

Breve descripción:

Los genotipos de *ACTN3* presentan una alta influencia en el rendimiento deportivo. Específicamente, se han relacionado a los genotipos RR y RX con la capacidad anaerobia, mientras que el genotipo XX con la capacidad aerobia. Se reclutarán 70 personas físicamente activas, a las cuales se les determinará el genotipo de *ACTN3*. Posteriormente, se someterán a una prueba de esfuerzo máximo incremental en cicloergómetro. Durante la prueba, se determinarán en diferentes tiempos la concentración de lactato en sangre durante el ejercicio.

Palabras clave: alfa-actinina-3, polimorfismo R577X, capacidad aerobia.

1. Título de la propuesta.

Determinación del inicio de la acumulación de lactato en sangre (OBLA) en sujetos activos según genotipos de *ACTN3*.

2. Planteamiento del problema.

En las últimas décadas, ha tomado particular interés el estudio de la influencia de la genética en el deporte de alto rendimiento. Existen más de 20 genes que se han relacionado directamente con la mejoría de las capacidades físicas o con el atleta de alto rendimiento (Bray et al., 2009). Uno de los genes más estudiados es la alfa-actinina-3 (*ACTN3*). Estudios en el gen *ACTN3*, han relacionado a sus genotipos (RR, RX y XX) con las capacidades físicas (Chiu et al., 2011) y con el alto rendimiento deportivo (Pimenta et al., 2013). Específicamente, se ha reportado que los genotipos de *ACTN3* podrían mejorar la velocidad de desplazamiento (Mikami et al., 2014), la capacidad anaerobia (Broos et al., 2015) y la capacidad aerobia (Pimenta et al., 2013). Para saber cómo es que la presencia de los genotipos de *ACTN3* participan en la mejora de las capacidades físicas, se han realizado estudios en modelo animal (MacArthur et al., 2008). Los principales hallazgos se enfocan hacia un incremento en enzimas de la vía aerobia, una disminución en enzimas glucolíticas y anaerobias; como lo es la lactato deshidrogenasa (LDH). La LDH es la responsable de convertir la molécula de piruvato a lactato. Sin embargo,

MacArthur et al. (2008), sugieren que los resultados encontrados en el modelo animal podrían explicar lo que sucede en humanos.

No obstante, la mayoría de los estudios sobre los genotipos de *ACTN3* en humanos, han sido realizados desde un enfoque deportivo y asociativo con las capacidades físicas (Pasqua et al., 2015; Broos et al., 2015). A pesar de ello, dichos estudios muestran poca evidencia de cómo el gen *ACTN3* y sus genotipos, mejoran las capacidades físicas, el rendimiento deportivo. Se desconoce, si los genotipos de *ACTN3* podrían participar la determinación y/o inicio de la acumulación de lactato en sangre durante un ejercicio. Dicho inicio, se relaciona directamente con el rendimiento deportivo.

3. Justificación.

Recientemente, se ha reportado que los portadores de los genotipos RR vs XX, presentan fibras musculares Ila y IIX con una mayor área seccional transversal (Broos et al., 2016), lo que les permite desarrollar mayor potencia (Orysiak et al., 2014), fuerza (Broos et al., 2015) y velocidad (Mikami et al., 2014). En cambio, los portadores del genotipo XX presentan mayor proporción de fibras lentas tipo I, en comparación con el genotipo RR y RX (Ahmetov et al., 2011), favoreciéndoles las actividades de resistencia aerobia (Yang et al., 2003). A pesar de lo anterior, a nuestro conocimiento, se desconocen de estudios donde indaguen sobre la participación de los genotipos de *ACTN3* y la producción de lactato en sangre durante un ejercicio físico.

Es de vital importancia determinar si los genotipos de *ACTN3* participan o determinan el inicio de la acumulación de la producción de lactato en sangre en sujetos físicamente activos durante un ejercicio aerobio. Con el conocimiento generado con la presente investigación, se podrá determinar cargas de trabajo, periodización de entrenamientos, tiempos de recuperación post ejercicio y de esta manera incrementar el rendimiento deportivo en los atletas. A su vez, con los resultados obtenidos, se podría entender de una mejor manera la participación de los genotipos de *ACTN3* en el rendimiento deportivo. Por último, se aportaría

conocimiento novedoso sobre la posible relación entre los genotipos de *ACTN3* y el lactato sanguíneo.

4. Marco teórico.

Gen y genotipo.

Una de las variables alélicas del gen *ACTN3* presenta una mutación sin sentido debido al intercambio de un nucleótido de citosina por un nucleótido de timina en la posición 1747 del exón 16. Como resultado, se obtiene una sustitución de una arginina por un codón de parada prematuro en la posición 577 (R577X) (North, 2008). Dicho gen se encuentra en el locus 11q13-q14 (Beggs et al., 1992).

El gen *ACTN3* se presenta así en dos alelos, el alelo R que codifica para la proteína funcional alfa-actinina-3 y el alelo X que codifica una proteína alfa-actinina-3 no funcional (MacArthur y North, 2004). El genotipo de *ACTN3*, ha sido asociado con el rendimiento deportivo y hay indicios de proporcionar ventaja deportiva entre los sujetos que codifican o no para la proteína alfa-actinina-3 (genotipo RR y RX vs genotipo XX) (MacArthur y North, 2004). Dicho de otra manera, el genotipo XX puede favorecer actividades de resistencia y el genotipo RR y RX favorece actividades de velocidad y potencia muscular (Yang et al., 2003).

Proteína alfa-actinina-3.

La proteína alfa-actinina-3 pertenece a la familia de las alfa-actininas, la cual está formada por 4 isoformas (Dixson, Forstner y Garcia, 2003). Dentro de esta familia se encuentran la isoforma muscular alfa-actinina-2, la cual se expresa en músculo estriado, cardíaco y cerebro (Mills et al., 2001). La alfa-actinina-3, se expresa sólo en músculo esquelético de fibras rápidas (Beggs et al., 1992). En estudios recientes en ratón, se ha reportado que la proteína alfa-actinina-3 también se expresa en hueso (Yang et al., 2011). Mientras que las isoformas alfa-actinina-1 y alfa-actinina-4 son isoformas no musculares, expresándose en diferentes tipos de células.

Estudios realizados en ratón carente de la proteína alfa-actinina-3 (KO, Knock-out) (MacArthur et al., 2008; Seto et al., 2011), han permitido determinar la función de la proteína alfa-actinina-3, observado que la ausencia de esta genera cambios a nivel

estructural, metabólico, manejo del calcio y de señalización. Por ejemplo, a nivel estructural, los ratones KO, presentan diferencias en las propiedades contráctiles a nivel de sarcómero debido a diferentes interacciones proteína-proteína (Lee, Houweling, North, y Quinlan, 2016). Estas interacciones, tal y como lo siguiere Lee, Houweling, North, y Quinlan, (2016), pueden modificar o alterar la estabilidad y rigidez de la línea Z en músculo esquelético. En este sentido, las proteínas α -actininas sarcoméricas, son componentes principales de la línea Z, y es probable que las diferencias entre las isoformas alfa-actinina-2 y alfa-actnina-3 afecten la capacidad para unirse a las proteínas de la línea Z, provocando una alteración en las proteínas de la línea Z (Lee, Houweling, North, y Quinlan, 2016).

Genotipos, frecuencia alélica de ACTN3 y su relación con el deporte.

El gen de la alfa-actinina-3 (*ACTN3*) se ha mantenido en la población durante largo tiempo (MacArthur y North, 2004; Mills et al., 2001) y en la actualidad es uno de los genes más estudiados a nivel muscular. La frecuencia alélica de *ACTN3* se distribuyen de manera diferente en todo el mundo. Por ejemplo: El alelo X es más frecuente en Eurasia (0.51%), en Europa (0.41%), y menos frecuente en poblaciones de África (0.16%) (Mills et al., 2001) y Jamaica (0.14%) (Scott et al., 2010). El alelo R es mucho más frecuente en la población Africana (0.86%), seguido de Europa (0.59%) y población hispana (0.41%) (Mills et al., 2001).

Asimismo, la distribución de los genotipos, varía según la población. Por ejemplo, el genotipo RR está presente en el 75% de la población general y atletas de Jamaica, mientras que en la población general Afroamericana se presenta en un 66% y en un 70% en atletas (Scott et al., 2010), en la población del norte de India en un 22% (Goel y Mittal, 2007), en la población de Rusia en un 36.8% (Druzhevskaya et al., 2008) y en la población Iraní en un 24% (Fattahi y Najmabadi, 2012). Siendo la raza negra en quienes se presenta con mayor incidencia (Scott et al., 2010).

Con lo que corresponde al deporte, los genotipos de *ACTN3* han sido asociados con atletas de alto rendimiento deportivo y hay evidencias de que confieren ventaja deportiva ya sea de tipo aeróbico o anaeróbico según el genotipo que posea el atleta (MacArthur y North, 2004). De esta manera, la distribución de genotipos es diferente

en los atletas de diferentes disciplinas deportivas. Por ejemplo, Pimenta et al. (2013) reportan que los genotipos XX son más frecuentes en atletas de deportes denominados aeróbicos, en cambio los genotipos RR y RX son más frecuentes en atletas de deportes denominados anaerobios (Yang et al., 2003; Druzhevskaya et al., 2008). Por último, se ha reportado que la frecuencia genotípica entre disciplinas deportivas y nacionalidades es variante. Por ejemplo, el genotipo XX en atletas rusos de diferentes deportes, se reportó un 6.4% (Druzhevskaya et al., 2008), en físico-constructivistas y atletas de fuerza de raza blanca, se reportó un 9.7% (Roth et al., 2008), en atletas rusos de resistencia el 5.7% (Ahmetov et al., 2010) y en atletas jamaicanos del 14% (Scott et al., 2010).

ACTN3 y actividad enzimática.

Estudios previos, han sugerido una posible interacción del gen *ACTN3* con diversas proteínas musculares y enzimas del metabolismo anaerobio y aeróbico. Los primeros resultados de estas posibles asociaciones surgen de estudios realizados en animales. Por ejemplo, en experimentos realizados en ratones KO, MacArthur et al. (2008) reportaron diferencias en la actividad de las enzimas de la glucólisis, por ejemplo: la actividad de la Hexoquinasa fue mayor en un 26% y en la Gliceraldehído-6-fosfato deshidrogenasa en un 62%, respecto a los ratones silvestres. Mientras que la actividad de la Fosfofructoquinasa, no presentó cambios. Referente al sistema anaerobio, se presentó una reducción del 16% de la enzima Lactato deshidrogenasa (LDH) en los ratones KO (MacArthur et al., 2007). A su vez, con lo que corresponde a enzimas del metabolismo aerobio, MacArthur et al. (2008) encontraron en el ratón KO comparado con el ratón silvestre una mayor actividad de la Citrato sintasa, Succinato deshidrogenasa y Citocromo C oxidasa. En conjunto dichas enzimas muestran un incremento entre un 25-39%. Los autores sugieren que estos resultados favorecen un cambio del metabolismo muscular en las fibras rápidas del ratón KO hacia un metabolismo aerobio más eficiente aunque más lento (MacArthur et al., 2008). En otras palabras, el ratón KO para el gen *ACTN3* es favorecido para el metabolismo aerobio.

Lactato deshidrogenasa y lactato.

Un producto final de la glucólisis es la molécula de piruvato, dicha molécula, en condiciones anaerobias, será convertida en lactato a través de la enzima LDH. Esta reacción genera la oxidación de la coenzima nicotinamida adenina dinucleótido reducido (NADH) a nicotinamida adenina dinucleótido oxidado (NAD) y este NAD es nuevamente utilizado por la glucólisis en la reacción de Gliceraldehído-3-fosfato a 1,3 bifosfoglicerato.

Se conocen varias isoformas de la enzima LDH, la cual es un tetrámero con 2 subunidades: la A y la B. La subunidad A, originalmente era conocida como subunidad M en referencia al músculo, mientras que la subunidad B, se conocía como subunidad H en referencia al músculo cardíaco (Storey, 2015). Entonces, la subunidad A se encuentra principalmente en músculo esquelético, mientras que la subunidad B predomina en tejidos como cerebro y corazón (Markert, Shaklee y Whitt, 1975). Al momento de evaluar la concentración de LDH en plasma, se ha establecido como valores normales de 113-226 IU/L (Kato, et al., 2006). Sin embargo, dichos valores sufren incrementos después de realizar un ejercicio, estos incrementos varían según la intensidad y duración del ejercicio, reportándose valores hasta de 1420.5 UI/L (Wu et al., 2004) después de ejercicios aerobios y de 496.12 UI/L (Hammouda et al., 2012), después de ejercicios anaerobios. Entonces, el tipo de ejercicio hace variar la concentración de la enzima LDH y quizás la variación de la concentración de lactato en sangre.

Durante mucho tiempo, se ha pensado que la acumulación del lactato, era la principal causa de la fatiga muscular durante el ejercicio de alta intensidad y también, que la producción de lactato daba lugar a la acidosis. Sin embargo, en trabajos de Robergs et al. (2004) se menciona que la producción y acumulación de lactato, ni causa acidosis, ni tampoco fatiga muscular, si no que por el contrario, la producción de lactato retarda la aparición de la acidosis. Además, los autores sugieren que la acidosis surge por otros procesos metabólicos diferentes a la producción de lactato, como la hidrólisis de la molécula de ATP, la cual produce H^+ que se acumulan durante el ejercicio intenso y producen una disminución del pH

muscular y en sangre. De esta manera, la producción de lactato en ejercicio intenso, retarda y no causa la acidosis (Robergs et al., 2004), y no solo la actividad muscular, es la responsable del incremento de lactato (Bergman et al., 1999).

La medición de la concentración de lactato en sangre, es un indicador molecular de intensidad metabólica. Los umbrales metabólicos son utilizados para determinar el sistema energético dominante durante la práctica de ejercicio. A concentraciones menores a 4 mmol/L el sistema energético dominante es aeróbico, mientras que valores superiores a 4 mmol/L corresponde a un sistema anaeróbico. Si se evalúa la concentración de lactato después de 15 minutos de finalizado un ejercicio de tipo anaeróbico, la concentración de lactato en sangre continua siendo elevada, lo que sugiere que la principal vía metabólica utilizada para la producción de energía es la vía anaeróbica (Demura y Uchiyama, 2009). Al final de un ejercicio anaeróbico la concentración de lactato será mayor en comparación con un ejercicio aeróbico.

5. Objetivo general.

Determinar en sujetos físicamente activos poseedores de los genotipos RR, RX y XX del gen *ACTN3*, la respuesta de la concentración/acumulación de lactato en sangre durante de un ejercicio aerobio.

6. Objetivos específicos.

- Determinar la asociación entre genotipos de *ACTN3* y la potencia muscular.
- Determinar la asociación entre genotipos de *ACTN3* y la cinética de lactato durante y después de un ejercicio aerobio en sujetos físicamente activos.

7. Metas.

Formación de nuevos licenciados en Entrenamiento Deportivo de la UACJ mediante la elaboración de tesis. Presentación de los resultados en poster o presentación oral

en congresos nacionales e internacionales. Publicación de 1 artículo científico en revista indexada.

8. Metodología.

Selección de participantes.

Se obtendrá una muestra por conveniencia de 70 sujetos, sanos y físicamente activos que realicen actividades de recreación y deportivas de manera regular por lo menos de 2 a 3 días a la semana. Serán reclutados por invitación directa.

Extracción de ADN.

Se obtendrán 4 mL de sangre de la vena mediana cubital de cada sujeto y se almacenará en tubos con EDTA (Ácido etilendiaminotetracético) a 4°C hasta su uso. Posteriormente, para la obtención del ADN se utilizará el kit Master Pure DNA Purification (Epicentre an Illumina Company, USA) utilizando un protocolo de extracción de DNA ya estandarizado previamente. Para comprobar la obtención de ADN, se elaborará un gel de agarosa al 2%. Luego, el gel de agarosa será colocado en cámaras electroforéticas, siendo cubierto y rellenado con buffer TAE al 1X. Después de 20 min en electroforesis, los geles serán visualizados en transiluminador.

Amplificación por PCR.

Se amplificará el fragmento de interés del gen *ACTN3* utilizando los siguientes cebadores específicos: cebador directo: 5'-CTGTTGCCTGTGGTAAGTGGG-3' y cebador reverso: 5'-TGGTCACAGTATGCAGGAGGG-3'. La verificación del producto de PCR se observará en gel de agarosa al 1%. El gel de agarosa será colocado en cámaras electroforéticas, posteriormente el gel será visualizado en transiluminador en busca de un fragmento de 291 pares de bases.

Corte con enzimas de restricción.

Para la genotipificación de los polimorfismos en *ACTN3*, se realizará corte con la enzima de restricción *Ddel* (*Desulfovibrio desulfuricans*). Para visualizar el producto de la digestión se ocuparán geles de agarosa al 2%. Posteriormente se colocará el

gel de agarosa en cámaras electroforéticas. Después, el gel se observará en un transiluminador. Para el genotipo RR se espera encontrar los siguientes fragmentos: 205 pares de base y 86 pares de base, para el genotipo RX, se espera obtener 3 bandas, una de 108 pares de base, otra de 97 y una final de 86 pares de base, mientras para el genotipo XX, se busca obtener 4 bandas, una de 205 pares de base, seguido por una de 108 pares de base, otra de 97 pares de base y una final de 86 pares de base.

Prueba de salto vertical.

Para determinar la potencia muscular de los sujetos, se les aplicará la prueba de salto vertical durante 30 s, utilizando una plataforma de contactos.

Prueba aerobia.

Para determinar la capacidad aerobia y estimular la producción y acumulación de lactato, se aplicará una prueba aerobia de intensidad ascendente. Se utilizará un cicloergómetro Monark 839E y se le colocará la mascarilla del analizador de gases VIASYS. Se aplicará un protocolo de tipo aerobio incremental, dónde se incrementará la carga al cicloergómetro entre 0.5 a 1.0 Kp cada 3 min. Además, durante la prueba, se monitoreará la frecuencia cardiaca mediante el pulsímetro POLAR, tensión arterial y la percepción del esfuerzo mediante la escala de Borg. Asimismo, durante el desarrollo de la prueba, se tomará una muestra de sangre capilar cada 3 min para determinar la concentración de lactato.

Cinética de lactato.

Se tomarán muestras sanguíneas capilares para determinar la concentración de lactato en sangre. Las muestras se tomarán: en reposo, cada 3 min durante la prueba aerobia y a los: 3, 5, 10 y 15 min después de finalizado el ejercicio. Para medir la concentración de lactato se usará el analizador de lactato 1500 YSI SPORT.

9. Cronograma de actividades.

ACTIVIDAD	DISTRIBUCIÓN MENSUAL											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Revisión bibliográfica	X	X	X	X	X	X	X	X	X			
Estandarización de técnicas de laboratorio		X	X									
Reclutamiento por invitación de participantes				X	X	X	X	X				
Ensayos clínicos y de laboratorio				X	X	X	X	X				
Análisis estadísticos de los datos							X	X				
Redacción de artículo								X	X			
Presentación en congreso									X			
Redacción de tesis de licenciatura							X	X	X	X	X	

10. Instituciones, organismos o empresas de los sectores social, público o productivo participantes.

Dra. Rosa Patricia Hernández Torres. Docente-Investigador adscrita a la Universidad Autónoma de Chihuahua, en la Facultad de Ciencias de la Cultura Física en Ciudad Juárez.

11. Productos esperados o entregables.

1. Tesis de Licenciatura.
1. Tesis de Maestría.

12. Contribución e impacto del proyecto.

La UACJ cuenta con el programa de Licenciatura en Entrenamiento Deportivo, donde se forman futuros entrenadores de deportistas élite. Dichos entrenadores necesitan contar con las bases científicas y que les permita aplicarlas directamente

en el campo laboral. Al realizar esta investigación, los entrenadores que se encuentran en formación (alumnos), podrán adquirir nuevos conocimientos en el área de la genética deportiva, rendimiento deportivo y capacidad aerobia.

Los principales beneficiarios con el desarrollo y con sus resultados de la presente investigación, serán los investigadores participantes en ella, los alumnos participantes en la investigación, la Universidad Autónoma de Ciudad Juárez y en un futuro los entrenadores deportivos y los atletas de alto rendimiento.

13. Impacto económico, social y/o ambiental en la región.

Se visualizan los siguientes impactos:

Para la institución: Al finalizar la investigación, la Universidad Autónoma de Ciudad Juárez formará al menos un nuevo profesionista en la Licenciatura en Entrenamiento Deportivo. Se representará a la Universidad en congresos nacionales e internacionales, mediante la presentación de poster y presentaciones orales de los resultados obtenidos. Asimismo, podrá aplicar el conocimiento obtenido a sus atletas de alto rendimiento.

Para el país: En un futuro, los resultados obtenidos podrían aplicarse directamente a todos los atletas de alto rendimiento. Los resultados obtenidos se pueden utilizar para periodizar entrenamientos, determinar periodos de descanso y de recuperación de los atletas después de un ejercicio.

Para otros beneficiarios: Los entrenadores deportivos de diferentes disciplinas deportivas, quienes podrán aplicar los conocimientos a sus atletas para el mejoramiento de su rendimiento deportivo y a su vez los resultados deportivos.

14. Bibliografía.

1. Ahmetov, I., Druzhevskaya, A. M., Astratenkova, I. V., Popov, D. V., Vinogradova, O. L., y Rogozkin, V. A. (2010). The *ACTN3 R577X* polymorphism in Russian endurance athletes. *Br J Sports Med*, 44(9), 649-652.

2. Ahmetov, I. I., Druzhevskaya, A. M., Lyubaeva, E. V., Popov, D. V., Vinogradova, O. L., and Williams, A. G. (2011). The dependence of preferred competitive racing distance on muscle fibre type composition and *ACTN3* genotype in speed skaters. *Exp Physiol*. 96(12): 1302–1310.
3. Beggs, A. H., Byers, T.J., Knoll, J.H., Boyce, F.M., Bruns, G.A., y Kunkel, L.M. (1992). Cloning and Characterization of Two Human Skeletal Muscle Alpha-Actinin Genes Located on Chromosomes 1 and 11. *J Biol Chem*, 267(13), 9281-9288.
4. Bergman, C.B.; Wolfel, E.E.; Butterfield, G.E.; Lopaschuk, G.D.; Casazza, G.A.; Horning, M.A. y Brooks, G.A. (1999). Active muscle and whole body lactate kinetics after endurance training in men. *J Appl Physiol*. 87: 1684-1696.
5. Bray, M.S., Hagberg, J.M., Pérusse, L., Rankinen, T., Roth, S.M., Wolfarth, B., y Bouchard, C. (2009). The human gene map for performance and health-related fitness phenotypes: the 2006–2007 update. *Med Sci Sports Exerc*, 41(1), 35–73.
6. Broos, S., Van Leemputte, M., Deldicque, L., y Thomis, M. A. (2015). History-dependent force, angular velocity and muscular endurance in *ACTN3* genotypes. *Eur J Appl Physiol*, 115, 1637–1643.
7. Broos, S., Malisoux, L., Theisen, D., van Thienen, R., Ramaekers, M., Jamart, C., ..., and Francaux, M. (2016). Evidence for *ACTN3* as a speed gene in isolated human muscle fibers. *PLoS One*. 11(3): 1-11.
8. Chiu, L.L., Wu, Y.F., Tang, M.T., Yu, H.C., Hsieh, L.L., Hsieh, S.Y. (2011). *ACTN3* genotype and swimming performance in Taiwan. *Int J Sports Med*, 32(6), 476-480.
9. Demura, S. y Uchiyama, M. (2009). Influence of anaerobic and aerobic exercises on the center of pressure during an upright posture. *J Exerc Sci Fit*, 7(1), 39-47.
10. Dixon, J., Forstner, M., y Garcia, D. (2003). The alpha-actinin gene family: a revised classification. *J Mol Evol*, 56(1), 1-10.

11. Druzhevskaya, A. M., Ahmetov, I.I., Astratenkova, I. V., y Rogozkin, V. A. (2008). Association of the *ACTN3* R577X polymorphism with power athlete status in Russians. *Eur J Appl Physiol*, 103(6), 631-634.
12. Fattahi, Z., y Najmabadi, H. (2012). Prevalence of *ACTN3* (the athlete gene) R577X polymorphism in Iranian population. *Iran Red Crecent Med J*, 41(10), 617-22.
13. Goel, H., y Mittal, B. (2007). *ACTN3*: Athlete gene prevalence in North India. *CURRENT SCIENCE*, 92(1).
14. Hammouda, O., Chtourou, H., Chaouachi, A., Chahed, H., Ferchichi, S., Kallel, C., ... y Souissi, N. (2012). Effect of short-term maximal exercise on biochemical markers of muscle damage, total antioxidant status, and homocysteine levels in football players. *Asian J Sports Med*, 3(4), 239-246.
15. Kato, G., McGowan, V., Machado, R., Little, J., Taylor, J., Morris, C., ... Gladwin, M. (2006). Lactate dehydrogenase as a biomarker of hemolysis-associated nitric oxide resistance, priapism, leg ulceration, pulmonary hypertension, and death in patients with sickle cell disease. *Blood*, 107(6), 2279-2285.
16. Lee, F., Houweling, P., North, K., y Quinlan, K. How does alfa-actinin-3 deficiency alter muscle function? Mechanistic insights into *ACTN3*, the gene for speed. (2016). *Biochimica et Biophysica Acta* 1863. 868-893.
17. MacArthur, D. G., Seto, J. T., Chan, S., Quinlan, K. G., Raftery, J. M., Turner, N., ... y North, K. N. (2008). An *Actn3* knockout mouse provides mechanistic insights into the association between alpha-actinin-3 deficiency and human athletic performance. *Hum Mol Genet*, 17(8), 1076-1086.
18. MacArthur, D. G., Seto, J. T., Raftery, J. M., Quinlan, K. G., Huttley, G. A., Hook, J. W., ... y North, K. N. (2007). Loss of *ACTN3* gene function alters mouse muscle metabolism and shows evidence of positive selection in humans. *Nat Genet*, 39(10), 1261-1265.
19. MacArthur, D. G., y North, K. N. (2004). A gene for speed? The evolution and function of α -actinin-3. *Bioessays*, 26(7), 786-795.

20. Markert, C. L., Shaklee, J. B., y Whitt, G. S. (1975). Evolution of a gene. Multiple genes for LDH isozymes provide a model of the evolution of gene structure, function and regulation. *Science*, 189(4149), 102-114.
21. Mikami, E., Fuku, N., Murakami, H., Tsuchie, H., Takahashi, H., Ohiwa, N., ... y Tanaka, M. (2014). *ACTN3* R577X Genotype is Associated with Sprinting in Elite Japanese Athletes. *Int J Sports Med*, 35(2), 172-177.
22. Mills, M. A., Yang, N., Weinberger, R. P., Vander Woude, D. L., Beggs, A. H., Easteal, S., y North, K. N. (2001). Differential expression of the actin-binding proteins, α -actinin-2 and -3, in different species: implications for the evolution of functional redundancy. *Hum Mol Genet*, 10(13), 1335-1346.
23. North, K. (2008). Why is alpha-actinin-3 deficiency so common in the general population? The evolution of athletic performance. *Twin Research And Human Genetics: The Official Journal Of The International Society For Twin Studies*, 11(4), 384-394.
24. Orysiak, J., Busko, K., Michalski, R., Mazur-Różycka, J., Gajewski, J., Malczewska-Lenczowska, J., ... y Pokrywka, A. (2014). Relationship between *ACTN3* R577X polymorphism and maximal power output in elite Polish athletes. *Medicina*, 50(5), 303-308.
25. Pasqua, L. A., Bueno, S., Artioli, G. G., Lancha, A. H., Matsuda, M., Marquezini, M. V., Lima-Silva, A. E., Saldiva, P. H., y Bertuzzi, R. (2015). Influence of *ACTN3* R577X polymorphism on ventilatory thresholds related to endurance performance. *J Sports Sci*, 34(2), 163-170.
26. Pimenta, E. M., Coelho, D., Veneroso, C. E., Barros, E. J., Cruz, I. R., Morandi, R. F., De A Pussieldi, G., Carvalho, M. R., Garcia, E. S., y De Paz Fernández, J. A. (2013). Effect of *ACTN3* gene on strength and endurance in soccer players. *J of Strength Cond Res*, 27(12), 3286-3292.
27. Robergs, R.A.; Farzenah, G. y Daryl, P. (2004). Biochemistry of exercise-induced metabolic acidosis. *The American Journal of Physiology- Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 502-516.

28. Roth, S. M., Walsh, S., Liu, D., Metter, E. J., Ferrucci, L., y Hurley, B. F. (2008). The *ACTN3* R577X nonsense allele is under-represented in elite-level strength athletes. *Eur J Hum Genet*, 16(3), 391-394.
29. Scott, A., R., Irving, R., Irwin, L., Morrison, E., Charlton, V., Austin, K., Tladi, D., ... y Pitsiladis, Y. P. (2010). *ACTN3* and *ACE* genotypes in elite Jamaican and US sprinters. *Med Sci Sports Exerc*, 42(1), 107-112.
30. Seto, J., Lek, M., Quinlan, K., Houweling, J., Zheng, X., Garton, F., ... North, N. (2011). Deficiency of alfa-actinin-3 is associated with increased susceptibility to contraction-induced damage and skeletal muscle remodeling. *Human molecular genetics*, 20(15), 2914-2927.
31. Storey, K. B. (2015). Comparative enzymology-new insights from studies of an "old"enzyme, lactate dehydrogenase. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*, 199, 13-20.
32. Wu, H. J., Chen, K. T., Shee, B. W., Chang, H. C., Huang, Y. J., y Yang, R. S. (2004). Effects of 24 h ultra-marathon on biochemical and hematological parameters. *World J Gastroenterol*, 10(18), 2711-2714.
33. Yang, N., MacArthur, D.G., Gulbin, J., Hahn, A., Beggs, A.H., Eastel, S., y North, K. (2003). *ACTN3* Genotype Is Associated with Human Elite Athletic Performance. *Am J Hum Genet*, 73(3), 627–631.
34. Yang, N., Schindeler, A., McDonald, M. M., Seto, J. T., Houweling, P. J., Lek, M., ... y North, K. N. (2011). Alpha- Actinin-3 deficiency is associated with reduced bone mass in human and mouse. *Bone*, 49, 790-798.