



# Complexo distrofina-glicoproteínas no envelhecimento do músculo cardíaco de camundongos *mdx*.



Apolinário, L.M., Pertille, A., Matsumura, C.Y., Taniguti, A.P.T., Santo Neto, H., Marques, M.J.  
DABCF, Unicamp, Campinas, SP

## Introdução

O complexo distrofina-glicoproteínas (CDG) tem papel na estabilidade da fibra muscular e na proteção a mionecrose. O músculo cardíaco de camundongos *mdx*, modelo experimental da distrofia muscular de Duchenne, apresenta alterações histopatológicas tardiamente, ao redor dos 8 meses de vida. Levantamos a hipótese de que proteínas do CDG poderiam diminuir durante o envelhecimento, no músculo cardíaco distrofico, explicando seu acometimento tardio.

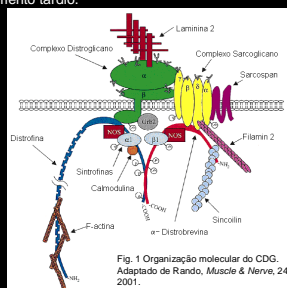


Fig. 1 Organização molecular do CDG. Adaptado de Rando, *Muscle & Nerve*, 24, 2001.

## Objetivo

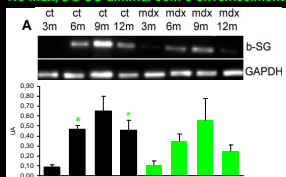
Verificar as alterações das proteínas do CDG no músculo cardíaco distrofico durante o envelhecimento.

## Materiais e Métodos

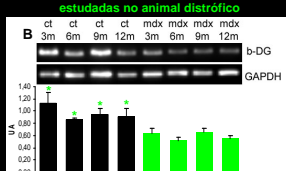
Foram utilizados camundongos *mdx* (n=5) com 3, 6, 9 e 12 meses de vida. Animais C57BL/10 (n=5) serviram de controle (ct). A técnica de imunoblot foi usada para quantificar a utrofina (Utr) e as proteínas do CDG, beta-sarcoglicana (b-SG) e beta-distroglicana (b-DG). Áreas de degeneração e fibrose foram evidenciadas pelas técnicas de azul de Evans e tricrômio de Masson e quantificadas por análise morfométrica.

## Resultados

### No *mdx*, a b-SG diminui com o envelhecimento



### A b-DG encontra-se reduzida em todas as idades estudadas no animal distrofico



### Não houve alteração dos níveis de Utr

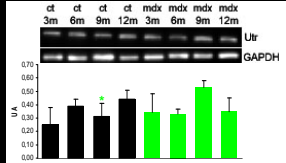


Fig. 2 Bandas imunoreativas de b-SG (A), b-DG (B) e Utr (C) de animais ct e *mdx* com idade de 3 a 12 meses e representação gráfica em unidade arbitrária (UA) da intensidade das bandas normalizadas pelo GAPDH (proteína controle).

### Histopatologia do músculo cardíaco

No animal controle idoso, observa-se aumento significativo da fibrose em relação ao jovem (3,6 x a mais do que no jovem).

No animal *mdx* idoso, o aumento da fibrose (3,3 x a mais do que no idoso controle) não é acompanhado de aumento da inflamação ou miocrose (azul de Evans).

Tabela 1. Quantificação das áreas de inflamação, fibrose e azul de Evans (AE) no músculo cardíaco de animais controle (ct) e distrofos (*mdx*), com idade de 3 meses (3m) e idoso (12m). Valores expressos em porcentagem da área total, média (m) e desvio padrão (d). \*Diferença significativa comparado ao animal de 3 m (p<0,05; Teste t de Student).

	Inflamação (%)	Fibrose (%)	AE (%)
ct 3m	0	0,254 ± 0,018	0
ct 12m	0	0,918 ± 0,262 *	0
<i>mdx</i> 3m	0,167 ± 0,24	0,489 ± 0,393	0,013 ± 0,018
<i>mdx</i> 12m	0,165 ± 0,112	3,017 ± 1,143 *	0,008 ± 0,011

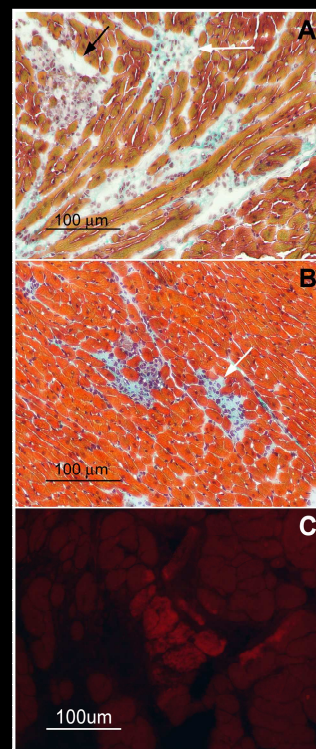


Fig.3 Músculo cardíaco de animais idosos, corado com tricrômio de Masson (A e B) e marcado com azul de Evans (C). Em A, exemplo de região de inflamação (seta escura) e de fibrose (seta clara). Em B, região de fibrose (seta clara). Em C, área marcada por azul de Evans.

## Conclusão

- No animal ct idoso, a fibrose não está correlacionada a diminuição das proteínas do CDG (b-SG e b-DG).
- No animal *mdx* jovem, a diminuição da b-DG não se relaciona ao aumento de fibrose nestes animais (*mdx* 3m x ct 3m).
- Estes dados sugerem que a diminuição das proteínas do CDG não piora, necessariamente, o quadro histopatológico da miopatia cardíaca no animal *mdx*.
- Se verdade, o aumento da fibrose cardíaca observado no *mdx* idoso se deve a outros fatores, que não a diminuição das proteínas do CDG, ou inflamação e miocrose.
- Níveis normais de Utr em todas as idades do animal distrofico sugerem que esta proteína parece não proteger o músculo cardíaco das alterações histopatológicas típicas do animal distrofico (fibrose), principalmente no envelhecimento.

## Abstract

**Introduction.** The dystrophin glycoprotein complex (DGC) plays a role in sarcolemma stability and protects the myofiber against myonecrosis. The cardiomyopathy occurs lately in the *mdx* mice, around 8 months-old. We hypothesized that the levels of some proteins of the DGC might decrease in aged mice.

**Objective.** Our aim was to verify changes in the levels of some DGC components.

**Methods.** Immunoblot was used to verify b-sarcoglycan (b-SG), b-dystroglycan (b-DG) and utrophin (Utr) levels. Masson's trichrome was performed to measure fibrosis and Evans blue dye (EBD) to measure myonecrosis in *mdx* (n=5) and C57BL/10 (n=5) of 3, 6, 9 and 12 months-old mice.

**Results.** The levels of b-SG and b-DG decreased. Utrophin levels did not change. The age-dependent increase in fibrosis was higher in *mdx* than in C57BL/10 mice. There was no difference in inflammatory and EBD areas between *mdx* and C57BL/10 mice in the aged mice.

**Conclusion.** The changes in the levels of b-SG, b-DG and utrophin do not necessarily correlate with increased fibrosis in the *mdx* cardiac muscle. The b-SG increase seen at 9 months-old was not enough to protect the heart from myonecrosis. The absence of dystrophin does not necessarily reduce DGC components during aging.

Apoio financeiro:

