

COMUNICAÇÃO CURTA

MUCOPOLISSACARIDOSE EM CÃO – RELATO DE DOIS CASOS

MUCOPOLYSACCHARIDOSIS IN DOG – REPORT OF TWO CASES

M. V. BAHR ARIAS^{1*}, R. A. MARCASSO², S. RASKIN³, S. C. BEGO⁴, M. G. BURIN⁵

RESUMO

Mucopolissacaridoses são um grupo de afecções hereditárias do armazenamento lisossomal, causada por deficiência de hidrolases lisossomais, necessárias para a degradação das glicosaminoglicanas. Neste relato são escritos dois casos de mucopolissacaridose em cães: Um cão macho, Pitbull, de 60 dias, foi atendido devido à dificuldade de locomoção com os quatro membros e aumento de volume articular. No exame clínico constatou-se aumento de volume e deformidades em articulações e *pectus cavinatum*. Nas radiografias do sistema esquelético observou-se *dysostose multiplex*. O outro paciente, uma canina fêmea, Rottweiler, de oito meses, foi atendida devido à dificuldade progressiva de locomoção. No exame clínico constatou-se tetraplegia, opacidade corneal, aumento de volume em língua e deformidade em crânio. Para triagem de mucopolissacaridose, realizou-se na urina dosagem qualitativa e quantitativa de glicosaminoglicanos e ensaios enzimáticos no plasma para dosar a atividade de enzimas lisossômicas. Apesar da confirmação de mucopolissacaridose com os testes de triagem, não foi possível diferenciar entre os tipos II ou VI.

PALAVRAS-CHAVE: Cães. Doença de acúmulo lisossomal. Glicosaminoglicanas.

SUMMARY

Mucopolysaccharidosis are a group of inherited lysosomal storage disorders caused by deficiency of lysosomal hydrolases needed for the stepwise degradation of glycosaminoglycans. In this report we describe two cases of mucopolysaccharidosis in dogs. A two-month-old male Pitbull was referred with difficulty in locomotion in four limbs and swelling in joints. Clinical examination showed increasing volume of articulations, bad limb angulations with ambulation difficulties and *pectus cavinatum*. Radiographical exams of the skeletal system showed *dysostosis multiplex*. The other dog was an eight-month-old female Rottweiler that was referred due to progressive difficulty in walking. Clinical examination showed tetraplegia, corneal opacities, enlarged tongue and skull deformities. For screening mucopolysaccharidosis, a qualitative and quantitative measurement of urinary glycosaminoglycans and plasma enzymatic assays to evaluate the activity of lysosomal enzymes were made in both dogs. Despite the confirmation of mucopolysaccharidosis with the screening tests, the type between II and VI could not be distinguished.

KEY-WORDS: Dogs. Lysosomal storage diseases. Glycosaminoglycans.

¹ Médica Veterinária Doutora, Professora Associada, Departamento de Clínicas Veterinárias, Universidade Estadual de Londrina (UEL), Campus Universitário, Rodovia Celso Garcia Cid, PR 445 Km 380, Londrina, PR, Brasil. CEP: 86051-990, Tel: +55433371-4559, E-mail: vicky@uel.br * corresponding author

² Médico Veterinário, Doutorando, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, UEL, Londrina-PR

³ Médico Geneticista, Doutor, Departamento de Medicina, PUC-PR, UNICEMP, FEPAR e diretor do Laboratório Genética, Curitiba-PR

⁴ Discente do curso de Medicina Veterinária, Departamento de Clínicas Veterinárias, Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina, Paraná

⁵ Farmacêutica/Bioquímica, Doutora, Hereditare Centro de Genética Médica, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Rua Ramiro Barcelos, 2350, CEP: 90035-903, Porto Alegre, RS, Brasil

Mucopolissacaridoses (MPS) são doenças do armazenamento lisossomal, um grupo de doenças hereditárias raras que resultam da deficiência da atividade de enzimas que degradam as glicosaminoglicanas (GAGs) (TURTELLI, 2002). Glicosaminoglicanas são componentes da substância fundamental do tecido conjuntivo, e dependendo da enzima deficiente, o catabolismo de sulfato de dermatana, heparana, queratana e condroitina podem estar diminuídos isoladamente ou em combinação, o que resulta em um amplo espectro de desordens clínicas que podem afetar o sistema nervoso central (SNC), fígado, baço, esqueleto, olhos e sistemas cardiovascular e respiratório (WILKERSON et al., 1998; TURTELLI, 2002; SIMONARO et al., 2005).

Modelos animais desta síndrome incluem felinos, caninos, e caprinos, nos quais a doença ocorre naturalmente (HASKINS, 2007). Em humanos a MPS causa atraso no crescimento, problemas de mobilidade, dismorfismo facial, hepatoesplenomegalia, opacificação da córnea, anormalidades da válvula cardíaca e atraso mental (BREIDER et al., 1989; PONDER et al., 2002). A doença esquelética na MPS é chamada de *disostose multiplex*, e se manifesta como ossos curtos e espessos, ossos de formato anormal e com erosão articular (HERATI et al., 2008).

São descritas treze subclasses de MPS em humanos (BRAUND, 2003), mas em animais como cães e gatos somente as MPS I, II, III A, IIIB, IV e VI são reconhecidas (HASKINS, 2007). Elas são subdivididas de acordo com o defeito enzimático e manifestações sistêmicas (ASHWORTH et al., 2006). A MPS I é decorrente da deficiência da atividade da enzima α -L-iduronidase e resulta no acúmulo de sulfato de heparana e dermatana. Os sinais incluem claudicação, face larga com ponte nasal deprimida e saliência do osso frontal, orelhas pequenas, opacificação da córnea e displasia óssea múltipla (BRAUND, 2003). A MPS II decorre da deficiência da iduronato 2-sulfatase e ocasiona aspectos faciais grosseiros, macrodactilia, distrofia corneal, incoordenação progressiva, visão prejudicada, osteopenia generalizada, e deterioração neurológica. A MPS tipo IIIA está associada com deficiência da enzima lisossomal sulfato de heparana. Ao redor dos três anos de idade, os cães desenvolvem sinais neurológicos progressivos como ataxia e tremor de intenção. A MPS III B está relacionada à deficiência da atividade da enzima N-acetil- α -D-glucosaminidase e os sinais clínicos são caracterizados por ataxia dos membros pélvicos, dismetria, estação em ampla base, balanço do tronco, quedas e tropeços ocasionais, tremor intencional fino da cabeça e tremor do corpo (BRAUND, 2003).

A MPS tipo VI é causada pela deficiência da enzima arilsulfatase B, e os sinais clínicos nos animais afetados incluem a cabeça pequena, face plana e larga com espaço entre os olhos, ponte nasal deprimida, opacificação corneana, orelhas pequenas, membros dianteiros grandes e deformidade côncava do esterno. A MPS VII decorre da deficiência da atividade da enzima β -glucuronidase e resulta no acúmulo de sulfato de condroitina, heparana e dermatana. Os sinais

clínicos incluem a cabeça larga, maxila curta e grânulos em córnea. A maioria das articulações está flácida e são facilmente luxadas, observando-se ainda cápsulas articulares edemaciadas e flutuantes (BRAUND, 2003).

Suspeita-se de MPS com base nos sinais clínicos, e em seguida realiza-se testes relativamente simples como coloração histoquímica para demonstrar inclusões citoplasmáticas nos glóbulos brancos e a aferição da excreção urinária excessiva de GAGs (APTE, 2009). Em pacientes com MPS a excreção diária de GAGs está muito elevada. O teste de azul de toluidina é o mais comumente usado para detectar a presença de mucopolissacarídeos excretados na urina (BRAUND, 2003; APTE, 2009). Um nível elevado de GAGs na urina sugere uma desordem do tipo MPS, mas não é o diagnóstico definitivo, assim testes adicionais devem ser realizados. O diagnóstico definitivo de MPS somente pode ser obtido através de testes no plasma que verifiquem qual a enzima deficiente (BRAUND, 2003, APTE, 2009). O objetivo deste artigo é relatar dois casos de MPS em cães.

Um cão macho Pit bull de dois meses de idade foi trazido para avaliação devido a dificuldade de locomoção com os quatro membros e aumento de volume em articulações. O cão era filho de um cruzamento endogâmico entre irmãos, que deu origem a dois filhotes. O paciente em questão era menor que seu irmão que não demonstrava qualquer anormalidade congênita (Figura 1A). No exame físico constatou-se aumento de volume em articulações, deformidades angulares nos membros com dificuldade de locomoção e *pectus cavinatum* (Figura 1B). Em um período de 45 dias observou-se o aparecimento de sopro de mitral grau II/V, opacidade corneana e dispneia inspiratória.

Nas radiografias ósseas da coluna vertebral observou-se *disostose multiplex* com anormalidades em todos os corpos vertebrais e presença de erosão em epífises dos corpos vertebrais (Figura 1C). Nas radiografias dos membros observou-se más-formações esqueléticas severas, como ossos curtos, erosão articular focal, doença articular degenerativa, efusão articular, displasia coxofemoral com subluxação, subluxação em cotovelos, curvatura de ossos longos e *pectus cavinatum* (Figura 1 D). Os resultados do exame de sangue e análise de líquido sinovial estavam normais. O esfregaço sanguíneo foi corado com Giemsa e foi possível identificar granulações em neutrófilos e monócitos. Suspeitou-se de um distúrbio de armazenamento de mucopolissacarídeos devido ao resultado positivo do teste de azul de toluidina na urina.

Devido à suspeita de MPS, realizou-se a aferição qualitativa e quantitativa de GAGs urinários. Os níveis de sulfato de dermatano e de heparano estavam aumentados na urina. O valor de GAGs na urina foi 405 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de creatinina (valor de referência = 274 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de creatinina). No ensaio enzimático plasmático encontrou-se: 11 mol/4h/mL de iduronato-sulfatase, que é menor que os valores de referência (122-463 mol/4h/mL), atividade da beta-glicuronidase igual a 574 nmol/h/mL, que é normal (valores de referência



Figure 1 – **A** – Dois cães machos da raça Pit Bull com dois meses de idade que nasceram do cruzamento endogâmico entre irmãos. À direita um filhote com deformidades angulares nos membros, menor que seu irmão que não apresentava nenhuma anormalidade congênita (esquerda). **B** – Filhote Pit Bull macho de dois meses com *pectus cavinatum* devido à MPS. **C** – Radiografia das vertebrais cervicais do mesmo cão, sendo possível observar anormalidades em todos os corpos vertebrais. É possível ver que os corpos vertebrais são menores que o normal e que existem erosões em todas as epífises dos corpos vertebrais. **D** – Radiografias dos membros de canino Pit Bull macho de dois meses. À esquerda subluxação de cotovelo e erosão articular focal, à direita erosão em joelho e efusão articular. **E** – filhote fêmea de Rottweiler com oito meses e tetraplegia. **F** – mesmo cão com deformidade em crânio e lingual alargada **G** e **H** – Radiografias da coluna vertebral cervical e lombar do mesmo cão, sendo possível observar anormalidades em todos os corpos vertebrais. Corpos vertebrais são menores que o normal e existem erosões em todas as epífises dos corpos vertebrais

30-300 nmol/h/mL) e uma leve deficiência da atividade da alfa-iduronidase (4,5 nmol/h/mL, referência = 6,8-13,7 nmol/h/mL).

Apesar do tratamento sintomático com analgésicos, antiinflamatórios e fisioterapia, os sinais progrediram e resultaram em atrofia muscular generalizada, ocorrendo piora da deambulação. Quando o cão completou 108 dias de vida, começou a apresentar convulsões e foi submetido à eutanásia.

Uma cadela Rottweiler de oito meses de vida foi avaliada devido à incapacidade de caminhar com os quatro membros. Ela começou a apresentar o problema dois meses antes, tendo sido hospitalizada em outra clínica por 20 dias, sendo logo depois encaminhada para nosso hospital. No exame físico observou-se tetraplegia, (Figure 1E), dor cervical, deformidade em crânio, língua alargada (Figure 1F), dor em todas as articulações e opacidade corneana. Nas radiografias esqueléticas observou-se *disostose multiplex*, ossos curtos, erosão articular focal, efusão articular, subluxação de cotovelos e erosões nas epífises de todos os corpos vertebrais (Figura 1G e 1H). Os resultados do exame de sangue e de urina estavam normais.

Suspeitou-se de distúrbio de armazenamento de mucopolissacarídeos devido ao resultado positivo do teste de azul de toluidina na urina. Os níveis de sulfato de dermatana e heparana estavam aumentados na urina. Os valores de GAGs na urina eram 281 µg/mg de creatinina (valor de referência = 274 µg/mg creatinina). Nos ensaios enzimáticos do plasma constatou-se 24 mol/4h/mL de iduronate-sulfatase, que é menor que os valores de referência (122-463 mol/4h/mL), atividade da beta-glicuronidase igual a 521 nmol/h/mL, que é normal, e uma leve deficiência na atividade da alfa-iduronidase (4,5 nmol/h/mL). Devido à gravidade do caso, suspeita clínica e prognóstico da doença, o cão foi submetido à eutanásia.

Nos dois casos descritos, a MPS foi diagnosticada com base nos sinais clínicos e resultados dos exames laboratoriais. Entretanto, no primeiro caso, MPS não foi a suspeita inicial, devido à raridade da doença em cães, e porque os sinais clínicos iniciais, principalmente nas articulações, sugeriam poliartrite. Assim, a análise do líquido sinovial foi realizada e o resultado foi normal. Com a progressão da doença, suspeitou-se de MPS e testes mais específicos foram realizados.

No exame radiográfico dos dois cães foram observadas várias más-formações, principalmente *disostose multiplex*. *Disostose multiplex* é um sinal patognomônico de todas as doenças do armazenamento de mucopolissacarídeos e glicoproteína (SIMONARO et al., 2005). No caso 1, no esfregaço sanguíneo foram observadas granulações em neutrófilos e monócitos similares aos que são vistos em doenças do armazenamento lisossomal. Nos testes iniciais constatou-se grânulos metacromáticos em leucócitos no sangue com acúmulo lisossomal e excreção urinária de GAGs. (APTE, 2009, BRAUND, 2003). De acordo com ASHWORTH et al. (2006), o teste de triagem

inicial para MPS é a análise da excreção urinária de GAG e o teste definitivo é o ensaio enzimático lisossomal de leucócitos, células plasmáticas ou fibroblastos. Nos casos aqui descritos, o ensaio plasmático foi realizado para avaliar a atividade das enzimas lisossomais.

Em ambos os casos, a aferição das GAGs urinárias resultaram na presença de grande quantidade de sulfato de dermatana, mas o método empregado não confirmou ou excluiu a presença simultânea de grande quantidade de sulfato de heparana. Este resultado foi sugestivo de MPS tipo I, II, VI ou VII. Com os resultados dos ensaios enzimáticos foi possível excluir a MPS tipo VII devido à atividade normal da beta-glicuronidase e a MPS tipo I porque apesar da deficiência da atividade da alfa-iduronidase, ela ainda estava dentro de parâmetros de referência quando comparado com cães normais.

Assim, apesar da conformação de MPS com os testes de triagem, não foi possível afirmar se os cães tinham MPS II ou VI. A baixa atividade da enzima iduronato-sulfatase sugeriu MPS tipo II ou síndrome de Hunter, mas os aspectos clínicos e a excreção urinária de sulfato de heparana e dermatana sugeriram MPS VI (BRAUND, 2003). MPS do tipo II em cães não é comum, e foi relatada somente em um retriever do Labrador macho de 5 anos de idade com sinais de incoordenação progressiva, deficiência visual, intolerância a exercício, aspecto facial grosseiro, macrodactilia, distrofia corneal unilateral, osteopenia generalizada, alterações neurológicas progressivas e teste urinário para mucopolissacarídeos positivo. (WILKERSON et al., 1998; BRAUND, 2003). A MPS do tipo VI foi relatada em gatos de pelo curto domésticos e Siameses, bem como Pinschers Miniaturas, Schnauzers Miniaturas, Welsh Corgis e Chesapeake Bay Retrievers, e o acúmulo celular resultou em deformidades esqueléticas incluindo defeitos no esterno e vértebras, opacidade corneana e dismorfismo facial (BRAUND, 2003), como observado nos pacientes do presente relato.

A baixa frequência de casos, sinais clínicos inespecíficos e conhecimento limitado entre os profissionais contribuem para a dificuldade no reconhecimento da doença, assim a MPS também deve ser incluída na lista de diagnósticos diferenciais para anormalidades do crescimento em filhotes. Como conclusão, o clínico deve estar alerta e considerar a MPS em cães com más-formações esqueléticas, pois há risco na reprodução deste animais ou de seus pais, já que todos os tipos de MPS são herdados geneticamente. Animais com MPS apresentam sinais clínicos significativos e lesões nos mesmos órgãos e sistemas que seres humanos, incluindo o sistema nervoso central, esqueleto, olhos e sistema cardiovascular e podem ter grande importância no desenvolvimento de tratamentos para esta doença em humanos (HASKINS, 2007).

REFERÊNCIAS

- APTE B. N. A. Simple and rapid method for the diagnosis of mucopolysaccharidoses (Mps). **Journal of Clinical and Diagnostic Research**. v.3, p.1488-1492, 2009.
- ASHWORTH, J. L.; BISWAS, S.; WRAITH, E.; LLOYD, I. C. Mucopolysaccharidoses and the eye. **Survey of Ophthalmology**, v.51, n.1, p.1-17, 2006. Available from: <[http://ophsource.org/periodicals/sop/article/S0039-6257\(05\)00198-0/abstract](http://ophsource.org/periodicals/sop/article/S0039-6257(05)00198-0/abstract)>. Accessed: 24 sep. 2010. doi: 10.1016/j.survophthal.2005.11.007
- BRAUND, K. G. Storage disorders. In: **Clinical neurology in small animals: localization, diagnosis and treatment**. 2003. New York: International Veterinary Information Service. Available from: <www.ivis.org/advances/vite/braund18/ivis.pdf>. Accessed 24 sep.2010.
- BREIDER, M. A.; SHULL, R. M.; CONSTANTOPOULOS, G. Long-Term effects of bone marrow transplantation in dogs with mucopolysaccharidosis I. **The American Journal of Pathology**, v.134, n.3, p.677-692, 1989.
- HASKINS, M. E. Animal models for mucopolysaccharidosis disorders and their clinical relevance. **Acta Paediatrica**, v.96, p.56-62, 2007.
- HERATI, S. E.; KNOX VAN, W.; O'DONNELL, P.; D'ANGELO, M.; HASKINS, M. E.; PONDER, K. P. Radiographic evaluation of bones and joints in mucopolysaccharidosis I and VII dogs after neonatal gene therapy. **Molecular Genetics and Metabolism**. v.95, p.142-151, 2008.
- KAKKIS, E. D.; SCHUCHMAN, E.; HE, S.; WAN, Q.; KANIA, S.; WIEMELT, S.; HASSON, C. W.; O'MALLEY, T.; WEIL, M. A.; AQUIRREGA, BROWN, D. E.; HASKINS, M. E. Enzyme replacement therapy in feline mucopolysaccharidosis I. **Molecular Genetics and Metabolism**, v.72, n.3, p.199-208, 2001. Available from: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11243725>>. Accessed: 24 sep. 2010. doi: 10.1006/mgme.2000.3140
- PONDER, K. P.; JOHN R.; MELNICZEK, J. R.; XU, L.; WEIL, M. A.; O'MALLEY, T. M.; O'DONNELL, P. A.; KNOX, W. W.; AGUIRRE, G. D.; MAZRIER, H.; ELLINWOOD, N. M.; SLEEPER, M.; MAGUIRE, A. M.; VOLK, S. W.; MANGO, R. L.; ZWEIGLE, J.; WOLFE, J., HASKINS, M. E. Therapeutic neonatal hepatic gene therapy in mucopolysaccharidosis VII dogs. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v.99, n.20, 2002. Available from: <<http://www.pnas.org/content/99/20/13102.full>>. Accessed: 21 sep. 2010. doi: 10.1073/pnas.192353499
- SIMONARO, C. M.; D'ANGELO, M.; HASKINS, M. E.; SCHUCHMAN, E. H. Joint and bone disease in mucopolysaccharidoses VI and VII: identification of new therapeutic targets and biomarkers using animal models. **Pediatric Research**, v.57, n.5, p.701-707, 2005.
- TURTELLI, C. M. Manifestações radiológicas da mucopolissacaridose tipo IV. **Radiologia Brasileira**, São Paulo, v.35, n.5, p.311-314, 2002.
- WILKERSON, M. J.; LEWIS, D. C.; MARKS, S. L.; PRIEUR, D. J. Clinical and morphologic features of mucopolysaccharidosis type II in a dog: naturally occurring model of Hunter syndrome. **Veterinary Pathology**, v.35, n.3, p.230-233, 1998. Available from: <<http://vet.sagepub.com/content/35/3/230.abstract>>. Accessed: 24 sep. 2010. doi: 10.1177/030098589803500311