



# Polimorfismos genéticos no gene *COL1A2* e o risco de tendinopatia: Estudo de caso-controle

## *Genetic Polymorphisms in COL1A2 gene and Risk of Tendinopathy: Case-Control Study*

Lucas Rafael Lopes<sup>1,2</sup> João Antônio Matheus Guimarães<sup>3</sup> Marcus Vinicius Galvão Amaral<sup>3</sup>  
Camili Gomes Pereira<sup>1</sup> Victor Soares Wainchtock<sup>1</sup> Rodrigo Araujo Goes<sup>3</sup>  
Vitor Almeida Ribeiro de Miranda<sup>3</sup> Jamila Alessandra Perini<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Pesquisa de Ciências Farmacêuticas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, RJ, Brasil

<sup>2</sup>Programa de Pós-graduação em Saúde Pública e Meio Ambiente, Escola Nacional de Saúde Pública, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

<sup>3</sup>Divisão de Pesquisa, Instituto Nacional de Traumatologia e Ortopedia Jamil Haddad, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Endereço para correspondência Jamila Alessandra Perini, PhD, Instituto Nacional de Traumatologia e Ortopedia (INTO), Divisão de Pesquisa, Av. Brasil, 500, Caju, Rio de Janeiro, RJ, 20940-070, Brasil (e-mail: jambilaperini@yahoo.com.br).

Rev Bras Ortop 2023;58(3):478–486.

### Resumo

**Objetivo** Avaliar a influência de polimorfismos nos genes que codificam o colágeno tipo I e a suscetibilidade genética da tendinopatia.

**Metodologia** Estudo caso-controle envolvendo 242 atletas brasileiros de diferentes modalidades esportivas (55 casos de tendinopatia e 187 controles). Os polimorfismos *COL1A1* (rs1107946) e *COL1A2* (rs412777, rs42524 e rs2621215) foram analisados pelo sistema TaqMan. As razões de chance (OR) com seus intervalos de confiança (IC) de 95% foram calculadas usando um modelo de regressão logística não-condicional.

**Resultados** A média de idade foi de 24,0 ± 5,6 anos e 65,3% eram homens. Dos 55 casos de tendinopatia, 25,4% apresentaram mais de um tendão acometido, sendo os mais frequentes o patelar (56,3%), o manguito rotador (30,9%) e o do cotovelo ou flexores das mãos (30,9%). A idade e o tempo de prática esportiva foram associados a uma maior chance de apresentar tendinopatia (5 e 8 vezes, respectivamente). A frequência dos alelos variantes nos controles e casos, respectivamente, foi: *COL1A1* rs1107946 24,0 e 29,6%; *COL1A2* rs412777 36,1 e 27,8%; rs42524 17,5 e 25,9%; e rs2621215 21,3 e 27,8%. Após ajuste pelos fatores de confundimento (idade e anos de

### Palavras-chave

- ▶ atletas
- ▶ tendinopatia
- ▶ colágeno tipo 1
- ▶ polimorfismo genético

Trabalho multicêntrico desenvolvido na Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ-ZO), na Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) e no Instituto Nacional de Traumatologia e Ortopedia Jamil Haddad (INTO), Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

### recebido

19 de Janeiro de 2022

### aceito

12 de Setembro de 2022

DOI <https://doi.org/10.1055/s-0042-1757959>

ISSN 0102-3616.

© 2023. Sociedade Brasileira de Ortopedia e Traumatologia. All rights reserved.

This is an open access article published by Thieme under the terms of the Creative Commons Attribution-NonDerivative-NonCommercial-License, permitting copying and reproduction so long as the original work is given appropriate credit. Contents may not be used for commercial purposes, or adapted, remixed, transformed or built upon. (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>)

Thieme Revinter Publicações Ltda., Rua do Matoso 170, Rio de Janeiro, RJ, CEP 20270-135, Brazil

práticas esportiva), os polimorfismos *COL1A2* rs42524 e rs2621215 foram associados a um risco aumentado de tendinopatia (OR = 5,5; IC95% = 1,2–24,6 e OR = 3,9; IC95% = 1,1–13,5, respectivamente). O haplótipo *COL1A2* CGT foi associado a um baixo risco para desenvolvimento da doença (OR = 0,5; IC95% = 0,3–0,9).

**Conclusão** A idade ( $\geq 25$  anos), o tempo de prática esportiva ( $\geq 6$  anos) e polimorfismos no gene *COL1A2* aumentaram o risco de desenvolvimento da tendinopatia.

## Abstract

**Objective** To evaluate the influence of polymorphisms on genes encoding type I collagen and the genetic susceptibility of tendinopathy.

**Methodology** Case-control study involving 242 Brazilian athletes from different sports modalities (55 cases of tendinopathy and 187 controls). The polymorphisms *COL1A1* (rs1107946) and *COL1A2* (rs412777, rs42524, and rs2621215) were analyzed by the TaqMan system. Odds ratio (OR) with their 95% confidence intervals (CIs) were calculated using a nonconditional logistic regression model.

**Results** The mean age was  $24.0 \pm 5.6$  years old and 65.3% were men. Of the 55 cases of tendinopathy, 25.4% had  $> 1$  affected tendon, the most frequent being patellar (56.3%), rotator cuff (30.9%) and elbow or hand flexors (30.9%). Age and amount of time of sports practice were associated with a higher chance of presenting tendinopathy (5 and 8 times, respectively). The frequency of variant alleles in control and case patients, respectively, was: *COL1A1* rs1107946 24.0 and 29.6%; *COL1A2* rs412777 36.1 and 27.8%; rs42524 17.5 and 25.9%; and rs2621215 21.3 and 27.8%. After adjusting for confounding factors (age and years of sports practice), *COL1A2* rs42524 and rs2621215 polymorphisms were associated with increased risk of tendinopathy (OR = 5.5; 95% CI = 1.2–24.6 and OR = 3.9; IC95% = 1.1–13.5, respectively). The haplotype *COL1A2* CGT was associated with low risk for disease development (OR = 0.5; 95%CI = 0.3–0.9).

**Conclusion** Age ( $\geq 25$  years old), time of sports practice ( $\geq 6$  years) and polymorphisms in the *COL1A2* gene increased the risk of developing tendinopathy.

## Keywords

- ▶ athletes
- ▶ tendinopathy
- ▶ collagen type 1
- ▶ polymorphism, genetic

## Introdução

A tendinopatia é uma doença multifatorial do tendão, correspondendo a de 1 a 6% na população geral e a de 20 a 50% das lesões musculoesqueléticas em atletas.<sup>1,2</sup> Inicialmente, ocorre uma alteração fisiológica do tecido tendíneo, podendo se agravar com estresse contínuo ou falhas no processo de cicatrização, causando inflamação, dor e até degeneração tecidual.<sup>2–4</sup> A prevalência da doença varia entre as diferentes partes do corpo e de acordo com idade, sexo e ocupação.<sup>2</sup> Em atletas, os tendões afetados variam conforme a modalidade esportiva, porém acometem principalmente o tendão de Aquiles, o patelar, os tendões do manguito rotador e os tendões que têm origem no epicôndilo lateral.<sup>1,2,5</sup> A interação entre os fatores mecânicos e biológicos está associada ao desenvolvimento das tendinopatias.<sup>2–4,6</sup>

Os tendões são constituídos por uma matriz extracelular (MEC) densa com baixa celularidade, porém com alto teor de proteínas estruturais, principalmente colágeno tipo I, uma proteína com morfologia heterotrímica, composta por duas cadeias  $\alpha 1$  e uma cadeia  $\alpha 2$ .<sup>2,4</sup> Esta estrutura oferece ao tecido tendinoso propriedades mecânicas únicas quanto a elasticidade e tensão, permitindo a transmissão de carga entre o músculo e o osso, promovendo movimento articular. As jun-

ções musculotendínea e osteotendínea têm características histológicas específicas.<sup>7,8</sup> As cadeias  $\alpha 1$  são codificadas pelo gene *COL1A1*, localizado no cromossomo 17, e a cadeia  $\alpha 2$ , codificada pelo gene *COL1A2*, localizado no cromossomo 7.<sup>4,9</sup> Já foi observado que a redução na transcrição gênica de *COL1A1* e *COL1A2* em camundongos alterou as propriedades de força, elasticidade, tensão e cicatrização do tendão.<sup>10</sup>

Estudos recentes têm mostrado a influência de polimorfismo de nucleotídeo único (SNP, na sigla em inglês) na suscetibilidade da tendinopatia.<sup>2,3,6,11</sup> O polimorfismo genético é caracterizado pela substituição, deleção ou inserção de nucleotídeos na fita de DNA, ocorrendo em  $> 1\%$  da população, podendo resultar em alteração da expressão ou da funcionalidade dos produtos gênicos, determinando características individuais, incluindo a suscetibilidade a determinadas doenças e a resposta a alguns medicamentos. As combinações possíveis de dois alelos que caracterizam um SNP podem formar três possibilidades de genótipos (heterozigoto, homozigoto selvagem ou variante), que podem ou não diferir em fenótipos.<sup>12</sup> A combinação de alelos fortemente correlacionados em um mesmo cromossomo é, geralmente, herdada como uma unidade, denominados haplótipos, porque não ocorre recombinação genética entre os sítios.<sup>13</sup>

Os genes *COL1A1* e *COL1A2* são polimórficos, podendo alterar a expressão ou função biológica do colágeno tipo 1.<sup>9,11,14</sup> Os SNPs *COL1A1* rs1800012 (C>A) e rs1107946 (G>T), presentes na região promotora, foram associados a lesões em tecidos moles do sistema musculoesquelético em atletas sul-africanos de diversas modalidades esportivas e em uma coorte de indivíduos não atletas do Reino Unido.<sup>9,15</sup> Até o momento, nenhum estudo avaliou a influência de SNPs do gene *COL1A2* na tendinopatia. Desta forma, o objetivo do presente estudo foi avaliar a contribuição dos SNPs *COL1A1* rs1107946 e *COL1A2* rs412777, rs42524 e rs2621215 como fatores associados com a suscetibilidade genética de tendinopatia em atletas brasileiros.

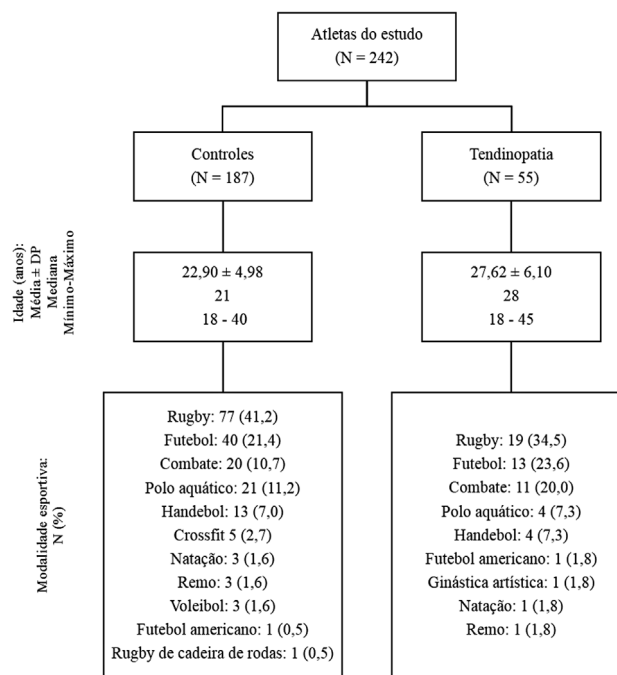
## Metodologia

Foi realizado um estudo retrospectivo observacional do tipo caso-controle com 242 atletas brasileiros, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Humana de um hospital terciário do Sistema Público de Saúde (número 81225817.0.0000.5273). Todos os participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e auto-preencheram um questionário previamente validado por especialistas da área, disponível online em um estudo anterior.<sup>1</sup> Ao final da coleta de dados, um observador treinado verificou e confirmou com cada atleta as informações. O banco de dados foi preenchido por um pesquisador capacitado, com dupla checagem por outros dois pesquisadores diferentes, para garantir a veracidade das informações inseridas no banco de dados.

Os critérios de inclusão foram atletas federados com idade entre 18 e 45 anos e de diferentes modalidades esportivas, que foram recrutados de fevereiro de 2018 a novembro de 2019. Foram excluídos atletas com ausência de dados sobre lesão musculoesquelética e/ou que não tiveram material biológico coletado.

A **Fig. 1** mostra o fluxograma dos 242 atletas incluídos no estudo, sendo 187 atletas sem histórico de lesão no sistema musculoesquelético (grupo controle) e 55 atletas que relataram tendinopatia diagnosticada clinicamente (grupo caso), confirmada com exame de imagem de ressonância magnética (MRI). Todos os diagnósticos de tendinopatia foram avaliados por dois cirurgiões ortopédicos especializados, conforme descrito em estudos anteriores, referente ao critério de seleção dos casos de tendinopatia.<sup>3,6</sup>

O DNA genômico foi obtido de amostra de mucosa oral coletada por swab estéril e isolado com kit de extração QIAmp DNA Mini Kit (Qiagen, Hilden, Alemanha), seguindo as recomendações do fabricante. As análises dos SNPs de interesse foram realizadas pela técnica de reação em cadeia da polimerase em tempo real (qRT-PCR, na sigla em inglês), usando ensaios validados de discriminação alélica utilizando sistema TaqMan, adquiridos da empresa Thermo Fisher Scientific (Waltham, MA, EUA) conforme descrito na literatura.<sup>16</sup> O sistema TaqMan para discriminação alélica consiste em um conjunto de iniciadores e sondas de oligonucleotídeos desenhados especificamente para cada SNP alvo. As duas sondas são marcadas com fluorescência diferente, possibilitando a



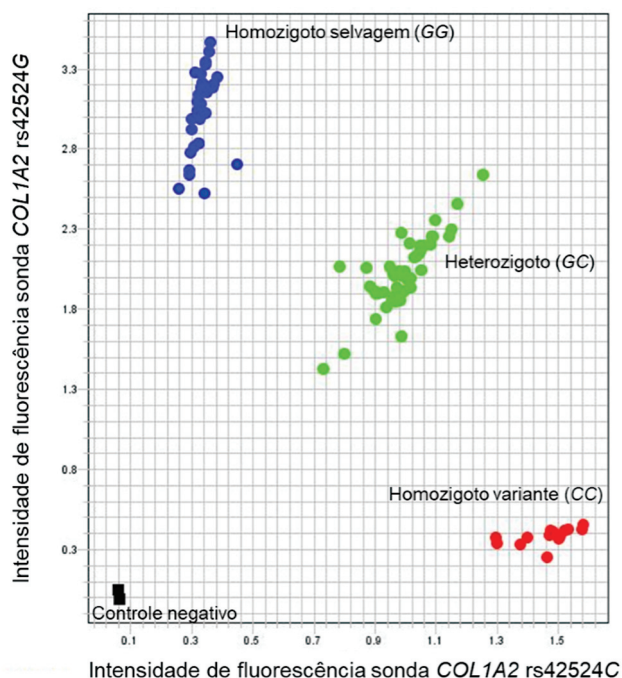
**Fig. 1** Fluxograma dos participantes incluídos no estudo.

identificação dos dois possíveis alelos (*COL1A1* rs1107946 G>T e *COL1A2* rs412777 A>C, rs42524 G>C e rs2621215 T>G) presentes na amostra do indivíduo. A intensidade de fluorescência é captada pelo equipamento, discriminando o genótipo de cada indivíduo (**Fig. 2**). Para garantir o controle de qualidade da análise, para cada SNP foram utilizados dois controles positivos padronizados de cada genótipo, além de dois controles negativos, conforme descrito na literatura.<sup>6</sup>

O cálculo do tamanho amostral foi realizado no programa Epi Info 7, na versão 7.1.3. (<http://wwwn.cdc.gov/epiinfo/html/downloads.htm>) para detecção de diferenças entre os grupos (caso e controle), assumindo uma proporção entre casos e controles de 1:3 e razão de chance (OR, na sigla em inglês) de 2,5 com um poder de 0,8 e 5% de erro tipo I.

A distribuição normal das variáveis contínuas na população estudada foi verificada pelo teste de Shapiro-Wilk. As comparações de variáveis contínuas entre casos de tendinopatia e grupos de controle foram realizadas usando o teste t de Student e apresentadas como média ± desvio padrão (DP). As variáveis categóricas, assim como as frequências de distribuição dos genótipos e alelos entre os dois grupos foram expressas em porcentagem e determinadas pelo teste Qui-Quadrado ( $\chi^2$ ) ou teste Exato de Fisher, quando aplicável.

As frequências dos alelos e genótipos dos SNPs de *COL1A1* e *COL1A2* foram determinadas por contagem direta dos alelos, e em seguida foi calculado o equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE, na sigla em inglês). Os padrões de haplótipos e os coeficientes de desequilíbrio de ligação ( $D'$  é o grau de desequilíbrio no módulo e  $R^2$  é o grau de correlação) foram inferidos usando o programa Haploview, conforme descrito na literatura.<sup>16,17</sup> O desequilíbrio de ligação descreve as combinações de alelos que ocorrem em uma amostra devido a formação de haplótipos, calculados a partir da frequência dos alelos individuais.<sup>13</sup> A análise combinada dos alelos



**Fig. 2** Análise dos polimorfismos pela técnica de PCR em tempo real utilizando o sistema TaqMan. **Legenda:** Exemplo da discriminação dos genótipos do polimorfismo *COL1A2* rs42524G > C. Os círculos azuis, que apresentam alta fluorescência da sonda *COL1A2* rs42524G são os pacientes com genótipo homozigoto selvagem (GG). Os círculos vermelhos, que apresentam alta fluorescência da sonda *COL1A2* rs42524C são os homozigotos variantes (CC) e os círculos verdes são os heterozigotos (GC), pois apresentam fluorescência de ambas as sondas. Os quadrados pretos são os controles negativos (água), que não devem apresentar amplificação de PCR e, conseqüentemente, fluorescência.

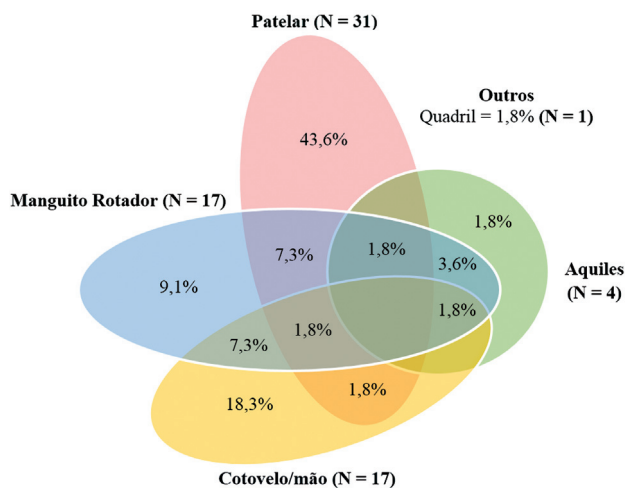
(haplótipos) possivelmente é clinicamente mais relevante do que a análise individual de cada SNP isolado.<sup>17</sup>

A magnitude da associação entre a presença dos polimorfismos e a tendinopatia foi estimada por OR, com os seus respectivos intervalos de confiança (IC) de 95%, usando um modelo de regressão logística binário. A construção do modelo final foi baseada no grau de significância estatística na análise univariada e na importância biológica das variáveis estudadas, atribuindo um nível de significância de entrada menor que 0,25 ( $p \leq 0,25$ ) e permanecendo com nível de saída de 0,05 ( $p \leq 0,05$ ). Todas as análises estatísticas foram efetuadas utilizando o programa IBM SPSS Statistics for Windows versão 20.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA).

## Resultados

Dos 55 casos de tendinopatia, 31 (56,3%) relataram a doença no tendão patelar, 17 (30,9%) nos tendões do manguito rotador, 17 (30,9%) no cotovelo ou flexores das mãos, 4 (7,3%) no tendão de Aquiles e 1 (1,8%) no tendão do glúteo médio do quadril (►Fig. 3). Além disso, 14 (25,4%) atletas relataram mais de um tendão afetado pela doença.

A média de idade dos 242 atletas foi de  $24,0 \pm 5,6$  anos (18 a 45 anos), o peso corporal foi  $74,7 \pm 16,3$  Kg (48 a 128 Kg), a estatura foi  $1,7 \pm 0,1$  m (1,51 a 2,05 m), o índice de massa corporal (IMC) foi  $24,7 \pm 3,5$  Kg/m<sup>2</sup> (17,5 a 41,8), os anos de



**Fig. 3** Distribuição dos locais acometidos pela doença. **Legenda:** Dos atletas que relataram mais de um local da tendinopatia, 7,3% ( $n = 4$ ) tiveram nos tendões manguito rotador e cotovelo/mão, 7,3% ( $n = 4$ ) no patelar e no manguito rotador, 3,6% ( $n = 2$ ) no de Aquiles e manguito rotador, 1,8% ( $n = 1$ ) no de Aquiles e cotovelo/mão, 1,8% ( $n = 1$ ) no patelar, manguito rotador e cotovelo/mão e 1,8% ( $n = 1$ ) no patelar, manguito rotador e de Aquiles.

prática no esporte foram  $9,5 \pm 6,1$  (1 a 34) e as horas por semana de treinamento foram  $13,0 \pm 7,7$  (1 a 42). As variáveis demográficas, clínicas, esportivas e de treinamento dos casos de tendinopatia e dos controles estão na ►Tabela 1. As variáveis foram avaliadas para identificar os possíveis fatores de confundimento na análise de associação entre os SNPs e a tendinopatia. Após aplicação do modelo de regressão logística não-condicionado, apenas idade e anos de prática permaneceram associados ao risco da tendinopatia na população estudada (►Tabela 1).

A taxa de sucesso da análise genética foi de 98,8% para o SNP *COL1A1* (rs1107946), de 99,2% para *COL1A2* rs42524, e de 97,9% para rs412777 e rs2621215. Todas as distribuições genotípicas dos SNPs estavam em HWE, indicando que as frequências dos alelos permaneceram inalteradas ao longo das gerações. As frequências do menor alelo variante dos SNPs estudados estão na ►Fig. 4, na qual não houve diferença significativa da distribuição entre os grupos casos de tendinopatia e controles. Após ajuste pelos fatores de confundimento (idade, modalidade esportiva e anos de prática esportiva), os genótipos variantes *COL1A2* rs42524 CC e *COL1A2* rs2621215 GG foram associados ao aumento do risco ( $\sim 5,5$  e 4 vezes, respectivamente) de tendinopatia (►Tabela 2).

Oito haplótipos dos SNPs *COL1A2* (rs412777, rs42524, rs2621215) foram inferidos e a frequência do haplótipo selvagem *COL1A2* AGT foi de 48,4 e 50,9% nos controles e casos de tendinopatia, respectivamente (►Fig. 5). Após o ajuste para variáveis de confundimento, o haplótipo variante *COL1A2* CGT foi associado negativamente com a tendinopatia (OR = 0,48; IC95% = 0,25–0,93).

## Discussão

A tendinopatia é um distúrbio do sistema musculoesquelético muito comum no esporte, com prevalência de 10-50%,

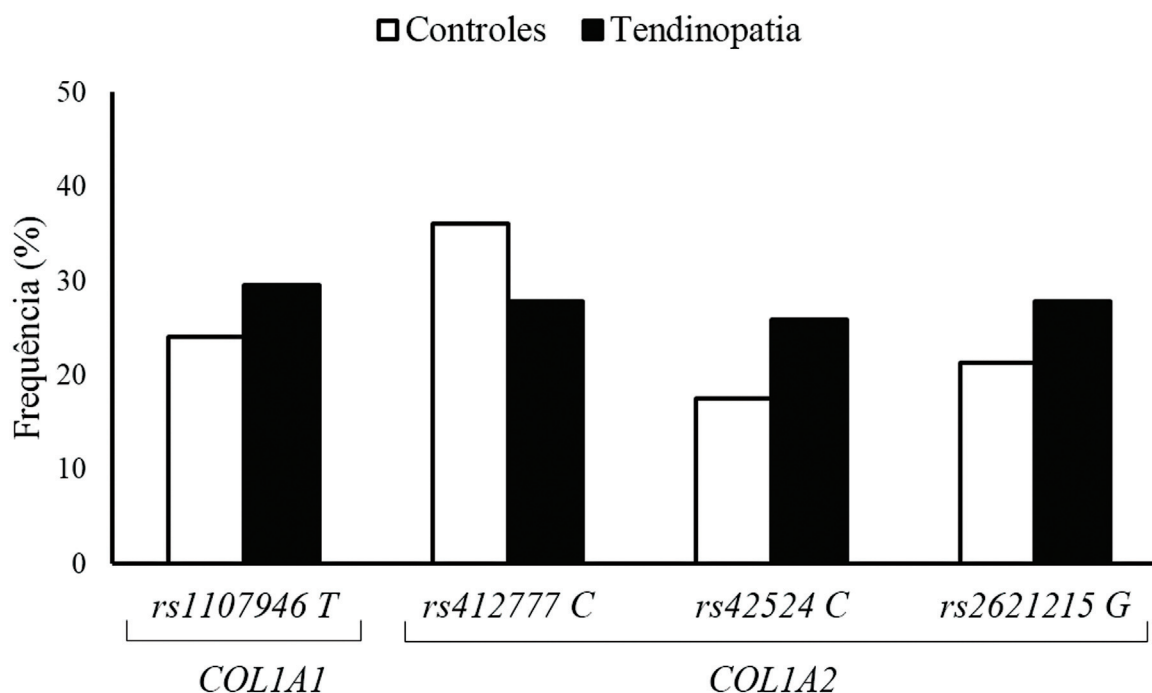
**Tabela 1** Análise epidemiológica e clínica dos indivíduos incluídos no estudo (n = 242)

Variáveis	Controle (n = 187)	Tendinopatia (n = 55)	valor-p <sup>a</sup>	OR ajustada (IC95%) <sup>b</sup>
<b>Idade (anos)</b>	<b>n (%)</b>			
≤ 20	84 (44,9)	7 (12,7)	<b>&lt; 0,001</b>	1 <sup>c</sup>
21 a 24	46 (24,6)	10 (18,2)		2,63 (0,92–7,54)
25 a 29	33 (17,7)	18 (32,7)		5,53 (2,06–14,86)
≥ 30	24 (12,8)	20 (36,4)		5,16 (1,79–14,83)
<b>Sexo</b>				
Feminino	63 (33,7)	21 (38,2)	0,54	1 <sup>c</sup>
Masculino	124 (66,3)	34 (61,8)		0,64 (0,31–1,32)
<b>Peso (Kg)</b>				
≤ 64,00	49 (26,2)	12 (21,8)	0,53	1 <sup>c</sup>
64,01 a 73,50	48 (25,7)	12 (21,8)		0,93 (0,34–2,56)
73,51 a 83,50	43 (23,0)	18 (32,7)		1,65 (0,65–4,21)
> 83,50	47 (25,1)	13 (23,7)		0,85 (0,32–2,26)
<b>Estatura (m)</b>				
≤ 1,67	50 (26,7)	17 (30,9)	0,67	1 <sup>c</sup>
1,67 a 1,74	46 (24,6)	10 (18,2)		0,47 (0,17–1,27)
1,75 a 1,80	42 (22,5)	15 (27,3)		1,11 (0,45–2,77)
> 1,80	49 (26,2)	13 (23,6)		0,69 (0,27–1,77)
<b>Consumo de bebida alcoólica</b>				
Não	82 (43,9)	20 (36,4)	0,32	1 <sup>c</sup>
Sim	105 (56,1)	35 (63,6)		1,19 (0,59–2,38)
<b>Tabagismo</b>				
Não	177 (94,7)	53 (96,4)	0,61	1 <sup>c</sup>
Sim	10 (5,3)	2 (3,6)		0,43 (0,08–2,30)
<b>Anos de prática esportiva</b>				
≤ 5	69 (36,9)	3 (5,5)	<b>0,001</b>	1 <sup>c</sup>
6 a 10	60 (32,1)	17 (30,9)		8,62 (2,30–32,25)
11 a 15	40 (21,4)	16 (29,1)		10,72 (2,82–40,77)
> 15	18 (9,6)	19 (34,5)		11,00 (2,78–43,53)
<b>Horas de treino semanais</b>				
≤ 8	62 (32,8)	14 (25,5)	0,27	1 <sup>c</sup>
9 a 12	56 (30,2)	13 (23,6)		0,83 (0,32–2,13)
13 a 18	37 (19,8)	13 (23,6)		1,30 (0,49–3,43)
> 18	32 (17,2)	15 (27,3)		1,42 (0,53–3,83)

<sup>a</sup>Valor-p calculado pelo teste  $\chi^2$  ou exato de Fisher, quando necessário. <sup>b</sup>OR = Odds ratio, razão de chances ajustada pela idade, anos de treinamento. IC = intervalo de confiança 95%. <sup>c</sup>Grupo de referência.

variando o tendão afetado conforme a modalidade esportiva do atleta.<sup>1,2</sup> O tendão patelar está entre os mais vulneráveis e frequentes a sofrer lesões por uso excessivo nos membros inferiores.<sup>1,18</sup> No presente estudo, ~ 60% dos atletas relataram a doença no tendão patelar, sendo mais frequente nos esportes de rugby, futebol e futebol americano. O aumento da tensão e carga mecânica durante a flexão do joelho gera alterações celulares, com degeneração da fibrila de colágeno que diminui as propriedades estru-

turais do tecido.<sup>19</sup> As tendinopatias do manguito rotador e do cotovelo ou flexores das mãos foram mais frequentes (~ 62%) dos membros superiores, principalmente nos esportes de remo, ginástica artística, natação, esportes de luta e polo aquático. O ombro é muito utilizado em esportes que exigem maior demanda e força dos membros superiores, como movimentos de arremesso no esporte de polo aquático e em exercícios de ataque e defesa exigidos em esportes de luta.<sup>1,20</sup>

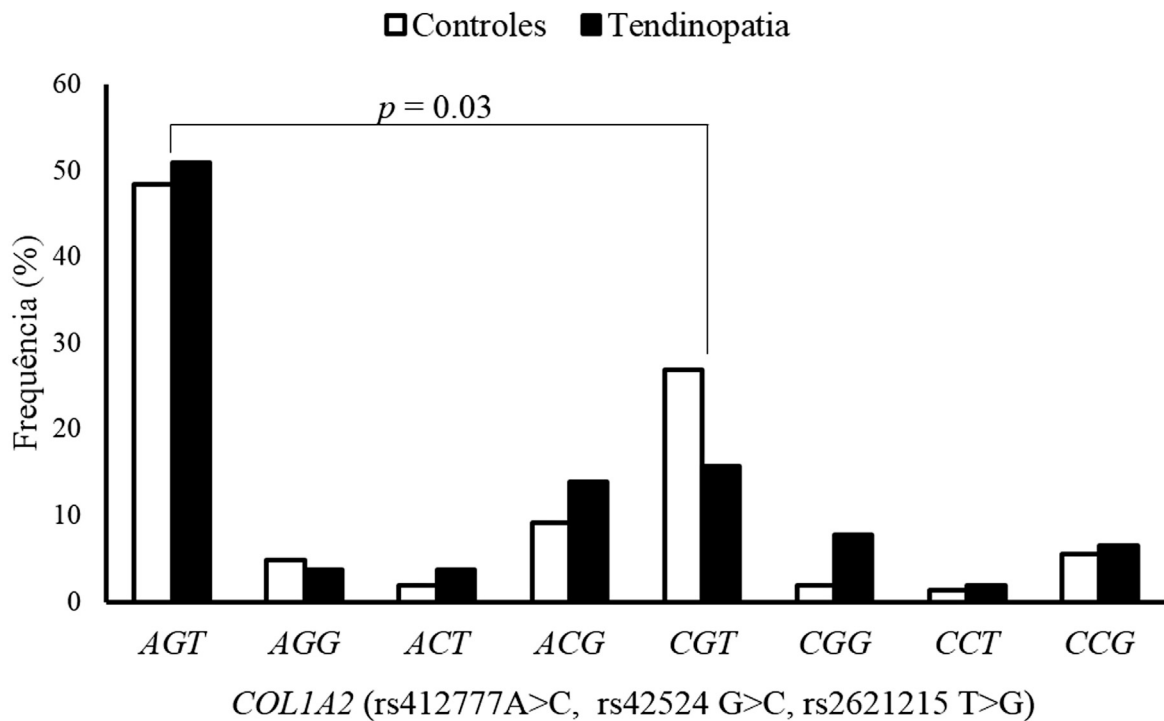


**Fig. 4** Distribuição da frequência alélica dos polimorfismos de *COL1A1* e *COL1A2* na população estudada ( $n = 242$ ). **Legenda:** Não houve diferença significativa entre os grupos na análise univariada.

**Tabela 2** Análise de associação dos polimorfismos de *COL1A1* e *COL1A2* com o desenvolvimento da tendinopatia

Variáveis	Controle ( $n = 187$ )	Tendinopatia ( $n = 55$ )	valor- $p^a$	OR ajustada (IC95%) <sup>b</sup>
<b>COL1A1</b> rs1107946 <sup>d</sup>	<i>n</i> (%)			
GG	110 (59,5)	29 (53,7)	0,13	1 <sup>c</sup>
GT	61 (33,0)	18 (33,3)		1,22 (0,57-2,61)
TT	14 (7,5)	7 (13,0)		2,60 (0,83-8,13)
<b>COL1A2</b> rs412777 <sup>e</sup>				
AA	75 (41,0)	28 (51,9)	0,27	1 <sup>c</sup>
AC	84 (45,9)	22 (40,7)		0,70 (0,34-1,44)
CC	24 (13,1)	4 (7,4)		0,33 (0,09-1,16)
rs42524 <sup>f</sup>				
GG	125 (67,2)	32 (59,3)	<b>0,03</b>	1 <sup>c</sup>
GC	57 (30,6)	16 (29,6)		1,21 (0,57-2,55)
CC	4 (2,2)	6 (11,1)		<b>5,47 (1,22-24,58)</b>
rs2621215 <sup>e</sup>				
TT	113 (61,7)	30 (55,6)	0,16	1 <sup>c</sup>
TG	62 (33,9)	18 (33,3)		1,24 (0,59-2,62)
GG	8 (4,4)	6 (11,1)		<b>3,91 (1,13-13,48)</b>

<sup>a</sup>P-valor calculado pelo teste  $\chi^2$  ou exato de Fisher, quando necessário. <sup>b</sup>OR = Odds ratio, razão de chances ajustada pela idade, anos de treinamento. IC = intervalo de confiança 95%. <sup>c</sup>Grupo de referência. <sup>d</sup>Informações obtidas de 239 atletas (185 controles e 54 casos de tendinopatia). <sup>e</sup>Informações obtidas de 237 atletas (183 controles e 54 casos de tendinopatia). <sup>f</sup>Informações obtidas de 240 atletas (186 controles e 54 casos de tendinopatia).



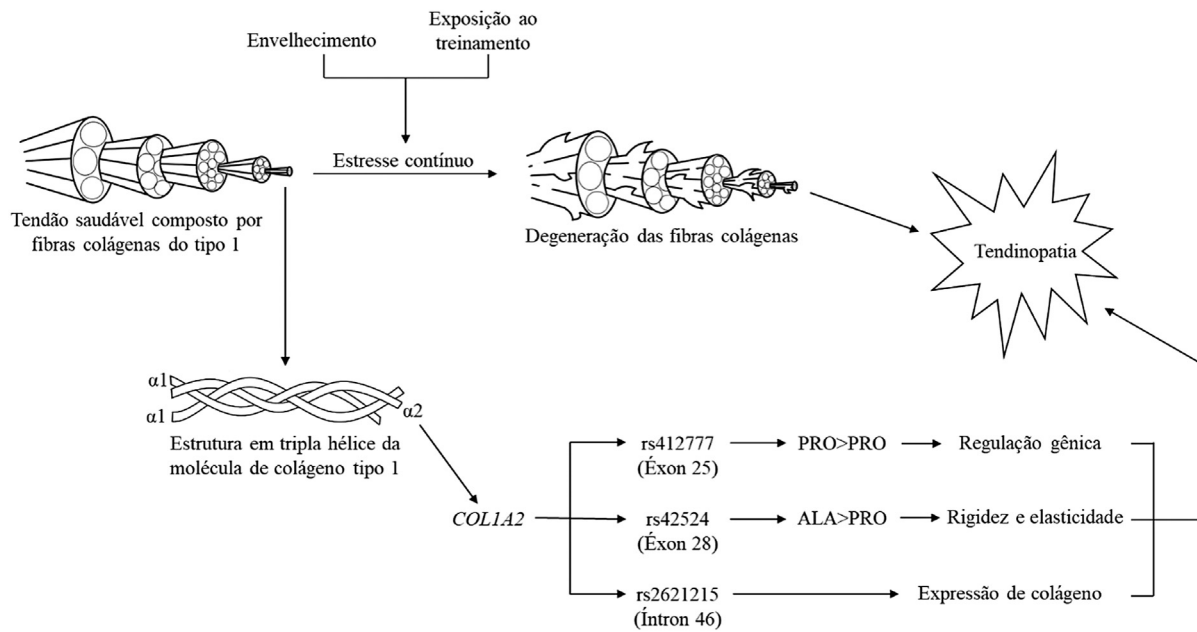
**Fig. 5** Distribuição da frequência haplotípica dos polimorfismos de *COL1A2* na população estudada ( $n = 242$ ). **Legenda:** Oito haplótipos de *COL1A2*, envolvendo os polimorfismos rs412777, rs42524, rs2621215, foram encontrados na população estudada. Houve diferença significativa na distribuição de frequência dos haplótipos AGT e CGT.

A idade e o tempo de prática esportiva foram associados com o risco da presença da tendinopatia, de acordo com outros estudos da literatura.<sup>1,2</sup> O avanço da idade pode provocar o envelhecimento do tendão, causando uma alteração na vascularização tendínea e, conseqüentemente, formar uma estrutura menos rígida e vulnerável a sofrer estresse tecidual.<sup>21</sup> O presente estudo observou que atletas mais velhos, > 25 anos, e com tempo de prática esportiva > 10 anos foram fortemente associados a tendinopatia em atletas brasileiros (~ 5 e 11 vezes, respectivamente), o que corrobora com estudo anterior que observou um risco de 8 vezes associados a tendinopatia no tendão patelar, manguito rotador e Aquiles em atletas de voleibol brasileiros com idade > 24 anos e com 15 anos ou mais de prática esportiva.<sup>3</sup> Ainda, foi observada a prevalência da doença em 17% de atletas adultos comparada com 5,6% em adolescentes.<sup>22</sup> Além disso, a intensa exposição ao volume e frequência de treinamentos pode ocasionar lesões recorrentes no tendão, com uma incidência de 0,12 lesões/1.000 horas de tempo de treinos ou competições.<sup>23</sup> Diferentes modelos de treinamento, como por exemplo, carga de salto e movimentos repetitivos, podem aumentar o risco de desenvolvimento de lesão tendínea.<sup>2</sup>

Variações genéticas vêm sendo apresentadas como fatores de risco intrínsecos associados com o desenvolvimento da tendinopatia.<sup>2,4,11,24</sup> A interação gene-ambiente de alguns fatores de risco modificáveis, principalmente em atletas, relacionados a intensidade e volume de treinamentos ou competições, e não modificáveis, como o perfil genético do atleta, podem resultar em um efeito sinérgico na manifesta-

ção da lesão no tendão.<sup>25</sup> Um estudo de revisão sistemática envolvendo 17 estudos sobre a influência de genes ligados à estrutura do colágeno e homeostase do tendão observou a relevância da contribuição de polimorfismos nos genes que codificam o colágeno com a suscetibilidade à tendinopatia de Aquiles.<sup>26</sup> Pacientes com instabilidade do ombro, por exemplo, apresentam menor expressão do *COL5A1*.<sup>27</sup>

Os tendões lesionados possuem maior expressão de colágeno dos tipos I e III.<sup>9,15</sup> Considerando o colágeno tipo I, o polimorfismo *COL1A1* rs1107946 G > T está relacionado com diferenças na atividade transcricional do gene, no qual o alelo G apresenta maior eficiência de transcrição quando comparado ao alelo T.<sup>28</sup> Ficek et al.<sup>15</sup> observaram que o haplótipo *COL1A1* GT (rs1107946-rs1800012) está associado a um menor risco de ruptura do ligamento cruzado anterior em um grupo de jogadores profissionais de futebol, porém não encontraram associação com tendinopatia, conforme observado no presente estudo em que o SNP *COL1A1* rs1107946 não foi associado a risco de tendinopatia. Até o momento, não há relato de estudos que avaliaram a influência do gene *COL1A2* na etiologia da tendinopatia, tornando o presente estudo pioneiro na descrição da associação de risco dos genótipos variantes *COL1A2* rs42524 CC e rs2621215 GG com a suscetibilidade da doença. Recentemente, Perini e colaboradores observaram que os genótipos variantes *COL1A2* rs42524 CC e *COL1A2* rs2621215 GG apresentaram uma chance de ~ 5 vezes para a ruptura sem contato do ligamento cruzado anterior.<sup>16</sup> A substituição do aminoácido alanina por prolina (Ala > Pro) do SNP *COL1A2* rs42524 G > C



**Fig. 6** Hipótese de mecanismo do desenvolvimento da tendinopatia na presença de fatores intrínsecos (idade e polimorfismos de *COL1A1* e *COL1A2*) e extrínsecos (anos de treinamento esportivo).

promove alteração na estabilidade da tripla hélice do colágeno.<sup>14</sup> O SNP *COL1A2* rs2621215 *T>G* pode interagir com outros polimorfismos funcionais e afetar a remoção dos íntrons deste gene causando danos na estrutura do colágeno.<sup>29</sup> Assim, a presença dos alelos variantes *COL1A2* rs42524 *C* e rs2621215 *G* pode produzir um colágeno menos flexível, tornando-o mais vulnerável ao estresse tecidual.

O haplótipo *COL1A2* *CGT*, formado apenas pelo alelo variante do SNP rs412777 *C*, sendo os outros dois selvagens (rs42524 *G* e rs2621215 *T*) apresentou um fator de proteção para o desenvolvimento da tendinopatia. A troca do nucleotídeo adenina por citosina no éxon 25 não promove a troca do aminoácido prolina na posição 392 da cadeia  $\alpha 2$  do colágeno tipo 1. Os mecanismos pelos quais os diferentes polimorfismos do gene *COL1A2* afetam sua expressão e/ou função ainda não são totalmente conhecidos. Contudo, o SNP rs412777 pode estar em desequilíbrio de ligação com uma mutação funcional, pode influenciar na expressão do gene e interferir no mecanismo de remoção dos íntrons e união dos éxons, fundamentais para a formação da proteína.<sup>30</sup>

Finalmente, com base nos resultados encontrados, foi sugerido um mecanismo de hipótese da interação gene-ambiente entre a idade do atleta, o tempo de prática no esporte e a contribuição dos SNPs *COL1A2* (rs412777, rs42524, rs2621215) no desenvolvimento da tendinopatia. Fatores como o envelhecimento e estresse mecânico podem contribuir para o aumento da demanda ou distribuição irregular da carga tênsil, causando alterações teciduais.<sup>2</sup> As fibras do colágeno do tipo 1 apresentam diferenças entre os indivíduos, devido à presença de polimorfismos nos genes (*COL1A1* e *COL1A2*), que codificam a proteína.<sup>9,14,15</sup> Os SNPs de *COL1A2* podem influenciar na expressão do gene, aumentando a rigidez e diminuindo a elasticidade tecidual.<sup>14,30</sup>

Desta forma, sugerimos que a interação gene-ambiente (SNPs de *COL1A2* somado ao envelhecimento e a alta exposição aos treinamentos) pode contribuir sinergicamente para o desenvolvimento da tendinopatia em atletas (→ Fig. 6).

Este é um estudo pioneiro e inovador que pode contribuir com o avanço biotecnológico e clínico na medicina personalizada; contudo, o tamanho da amostra do grupo de casos de tendinopatia foi a principal limitação do estudo, não permitindo a análise estratificada da doença em tendões com diferentes atividades biomecânicas. Além disso, o presente estudo não diferenciou tendinopatias intrasubstanciais daquelas insercionais ou que ocorrem na junção miotendínea, o que deve ser motivo de investigação em futuros estudos analíticos por se tratarem de doenças de espectro clínico diverso. Porém, temos ciência de que mesmo com diferenças nos locais anatômicos, todos os tendões são compostos por colágeno do tipo 1. Também temos uma variedade de modalidades esportivas, que diferem quanto ao tipo de treinamento, demandas biomecânicas e, consequentemente, aos tendões afetados pela doença. Contudo, as possíveis variáveis de confundimento foram inseridas no modelo de regressão logística para avaliar a real influência dos SNPs no desenvolvimento da tendinopatia. Desta forma, os resultados do presente estudo podem contribuir como base de dados para estudo futuros, com o intuito de construir um banco de dados com diferentes populações para que seja possível identificar os fatores de risco modificáveis e os não modificáveis associados ao desenvolvimento da tendinopatia. Programas individualizados de prevenção de lesão utilizando informações genéticas podem contribuir para promoção da saúde e bem-estar dos indivíduos, além de serem ferramentas diagnósticas úteis na prática clínica do ortopedista.



## Conclusão

Atletas > 25 anos, com > 6 anos de prática esportiva, com genótipos *COL1A2* rs42524 CC e rs2621215 GG apresentam maior risco de desenvolver tendinopatia, enquanto o haplótipo variante *COL1A2* CGT apresentou um efeito protetor no desenvolvimento da doença.

### Contribuição dos autores

Os autores contribuíram individual e significativamente para o desenvolvimento do presente artigo: Perini J. A., Lopes R. L. e Goes R. A. participaram da concepção e desenho do estudo. Perini J. A., Lopes R. L. e Goes R. A. reuniram os dados e desenvolveram o banco de dados. Perini J. A., Lopes R. L., Pereira C. G. e Wainchtock V. S. realizaram os experimentos e análises estatísticas. Perini J. A., Lopes R. L., Amaral M. V. G. e Miranda V. A. R. realizaram a análise e a interpretação dos dados. Perini J. A., Lopes R. L., Pereira C. G. e Wainchtock V. S. escreveram o manuscrito. Guimarães J. A. M. e Amaral M. V. G. realizaram a revisão crítica do manuscrito para conteúdo intelectual importante. Todos os autores leram e aprovaram o manuscrito final.

### Suporte Financeiro

Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

### Conflito de Interesses

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

## Referências

- Goes RA, Lopes LR, Cossich VRA, et al. Musculoskeletal injuries in athletes from five modalities: a cross-sectional study. *BMC Musculoskelet Disord* 2020;21(01):122
- Millar NL, Silbernagel KG, Thorborg K, et al. Tendinopathy. *Nat Rev Dis Primers* 2021;7(01):1
- Salles JI, Lopes LR, Duarte MEL, et al. Fc receptor-like 3 (-169T>C) polymorphism increases the risk of tendinopathy in volleyball athletes: a case control study. *BMC Med Genet* 2018;19(01):119
- Collins M, Raleigh SM. Genetic risk factors for musculoskeletal soft tissue injuries. *Med Sport Sci* 2009;54:136–149
- Ackermann PW, Renström P. Tendinopathy in sport. *Sports Health* 2012;4(03):193–201
- Lopes LR, de Miranda VAR, Guimarães JAM, et al. Association of TNF- $\alpha$  -308G > A polymorphism with susceptibility to tendinopathy in athletes: a case-control study. *BMC Sports Sci Med Rehabil* 2021;13(01):51
- Buchanan CI, Marsh RL. Effects of exercise on the biomechanical, biochemical and structural properties of tendons. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 2002;133(04):1101–1107
- Nourissat G, Berenbaum F, Duprez D. Tendon injury: from biology to tendon repair. *Nat Rev Rheumatol* 2015;11(04):223–233
- Gibbon A, Raleigh SM, Ribbans WJ, Posthumus M, Collins M, September AV. Functional COL1A1 variants are associated with the risk of acute musculoskeletal soft tissue injuries. *J Orthop Res* 2020;38(10):2290–2298
- Guerquin MJ, Charvet B, Nourissat G, et al. Transcription factor EGR1 directs tendon differentiation and promotes tendon repair. *J Clin Invest* 2013;123(08):3564–3576
- Cohen C, Figueiredo EA, Belangero PS, Andreoli CV, Leal MF, Ejnisman B. Genetic Aspects in Shoulder Disorders. *Rev Bras Ortop* 2020;55(05):537–542
- Karki R, Pandya D, Elston RC, Ferlini C. Defining “mutation” and “polymorphism” in the era of personal genomics. *BMC Med Genomics* 2015;8:37
- Altshuler D, Daly MJ, Lander ES. Genetic mapping in human disease. *Science* 2008;322(5903):881–888
- Yoneyama T, Kasuya H, Onda H, et al. Collagen type I alpha2 (COL1A2) is the susceptible gene for intracranial aneurysms. *Stroke* 2004;35(02):443–448
- Ficek K, Cieszczyk P, Kaczmarczyk M, et al. Gene variants within the COL1A1 gene are associated with reduced anterior cruciate ligament injury in professional soccer players. *J Sci Med Sport* 2013;16(05):396–400
- Perini JA, Lopes LR, Guimarães JAM, et al. Influence of type I collagen polymorphisms and risk of anterior cruciate ligament rupture in athletes: a case-control study. *BMC Musculoskelet Disord* 2022;23(01):154
- Perini JA, Cardoso JV, Berardo PT, et al. Role of vascular endothelial growth factor polymorphisms (-2578C>A, -460 T>C, -1154G>A, +405G>C and +936C>T) in endometriosis: a case-control study with Brazilians. *BMC Womens Health* 2014;14:117
- Florit D, Pedret C, Casals M, Malliaras P, Sugimoto D, Rodas G. Incidence of Tendinopathy in Team Sports in a Multidisciplinary Sports Club Over 8 Seasons. *J Sports Sci Med* 2019;18(04):780–788
- Aicale R, Oliviero A, Maffulli N. Management of Achilles and patellar tendinopathy: what we know, what we can do. *J Foot Ankle Res* 2020;13(01):59
- Hams AH, Evans K, Adams R, Waddington G, Witchalls J. Shoulder internal and external rotation strength and prediction of subsequent injury in water-polo players. *Scand J Med Sci Sports* 2019;29(09):1414–1420
- Li HY, Hua YH. Achilles Tendinopathy: Current Concepts about the Basic Science and Clinical Treatments. *BioMed Res Int* 2016;2016:6492597
- Cassel M, Baur H, Hirschmüller A, Carlsohn A, Fröhlich K, Mayer F. Prevalence of Achilles and patellar tendinopathy and their association to intratendinous changes in adolescent athletes. *Scand J Med Sci Sports* 2015;25(03):e310–e318
- Hägglund M, Zwerver J, Ekstrand J. Epidemiology of patellar tendinopathy in elite male soccer players. *Am J Sports Med* 2011;39(09):1906–1911
- Assunção JH, Tenreiro BF, Gracitelli MEC, Malavolta EA, Ferreira Neto AA. Family predisposition for rotator cuff tear and other tendinopathies - a case-control study. *Rev Bras Ortop* 2020;55(04):470–475
- Andarawis-Puri N, Flatow EL, Soslowky LJ. Tendon basic science: Development, repair, regeneration, and healing. *J Orthop Res* 2015;33(06):780–784
- Kozlovskaja M, Vlahovich N, Ashton KJ, Hughes DC. Biomedical risk factors of achilles tendinopathy in physically active people: a systematic review. *Sports Med Open* 2017;3(01):20
- Belangero PS, Leal MF, de Castro Pochini A, Andreoli CV, Ejnisman B, Cohen M. Profile of collagen gene expression in the glenohumeral capsule of patients with traumatic anterior instability of the shoulder. *Rev Bras Ortop* 2014;49(06):642–646
- García-Giralt N, Enjuanes A, Bustamante M, et al. In vitro functional assay of alleles and haplotypes of two COL1A1-promoter SNPs. *Bone* 2005;36(05):902–908
- Meng Q, Hao Q, Zhao C. The association between collagen gene polymorphisms and intracranial aneurysms: a meta-analysis. *Neurosurg Rev* 2019;42(02):243–253
- Suuriniemi M, Mahonen A, Kovanen V, Alén M, Cheng S. Relation of Pvull site polymorphism in the COL1A2 gene to the risk of fractures in prepubertal Finnish girls. *Physiol Genomics* 2003;14(03):217–224