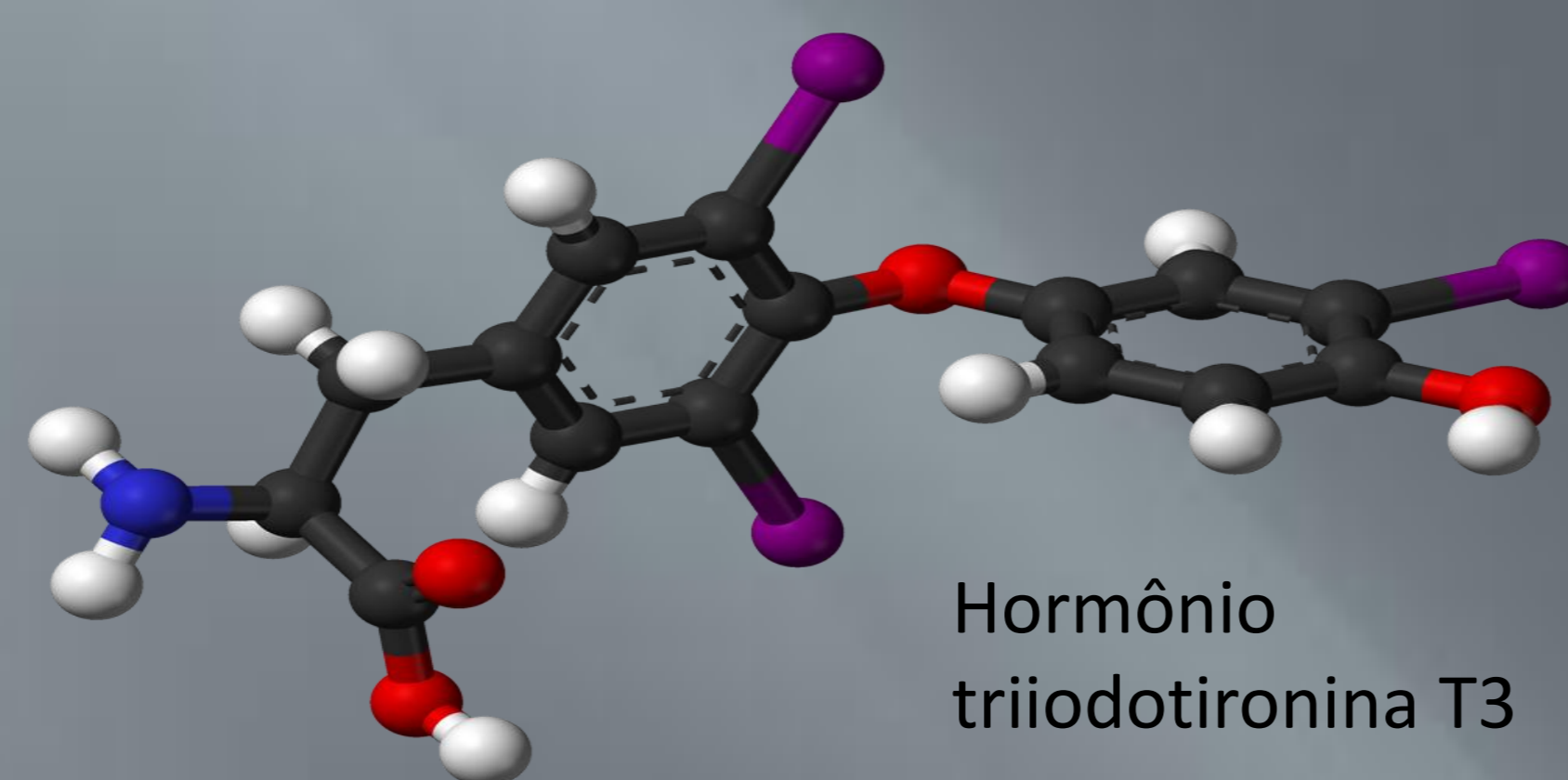
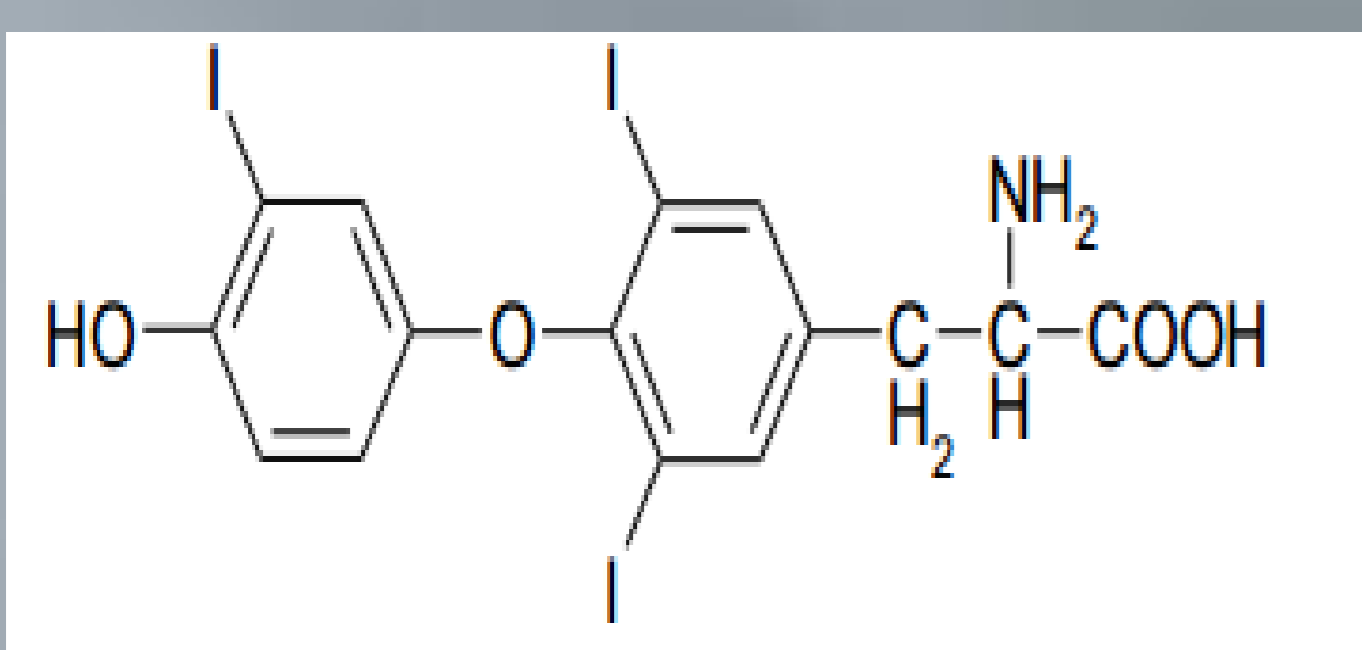


INTRODUÇÃO

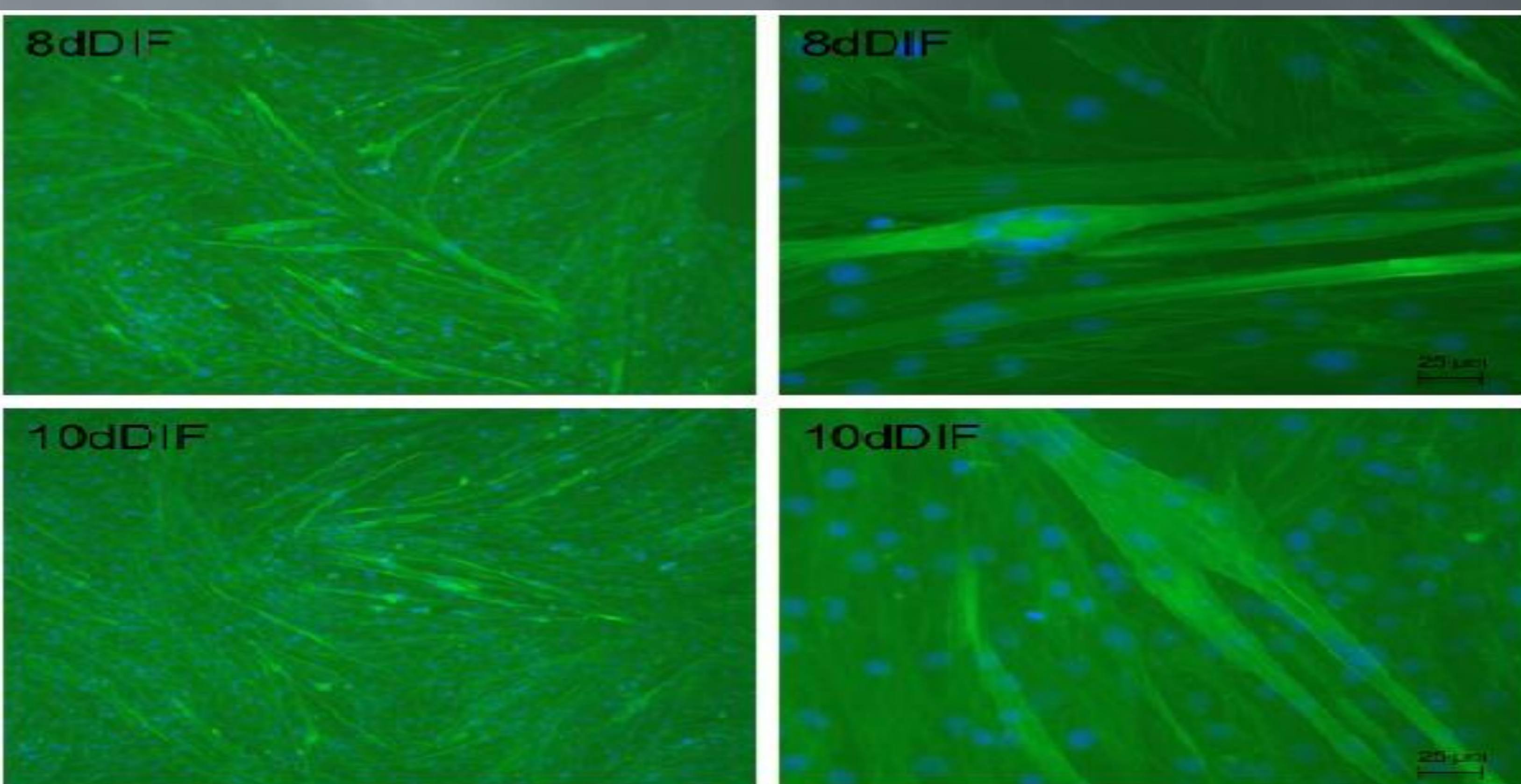
O hormônio tireoidiano triiodotironina (T3) é fundamental para o controle metabólico em associação à estimulação geral da tradução. De um modo geral, T3 regula o metabolismo corporal elevando a taxa metabólica basal. Entre outros efeitos, estimula a síntese proteica geral; aumenta o tamanho e número de mitocôndrias; estimula a captação de glicose pelas células, incrementa a glicólise e a gliconeogênese e estimula a mobilização de lipídeos, aumentando a biodisponibilidade de ácidos graxos livres para oxidação. EIF5A é a única proteína conhecida que apresenta o resíduo de aminoácido hipusina. Está envolvida com a elongação da tradução e apresenta relação positiva com os processos de proliferação celular, trânsito de macromoléculas pelo complexo do poro nuclear e envolvimento com decaimento de mRNAs. Assim, o presente projeto visa caracterizar os efeitos do hormônio T3 na expressão e atividade de EIF5A na linhagem celular de mioblasto de rato L6.



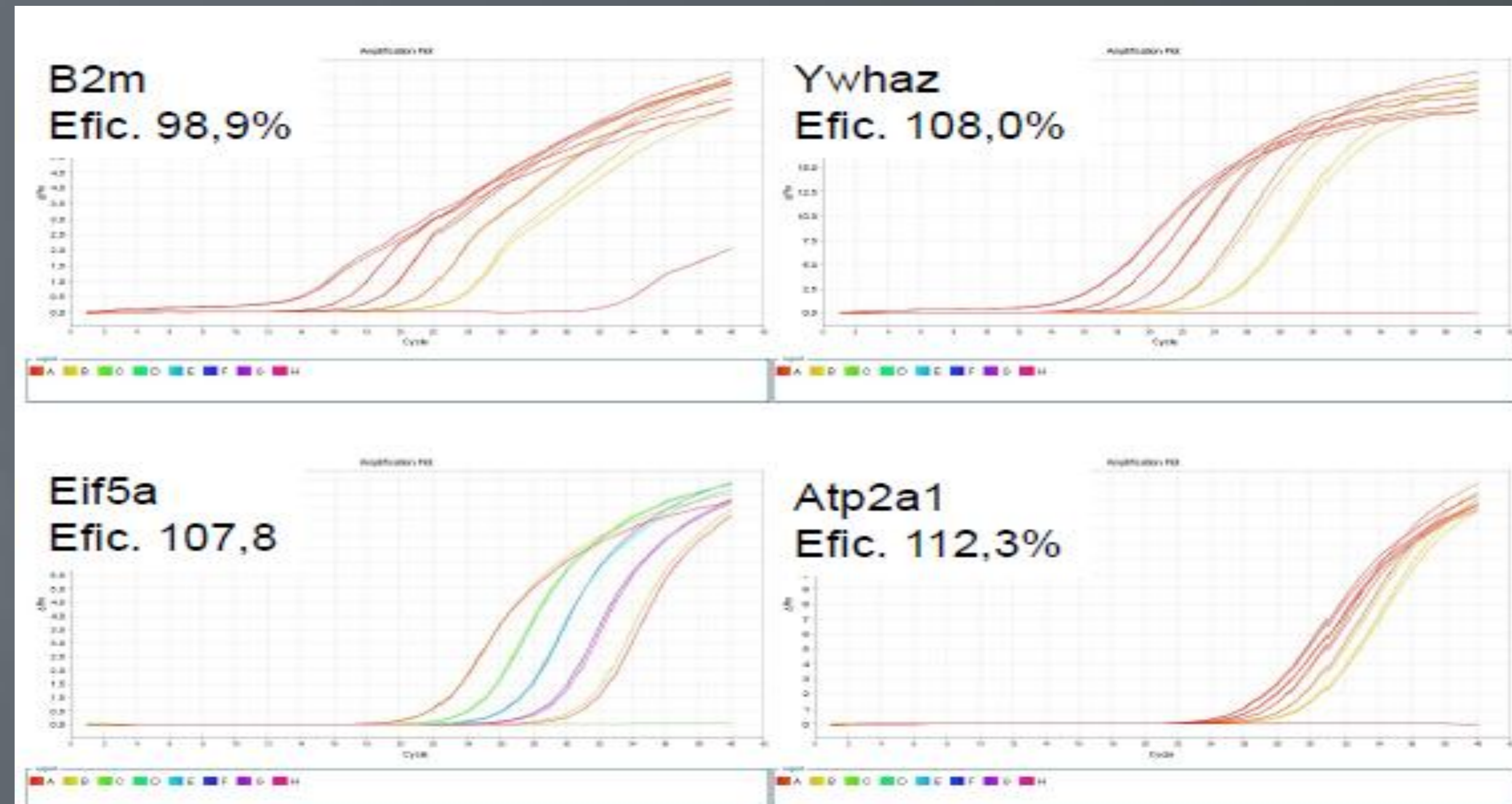
MÉTODOS

As metodologias empregadas compreenderam: cultura das células L6, microscopia de fluorescência e ensaios de qPCR. Foram utilizadas as seguintes concentrações de T3 para o tratamento das células L6: 10nM, 100nM e 1000nM nos seguintes tempos: 6, 12 e 24 horas. Os oligonucleotídeos alvos do qPCR foram: B2m, Ywhaz, Eif5a e Atp2a1 (controle positivo).

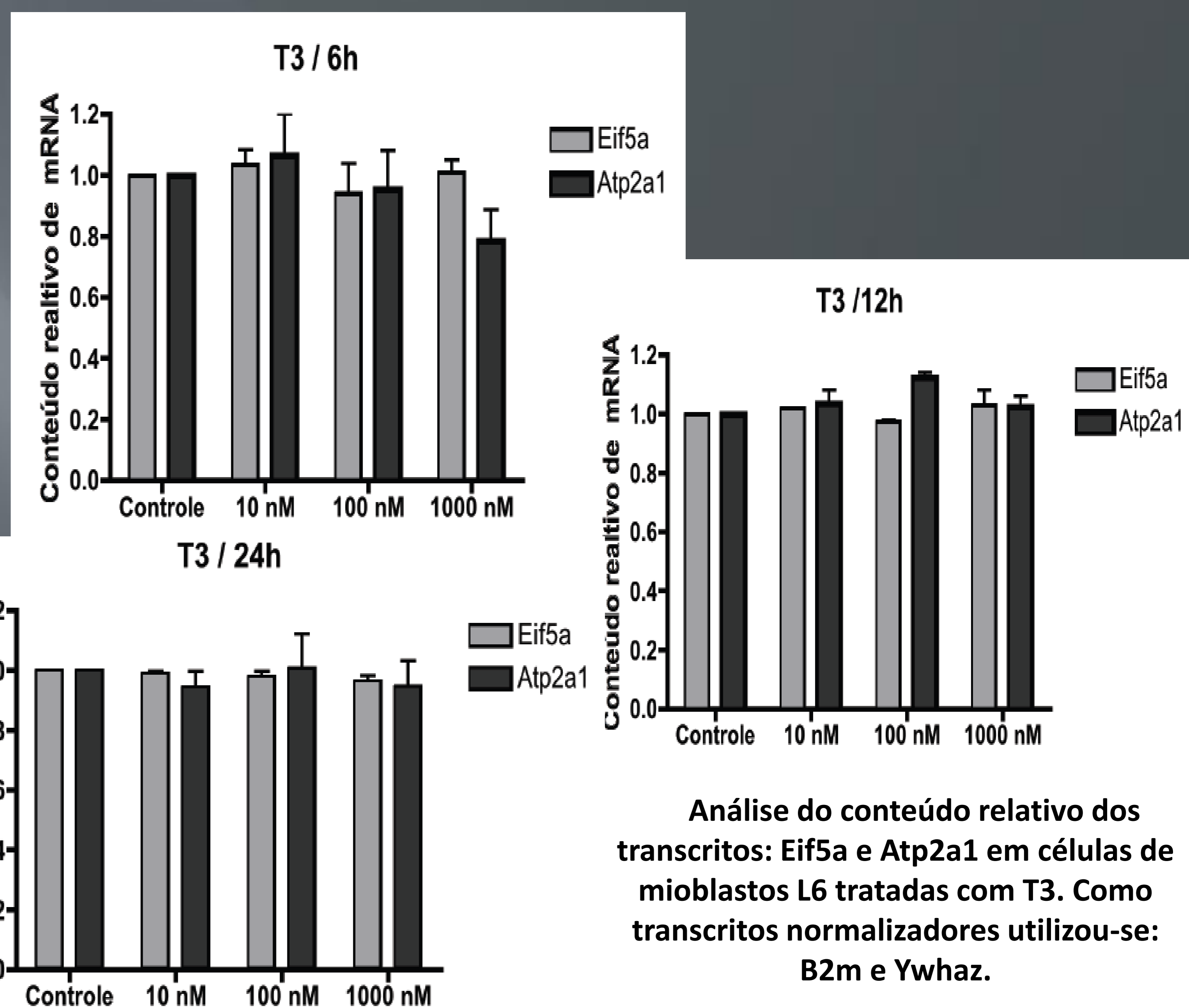
RESULTADOS



Análise das células de mioblasto de rato L6 em diferenciação por microscopia de fluorescência. Marcação dos filamentos de actina com faloidina-FITC (verde) e do núcleo com DAPI (azul). Células no oitavo e décimo dia de diferenciação (8dDIF e 10dDIF).



Análise da eficiência de amplificação dos oligonucleotídeos amplificadores dos alvos B2m, Ywhaz, Eif5a e Atp2a1. cDNAs obtidos de células de mioblasto de rato L6.



Análise do conteúdo relativo dos transcritos: Eif5a e Atp2a1 em células de mioblastos L6 tratadas com T3. Como transcritos normalizadores utilizou-se: B2m e Ywhaz.

CONCLUSÃO

Uma vez que não foi verificada alteração na expressão de Atp2a1 levantou-se a hipótese dessa linhagem não ser responsiva ao T3 no estado não diferenciado. Na próxima etapa do estudo, os experimentos serão realizados com as células no estado diferenciado, utilizando o mesmo método empregado no início do projeto para a certificação da linhagem L6 na tentativa de estabelecermos um modelo in vitro de resposta ao T3.