



6039-529. REGULACIÓN POR TGF- β DEL PROCESAMIENTO DE MICRORNA-21 POR DICER Y SU PAPEL FISIOPATOLÓGICO EN EL REMODELADO VI POR SOBRECARGA DE PRESIÓN EN EL ANIMAL DE EXPERIMENTACIÓN Y EN LA CLÍNICA

J. Francisco Nistal Herrera¹, Raquel García López², David Merino Fernández³, María Amor Hurlé González² y Ana Victoria Villar Ramos² de ¹Cirugía Cardiovascular, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla, IDIVAL, Universidad de Cantabria, Santander (Cantabria), ²Departamento de Fisiología y Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad de Cantabria, IDIVAL, Santander (Cantabria) y ³Universidad de Cantabria, Santander (Cantabria).

Resumen

TGF- β promueve sobreexpresión de microRNA-21 (miR-21) que contribuye a la fibrosis VI secundaria a sobrecarga de presión. Los efectores canónicos de la señalización TGF- β , SMAD2/3, activan el procesamiento del transcrito primario, pri-miR-21, al precursor citoplasmático premiR-21 por DROSHA. Postulamos que SMAD2/3 también interactúan con la ribonucleasa DICER, promoviendo la maduración de miR-21 a partir de premiR-21 en fibroblastos y en el VI sometido a sobrecarga de presión tanto experimental como clínica. El estudio se realizó en pacientes con estenosis aórtica (EA; n = 67), ratones sometidos a constricción del arco aórtico (CAT) y fibroblastos en cultivo. Fibroblastos NIH-3T3 transfectados con premiR-21 sobre-expresan miR-21 cuando son estimulados con TGF- β (0,3 ng/ml) mientras que el silenciamiento de SMAD2/3 (siRNA 10nM) reduce la síntesis de miR-21. La inmunofluorescencia confocal puso de manifiesto la colocalización de p-SMAD2/3 y DICER1 en fibroblastos NIH-3T3 y primarios de corazón de ratón. Mediante ensayos de *in situ proximity ligation* se confirmó que SMAD2/3-DICER1 interactúan directamente en fibroblastos NIH-3T3. En ratones CAT el aumento de la expresión miocárdica de DICER1 constituye una respuesta temprana a la sobrecarga de presión que se correlaciona directa y significativamente con el nivel de expresión de ARNm de TGF- β 1 (R = 0,61***), SMAD2 (R = 0,81***), y SMAD3 (R = 0,81***). El análisis de regresión lineal múltiple indica que TGF- β , SMAD2 y SMAD3 son predictores significativos de la expresión de DICER1 en el VI sometido a estrés mecánico (R²: 0,70***). En el VI de los pacientes con EA, la expresión génica de DICER1 está aumentada y se correlaciona directa y significativamente con la expresión de TGF- β 1 (R = 0,47***), SMAD2 (R = 0,48***), y SMAD3 (R = 0,54***). Ensayos de coimmunoprecipitación en lisados de VI de ratones CAT mostraron la existencia de complejos proteicos DICER1-SMAD2/3 sobreexpresados. Se aisló premiR-21 de la fracción que contenía el complejo DICER-SMAD. Nuestros resultados indican que SMAD2/3 interacciona con DICER1 promoviendo la maduración de premiR-21 a miR21. Este nuevo mecanismo regulatorio de la sobreexpresión de miR-21 dependiente de TGF- β es operativo en el VI de pacientes y ratones sometido a sobrecarga de presión.