presentan los hombres, pudiera explicar parcial o totalmente por qué los hombres presentan valores superiores de fuerza máxima (González & Gorostiaga, 2002).

Se ha demostrado que el polimorfismo de ACTN3 R577X significa una pérdida de la proteína codificada por ACTN3 en homocigotos XX. Este polimorfismo común ha sido asociado con desempeño muscular en atletas australianos élite de resistencia. En atletas élite de Australia el alelo R era más común en atletas de velocidad y potencia, y el alelo X en atletas de resistencia (Clarkson *et al.*, 2005). Debido a esta presencia del alelo X, en la presente investigación era de esperar que tanto el genotipo RX como el XX presentaran diferencias significativas con los valores de consumo máximo de oxígeno, sin embargo solamente el genotipo RX las presentó. Es probable que la N obtenida en los homocigotos XX no sea lo suficientemente grande para poder observar diferencias significativas (Cuadro 3), sin embargo el valor obtenido se encuentra cerca de significancia ( $p= 0.060$ ), lo que indica que debe existir influencia por parte del alelo X.

Esto contradice estudios anteriores en los cuales el alelo R parece tener un efecto dominante en el genotipo heterocigoto (Clarkson *et al.*, 2005; Yang *et al.*, 2003; Vincent *et al.*, 2007), por lo que no esperaba que genotipos heterocigotos tuvieran la mayor asociación con esta prueba. La proteína  $\alpha$ -actinina 3 tiene un rol importante en la diferenciación de la fibra muscular hacia fibras de contracción rápida y de perfil glicolítico, y que en su ausencia la fibra tiende a ser de contracción lenta, con un perfil más oxidativo (Chan *et al.*, 2008) lo que argumentaría contra la dominancia del alelo R en este caso en particular.

La ausencia del alelo X en el músculo, produce una reducción de la actividad de la enzima glucolítica Glucógeno Fosforilasa (GF), por tanto se da una reducción en la capacidad de degradar el glucógeno muscular para obtener energía, lo que afecta directamente la función muscular. La deficiencia de  $\alpha$  actinina va en detrimento de las actividades de potencia y velocidad en poblaciones humanas de atletas (Yang et al., 2003). Se ha demostrado que la baja actividad de la GF y el alto contenido de glucógeno muscular ocurren simultáneamente con una alta actividad de enzimas glucolíticas y mitocondriales en ratones deficientes de  $\alpha$  actinina 3. Una reducida habilidad de acceder el glucógeno muscular sería desventajosa para atletas de velocidad, los cuales requieren de combustible endógeno como el glucógeno muscular para rápidamente producir energía para la contracción muscular. Una reducción en la disponibilidad de glucosa resultaría en un cambio compensatorio hacia el metabolismo aeróbico. Estos cambios pueden ser ventajosos para atletas de resistencia, permitiéndoles preservar el glucógeno muscular y usar preferiblemente otras fuentes de combustible para la generación de energía como lo son los ácidos grasos (Quinlan et al., 2010). Además el descenso en la actividad de GF causada por la deficiencia de  $\alpha$ - actinina 3 provee mecanismos para cambios en las propiedades contráctiles, en adición de las diferencias metabólicas ya mencionadas. En ratones deficientes de ACTN3 se observan tiempos de relajación de contracción mayores, menor generación de fuerza y mayor resistencia a la fatiga, debido a una reducción en el diámetro de las fibras

tipo IIb. También la deficiencia de  $\alpha$ -actinina 3 reduce el área total de músculo ocupada por fibras rápidas glicolíticas (IIb) (Berman & North, 2010).

En el presente estudio, individuos (hombres y mujeres) con genotipo RR lograron alcanzar una mayor altura en salto vertical en ambos tipos de salto (SJ, CMJ). Esta prueba mide la fuerza generada por el tren inferior del cuerpo en un movimiento explosivo, el cual conlleva una contracción muscular muy rápida. Este resultado coincide con lo descrito por Yang *et al.* (2003) que demuestra que el alelo R del gen ACTN3 provee una ventaja para actividades de fuerza y velocidad. Por tanto en la diferencia significativa que se observa entre los otros dos genotipos en esta prueba (RX >XX,  $p=0.014$ ), el alelo R muestra un efecto, por tanto los valores de potencia son mayores en el caso del genotipo heterocigoto comparado con el homocigoto XX (Clarkson *et al.*, 2005; Yang *et al.*, 2003; Vincent *et al.* 2007). Ante esto no se debe obviar un hecho poco estudiado, que es la contribución de ACTN2, en el rendimiento físico. Se ha demostrado que en condiciones de homocigosis (XX)  $\alpha$ -actinina 2 compensa parcialmente esta deficiencia (Friedlander *et al.*, 2013), pero no se conoce cuánto es el aporte de esta compensación y si tiene algún efecto en la generación de potencia o en el cambio del metabolismo utilizado en cada una de las pruebas realizadas.

En el 2007 Vincent *et al.* demostraron que hombres jóvenes con el genotipo RR tenían torques de cuádriceps dinámicos relativamente altos a 300°/s y mayor porcentaje de fibras tipo IIX que aquellos con el genotipo XX. Recientemente en otro estudio se demostró una asociación entre el genotipo RR y valores máximos de potencia usando un cicloergómetro y midiendo 6 *sprints* en 5 distintas frecuencias de pedaleo (130, 110, 90, 70 y 50) (Erskine *et al.*, 2013)

A diferencia del presente estudio, en otros no se ha encontrado que el polimorfismo R577X esté asociado a la capacidad de producir potencia máxima (explosiva) en jóvenes no atletas de ambos géneros, medida a través de altura alcanzada en salto vertical (SJ, CMJ) (Santiago *et al.*, 2010). Estas diferencias entre los estudios pueden originarse de distintos tipos de pruebas utilizadas para caracterizar el fenotipo de potencia muscular. La mayoría de las acciones de salto o velocidad que son naturalmente realizados por humanos son movimientos multi-articulares que incluyen altas velocidades angulares que a su vez involucra la participación coordinada de la mayoría de los músculos del tren inferior (Ashley & Weiss, 1994; Brown & Weir, 2001), y en la mayoría de los estudios previos en no atletas, se usaron pruebas isoquinéticas, que solo involucran movimientos de una articulación a bajas velocidades angulares ( $\leq 300^\circ/\text{s}$ ) (Santiago *et al.*, 2010).



Al estar presente al menos uno de los alelos R provoca la expresión de  $\alpha$ -actinina-3. Esta es la isoforma predominante en las fibras rápidas en humanos (Millset *et al.*, 2001) y confieren una mayor capacidad de absorción o transmisión de la fuerza a la línea Z durante una rápida contracción muscular. Aproximadamente 45% de la variación en las proporciones de tipos de fibra se debe a factores genéticos (Simoneau and Bouchard, 1995). El alineamiento de líneas Z en miofibrillas adyacentes permite la coordinación de contracciones entre miofibrillas y permite la transmisión de contracciones a los costámeros a los cuales las líneas Z se encuentran unidas en la membrana muscular. Las  $\alpha$ -actininas sarcoméricas son componentes mayoritarios de las líneas Z e históricamente han jugado un rol estructural en el músculo esquelético (Berman & North, 2010).

Las  $\alpha$ -actininas forman una estructura de celosía que ancla juntos delgados filamentos de actina (Fig.1) y estabilizan de esta manera el aparato contráctil (MacArthur & North 2004). También estas  $\alpha$ -actininas sarcoméricas se unen a la enzima gluconeogénica fructosa 1,6-bifosfatasa a la glucógeno fosfoforilasa y a las calsarinas, las cuales interactúan con el calcinerium, un factor de señalización que juega un rol en la diferenciación de los tipos de fibra muscular (Serrano *et al.*, 2001). Así la  $\alpha$ -actinina 3 puede promover la formación de fibras de contracción rápida o alterar el metabolismo de la glucosa en respuesta al entrenamiento. Además  $\alpha$ -actinina-3 pudo haber sido evolutivamente optimizada para minimizar el daño causado por

contracciones musculares excéntricas. La línea Z en fibras glicolíticas rápidas es la estructura más vulnerable a la lesión por ejercicio, pudiendo darse daños morfológicos y degradación de proteínas asociadas como las  $\alpha$ -actininas (Yang *et al.*, 2003). Por lo que ACTN3 al conferir a las fibras tipo II con una mayor cantidad de fibras, un mayor diámetro de estas, y a la vez con un aparato contráctil estable provoca que el músculo pueda generar una mayor capacidad de potencia al adquirir una mayor capacidad de absorción/transmisión de fuerza a la línea Z durante contracciones rápidas, lo cual es esencial en acciones de potencia (Pimenta *et al.*, 2013), y concuerda con los resultados obtenidos para el genotipo RR en el presente estudio.

En la presente investigación se puso especial atención en el genotipo heterocigoto (RX), pues en casi la totalidad de estudios realizados se hace énfasis en los genotipos homocigotos. En el estudio realizado, la asociación observada entre el genotipo RX y el Test de Wingate ( $p=0.030$ ) concuerda con nuestra predicción de que individuos con el genotipo RX deberían presentar un mejor rendimiento físico en esta prueba. El Test de Wingate, es una prueba anaeróbica que mide la capacidad de poder aláctico, y que involucra tanto generación de potencia, así como la resistencia y fatiga a esta generación máxima de potencia (Heck *et al.*, 2003), y es la primera vez que se utiliza de esta manera esta prueba para buscar diferencias significativas con el heterocigoto.

Es una incógnita los mecanismos fisiológicos, metabólicos y genéticos que explican este resultado del heterocigoto. No obstante se cree que puede deberse a que individuos con este genotipo heterocigoto poseen un alelo R, el cual ya se ha demostrado en otros estudios se encuentra asociado a actividades de potencia y velocidad; a la vez, el alelo X cuya deficiencia ha sido asociada a bajos valores en mediciones de potencia, pero elevados en pruebas resistencia (Yang *et al.*, 2003).

Este fenotipo podría estar bajo la influencia de estos alelos, ya que si tomamos los argumentos que explican las funciones del alelo R en la prueba de salto vertical y del alelo X en la prueba de consumo máximo de oxígeno, se podría crear la hipótesis que en individuos con el genotipo heterocigoto algunas fibras musculares podrían estar actuando como fibras de potencia, mientras que otras lo estarían haciendo como fibras de resistencia durante la contracción muscular. Lo que permitiría lograr generar potencia (no tanto como en el genotipo RR), y lograr mantenerla por un mayor período de tiempo. Sin embargo es desconocido el grado de interacción entre estos alelos o si existen otros procesos o genes como  $\alpha$ -actinina-2 u otros influyendo en el fenotipo.

Aquellos individuos con genotipo RR para esta variable alcanzan valores promedio menores que los individuos con genotipo RX, esto debido a que alcanzan potencias muy elevadas en uno o dos segundos, pero no logran mantener este esfuerzo por un período más allá de este tiempo, y sus

valores caen drásticamente a valores de potencia muy bajos casi de forma inmediata.

Esta capacidad de generar valores de potencia elevados y mantenerlos por períodos muy cortos de tiempo, se conoce como el índice de fatiga, la cual representa un mecanismo del sistema muscular para proteger las fibras musculares de daños causados por la generación de altas fuerzas de contracción muscular (Frieden & Lieber, 2001). En el presente estudio se observan diferencias significativas entre hombres y mujeres ( $p=0.006$ ). Una mayor generación de potencia puede deberse a la mayor capacidad muscular de los hombres de generar fuerza como se mencionó al inicio de esta discusión. (Heck *et al.*, 2003).

En resumen, se encontró evidencia de que la presencia del alelo R del gen  $\alpha$ -actinina 3, influencia positivamente la habilidad de generar mayor poder explosivo de piernas en una población de jóvenes estudiantes no atletas, independientemente del género.

Además se logró encontrar una asociación entre el genotipo RX y la variable potencia media del Test de Wingate, la cual demuestra un grado de interacción entre ambos alelos (R y X), por las razones mencionadas anteriormente, sin embargo estudios más grandes serán necesarios para dilucidar los mecanismos responsables y la confirmación o no de esta interacción. Por medio de esta misma prueba se logró establecer una

asociación dependiente del género, en las variables potencia pico y potencia media, generando los hombres una mayor potencia en ambos casos. Adicionalmente se logró encontrar evidencia que el índice de fatiga en los individuos con el genotipo RR es mayor en hombres que en mujeres.

No se encontró una asociación entre el genotipo XX y los valores de consumo de oxígeno en la prueba de  $VO_{2max}$ , pero si de esta variable con el genotipo RX, resultado no esperado, sin embargo la presencia del alelo X nos indica algo grado de interacción de este alelo en la utilización de la vía aeróbica oxidativa.

## **CONCLUSIONES**

En el estudio realizado se logró establecer las siguientes conclusiones:

- Las frecuencias alélicas obtenidas para Costa Rica, concuerdan con que se trata de una población heterogénea, con un componente caucásico para el gen en ACTN3, ya que la frecuencia de este gen se asemeja más a lo reportado en la literatura como frecuencias para poblaciones caucásicas.
- Se encuentra asociación entre el genotipo heterocigoto del gen ACTN3 y el consumo de oxígeno en la prueba de VO<sub>2</sub> max, así como en las variables potencia promedio e índice de fatiga en el Test de Wingate. Sin embargo aún no existen mecanismos esclarecidos que permitan explicar certeramente estas asociaciones.
- Existe evidencia de asociación entre el genotipo RR y la generación de fuerza explosiva en las pruebas de salto vertical que promueven la utilización del metabolismo anaeróbico, lo cual se explica por un mayor grosor y a una mayor cantidad de fibras musculares de rápida contracción. Lo que concuerda con asociaciones encontradas en estudios como el de Yang *et al.*, 2003.

- No se encontró evidencia de asociación entre el genotipo XX y la capacidad aeróbica máxima en la prueba de  $VO_{2\text{ max}}$ , pero si con el genotipo RX, sin embargo la diferencia de significancia obtenida es muy pequeña.
- Existe una asociación dependiente del sexo en las variables potencia pico, potencia media e índice de fatiga, siendo mayor estos valores en los hombres.

Estos resultados demuestran que ACTN3 es un gen importante que influye en la función metabólica del músculo esquelético, y que su presencia es vital para la generación de fuerza y potencia, además que la ausencia de esta proteína (XX) no influye en un aumento en la capacidad aeróbica de un individuo.

## **Recomendaciones**

Se sugiere realizar un estudio con una población de mayor tamaño, para confirmar o rechazar las asociaciones aquí encontradas.

También se recomienda hacer el estudio en personas con un grado de entrenamiento moderado (atletas nacionales, semi profesionales), pues ya los extremos, entiéndase atletas élite (olímpicos, mundiales) y los sedentarios han sido evaluados.

Someter a una rutina de entrenamiento por un período de tiempo de meses a una población de sujetos separados por genotipo y con distintos programas de entrenamiento con el fin de confirmar resultados y poder luego transferirlos a la parte práctica del entrenamiento físico.



## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco primero a Dios y a mi familia, a mis padres Virginia Díaz y Orlando Orozco y a mi hermana María por su apoyo incondicional en todos estos años de estudio, por la paciencia, los consejos, y por enseñarme que luchando cualquier sueño es alcanzable y cualquier obstáculo se puede superar.

En segundo a mis profesores:

Alejandro Leal, por aceptar el riesgo de ser mi tutor en un tema que no se investiga en Costa Rica, por ayudarme cada vez que las pruebas no salían y por guiarme a buscar soluciones cada semana.

José Moncada por permitirme utilizar todo el equipo del laboratorio del Centro de Investigación en Ciencias del Movimiento Humano, hacerme sentir como uno más de esa escuela, y por introducirme a un mundo “nuevo” de la ciencia detrás del deporte, y del cual he aprendido mucho y reafirma mi deseo de seguir esta línea de investigación.

Gabriela Chavarría por ayudarme con todos esos detalles que al final hacen grande los trabajos o investigaciones, por siempre estar dispuesta a colaborar, a corregir y a ver esas cosas que se pasaban por alto.

Y a todas esas personas que estuvieron involucradas de una u otra manera en esta investigación, Catalina Fernández, Jose Jiménez, Elizabeth Carpio, Andrea Ramírez, Wendy Solís, Natalia Bolaños, Federico Hernández, entre otros, porque sin su ayuda esta investigación no hubiera sido posible.

Gracias a todos, y espero poder seguir contando con ustedes para investigaciones futuras.

## **REFERENCIAS**

American College of Sports Medicine.2005. *ACSM's Guidelines for Exercise Testing and Prescription*. Philadelphia, Lippincott Williams y Wilkins.

Argimon J, Jiménez J. 2004. *Métodos de Investigación Clínica y Epidemiológica (3era edición)*. España.Elsevier.

Berman, Y & K.N, North.2010. *A gene for speed: The emerging role of  $\alpha$ -actinin 3 in muscle metabolism*. *Physiology*25: 250-259.

Berne R, Levy M. 2006. *Fisiología (4ta edición)*. USA. ElsevierMosby.

Clarkson P, Devaney J, Gordish-Dressman H, Thompson P, Hubal M, Urso M, Price T, Angelopoulos T, Gordon P, Moyna N, Pescatello L, Visich P, Zoeller R, Seip R, Hoffman E. 2005. *ACTN3 genotype is associated with increases in muscle strength in response to resistance training in women*. *J. Appl. Phys.* 99: 154-163.

Delmonico M, Kostek M, Doldo N, Hand B, Walsh S, Conway J, Carignan C, Roth S, Hurley B. 2007. *Alpha-Actinin-3 (ACTN3) R577X polymorphism influences knee extensor peak power response to strength training in older men and women*. *J. Gerontol.*62A:2:206-212.

- Friedlander, S.M., A.L. Herrman, D.P Lowry, E.R Mephram, M. Lek, K.N. North, C.L. Organ. 2013. *ACTN3 allele frequency in humans covaries with global latitudinal gradient*. PloS ONE 8(1): e52282. doi:10.1371/journal.pone.0052282.
- Ganong W.1988. *Fisiología Médica* (11<sup>a</sup> Edición). México D.F. Editorial El Manual Moderno.
- Gómez M. 2001. *Elementos de Estadística Descriptiva (3era Edición)*. Costa Rica. EUNED.
- Heck, H., H, Schulz., U, Bartmus. 2003. *diagnostic of anaerobic power and capacity*. Eur. J. Sports Sci:3: 1-23
- Inbar O, Bar-Or O, Skinner J. 1996. *The Wingate anaerobic Test*. USA. Human Kinetics.
- Lippi G., U, Longo.,N, Maffulli.2010. *Genetics and sports*. Brit Med Bull. 93:27-47.
- López Chicharro J, Fernández Vaquero A. 2006. *Fisiología del Ejercicio* (3ra ed). Madrid. Médica Panamericana.
- Lutter P & Squire J. 2002. *Muscle Z-band ultrastructure: titin Z-repeats and Z-band periodicities do not match*. J Mol Biol. 319: 1157-1164.
- Marieb, E. 2001. *Human Anatomy and Physiology* (5th Edition). Redwood City. Cal. Benjamin Cummings.

- McArthur, D & K, North.2004.*A gene for speed?. The evolution and function of  $\alpha$ -actinin 3*.BioEssays.26: 786-795.
- McArthur, D & K, North.2007. *ACTN3: A genetic Influence on Muscle Function and Athletic Performance*. Exercise and Sport Sciences Review. 35: 30-34.
- McComas A.J. 1996.*Skeletal Muscle: Form and Function*. Champaign, Ill.USA.Human Kinetics.
- Mills, M., N, Yang., R, Weinberger., D, Vander., A, Beggs., S, Easteal., K, North. 2001. *Differential expression of the actin-binding proteins,  $\alpha$ -actinin-2 and -3 , in different species: implications for the evolution of functional redundancy*. Hum Mol Genet. 10: 1335-1346.
- Moncada-Jiménez J., E.P, Plaisanc., M.L, Mestek., L, Ratcliff., F, Araya-Ramírez., J.K, Taylor., P.W, Grandjean.,L.F, AragonVargas. 2009. *Duathlonperformance unaltered by short-term changes in dietary fat and carbohydrates*.Int. J. Sport Nutr. Exerc. Metab. 19: 47-60.
- Montgomery, H., L, Safari. 2007. *Genetic Basis of Physical Fitness*. Annu Rev Anthropol 36: 391-405.
- Moya L. 2000. *Introducción a la estadística de la salud (1era Edición)*. Costa Rica. Editorial de la Universidad de Costa Rica.

- Norman, B., M, Esbjörnsson., H, Rundqvist., T, Österlund., F, Von Walden., P, Tesch. 2009. *Strength, power, fiber types, and mRNA expression in trained men and women with different ACTN3 R577X genotypes.* J. App. Physiol 106: 959- 965.
- Ogura, Y., H, Naito., R, Kaigi., T, Akema., T, Sugiura., S, Katamoto., J, Aoki. 2009. *Different adaptations of alpha-actinin isoforms to exercise training in rat skeletal muscles.* Acta Physiologica. 196: 341-349.
- Pimenta, E., D, Coelho., C, Veneroso., E, Barros., I, Cruz., R, Morandi., G De A Pussieldi., M, Carvalho., E, García., J, De Paz Fernández.2013.*Effect of ACTN3 gene on strength and endurance in soccer players.* J Strength Cond Res. 27(12): 3286-3292.
- Plowman, S. & D, Smith. 2003. Exercise Physiology. (2<sup>nd</sup>. Edition). San Francisco. Benjamin Cummings.
- Quinlan, K., J, Seto., N, Turner., A, Vandebrouck., M, Floetenmeyer., D.G, Macarthur., J, Raftery., M, Lek., N, Yang., R, Parton., G. Cooney., K, North. 2010.  *$\alpha$ -Actinin-3 deficiency results in reduced glycogen phosphorylase activity and altered calcium handling in skeletal muscle.* Hum. Mol. Genet. 19 (7): 1335-1346.

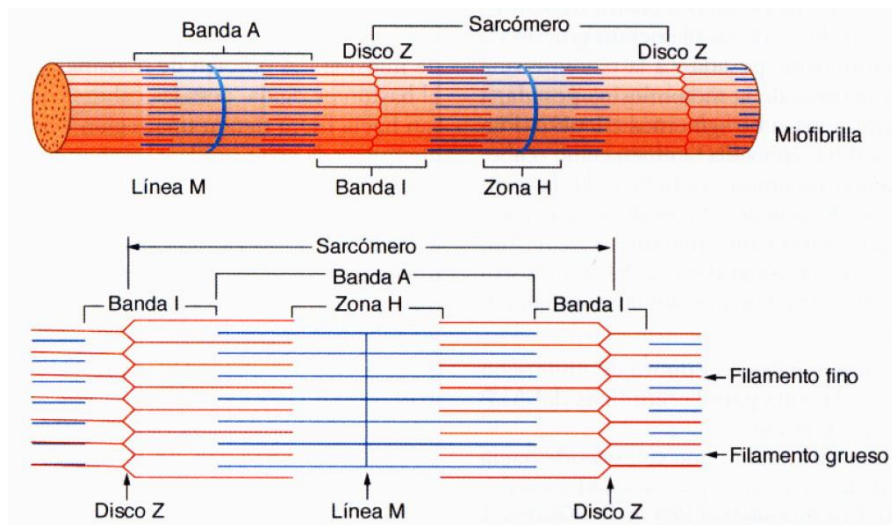
- Robergs, R & S, Roberts. 1997. *Exercise Physiology: Exercise, Performance and Clinical Applications*. Missouri, USA. Mosby.
- Roth, S.M, S, Walsh., D, Liu., E.J, Metter., L, Ferrucci., B.F, Hurley. 2008. *The ACTN3 R577X nonsense allele is underrepresented in elite-level strength athletes*. Eur. J. Hum.Genet. 16: 391-394.
- Santiago, C., G, Rodríguez Romo., F, Gómez Gallego., M, González Freire., T, Yvert., Z, Verde., F, Naclerio., S, Altmäe., J, Esteve Lanao., J.R, Ruiz., A, Lucia. 2010. *Is there an association between ACTN3 R577X polymorphism and muscle power phenotypes in young, non athletic adults?* Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports. 20: 771-778.
- Taylor, K., D, Taylor.,& F, Schachat. 2000. *Isoform of alpha-actinin from cardiac, smooth, and skeletal muscle form polar arrays of actinin filaments*. J. Cell. Biol. 149: 635-645.
- Vander, A., J, Sherman., D, Luciano. 2001. *Human Physiology: The Mechanisms of Body Function* (8<sup>th</sup>. edition). New York. McGraw-Hill.
- Wilmore J & Costill D. 2001. *Fisiología del Esfuerzo y del Deporte* (4ta. ed.). Barcelona. Editorial Paidotribo
- Wilmore J & Costill D.2007. *Fisiología del Esfuerzo y del Deporte* (6ta. ed.). Barcelona. Editorial Paidotribo.

Yang, N., D, MacArthur., J, Gulbin., A, Hahn., A, Beggs., S, Easteal., K, North.2003.*ACTN3 genotype is associated with human elite athletic performance.* Am. J. Hum. Genet. 73: 627-631.

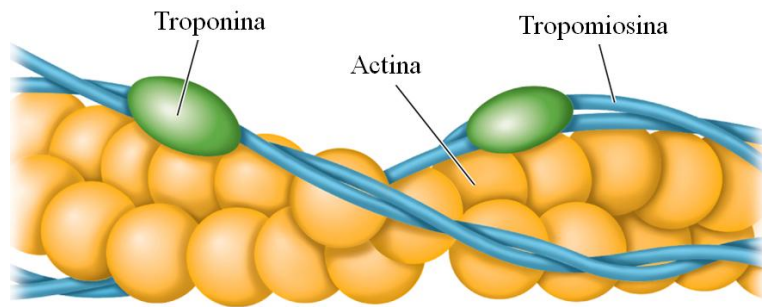
Yläne, J., K, Scheffzek., P, Young., M, Saraste. 2001.*Crystal Structure of the  $\alpha$ -Actinin Rod Reveals an Extensive Torsional Twist.* Structure. 9: 597-604.



# Anexos



**Figura 1.** Esquema de una miofibrilla y sus principales componentes (López Chicharro y Fernández Vaquero 2006)



**Figura 2.** Esquema de un filamento de actina (Wilmore&Costill 2007).

**Cuadro 4.** Concentración de reactivos de reacción de PCR utilizadas en el presente estudio.

| <b>Reactivo</b>                          | <b>1X</b>     |
|--|---------------|
| <b>Agua PCR</b>                          | 12.75 $\mu$ l |
| <b>Tag Buffer 10X (Fermentas)</b>        | 2.5 $\mu$ l   |
| <b>MgCl<sub>2</sub> 25mM (Fermentas)</b> | 1.5 $\mu$ l   |
| <b>DNPT's (2mM)</b>                      | 1.5 $\mu$ l   |
| <b>Primer Forward (10pmol/ml)</b>        | 1 $\mu$ l     |
| <b>Primer Reverse (10pmol/ml)</b>        | 1 $\mu$ l     |
| <b>Tag</b>                               | 0.25 $\mu$ l  |
| <b>ADN</b>                               | 5.0 $\mu$ l   |

**Cuadro 5.** Estadística descriptiva por sexo y genotipo para las variables de rendimiento físico en estudiantes universitarios (n = 94).

| Variables   | Hombre          |                 |                 | Mujer           |                 |                 |
|---|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
|   | RR (n=12)       | RX (n=10)       | XX (n=5)        | RR (n=17)       | RX (n=38)       | XX (n=12)       |
| Potencia pico (N)   | 873.92 ± 337.45 | 918.34 ± 195.30 | 912.70 ± 105.72 | 465.59 ± 169.74 | 575.16 ± 204.04 | 476.39 ± 150.16 |
| Potencia media (N/30 s)                                       | 480.23 ± 173.63 | 570.69 ± 49.94  | 520.07 ± 50.06  | 291.87 ± 67.35  | 336.94 ± 99.78  | 303.56 ± 53.98  |
| Índice de fatiga (%)  | 72.58 ± 12.46   | 55.54 ± 11.97   | 65.71 ± 5.20    | 53.43 ± 15.27   | 60.25 ± 14.86   | 59.88 ± 15.02   |
| Tiempo para alcanzar la potencia pico (s)                     | 1.09 ± 0.32     | 1.51 ± 0.67     | 1.65 ± 0.97     | 1.11 ± 0.39     | 1.47 ± 1.23     | 1.82 ± 1.10     |
| Salto desde sentadilla (cm)                                   | 36.91 ± 6.58    | 25.13 ± 2.98    | 23.91 ± 5.76    | 33.77 ± 5.73    | 26.56 ± 5.46    | 24.75 ± 4.31    |
| Salto contra movimiento (cm)                                  | 39.97 ± 5.14    | 31.05 ± 4.22    | 25.13 ± 7.81    | 37.22 ± 8.52    | 30.64 ± 6.45    | 26.29 ± 4.41    |
| VO <sub>2</sub> max (ml·kg <sup>-1</sup> ·min <sup>-1</sup> ) | 37.85 ± 9.23    | 45.20 ± 7.19    | 44.56 ± 12.12   | 28.45 ± 3.97    | 31.01 ± 6.82    | 30.30 ± 4.42    |



