ALIDA ABATEMARCO CATELLI

**Alterações do tubo digestório de cães da raça
Golden Retriever afetados pela
distrofia muscular**

**São Paulo
2006**

ALIDA ABATEMARCO CATELLI

**Alterações do tubo digestório de cães da raça Golden Retriever afetados pela
distrofia muscular**

Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Anatomia dos
Animais Domésticos e Silvestres da
Faculdade de Medicina Veterinária e
Zootecnia da Universidade de São
Paulo, para obtenção do título de
Mestre em Ciências

Departamento:
Cirurgia

Área de concentração:
Anatomia dos Animais Domésticos e
Silvestres

Orientador:
Profa. Dra. Maria Angélica Miglino

São Paulo
2006

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.1745
FMVZ

Catelli, Alida Abatemarco

Alterações do tubo digestório de cães da raça Golden Retriever afetados pela distrofia muscular / Alida Abatemarco Catelli. – São Paulo: A. A. Catelli, 2006.
113f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Cirurgia, 2006.

Programa de Pós-graduação: Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres.

Área de concentração: Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres.

Orientador: Profa. Dra. Maria Angélica Miglino.

1. GRMD. 2. Distrofia muscular. 3. Morfologia tubo digestório canino.
4. Disfagia. I. Título.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Comissão Bioética

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Como a distrofia muscular do modelo experimental canino Golden Retriever afeta o tubo digestório", protocolado sob o nº901/2006, utilizando 11 (onze) cães, sob a responsabilidade da Profa. Dra. Maria Angélica Miglino, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião do dia 17/05/2006.

(We certify that the Research "How the muscular dystrophy on the Golden Retriever canine experimental model affects the digestory tube", protocol number 901/2006, utilizing 11 (eleven) dogs, under the responsibility of Profa. Dra. Maria Angélica Miglino, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Bioethic Commission of the Faculty of Veterinary Medicine and Zootechny of University of São Paulo and was approved in the meeting on the 17th of May of 2006).

São Paulo, 18 de maio de 2006

Prof. Dra. Denise Tabacchi Fantoni
Vice-Presidente da Comissão de Bioética
FMVZ/USP

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: CATELLI, Alida Abatemarco

Título: Alterações do tubo digestório de cães da raça Golden Retriever afetados pela distrofia muscular

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Ciências

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof.Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura _____ Julgamento: _____

Prof.Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura _____ Julgamento: _____

Prof.Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura _____ Julgamento: _____

Dedico este trabalho a todos os animais da colônia GRMD Brasil, em especial para Hércules, que representou para mim toda a força e vontade de vencer a doença, mesmo que inconsciente, nos surpreendendo a cada dia, retribuindo com seu olhar grato a todos nossos esforços, mostrando o quanto vale a pena nosso trabalho.

Ao Gael (in memoriam)

À minha valiosa família: Gianluca, Valéria, Vittória e Renato

AGRADECIMENTOS

À Profa Dra Maria Angélica Miglino pelo seu depósito de confiança em mim.

Ao Prof. Dr. Carlos Eduardo Ambrósio, pela confiança de me ceder oportunidades para exercer a tão importante liderança, grande lição que levarei deste período.

À Profa Dra Ana Flávia de Carvalho, por mostrar-me o começo do caminho...

Ao Prof. Dr. Francisco Javier Hernandez- Blasquez por todas as alternativas para o caminho, onde aprendi com acertos e erros.

Aos técnicos dos laboratórios, em especial, Diogo e Sandra, pelo carinho com que fui recebida e orientada, mostrando como é linda a ciência da histologia.

Ao Cauê, Maicon e Jaqueline, pela santa paciência, sempre...

À colega da Patologia, Lu, pela colaboração.

À amiga Martinha, pelo convite de ingresso no canil, aquelas coisas que caem do céu, não sabemos por onde, mas compreendemos que tinham de acontecer.

A todos os amigos do canil, pelos muitos momentos de companheirismo!

Aos alunos de graduação Cláudia, Felipe, Cleber, Leandro, Priscila, Julia, Adriana, Pedro, pela grande ajuda, tornando os plantões muito agradáveis.

A todos os alunos que tiveram a paciência de assistir minhas explanações nas aulas, no canil, nos corredores. A pós graduação despertou-me a vontade de ensinar a Medicina Veterinária.

Ao Augusto, pela tranquilidade e dedicação motivante, certamente um anjo da guarda desses cães.

Aos animais Jhonny, Atchim, Nyx e Hy, pela passagem aqui conosco, estejam com Deus.

Aos amigos Thaís e Alex, especiais amigos desde o primeiro dia...

Aos meus pais, Valéria e Gian, pelo apoio incondicional, sempre.

Ao meu namorado, Renato, pelo companheirismo em todos os momentos. Obrigada por ter e cuidar do meu coração com tanto carinho...

A Deus, sempre iluminando meu caminho e mostrando os belos segredos da vida.

RESUMO

CATELLI, A. A. **Alterações do tubo digestório de cães da raça Golden Retriever afetados pela distrofia muscular.** [Alterations of digestory tube in the Golden Retriever dogs affecteds by muscular dystrophy]. 2006. 113 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

O modelo experimental canino Golden Retriever portador da Distrofia Muscular (GRMD) é o melhor substituto entre os modelos animais para estudar a Distrofia Muscular de Duchenne. Os principais sinais clínicos observados no cão afetado são disfagia, hipertrofia da língua, emagrecimento progressivo, fraqueza muscular, desvio de eixo dos membros e contraturas. A doença é determinada pela ausência da distrofina, uma proteína da membrana muscular, que tem papel vital na manutenção da estrutura e função da célula muscular. A GRMD não afeta apenas a musculatura estriada esquelética, podendo afetar inclusive o funcionamento do trato digestório, já que o músculo liso é o elemento primário dos órgãos tubulares. Objetivou-se neste trabalho, através do estudo morfológico, verificar se a distrofia muscular afeta a arquitetura geral do trato digestório e como está disposta sua estrutura muscular. Foram realizadas avaliações descritivas macroscópicas e microscópicas ópticas com colorações de Hematoxilina-Eosina, Tricrômio de Masson e Picrosirius. Em conjunto, nove cães GRMD afetados foram submetidos à avaliação da implantação de um novo manejo alimentar, num período de um ano, direcionado à correção dos problemas envolvidos na disfagia do cão distrófico. O esôfago e o estômago apresentaram-se como as porções mais afetadas do tubo digestório. Suas fibras musculares apresentavam-se com diâmetros variados e estavam entremeadas com abundante deposição de tecido conjuntivo, fibroblastos e infiltrado mononuclear com distribuição intersticial. O esôfago apresentou alterações muito severas, refletindo na sua funcionalidade, e levando ao megaesôfago secundário, devido à

constituição por músculo estriado em toda a totalidade. O intestino não apresentou alterações histopatológicas significativas. Observou-se diferença de severidade entre lesões que ocorrem na musculatura estriada e na musculatura lisa, que pode ser devido à distribuição distinta do complexo distrofina-glicoproteína existentes nesses dois tipos de musculaturas. Desta forma, a ausência da proteína distrofina tende a ser menos crítica para a função muscular lisa no intestino, tal como é para o músculo esquelético. A musculatura lisa do estômago apresentava-se mais afetada que a do intestino, podendo ser explicado pelo fato do primeiro sofrer maiores ciclos de contrações e distensões, o que pode resultar em aumento de área de colágeno no tecido muscular e conseqüente perda de sua arquitetura. No cão afetado GRMD, a apreensão é uma fase crítica. Houve significativas respostas na implantação do novo manejo alimentar, quando aquela etapa foi substituída por auxílio humano. Assim a regurgitação mecânica tendeu a zero e pareceu diminuir o gasto energético excessivo. O modo como foram oferecidos o alimento e água preveniu o aparecimento de pneumonias por aspiração. A quantidade de água adicionada ao alimento seco foi suficiente para manter os animais hidratados. O manejo atual determinou manutenção dos pesos, ausência de desidratação clínica e ausência de óbitos, sendo assim indicado como manejo base a ser aplicado para a disfagia e megaesôfago adquirido secundário a distrofia muscular. Conclui-se que o manejo adequadamente direcionado torna-se especialmente importante para prevenir complicações e reflete em manutenção de equilíbrio e fortalecimento do sistema imune, e conseqüentemente, suporte perante a doença, proporcionando uma sobrevida com qualidade.

Palavras-chave: GRMD. Distrofia Muscular. Morfologia tubo digestório canino. Disfagia.

ABSTRACT

CATELLI, A. A. **Alterations of digestory tube in the Golden Retriever dogs affecteds by muscular dystrophy**. [Alterações do tubo digestório de cães da raça Golden Retriever afetados pela distrofia muscular]. 2006. 113 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

The experimental dog model Golden Retriever affected by muscular dystrophy (GRMD) is the most appropriate substitute among animal models to study Duchenne Muscular Dystrophy. The main clinical signs observed in affected dogs are dysfagy, tongue hypertrophy, progressive weight loss, weakness, splaying of the limbs and contractures. The disease is due to the absence of dystrophin, a transmembrane muscle protein, which has a vital role on the maintenance of structure and function of the muscle cell. GRMD doesn't affect only skeletal muscle, also acted including in the digestory tract function, since the smooth muscle corresponds to0 the primary component of the digestive tube. The aim of this study was to evaluate, through of morphologic studies, if the muscular dystrophy affects the general architecture of digestory tract and how is arranged its muscular structure. There were evaluated the tubular viscera of GRMD affected dogs, through gross and light microscopic description, stained with Hematoxilin and Eosin, Masson trichrome and Picrossirus technique. Jointly, nine GRMD affected dogs were submitted on evaluation of the establishment of a new alimentary management, during a year, directed to the correction of problems involved on the dysphagy of dystrophic dog. The esophagus and the stomach presented the most affected portions. Muscle fibers presents varied diameter and were intermixed with abundant connective tissue, fibroblast and mononuclear infiltrate. The esophagus presents severe alterations, reflecting on its functionability, and leading to secondary megaesophagus, due to total constitution of striated muscle. The gut doesn't presented significative histopathologic alterations.

There was observed difference of severity between lesions that occurs on the striated muscle and the smooth muscle, and this fact could be due to the distinct distribution of the dystrophin-glycoprotein complex that occurs in these types of muscles. In this way, the absence of dystrophin was inclined to be less critical to the function of the intestine smooth muscle than of the skeletal striated muscle. The stomach smooth muscle presented more affected than the intestine smooth muscle, being explained to the fact of the first to suffer more contraction and distention cycles, which results in increase of collagen area on the muscle tissue and consequently, loss of its architecture. On the GRMD affected dog, the apprehension is a critical phase. There were significative answers on new management, since those phases was substituted by human relief. The mechanic regurgitation was inclined to zero and seems to decrease the excessive energetic caloric burned. The way which was offered the food and water warned the occurrences of aspiration pneumonia. The amount of water added to dry food was enough to hidric maintenance. The present management determined weight maintenance, absence of clinic dehydration and absence of death, being indicated as basal management to be applied on the dysphagy and secondary megaesophagus acquired in the muscular dystrophy. Concluding, the management adequately directed became especially important to warn complications and reflects on maintenance of the balance and strength of immune system, consequently, support in front of the disease, given then life with quality.

Key words: GRMD. Muscular Dystrophy. Canine digestory tube morphology. Dysfagy.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	REVISÃO DE LITERATURA	19
2.1	CONSIDERAÇÕES ACERCA DO PERFIL DA DISTROFIA MUSCULAR DO GOLDEN RETRIEVER (GRMD) E DA DISTROFIA MUSCULAR DE DUCHENNE (DMD).....	19
2.2	CONSIDERAÇÕES ACERCA DAS ESTRATÉGIAS TERAPÊUTICAS	25
2.3	A DISTROFIA MUSCULAR E O TRATO DIGESTÓRIO	26
2.3.1	Alterações comuns do trato digestório na GRMD e na DMD	29
2.3.1.1	Disfagia	29
2.3.1.2	Alterações esofágicas	31
2.3.1.3	Alterações Gastrointestinais	33
2.4	ANATOMIA DO TRATO DIGESTÓRIO CANINO.....	36
2.4.1	Anatomia Microscópica	36
2.4.2	Anatomia Sintópica do trato digestório	43
2.5	CONSIDERAÇÕES ACERCA DO PROCESSO INFLAMATÓRIO E REGENERATIVO	46
3	MATERIAIS E MÉTODOS	49
3.1	AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA E MICROSCÓPICA	49
3.1.1	Delineamento Experimental	50
3.1.2	Necropsia e Coleta	51
3.1.2.1	Necropsia	51
3.1.2.2	Coleta	52
3.1.2.3	Fixação	52
3.1.3	Processamento Histológico	53

3.1.3.1	Inclusão	53
3.1.3.2	Preparação das Lâminas	54
3.1.3.3	Colorações	54
3.1.3.3.1	Hematoxilina – Eosina	54
3.1.3.3.2	Tricrômio de Masson	55
3.1.3.3.3	Picrosirius- Van Guienon	57
3.1.4	Material Fotográfico	58
3.2	AVALIAÇÃO DE IMPLANTAÇÃO DE MANEJO ALIMENTAR APLICADO A DISFAGIA DO CÃO DISTRÓFICO.....	58
3.2.1	Delineamento Experimental	58
4	RESULTADOS	61
4.1	DESCRIÇÃO MACROSCÓPICA.....	61
4.2	DESCRIÇÃO MICROSCÓPICA.....	69
4.2.1	Camada Mucosa	69
4.2.1.1	Revestimento Epitelial	69
4.2.1.2	Lâmina Própria	70
4.2.1.3	Camada Muscular da Mucosa	71
4.2.2	Camada Submucosa	72
4.2.3	Camada Muscular	76
4.2.4	Camada Serosa	78
4.3	AVALIAÇÃO DE IMPLANTAÇÃO DE MANEJO ALIMENTAR APLICADO A DISFAGIA DO CÃO DISTRÓFICO.....	87
5	DISCUSSÃO	90
5.1	AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA E MICROSCÓPICA.....	90
5.2	AVALIAÇÃO DE IMPLANTAÇÃO DE MANEJO ALIMENTAR APLICADO A DISFAGIA DO CÃO DISTRÓFICO.....	96

6	CONCLUSÕES	103
	REFERÊNCIAS	107

1 INTRODUÇÃO

O Centro de Estudos do Genoma Humano tem como uma das principais doenças genéticas pesquisadas, a Distrofia Muscular de Duchenne (DMD). Conta com uma colônia do modelo experimental canino, que se apresenta como o mais apropriado substituto, entre os modelos animais, devido a sua extensiva homologia de patogenicidade com a Distrofia Muscular de Duchenne Humana.

Essa doença genética afeta primariamente meninos, com a incidência alta de 1 a cada 3500 nascimentos, e é caracterizada pela ausência da distrofina, uma proteína da membrana muscular, que tem papel vital na manutenção da estrutura e função da célula muscular. Assim, uma severa atrofia muscular generalizada, comumente, leva o jovem indivíduo a óbito antes deste atingir sua maturidade.

A doença manifesta-se similarmente no cão e os principais sinais clínicos observados são disfagia, hipertrofia da língua, emagrecimento progressivo, fraqueza muscular, desvio de eixo dos membros e contraturas. Visto que a degeneração é progressiva, a nutrição adequada exerce papel significativo na manutenção da sobrevivência desses animais. Para isso, um manejo adequado deve ser estabelecido a fim de otimizar ao máximo o aproveitamento dos nutrientes, desde a apreensão, mastigação e deglutição, até a digestão e absorção.

A distrofia muscular pode afetar significativamente o funcionamento do trato digestório já que o músculo liso é o elemento primário dos órgãos tubulares.

As descrições clínicas acabam focando principalmente a degeneração musculoesquelética, e outras manifestações acabam ficando omitidas, como as manifestações do trato digestório.

Diante do exposto, através do estudo morfológico das vísceras tubulares intestinais, espera-se responder perguntas acerca da existência de alterações patologicamente significativas que afetariam a eficiência da passagem do alimento através do tubo digestório do modelo canino afetado por distrofia muscular.

Pretende-se verificar como está disposta a estrutura muscular das vísceras tubulares digestivas, e se a distrofia muscular afeta a arquitetura geral do trato digestório, de modo a interferir na função do sistema.

Enfim, o objetivo desta pesquisa é buscar resultados que otimizem e direcionem o manejo nutricional, a fim de estabelecer, localizar e resolver possíveis problemas pontuais no manejo nutricional dos cães da colônia GRMD Brasil. A finalidade maior desta investigação é a de descobrir caminhos para proporcionar uma vida com qualidade para esses cães que servem para um valioso projeto de pesquisa, o qual visa o tratamento da doença, e conseqüentemente, a melhoria da qualidade de vida dos pacientes humanos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 CONSIDERAÇÕES ACERCA DO PERFIL DA DISTROFIA MUSCULAR DO GOLDEN RETRIEVER (GRMD) E DA DISTROFIA MUSCULAR DE DUCHENNE (DMD)

O cão Golden Retriever portador da Distrofia Muscular (GRMD) é considerado o modelo animal mais apropriado para estudar a Distrofia Muscular de Duchenne Humana (DMD), devido a sua analogia, tanto em relação ao genótipo quanto ao fenótipo (COOPER et al., 1988; KORNEGAY et al., 1988; VALENTINE et al., 1988, 1992).

Tanto a GRMD quanto a DMD são doenças de herança ligada ao sexo, ambas caracterizadas por uma mutação ocorrida espontaneamente e que gera defeito no gene produtor da distrofina, localizada no cromossomo X, e pode ser herdada pela prole (COOPER et al., 1988; VALENTINE et al., 1992). A distrofina é uma proteína da membrana muscular e parece estar envolvida em diversos papéis, como a integridade estrutural da membrana basal muscular e função da bomba e canais de íons (VALENTINE et al., 1992).

O complexo distrofina-glicoproteína pode ser considerado um complexo especializado de adesão, que liga a matriz extracelular com o citoesqueleto de actina, e encontra-se presente primariamente na célula muscular. Não existe um mecanismo definido e unificado para explicar como a ausência da distrofina causa a

distrofia muscular. Existem hipóteses acerca da homeostase do cálcio, integridade do sarcolema, absorção de choques e complexo sinalizador (BATCHELOR, 2006).

O conceito de que a distrofina era responsável apenas pela função mecânica de estabilizar a membrana da fibra muscular expandiu muito nos últimos cinco anos. Estudos evidenciam que o complexo distrofina associado a glicoproteínas tem um papel de sinalizador celular importante para os mecanismos de defesa celular e a regulação da sobrevivência ou morte celular (MARQUES, 2004).

Os cães podem ser identificados com um dia de idade, baseado na marcada elevação sérica de creatina cinase (CK) e através da confirmação por genotipagem por reação de cadeia polimerase (LIU et al., 2004). Quando os músculos são submetidos à técnicas imunohistoquímicas, nota-se ausência da distrofina e proteínas associadas (BERGMAN et al., 2002; NGUYEN et al., 2002).

O perfil da lesão de ambas as doenças se caracteriza por ciclos de degeneração e regeneração das fibras musculares, até a capacidade de regeneração esgotar-se, gerando fibrose progressiva. (NGUYEN et al., 2002; VALENTINE et al., 1986) Existe uma repetição do início da seqüência de reparo, e que em estágios tardios da doença, resulta em substituição por gordura e tecido fibroso (HULLAND, 2003).

As lesões patológicas dos músculos esqueléticos e cardíacos são virtualmente idênticas tanto no modelo canino afetado pela GRMD quanto nos humanos afetados por DMD. No entanto, a infiltração gordurosa é menos profunda no cão. Estes ainda mantêm a habilidade de deambular por mais tempo e, freqüentemente, sobrevivem até a idade reprodutiva (VALENTINE et al., 1992).

Em fragmentos musculares estriados esqueléticos coletados e submetidos a técnicas histológicas observou-se hipertrofia e hialinização das miofibras, acúmulo anormal de cálcio sarcoplasmático, necrose, regeneração, fibrose endomisial e pronunciada atrofia das miofibras (COZZI et al., 2001; HULLAND, 2003; KORNEGAY et al., 1988; NGUYEN et al., 2002; VALENTINE et al., 1986, 1990a). Reconhecem-se as fibras regeneradas como fibras pequenas, basofílicas, e que apresentam seus núcleos centralmente. (KORNEGAY et al., 1988; VALENTINE et al., 1990a).

Na histologia observam-se também irregularidades e desproporção nos tamanhos das fibras, variando entre atrofias e hipertrofias. Macrófagos em fagocitose são vistos em regiões de fibras degeneradas e existe aumento de deposição de colágeno no endomísio e perimísio de áreas focais (COZZI et al., 2001; HULLAND, 2003; VALENTINE et al., 1986, 1990a).

Vasos sanguíneos, nervos periféricos e placas motoras apresentam-se sem alterações, exceto quando uma atrofia importante altera a forma da placa motora (HULLAND, 2003). Não se observam anormalidades ultraestruturais nos nervos periféricos dos músculos esqueléticos analisados (VALENTINE et al., 1986).

Valentine et al. (1986), num estudo ultraestrutural com microscopia eletrônica de transmissão de um cão afetado, verificou hipercontração das fibras, dilatação do retículo sarcoplasmático e áreas de degeneração subsarcolemal, como alterações precoces, seguidas da presença de lise miofibrilar e fibras necróticas totais, com abundante invasão de macrófagos. Fibroblastos com proeminentes retículos endoplasmáticos rugosos estavam presentes no endomísio. Segundo Kornegay et al. (1990), mineralização das miofibras são vistas em microscopia eletrônica e é muito pronunciada nas mitocôndrias.

Estudos ultraestruturais indicam regeneração muscular através da presença de fibras com núcleos grandes, localizados centralmente, com nucléolos proeminentes, e aumento das organelas citoplasmáticas, como os ribossomos (VALENTINE et al., 1986).

Necrose e regeneração estão presentes em todas as idades, porém, com maior intensidade em cães jovens (VALENTINE et al., 1990).

Gaiad (2006) observou que a fase de maior crescimento corporal, até os doze meses, foi associada com as maiores perdas das atividades funcionais avaliadas em seu estudo: caminhadas, postura quadrupedal, subir e descer rampas, apoio pélvico e deglutição. Entre as idades de seis e doze meses, a fraqueza muscular começou a se refletir em perdas funcionais importantes nos animais GRMD. A partir dos doze meses, observou-se maior estabilidade nos graus de dificuldade para o desempenho funcional e, apesar de alguns animais apresentarem perdas, elas ocorrem de maneira lenta.

Cozzi et al. (2001) estudou o desenvolvimento da patologia muscular em cães GRMD, através de quantificação e caracterização histopatológica, e observou que a extensão da proliferação de tecido conjuntivo estava significativamente aumentada aos 15 dias de idade, no entanto, a relação não aumentava com a idade, isto é, a extensão da fibrose tendia a um platô na idade adulta.

O que se observa é uma correlação direta da idade com a classe funcional de musculatura ativa envolvida na respectiva fase, isto é, enquanto o neonato utiliza intensamente e quase integralmente os músculos responsáveis pela sucção, movimento de engatinhar e respiração, estes se apresentam intensamente acometidos. E enquanto os animais em crescimento valem-se principalmente dos

músculos de sustentação, locomoção e deglutição, nesta fase surge acometimento maior destes grupos musculares (MYIAZATO, 2005; VALENTINE, 1991).

Vainzof e Zatz (2003) relataram que estudos moleculares em indivíduos humanos com distrofias musculares têm apresentado variabilidade clínica inter e intrafamiliar em diferentes desordens genéticas, levantando a importância de outros fatores além dos genéticos, na determinação da expressão fenotípica.

Os sinais clínicos da Distrofia Muscular do Golden Retriever podem ser observados a partir do nascimento do cão e sua progressão manifesta-se rapidamente, entre três a seis meses de idade. Observa-se com maior frequência disfagia, enrijecimento dos membros pélvicos com atrofia e hipertrofia muscular seletiva, desvio de eixo dos membros, hipertrofia da língua, fraqueza muscular e contraturas (KORNEGAY et al., 1988, 1994; VALENTINE et al., 1986). Alterações cardíacas do miocárdio ocorrem principalmente em cães afetados adultos (VALENTINE et al., 1988).

Marcado aumento de CK já é encontrado no primeiro ou segundo dia após o nascimento, sugerindo que o início das lesões ocorreram no útero. Os níveis de CK parecem atingir seu pico na sexta e oitava semana, e mantêm-se altos durante os estágios avançados, indicando a persistência de necrose muscular (VALENTINE et al., 1988). Em outro estudo, a alanina aminotransferase (ALT) foi avaliada junto com CK, e apresentaram-se consistentemente aumentadas, e a análise ultraestrutural do fígado não apresentou evidências de degeneração. Portanto a causa de aumento de ALT pode ser atribuída à lesão muscular (VALENTINE et al., 1990b).

Miyazato (2005) constatou que a mortalidade foi alta nos animais jovens, ocorrendo entre sete e nove meses. Oito animais tiveram como causa *mortis* falência

cardiorespiratória decorrente da distrofia muscular. Lesões cardíacas, congestão hepática, efusão pleural, ascite e consolidação pulmonar foram encontradas na necropsia destes animais.

Freqüentemente, os filhotes GRMD morrem no período neonatal, dentro das duas primeiras semanas de vida, devido à falha respiratória aguda. Esses animais afetados apresentam lesões musculares microscópicas, principalmente no diafragma, musculatura intercostal, língua, e músculos esqueléticos dos membros torácico, tronco e pescoço. Essa distribuição seletiva pode ser devido ao fato destes serem os músculos envolvidos nas principais atividades dessa fase, as quais são respirar, mamar e rastejar (NGUYEN et al., 2002; VALENTINE, 1991).

Um estudo em um grupo de 11 cães afetados pela doença revelou em 91% destes, aumento de duas a quatro vezes da espessura do músculo diafragma, ocorrendo nas regiões laterais. A região central apresentava-se atrofiada, permitindo a formação de hérnia diafragmática em três animais e ruptura, em dois deles (MYIAZATO, 2005).

Em um estudo morfológico de cães GRMD, aos seis meses de idade, entre as diversas amostras de músculo esquelético estudados, o diafragma apresentou o mais severo aumento de fibras necróticas com presença de extensa fibrose endomisial e perimisial. Havia infiltração de tecido adiposo perimisial (VALENTINE et al., 1990).

2.2 CONSIDERAÇÕES ACERCA DAS ESTRATÉGIAS TERAPÊUTICAS

Apesar da rápida progressão das pesquisas acerca da etiopatologia da DMD ainda não existe terapia curativa aplicável. Tanto em humanos quanto em cães afetados, o manejo torna-se especialmente importante para prevenir complicações e melhorar o bem estar e qualidade de vida do paciente (LIU et al., 2003; STROBER, 2006).

Atualmente, corticosteróides são a única classe de drogas extensamente estudada sugerindo melhora da força e função, e seu uso é recomendado, apesar de existirem controvérsias devido principalmente aos efeitos colaterais. O uso de suplementos nutricionais como também pesquisas com terapias celulares e gênicas têm expandido muito nesses últimos anos (STROBER, 2006).

Gaiad (2006) estudou a aplicação de fisioterapia para diminuir o grau de contraturas assim diminuindo as limitações funcionais que alteram a conformação e limitam a marcha progressivamente. Observou-se o ganho funcional nas duas importantes articulações distais, tarso e carpo, responsáveis pela sustentação de peso do corpo, no entanto, concomitante ao aumento da área de fibras colágenas no músculo destes mesmos animais. Nesses animais submetidos a exercícios, é provável que maiores ciclos de contração e relaxamento muscular, na ausência da distrofina, tenham gerado lesões nas miofibrilas, que foram gradualmente substituídas pelo tecido conjuntivo fibroso e remodelado conforme as novas exigências de função requerida pela musculatura.

Gaiad (2006) sugere que através da característica elastomérica das proteínas fibrosas, as movimentações freqüentes da musculatura, ao criar uma

tensão de estiramento, possam resultar em aumento de área de colágeno no tecido muscular.

2.3 A DISTROFIA MUSCULAR E O TRATO DIGESTÓRIO

Digestão e absorção são as principais funções do trato gastrintestinal, através das quais oferecerão nutrientes para suprir os processos metabólicos dos animais. Esses processos são interdependentes da função secretória e do trânsito do conteúdo do lúmen, e que devem ser regulados afim de que exponham os produtos da digestão, o máximo possível, à superfície epitelial (SWENSON; REECE, 1996).

O músculo liso é o elemento primário dos órgãos tubulares, e sua contratilidade é responsável pelo tônus da parede, o tamanho da luz e o movimento dos materiais no trato digestório (BANKS, 1992).

Apesar do esôfago canino seguir um padrão estrutural similar ao restante do tubo digestório, a camada muscular de toda a extensão esofágica consiste em músculo estriado, diferindo de outras espécies, nas quais a musculatura estriada da origem será substituída por musculatura lisa em algum ponto do tórax (DYCE, 2004; NICKEL, 1979).

Segundo Skandalakis (2000), o trato alimentar como um todo, têm muito mais tecido muscular liso envolvido na atividade regular diária, do que outras partes do organismo, e não se pode excluir o importante papel do músculo liso da camada muscular da mucosa e da camada média dos vasos sanguíneos intramurais.

Kornegay et al. (1990), afirmou que a Distrofia Muscular do Golden Retriever não afeta simplesmente musculatura estriada esquelética, e parâmetros acerca da musculatura lisa e musculatura cardíaca devem ser avaliados.

As fibras musculares lisas são células fusiformes sem estrias transversais, adaptadas para a contração lenta. Têm ritmo próprio, caracterizado por contrações rítmicas e tônicas. Recebem fibras do sistema nervoso parassimpático e simpático, mas não exibem as junções neuromusculares elaboradas como as da musculatura estriada esquelética. Frequentemente os axônios terminam formando dilatações no tecido conjuntivo localizado entre as fibras, onde contém as vesículas sinápticas com neurotransmissores responsáveis pelos estímulos celulares. As junções comunicantes são importantes na transmissão do estímulo célula para célula. As fibras são também excitadas ou inibidas pelos hormônios secretados no trato digestório (BANKS, 1992; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

Dos três tipos de tecidos musculares, a musculatura lisa parece se regenerar com maior facilidade. Sendo assim, rapidamente após uma lesão, as células que permaneceram viáveis iniciam o processo de mitose (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

Hoffmann et al. (1988) afirma que todos os tipos de músculos expressam a distrofina.

A localização da distrofina foi examinada em vários tecidos de rato e biopsias humanas, utilizando anticorpos policlonais contra distrofina. Distrofina foi claramente localizada nas fibras musculares esqueléticas, fibras musculares cardíacas e nas junções neuromusculares. Foi localizada também nas membranas de fibras musculares lisas das vísceras, no sistema bronquial, no ureter e na túnica média dos vasos sanguíneos. Myiatake et al. (1991) sugere que a distrofina

desempenhe um importante papel fisiológico e estrutural no sistema de condução que parece afetar a motilidade celular.

A ausência de distrofina nos vasos sanguíneos pode estar associada às excessivas perdas sanguíneas observadas em cirurgias de crianças DMD (MYIATAKE et al., 1989; NOORDEN et al., 1999).

Um estudo realizado por Byers (1991) utilizando um anticorpo altamente sensível e específico foi utilizado para caracterizar a distribuição da distrofina na musculatura esquelética, cardíaca e lisa. Elevada concentração de distrofina apareceu na membrana celular da fibra muscular esquelética, assim como em junções neuromusculares. No músculo cardíaco a distribuição era bem marcada na membrana celular da fibra, mas notavelmente ausente nas junções dos discos intercalados. E na musculatura lisa, a marcação da membrana plasmática apresentou-se muito menos abundante, apresentando ao microscópio óptico um padrão descontínuo, do tipo listado.

Byers (1991) notou ainda que na análise de *Western blot* a distrofina do músculo liso do intestino mostrou-se como uma única banda enquanto no músculo esquelético e cardíaco apresentou-se em duas bandas. A distrofina do músculo liso era mais similar com a banda superior do músculo esquelético e cardíaco. Ficou claro que a distrofina aparenta desempenhar papéis diferentes em cada tipo muscular, não podendo generalizar uma função para todos os tipos musculares.

2.3.1 Alterações comuns do trato digestório na GRMD e na DMD

As descrições clínicas acabam focando principalmente a degeneração musculoesquelética, e outras manifestações acabam ficando omitidas, como as manifestações do trato digestório (CHUNG et al., 1998).

2.3.1.1 Disfagia

Disfagia é a deglutição difícil e dolorosa causadas por distúrbios obstrutivos ou funcionais da cavidade bucal, faringe ou do esôfago proximal. Os sinais clínicos são variáveis e dependentes da gravidade e, caracterizam-se por: dificuldade de apreensão e /ou mastigação; náuseas e esforços exagerados de deglutição caracterizados por movimentos pronunciados da cabeça para cima ou de um lado para outro; dor, ptialismo, ansiedade e desconforto; regurgitação e; possibilidade de ocorrência de pneumonia por aspiração secundária (JESKINS, 2004)

O cão afetado pela distrofia muscular é capaz de apreender e mastigar, mas deixa escorregar o alimento para fora devido aos inapropriados movimentos da língua, e da mesma forma, não é capaz de beber água normalmente, devendo estender seu pescoço para degluti-la (BERGMAN et al., 2002).

Willig et al. (1994), num levantamento dos problemas de deglutição nas doenças neuromusculares, apontou que o paciente DMD apresenta dificuldade de

manter o alimento na boca, fraqueza nos músculos mastigatórios, macroglossia que o predispõe a mordidas cortantes e, engasgos. Afirmar ainda que as dificuldades nas fases da deglutição podem ser melhoradas pela adaptação da consistência do alimento.

Num controle de casos realizado por Jaffe et al. (1990), mostrou que alta porcentagem de pacientes DMD experimenta disfagia, devem limpar o pescoço durante e após a refeição, sufocam enquanto comem, sentem azia e vomitam durante e após comerem.

Liu et al. (2003), ao descrever e analisar problemas práticos relacionados ao sentar do paciente DMD, apontou a dificuldade deste em comer, devido a fraqueza nos membros proximais, o que dificulta a elevação das mãos até a boca. Assim, maneja-se este problema elevando-se a mesa e mantendo-se o tronco levemente inclinado para frente e sustentado por um cinto torácico.

Goldstein (1989) afirma que a perda progressiva de massa muscular na DMD acaba ocorrendo devido a um desbalanço entre a síntese de proteína muscular e sua degradação. Isto se deve em parte pela inadequada entrada de comida, devido principalmente a deficiência física e ao hipermetabolismo com aumentada demanda de nutrientes. Assim, mostrou em um trabalho que ao aumentar o aporte calórico e protéico através de tubo e administrado a noite, os pacientes obtiveram ganhos de peso e de circunferência muscular do braço.

Uma investigação realizada com cães comprovou que quando os animais alimentavam-se com uma dieta contendo 73% de água incorporada no alimento, somente 38% de suas necessidades diárias de água provinham de água voluntariamente bebida. Quando se mudava bruscamente para uma dieta que continha 7% de água incorporada no alimento, a ingestão de água voluntária

aumentava de maneira imediata para 95% ou mais da ingestão diária total. Isto indica que a quantidade de água presente no alimento pode afetar de forma significativa a ingestão voluntária de água. Se o conteúdo hídrico do alimento for muito elevado, os cães serão capazes de manter um equilíbrio hídrico normal sem necessidade de ingerir muita água adicional (CASE, 1998).

2.3.1.2 Alterações esofágicas

Em cães distróficos, o músculo esofágico está regularmente afetado. Encontram-se fibras musculares degeneradas, de tamanhos variados e fibrose (HULLAND, 2003; VALENTINE et al., 1990a).

Não há dados na literatura sobre a macroscopia e histopatologia do esôfago de humanos DMD.

Valentine et al. (1988) afirma que o fato de haver uma diferença anatômica na composição do músculo esofágico do homem e do cão, este último é levado a apresentar disfunção importante nesta região, o que não é visto em pacientes DMD.

Em geral o megaesôfago idiopático é a principal causa de regurgitação no cão. Têm sido descritas três formas: 1. idiopática congênita, que parece estar relacionada com defeito na inervação aferente vagal, e incide com mais frequência em determinados grupos de raças; 2. Adquirida secundária, que está relacionada com diversas outras condições, como “miastenia gravis”, hipoadrenocorticism, miosite por lupus, intoxicações e formas graves de esofagites; 3. Adquirida idiopática, que surge espontaneamente em cães já adultos (WASHBAU, 2004).

A presença de megaesôfago é suspeitada por regurgitação logo após uma refeição, distensão do esôfago cervical, hálito fétido e perda de peso. Pneumonia por aspiração pode ocorrer ocasionalmente. Macroscopicamente, o esôfago está acentuadamente dilatado, flácido e com o diâmetro duas a três vezes maior que o normal, o que pode ser demonstrado por exames radiológicos (VAN KRUININGEN, 1998).

Jeskins (2004) reforça que na regurgitação ocorre a expulsão retrógrada passiva de conteúdos gástricos ou esofágicos imediatamente a refeição ou horas depois, assim diferenciando-se do vômito, situação em que há um esforço abdominal e ânsia.

Van Kruiningen (1998) e Washabau (2003) afirmam que em cães não afetados o megaesôfago tem sido atribuído à imaturidade no desenvolvimento da inervação pelo nervo vago. Hulland (2003) coloca que nas distrofias, pelo menos no início, todas as conexões neurais são normais,

Na descrição dos achados de necropsia de um grupo de 11 cães afetados, os esôfagos de 10 animais apresentavam-se espessados, de duas a três vezes. No estômago de dois foram constatadas úlceras, e era comum a todo o grupo a presença de pontos hemorrágicos (MIYAZATO, 2005).

O tratamento de megaesôfago consiste em abordar a causa, manejo nutricional e o tratamento de possíveis ocorrências de pneumonia por aspiração e esofagites de refluxo. Deve-se fornecer com frequência pequenas porções de uma dieta de alto valor calórico aos animais acometidos, que devem ser mantidos em posição elevada ou ereta para favorecer a drenagem pela gravidade pelo esôfago sem peristalse. A consistência deve ser formulada para provocar o mínimo de sinais

clínicos como abrasão e falsa via. É indicado sonda permanente para os animais que não conseguem manter o equilíbrio nutricional (WASHABAU, 2004).

Terapias com procinéticos de músculo liso, como metoclopramida e cisaprida podem estimular a peristalse esofágica, no entanto não possuem muito efeito em musculatura estriada, que compõe todo o corpo esofágico canino. O Betanecol, agonista colinérgico que atua em receptores muscarínicos, tem mostrado melhores resultados em induzir propagações contráteis e, é indicado como o mais adequado procinético para situações de megaesôfago. E devido à alta incidência de esofagite concorrente no megaesôfago, indica-se medicar os animais com suspensão oral de sulcrafato (WASHABAU, 2003).

Washabau (2004) aponta que a morbidade e mortalidade decorrente do megaesôfago idiopático e adquirido, permanecem inaceitavelmente elevadas, devido a manejo errôneo, e assim, vários animais sucumbem aos efeitos da subnutrição crônica e aos episódios repetidos de pneumonia por aspiração.

2.3.1.3 Alterações Gastrointestinais

Existem alguns relatos de manifestações gastrointestinais episódicas, normalmente referentes à distensão abdominal. Foi relatado um caso de dismotilidade em um paciente humano DMD, através de estudos com marcadores radio-opacos e eletrogastrografia (EGG), que demonstraram, respectivamente retardo do esvaziamento gástrico e marcada bradigastría (CHUNG et al., 1998).

Borrelli et al. (2005) ao estudar dez crianças DMD indica que anormalidades de motilidade gástricas aparecem cedo e a progressão da piora neuromuscular é acompanhada por um desarranjo na atividade motora gástrica, indicada por EGG. Detecção precoce dessa anormalidade motora auxilia a traçar plano para lidar com a predisposição que esse paciente terá com refluxos gastroesofágicos, pneumonias por aspiração e retardo do esvaziamento gástrico.

O prejuízo funcional da musculatura lisa na DMD pode causar dilatação gástrica aguda e pseudoobstruções intestinais que podem ser fatais. Um paciente com esta síndrome apresentou degeneração muscular lisa no estômago (BAROHN et al., 1988).

Leon et al. (1986) estudou um caso humano que por muitos anos apresentou recorrentes ataques de náuseas, vômitos e distensão abdominal, e na histopatologia apresentou fibrose na musculatura lisa de todo trato digestório, porém com marcação maior no esôfago e no estômago.

Segundo Nowak (1982), pacientes DMD exibem distrofia no músculo liso do cólon, mas não há relação entre o grau de distrofia e os sintomas clínicos como constipação e diarreia. Esses sintomas podem ser atribuídos a desordens no feedback entre o marcapasso colônico contido no plexo mioentérico e a célula muscular lisa (TAMEYASU, 2004).

O estudo de necropsia de Miyazato (2005) revelou 100% de alças intestinais dilatadas e repletas de fezes pastosas, sugerindo diminuição do trânsito intestinal por degeneração da camada muscular lisa.

Na revisão feita por Ronnblom (2004), aborda-se a importância de que gastroenterologistas devam estar preparados para os sintomas gastrointestinais encontrados em pacientes com doenças musculares. Têm sido descritos

tratamentos para dilatação gástrica através de descompressão por tubo nasogástrico, repetidas aspiração do conteúdo e reposição de fluido parenteral. O uso de procinéticos como metoclopramida e cisaprida devem ser considerados.

Washabau (2003) indica os procinéticos metoclopramida e cisaprida como as principais drogas para o tratamento de situações de disfunção de esvaziamento gástrico e desordens de transito intestinal. No entanto deve-se atentar aos possíveis efeitos colaterais da cisaprida.

Deve-se considerar a entidade clínica íleo adinâmico, distúrbio do estômago e do intestino, que é caracterizado por falta de tônus e movimentos peristálticos normais, devido à ativação da inervação simpática. As causas comuns além da manipulação destes órgãos durante cirurgia, incluem estímulos muito doloridos em outros locais do organismo, estados de metabolismo anormal, toxemia e desequilíbrios hidroeletrolíticos (VAN KRUININGEN, 1998).

Os achados de necropsia de Miyazato (2005) não revelaram alterações dignas de nota em órgãos como o pâncreas, baço e rins, porém o fígado de todo o grupo apresentava-se aumentado de volume, congesto, com áreas de coloração amarelada e vesícula biliar dilatada e preenchida com conteúdo espesso.

Hiperemia pós prandial intestinal são alterações que ocorrem no leito vascular intestinal, após cada refeição, e é importante para promover a função mucosa de secreção e absorção, já que aumenta a oferta de oxigênio para as células epiteliais. A presença de certos nutrientes no quimo, como ácidos graxos e glicose, parece estimular a resposta hiperêmica. No entanto, os mecanismos que estão envolvidos na iniciação e na manutenção dessa hiperemia são complexos e parecem envolver diversas vias que variam segundo o nutriente, e que agem na musculatura lisa vascular intestinal (CHOU, 1994).

Em um estudo da distribuição regional do fluxo sanguíneo em cães, Musch et al. (1987) observou que o fluxo sanguíneo do estômago, pâncreas e intestino grosso diminuiu já sob a mais baixa intensidade de exercício, e permaneceu diminuído durante o restante da aplicação de exercício máximo.

2.4 ANATOMIA DO TRATO DIGESTÓRIO CANINO

A anatomia do trato digestório canino será abordada em duas seções: anatomia microscópica e anatomia sintópica.

2.4.1 Anatomia Microscópica

O Sistema digestório é formado pelo canal alimentar e suas glândulas anexas. O canal alimentar consiste no esôfago, estômago, intestino delgado e intestino grosso (EVANS, 1993; NICKEL et al., 1979).

Segundo Banks (1992) e Junqueira e Carneiro (2004), o tubo digestório apresenta uma estrutura geral comum. As quatro principais camadas são: a mucosa, a submucosa, a camada muscular e a camada serosa.

A túnica mucosa é constituída por: epitélio de revestimento; lâmina própria composta de tecido conjuntivo frouxo, vasos sanguíneos e linfáticos, e fibras musculares lisas, e podem conter glândulas e tecidos linfóides e; muscular da mucosa, que é uma camada delgada de músculo liso.

Segundo Banks (1992), a ocorrência da muscular da mucosa é o modo pelo qual as regiões localizadas se movimentam.

A túnica submucosa é constituída de tecido conjuntivo moderadamente denso, rica em vasos sanguíneos e linfáticos, e contém o plexo nervoso submucoso. Pode também apresentar glândulas e tecidos linfóides.

A túnica muscular é normalmente constituída por fibras musculares lisas, orientadas em duas direções, circular mais internamente, e longitudinal, mais externamente. Entre as duas subcamadas está localizado o plexo nervoso mioentérico.

A camada serosa é constituída por tecido conjuntivo frouxo, células adiposas, vasos sanguíneos e linfáticos, e um mesotélio em forma de um epitélio simples pavimentoso.

O esôfago é um tubo músculo-membranoso que conecta a faringe ao estômago (ELLENPORT, 2000; NICKEL et al., 1979). Nos cães a túnica muscular, em todo o seu comprimento, é formado por músculo estriado esquelético e possui glândulas mucosas, presentes na submucosa (ADAM et al., 1970; BANKS, 1992; ELLENPORT, 2000; EVANS, 1993; NICKEL et al., 1979). Segundo Banks (1992), vários graus de queratinização na mucosa podem ser observados na dependência da dureza da alimentação de determinada espécie. A muscular da mucosa no cão está ausente na região cervical, mas se torna completa perto do estômago (BANKS, 1992; EVANS, 1993).

A túnica muscular consiste essencialmente de duas camadas oblíquas de fibras musculares estriadas, e a camada externa surge caudalmente às fibras cricoesofageanas, cinco cm após o início do tubo esofágico e assumem uma arquitetura oblíqua e entrelaçada até 5-10 cm antes do cárdia. As fibras da camada

mais interna seguem em uma direção mais transversa, especialmente na região ventral do esôfago próximo ao cárdia, e junto com a camada mais externa, que também assume aí uma direção mais transversa, acabam constituindo um esfíncter funcional nessa região (EVANS, 1993).

Somente a porção do esôfago que está na cavidade peritoneal é recoberta por membrana serosa, o restante é envolvido pela adventícia, uma camada de tecido conjuntivo que se mistura com o tecido conjuntivo circundante (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

Segundo Banks (1992), o estômago é um órgão músculo-glandular, interposto entre o esôfago e o intestino, e que através das contrações de sua parede muscular induz a mistura mecânica e a quebra dos alimentos. A superfície luminal é revestida por um epitélio cilíndrico coberto por muco, e é caracterizada pela presença de invaginações desse epitélio para dentro da lâmina própria, formando depressões microscópicas conhecidas como fossetas gástricas (BANKS, 1992; DYCE et al., 2004; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

A mucosa é constituída de um grande número de glândulas gástricas que se abrem no fundo dessas fossetas. Segundo Evans (1993), as diferenças entre as várias zonas de glândulas se dão pelo tipo de célula que elas contém e conseqüentemente pelo tipo de secreção que produz. A fina submucosa separa-se da camada mucosa por uma muscular da mucosa de arranjo plexiforme (DYCE et al., 2004). Pequenos feixes de músculo liso se estendem para o interior da lâmina própria entre as glândulas (BANKS, 1992).

Através de microscópio eletrônico de varredura, na cobertura interna é macroscopicamente visível as pregas irregulares da mucosa, que servem para

aumentar a área de superfície, e as depressões que originam as fossetas gástricas (ANDERSON; ANDERSON, 1994).

Segundo Adam (1970), a distribuição das glândulas é dividida principalmente em região fúndica e pilórica. A região cárdica é caracterizada por ser uma região transicional, pois possui muitas células mucosas, mas já se observam algumas células parietais. Segundo Banks (1992) e Junqueira e Carneiro (2004), na região fúndica, as glândulas são tubulosas e ramificadas, e apresentam três regiões: istmo, colo e base. São formadas pelos seguintes tipos celulares: células fontes, que poderão renovar as células tanto da superfície do estômago quanto da parte profunda da glândula; células parietais, encontradas principalmente no colo da glândula, e responsáveis pela produção do ácido clorídrico; células mucosas do colo; células zimogênicas ou principais, encontradas na base da glândula e responsáveis pela produção da pepsina e lipase; e células endócrinas, que produzem principalmente a gastrina. Na região pilórica as fossetas gástricas se apresentam muito profundas com as glândulas mais curtas, apresentam muitas células mucosecretoras, e são vistas bastantes células enteroendócrinas produtoras de gastrina.

A túnica muscular do estômago canino compreende a camada longitudinal externa, circular média e oblíqua interna (DYCE et al., 2004; EVANS, 1993). A camada longitudinal externa é contínua com a camada longitudinal do esôfago e do duodeno. A camada circular é mais especializada que a longitudinal, e se torna mais engrossada em algumas regiões formando os esfíncteres cárdico e o pilórico. A camada oblíqua interna é adjacente a submucosa (EVANS, 1993).

Segundo Evans (1993), nódulos linfáticos estão espalhados através da mucosa do estômago e em algumas regiões se estendem para a lâmina muscular da mucosa e submucosa, assim como em muitas áreas do canal alimentar.

O intestino delgado apresenta três porções: duodeno, jejuno e íleo (NICKEL et al., 1979). Apresentam numerosas adaptações que aumentam a superfície absorptiva e secretora como seu comprimento, pregas, vilos e microvilos. Na junção gastroduodenal ocorre uma mudança brusca da túnica Mucosa, onde as fossetas gástricas são substituídas por projeções digitiformes para a luz do intestino delgado (BANKS, 1992). Segundo Junqueira e Carneiro (2004), o comprimento dos vilos em humanos varia de 0,5 a 1,5 mm. O epitélio da mucosa é coberto principalmente por células caliciformes produtoras de muco e pelas células colunares absorptivas prismáticas, que se caracterizam por uma condensação apical que representa uma camada de microvilos.

Segundo Hoskins (1982), a função absorptiva da mucosa é facilmente apreciada pela presença maciça de microvilos ao microscópio eletrônico de varredura, indicando no seu estudo que as células epiteliais absorptivas e as células caliciformes estão presentes ao nascimento como aproximadamente no padrão adulto.

A porções profundas da mucosa são ocupadas pelas glândulas intestinais, ou de Lieberkühn, e difuso tecido linfóide (EVANS, 1993).

Na microscopia eletrônica de varredura os vilos são visíveis projetando-se no lúmen duodenal e as aberturas das células caliciformes são vistas na superfície como pequenas edentações no epitélio. Os vilos coletivamente aumentam a superfície absorptiva do duodeno (ANDERSON; ANDERSON, 1994). No duodeno a submucosa é caracterizada por apresentar glândulas duodenais ou de Brünner, que

secretam um produto alcalino, regulando o pH da região (ADAM et al., 1970; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004). Já a superfície do jejuno é caracterizada por maior quantidade de vilos do que as encontradas no duodeno, e com numerosas aberturas de células caliciformes. E a superfície do íleo, também é provida de vilos, só que mais curtos e não tão arredondados como nas outras duas porções, mas as células caliciformes são característica importante.

Os vilos de filhotes de um dia de idade são irregulares em comprimento. Essa irregularidade parece se perder aos 21 dias de idade, o que indica que o processo de maturação se desenrola no momento em que a comida sólida passa a fazer parte como maior componente da dieta (HOSKINS et al., 1982; PAUSEN et al., 2003).

A lâmina própria do intestino é formada por tecido conjuntivo frouxo, vasos sanguíneos, vasos linfáticos, fibras nervosas e fibras musculares lisas. Penetra nos vilos intestinais e desta forma se têm os movimentos rítmicos dos vilos (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

Os tratos digestórios, respiratório e genito-urinário estão sujeitos a invasões microbianas freqüentes, e para aumentar a sua defesa, existem acúmulos de linfócitos associado a tecido linfático difuso (MALT) localizados na mucosa desses tratos, que em algumas regiões podem até formar órgãos bem estruturados, como as tonsilas e placas de Peyer (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

Segundo Adam (1970) e Evans (1993), nos cães as placas de peyer, são diversas vezes encontradas no duodeno e jejuno, tão bem quanto no íleo e estão posicionadas lateralmente ou medialmente as alças intestinais. No cão essas placas são vistas pelo exterior da alça.

A camada muscular intestinal, consiste em uma camada longitudinal externa e uma espessada camada circular interna (EVANS, 1993). Segundo Banks (1992), a peristalse envolve o encurtamento de um segmento da camada longitudinal seguido de uma contração anelar da camada circular, e para isso a inervação intrínseca, plexos submucosos e mioentérico devem estar intacta. Por sua vez, a muscular da mucosa ajusta a superfície epitelial às mudanças de comprimento e diâmetro que a musculatura externa produz durante a peristalse (SKANDALAKIS, 2000).

Segundo Junqueira e Carneiro (2004), as células musculares lisas são mantidas unidas por uma malha reticular de colágeno, que amarram as células umas às outras de tal maneira que a contração simultânea de apenas algumas ou de muitas células se transforma na contração do músculo inteiro.

O intestino grosso se inicia na junção ileocecal e termina no ânus. É dividido em ceco, cólon, reto e ânus (BANKS, 1992; NICKEL et al., 1979). Segundo Anderson e Anderson (1994), através da microscopia eletrônica, vilos estão ausentes na mucosa do ceco e cólon, e são bem visíveis os lúmens das glândulas intestinais da região.

Segundo Evans (1993), no geral é um tubo simples ligeiramente maior em diâmetro que o intestino delgado, e estão ausentes haustras e tênias.

2.4.2 Anatomia Sintópica do trato digestório

DiDio (2000) define sintopia como a relação da estrutura e seus órgãos adjacentes imediatos.

A porção cervical do esôfago acompanha a traquéia relacionando-se medioventralmente com seu lado esquerdo e, dorsalmente, relaciona-se com os músculos subvertebrais. Inicialmente inclina-se para a esquerda, mas reassume uma posição simétrica acima da traquéia, antes ou logo depois de chegar ao tórax (DYCE, 2004; ELLENPORT, 2000; EVANS, 1993; NICKEL et al., 1979).

As principais relações da porção cervical do esôfago são: artéria carótida comum esquerda, veia jugular interna, ducto traqueal, linfonodos cervicais, nervos vagosimpático e laríngeo recorrente, e em animais novos, o timo (NICKEL et al., 1979).

No tórax, segue no mediastino, cruza o coração na superfície dorsal, primeiro da traquéia e em seguida do brônquio esquerdo, passando entre o arco aórtico, a sua esquerda, e a veia ázigo, a sua direita. Na parte torácica, ambas bordas, dorsal e ventral, são acompanhadas pelos troncos que reagrupam fibras dos nervos vagos direito e esquerdo (DYCE, 2004; ELLENPORT, 2000). Caudal a base do coração, situa-se entre os pulmões, ventralmente, e a aorta torácica (NICKEL et al., 1979).

O esôfago penetra no hiato esofágico do diafragma e segue sobre a borda dorsal do fígado unindo-se ao estômago no cárdia (DYCE, 2004; ELLENPORT, 2000; EVANS, 1993; NICKEL et al., 1979).

A face parietal do estômago repleto está voltada cranioventralmente para a esquerda e relaciona-se com o fígado, a parte esquerda do diafragma e a parede abdominal esquerda e ventral. A face visceral é menos extensa e dirige-se para cima e para a direita, relacionando-se com o intestino, pâncreas e rim esquerdo. O estomago vazio apresenta-se fortemente contraído (ELLENPORT, 2000).

Dyce (2004) coloca que a disposição geral das vísceras é determinada pela forma da cavidade em que são mantidas, e como a cavidade peritoneal é hermeticamente vedada, segue-se que qualquer alteração na posição ou contorno de um órgão deva ser acompanhada por uma alteração recíproca em uma área adjacente.

Nesse contexto, a topografia e forma do estômago em vida são muito influenciadas por alterações funcionais. Vazio, é pequeno e contraído em direção ao ponto fixo da entrada esofágica, permanecendo totalmente no interior da cavidade torácica (DYCE, 2004). Já quando dilatado por ingesta pode estender-se quase até a região umbilical, empurrando a massa intestinal dorsal e caudalmente e, o fígado, para a direita (DYCE, 2004; EVANS, 1993).

Segundo Evans (1993) quando inicia-se o preenchimento do estômago, o fundo aumenta e tende a contactar a parede abdominal lateral esquerda e o diafragma. A seguir o corpo se preenche e o contato aumenta ainda mais.

O estômago permanece em posição transversal ao plano mediano, o fundo e o corpo ficam principalmente à esquerda do plano mediano, mas a parte ventral do corpo cruza a direita antes de continuar pela parte pilórica (DYCE, 2004; EVANS, 1993).

O intestino delgado divide-se em uma porção fixa, o duodeno, e outra mesentérica, incluindo o jejuno e íleo (ELLENPORT, 2000).

O duodeno se fixa no teto da cavidade abdominal através de um mesoduodeno curto e relaciona-se com o fígado, a parede abdominal direita, pâncreas, rim direito e com o restante da alças intestinais (DYCE, 2004).

O jejuno e íleo são menos firmemente fixos através do mesentério e ocupam uma posição mais ou menos constante na parte ventral da parede abdominal (DYCE, 2004). Relacionam-se dorsalmente com o intestino grosso, duodeno, pâncreas, rins, veia cava caudal, aorta, troncos nervosos simpáticos, e cadeia linfática lombar. O jejuno relaciona-se também com o baço e o omento maior (EVANS, 1993).

O intestino grosso está fixo na região sublombar por um mesocólon e apresenta-se em três partes: o cólon ascendente, curto, passa em direção cranial ao longo da face medial da parte inicial do duodeno e do pâncreas, e quando atinge o piloro, dobra para a esquerda e cruza o plano mediano, formando o cólon transversal. O cólon descendente passa em direção caudal na região sublombar, relaciona-se com o rim esquerdo, e inclina-se ao plano mediano para continuar com o reto (ELLENPORT, 2000).

O ceco é um segmento intestinal curto de fundo cego, que não tem conexão direta com o íleo, e sim com o cólon, imediatamente além da junção ileocólica (DYCE, 2004; EVANS, 1993).

2.5 CONSIDERAÇÕES ACERCA DO PROCESSO INFLAMATÓRIO E REGENERATIVO

Thompson (1983) ilustra a Inflamação como a resposta vascular e celular dos tecidos vivos à agressão na área lesada e que, através do acúmulo de líquidos e células (exsudato), tem por objetivos: 1. diluir, através da saída de líquido dos vasos (edema); 2. localizar, através da barreira inicial de fibrina; 3. destruir, através da linha de defesa primária de neutrófilos, atraídos por fatores quimiotáticos; 4. remover, através da fagocitose realizada pelos macrófagos; 5. induzir a substituição de qualquer porção do tecido lesado.

A reparação tem início logo após a ocorrência da agressão, e envolve principalmente fibroblastos e células endoteliais. Normalmente existem poucos fibrócitos e fibroblastos presentes num tecido normal, mas estes apresentam uma capacidade tremenda de proliferar, e aparecerão em maior parte do processo reparativo de lesões grandes, para que se devolva ao tecido a sua integridade anatômica e funcionais normais. Em grandes lesões a integridade funcional provavelmente não será restaurada, mas haverá a tentativa de restauração anatômica através de tecido conjuntivo.

Fibrose é o endurecimento gradual e insidioso de um tecido pela proliferação focal ou difusa de tecido conjuntivo neoformado. Esse tecido conjuntivo irá sofrer remodelações constantes, por mecanismos não ainda compreendidos, mas que parecem envolver os próprios fibroblastos e macrófagos. O colágeno é removido constantemente e substituído por formas mais maduras (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004; THOMPSON, 1983).

Thompson (1983) ainda coloca que se há necrose há a liberação de tromboplastinas, que coagula sangue local e atrai neutrófilos por quimiotaxia. O sistema complemento é ativado por substâncias liberadas das células mortas ou degeneradas, que também são fatores quimiotáticos de neutrófilos, e estes têm como objetivo dissolver e remover os tecidos necróticos por meio de enzimas.

Necrose é definida como morte rápida de uma área limitada de tecido caracterizado por cor pálida ao exame macro. Áreas de degeneração também se mostram pálidas ao exame macro. Ao exame microscópico a situação de necrose apresentará: Cariopícnose, cariorrexia, cariólise, ausência completa do núcleo, agregações de restos nucleares basofílicos, e citoplasma mais acidofílico. Deve-se lembrar que todas as alterações nucleares e citoplasmáticas da necrose podem ocorrer na autólise, que é a autodigestão pelas enzimas que estão presentes ou liberadas no citoplasma das células após sua morte. Autólise ocorre como necrose de coagulação, porém estará uniforme em todo o tecido. A técnica de fixação interrompe a ação destas enzimas.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

A colônia de cães Golden Retriever portadores de Distrofia Muscular – GRMD – Brasil está estabelecida na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, Departamento de Cirurgia – Setor de Anatomia. Atualmente está constituída por: vinte cães afetados pela distrofia muscular, machos e fêmeas, com idades entre 3 e 34 meses, destinados ao estudo de terapêuticas para a doença; 9 cães fêmeas portadoras da distrofia muscular, com idades entre 18 e 43 meses, destinadas a reprodução; 1 cão macho normal, com idade de 62 meses, utilizado como padreador principal.

3.1 AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA E MICROSCÓPICA

Foram realizadas avaliações descritivas macroscópicas e microscópicas das vísceras tubulares de cães da raça Golden Retriever afetados pela distrofia muscular, cujas metodologias serão descritas a seguir.

3.1.1 Delineamento Experimental

Para essa avaliação descritiva foram utilizados dois cães adultos afetados pela distrofia muscular, provenientes da colônia GRMD – BRASIL, que vieram a óbito por consequência da evolução da doença. O animal B2M2 possuía 52 meses de idade e o animal BR3M5, 21 meses de idade.

A doença foi confirmada pela análise de DNA realizada no Centro de Estudos do Genoma Humano – IB - USP – São Paulo – SP.

Como controle foi utilizado um cão adulto não afetado pela distrofia muscular, de porte similar ao Golden Retriever. Escolheu-se um animal que viesse a óbito por alguma causa que não afetasse o trato digestório. Este animal, que possuía 84 meses, foi eutanasiado devido à evolução de um hemangiosarcoma com mau prognóstico, e foi encaminhado ao Departamento de Patologia da FMVZ- USP.

Por se tratar de uma doença rara, com escassos números de indivíduos afetados, dos quais preza-se o estudo da manutenção de vida com qualidade, este estudo foi analisado como estudo de sujeitos únicos devido ao baixo número de animais que vieram a óbito.

3.1.2 Necropsia e Coleta

As necropsias foram realizadas após uma média de 12 horas dos óbitos dos animais afetados. Os cães ficaram acondicionados em câmara fria até o momento da necropsia.

O animal controle foi coletado após o óbito, em necropsia realizada em ato contínuo.

As seguintes porções foram coletadas: região torácica do esôfago, região de corpo e fundo do estômago, região Pilórica do estômago, região de duodeno, região de jejuno, região de íleo, região de cólon ascendente e região de cólon descendente.

3.1.2.1. Necropsia

A necropsia foi realizada pela equipe de Patologia Animal da FMVZ – Unesp, Campus de Jaboticabal.

Seqüências da necropsia referentes ao trato digestório foram analisadas e fotografadas para este estudo.

3.1.2.2 Coleta

As porções foram suavemente lavadas com água.

Procurou-se obter fragmentos cortados transversalmente e perpendicularmente de cada porção coletada.

Os fragmentos foram coletados através de tesouras e lâminas. Foram realizados cortes de aproximadamente 20 mm de comprimento por 5 mm de largura e 5 mm de profundidade. Estes cortes foram realizados com lâminas orientadas em x.

3.1.2.3 Fixação

O fixador utilizado foi o paraformaldeído a 4% em solução tampão fosfato 0,1 M.

Cada fragmento foi recolhido em frascos contendo um volume aproximadamente 15 vezes maior de fixador, e permaneceu fixando num período mínimo de 48 horas sob refrigeração, antes do processamento.

3.1.3 Processamento Histológico

O material foi emblocado e montado em lâminas nos laboratórios de Histologia e Embriologia albergados no Setor de Anatomia da FMVZ – USP.

A avaliação descritiva da musculatura do tubo digestório desses animais foi realizada em microscopia óptica de luz, utilizando-se para tanto três colorações: Hematoxilina e Eosina, Tricrômio de Masson e Picrosirius com passagem em Van Guinsson.

3.1.3.1 Inclusão

Os fragmentos foram desidratados em série de concentração crescente de etanóis (70-100%), diafanizados em Xilol, e incluídos em Paraplast® (Paraplast Embedding Media-Paraplast Plus, Oxford Lab., USA), formando blocos retangulares de base de aproximadamente 20 x 30 mm.

Procurou-se incluir todos os fragmentos em uma orientação comum, de modo que, ao plano de corte, as camadas do tubo digestório mantivessem um padrão de apresentação.

3.1.3.2 Preparação das Lâminas

Os blocos foram levados ao micrótomo. Foram obtidos cortes com espessura de 5 a 7 μm em um Polyartmicrotomo (Leica). As lâminas foram montadas e desparafinadas em estufa a 60°C, por 2 a 3 horas, antes de cada coloração.

3.1.3.3 Colorações

Para o estudo descritivo através de microscopia óptica, foram utilizadas as colorações de Hematoxilina – Eosina, Tricrômio de Masson e Picrosírius.

3.1.3.3.1 Hematoxilina – Eosina

Foi utilizada a coloração Hematoxilina – Eosina para estudar os aspectos histomorfológicos dos tecidos. Essencialmente, a hematoxilina cora bem os núcleos em azul ou preto, com um bom detalhamento intranuclear, enquanto a eosina cora o citoplasma e a maioria dos tecidos conjuntivos com variados tons de rosa (WILSON; GAMBLE, 2002).

Protocolo:

- Xilol I (10min.)
- Xilol II (10 min.)
- Alcool 100% (3min.)
- Alcool 95% (3 min.)
- Alcool 70 % (3 min.)
- H2O Corrente (3min.)
- Hematoxilina (8 min.)
- H2O Corrente (10 min.)
- Álcool Acido (1 banho)
- H2O Corrente (10 min.)
- H2O destilada (3 banhos)
- Eosina (1 min.)
- Alcool 95% (1 banho)
- Alcool 100% I (1 banho)
- Alcool 100% II (1 banho)
- Álcool Xilol (2 min.)
- Xilol I (2 min)
- Xilol II (2 min)

3.1.3.3.2 Tricrômio de Masson

Foi utilizada a coloração de Tricrômio de Masson para evidenciar a diferença de colágeno e músculo liso entre si, já que o colágeno se cora em azul ou verde, e o citoplasma do músculo se cora de vermelho ou rosa (KIERNAN, 2004; WILSON; GAMBLE, 2002).

Protocolo:

- Xilol I (5 min.)
- Xilol II (5 min.)
- Alcool 100% (5 min.)
- Alcool 95% (5 min.)
- Alcool 70 % (5 min.)
- H2O Destilada (5 min.)
- Hematoxilina (10min.)
- H2O Corrente (10min.)
- Solução A (10min.)
- H2O Destilada (5 min.)
- Solução B (10min.)
- Solução C (10min.)
- H2O Destilada (5 min.)
- Acido Acético (1 min.)
- H2O Destilada (5 min.)
- Alcool 95% (1 banho)
- Alcool 100% I (3 min.)
- Alcool 100% II (3 min.)
- Xilol I (5 min.)
- Xilol II (5 min.)

3.1.3.3.3 Picrosirius - Van Guinsson

Foi utilizada a coloração de Picrosirius por ser uma técnica que evidencia o colágeno muito bem. É uma solução de sirius red em ácido pícrico que cora o colágeno em vermelho com um fundo amarelado. Associou-se ao Van Guinsson para obter-se uma melhor diferenciação entre a célula muscular e o colágeno (KIERNAN, 2004).

Protocolo:

- Xilol I (15 min.)
- Xilol II (15 min.)
- Alcool Xilol (10min.)
- Alcool 100% I (10min.)
- Alcool 100% II (10min.)
- Alcool 95% I (10min.)
- Alcool 95% II (10min.)
- Alcool 70 % I (5 min.)
- Alcool 70 % II (5 min.)
- H2O Corrente (10min.)
- Picrosirius (10min.)
- H2O Corrente (5 min.)
- Van- Guinsson (5 min.)
- H2O Corrente (5 min.)
- Alcool 95% (2 banhos)
- Alcool 100% I (2 banhos)
- Alcool 100% II (2 banhos)
- Xilol I (5 min.)
- Xilol II (5 min.)

3.1.3.4 Material Fotográfico

Foram utilizados o microscópio OLYMPUS model BX60 e a câmera modelo AxioCam HCr, marca ZEISS. As fotomicrografias foram feitas através do programa KS400, 3.4, da marca ZEISS, ano 2000.

3.2 AVALIAÇÃO DE IMPLANTAÇÃO DE MANEJO ALIMENTAR APLICADO A DISFAGIA DO CÃO DISTRÓFICO

Foi avaliado a eficiência de um novo manejo alimentar direcionado a disfagia e ao megaesôfago do cão distrófico, afim de diminuir todas as conseqüências decorrentes desta problemática.

3.2.1 Delineamento Experimental

Participaram da avaliação da implantação deste novo manejo alimentar 9 cães afetados pela distrofia muscular, com idades variando de três meses a quarenta meses, provenientes da colônia GRMD – BRASIL, durante o período de um ano.

Todos receberam alimentação HILL'S® S/D seca, triturada, hidratada com água quente, oferecida como pasta cremosa, quatro vezes ao dia.

O alimento foi oferecido diretamente na boca, eliminando a fase de apreensão.

A posição dos animais durante as refeições variaram entre estação, decúbito esternal ou sentados em plano inclinado, de acordo com maior ou menor dificuldade individual gerada pela doença.

A água foi oferecida através de mangueira, diretamente na boca ou fixada em local elevado, de modo que o animal elevasse o pescoço para ingeri-la. Como alternativa, a água continuou sendo oferecida ao balde, na altura da articulação úmero-radio-ulnar.

Após cada refeição, oferecia-se água diretamente na boca, e então, retirava-se o acesso à água e restringia-se a atividade dos animais por um período de aproximadamente 30 minutos.

Os parâmetros de avaliação foram constatações dos seguintes dados clínicos do canil: ganho, manutenção ou perda de peso; ocorrências de desidratação clínica; ocorrências de pneumonias por aspiração; ocorrências de doenças infecciosas concorrentes; e ocorrências de óbitos.

4 RESULTADOS

Os resultados serão descritos em três seções: descrição macroscópica, descrição microscópica e avaliação da implantação do manejo alimentar.

4.1 DESCRIÇÃO MACROSCÓPICA

Neste estudo, os tubos digestórios de dois cães Golden Retriever afetados pela distrofia muscular foram abordados de modo que fossem avaliadas suas apresentações sintópicas, isto é, em relação aos outros órgãos.

A disposição geral das vísceras de ambos os animais apresentava-se seguindo o padrão comum normalmente encontrado no cão.

O esôfago de ambos os animais apresentava-se dilatado, espessado, flácido e com diâmetro duas a três vezes maior que o observado em animais normais (Figura 1A). Observou-se aumento da glândula salivar mandibular. O esôfago acompanhava a traquéia ao longo do pescoço, tendendo sempre para a esquerda até chegar ao tórax. Então, percorria o mediastino, passava pelo coração e, penetrava o hiato esofágico do diafragma, seguindo o curto trajeto abdominal, sobre a borda dorsal do fígado e unindo-se ao cárdia do estômago.

Não havia sinais de erosão nem ulcerações na mucosa esofágica.

O estômago de ambos os animais aparentava uma capacidade compatível com a raça, obedecendo ao padrão comum ao dos caninos (Figura 2). A porção

maior, corpo e fundo, estava localizada à esquerda do plano mediano, sob as costelas em contato direto com o fígado e o diafragma.

Em ambos, o fígado estava aumentado (Figura 2) e ultrapassava o bordo costal (Figura 3A, 4A).

O estômago de ambos os animais não ocupava seu lugar habitual. Tendia em direção ao hiato esofágico, projetando-se mais que o normal sobre o diafragma, em direção a cavidade torácica (Figura 3B e 4B). Em um dos animais o piloro tendia a se direcionar ao plano mediano (Figura 4B).

O estômago encontrava-se relacionado com o fígado por sua face cranial, mas tendia estar deslocado caudalmente e para a esquerda por este órgão em um dos animais (Figura 4B).

Em ambos os animais, o músculo diafragma apresentava-se atrofiado, principalmente na região central, enquanto a musculatura lateral formava pilares espessados. Assim, o centro tendíneo tendia a parecer mais amplo permitindo que o estômago se projetasse sob essa área em direção ao tórax. Não havia solução de continuidade na parede diafragmática (Figura 4A).

As pregas estomacais estavam presentes, e existiam alguns pontos hemorrágicos focais. Foram constatadas algumas pequenas úlceras solitárias redondas (2-3mm), na região de corpo e fundo, em ambos os animais. Havia alimento presente.

As alças do intestino delgado de ambos os animais apresentavam-se na posição sintópica normal, ocupando a posição da parte ventral da cavidade abdominal (Figura 4).

O duodeno relacionava-se com o fígado, na sua origem, e com o pâncreas. O jejuno e íleo encontravam-se ocupando a parte ventral da cavidade

abdominal. Apresentavam-se discretamente dilatados por gás, e com presença de alimento. O mesentério apresentou-se íntegro (Figura 5). Em um dos animais apresentou-se com os vasos ingurgitados devido ao óbito por parada cardíaca (Figura 5A).

Não havia sinais de irritação, erosões ou ulcerações na mucosa intestinal.

Todas as porções do cólon apresentavam-se na posição sintópica normal, em ambos os animais. O cólon apresentava um calibre uniforme e discretamente maior que o calibre do intestino delgado. Estava suspenso por todo seu comprimento pelo mesocólon. Apresentavam dilatadas por gás e havia presença de fezes.

Não havia sinais de irritação, erosões ou ulcerações na mucosa do cólon.

Figura 1 - Alterações Esofágicas no cão Golden Retriever afetado pela Distrofia Muscular. (A) Sintopia do esôfago cervical. Notou-se que o esôfago apresentou-se dilatado, espessado e aumentado de diâmetro (seta). Observou-se aumento da glândula salivar mandibular. (B) Observou-se infiltrado mononuclear com distribuição intersticial na camada muscular do esôfago (seta). Fibras musculares de diâmetros variados (*). Deposição de tecido conjuntivo (seta tracejada). Hematoxilina e Eosina; Aumento 10x Barra 200µm

Figura 2 - Estômago do cão Golden Retriever afetado pela Distrofia Muscular apresentado em relação ao seu fígado. (A) Estômago do animal B2M2 apresentava-se obedecendo o padrão comum ao dos caninos. (B) Fígado do animal B2M2 estava aumentado de volume. (C) Estômago do animal BR3M5 apresentava-se obedecendo ao padrão comum ao dos caninos. (D) Fígado do animal BR3M5, estava aumentado de volume

Figura 3- Sintopia do estômago no cão Golden Retriever afetado pela Distrofia Muscular (B2M2). (A) O fígado estava aumentado de volume e a vesícula biliar estava dilatada. As alças intestinais ocupavam a posição da parte ventral da cavidade abdominal. (B) O estômago encontrava-se relacionado com o fígado por sua face cranial e projetado mais que o normal sobre o diafragma, em direção a cavidade torácica (seta)

Figura 4 - Sintopia do estômago no cão Golden Retriever afetado pela Distrofia Muscular (BR3M5). (A) O fígado estava aumentado de volume e a vesícula biliar estava dilatada. As alças intestinais ocupavam a posição da parte ventral da cavidade abdominal. Nota-se como o centro tendíneo do diafragma apresenta-se mais amplo (seta). (B) O estômago encontrava-se relacionado com o fígado por sua face cranial mas tendia estar deslocado caudalmente e para a esquerda por este órgão, enquanto o piloro tendia a se direcionar ao plano mediano. Projetava-se mais que o normal sobre o diafragma, em direção a cavidade torácica (seta)

Figura 5 - Apresentação geral do trato intestinal do cão Golden Retriever afetado pela Distrofia Muscular. Nota-se em ambos animais o calibre uniforme das alças intestinais. Havia discreta dilatação por gás. Não havia lesões na serosa do tubo. (A) Animal B2M2 apresentou os vasos do mesentério ingurgitados de sangue devido ao óbito por parada cardíaca (setas). (B) Nota-se no animal BR3M5 que o baço (seta curta) e o pâncreas (seta longa) não apresentavam alterações macroscópicas dignas de nota

4.2 DESCRIÇÃO MICROSCÓPICA

As seguintes porções do trato gastrointestinal de dois cães Golden Retriever afetados pela distrofia muscular foram analisadas e descritas através da microscopia óptica: região torácica do esôfago, região de corpo e fundo do estômago, região pilórica do estômago, região de duodeno, região de jejuno, região de íleo, região de cólon ascendente e região de cólon descendente (Figura 6 e 7).

Os achados foram descritos na direção do lúmen para a serosa considerando as características estruturais comum à estrutura geral do tubo digestório.

4.2.1 Camada Mucosa

A camada mucosa apresentava-se constituída por epitélio de revestimento, lâmina própria e muscular da mucosa.

4.2.1.1 Revestimento Epitelial

Em ambos os animais:

O esôfago estava constituído por revestimento epitelial pavimentoso estratificado não corneificado.

O estômago, tanto na região de corpo e fundo quanto na região pilórica estava constituído por epitélio de tipo colunar simples que se invagina em direção à lâmina própria, formando as fossetas gástricas.

O intestino delgado apresentou projeções alongadas da mucosa, as vilosidades, em orientação normal.

Estava constituído por epitélio colunar simples, o qual continuava-se com o epitélio das glândulas tubulares simples intestinais.

O intestino grosso apresentou-se sem pregas e sem vilosidades. Estava revestido por epitélio colunar simples que se continuava com as glândulas tubulares simples longas.

4.2.1.2 Lâmina Própria

Em ambos os animais:

Na região observada do esôfago a lâmina própria apresentava-se constituída por tecido conjuntivo frouxo rico em vasos sanguíneos, vasos linfáticos e células musculares lisas.

Nas regiões observadas do estômago, a lâmina própria de tecido conjuntivo frouxo também se apresentou rica em vasos sanguíneos e linfáticos, células musculares lisas e agregados de células linfóides em proporções normais. Predominância de glândulas tubulares ramificadas foi observada na região de corpo e fundo, enquanto, glândulas tubulosas ramificadas e simples, foram observadas na região pilórica.

A lâmina própria das regiões observadas do intestino delgado albergava as glândulas tubulares simples intestinais. Estava constituída por tecido conjuntivo

frouxo rico em vasos sanguíneos e linfáticos, células musculares, fibras nervosas e nódulos linfóides. Observou-se a lâmina própria preencher o centro das vilosidades intestinais, onde células musculares lisas estão dispostas verticalmente entre a muscular da mucosa e a ponta das vilosidades (Figura 8).

A lâmina própria do intestino grosso estava constituída por tecido conjuntivo frouxo rico em vasos sanguíneos e linfáticos, no entanto notou-se maior presença de células e nódulos linfóides que algumas vezes se estendiam até a submucosa.

4.2.1.3 Camada Muscular da Mucosa

A camada muscular da mucosa apresentou-se como duas camadas delgadas de células musculares lisas, separando a camada mucosa da camada submucosa, em todas as porções do tubo digestório analisadas de ambos os animais.

4.2.2 Camada Submucosa

Em ambos os animais:

A camada submucosa do esôfago estava composta por tecido conjuntivo com muitos vasos sanguíneos, vasos linfáticos e estavam presentes as glândulas secretoras de muco.

A camada submucosa do estômago estava composta por tecido conjuntivo com muitos vasos sanguíneos, vasos linfáticos e encontrava-se infiltrado por células linfóides e macrófagos em proporções normais;

A camada submucosa do intestino delgado estava composta por tecido conjuntivo com muitos vasos sanguíneos, vasos linfáticos, mas a diferença apareceu no duodeno, que apresentava glândulas tubulares enoveladas ramificadas nessa camada, que se abriam nas glândulas intestinais. Observou-se plexo nervoso submucoso.

A camada submucosa do intestino grosso apresentou-se basicamente composta por tecido conjuntivo com muitos vasos sanguíneos, vasos linfáticos e plexo nervoso submucoso.

Figura 6 - Apresentação das camadas estruturais do tubo digestório do cão Golden Retriever afetado pela distrofia muscular. Notou-se abundante deposição de tecido conjuntivo entre as fibras musculares da camada muscular (setas) em (A) (B) (C) e (D). (A) Esôfago. HE. (B) Esôfago. Tricrômio de Masson. (C) Estômago. HE. (D) Estômago. Tricrômio de Masson. (E) Duodeno. HE. (F) Duodeno. Tricrômio de Masson. Aumento 10x. Barra 200µm

Figura 7 - Apresentação das camadas estruturais do tubo digestório do cão Golden Retriever afetado pela distrofia muscular. (A) Jejunum. HE. (B) Jejunum. Tricrômio de Masson. (C) Íleo. HE. (D) Íleo. Tricrômio de Masson. (E) Cólon Ascendente. HE. (F) Cólon Ascendente. Tricrômio de Masson. (G) Cólon Descendente. HE. (H) Cólon Descendente. Tricrômio de Masson. Aumento 10x. Barra 200 μ m

Figura 8– Células musculares lisas presentes nas vilosidades intestinais do cão Golden Retriever afetado pela Distrofia Muscular. As células musculares lisas dispunham-se verticalmente no interior das vilosidades. (A) Vilosidades intestinais do animal controle. (B). Vilosidades intestinais do animal BR3M5. Hematoxilina – Eosina. Aumento 20 x Barra 100µm

4.2.3 Camada Muscular

Em ambos os animais, ao longo do tubo, a camada muscular apresentou-se em duas subcamadas orientadas em direções distintas: a camada mais interna, com orientação circular, e a camada mais externa, com orientação longitudinal. Entre essas duas camadas observou-se o plexo nervoso mioentérico, e tecido conjuntivo, contendo vasos sanguíneos e vasos linfáticos.

A região do esôfago constituía-se de musculatura estriada, em ambos os animais, e observou-se abundante deposição de tecido conjuntivo entre as fibras musculares (Figura 6A e B). Havia diversas regiões com infiltrado mononuclear com distribuição intersticial (Figura 1B).

Na análise da apresentação comparativa da camada muscular da porção torácica do esôfago observou-se em ambos os animais que o colágeno apresentava-se de uma forma imatura, abundante, e havia notável presença de fibroblastos. As fibras musculares apresentavam-se com diâmetros variados. Nos cães afetados observou-se intensidade da ocorrência de tecido conjuntivo e fibras colágenas, em relação ao controle, evidenciada pelo contraste das colorações utilizadas (Figura 9).

A região observada do estômago estava composta por fibras musculares lisas, e apresentou, em ambos os animais, abundante deposição de tecido conjuntivo entre as fibras musculares (Figura 6C e D). O colágeno apresentava-se numa disposição mais densa, aparentando estar mais maduro e ordenado. Havia presença de fibroblastos. Havia perda da arquitetura e orientação normal esperada da camada. Evidenciou-se, através das colorações, a disposição mais grosseira da deposição de tecido conjuntivo entre as fibras musculares quando comparada à

disposição delicada das fibras musculares do animal controle (Figura 10 e 11). Observou-se que o animal mais velho possuía alterações mais grosseiras em relação ao mais novo.

Em ambos os animais a camada muscular do intestino delgado apresentou suas fibras musculares com disposições melhores orientadas, similares à camada muscular do animal controle. A malha de colágeno do endomísio das fibras musculares lisas dos animais afetados apresentou-se de modo delicado. Havia uma tendência à maior deposição de tecido conjuntivo entre as subcamadas musculares, principalmente ao redor dos vasos e dos plexos nervosos mioentéricos (Figura 12, 13 e 14).

E em ambos os animais a camada muscular do intestino grosso estava bem desenvolvida e também apresentou um comportamento tendendo ao normal, com as fibras musculares bem orientadas, com tendência à maior deposição de tecido conjuntivo entre as camadas musculares, principalmente ao redor dos vasos e dos plexos nervosos mioentéricos (Figura 15 e 16).

Notou-se que os animais apresentaram uma tendência a um discreto aumento de deposição de tecido conjuntivo entre as fibras musculares na região de íleo e cólon ascendente. No entanto, verificou-se que essas áreas não se evidenciaram com a coloração de picrosírius (Figura 14 e 15).

4.2.4 Camada Serosa

Ao longo de todo o tubo, em ambos os animais, a camada serosa estava constituída por uma delgada camada de tecido conjuntivo frouxo rico em vasos sanguíneos e linfáticos, tecido adiposo, e revestida por um epitélio pavimentoso simples, o mesotélio.

Figura 9 - Apresentação da camada muscular da região torácica do esôfago de cães Golden Retrievers afetados pela distrofia muscular em comparação a um cão não afetado controle. Coluna 1 (1A, 1B, 1C): cão distrófico B2M2; Coluna 2 (2A, 2B, 2C): cão normal controle; Coluna 3 (3A, 3B, 3C): cão distrófico BR3M5; A: Coloração Hematoxilina – Eosina; B: Coloração Tricrômio de Masson; C: Picrosírius – VanGieson. Aumento 60 x Barra 40 µm. Observou-se maior ocorrência de tecido conjuntivo e colágeno, em disposição mais grosseira, entre as fibras musculares da coluna 1 e 3 em comparação com a coluna 2, que apresentava disposição normal e delicada (setas). Observou-se maior ocorrência de diferença de diâmetro das fibras musculares na coluna 1 e 3 em comparação com a coluna 2 (*)

Figura 10 - Apresentação da camada muscular da região de corpo e fundo do estômago de cães Golden Retrievers afetados pela distrofia muscular em comparação a um cão não afetado controle. Coluna 1 (1A, 1B, 1C): cão distrófico B2M2; Coluna 2 (2A, 2B, 2C): cão normal controle; Coluna 3 (3A, 3B, 3C): cão distrófico BR3M5; A: Coloração Hematoxilina –Eosina; B: Coloração Tricrômio de Masson; C: Picrosírius-VanGieson. Aumento 60x. Barra 40 μ m. Observou-se maior ocorrência de tecido conjuntivo e colágeno denso em disposição mais grosseira entre as fibras musculares da coluna 1 e 3 em comparação com a coluna 2, que apresentava disposição normal, delicada e de difícil diferenciação (setas). Observou-se perda da arquitetura e orientação normal da camada muscular na coluna 1 e 3 em comparação com a coluna 2

Figura 11 - Apresentação da camada muscular da região pilórica do estômago de cães Golden Retrievers afetados pela distrofia muscular em comparação a um cão não afetado controle. Coluna 1 (1A, 1B, 1C): cão distrófico B2M2; Coluna 2 (2A, 2B, 2C): cão normal controle; Coluna 3 (3A, 3B, 3C): cão distrófico BR3M5; A: Coloração Hematoxilina –Eosina; B: Coloração Tricrômio de Masson; C: Picrosirius-VanGieson. Aumento 60x. Barra 40 μ m. Observou-se maior ocorrência de tecido conjuntivo e colágeno denso em disposição mais grosseira entre as fibras musculares da coluna em 1 e 3 em comparação com a coluna 2, que apresentava disposição normal, delicada e de difícil diferenciação (setas). Observou-se perda da arquitetura e orientação normal da camada muscular na coluna 1 em comparação com a coluna 2

Figura 12 - Apresentação da camada muscular da região de duodeno do intestino delgado de cães Golden Retrievers afetados pela distrofia muscular em comparação a um cão não afetado controle. Coluna 1 (1A, 1B, 1C): cão distrófico B2M2; Coluna 2 (2A, 2B, 2C): cão normal controle; Coluna 3 (3A, 3B, 3C): cão distrófico BR3M5; A: Coloração Hematoxilina -Eosina; B: Coloração Tricrômio de Masson; C: Picrosirius-VanGieson. Aumento 60 x. Barra 40 μ m. A coluna 1 e 3 apresentaram suas fibras musculares bem orientadas similares a orientação da coluna 2. A malha de colágeno do endomísio das fibras musculares lisas apresentaram-se também de modo delicado na coluna 1 e 3. Na coluna 1 e 3 houve maior tendência a deposição de tecido conjuntivo em região de vasos e nervos, entre as subcamadas musculares, em comparação com a coluna 2 (setas)

Figura 13 - Apresentação da camada muscular da região de jejuno do intestino delgado de cães Golden Retrievers afetados pela distrofia muscular em comparação a um cão não afetado controle. Coluna 1 (1A, 1B, 1C): cão distrófico B2M2; Coluna 2 (2A, 2B, 2C): cão normal controle; Coluna 3 (3A, 3B, 3C): cão distrófico BR3M5; A: Coloração Hematoxilina -Eosina; B: Coloração Tricrômio de Masson; C: Picrosirius-VanGieson. Aumento 60x. Barra 40 μ m. A coluna 1 e 3 apresentaram suas fibras musculares bem orientadas similares a orientação da coluna 2. A malha de colágeno do endomísio das fibras musculares lisas apresentaram-se também de modo delicado na coluna 1 e 3. Na coluna 1 e 3 houve maior tendência a deposição de tecido conjuntivo em região de vasos e nervos, entre as subcamadas musculares, em comparação com a coluna 2 (setas)

Figura 14 - Apresentação da camada muscular da região de íleo do intestino delgado de cães Golden Retrievers afetados pela distrofia muscular em comparação a um cão não afetado controle. Coluna 1 (1A, 1B, 1C): cão distrófico B2M2; Coluna 2 (2A, 2B, 2C): cão normal controle; Coluna 3 (3A, 3B, 3C): cão distrófico BR3M5; A: Coloração Hematoxilina –Eosina; B: Coloração Tricrômio de Masson; C: Picrosirius-VanGieson. Aumento 60x. Barra 40 μ m. A coluna 1 e 3 apresentaram suas fibras musculares bem orientadas similares a orientação da coluna 2. A malha de colágeno do endomísio das fibras musculares lisas apresentaram-se também de modo delicado na coluna 1 e 3. Na coluna 1 houve discreta tendência a deposição de tecido conjuntivo em região de vasos e nervos, entre as subcamadas musculares, em comparação com a coluna 2 (seta). Houve um aparente aumento de deposição tecido conjuntivo entre as fibras musculares na coluna 1 e 3 (cabeça de seta), e essas regiões não se evidenciaram com o corante Picrosirius

Figura 15 - Apresentação da camada muscular da região de cólon ascendente de cães Golden Retrievers afetados pela distrofia muscular em comparação a um cão não afetado controle. Coluna 1 (1A, 1B, 1C): cão distrófico B2M2; Coluna 2 (2A, 2B, 2C): cão normal controle; Coluna 3 (3A, 3B, 3C): cão distrófico BR3M5; A: Coloração Hematoxilina –Eosina; B: Coloração Tricrômio de Masson; C: Picrosirius-VanGieson. Aumento 60x. Barra 40 μ m. A coluna 1 e 3 apresentaram suas fibras musculares bem orientadas similares a orientação da coluna 2. A malha de colágeno do endomísio das fibras musculares lisas apresentaram-se também de modo delicado na coluna 1 e 3. Na coluna 3 houve maior tendência a deposição de tecido conjuntivo em região de vasos e nervos, entre as subcamadas musculares, em comparação com a coluna 2 (setas). Houve um aparente aumento de deposição tecido conjuntivo entre as fibras musculares na coluna 1 e 3 (cabeça de seta), e essas regiões não se evidenciaram com o corante Picrosirius

Figura 16 - Apresentação da camada muscular da região de cólon descendente de cães Golden Retrievers afetados pela distrofia muscular em comparação a um cão não afetado controle. Coluna 1 (1A, 1B, 1C): cão distrófico B2M2; Coluna 2 (2A, 2B, 2C): cão normal controle; Coluna 3 (3A, 3B, 3C): cão distrófico BR3M5; A: Coloração Hematoxilina –Eosina; B: Coloração Tricrômio de Masson; C: Picrosirius-VanGieson. Aumento 60x. Barra 40 μ m. A coluna 1 e 3 apresentaram suas fibras musculares bem orientadas similares a orientação da coluna 2. A malha de colágeno do endomísio das fibras musculares lisas apresentaram-se também de modo delicado na coluna 1 e 3. Na coluna 1 e 3 houve maior tendência a deposição de tecido conjuntivo em região de vasos e nervos, entre as subcamadas musculares, em comparação com a coluna 2 (setas)

4.3 AVALIAÇÃO DE IMPLANTAÇÃO DE MANEJO ALIMENTAR APLICADO A DISFAGIA DO CÃO DISTRÓFICO

Os nove cães se adaptaram rápido ao novo método de alimentação (Figura 17).

As seguintes constatações foram obtidas: Todos os cães mantiveram seus pesos corpóreos; Não ocorreram desidratações clínicas; Não ocorreram casos de doenças infecciosas; Ocorreram apenas dois casos de pneumonia por aspiração; e não ocorreram óbitos.

Diminuiu-se a presença de alimento regurgitado no ambiente e no utensílio de água.

Dos nove cães, os três animais adultos finalizaram o período com o mesmo peso do início da avaliação. Durante o ano ocorreram variações de até +/- 2,0 Kg. Dois animais iniciaram o programa com três meses de idade e atingiram o peso corporal esperado para os cães afetados pela distrofia muscular (20 kg +/- 2,0 kg).

Dos quatro animais jovens, que ainda precisavam completar fase do crescimento, dois atingiram peso corporal esperado para os cães afetados pela distrofia muscular. E dois animais, que manifestavam maior grau de severidade da doença, atingiram pesos inferiores ao esperado, no entanto sempre mantiveram seus pesos durante a avaliação.

As pneumonias por aspiração foram tratadas com antibioticoterapia a base de penicilinas por sete dias e tiveram boa resolução.

Os animais mais novos, no fim do período avaliado, tinham 15 meses, enquanto o mais velho tinha 52 meses.

Figura 17 - Seqüência de uma refeição do novo manejo alimentar implantado. (A) Animal BR3M7 aos 4 meses, alimentado sob o manejo antigo. (B) Animal BR3M7 aos 12 meses, alimentado com o atual manejo. Eliminou-se a fase de apreensão. O alimento hidratado é oferecido diretamente na boca, e o animal posiciona-se em plano inclinado. (C) Animal BR3M7 recebe água logo após a refeição, diretamente na boca. (D) Restante do grupo de cães afetados recebem água na boca após a refeição. (E) Restrição de atividade e descanso após cada refeição. (F) A água continuou sendo oferecida ao balde elevado, fora dos períodos das refeições. Animal BR3M7 apresenta dificuldade em apreender e deglutir a água. Nota-se abundante sialorréia

5 DISCUSSÃO

Os resultados avaliados serão discutidos em duas seções: avaliação macroscópica em conjunto com a avaliação microscópica e a seguir discutir-se-á a avaliação da implantação do manejo alimentar.

5.1 AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA E MICROSCÓPICA

Por se tratar de estudo de sujeitos únicos, devido ao baixo número de animais afetados por esta doença rara e que vieram a óbito, devemos considerar que existam variações individuais afetando as conclusões deste estudo. Vainzof e Zatz (2003) já relataram que indivíduos humanos com distrofias musculares apresentam variabilidade clínica inter e intrafamiliar.

O esôfago de ambos animais apresentava-se dilatado, espessado, flácido e com diâmetro duas a três vezes maior que o observado em animais normais. Esses resultados reforçam os achados apontados por Hulland (2003), Miyazato (2005) e Valentine et al. (1990a).

Como coloca Valentine et al. (1988), o fato do músculo esofágico do cão ser composto por musculatura estriada pode predispor-lo a sofrer maiores alterações nesta região quando afetado pela distrofia muscular.

Segundo a classificação para megaesôfago de Washabau (2004), o megaesôfago encontrado na GRMD pode ser incluído como adquirido secundário, já que está associado à evolução da distrofia muscular.

O trajeto esofágico obedeceu ao trajeto anatômico normal (DYCE, 2004; ELLENPORT, 2000; EVANS, 1993; NICKEL et al., 1979). Apresentou-se tendendo mais para a esquerda que a ocorrência em animais normais, provavelmente devido ao seu tamanho aumentado.

O estômago de ambos os animais não ocupava seu lugar habitual como descrito em literatura (DYCE, 2004; ELLENPORT, 2000; EVANS, 1993). Projetava-se mais que o normal sobre o diafragma, em direção a cavidade torácica. Assim como Dyce (2004) considera que a disposição geral das vísceras é determinada pela forma da cavidade em que são mantidas, e como a cavidade peritoneal é hermeticamente vedada, segue-se que qualquer alteração na posição ou contorno de um órgão deva ser acompanhada por uma alteração recíproca em uma área adjacente. Desta forma encontramos aqui uma situação patológica na qual o fígado aumentado desloca o estômago para a esquerda e este procurando espaço, encontra facilidade em acomodar-se sob o músculo diafragma, que cede, pois está sofrendo os efeitos da distrofia muscular.

O diafragma apresentou-se muito degenerado como descrito por Myiazato (2005) e Valentine et al. (1990) que apontam que seja um dos músculos mais afetados pela distrofia muscular. No entanto, não foram encontradas soluções de continuidade na parede diafragmática como observado por Myiazato (2005). Mas fica claro que os animais estão predispostos a sofrer ruptura, já que apresentavam significativa hérnia diafragmática, isto é, o estômago encontrava-se muito projetado sob um centro tendíneo frágil.

Neste estudo foram constatados algumas pequenas úlceras redondas no estômago e alguns pontos hemorrágicos focais. Myiazato (2005) relata que era comum a todo seu grupo estudado a presença de pontos hemorrágicos em toda a

superfície gástrica. Uma vez que a presença destes pontos possa indicar uma situação de gastrite, essa diferença de achados pode decorrer do fato das coletas terem sido realizadas em períodos diferentes, já que os animais estudados pelo autor pertenciam ao mesmo grupo dos animais do presente estudo. Assim, naquele grupo, os animais estavam sujeitos ao antigo manejo, e a maioria veio a óbito após um período de inanição, desidratação e tratamentos com diversos fármacos. Os animais necropsiados no presente estudo vieram a óbito de uma maneira aguda, não restando tempo para sofrer os efeitos que o estresse possa causar, como gastrites e úlceras gástricas.

Outro fato que pode levar em conta essa abordagem é o achado de 100% de alças intestinais dilatadas e repletas de fezes por Myiazato (2005). Isto pode ter ocorrido mais pelo efeito de íleo adinâmico, devido à ativação da inervação simpática, ocasionada pelo estresse e dor, como afirma Van Kruiningen (1998), do que pela esperada degeneração da camada muscular lisa, como sugerido por Myiazato (2005). No presente estudo, não foram observadas alterações intestinais tão drásticas, podendo ser atribuído novamente essa diferença aos períodos distintos de manejos a que foram submetidos os animais.

A estrutura histológica geral apresentava-se de maneira similar a de um animal normal, considerando os padrões que devem ter as camadas do tubo digestório (BANKS, 1992; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

O perfil da lesão esofágica ocorre, de certo modo esperado, semelhante às lesões descritas na patogenia do músculo estriado esquelético distrófico, apresentando irregularidades e desproporções nos tamanhos das fibras, variando entre atrofia e hipertrofia. Infiltrado mononuclear em fagocitose, com distribuição intersticial, é visto em regiões de fibras degeneradas e existe aumento de deposição

de colágeno no endomísio e perimísio de áreas focais (COZZI et al., 2001; HULLAND, 2003; VALENTINE et al., 1986, 1990a).

Como elucidado por Thompson (1983), a presença de fibroblastos, infiltrado mononuclear e fibras colágenas depositadas evidenciam o processo inflamatório caracterizado pela degeneração e regeneração que ocorre na doença (NGUYEN et al., 2002; VALENTINE et al., 1986).

O estômago, composto por musculatura lisa, apresentou lesão bastante severa, em contraste com o intestino, que não apresentou alterações patológicas significativas. Esse fato corrobora com os achados de Barohn (1988) e Leon (1986), que ao estudarem todo o trato digestório de humano DMD observaram a prevalência de degeneração e fibrose no esôfago e no estômago.

A deposição de tecido conjuntivo no esôfago e no estômago do cão afetado tende a ser grosseira, ocupando grande espaço entre as fibras, fazendo com que se perdesse a continuidade característica da arquitetura tubular digestória. Junqueira e Carneiro (2004) e Thompson (1983) afirmam que quando os tecidos são destruídos por lesão inflamatória ou traumática, os espaços resultantes destas lesões são preenchidos por tecido conjuntivo, na tentativa de devolver-lhe sua integridade anatômica, mas nem sempre a integridade funcional.

A diferença de severidade entre lesões que ocorrem na musculatura estriada e na musculatura lisa pode ser explicada pela distinta distribuição do complexo distrofina-glicoproteína existentes nesses dois tipos de musculatura. Byers (1991) mostrou que na musculatura lisa a distrofina marca-se menos abundantemente, apresentando-se num padrão descontínuo. Este autor sugere ainda que a distrofina possa desempenhar papéis diferentes em cada tipo muscular. Dessa forma, diante dos achados de alterações patológicas não significativas no

intestino, pode-se dizer que a ausência da proteína distrofina é menos crítica para a função muscular lisa no intestino como é para o músculo esquelético.

Ressalta-se que dos três tipos de tecidos musculares, a musculatura lisa parece se regenerar com maior facilidade (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004). Diante disto e somado à possível diferença da função da distrofina no músculo liso, este tipo de tecido muscular pode mesmo reagir de modo distinto aos efeitos da distrofia muscular.

Junqueira e Carneiro (2004) afirmam que as células musculares lisas, que compõe a camada muscular da mucosa e que se estendem às vilosidades, são responsáveis pelos seus movimentos rítmicos, importante para absorção de nutrientes. Uma vez que não se encontra lesão severa nestas células a função absorptiva não estaria tão afetada pela causa original da distrofia.

Mas porque estaria o estômago mais afetado que os intestinos, se ambas regiões são compostas por musculatura lisa? Pode explicar-se tal fato devido ao estômago localizar-se em porção anterior ao intestino e recebe o bolo alimentar ainda em estado grosseiro, devendo transformá-lo em quimo, através de atividade muscular (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004). Essa função exige maiores forças de contração do estômago do que é exigido pelo intestino. Além do que o estômago é uma região sujeita a grandes distensões e como afirma Gaiad (2006), movimentações freqüentes da musculatura, ao criar uma tensão de estiramento, podem resultar em aumento de área de colágeno no tecido muscular.

O colágeno apresentou-se numa disposição mais densa no estômago em relação à forma mais imatura encontrada no esôfago. Junqueira e Carneiro (2004) e Thompson (1983) explicam que o colágeno é removido constantemente e substituído por formas mais maduras. Isto indica que o estomago vem sofrendo uma

tensão de estiramento por um período prolongado, e sabe-se que é desde o nascimento. Esse fato é realçado quando se observou que o animal mais velho possuía alterações mais grosseiras no estomago em relação ao mais novo.

Através da análise dos cortes histológicos com a coloração de Tricrômio de Masson e Picrosirius foram localizadas nos animais afetados tanto áreas de maior deposição de tecido conjuntivo entre as fibras musculares quanto áreas com quantidade de tecido conjuntivo esperada para a região, quando comparado ao controle. Havia também uma tendência à maior deposição de tecido conjuntivo entre as subcamadas musculares, principalmente ao redor dos vasos e dos plexos nervosos mioentéricos dos animais afetados. Isto sugere um certo grau de degeneração em regiões focais, tendendo a aparecer lesões em locais que sofreram maiores distensões, contrações e trabalho, correlação existente na doença e já apontada por Nguyen et al. (2002) e Valentine (1991).

Notou-se que os animais apresentaram uma tendência a um discreto aumento de deposição de tecido conjuntivo entre as fibras musculares na região de íleo e cólon ascendente. No entanto, verificou-se que essas áreas não se evidenciaram com a coloração de Picrosírius, que marca bem colágeno (KIERNAN, 2004). Desta forma o corte pode estar sob efeito de artefatos causados por autólise do tecido, que segundo Thompson (1983), se assemelha com o processo de necrose.

5.2 AVALIAÇÃO DE IMPLANTAÇÃO DE MANEJO ALIMENTAR APLICADO A DISFAGIA DO CÃO DISTRÓFICO

Escolheram-se os parâmetros manutenção de peso, desidratação clínica, pneumonias por aspiração, doenças infecciosas e óbitos, pois em dados anteriores, eram de freqüentes ocorrências.

O manejo antigo a esta implantação foi observado e criticado a fim de que fosse traçado o novo plano de manejo. Algumas considerações acerca do manejo alimentar antigo talvez devam ser levadas em conta. Os animais viviam no mesmo ambiente e recebiam sua ração, dividida em quatro porções diárias, em suas vasilhas, normalmente elevadas na altura de suas articulações úmero-radio-ulnar. Deviam apreender o alimento por si só. Bebiavam água da mesma forma, ao balde.

O alimento era composto de ração HILL'S® S/D seca, amolecida. Faziam-se bolas do tamanho de laranjas, compactas, e oferecia-se nas vasilhas, *ad libitum*, inclusive à noite.

Observava-se grande quantidade de alimento envolto por saliva no pátio, nas baias e nos baldes de água, o que indicava grande freqüência de regurgitação. O alimento era encontrado em blocos envoltos por saliva.

Ficava claro que essa regurgitação mecânica ocorria devido à incapacidade do animal apreender efetivamente o alimento, movimentá-lo para a porção posterior da faringe e finalizar a deglutição. Observava-se nos animais elevado grau de dificuldade para elevar a cabeça e estender o pescoço e dessa forma o alimento escorregava pela boca, do mesmo modo relatado por Bergman et al. (2002).

Outra evidência que predispunha a regurgitação mecânica era o fato do animal buscar água freqüentemente para auxiliar no processo de deglutição do alimento. Assim, ao posicionar sua cabeça para apreender a água o alimento tendia a escorregar da boca.

Observou-se também que os animais dispunham grande parte de seu tempo tentando ingerir água. Ao mesmo tempo, eram freqüentes as ocorrências de desidratações e caquexias com o antigo manejo. Podia-se sugerir que estaria ocorrendo um déficit de energia, isto é, gastava-se mais energia calórica na tentativa de ingestão do alimento e da água, do que se ganhava de energia oferecida no alimento. Em observações noturnas podia-se constatar que o animal dispunha grande parte da noite tentando se alimentar e ingerir água. E na manhã seguinte, encontrava-se praticamente a mesma quantidade de alimento oferecida, perdido no interior do balde de água.

Eram freqüentes também a ocorrência de vômitos com estrias de sangue. No entanto, esses episódios não estavam relacionados com as refeições como relatado em pacientes humanos por Jaffe et al. (1990), que sentem azia e vomitam durante e logo após comerem.

De acordo com essas observações iniciou-se a implantação do novo manejo.

O megaesôfago adquirido secundário, segundo definido por Washabau (2004) foi caracterizado clinicamente pela disfagia, caracterizada pelos sinais cardeais apontados por Jeskins (2004): dificuldade crítica de apreensão; ptialismo; ansiedade; desconforto; regurgitação; ocorrências de pneumonias por aspiração esporádicas. A regurgitação logo após uma refeição, hálito fétido, perda de peso, também sugeriam megaesôfago. Em exames radiológicos observa-se distensão do

esôfago cervical. Tomou-se cuidado para diferenciar a regurgitação do vômito, este último ocorrendo após um esforço abdominal e ânsia (JESKINS, 2004).

Jaffe et al.(1990) e Liu et al. (2003) mostraram que pacientes humanos DMD experimentam disfagia. Segundo Liu et al. (2003), maneja-se este problema elevando-se a mesa e mantendo-se o tronco levemente inclinado para frente e sustentado por um cinto torácico.

Desta forma, aplicações de manejo para megaesôfago devem ser consideradas. Washabau (2004) aponta que a morbidade e mortalidade decorrente do megaesôfago idiopático e adquirido, permanecem inaceitavelmente elevadas, devido ao manejo errôneo, e assim vários animais sucumbem aos efeitos da subnutrição crônica e aos episódios repetidos de pneumonia por aspiração.

Como descrito por Washabau (2004), começou-se a fornecer com frequência pequenas porções de uma dieta de alto valor calórico aos animais acometidos. Providenciou-se para que fossem mantidos em posição elevada ou eretos, a fim de favorecer a drenagem do alimento pelo esôfago com o auxílio da gravidade, sem depender apenas da peristalse.

O fracionamento da ração diária tem diversas implicações. A primeira implicação reside no fato desses animais estarem predispostos à hérnia diafragmática, como relatado por Myiazato (2005), portanto o estômago não deve ser sobrecarregado. A segunda implicação deve-se ao fato de que a atividade de alimentar-se é extenuante, e pode ser atenuada se dividida em maiores números de vezes. E a última implicação é o fato da doença ser do tipo crônica e degenerativa, e segundo Goldstein (1989), prevalece o hipermetabolismo catabólico com demanda aumentada de nutrientes. Diante disto, devem-se oferecer nutrientes em períodos mais freqüentes evitando longos tempos de jejum.

Considerando a afirmação de Willig et al. (1994) de que as dificuldades nas fases da deglutição podem ser melhoradas pela adaptação da consistência do alimento, outra meta traçada foi a incorporação de água quente na ração de modo que obtivesse uma consistência para provocar o mínimo de sinais clínicos como abrasão e falsa via, e ao mesmo tempo, tivesse um teor de água suficientemente alto para abaixar as necessidades diárias de ingestão de água. Conforme o estudo de Case (1998), a quantidade de água presente no alimento pode afetar de forma significativa a ingestão voluntária de água. Se o conteúdo hídrico do alimento for muito elevado, os cães serão capazes de manter um equilíbrio hídrico normal sem necessidade de ingerir muita água adicional. Isso é vantajoso uma vez que a ingestão de água por estes animais afetados os predispõe a pneumonias por aspiração.

E, de fato, verificou-se a ausência de casos de desidratação clínica e a diminuição de ocorrências de pneumonias por aspiração.

Outra alteração no manejo foi evitar que os animais buscassem a água imediatamente após a refeição, já que esta continuava a ser oferecida ao balde. Logo após a refeição era oferecida água da mangueira diretamente na boca, para fazer com que o animal elevasse o pescoço e o alimento tendesse à direção aboral por gravidade. Após, restringia-se o acesso à água para evitar a regurgitação mecânica. De fato, observou-se praticamente ausência de alimento nos baldes, uma vez que os animais tinham acesso à água após o alimento ter seguido seu curso aboral.

Fez parte do plano de manejo restringir também o exercício após cada refeição, para que a hiperemia pós prandial intestinal fosse otimizada, pois este evento fisiológico é importante para promover a função mucosa de secreção e

absorção, já que aumenta a oferta de oxigênio para as células epiteliais, conforme elucida Chou (1994). Sabe-se que o fluxo sanguíneo do estômago, pâncreas e intestino grosso diminui sob a mais baixa intensidade de exercício (MUSH et al., 1987).

De fato, houve no período avaliado, manutenção dos pesos. Estes achados corroboram com os de Goldstein (1989), que ao aumentar o aporte calórico e protéico através de tubo e administração noturna, obtiveram de seus pacientes ganhos de peso e de circunferência muscular do braço. Aqui se considera a manutenção do peso como um fator positivo, já que entre os animais estudados, sete se aproximaram do peso adulto esperado para a raça, e dois animais que apresentavam pesos baixos ao menos se equilibraram, suportando os efeitos da doença. A variação de peso $\pm$ 2kg eram periódicas e coincidiam com épocas de cio e calor intenso.

Não foram observados casos clínicos de distensão abdominal e dilatação gástrica aguda como comumente observa-se em humanos DMD (BAROHN et al., 1988; CHUNG et al., 1998; JAFFE et al., 1990; LEON et al., 1986)

Constipações, segundo Nowak (1982), relatado em humanos, não são vistas clinicamente nos cães afetados, no entanto as fezes normalmente estão muito ressecadas, provavelmente devido ao restrito aporte hídrico, e desta forma constipações ocorreriam devido ao ressecamento fecal.

Vômitos eram comuns apenas no manejo antigo, mas não pareciam estar relacionados com o momento da refeição e sim com esofagites e gastrites concorrentes. Sob este novo manejo, raríssimas foram as ocorrências de vômitos, sugerindo que o fator estresse estaria diminuído. Desta forma, terapias com

procinéticos e protetores de mucosa para esofagites e gastrites, como indicada por Washabau (2003) não foram necessárias, pois não tiveram ocorrências.

Da mesma forma, doenças infecciosas foram de ocorrência rara, indicando reflexo positivo do sistema imune, sugerindo que o fator estresse, que prejudicaria a imunidade, estaria novamente diminuído.

Ressalta-se que não ocorreram óbitos no período de implantação do manejo avaliado, e que anteriormente, os animais vinham a óbito comumente aos 14 meses e ao final da avaliação o mais jovem tinha 15 meses enquanto que o mais velho tinha 52 meses.

Assim, tanto em humanos quanto em cães afetados, o manejo torna-se especialmente importante para prevenir complicações e melhorar o bem estar e qualidade de vida do paciente (LIU et al., 2003; STROBER, 2006).

6 CONCLUSÕES

1. O esôfago e o estômago aparecem como as porções mais afetadas do tubo digestório. As alterações ocorrentes no esôfago são semelhantes às alterações descritas na patogenia do músculo estriado esquelético distrófico. Pode-se atribuir o fato do esôfago do modelo canino GRMD apresentar alterações muito severas, refletindo na sua funcionalidade, devido à constituição por músculo estriado em toda a totalidade do esôfago canino, ao contrário do esôfago do humano, que apresentará substituição por músculo liso em algum ponto.

Pode-se classificar o megaesôfago que ocorre no cão afetado GRMD como megaesôfago adquirido secundário, já que o cão o manifesta após certa progressão da doença.

No cão afetado GRMD, o estômago tende a não ocupar a sua localização habitual. Existe a tendência da situação patológica na qual o fígado aumentado desloca o estômago para a esquerda e este procurando espaço, encontra facilidade em acomodar-se sob o músculo diafragma, que cede, pois está sofrendo os efeitos da distrofia muscular. Existe predisposição para ocorrências de hérnias diafragmáticas com ou sem rupturas.

2. Não há perda da estrutura histológica geral, isto é, das camadas esperadas que compõe a arquitetura do tubo digestório. A diferença de severidade entre lesões que ocorrem na musculatura estriada e na musculatura lisa pode ser devida à distribuição distinta do complexo distrofina-glicoproteína existentes nesses dois tipos de musculatura. Diante dos achados de alterações patológicas não significativas no intestino, pode-se dizer que a ausência da proteína distrofina seja

menos crítica para a função muscular lisa no intestino como é para o músculo esquelético.

3. Pode-se dizer que a função absorptiva não estaria tão afetada pela causa original da distrofia, uma vez que não haja tendência a ocorrer lesão severa nas fibras musculares lisas. As delgadas camadas que compõe a camada muscular da mucosa, e que se estendem às vilosidades sendo responsáveis pelos seus movimentos rítmicos, mantêm-se histologicamente íntegras, no entanto estudos funcionais deverão ser realizados para avaliar a função absorptiva.

4. O estômago estaria mais afetado que o intestino devido ao fato de localizar-se em porção anterior ao intestino, receber o bolo alimentar ainda em estado grosseiro e por exercer maiores forças de contração para transformá-lo em quimo. O estômago é uma região sujeita a grandes distensões desde o nascimento e sofre grandes tensões de estiramento, o que pode resultar em maiores aumentos de área de colágeno no tecido muscular, e tende estar correlacionado à idade.

5. No cão afetado GRMD, a apreensão é uma fase muito crítica, mas houve significativas respostas quando esta etapa foi substituída por auxílio humano. A regurgitação mecânica tendeu a zero e o aporte nutricional passou a seguir seu curso aboral.

6. Pode-se dizer que o modo como foram oferecidos o alimento e água preveniu o aparecimento de pneumonias por aspiração. Pode-se afirmar que a quantidade de água adicionada ao alimento seco foi suficiente para manter os animais hidratados. Ao mesmo tempo, diminuiu a necessidade de ingestão de água voluntária, o que preveniu a ocorrência de pneumonias por aspiração, regurgitação mecânica e gasto energético excessivo.

7. A importância do fracionamento da ração diária é: 1. Evitar a distensão excessiva do estômago; 2. Prevenir hérnias diafragmáticas; 3. Evitar esforços extenuantes dispensados na alimentação, devido a disfagia; 4. Oferecer nutrientes e energia de forma mais freqüente; e 5. Evitar longos períodos de jejum.

8. Ausência de vômitos por esofagites e gastrites, ausência de ocorrências de doenças infecciosas, disposição alerta dos cães, manutenção do peso, ausência de estresse por ansiedade da disfagia, tudo pode refletir em equilíbrio e fortalecimento do sistema imune após implantação deste manejo.

9. Tanto em humanos quanto em cães afetados, o manejo torna-se especialmente importante para prevenir complicações e manter equilíbrio e suporte perante a doença. O manejo atual determinou manutenção de pesos, ausência de desidratação clínica e ausência de óbitos, sendo assim indicado como manejo base para otimizar que o paciente tenha sua vida prolongada com bem estar e qualidade.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

ADAM, W. S.; CALHOUN, M. L.; SMITH, E. M.; STINSON, A. W. **Microscopic anatomy of the dog**. Springfield: Charles C. Thomas, 1970. 291p.

ANDERSON, W. D.; ANDERSON, B. G. **Atlas of canine anatomy**. Philadelphia: Lea e Fibiger, 1994. 1230 p.

BANKS, W. J. **Histologia veterinária aplicada**. 2. ed. São Paulo: Manole, 1992. 655p.

BAROHN, R. J.; LEVINE, E. J.; OLSON, J. O.; MENDELL, J. R. Gastric hypomotility in duchenne's muscular dystrophy. **The New England Journal of Medicine**, v. 319, p. 15-18, 1988.

BATCHELOR, C. L.; WINDER, S. J. Sparks, signals and shock absorbers: how dystrophin loss causes muscular dystrophy. **TRENDS in Cell Biology**, v.16, n. 4, p. 198-205, 2006.

BERGMAN, R. L.; INZANA, K. D.; MONROE, W. E.; SHELL, L. G.; LIU, L. A.; ENGVALL, E.; SHELTON, G. D. Dystrophin-deficient muscular dystrophy in a Labrador retriever. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 38, p. 255-261, 2002.

BORRELLI, O.; SALVIA, G.; MANCINI, V.; SANTORO, L.; TAGLIENTE, F.; ROMEO, E. F.; CUCCHIARA, S. Evolution of gastric electrical features and gastric emptying in children with duchenne and becker muscular dystrophy. **American Journal of Gastroenterology**, v.100, p. 695-702, 2005.

BYERS, T. J.; KUNKEL, L. M.; WATKINS, S. C. The subcellular distribution of dystrophin in mouse skeletal, cardiac, and smooth muscle. **The Journal of Cell Biology**, v. 115, p. 411-421, 1991.

CASE, L. P.; CAREY, D. P.; HIRAKAWA, D. A. **Nutrição canina e felina: manual para profissionais**. 1. ed. Madrid: Harcourt Brace, 1998. 424 p.

CHOU, C. C.; COATNEY, W. Nutrient-induced changes in intestinal blood flow in the dog. **British Veterinary Journal**, v. 150, n. 5, p. 423-437, 1994.

CHUNG, B. C.; PARK, H. J.; YOON, S. B.; LEE, H. W.; KIM, K. W.; LEE, S. I.; PARK, I. S. Acute gastroparesis in Duchenne's muscular dystrophy. **Yonsei Medical Journal**, v. 39, n. 2, p. 175-179, 1998.

COOPER, B. J.; WINAND, N. J.; STEDMAN, H.; VALENTINE, B. A.; HOFFMAN, E. P.; KUNNEL, L. M.; SCOTT, M. O.; FISCHBECK, K. H.; KORNEGAY, J. N.; AVERY, R. J. The homologue of the Duchenne locus is defective in X-linked muscular dystrophy of dogs. **Nature**, v. 334, p. 154-156, 1988.

COZZI, F.; CERLETTI, M.; LUVONI, G. C.; LOMBARDO, R.; BRAMBILLA, P. G.; FAVERZANI, S.; BLASEVICH, F.; CORNELIO, F.; POZZA, O.; MORA, M. Development of muscle pathology in canine X-linked muscular dystrophy. II. Quantitative characterization of hystopathological progression during postnatal skeletal muscle development. **Acta Neuropathology**, v.101, p. 469-478, 2001.

DIDIO, L. J. A. Variação anatômica. In: GETTY, R. **Sisson/Grossman anatomia dos animais domésticos**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1986. v.1, 1134 p.

DYCE, K. M.; SACK, W. O.; WENSING, C. J. G. **Tratado de anatomia veterinária**. 3. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004. 813 p.

ELLENPORT, C. R. Sistema digestivo. In: GETTY, R. **Sisson/Grossman anatomia dos animais domésticos**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1986. v.2, 864 p.

EVANS, H. E. **Miller's anatomy of the dog**. 3. ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1993. 1113 p.

GAIAD, T. P. **Influência da fisioterapia na função motora e histopatologia da fibra muscular esquelética no modelo Golden Retriever Muscular Dystrophy (GRMD)**. 2006. 98 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

GOLDSTEIN, M.; MEYER, S.; FREUND, H. R. Effects of overfeeding in childrens with muscle dystrophies. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v.13, n. 6, p. 603-607, 1989.

HOFFMAN, E. P.; HUDECKY, M. S.; ROSEMBERG, P. A.; POLLINA, C. M.; KUNKEL, L. M. Cell and fiber-type distributions of dystrophin. **Neuron**, v.1, p. 411-420, 1988.

HOSKINS, J. D.; HENK, W. G.; ABDELBAKI, Y. Z. Scanning electron microscopic study of the small intestine of dogs from birth to 337 days of age. **American Journal of Veterinary Research**, v. 43, p. 1715-1720, 1982.

JAFFE, K. M.; MC DONALD, C. M.; INGMAN, E.; HASS, J. Symptoms of upper gastrointestinal dysfunction in duchenne muscular dystrophy: case control. **Archives of Physical Medicine and Rehabilitation**, v. 71, p. 742-744, 1990.

HULLAND, J. H. Muscle and Tendon. In: JUBB, K. V. F.; KENNEDY, P. C.; PALMER, N. (Ed.). **Pathology of domestic animals**. 4. ed. San Diego: Academic Press, 2003. v. 1, 780 p.

JESKINS, C. C. Disfagia e regurgitação. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. (Ed.) **Tratado de medicina interna veterinária**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. v. 1, 1039 p.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica : texto e atlas**. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2004. 488 p.

KIERNAN, J. A. **Histological and histochemical methods: theory and practice**. 3. ed. London: Arnold, 2004. 502 p.

KORNEGAY, J. N.; SHARP, N. J.; BARTLETT, R. J.; VAN CAMP, S. D.; BURT, C. T.; HUNG, W. Y.; KWOCK, L.; ROSES, A. D. Golden retriever muscular dystrophy: monitoring for success. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 280, p. 267- 272, 1990.

KORNEGAY, J. N.; SHARP, N. J.; SCHUELER, R. O.; BETTS, C. W. Tarsal joint contracture in dogs with golden retriever muscular dystrophy. **Laboratory Animal Science**, v. 44, p. 331-333, 1994.

KORNEGAY, J. N.; TULER, S. M.; MILLER, D. M.; LEVESQUE, D. C. Muscular dystrophy in a litter of golden retriever dogs. **Muscle Nerve**, v. 11, p. 1056-1064, 1988.

LEON, S. H.; SCHUFFLER, M. D.; KETTLER, M.; ROHRMANN, C. A. Chronic intestinal pseudoobstruction as a complication of duchenne's muscular dystrophy. **Gastroenterology**, v. 90, p. 455-459, 1986.

LIU, J. M. K.; OKAMURA, C. S.; BOGAN, D. J.; BOGAN, J. R.; CHILDERS, M. K.; KORNEGAY, J. N. Effects of prednisone in canine muscular dystrophy. **Muscle Nerve**, v. 30, p. 767-773, 2004.

LIU, M.; MINEO, K.; HANAYAMA, K.; FUJIWARA, T.; CHINO, N. Practical problems and management of seating through the clinical stages of Duchenne's muscular dystrophy. **Archives of Physical Medicine and Rehabilitation**, v. 84, p. 818-824, 2003.

MARQUES, M. J. Structural biology of the dystrophin-deficient muscle fiber. **Brazilian Journal Morphology Science**, v. 21, n. 3, p.145-152, 2004.

MUSCH, T. I.; FRIEDMAN, D. B.; PITETTI, K. W.; HAIDET, G. C.; STRAY-GUNDERSEN, J.; MITCHELL, J. H.; ORDWAY, G. A. Regional distribution of blood flow of dogs during graded dynamic exercise. **Journal of Applied Physiology**, v. 63, p. 2269-2277, 1987.

MYIAZATO, L. G. **Distrofia Muscular no Golden Retriever**. 2005. 82 f. Dissertação (Mestrado em Patologia Animal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2005.

MYIATAKE, M.; MIIKE, T.; ZHAO, J. E.; YOSHIOKA, K.; UCHINO, N.; USUKU, G. Dystrophin: localization and presumed function. **Muscle Nerve**, v. 14, p. 113-119, 1991.

MYIATAKE, M.; MUKE, T.; ZHAO, J.; YOSHIOKA, K.; UCHINO, N.; USUKU, G. Possible systemic smooth muscle layer dysfunction due to a deficiency of dystrophin in DMD. **Journal Neurological Science**, v. 93, p. 11-17, 1989.

NGUYEN, F.; CHEREL, Y.; GUIGAND, L.; GOUBAULT-LEROUX, I.; WYERS, M. Muscle lesions associated with dystrophin deficiency in neonatal Golden Retriever puppies. **Journal of Comparative Pathology**, v. 126, p. 100-108, 2002.

NICKEL, R.; SCHUMMER, A.; SEIFERLE, E. **The viscera of the domestic mammals**. 2. ed. Berlin:Parey, 1979. 401 p.

NOORDEN, M. H. H.; HADDAD, F. S.; MUNTONI, F.; GOBBI, P.; HOLLYER, J. S.; BENTLEY, G. Blood loss in duchene muscular dystrophy: vascular smooth muscle dysfunction? **Journal of Pediatric Orthopaedics Part B**, v. 8, n. 3, p. 212-215, 1999.

NOWAK, T. V.; IONASESCU, V.; ANURAS, S. Gastrointestinal manifestations of the muscular dystrophies. **Gastroenterology**, v. 82, p. 800-810, 1982.

PAUSEN, D. B.; BUDDINGTON, K. K.; BUDDINGTON, R. K. Dimensions and histologic characteristics of the small intestine of dogs during postnatal development. **American Journal of Veterinary Research**, v. 64, n. 5, p. 618-626, 2003.

RONNBLON, A.; DANIELSSON, A. Hereditary muscular diseases and symptoms from the gastrointestinal tract. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, v.1, p. 1-4, 2004.

SKANDALAKIS, J. E. Musculature of the alimentary tract. **World Journal of Surgery**, v. 24, n. 4, p. 391-394, 2000.

STROBER, J. B. Therapeutics in duchenne muscular dystrophy. **The American Society for Experimental NeuroTherapeutics**, v. 3, n. 2, p. 225-234, 2006.

SWENSON, M. J.; REECE, W. O. (Ed.). **Dukes fisiologia dos animais domésticos**. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. 856 p.

TAMEYASU, T.; OGURA, S.; OGIHARA, K. The effect of e-, i-, and n-nitric oxide synthase inhibition on colonic motility in normal and muscular dystrophy (mdx) mice. **Japanese Journal of Physiology**, v. 54, n. 6, p. 555-566, 2004.

THOMPSON, R. G. **Patologia geral veterinária**. 1. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1983. 412 p.

VAINZOF, M.; ZATZ, M. Protein defects in neuromuscular diseases. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 36, p. 543–555, 2003.

VALENTINE, B. A.; BLUE, J. T.; SHELLEY, S. M.; COOPER, B. J. Increased serum alanine aminotransferase activity associated with muscle necrosis in the dog. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 4, p. 140-143, 1990b.

VALENTINE, B. A.; COOPER, B. J. Canine X-linked muscular dystrophy: selective involvement of muscle in neonatal dogs. **Neuromuscular Disorders**, v. 1, p. 31-38, 1991.

VALENTINE, B. A.; COOPER, B. J.; CUMMINGS, J. F.; DELAHUNTA, A. Canine X-linked muscular dystrophy: morphologic lesions. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 97, p. 1-23, 1990a.

VALENTINE, B. A.; COOPER, B. J.; CUMMINGS, J. F.; DELAHUNTA, A. Progressive muscular dystrophy in a golden retriever dog: light microscope and ultrastructural features at 4 and 8 months. **Acta Neuropathological (Berl)**, v. 71, p. 301-310, 1986.

VALENTINE, B. A.; COOPER, B. J.; DELAHUNTA, A.; O'QUINN, R.; BLUE, J. T. Canine X-linked muscular dystrophy. An animal model of Duchenne muscular dystrophy: clinical studies. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 8, p. 869-881, 1988.

VALENTINE, B. A.; WINAND, N. J.; PRADHAN, D.; MOISE, N. S.; DELAHUNTA, A.; KORNEGAY, J. N.; COOPER, B. J. Canine x-linked muscular dystrophy as an animal model of duchenne muscular dystrophy: a review. **American Journal of Medical Genetics**, v. 42, p.352-356, 1992.

VAN KRUININGEN, H. J. Sistema Gastrointestinal. In: CARLTON, W. W.; MC GAVIN, M. D. **Patologia veterinária especial de Thompson**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 1998. 672 p.

WASHABAU, R. J. Doenças do esôfago. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. (Ed.). **Tratado de medicina interna veterinária**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. v. 2, 1117 p.

WASHABAU, R. J. Gastrointestinal motility disorders and gastrointestinal prokinetic therapy. **Veterinary Clinic Small Animal**, v. 33, p. 1007-1028, 2003.

WILLIG, T. N.; PAULUS, J.; LACAU SAINT GUILY, J.; BÉON, C.; NAVARRO, J. Swallowing problems in neuromuscular disorders. **Archives of Physical Medicine and Rehabilitation**, v. 75, p. 1175-1181, 1994.

WILSON, I.; GAMBLE, M. The hematoxilins and eosins. In: BRANCROTT, J. D.; GAMBLE, M. (Ed.). **Theory and practice of histological techniques**. 5. ed. London: Churchill Livingstone, 2002. 796 p.