

## Síndrome miodistrófico canino similar a la miodistrofia de Duchenne-Becker humana

Terranova, E.<sup>1</sup>

### RESUMEN

Se presenta un caso clínico de miodistrofia generalizada en un canino hembra Dastchund de 6 años, clínicamente similar a la Miodistrofia de Duchenne-Becker humana. El paciente presentó atrofia simétrica en músculos, axiales y en miembros posteriores a predominio de extensores y de tipo proximal. La signología se caracterizó por hiperreflexia con hipertonicidad, manteniendo sensibilidad y capacidad para deambular con marcha parética. Se descartaron alteraciones metabólicas, endócrinas, inflamatorias e infecciosas mediante la paraclínica correspondiente. Se realizaron determinaciones de niveles séricos de Aspartato Amino Transferasa (AST) y creatinfosfo-quinasa (CPK) a lo largo del tratamiento, hallándose niveles superiores al doble del máximo del rango normal. Se realizó biopsia muscular aplicando técnicas: Hematoxilina-Eosina, NADHdiaforasa y Tricómico de Gomori modificada por Engel. Se observó alteración del diámetro de fibras con ligera hialinización. No se observó agrupamiento por tipo de fibras, alteraciones del condrioma ni infiltración leucocitaria. Presentó aumento de tejido conectivo endomisial y adiposo. Analizando el pedigree del sujeto, se logró rastrear la historia clínica del padre y las filiales 1 y 2 (una hija y nietos). Se presentó el síndrome en el padre y los nietos machos. En ambas situaciones la evolución fue mortal. Teniendo presente que tanto la miodistrofia de Duchenne como la de Becker son enfermedades genéticas ligadas al cromosoma X (Xp21), la presencia del síndrome en los machos de la familia del sujeto son compatibles con ésta característica. Se ha descrito además la ocurrencia de la enfermedad en hembras portadoras homocigotas, cursando en forma crónica y con menor malignidad. El paciente estudiado concuerda con ésta descripción. En base a la signología y a la paraclínica, se plantea el diagnóstico de síndrome miodistrófico de similares características a la enfermedad de Duchenne-Becker en la especie canina.

Palabras Clave: *Miodistrofia, Duchenne-Becker, Canino.*

### SUMMARY

A Duchenne-Beckerlike Myodistrophy on dog is being present about a Dastchund female six years old.

The subject had symetric muscle atrophy on crannial and neck groups as well as proximal atrophy of extensor hindlimbs muscles. The signals were hyperreflexia with muscle hypertonic response of affected areas keeping deambulatory capacity, therefore it was parathic.

Methabological, endocrine, inflammatory and infectious related diseases were discharted by agreeing paraclinical tests.

Creatin Phosphokinase (CPK) and Aspartate Amino Transferase (AST) serum levels were determined and they were higher than twofold of top of the range.

Muscle byopsy was realized. Eosyne-Hematoxiline; Gomori's trichromic modified by Engel and NADHdiaforase techniques were employed.

Fiber's diameter changes were found with low hyalinization. The byopsy specimens didn't show grouping of kind of fibers, condriomma disorders neither leucocytary infiltration. An increase of endomysial connective tissue and fattyone were observed.

Same syndromes were presented on subject's father and their grandsons with evolution to death.

Duchenne as well as Becker myodistrophy both due by mutant gene which is located on Xp21 in human being. Therefore are X linked inheritance.

The develop of this disease on males parent and second generation seem to be compatible with X linked heredity. Nevertheless, these syndromes were also described on females which are homocytotic mutant gene's carrier. In these cases the syndrome presents less mortality and severity of clinical signs.

In concordance to signals and paraclinical data, is being presents a canine Duchenne-Beckerlike Myodistrophy.

Keywords: *Myodistrophy; Duchenne-Becker; Dog.*

### INTRODUCCION

Las distrofias musculares con frecuencia presentan gran dificultad para el diagnóstico debido a la multiplicidad etiológica o a lo sutil de la alteración de base, a nivel molecular, que puede dificultar su puesta en evidencia.

Estas pueden ser genéticas, hereditarias, adquiridas miogénicas, neurogénicas o metabólicas. (4).

Se piensa que las distrofias musculares hereditarias se deben a la falta o estructura anormal de una proteína, ya sea enzima o estructural, que en la mayoría de los casos radicaría en alteraciones proteicas de la membrana superficial del músculo, aunque es difícil de probar. (4) (5).

Las anomalías se limitan al músculo esquelético y en

de una proteína, ya sea enzima o estructural, que en la mayoría de los casos radicaría en alteraciones proteicas de la membrana superficial del músculo, aunque es difícil de probar. (4) (5).

Las anomalías se limitan al músculo esquelético y en

<sup>1</sup> Veterinaria Lab ALL QUIMIA, Chaná 2373, CP 11200 Montevideo, Uruguay.

Aprobado: 6/9/99

algunos casos al miocardio. (2,8).

Estudios con microscopio electrónico sugieren que existe una anomalía en la membrana que permite el influjo inadecuado de Calcio, que lleva a una hiperconcentración de miofilamentos en los lugares de entrada de Calcio (ionóforos), con estiramiento y rotura de miofilamentos vecinos, debido a secuestro de ATP intracelular (puesto que la recepción de calcio requiere energía) o activación de procesos intracelulares. (4).

Al parecer el proceso inicial diagnóstico está dado por la ruptura de la estructura miofibrilar, alteraciones de las mitocondrias y degeneración de los túbulos y retículo sarcoplásmico.(4) (11) (10)

En las distrofias musculares hereditarias mas comunmente descriptas en humanos (Duchenne-Becker), se asigna a un gene mutante ubicado en el cromosoma X (Xp21), de carácter recesivo, un rol etiológico en la enfermedad (4) (10) (3) (9).

Esta característica es compatible con los respectivos sindromes en caninos (3) (9).

Se ha descripto la manifestación de la enfermedad en hembras caninas, homocigotas para el carácter mutante resultando un cuadro con menor severidad que en machos. (7).

Se presenta un caso clínico com-

patible fenotípicamente con síndrome miodistrófico de Duchenne-Becker en un canino hembra adulto de raza Dasthund.

### PRESENTACION DEL CASO

Se trata de un paciente canino hembra, Dasthund, de 6 años que presenta un cuadro de atrofia progresiva crónica con una evolución de 2 años, de etiología no determinada.

A la inspección se observó pérdida sustancial de masas musculares axiales y de miembros. La atrofia se ubica en músculos esternomastoideo y oblicuo abdominal externo.

A nivel de miembros, presentó atrofia muscular proximal bilateral, con predominio izquierdo en grupos extensores. Se observó mayor severidad en cuadriceps y tensor de fascia lata. Se constató dificultad para la prensión de alimentos dada por predominio de tono de maseteros. Concomitantemente presentó cambio de tono de voz (grave) y dificultad para la protrusión lingual.

Al examen neurológico manifestó sensorio normal, marcha parética debido a dificultad para la extensión de miembros posteriores. Hiperreflexia con hipertonicidad sostenida a nivel de los cuatro miembros e

hiperestesia.

Reflejos segmentarios raquídeos normales, sin constatarse dolor.

### PARACLINICA

Se realizaron estudios paraclínicos con el fin de descartar trastornos metabólicos, endócrinos, infecciosos e inflamatorios, que se detallan en el cuadro N° 1.

Se determinaron niveles séricos de AST y CPK para cotejar el grado de lesión muscular. Estos presentaron valores muy superiores al rango normal y se incrementaron en un lapso de treinta días.

No fue posible realizar electromiografía por razones logísticas, por lo cual se procedió a la biopsia muscular para determinar el carácter neurogénico, miogénico o mixto del cuadro.

**Cuadro 1:** Descripción de estudios paraclínicos realizados.

Fecha	estudio	resultado	rango
Octubre/ 96	dosificación de hormonas tiroideas (T4 libre) técnica: E.L.A	0.9 ng/dl.	0.6 - 1.4 ng/dl.
Octubre/ 96	examen de orina	normal según Combur Test <sup>tm</sup> Boehringer Mannheim	
	hemograma	Eritrocitos: 5.500.000 /ul; Hematócrito: 37 % Hemoglobina: 11.9 g/dl. Vol. Corp. Med.: 67 $\mu^3$ Conc. Med. Hem. Corp.: 32 % Leucocitos: 8050 / ul. Neutrófilos: 78 % Linfocitos: 12 % Monocitos: 5 % Eosinófilos: 0 Basófilos: 0	Eritrocitos: 4.700.000 /ul - 6.300.000/ Hematócrito: 40 - 57% Hemoglobina: 14 - 18g/dl. Vol. Corp. Med.: 50 - 62 $\mu^3$ Conc. Med. Hem. Corp.: 30 - 39 % Leucocitos: 6500 - 12.000 / ul. Neutrófilos: 51 - 72 % Linfocitos: 12 - 21 % Monocitos: 0 - 5 % Eosinófilos: 0 - 5 % Basófilos: 0 - 5 %
	creatininemia	1.14 mg/ dl	0.5 - 1.7 mg/dl
	glicemia	0.71 g/l	0.65 - 1.10 g/l
Marzo/ 97	hemograma	Eritrocitos: 5.900.000 /ul; Hematócrito: 47% Hemoglobina: 19.9 g/dl. Vol. Corp. Med.: 65 $\mu^3$ Conc. Med. Hem. Corp.: 32 % Leucocitos: 5.950 / ul. Neutrófilos: 76 % Linfocitos: 13 % Monocitos: 9 % Eosinófilos: 0 Basófilos: 0	Eritrocitos: 4.700.000 /ul - 6.300.000/ Hematócrito: 40 - 57% Hemoglobina: 14 - 18g/dl. Vol. Corp. Med.: 50 - 62 $\mu^3$ Conc. Med. Hem. Corp.: 30 - 39 % Leucocitos: 6500 - 12.000 / ul. Neutrófilos: 51 - 72 % Linfocitos: 12 - 21 % Monocitos: 0 - 5 % Eosinófilos: 0 - 5 % Basófilos: 0 - 5 %
8 de abril/ 97	proteinograma electroforético. Técnica: gel de acetato de celulosa con buffer de veronal, pH8, revelado con solución Ponceau.	Albúmina: 5.1 g/dl Globulinas: Alfa 1: 0.3 g/dl Alfa 2: 0.65 g/dl Beta: 0.12 g/dl Gamma: 1.20 g/dl Prot. Tot.: 7.37 g/dl Relac. Alb./Glob.: 2.24	Albúmina: 4.7 - 6.8 g/dl Globulinas: Alfa 1: 0.1 - 1.0 g/dl Alfa 2: 0.5 - 1.4 g/dl Beta: 0.12 - 1.9 g/dl Gamma: 1.20 - 3.1 g/dl Prot. Tot.: 5.7 - 7.4 g/dl Relac. Alb./Glob.: 1.0-2.5
12 de abril/ 97	idem	normoproteinemia con hipo alfa 1 y 2 globulinemia sin significación patológica	
12 de junio/ 97	CPK	429 UI/l -	< 230 UI/l
12 de julio/ 97	CPK; AST	568 UI/l; 101 UI/l, respectivamente.	CPK: < 230 UI/l; AST: < 25 UI/l
30 de julio/ 97	CPK- TGO	298 UI/l; 88.8 UI/l.	
8 de agosto/ 97	biopsia muscular. Técnicas: Hematoxilina-Eosina; Tricrómico de Gomori modificada por Engel; NADH diaforasa	miodistrofia no neurógena ni inflamatoria de etiología no comprobada.	

## TECNICAS ESPECIFICAS DESARROLLADAS

· Proteínograma electroforético en soporte de gel de acetato de celulosa.  
Objetivo: determinar alteraciones de la fracción alfa 2 globulina relacionadas con lesión o procesos degenerativos del Sistema Nervioso Central (SNC). (6).

· Biopsia muscular:

Tinciones:

1. Hematoxilina-Eosina: Objetivo: visión general del estado de las fibras musculares y detección de procesos inflamatorios a través de observación de infiltrados leucocitarios. (Foto 1)

2. Tricrómico de Gomori modificado por Engel: Objetivo: Descartar alteraciones estructurales de los miofilamentos y el condrioma. (1). (Foto 2)

3. NADH Diaforasa: Objetivo: Descartar o confirmar procesos neurogénicos determinados por agrupamiento por tipo de fibras (grouping), detección de fibras atroficas angulares tipo I e imágenes en blanco de tiro (Target). (1). (Foto 3)

## DIAGNÓSTICO

Los electroforetogramas realizados a lo largo del curso de la enfermedad mostraron perfiles proteicos normales.

Los cortes estudiados en la biopsia no presentaron alteraciones de estructura de los miofilamentos. No se encontraron alteraciones de agrupamiento por tipo de fibras ni fibras atroficas angulares tipo I en contraste con imagen en blanco de tiro.

No se evidencia infiltración leucocitaria y manifiesta zonas de amiloidosis que no sugiere un proceso miopático inflamatorio.

Se trata en suma, de un cuadro miodistrófico de etiología no comprobada.



Foto 1. Técnica: Hematoxilina-Eosina Se observa adelgazamiento de fibras, leve amiloidosis. No presenta infiltración leucocitaria

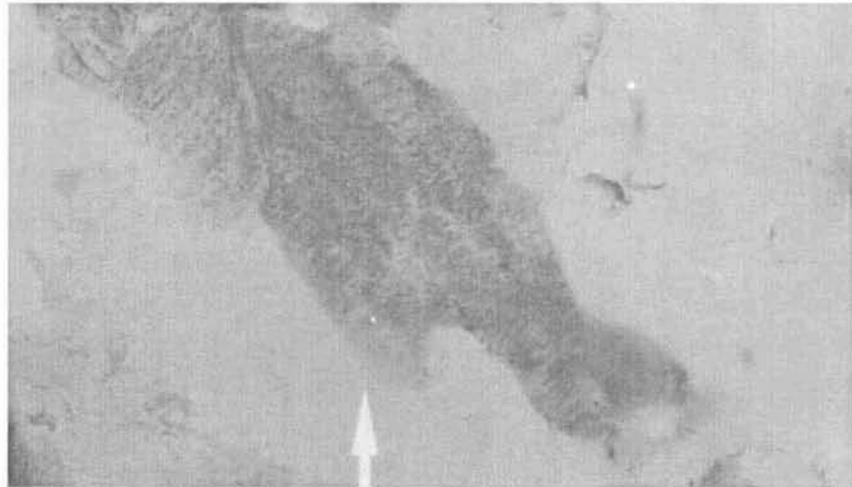


Foto 2. Técnica: Tricrómico de Gomori mod. por Engel. No presenta alteraciones estructurales de miofilamentos.

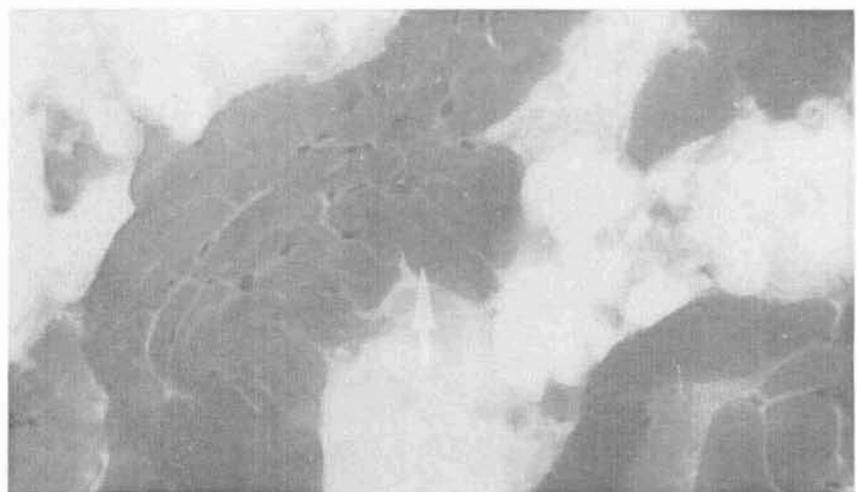


Foto 3. Técnica: NADH Diaforasa. No se observan fibras atroficas angulares tipo I por agrupamiento ni en contraste con imagen blanco de tiro

## DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

En base a lo expuesto se procedió a los estudios histoquímicos citados anteriormente. No obstante no fueron confirmatorios per se y el cuadro de miodistrofia permaneció sin diagnóstico etiológico.

De acuerdo a la presentación

clínica y a los estudios paraclínicos realizados, es dable plantear como hipótesis, que se trate de un proceso de tipo funcional basado en la alteración o carencia de una proteína que actúe como factor común en procesos funcionales no detectables por medio de las técnicas realizadas.

El cuadro sindromático del presente caso es compatible con dos

enfermedades descritas exhaustivamente en medicina humana. Estas son: Miodistrofia de Duchenne y Miodistrofia de Becker.

En el cuadro 2, se realiza una presentación comparativa de las dos enfermedades humanas con respecto al caso en estudio en éste artículo.

**Cuadro 2:** Cuadro Sindromático comparativo de miodistrofias de Duchenne - Becker y el caso canino en estudio.

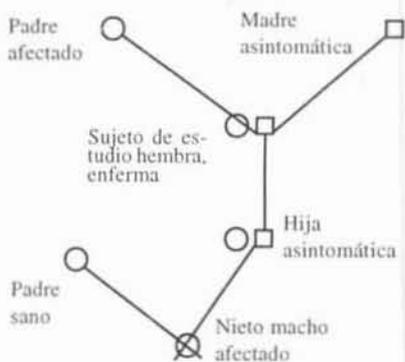
Miod. de Duchenne	Miodistrofia Canina	Miodistrofia de Becker
Debilidad muscular simétrica progresiva proximal, iniciando en miembros inferiores.	Atrofia muscular simétrica, en músculos masticatorios, axiales y en miembros posteriores de tipo proximal en grupos extensores (particularmente cuádriceps).	Atrofia y debilidad muscular progresiva y simétrica, proximal, iniciándose en miembros inferiores. Debilidad de cuádriceps femoris. Contractura de codo. Puede cursar con cardiomiostrofia.
Excluidos fasciculaciones y pérdida de sensibilidad.	Excluidos fasciculaciones y pérdida de sensibilidad. Incluido hipersensibilidad e hiperreflexia con hipertonicidad.	Excluidos: Fasciculaciones, y pérdida de sensibilidad.
Incapacidad de deambular antes de los 13 años. (edad humana)	Mantiene capacidad de deambular aunque con marcha parética con espasticidad en grupos flexores.	Incapacidad de deambular después de los 16 años (edad humana).
Niveles de CPK hasta 20 veces superior al nivel normal, en función a la actividad.	Niveles de CPK aumentados hasta en dos veces al nivel normal.	Niveles de CPK hasta 10 veces superior al nivel normal, en función de la actividad.
Biopsia muscular: variación anormal en el diámetro de fibras musculares, fibras necróticas y regenerativas, hialinas, incremento en conectivo endomisial y tejido adiposo.	Biopsia muscular: Alteración del diámetro de fibras. Presenta ligera hialinización. No presenta agrupamiento de tipo de fibras a la histoquímica, alteraciones de condrioma ni infiltración leucocitaria. Incremento de tejido conectivo endomisial y adiposo.	Biopsia muscular: Variación anormal en diámetro de fibras musculares (diseminadas en pequeños grupos de fibras atroficas e hipertróficas). Fibras regenerativas diseminadas y fibras necróticas en igual distribución. Dependiendo del estado y curso, puede haber un pequeño grado de agrupamiento de tipo de fibras por técnicas histoquímicas.
Distrofina no demostrable mas allá del 5 % de las fibras.	Distrofina no demostrable con las técnicas realizadas.	Distrofina de peso molecular anormal.
DNA: Mutación a nivel de exón de distrofina de idéntico haplotipo.	DNA: no se realizaron pruebas.	DNA: Mutación a nivel de exón de distrofina de idéntico haplotipo.
Locus ubicado en Xp21 de carácter recesivo y hereditario. Historia familiar.	Locus: no determinado. Historia familiar positiva	Locus ubicado en cromosoma X de carácter recesivo y hereditario.
Los síntomas se presentan antes de los 5 años (edad humana).	Los síntomas motivaron la consulta a los 6 años (edad canina), compatible con humano adulto de mediana edad.	Edad de presentación variable y antecedentes familiares.

Con la salvedad de los datos de las celdas correspondientes a las pruebas de DNA y mapeo génico, la única celda que contiene datos no comunes a las enfermedades mencionadas es la correspondiente a la edad de presentación de los síntomas iniciales.

Por razones logísticas no fue posible realizar los estudios de DNA aplicables a las miodistrofias de Duchenne y Becker. No obstante, el cuadro clínico y los resultados de la biopsia muscular son compatibles con éstas dos entidades.

Realizando una investigación del Pedigree del sujeto en estudio, se pudo constatar un cuadro similar de distrofia muscular con evolución mortal por insuficiencia cardíaca aguda con miocardiopatía a temprana edad (3 años), ocurrido en el padre del sujeto en estudio y un segundo caso, similar pero de características mas leves, sin afección de miocardio y con atrofia de cuádriceps, bilateral, en el nieto de sexo masculino de nuestro paciente, según el siguiente esquema:

Si se plantea la hipótesis de que la



enfermedad en estudio corresponde a las miodistrofias descritas a nivel humano, entonces el carácter genético, recesivo y ligado al cromosoma X coincide con la aparición de los cuadros en el padre y el nieto, de los cuales el primero segregó su cromosoma X portador del gen mutado a nuestro paciente, el que a su vez recibió el otro cromosoma X igualmente portador del

gen mutado de su madre quien por fuerza debe ser heterocigoto y portadora del carácter. Resultando la paciente en estudio homocigota recesiva para el gen alterado. Por lo tanto, manifestó la enfermedad. A partir de ella, se segregó uno de los cromosomas X a una de sus hijas quien resultara heterocigota sin manifestar la enfermedad y que a su vez le transmitió dicho cromosoma alterado al único hijo macho de esa camada, reapareciendo la enfermedad clínicamente en la segunda generación. La falta de evidencia de alteraciones estructurales en las pruebas biópsicas por histoquímica llevarían a la necesidad de realizar estudios moleculares para detectar locus o loci involucrados, para confirmar el diagnóstico etiológico. No fue posible realizar pruebas inmunohistoquímicas destinadas a la detección de distrofinas in situ. No obstante el carácter no confirmatorio de las pruebas biópsicas realizadas, es posible establecer una hipótesis diagnóstica seria, a partir de los estudios realizados y el cuadro clínico correspondiente. En éste contexto podría plantearse la participación de un componente neurogénico funcional que actúe a nivel de la sinapsis neuromuscular. Se trata en suma de la descripción de un síndrome con características compatibles con las miodistrofias de Duchenne-Becker, en caninos.

Por las características clínicopatológicas de éste síndrome y la dificultad para establecer el diagnóstico etiológico es que se presenta éste caso como punto de partida para la realización de estudios moleculares destinados a mapeo génico y estudios proteicos mas profundos que sean capaces de precisar con mayor eficacia la etiología de éstos cuadros miodistróficos en la especie canina.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. García del Moral, R. (1993). Laborato-

rio de Anatomía Patológica. 1ª Ed. en español. Ed. Interamericana-Mc Graw-Hill, pags. 1900, 316-317, 593-597.

2. Kornegay, J.N.; Sharp, N.J.H.; Camp, S.D.; Sussman, W. (1989). Early pathologic features of Golden Retriever muscular Dystrophy: a model of Duchenne muscular dystrophy. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*. 48: 3, 348.

3. Prattis, S.M.; Horton, S.B.; Camp, S.D.; Kornegay, J.N. (1994). Immunohistochemical detection of neural cell adhesion molecule and laminin in X linked dystrophic dogs and mdx mice. *Journal of Comparative Pathology*, 110: 3, 253-266.

4. Rowland, L. P. (1987) Enfermedades del músculo y la unión neuromuscular. *Sección 16: Cap. 538 In: Winngaarden, J. B.; Smith, L. H. Cecil. Tratado de medicina interna, 17ª Ed. español. Mexico. Nueva Ed. Interamericana SADCV. 2471- 2475.*

5. Sharp, N.J.H.; Kornegay, J.N.; Camp, S.D.; Herbstreith, M.H.; Secore, S.L. (1992). An error in dystrophin mRNA processing in golden retriever muscular dystrophy, an animal homologue of Duchenne muscular dystrophy. *Genomics San Diego*, 13,1: 115-121.

6. Terranova, E. (1997). Perfiles proteicos séricos asociados a la fisiopatología de los síndromes neurológicos en caninos. *VETERINARIA*, 33(135): 5-8.

7. Valentine, B.A.; Cummings, J.F.; Cooper, B.J. (1989). Development on Duchenne-type cardiomyopathy. Morphologic studies in a canine model. *American Journal of Pathology*, 135(4): 671-678.

8. Valentine, B.A.; Cooper, B.J.; Delahunta, A.; et. al. (1988). Canine X linked muscular dystrophy. An animal model on Duchenne muscular dystrophy: clinical studies. *Journal of The Neurological Sciences*. 88(1-3): 69-81

9. Valentine, B.A.; Kornegay, J.N.; Cooper, B.J. (1989). Clinical electromyographic studies of canine X linked muscular dystrophy. *A.J.V.M.R.*, 50(12): 2145-2147.

10. Van Ham, L.M.L.; Desmidt, M.; Tshamala, M.; Hoorens, J.K.; Mattheeuws, D.R.G. (1995). Canine X linked muscular dystrophy in Belgian Groenlandaeler Shepherds. *Vlaams-Diergeeneskunding-Tijdschrift*, 64: 3, 102-106.

11. Van Ham, L.M.L.; Roels, S. L. M. F.; Hoorens, J.K. (1995). Congenital dystrophy-like myopathy in a Brittany Spaniel puppy. *Progress in Veterinary Neurology*, 6: 4, 135-138.