

CONTRIBUIÇÃO DA ENZIMA ALDEÍDO DESIDROGENASE 2 (ALDH2) NO DESEMPENHO FÍSICO

¹Ribeiro, MAC, ¹Ferreira, AN, ¹Venancio, N, ²Campos, JC, ²Ferreira, JCB

¹Escola de Educação Física e Esporte da Universidade de São Paulo, ²Departamento de anatomia – Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo. FAPESP.

A enzima aldeído desidrogenase 2 (ALDH2) é um dos 19 membros da família gênica da aldeído desidrogenase, cuja principal função envolve a remoção de aldeídos tóxicos produzidos a partir do metabolismo mitocondrial. A inibição da atividade da ALDH2, decorrente da mutação pontual caracterizada pela substituição do glutamato por lisina na região 487 do gene, acomete 40% da população asiática. Essa mutação leva à diminuição de sua atividade em até 95%, estando associada ao aparecimento/agravamento de doenças cardiovasculares. Na primeira etapa do presente projeto, avaliamos a contribuição da ALDH2 no desempenho físico, uma vez que esta é essencial no metabolismo mitocondrial. Para isso, utilizamos camundongos machos tratados durante oito dias com um ativador da ALDH2 (Alda-1, 10mg/kg/dia, administrada através de bombas osmóticas implantadas no dorso dos animais). A capacidade máxima de realização do exercício físico foi estimada por meio de um teste progressivo escalonado até a exaustão em esteira rolante com inclinação de 4°, onde a velocidade inicial foi de 6 m/min, com incrementos de 3 m/min a cada 3 min. Nossos dados demonstram que os animais tratados com Alda-1 aumentam em 58% a tolerância aos esforços físicos quando comparados aos animais controles (1332±96 vs. 842±186 segundos, p<0,05), sugerindo que a ALDH2 contribui positivamente para o desempenho físico. Baseado nesses resultados, levantamos a hipótese de que a mutação pontual no gene da ALDH2, responsável pela redução de sua atividade em até 95%, afeta negativamente o desempenho físico. Para testarmos essa hipótese, estudamos camundongos geneticamente modificados que apresentam a mutação no gene da ALDH2 descrita anteriormente, gentilmente cedidos pela professora Daria Mochly-Rosen da Universidade de Stanford. A segunda etapa deste projeto, ainda em andamento, envolve o acasalamento dos animais (machos mutantes heterozigotos e fêmeas controles) e posterior identificação do genótipo da prole. Na tentativa de identificar/selecionar os animais mutantes, estamos realizando a extração do DNA da cauda por meio de dois métodos: 1) 20 minutos de aquecimento a 95°C em solução 50mM NaOH, 1M Tris, pH 7,4 e 2) aquecimento *overnight* a 55°C em tampão de lise contendo 0,1mg proteinase K, 100mM Tris-HCl, 5 mM EDTA, 200mM NaCl, 0,2% SDS, pH 8,0. Para identificação do gene

mutante, a sequência de interesse (sense: 5'-TACTGTCAAAGTGCCACAGAAGAAGTCTCGTAA-3'; antisense: 5'-AACCTGCGTGCAATCCATCTTGTTCAATGG-3') está sendo amplificada pela Reação em Cadeia da Polimerase (*PCR - Polymerase Chain Reaction*) e reconhecida em gel de agarose após eletroforese. Uma vez finalizada a genotipagem dos animais, os machos mutantes heterozigotos serão suplementados com Alda-1 por 48 dias e submetidos a um teste progressivo escalonado em esteira rolante para determinação do desempenho físico. Acreditamos que a identificação de mutações em genes-chave envolvidos no desempenho físico, bem como o desenvolvimento de moléculas capazes de restaurar a atividade desses genes, é de suma importância para a evolução da biologia/fisiologia do exercício.