

EFEITO DA INIBIÇÃO DO *microRNA-34c NA HIPERTROFIA DE CARDIOMIÓCITOS EM CULTURA CELULAR.**

NOBREGA, C.; OLIVEIRA, E. M.

Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular, Departamento de Biodinâmica do Movimento do Corpo Humano da EEFÉ-USP.

Hipertrofia cardíaca (HC) é um mecanismo adaptativo do músculo cardíaco em resposta a uma sobrecarga hemodinâmica, que leva a alterações patológicas na estrutura do miocárdio, enquanto treinamento físico (TF) induz hipertrofia fisiológica (HF), que é dependente da natureza, duração e intensidade do exercício, levando a um aumento no tamanho dos sarcômeros, como resposta compensatória à sobrecarga de trabalho. É sabido que a AKT-PI3K-mTOR é a principal via de sinalização intracelular induzida pelo TF, quando ativada pelo fator de crescimento semelhante a insulina (IGF-1), a mTOR fosforila o fator de iniciação de tradução eIF4BP1, acionando a liberação do complexo eIF4EBP1-eIF4E, permitindo a ligação entre os fatores eIF4E e eIF4G1 (fator responsável por facilitar a ligação do ribossomo e sua passagem pela região 5' não traduzida), sendo este novo complexo responsável pela sinalização ribossomal da síntese proteica (SP). Recentes estudos mostram que essa via também é regulada por *microRNAs* (miRNAs). MiRNAs são RNAs de fita simples de 17-25 nucleotídeos, não codificadores de proteínas, que agem como potentes reguladores negativos, pós-transcricionais, da expressão gênica de plantas e animais. A partir de estudos feitos inicialmente em nosso Laboratório, verificou-se através de técnica de *microRNA-Array* que houve uma diminuição da expressão do *miRNA-34c** no músculo cardíaco de ratos treinados por dois protocolos de natação (P1 e P2), tendo uma queda de 25% para o P1, e 31% para o P2, despertando assim o interesse pela busca de genes-alvo desse miRNA. Através de programa de bioinformática, verificou-se que o *miRNA-34c** possui como um de seus genes-alvo, o responsável por transcrever/traduzir a proteína eIF4E. Dessa forma, ao compreender que a SP é essencial à sobrevivência, crescimento e proliferação celular, e entendendo que o fator eIF4E é indispensável a essa síntese, este trabalho tem como objetivo testar a hipótese de que a diminuição da expressão do *miRNA-34c**, com o uso de seu antagomiR (inibidor do *miRNA-34c**) em cultura de cardiomiócito, aumente a expressão gênica do eIF4E, e conseqüentemente a hipertrofia dos cardiomiócitos. Para tanto, faremos cultura primária de cardiomiócito, transfectando-as com antagomir-miR-34c*, análise de expressão gênica do miRNA e seus genes-alvo, análise de expressão e síntese proteica, imunoblotting, e quantificação do tamanho dos cardiomiócitos. Os resultados serão apresentados como média, \pm desvio padrão desta, e serão expressos em porcentagem de variação em relação grupo controle. O "n" representará o número de experimentos realizados com diferentes culturas de cardiomiócitos. As médias dos grupos serão comparadas utilizando-se

o teste t de *Student* ou a análise de variância (ANOVA), seguida do teste *ad-hoc* de Tukey, quando pertinente, e nível de significância de 5% ($p < 0,05$).