

STUDIES ON THE COLLAGEN IN TENDONS
FROM HUMAN SUPRASPINAL MUSCLE
(ESTUDO DO COLÁGENO EM TENDÕES DO
MÚSCULO SUPRASPINAL HUMANO)

W. R. TEODORO; J. D'A. GREVE*, L. M. TAKAYAMA & M. D. GOMES

Disciplina de Reumatologia, Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina,
Universidade de São Paulo, Caixa Postal 2921, 01051 São Paulo, SP, Brasil *Medicina Física
e Reabilitação, Instituto de Ortopedia e Traumatologia, Hospital das Clínicas,
Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil

Não é preciso encarecer a importância da extração e tipagem do colágeno em tendão. Segmentos específicos das cadeias do colágeno, como por exemplo na influência da estabilização da tripla hélice, têm significância funcional importante. As proteínas colágenas e proteoglicanos sintetizados oferecem resistência à compressão e à deformação ao tecido.

A matriz nos tendões é constituída de malha de fibrilas de colágeno embebidas em gel viscoso composto de proteoglicanos e água. O conhecimento dessa estrutura extracelular representa atualmente um desafio na biologia celular. Os fatores que regulam o assentamento *in vivo* das fibrilas e o papel que cada um dos seus constituintes desempenham, são as questões a serem desvendadas. Nosso objetivo foi pesquisar um método reprodutivo que se prestasse a este fim.

Por esta razão utilizamos a extração e tipagem do colágeno, a fim de identificar a disposição das cadeias de colágeno em tendão humano.

MATERIAIS E MÉTODOS

Utilizamos tendões provenientes de cadáveres com 18, 75 e 69 anos, com 12 h *post mortem*, através de uma incisão anterior no ombro a partir do arco acromial em direção caudal. Os tendões foram picados, homogenizados em politron, lavados com salina por 24 h e posteriormente lavados exaustivamente com uma solução contendo EDTA 0.02M mais proteases. O homogenato foi liofilizado à -52°C durante 24 h. A amostra obtida após liofilização foi pesada e submetida a uma digestão com pepsina 1:10 segundo Rhodes & Miller (1978).

As amostras foram posteriormente centrifugadas e ao sobrenadante foi adicionado NaCl até a

concentração de 2M e assim sucessivamente através da técnica precipitação seqüencial fracional salina.

O precipitado foi dializado contra ácido 0.5M e os precipitados foram analisados através de eletroforese em gel poliacrilamina 7,5% segundo Swarnk & Munkres (1971).

Finalmente as amostras foram quantificadas através de densitômetro.

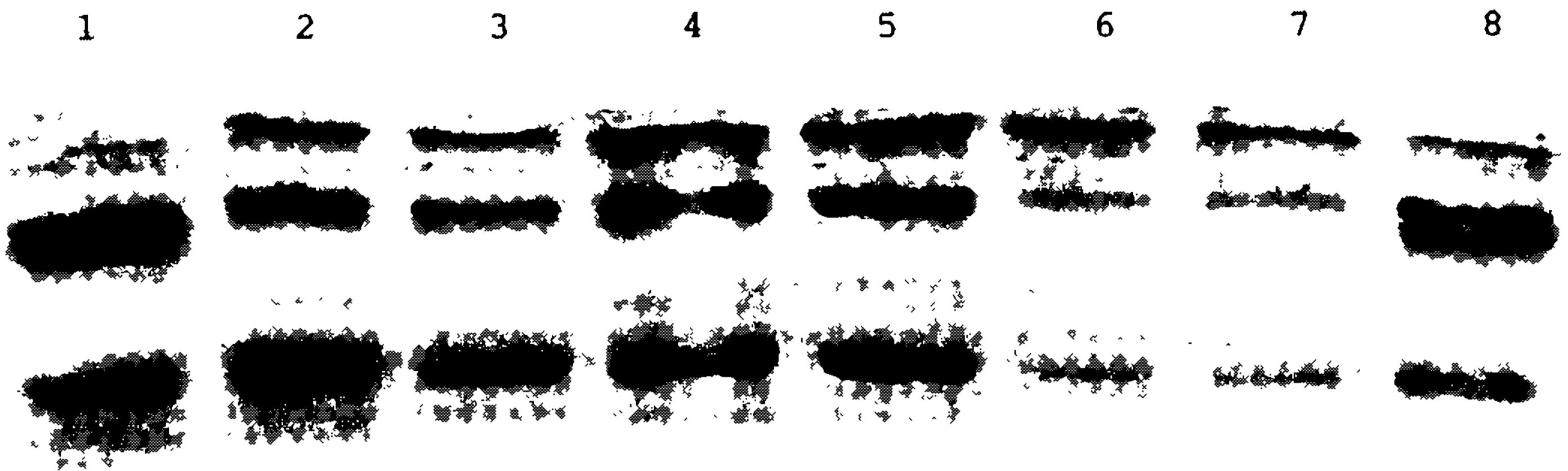
RESULTADOS

O material proveniente da extração de colágeno foi submetido a eletroforese em gel de poliacrilamida 7,5% em presença de SDS, mostrando bandas de cadeia de colágeno tipo I (Fig.) bem caracterizado através de um padrão obtido de cauda de rato. Nos tendões do músculo supraspinal humano apareceram as mesmas bandas caracterizadas como β , $\alpha 1$, $\alpha 2$ do colágeno I. Foi observada uma diferença qualitativa entre os pacientes jovens (Bandas 4 e 5 da Fig.) e idosos (Bandas 2, 3, 6 e 7 da Fig.), quanto ao tipo de colágeno nas bandas que foi o mesmo.

DISCUSSÃO

Observamos que os tendões músculo do supraspinal humano, têm perfil eletroforético do colágeno I, utilizando colágeno tipo I de rato como padrão.

As cadeias I e II estão bem delimitadas, tanto no tendão humano de 18 anos como no de 69 e 75, e parecendo existir uma diferença correspondente na quantidade. Portanto concluímos que a metodologia de extração de colágeno do tendão do músculo supraspinal humano é somente colágeno I.



Eletoforese em gel de poliacrilamida 7,5% em presença de SDS. Bandas 1 e 8: padrão de colágeno tipo I de rato mostrando as cadeias β , $\alpha 1$ e $\alpha 2$. Bandas, 2, 3, 6 e 7: colágeno de tendão de músculo supra-espinal humano com 69 e 75 anos respectivamente. Bandas 4 e 5: colágeno de tendão do músculo supra-espinal humano controle com 18 anos.

É provada a queda do teor de colágeno no envelhecimento, o que explica a redução da resistência e da força física, pois as estruturas se tornam mais frágeis.

Partindo deste fato se discute o perfil e o tipo de colágeno envolvido nesse processo. A investigação através de eletroforese e extração deste colágeno nos permitiu comparar o teor de colágeno em tendões de diversas idades confirmando o fato acima citado.

AGRADECIMENTO

As Sras. Yukie Umeki e Marta J. P. Caggiano pela assistência prestada na Secretaria Científica.

REFERÊNCIAS

- DESMET, L. et al., 1987. Impending rupture of the extensor pollicis longus tendon after an undisplaced fracture of the lower end of radius. *Acta Orthop. Belg.*, 53: 512-3.
- NESSLER, J. P., et al., 1987. Apr. Direct - current electrical stimulation of tendon healing *in vitro*. *Clin. Orthop.*, 53: 303-12.
- SHERLOCK, D. A., 1988. Bilateral spontaneous concurrent rupture of the patellar tendon in the absence of associated local or systemic disease. *Clin. Orthop.*, 237: 179-83.
- FURUTO, D. K. & MILLER, E. J., 1980. Isolation of a unique collagenous fraction from limited pepsin digests of human placental tissue. *J. Biol. Chem.*, 255: 290-295.
- PIKKARALNEN, J., 1968. The molecular structures of vertebrate skin collagens. *Acta Physiol. Scand.*, 309: 1-31.