

Alterações do trato digestório de cães da raça Golden Retriever afetados pela distrofia muscular¹

Alida A.C. Gerger², Carolina C. Souza^{3*}, Daniele S. Martins⁴, Thaís Gaiad³,
Marina P. Brólio³, Marta R. Luppi⁵, Carlos Eduardo Ambrósio⁴
e Maria Angélica Miglino³

ABSTRACT.- Gerger A.A.C., Souza C.C., Martins D.S., Gaiad T., Brolio M.P., Luppi M.R., Ambrósio C.E. & Miglino M.A. 2010. [**Changes of the digestive tract of Golden Retriever dogs affected by muscular dystrophy.**] Alterações do trato digestório de cães da raça Golden Retriever afetados pela distrofia muscular. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 30(12):1064-1070. Departamento de Cirurgia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva 87, São Paulo, SP 05508 270, Brazil. E-mail: ccostola@usp.br

The experimental canine model Golden Retriever carrier of Muscular Dystrophy (GRMD) is the best substitute of animal models to study Duchenne Muscular Dystrophy. Above striated muscle, the disease can affect the heart and smooth muscle, so the functioning of the digestive tract, as the smooth muscle is the primary element of tubular organs. Through morphological description, the purpose of this study was to determine whether the muscular dystrophy affects the overall architecture of the digestive tract and how is willing this muscular structure. Were evaluated macroscopic and microscopic optical description staining with hematoxylin-eosin, Masson's trichrome and Sirius. The esophagus and liver of affected animals were altered. The stomach of the animals did not occupy the usual space. The diaphragm muscle had atrophied. The general histological structure of the digestive tract presented in a manner similar to a normal animal. Changes and histological differences were found in the muscle layer.

INDEX TERMS: Golden Retriever muscular dystrophy, anatomy of the digestive tract, muscular dystrophy.

RESUMO.- 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. Além da musculatura estriada, a doença pode afetar a musculatura estriada cardíaca e a musculatura lisa, e desta forma, o funcionamento do trato

digestório, já que o músculo liso é o elemento primário dos órgãos tubulares. Através de estudo morfológico descritivo, o objetivo deste trabalho foi verificar se a distrofia muscular afeta a arquitetura geral do trato digestório e como se dispõe sua estrutura muscular em animais afetados. Foram realizadas avaliações descritivas macro e microscópicas com colorações de Hematoxilina-Eosina, Tricrômio de Masson e Picrosirius. Entre os resultados apresentados, verificou-se que o esôfago e o fígado dos animais afetados encontraram-se alterados, assim como o estômago não ocupava seu lugar habitual. O músculo diafragma apresentava-se atrofiado e diferenças histológicas foram encontradas na camada muscular do sistema gastrointestinal, em geral. Outras estruturas do tubo digestório de GRMDs apresentaram-se de maneira similar a de um animal normal.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Golden Retriever muscular dystrophy, anatomia trato digestório, distrofia muscular.

¹ Recebido em 15 de setembro de 2010.

Aceito para publicação em 6 de outubro de 2010.

² Médica Veterinária autônoma, Cão Cidadão, Rua Alves Guimarães 1006, Pinheiros, São Paulo, SP 05410-001, Brasil.

³ Departamento de Cirurgia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo (USP), Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva 87, Cidade Universitária, São Paulo, SP 05508-270.

*Autor para correspondência: ccostola@usp.br

⁴ Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, USP, Av. Duque de Caxias Norte 225, Pirassununga, SP 13635-900, Brasil.

⁵ Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Paulista, Av. Comendador Enzo Ferrari 280, Campinas, SP 13043-900.

INTRODUÇÃO

O termo distrofia muscular é amplamente usado para referir uma doença primária do músculo esquelético, que resulta da degeneração progressiva limitada e da fibrose das miofibras (Bergman et al. 2002). A forma mais comum de distrofia muscular em cães e humanos é causada pela mutação do gene da proteína distrofina. (Shelton et al. 2001) A doença é determinada pela ausência desta proteína da membrana muscular, uma vez que tem papel vital na manutenção da estrutura e função da célula muscular (Valentine et al. 1992).

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 (DMD) (Valentine et al. 1992, Cooper et al. 1988, Kornegay et al. 1988, Valentine et al. 1988). 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 (Valentine et al. 1986, Nguyen et al. 2002). Existe uma repetição no início da seqüência de regeneração, e que em estágios tardios da doença, resultam em substituição por gordura e tecido fibroso (Jubb et al. 2003).

Hoffmann et al. (1988) afirma que todos os tipos de músculos expressam a distrofina. 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, enquanto que na musculatura lisa, a marcação da membrana plasmática apresentou-se muito menos abundante, apresentando ao microscópio óptico um padrão descontínuo, do tipo listado.

Nos GRMD, 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 outras vezes, pronunciada atrofia das miofibras (Valentine et al. 1986, Kornegay et al. 1988, Nguyen et al. 2002, Jubb et al. 2003). As fibras regeneradas são reconhecidas como fibras pequenas, basofílicas e que apresentam seus núcleos centralmente. (Kornegay et al. 1988, Valentine et al. 1990). Na histologia foi observado também, irregularidades e desproporção nos tamanhos das fibras, variando entre atrofia e hipertrofias. Macrófagos em fagocitose são vistos em regiões de fibras degeneradas e existe aumento de deposição de colágeno no endomísio e perimísio em áreas focais (Valentine et al. 1986, Valentine 1990, Jubb et al. 2003).

Segundo Kornegay et al. (1990), além da musculatura estriada, a doença pode afetar a musculatura estriada cardíaca e a musculatura lisa, e desta forma, afetando também o funcionamento do trato digestório, uma vez que o

músculo liso é o elemento primário dos órgãos tubulares. As descrições estruturais e clínicas acabam focando principalmente a degeneração musculoesquelética, e manifestações como as do trato digestório acabam ficando omitidas. Todavia a descrição do músculo esofágico está regularmente descrita em cães distróficos, nos quais se encontram fibras musculares degeneradas, de tamanhos variados e fibrose (Valentine et al. 1990, Jubb et al. 2003).

Sendo assim, nosso estudo focou na análise do comportamento da estrutura muscular no trato digestório, bem como, avaliou como a distrofia muscular afeta a arquitetura no trato digestório dos cães GRMDs.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido após aprovação da Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, protocolado sob o nº 901/2006.

Para a avaliação descritiva foram utilizados animais provenientes do Canil GRMD – BRASIL, situado na Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres, departamento de cirurgia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

Utilizamos dois animais distróficos com idade de 21 meses (BR3M5) e 52 meses (B2M2), os quais vieram a óbito por conseqüência da evolução da doença; como controle utilizou-se um cão adulto não afetado pela distrofia muscular, de porte similar com idade aproximada de 84 meses.

Estas análises foram realizadas como um estudo de indivíduos únicos devido ao escasso número de animais. Ressaltamos que esse é um modelo experimental diferenciado; sendo que existem apenas 5 colônias em todo o mundo. Essa característica torna nossa pesquisa relevante não só do ponto de vista da clínica médica humana, como também demonstra importantes dados a medicina veterinária, a qual contribui para a clínica de animais de companhia e também evidencia elementos importantes para a conservação deste modelo experimental.

Os animais foram acondicionados em câmara fria e as necropsias foram realizadas 12 horas após o óbito. A análise das vísceras tubulares foi realizada através da coleta das seguintes porções: 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 descendente.

Os fragmentos foram então fixados em paraformoldeído a 4%, em solução tampão fosfato 0,1 M, seguidamente, o material foi corado em coloração de Hematoxilina - Eosina, a qual foi empregada a fim de estudar os aspectos histomorfológicos dos tecidos. Para a análise do colágeno utilizamos a coloração de Tricrômio de Masson e a coloração de Picrosírius associada ao Van-Guison as quais se destinam a diferenciar o colágeno do músculo liso. A avaliação descritiva da musculatura do tubo digestório, foi realizada através da análise de microscopia óptica de luz, utilizando 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.

RESULTADOS

Os tratos digestórios, dos cães Golden Retriever afetados pela distrofia muscular, foram abordados de modo a se

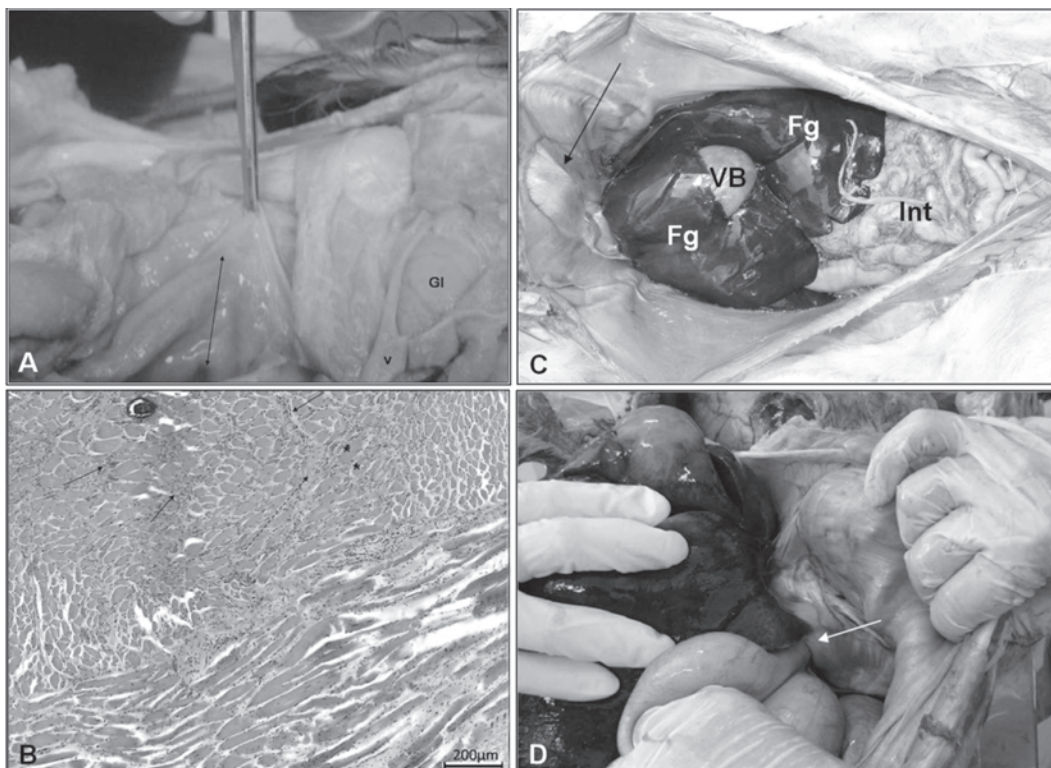


Fig.1. Esôfago cervical e sintopia do estômago no cão GRMD. (A) Dilatação, espessamento e aumento de diâmetro (seta) do esôfago, além do aumento da glândula salivar mandibular (Gl) localizada acima da veia jugular (v). (B) Infiltrado mononuclear com distribuição intersticial em sua camada muscular (seta cheia), fibras musculares de diâmetros variados (*) e a deposição de tecido conjuntivo (seta tracejada). Coloração HE. (C) Fígado aumentado de volume (Fg), a vesícula biliar dilatada (VB), as alças intestinais na posição ventral da cavidade abdominal (Int) e o diafragma (seta). (D) Relação do estômago com o fígado através da face cranial, demonstrando sua projeção anormal sobre o diafragma (seta).

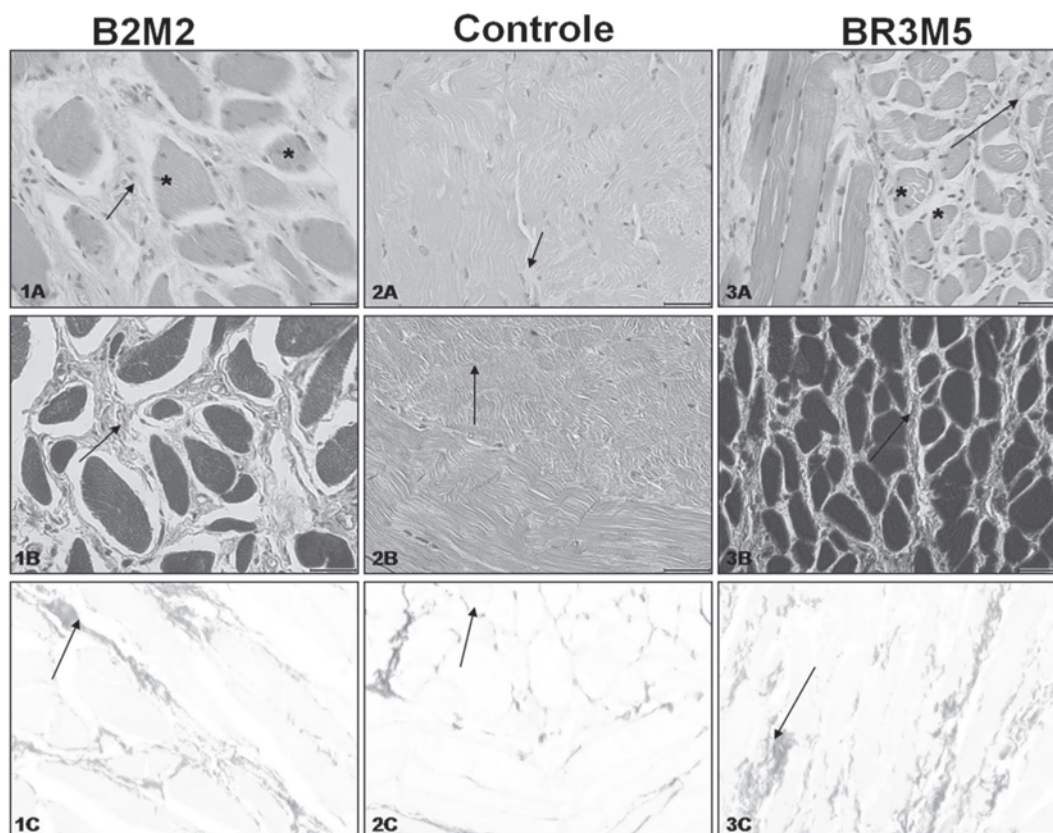


Fig.2. Camada muscular da região torácica do esôfago de GRMDs (B2M2 e BR3M5) e controle. (A) A diferença de diâmetro das fibras musculares (*). Coloração HE. (B e C) A diferença na deposição de tecido conjuntivo e colágeno (setas). Colorações (B) Tricrômio de Masson (C) Picrosírius-VanGiesson. Barra: 40µm.

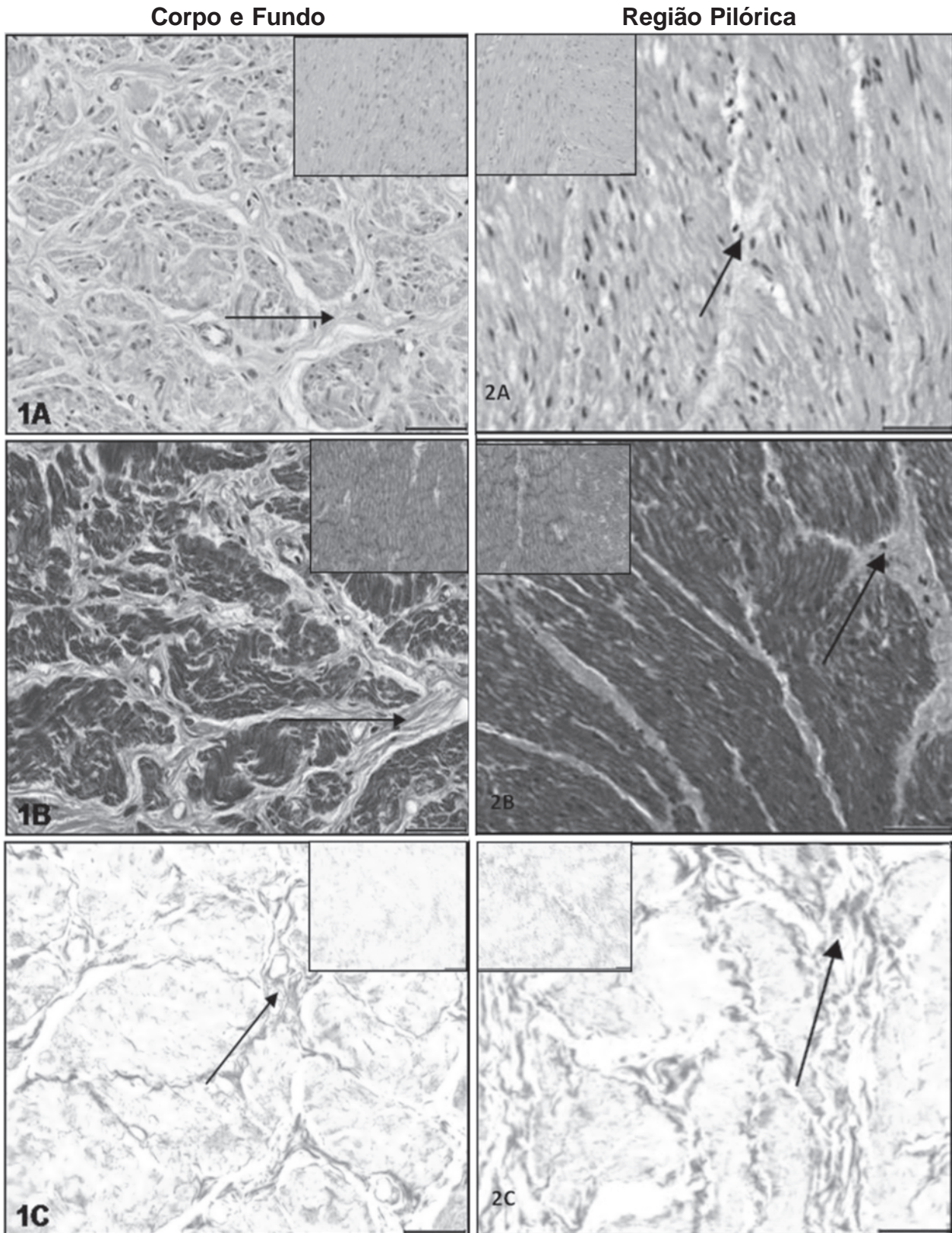


Fig.3. Camada muscular das regiões do corpo, fundo e pilórica do estômago de GRMDs (B2M2 e BR3M5). Evidenciamos a maior presença de deposição de tecido conjuntivo e colágeno denso (setas), nos animais afetados, além da perda de arquitetura e orientação normal da camada muscular. Colorações (A) HE, (B) Tricrômio de Masson, (C) Picosírius-VanGiesson. Barra 40µm.

rem avaliadas suas apresentações sintópicas evidenciando que a disposição geral das vísceras apresentava-se seguindo o padrão canino, considerado comum.

As camadas mucosa, submucosa e serosa mantiveram seu respectivo padrão, todavia ao longo do tubo digestório, a camada muscular diferenciou-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 (Fig.4B).

A análise macroscópica revelou que o esôfago apresentou-se dilatado, espessado, flácido e com diâmetro duas a três vezes maiores que o observado no animal sadio (Fig.1A), não havendo sinais de erosão, nem ulcerações na mucosa esofágica. Foi demonstrado no estudo histológico dos animais afetados que o esôfago se constituía de musculatura estriada com abundante deposição de tecido conjuntivo entre as fibras musculares (Fig.1B) e se destacou a presença de diversas regiões com infiltrado mononuclear com distribuição intersticial. Na análise comparativa da camada muscular da porção torácica do esôfago, observamos que o colágeno apresentava-se de forma imatura e havia notável presença de fibroblastos (Fig.2, 1A e 3C). Nossos resultados destacam uma maior ocorrência de tecido conjuntivo e colágeno, em disposição mais grosseira entre as fibras musculares, e maior ocorrência da diferença de diâmetro das fibras musculares dos

cães GRMDs diferentemente do encontrado no cão controle, o qual apresentava disposição normal e delicada (Fig.2, 1B-C e 3B-C).

O estômago dos animais distróficos demonstraram capacidade compatível com a raça, obedecendo ao padrão comum de 3,0-3,5 litros em cães que pesam aproximadamente 20kg. Em ambos os animais, a posição anatômica não se apresentou como o habitual, observou-se direcionamento ao hiato esofágico, pressionando o diafragma e, conseqüentemente, a cavidade torácica. A face cranial do estômago encontrava-se, em contato com o fígado, porém caudalmente apresentou-se deslocado para esquerda, isto porque o fígado estava aumentado, ultrapassando o bordo costal (Fig.1D).

Microscópicamente a região estomacal, estava composta por fibras musculares lisas, com perda de arquitetura e orientação normal, apresentando maior abundância em deposição de tecido conjuntivo entre as fibras musculares em comparação ao cão controle (Fig.3). O colágeno dos GRMDs apresentou disposição mais densa, aparentando estar mais maduro e ordenado, enquanto o cão controle apresentou disposição normal, delicada e de difícil diferenciação (Fig.3, 1B-C e 2B-C). Observou-se, também, diferença nas alterações entre os cães afetados, no qual podemos evidenciar que o cão mais velho apresentava alterações mais grosseiras quando comparado com o cão mais novo (Fig.3).

O músculo diafragma apresentava-se atrofiado, principalmente na região central, enquanto a musculatura lateral

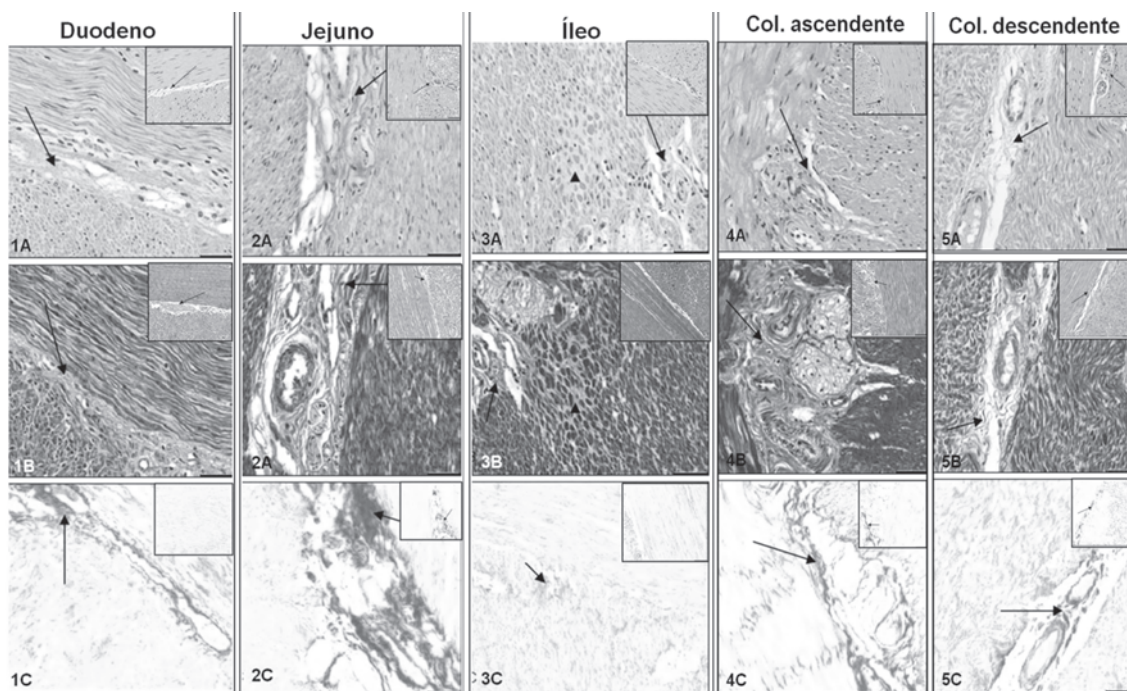


Fig.4. Camada muscular do intestino de cães Golden Retriever afetados pela distrofia muscular. As imagens mostram as fibras musculares (*) dos cães afetados bem orientadas, similares ao controle, porém a deposição de tecido conjuntivo (setas) apresentou-se aumentada nas regiões de vasos e nervos entre as subcamadas musculares. Colorações (A) HE, (B) Tricrômio de Masson, (C) Picrosirius-VanGieson. Barra: 40µm.

formava pilares espessados. Assim, evidenciou-se um centro tendíneo mais amplo permitindo que o estômago se projetasse sob essa área em direção ao tórax (Fig.1C).

Os intestinos delgado e grosso apresentaram-se na posição sintópica normal, ocupando a porção ventral da cavidade abdominal (Fig.1C). Observou-se a lâmina própria, pertencente à camada mucosa, preenchendo o centro das vilosidades intestinais, onde células musculares lisas estavam dispostas verticalmente entre a camada muscular da mucosa e a ponta das vilosidades, obedecendo a um padrão normal.

A análise histológica revelou que os animais GRMDs apresentaram a camada muscular do intestino delgado composta por fibras musculares com disposições similares a encontrada no animal controle (Fig.4, 1A, 2A e 3A). A malha de colágeno do endomísio das fibras musculares lisas dos animais afetados apresentou-se de modo delicado. Observamos que havia uma tendência à maior deposição de tecido conjuntivo entre as subcamadas musculares, principalmente ao redor dos vasos e dos plexos nervosos mioentéricos dos GRMDs (Fig.4, 1B, 2B e 3B).

Nos animais afetados, a camada muscular do intestino grosso estava bem desenvolvida e apresentou um comportamento próximo do normal (Fig.4, 4A e 5A), com as fibras musculares bem orientadas e apresentando maior deposição de tecido conjuntivo (Fig.4, 4C e 5C) entre as camadas musculares, principalmente ao redor dos vasos e dos plexos nervosos mioentéricos (Fig.4, 4B e 5B).

DISCUSSÃO

Em cães distróficos, o músculo esofágico está regularmente afetado (Valentine 1990, Jubb et al. 2003) e está predisposto a maiores alterações nesta região pelo fato de ser composto por musculatura estriada (Valentine et al. 1998). As alterações observadas no esôfago como dilatação, espessamento, flacidez e diâmetro aumentado, reforçam os achados apontados por Jubb et al. (2003), Miyazato (2005) e Valentine et al. (1990) em cães distróficos. Segundo a classificação para megaeosôfago de Washabau (2004), esta alteração encontrada nos GRMDs pode ser definida como megaeosôfago adquirido secundário, já que está associado à evolução da distrofia muscular.

O diafragma apresentou-se muito degenerado, como descrito por Valentine et al. (1990) e Miyazato (2005) para cães distróficos, o que aponta que seja um dos músculos mais afetados pela distrofia muscular. Estes animais estão predispostos a sofrer hérnia diafragmática com ou sem ruptura, já que o estômago tende a se projetar sob um centro tendíneo frágil.

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 observou-se a tendência de uma situação patológica na qual o fígado aumentado desloca o estômago para a

esquerda e este procurando espaço, principalmente quando repleto, encontra facilidade em acomodar-se sob o músculo diafragma, que cede, pois está sofrendo os efeitos da distrofia muscular. Ao contrário do que foi descrito por Valentine et al. (1990), Jubb et al. (2003) e Miyazato (2005) relatando que o estômago dos cães afetados pela distrofia muscular apresentavam-se dilatados, espessados, flácidos e com diâmetro maior que o observado em cães saudáveis, o estômago de ambos cães afetados, estudados por nós, apresentaram-se de tamanho normal e compatível com o peso dos animais.

A estrutura histológica geral do tubo digestório dos cães GRMDs apresentaram-se de maneira similar ao descrito por Junqueira & Carneiro (2004) aos humanos e Banks (1992) para cães saudáveis. No entanto, no estudo microscópico foram encontradas alterações e diferenças na camada muscular. Primeiramente, foram observadas as células musculares lisas da lâmina própria e a camada muscular da mucosa uma vez que Junqueira & Carneiro (2004) afirmam que estas são responsáveis pelos seus movimentos rítmicos, importante para absorção de nutrientes. Na avaliação histológica a função absorptiva não estaria tão afetada pela causa original da distrofia, uma vez que não houve tendência a ocorrer lesão severa nas fibras musculares lisas. No entanto estudos funcionais deverão ser realizados para avaliar a função absorptiva.

O esôfago e o estômago apresentaram-se como as porções mais afetadas do tubo digestório. Suas fibras musculares foram caracterizadas com diâmetros variados e estavam entremeadas com abundante deposição de tecido conjuntivo, fibroblastos e infiltrado mononuclear com distribuição intersticial, evidenciando o processo inflamatório caracterizado pela degeneração e regeneração que ocorre na doença, assim como descrito por Valentine et al. (1986) e Nguyen et al. (2002) para cães distróficos. Em tecidos 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. O colágeno é removido constantemente e substituído por formas mais maduras. Dessa forma, comparado ao esôfago, no estômago o colágeno estava presente de uma forma mais madura e ordenada devido a este órgão sofrer maiores ciclos de contração e relaxamento muscular, remodelando conforme as novas exigências de função requerida pela musculatura local.

Nossos resultados não demonstraram alterações histopatológicas significativas no intestino. Esses resultados demonstram existir uma diferença de severidade entre as lesões que ocorrem na musculatura estriada e na musculatura lisa, tendo como causa provável a distribuição distinta do complexo distrofina-glicoproteína existente nesses dois tipos de musculaturas, conforme sugere Byers (1991) para tecidos distróficos. Desta forma, a ausência da proteína distrofina tenderia a ser menos crítica para a função muscular lisa no intestino, do que é para o músculo esquelético. E a diferença entre a severidade da lesão que

ocorre na musculatura lisa do estômago em relação a do intestino, pode ser explicada pelo fato do primeiro sofrer maiores ciclos de contrações e distensões, que resulta em aumento de área de colágeno no tecido muscular e conseqüente perda de sua arquitetura.

O comportamento descrito do trato digestório do modelo GRMD, reflete o perfil lesional desta doença, determinando maior acometimento nos grupos musculares mais requisitados em determinada idade. Estes grupos musculares, sejam estriados ou lisos, sofrerão maiores ciclos de degeneração e regeneração das fibras musculares, e em estágios tardios da doença, resultará em substituição por tecido fibroso. Conhecer este comportamento auxilia na escolha por manejos que não sobrecarregue o paciente GRMD, evitando excessos, mas que ao mesmo tempo lhe ofereçam nutrientes e energia que garantam qualidade de vida.

Agradecimentos.- Aos colegas do Canil GRMD- Brasil pela valiosa ajuda neste trabalho, em especial à Adriana C. Morini e Renata A. Fernandes. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de bolsa de mestrado.

REFERÊNCIAS

- Banks W.J. 1992. *Histologia Veterinária Aplicada*. 2ª ed. Manole, São Paulo. 655p.
- Bergman R.L., Inzana K.D., Monroe W.E., Shell L.G., Liu L.A., Engvall E. & Shelton G.D. 2002. Dystrophin-deficient muscular dystrophy in a Labrador Retriever. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 38:255-261.
- Byers T.J., Kunkel L.M. & Watkins S.C. 1991. The subcellular distribution of dystrophin in mouse skeletal, cardiac, and smooth muscle. *J. Cell Biol.* 115:411-421.
- 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. & Aavery R.J. 1988. The homologue of the Duchenne locus is defective in X-linked muscular dystrophy of dogs. *Nature* 334:154-156.
- Dyce K.M., Sack W.O. & Wensing C.J.G. 2004. *Tratado de Anatomia Veterinária*. 3ª ed. Elsevier, Rio de Janeiro. 813p.
- Hoffman E.P., Hudecky M.S., Rosemberg P.A., Pollina C.M. & Kunkel L.M. 1988. Cell and fiber-type distributions of dystrophin. *Neuron* 1:411-420.
- Jubb K.V.F., Kennedy P.C. & Palmer N. 2003. *Pathology of Domestic Animals*. 4th ed. Academic Press, San Diego. 780p.
- Junqueira L.C. & Carneiro J. 2004. *Histologia Básica: texto e atlas*. 10ª ed. Guanabara-Koogan, Rio de Janeiro. 488p.
- Kornegay J.N., Tuler S.M., Miller D.M. & Levesque D.C. 1988. Muscular dystrophy in a litter of Golden Retriever dogs. *Musc. Nerve* 11:1056-1064.
- Kornegay J.N., Sharp N.J., Bartlett R.J., Van Camp S.D., Burt C.T., Hung W.Y., Kwock L. & Roses A.D. 1990. Golden Retriever muscular dystrophy: Monitoring for success. *Adv. Exp. Med. Biol.* 280:267-272.
- Myiazato L.G. 2005. *Distrofia muscular no Golden Retriever*. Dissertação de Mestrado em Patologia Animal, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP. 82p.
- Nguyen F., Cherel Y., Guigand L., Goubault-Leroux I. & Wyers M. 2002. Muscle lesions associated with dystrophin deficiency in neonatal Golden Retriever puppies. *J. Comp. Pathol.* 126:100-108.
- Shelton G.D., Liu L.A., Guo L.T., Smith G.K., Christiansen J.S., Thomas W.B., Smith M.O., Kline K.L., March P.A., Flegel T. & Engvall E. 2001. Muscular dystrophy in female dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 15:240-244.
- Sisson S. & Grossman J.D. 1972. *Anatomia de los Animales Domésticos*. Salvat Editores, Barcelona, p.485-499.
- Valentine B.A., Cooper B.J., Cummings J.F. & Delahunta A. 1986. Progressive muscular dystrophy in a Golden Retriever dog: Light microscope and ultrastructural features at 4 and 8 months. *Acta Neuropathol.* 71:301-310.
- Valentine B.A., Cooper B.J., Delahunta A., O'Quinn R. & Blue J.T. 1988. Canine X-linked muscular dystrophy. An animal model of Duchenne muscular dystrophy: Clinical studies. *J. Neurol. Sci.* 8:869-881.
- Valentine B.A., Cooper B.J., Cummings J.F. & Delahunta A. 1990. Canine X-linked muscular dystrophy: Morphologic lesions. *J. Neurol. Sci.* 97:1-23.
- Valentine B.A., Winand N.J., Pradhan D., Moise N.S., Delahunta A., Kornegay J.N. & Cooper B.J. 1992. Canine x-linked muscular dystrophy as an animal model of Duchenne muscular dystrophy: A review. *Am. J. Med. Gen.* 42:352-356.
- Washabau R.J. 2004. Doenças do esôfago, p.1205-1218. In: Ettinger S.J. & Feldman E.C. (Eds), *Tratado de Medicina Interna Veterinária*. Vol.2. 5ª ed. Guanabara-Koogan, Rio de Janeiro.