

**S-Nitrosação prejudica atividade da AMPK no músculo esquelético e diminui a performance de roedores em exercício aeróbio. Gaspar, R.S.; Lenhare, L.; Katashima, C.K.; Pauli, J.R.; Ropelle, E.R. Laboratório de Biologia Molecular do Exercício (Labmex). Faculdade de Ciências Aplicadas da Unicamp (FCA). Agência financiadora: FAPESP.** Introdução: O envelhecimento vem sendo revelado como um dos importantes fenômenos associados à resistência à insulina e ao diabetes. Neste cenário, a S-Nitrosação tem ganhado destaque como um importante mecanismo de regulação pós-transcricional da resistência insulínica. Postula-se que o aumento da expressão da enzima óxido nítrico sintase induzível (iNOS) esteja relacionado à S-Nitrosação de proteínas no envelhecimento (ex: via de sinalização da insulina). Por outro lado, a proteína quinase ativada por AMP (AMPK) está envolvida na supressão da atividade da iNOS e no aumento da captação de glicose, aumentando sua atividade em resposta ao exercício físico. No entanto, o fenômeno de S-nitrosação da AMPK no músculo esquelético é desconhecido. Portanto, o objetivo do presente trabalho foi investigar a S-nitrosação da AMPK no processo de envelhecimento e o papel do exercício físico em atenuar esse fenômeno na musculatura esquelética de roedores. Materiais e Métodos: foram utilizados animais C57 e iNOS-knockout, jovens e velhos, procedentes do CEMIB-Unicamp; A análise proteica foi realizada por Western Blotting; A S-nitrosação de proteínas foi avaliada por protocolo de biotilação de nitrosotióis; Como exercício físico, foi utilizado protocolo de natação e teste de performance em esteira; Para a análise estatística, foi utilizado o software GraphPad Prism, com o uso de Anova ou teste-t de Student, com significância estatística para  $p < 0,05$ . Resultados: Houve redução da fosforilação da AMPK (pAMPK) na musculatura esquelética de animais C57-velhos em comparação ao grupo C57-jovem, juntamente com aumento na expressão da proteína iNOS no grupo C57-velho em comparação ao C57-jovem. Para investigar se o aumento da iNOS e consequente aumento da oferta de óxido nítrico na célula poderia influenciar na pAMPK, foi avaliada a S-nitrosação da AMPK, que aumentou no grupo C57-velho em comparação ao C57-jovem. Posteriormente, utilizando somente animais C57-jovens, foi realizado teste de performance em esteira, comparando animais tratados com PBS (controle) aos tratados com GSNO (doador de NO). De forma interessante, o tratamento com GSNO, reduziu a distância percorrida e o tempo de exercício em esteira, bem como diminuiu a performance e a pAMPK, podendo justificar um dos mecanismos responsáveis por diminuir o desempenho em exercício físico. Tendo em vista o aumento da S-nitrosação da AMPK encontrado no

grupo C57-velho e no tratado com GSNO, resolvemos verificar a fosforilação da sub-unidade alfa-2 da AMPK em animais treinados, jovens e velhos, utilizando animais C57 e iNOS-knockout. O grupo C57-velho apresentou tendência à redução da pAMPK em comparação aos outros grupos. Por fim, foi avaliada a S-nitrosação desta proteína nos grupos supracitados, que estava reduzida no grupo C57-jovem, com aumento aberrante no grupo C57-velho em relação aos outros grupos. Conclusão: Nossos resultados sugerem que a redução da pAMPK no músculo esquelético está associada ao aumento da expressão da iNOS e o fenômeno de S-nitrosação em roedores.