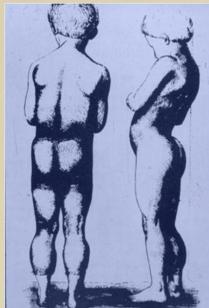


Dias, P.; Rapucci, L.H.; Minatel, E.

Departamento de Anatomia, Biologia Celular, Fisiologia e Biofísica; IB-UNICAMP

Palavras-chave: Camundongo *mdx* - N-Acetilcisteína - Deferoxamina - Degeneração Muscular



## INTRODUÇÃO

- A distrofia muscular de Duchenne (DMD), caracterizada pela falta da proteína distrofina, destaca-se como a mais comum e devastadora das distrofias musculares.  
- O conhecimento dos fenômenos biológicos envolvidos na DMD teve um grande avanço com o aparecimento da linhagem *mdx*, cujo gene afetado é homólogo aos dos pacientes com DMD.  
- Muitos trabalhos tem sugerido o envolvimento do estresse oxidativo na fisiopatologia das distrofias musculares.  
- Hipótese: verificar se a associação do antioxidante N-Acetilcisteína (NAC) com o quelante de ferro Deferoxamina (DFX) produz efeito benéfico sobre as fibras musculares distróficas.

## OBJETIVO

O objetivo do presente trabalho foi verificar se o tratamento com a associação NAC e DFX diminui a degeneração muscular em camundongos *mdx*.



## MATERIAIS E MÉTODOS

Camundongos das linhagens *mdx* com 14 dias de vida foram divididos em 4 grupos experimentais: *mdx* tratados com solução salina (grupo *mdxS*), *mdx* tratados com NAC e DFX (grupo *mdxND*), *mdx* tratados com NAC (grupo *mdxN*) e *mdx* tratados com DFX (grupo *mdxD*). Camundongo da linhagem C57BL/10 foram utilizados como controle.

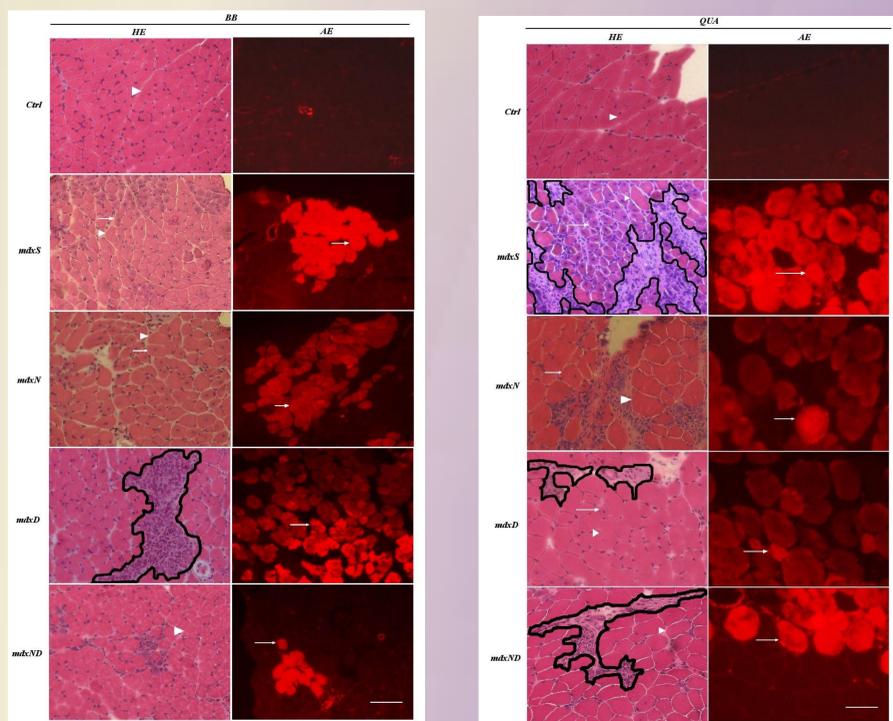
O tratamento (drogas e/ou salina) foi administrado por via intraperitoneal por 14 dias. Foi avaliada a medida de força muscular em todos os animais, no sétimo e no último dia do tratamento, com o auxílio de um aparelho conectado a um transdutor de força. Após o tratamento, amostras de sangue foram coletadas e utilizadas para determinar a atividade de creatina quinase (CK). Cortes congelados dos músculos quadríceps (QUA) e bíceps braquial (BB) foram utilizados para análise morfológica, na qual foi quantificada a porcentagem das áreas de inflamação/regeneração, o número de fibras em degeneração (positivas ao azul de Evans, AE), fibras regeneradas (presença de núcleo central) e fibras normais.



## RESULTADOS

### Análise Qualitativa

As fibras com núcleo periférico (fibras que não sofreram degeneração) apresentaram formato poligonal em justaposição com outras fibras de mesma característica (Fig. 1 e 2). Fibras regeneradas foram caracterizadas pelo núcleo centralizado, citoplasma eosinófilo e diâmetro próximo ao de uma fibra com núcleo periférico (Fig. 1 e 2). As fibras com alteração de permeabilidade ou em degeneração foram evidenciadas pela presença de azul de Evans no seu interior (Fig. 1 e 2). As áreas de inflamação/regeneração (Figuras 1 e 2) foram caracterizadas pela presença de fibras em estado inicial de regeneração, caracterizadas por pequenos miócitos fortemente basófilos com núcleo central entremeado por infiltrado inflamatório exuberante.

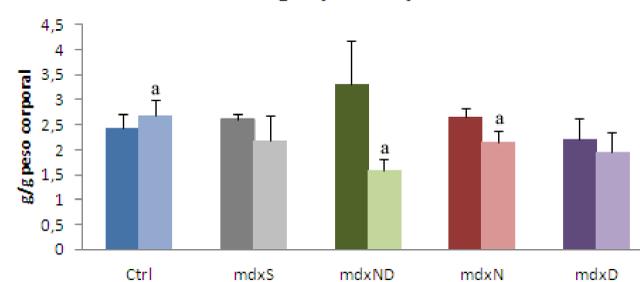


**Figuras 1 e 2.** Secções transversais dos músculos bíceps braquial (BB) e quadríceps (QUA), respectivamente. Em HE: área de inflamação/regeneração (área demarcada), fibras com núcleo periférico (cabeça de seta) e fibras com núcleo central (seta). Em AE: fibras marcadas (seta). Barra= 50 µm.

### Análise Quantitativa

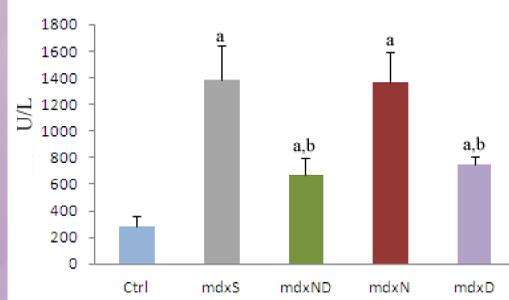
- O teste de força não apresentou diferença significativa entre os grupos experimentais analisados.  
- Os animais dos grupos *mdxND* e *mdxD* apresentaram redução significativa no nível de CK em relação aos animais do grupo *mdxS*.  
- O músculo QUA apresentou diminuição significativa na porcentagem de fibras em degeneração nos grupos *mdxND*, *mdxN* e *mdxD*; redução nas áreas de inflamação nos grupos *mdxND* e *mdxN*; e diminuição de fibras regeneradas no grupo *mdxND*, quando comparado ao grupo *mdxS*.  
- O músculo BB apresentou redução na porcentagem de fibras em degeneração no grupo *mdxND* em relação ao *mdxS*.

### Comparação do teste de força inicial e final entre os grupos experimentais



<sup>a</sup>Difere da força inicial no mesmo grupo. P ≤ 0.05; teste t de Student.

### Níveis séricos de Creatina Quinase



<sup>a</sup>Difere do Ctrl; <sup>b</sup>Difere do *mdxS*. P ≤ 0.05; teste t de Student.

**Tabela 1. Porcentagem de Inflamação/Regeneração (Infl/Reg%), núcleos centrais (NC%), núcleos periféricos (NP%) e fibras marcadas por AE (AE%)**

		Infl/Reg %	NC %	NP %	AE %
<b>Q</b>	Ctrl	0,41±0,08	0,27±0,07	99,73±0,07	0,00±0,00
	<i>mdxS</i>	9,13±2,86 <sup>a</sup>	14,81±5,96 <sup>a</sup>	81,14±6,03 <sup>a</sup>	4,04±0,93 <sup>a</sup>
	<i>mdxND</i>	2,82±1,24 <sup>a,b</sup>	6,86±4,11 <sup>a,b</sup>	92,56±4,30 <sup>a,b</sup>	0,58±0,40 <sup>b</sup>
	<i>mdxN</i>	7,37±1,96 <sup>a,b</sup>	9,19±6,89	87,99±7,84	0,03±0,03 <sup>b</sup>
	<i>mdxD</i>	5,85±2,27 <sup>a</sup>	9,21±2,01 <sup>a</sup>	89,32±1,50 <sup>a</sup>	1,46±0,90 <sup>a,b</sup>
<b>BB</b>	Ctrl	0,99±0,78	0,17±0,15 <sup>b</sup>	99,83±0,15 <sup>b</sup>	0,00±0,00 <sup>b</sup>
	<i>mdxS</i>	1,66±1,78	6,22±4,10	89,91±5,51	3,88±2,90
	<i>mdxND</i>	2,59±0,56	8,51±5,39 <sup>a</sup>	91,47±5,37	0,03±0,03 <sup>b</sup>
	<i>mdxN</i>	7,23±4,80 <sup>b</sup>	10,32±5,42 <sup>a</sup>	87,94±8,28 <sup>a</sup>	1,74±3,01
	<i>mdxD</i>	2,62±0,40 <sup>a</sup>	5,27±6,00	92,17±6,01 <sup>a</sup>	2,56±4,41

Valores são expressos como média ± desvio padrão (n=5 camundongos por grupo). <sup>a</sup>Difere do Ctrl; <sup>b</sup>Difere do *mdxS*. P ≤ 0.05; teste t de Student.

## CONCLUSÕES

Os músculos analisados apresentaram respostas diferentes ao tratamento. Possivelmente, por apresentarem diferenças na evolução e intensidade das lesões musculares. Em conjunto, os resultados sugerem que a associação do NAC com o DFX possa ser potencialmente útil para o tratamento da distrofia muscular.

APOIO: Bolsa SAE, CNPq