

MODELO EXPERIMENTAL DE TRANSFECCÃO GÊNICA EM MIOCÁRDIO NORMAL DE CÃES: PERSPECTIVAS DE TERAPIA GÊNICA PARA O TRATAMENTO DA CARDIOPATIA ISQUÊMICA.

Eduardo T. Mastalir, Leonardo A. K. Teixeira, Paulo Moreno, Cecília H. Fricke, Nance B. Nardi, Renato A. K. Kalil
(Instituto de Cardiologia do RS-FUC e Lab. Imunogenética da UFRGS).

Introdução: A cardiopatia isquêmica é responsável por consideráveis morbidade e mortalidade no nosso meio. **Objetivo:** avaliar a transfecção do gene que codifica para proteína verde fluorescente (EGFP) através de injeção intramiocárdica direta e sua detecção em miocárdio normal de cães. **Métodos:** utilizamos o vetor plasmidial pREGFP construído por subclonagem do gene EGFP a partir do plasmídeo comercial pEGFP-N1 entre os sítios de clonagem 5' *KpnI-NotI* 3' do vetor plasmidial pREP9. O gene EGFP foi inserido a jusante do promotor constitutivo do vírus do sarcoma de Rous. O DNA plasmidial foi amplificado em células XL1-Blue através de transformação por cloreto de cálcio e purificado através do *kit* comercial Qiagen Plasmid Midi-Prep. Foram utilizados 5 cães machos (média de 13,5kg), nos quais injetamos 0,5 ml de solução salina (1cão) ou 0,5 ml de solução plasmidial contendo 0,5 µg de pREGFP/cão (4 cães) no miocárdio da parede lateral do ventrículo esquerdo. Após uma semana, os cães foram sacrificados para realização de biópsias cardíacas, seccionadas em espessura de 5,0 µm e dispostas em lâminas de microscopia. **Resultados:** a microscopia de fluorescência apresentou diferenças entre as células não transfectadas e as transfectadas com o plasmídeo pREGFP. Fluorescência discreta foi observada nas fibras cardíacas que receberam solução salina; entretanto, as células miocárdicas transfectadas com pREGFP apresentaram franca expressão da EGFP. **Conclusão:** o método proposto de transfecção com gene EGFP no miocárdio de cães normais é eficaz. Esperamos a reprodução dessa eficácia ao empregarmos o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) ao invés de EGFP, visando ao desenvolvimento da terapia gênica para a cardiopatia isquêmica, induzindo angiogênese através de injeções intramiocárdicas de plasmídios específicos.