

Matheus Bersan Rovere; Renato Ferretti; Paula Spanopoulos Pérez; Maria Julia Marques; Humberto Santo Neto

Contato: matheus.bersan@gmail.com

DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA ESTRUTURAL E FUNCIONAL, IB, UNICAMP, CAMPINAS/SP

Palavras Chave: Distrofia muscular de Duchenne - distrofina - gentamicina

Apoio financeiro:



INTRODUÇÃO

A distrofia muscular de Duchenne (DMD) é a mais comum das distrofinopatias, acometendo uma a cada 3500 crianças do sexo masculino (ENGEL et al., 1994). O sinal clínico mais evidente é a perda progressiva da força muscular, que se inicia nos membros inferiores, e leva o paciente à perda da deambulação por volta dos 10 anos de idade. Na segunda década de vida, o paciente portador de DMD vai a óbito por insuficiência cardiorrespiratória (ENGEL et al., 1994). Pacientes com DMD apresentam extensa necrose das fibras musculares, sendo uma das causas a instabilidade do sarcolema decorrente da ausência da proteína distrofina. O camundongo *mdx* é o modelo experimental da DMD mais estudado pois, apresenta mutação do gene da distrofina semelhante à ocorrida em humanos, é de fácil manuseio e baixo custo de manutenção.

OBJETIVOS

Verificar se, a gentamicina restaura a expressão de distrofina em fibras musculares desnervadas de camundongos *mdx*.

MATERIAIS E MÉTODOS

A expressão de distrofina foi avaliada pela técnica de imunofluorescência, em cortes congelados do músculo sóleo de animais C57BL/10 (controle) e de animais *mdx* tratados ou não com gentamicina (7 dias), após 2 semanas de desnervação e lesão muscular por xilocaína.

RESULTADOS

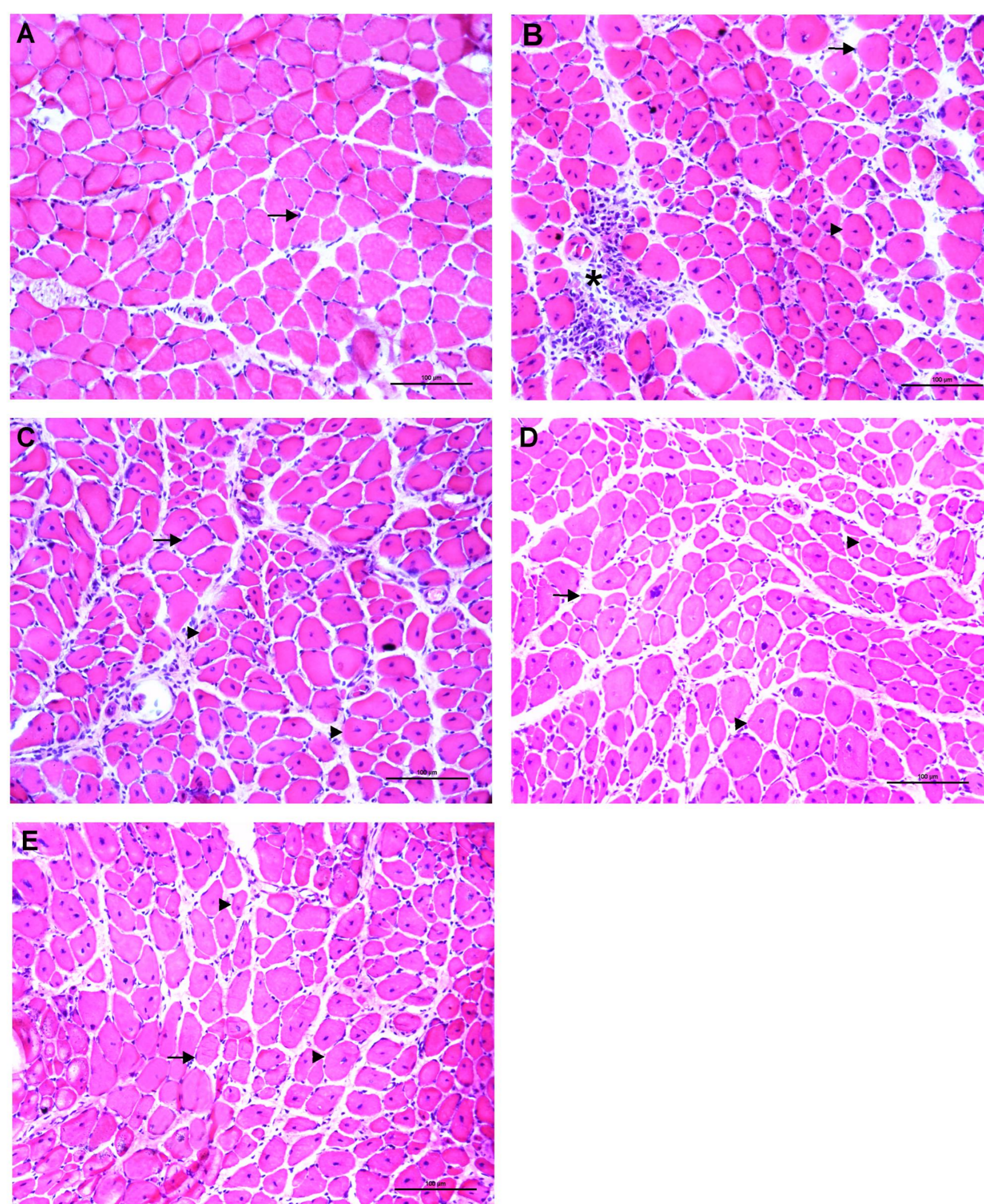


Figura 1: Cortes transversais de músculo sóleo. HE. A: animal controle C57BL/10. B: animal *mdx* não tratado. C: animal *mdx* desnervado. D: animal *mdx* desnervado + xilo. E: animal *mdx* desnervado + xilo + gentamicina. Setas: fibras com núcleo periférico. Cabeças de setas: fibras com núcleo central. Asterisco: área de inflamação. Escala: 100µm.

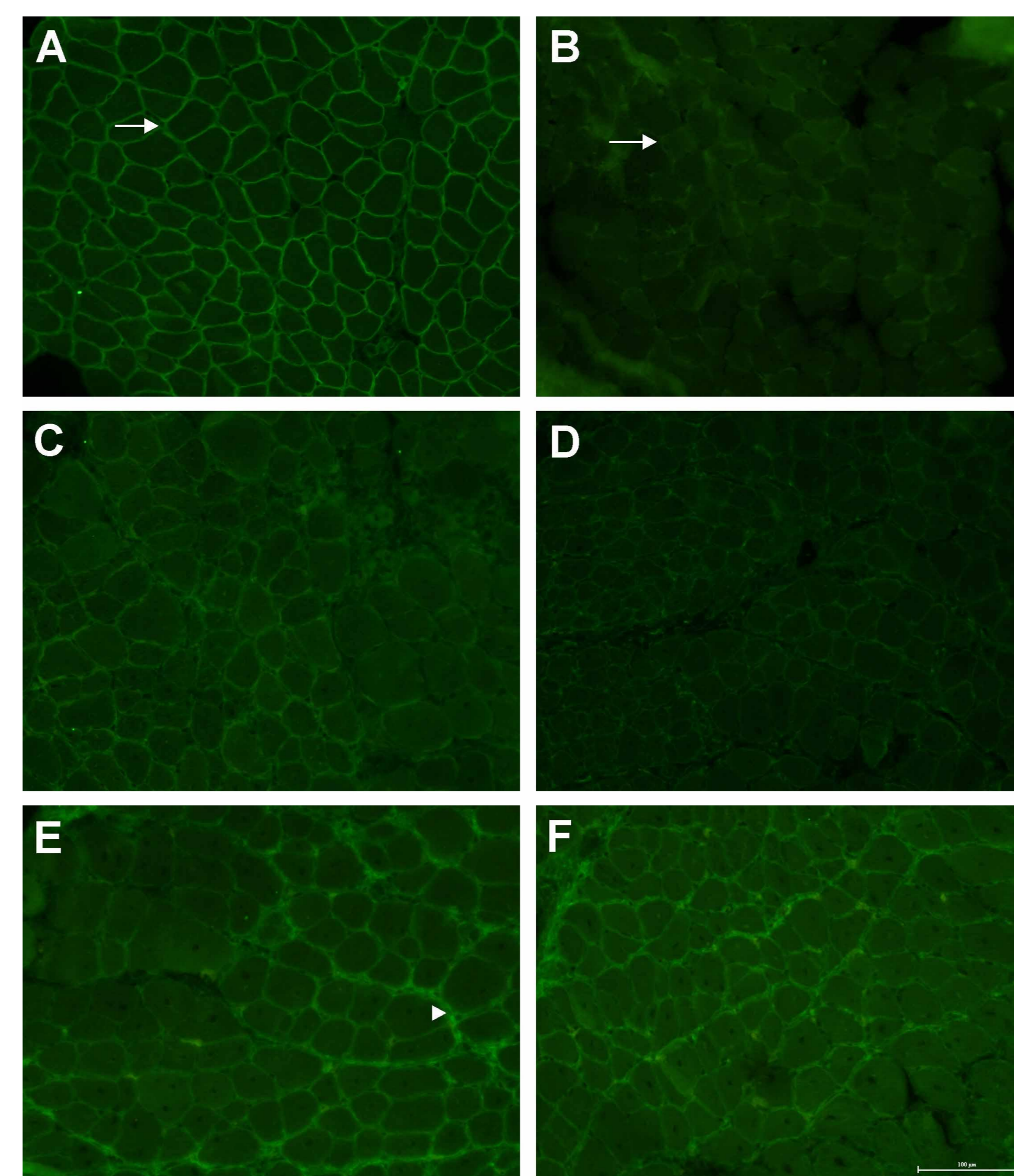


Figura 2: Cortes transversais do músculo sóleo. Imunofluorescência. A: animal controle C57BL/10. B: marcação com anticorpo secundário apenas. C: animal *mdx* não tratado. D: animal *mdx* desnervado. E: animal *mdx* desnervado + xilo. F: animal *mdx* desnervado + xilo + gentamicina. Setas: sarcolema das fibras musculares. Cabeça de seta: espaço extracelular. Escala: 100µm.

A análise histopatológica por hematoxilina e eosina (HE; Figura 1) do músculo sóleo mostrou regeneração muscular, caracterizada pela presença de fibras musculares com núcleos centrais, o que é esperado nos músculos distróficos.

Na análise da distrofina pela técnica de imunofluorescência observamos que músculos normais expressam a distrofina. A marcação da distrofina encontra-se no sarcolema, de acordo com sua localização no complexo distrofina-glicoproteínas da membrana.

Em músculos distróficos não é esperada a marcação da distrofina. Entretanto, tem sido relatada a presença de uma pequena porcentagem de fibras positivas a distrofina (menos de 1%), chamadas de fibras revertentes. As fibras musculares revertentes são reativas com anticorpos contra distrofina. Os mecanismos da reversão não são completamente elucidados, existindo algumas hipóteses, como a deleção do exon que contem a mutação. No presente trabalho, em todos os grupos de animais distróficos que sofreram os diferentes tratamentos, observamos marcação inespecífica no meio extracelular e não propriamente no sarcolema.

CONCLUSÃO

Neste estudo verificamos que a desnervação e a regeneração muscular induzida pela xilocaína não promoveram a restauração da distrofina pela gentamicina. Estudos futuros serão necessários para o melhor entendimento dos mecanismos de ação da gentamicina nas fibras distróficas.

REFERÊNCIA

ENGEL, A. G.; YAMAMOTO, M.; FISCHBECK, K. H. Muscular dystrophies. In: ENGEL, A. G.; FRANZINI-ARMSTRONG, C. **Myology**. New York: McGraw-Hill, v. 2, p. 1133-1187, 1994.