

Natália da Costa Pinheiro; Samara Camaçari de Carvalho; Cíntia Yuri Matsumura; Maria Julia Marques.
Contato: pinheiro8908@gmail.com

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

Apoio financeiro:  

Palavras Chave: Distrofia muscular de Duchenne - quadríceps - regeneração/ degeneração muscular - camundongo *mdx*

INTRODUÇÃO

A distrofia muscular de Duchenne (DMD) é a mais comum das distrofinopatias, acometendo uma em cada 3500 crianças nascidas vivas do sexo masculino (ENGEL et al., 1994). A DMD é causada por mutação no gene responsável pela expressão da proteína distrofina, cuja ausência em fibras musculares provoca instabilidade no sarcolema e degeneração muscular progressiva (GROUNDS et al., 2005). Pacientes com DMD apresentam perda progressiva da força muscular e vão a óbito por insuficiência cardiorrespiratória na segunda década de vida (ENGEL et al., 1994). Inúmeros estudos utilizam o músculo quadríceps do camundongo *mdx* por ser um dos mais susceptíveis a mionecrose (PUTTEN et al., 2010), mas pouco se sabe sobre a evolução da patologia neste músculo. Assim, no presente projeto estudamos o quadríceps de animais jovens (4 meses) e idosos (9 meses) quanto a duas características principais do músculo distrófico, inflamação e fibrose.

OBJETIVOS

1. Realizar análise histopatológica comparativa das diferentes partes do músculo quadríceps (reto femoral e conjunto de vastos) quanto à fibrose e área inflamatória.
2. Comparar as características histopatológicas de animais adultos e idosos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os músculos quadríceps dos camundongos controle C57BL/10 (n=10) e distróficos *mdx* (n=10) de 4 e 9 meses de idade foram retirados, pré-congelados em n-hexano (-90°C) e mantidos em nitrogênio líquido (-159°C). Em seguida foram seccionados no criostato e duas lâminas de cada músculo foram obtidas para coloração com HE (para análise da inflamação) e com Tricromico de Masson (TM; para análise da fibrose). A morfometria das áreas de inflamação e fibrose dos músculos foi realizada pelo programa Image Pro Express. A análise estatística foi realizada pela aplicação do teste-t de Student, com significância de $p < 0,05$ entre os grupos experimentais.

RESULTADOS

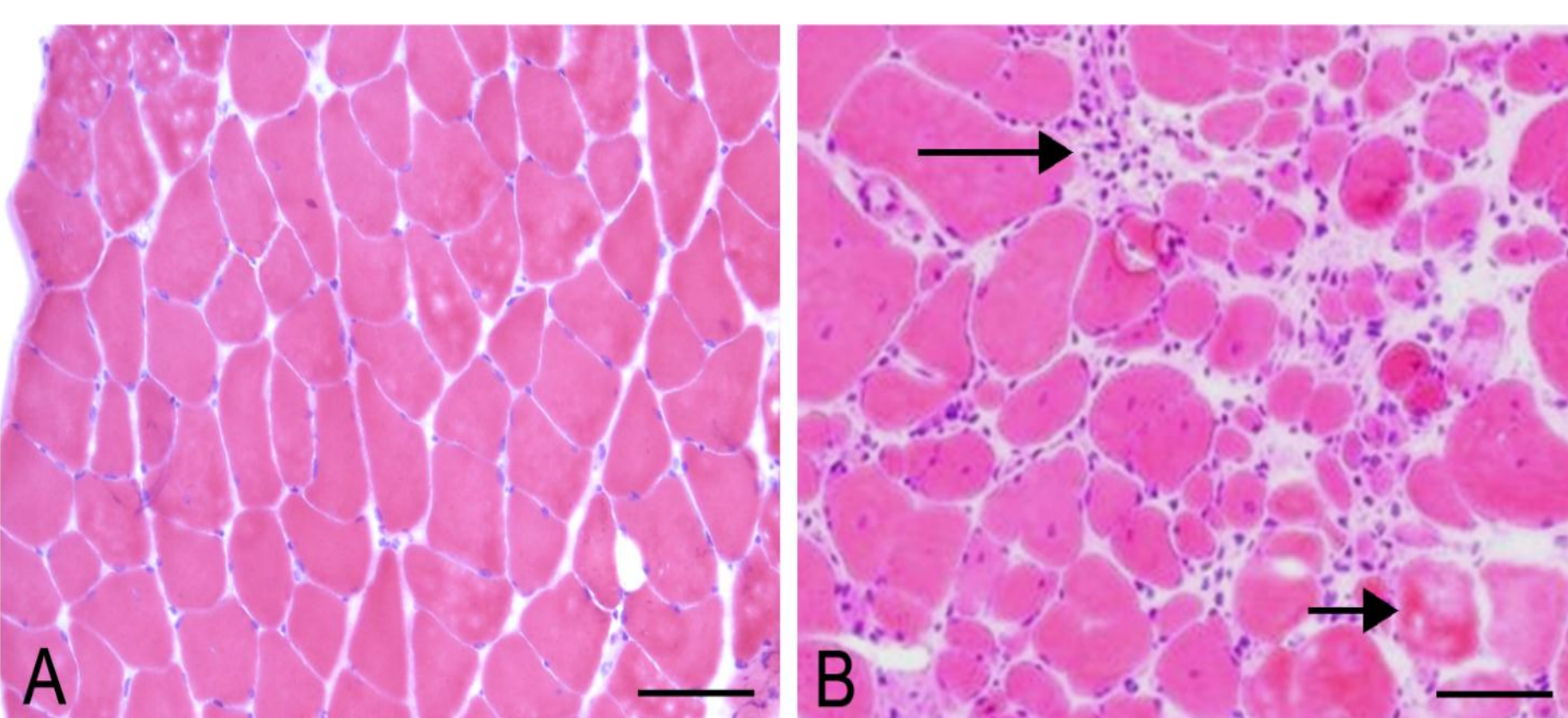


Figura 1: Cortes transversais do conjunto de vastos do animal controle (A) e *mdx* (B). Quatro meses de idade. Em A, nota-se ausência de infiltrado inflamatório, presença de fibras poligonais com diâmetro homogêneo e núcleo periférico. Em B, áreas de inflamação (seta longa) e fibras em processo de degeneração (seta curta), com diferentes diâmetros e com núcleo central, indicativo de processo de degeneração/regeneração. HE. Barra: 100 μ m.

REFERÊNCIAS

1. Bani, C.; Lagrota-Candido, J.; Pinheiro, D.F.; Leite, P.E. C.; Salimena, M. C.; Henriques-Pons, A.; Quirico-Santos, T. Pattern of metalloprotease activity and myofiber regeneration in skeletal muscle of *mdx* mice. *Muscle Nerve*, v.37, p.583-592, 2008.
2. 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.
3. GROUNDS, M.D.; SOROKIN, L.; WHITE, J. Strength at the extracellular matrix-muscle interface. *Scandinavian J Med Sci Sports*, v. 15, p. 381-391, 2005.
4. Matsumura, C.Y.; Taniguti, A.P.T.; Pertille, A.; Santo Neto, H.; Marques, M.J. Stretch-activated calcium channel protein TRPC1 is correlated with the different degrees of the dystrophic phenotype in *mdx* mice. *Am J Physiol Cell Physiol*, v. 301, p. C1344-C1350, 2011.
5. PUTTEN, M.; WINTER, C.; ROON-MOM, W.; OMMEN, G.; HOEN, P.A.C. AARTSMA-RUS. A months mild functional test regime does not affect disease parameters in young *mdx* mice. *Neuromuscul Disord* v. 20, p. 273-280, 2010.

Área de inflamação (%) do músculo quadríceps em jovens e idosos

Idade	4 meses		9 meses	
Animais	<i>mdx</i>	C57BL/10	<i>mdx</i>	C57BL/10
Média	4,01	0	1,56	0
Desvio Padrão	1,50	0	0,86	0

Tabela 1: Área de inflamação do músculo quadríceps de animais distróficos *mdx* e controle C57BL/10, com 4 e 9 meses de idade, expressa em %. Observar que, em ambas idades, uma porcentagem relativamente pequena do músculo quadríceps do *mdx* é acometida por processo inflamatório. Os animais jovens apresentam área de inflamação maior que os animais idosos, apesar da diferença não ser estatisticamente significativa ($p > 0,05$; teste t de Student).

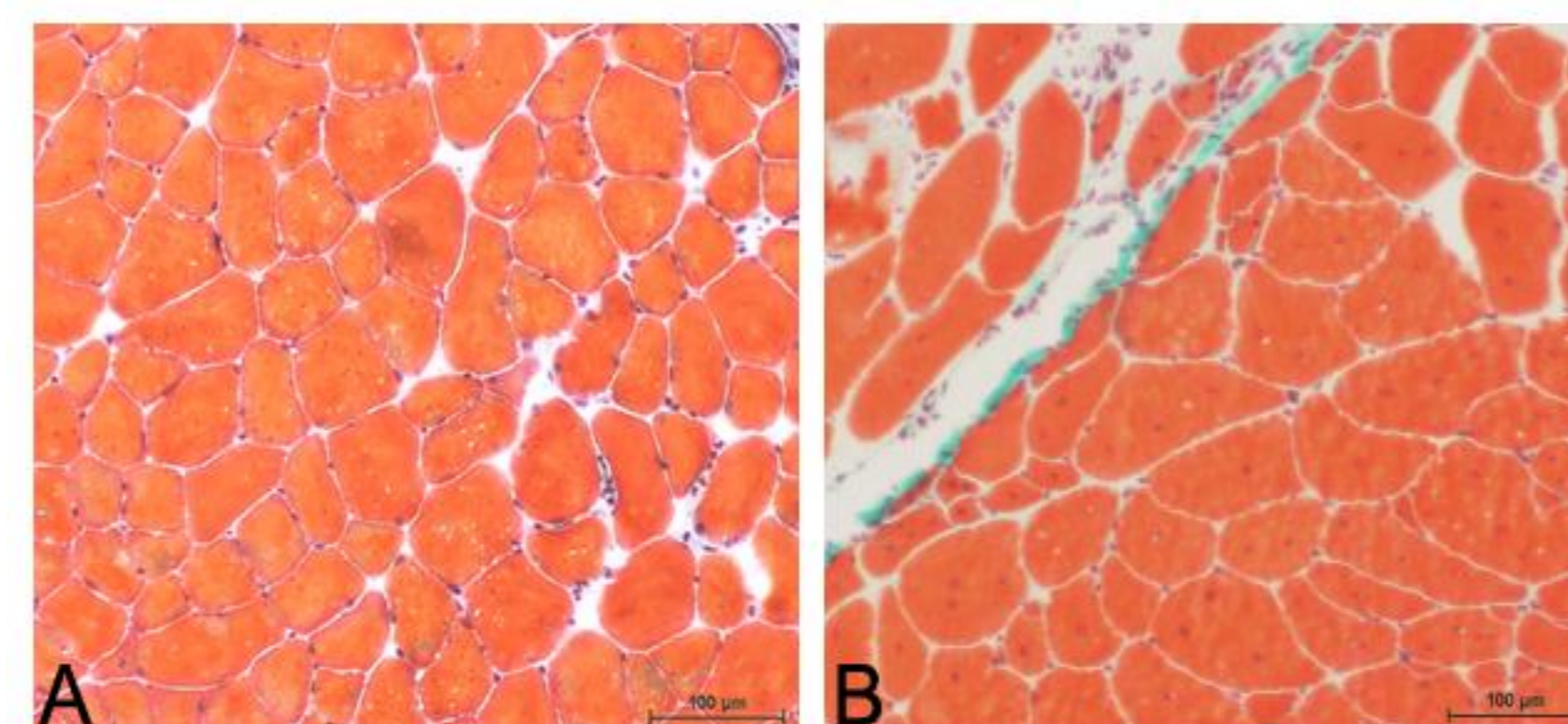


Figura 2. Cortes transversais do quadríceps de controle C57BL/10 (A) e de *mdx* (B), com 4 meses de idade. A ausência de coloração verde indica que não há fibrose entre as fibras musculares de ambos os animais. Em B, notar fibras com núcleo central, indicativo de fibras regeneradas. Tricrômico de Masson.

DISCUSSÃO

Observamos que a melhor maneira para análise do quadríceps é avaliar o músculo como um todo e não suas partes (o que havíamos pensado anteriormente visto as dificuldades de congelamento). Considerando-se a inflamação, verificamos que cerca de 5% do quadríceps distrófico jovem apresenta processo inflamatório (evidenciado pelo HE). O envelhecimento não piorou este quadro, pelo contrário, parece ter diminuído. De acordo com nossas observações, o músculo mais afetado, o diafragma, apresenta área de inflamação em torno de 7 a 10%, a partir dos 4 meses de idade. O mesmo é observado para o bíceps braquial. Já o tibial anterior apresenta níveis de inflamação semelhantes ao quadríceps. Isto sugere que os músculos dos membros posteriores, devido a diferenças funcionais (MATSUMURA et al.; 2011) ou de tipagem de fibras (BANI et al.; 2008), possam ser menos afetados que os dos membros anteriores. Aparentemente, há pouca fibrose no quadríceps de animais distróficos jovens. Entretanto, estudos feitos no laboratório mostram que nos músculos dos *mdx* idosos (9 meses), a área de fibrose aumenta significativamente, se comparada a observada aos 4 meses de idade. Entretanto, deve-se ressaltar que cerca de 90% das fibras do quadríceps estão regeneradas (dados obtidos no laboratório), sugerindo que o estudo do músculo quadríceps de animais *mdx* fornece dados para melhor entendimento da regeneração muscular.