



Achados clínicos, histopatológicos e moleculares da mielopatia degenerativa canina: relato de caso

[Clinical, histopathological and molecular findings of canine degenerative myelopathy: case report]

C.R.O. Santos¹, A.M. Amude², F.P. Araújo³, F.C.M. Bezerra¹,
J.F. Nogueira¹, J.J.S. Gouveia⁴, D. Baraúna Júnior⁴

¹Aluno de pós-graduação - Universidade Federal do Vale do São Francisco - Petrolina, PE

²Faculdade de Medicina Veterinária - Universidade de Cuiabá - Cuiabá, MT

³Médico Veterinário autônomo - Salvador, BA

⁴Universidade Federal do Vale do São Francisco - Petrolina, PE

C.R.O. Santos
<https://orcid.org/0000-0002-8676-6095>
A.M. Amude
<https://orcid.org/0000-0001-7515-7537>
F.P. Araújo
<https://orcid.org/0000-0001-6990-9130>
F.C.M. Bezerra
<https://orcid.org/0000-0001-9850-0932>
J.F. Nogueira
<https://orcid.org/0000-0002-1425-2036>
J.J.S. Gouveia
<https://orcid.org/0000-0002-0438-094X>
D.B. Junior
<https://orcid.org/0000-0002-0261-6672>

RESUMO

Objetivou-se descrever os achados clínicos, histopatológicos e moleculares associados à MDC em um cão da raça Pastor-Suíço. O cão possuía uma paraparesia progressiva em membros pélvicos e foi submetido a avaliações clínicas, pelas quais se obteve, entre outros diferenciais, o diagnóstico presuntivo de MDC. Com a evolução dos sinais, o tutor optou pela eutanásia. Os achados histopatológicos da medula espinhal foram compatíveis com uma degeneração segmentar axonal e mielínica. O diagnóstico molecular foi realizado por meio da extração do DNA obtido por *swab* oral. Uma PCR foi otimizada utilizando-se *primers* descritos em literatura para amplificar a região do gene *SOD1*. A amostra foi, então, submetida a sequenciamento unidirecional, que revelou que o animal em questão era homocigoto para o alelo A para a mutação *c.118G>A* no éxon 2 do gene *SOD1*. O diagnóstico clínico presuntivo da MDC no presente caso foi esclarecido por meio dos achados histopatológicos, associados aos achados clínicos, e da sua caracterização molecular. Ressalta-se a contribuição deste relato, que traz aspectos clínicos, histopatológicos e moleculares associados à MDC na raça Pastor-Suíço, para a qual, até o presente momento, na literatura consultada, não há relato dessa enfermidade.

Palavras-chave: esclerose lateral amiotrófica, medula espinhal, neurodegeneração, superóxido dismutase 1

ABSTRACT

The objective of this study was to describe the clinical, histopathological and molecular findings associated with MDC in a Swiss Shepherd dog. The dog had a progressive paraparesis in pelvic limbs and was submitted to clinical evaluations where, among other differentials, the presumptive diagnosis of MDC was obtained. With the progression of the nervous deficits tutor opted for euthanasia. The histopathological findings of the spinal cord were compatible with axonal and myelinic segmental degeneration. Molecular diagnosis was performed by extracting the DNA obtained by oral swab. PCR was optimized using primers described in the literature to amplify the *SOD1* gene region. The sample was then subjected to one-way sequencing which revealed that the animal in question was homozygous for the A allele for the *c.118G>A* mutation in exon 2 of the *SOD1* gene. The presumptive diagnosis of MDC in the present case was clarified by histopathological findings, as well as by its molecular characterization. The contribution of this report brings clinical, histopathological and molecular aspects associated with canine degenerative myelopathy in the Swiss Shepherd breed, that until this moment, in the literature consulted, there is no report of this disease in the breed mentioned.

Keywords: amyotrophic lateral sclerosis, spinal cord, neurodegeneration, superoxide dismutase 1

Recebido em 7 de janeiro de 2019

Aceito em 16 de julho de 2019

E-mail: cassiareginavet@yahoo.com.br

INTRODUÇÃO

Mielopatia degenerativa canina (MDC) é uma enfermidade neurodegenerativa da medula espinhal, progressiva e ascendente (Dewey e Costa, 2017). Essa afecção foi inicialmente descrita em cães da raça Pastor-Alemão (Averill, 1973) e atualmente também é relatada em diversas outras raças, incluindo o Cão-Esquimó-Americano, Boiadeiro-Bernês, Boxer, Welsh Corgi Cardigan, Chesapeake Bay Retriever, Golden Retriever, Kerry Blue Terrier, Poodle, Welsh Corgi Pembroke, Pug, Rhodesian Ridgeback, Husky Siberiano, Soft Coated Wheaten Terrier, Fox Terrier pelo duro (Coates *et al.*, 2007; Ivansson *et al.*, 2016; Dewey e Costa, 2017).

As principais apresentações clínicas são paraparesia progressiva e assimétrica de neurônio motor superior, ataxia proprioceptiva em membros pélvicos e ausência de dor na palpação epaxial. Com maior duração da doença, os sinais clínicos podem progredir para uma paralisia de neurônio motor inferior nos membros pélvicos, que pode afetar os membros torácicos. Não há predileção sexual e a idade de início dos sinais neurológicos varia entre cinco e nove anos de idade (Coates *et al.*, 2007; Dewey e Costa, 2017).

O diagnóstico definitivo dá-se no *post mortem*, por meio do exame histopatológico da medula espinhal, e os achados são caracterizados por uma degeneração axonal e mielínica que afeta os funículos, principalmente no aspecto dorsal dos funículos laterais e dos funículos dorsais, além de perda do corpo celular neuronal (March *et al.*, 2009).

A MDC é equivalente à esclerose lateral amiotrófica em humanos (ELA) e é caracterizada como uma doença genética autossômica recessiva causada por mutações no gene da proteína superóxido dismutase 1 (*SOD1*). Atualmente já foram descritas duas mutações associadas a essa afecção; a primeira é uma transição (*c.118G>A*) no éxon 2 do gene *SOD1*, resultando na mudança de glutamato para lisina no aminoácido 40 da cadeia polipeptídica (Awano *et al.*, 2009), e a segunda, uma transversão (*c.52A>T*) localizada no éxon 1 do mesmo gene e que resulta na mudança de

treonina para serina na posição 18 da cadeia polipeptídica (Pfahler *et al.*, 2014).

Não há tratamento efetivo para a MDC e todos os protocolos utilizados até o momento foram empíricos, sem evidências científicas. Assim, comumente os tutores optam pela eutanásia à medida que a paralisia ascende, ou ainda quando há sinais de comprometimento respiratório e urinário (Coates e Winger, 2010). Na literatura consultada, ainda não há relatos da MDC em cão da raça Pastor-Suíço, bem como na literatura nacional não há, até o presente momento, descrições que associem aspectos clínicos, histopatológicos e moleculares da MDC. Assim, objetivou-se descrever os achados clínicos, histopatológicos e moleculares associados à mielopatia degenerativa canina em um cão da raça Pastor-Suíço.

CASUÍSTICA

Foi atendido um paciente da espécie canina, da raça Pastor-Suíço, fêmea, com 10 anos de idade. A queixa relatada pelo seu tutor era de dificuldade locomotora progressiva em membros pélvicos há três semanas. A primeira avaliação neurológica revelou ataxia proprioceptiva discreta em membros pélvicos. O reflexo cutâneo do tronco foi ausente até a região de primeira e segunda vértebras lombares (L1-L2), e o animal possuía discreta dor na palpação epaxial da coluna toracolombar e lombar.

Foram solicitadas radiografias simples da coluna toracolombar e lombossacra nas projeções lateral e dorsoventral, além de tomografia computadorizada da coluna toracolombar e lombossacra. As projeções radiográficas demonstraram espondilose deformante em T13-L1, porém sem significado clínico evidente nas avaliações neurológicas realizadas. A tomografia computadorizada não foi realizada pelo tutor. Foi iniciada terapia com meloxicam (0,1mg/kg, por via oral, a cada 24h, até a suspensão médica) e dipirona (25mg/kg, por via oral, a cada oito horas, até a suspensão médica).

Após seis meses, o animal retornou apresentando piora acentuada da ataxia proprioceptiva (deambulava somente com auxílio), diminuição da propriocepção consciente bilateral em membros pélvicos e hipotrofia da musculatura nesses membros. O reflexo cutâneo do tronco

estava ausente até a região das vértebras torácicas T11-T12, e estava mais responsivo do lado direito. Na palpação epaxial, notou-se apenas um discreto incômodo.

Os possíveis diagnósticos diferenciais estabelecidos incluíram inicialmente mielopatia degenerativa canina, neoplasia e doença do disco intervertebral. Com a evolução para a piora do quadro, foi reforçado o diagnóstico presuntivo de mielopatia degenerativa e esclarecido o prognóstico desfavorável. Considerando a progressão dos sinais neurológicos, o tutor optou pela eutanásia do cão.

Para a avaliação histopatológica da medula espinal, o segmento da medula espinal

toracolombar foi removido e esta foi fixada em formalina neutra tamponada a 10%. Cortes transversais de 0,5cm da medula espinal previamente fixada foram obtidos, processados rotineiramente para histologia e corados pela técnica de hematoxilina e eosina (HE). A avaliação microscópica revelou degeneração vacuolar difusa nos funículos medulares, mais acentuada principalmente nos funículos laterais e dorsal. Dentro dos vacúolos, foi possível identificar axônios degenerados tumefeitos e resíduos de debris axonais, bem como presença de axonofagia (Fig. 1). Em muitos vacúolos, não foram observados resquícios axonais. Também foram observadas astrogliose e astrocitose na substância branca medular.

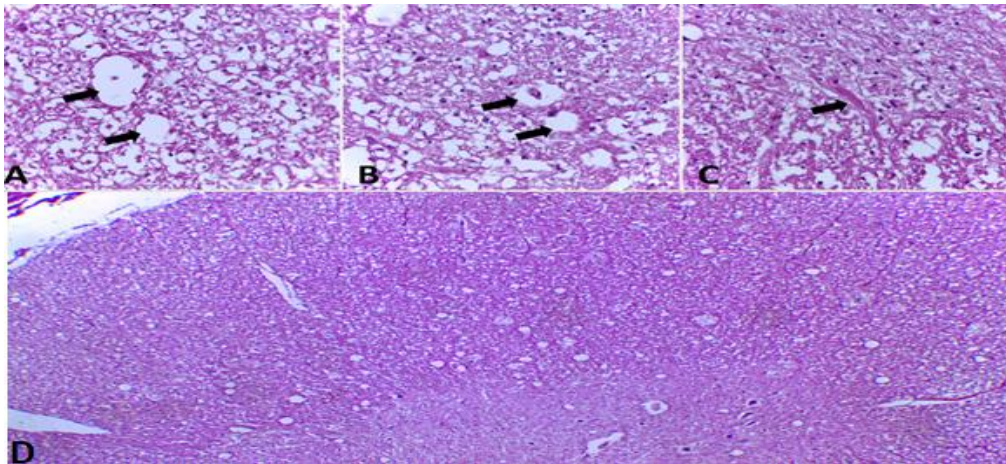


Figura 1. Fotomicrografia de secções transversas de medula espinal corada com hematoxilina-eosina (segmento toracolombar) de cão Pastor-Suíço diagnosticado com mielopatia degenerativa. A. Observam-se dois grandes vacúolos axonais, um com debris axonais residuais e outro sem resquício axonal (setas), objetiva de 100. B. Notam-se dois vacúolos com debris axonais (setas) em processo de axonofagia e aumento do conteúdo celular por gliose, objetiva de 100. C. Presença de axônio tumefeito e degenerado em corte longitudinal (seta), aumento de conteúdo celular por gliose, objetiva de 100. D. Fotomicrografia panorâmica de funículo medular de cão Pastor-Suíço (secção transversa), corada com hematoxilina-eosina (segmento toracolombar). Nesta imagem, já se notam os vacúolos axonais com e sem resquícios axonais, além de diversos axônios tumefeitos e degenerados, objetiva de 40.

Para realização do diagnóstico molecular da transição (*c.118G>A*) no éxon 2 do gene *SOD1*, o DNA foi extraído de *swab* oral, utilizando-se uma adaptação do protocolo de extração salina descrito por Regitano *et al.* (2007). Após a extração, a amostra foi submetida à eletroforese em gel de agarose (2%) para verificação de concentração e qualidade do DNA.

Para a reação em cadeia da polimerase, foram utilizados os *primers* F1-SOD (5'-

GTCCCCAGCCTAGAATGGTTAA-3') e R2-SOD (5'- CGGCTTTGTGGATCATTTCC-3'), descritos por Turba *et al.* (2017). A reação consistiu em: tampão de PCR (1X), MgCl₂ (1,5mM), dNTP (0,2mM), *primer* F1-SOD (0,2μM), *primer* R2-SOD (0,2μM), Taq DNA polimerase (2U) e DNA (80ng). As reações ocorreram em um volume final de 25μL, com uma desnaturação inicial a 95°C por 10 minutos, seguido de 40 ciclos de desnaturação a 95°C por 30 segundos, anelamento a 54°C por 30 segundos

e extensão a 72°C por um minuto, seguido de uma extensão final a uma temperatura de 72°C por 10 minutos.

A amostra foi, então, submetida a sequenciamento Sanger unidirecional (utilizando

o *primer* F1-SOD) em empresa particular (HELIXXA-Bases for Life). O sequenciamento revelou que o animal em questão era homozigoto para o alelo “A” da mutação *c.118G>A* no éxon 2 do gene *SOD1* (Fig. 2).

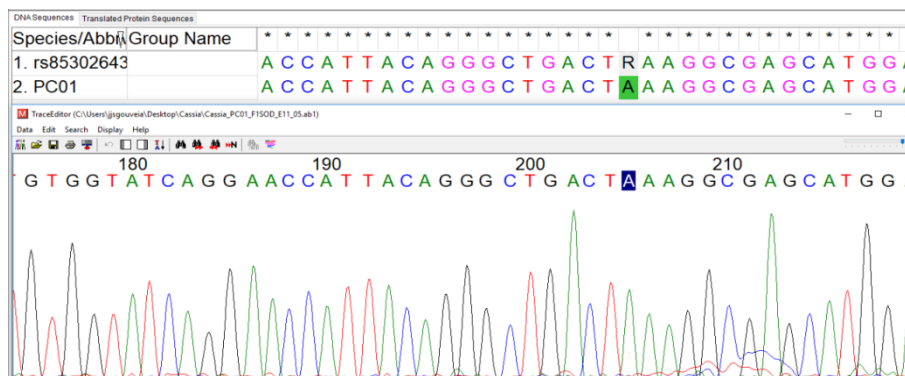


Figura 2. Eletroferograma de cão da raça Pastor-Suíço com a mutação *c.118G>A* no éxon 2 do gene *SOD1* e alinhamento com a sequência de referência. O realce está na mutação associada com a mielopatia degenerativa canina.

DISCUSSÃO

Na MDC, a idade do início dos sinais neurológicos geralmente é de cinco anos, ou ainda mais tarde, em raças de cães grandes, e um dos primeiros sinais clínicos da enfermidade é ataxia proprioceptiva de membros pélvicos. No momento da apresentação clínica da MDC, as alterações posturais e de reflexos segmentares são consistentes com acometimento de neurônio motor superior, localizado nos segmentos da medula espinhal T3 a L3 (Coates e Wininger, 2010). O cão do presente relato estava na faixa etária para o início dos sinais clínicos, bem como em um curso clínico semelhante ao descrito em literatura para a enfermidade relatada.

Outras enfermidades podem gerar sinais clínicos semelhantes à MDC, e, por isso, foram consideradas no plano de diagnóstico. Um exemplo é a doença do disco intervertebral cervical (C1-C5), ou toracolombar (T3-L3) (protrusão ou extrusão) (Coates et al., 2007). No caso da doença do disco intervertebral cervical, a disfunção de membros pélvicos pode apresentar-se antes mesmo da disfunção dos membros torácicos (por exemplo, na espondilomielopatia cervical caudal), fazendo com que possa ser considerada na lista de

diferenciais (Coates et al., 2007; Dewey e Costa, 2017).

Comparativamente a uma síndrome cervical caudal, os sinais de mielopatia compressiva toracolombar são mais semelhantes aos sinais visualizados na MDC, por tratar-se de um acometimento que, a princípio, é atribuído à lesão em neurônio motor superior (Dewey e Costa, 2017).

A neoplasia óssea ou a da medula espinhal possuem possibilidade de compressão da medula espinhal e conseqüentemente os sinais neurológicos podem ser decorrentes de uma mielopatia compressiva progressiva (Coates et al., 2007). Assim, foram solicitadas radiografias simples, bem como a tomografia computadorizada, que auxiliaria nesses possíveis diagnósticos diferenciais.

Entre os exames solicitados que poderiam ser feitos *ante mortem* para descartar as enfermidades do plano de diagnóstico diferencial para o cão deste presente relato, a tomografia computadorizada não pôde ser realizada pelo tutor. Esse exame poderia contribuir para detectar possível mielopatia associada a uma doença de disco intervertebral ou, ainda, sugerir sinais de neoplasia óssea não evidenciada por radiografia simples. As radiografias simples

realizadas não sugeriram nenhum padrão compatível com neoplasia óssea.

Segundo Dewey e Costa (2017), o uso de analgésicos pode ajudar a descartar mielopatias compressivas da medula espinhal, pois trará algum benefício para esses pacientes e auxilia o clínico na condução do seu plano diagnóstico. Considerando essa afirmação e também objetivando fornecer um conforto ao animal devido à dor apresentada na palpação epaxial, foram prescritos o meloxicam e a dipirona. É importante considerar que cães idosos podem comumente sentir discreta dor na palpação epaxial, possivelmente, devido à artrose (Dewey e Costa, 2017). Todos esses fatores exigem atenção especial do avaliador para detectar o local da lesão predominante e identificar a etiologia associada.

No retorno do animal, ainda foi percebido um discreto incômodo na palpação epaxial, o que revela que os analgésicos prescritos não influenciaram muito nesse sentido, uma vez que os sinais neurológicos evoluíram para pior, porém sem sinais de dor severa por algum tipo de compressão evidente. Portanto, como citado anteriormente, esse incômodo pode ser atribuído à palpação epaxial em animais idosos devido à artrose.

A maioria dos tutores opta pela eutanásia quando a MDC evolui para a paraparesia não ambulatória, e assim também foi decidido pelo tutor do cão deste relato. Uma vez que o diagnóstico definitivo é baseado nos achados histopatológicos da medula espinhal (Coates e Wininger, 2010), foi, então, solicitado o exame histopatológico no presente caso.

Os achados da histopatologia inerentes à MDC são consistentes com degeneração axonal não inflamatória em todos os funículos, mas podem aparecer também especialmente nos funículos laterais e dorsais (March *et al.*, 2009; Coates e Wininger, 2010), assim como foi descrito nos achados de microscopia do segmento medular analisado no presente caso. Cães com MDC podem evidenciar padrões característicos de vacuolização e perda axonal, o que foi constatado no exame histopatológico deste relato, além de uma perda acentuada de axônios, mielina e grandes áreas de astrogliose. Tais achados descritos na histopatologia do segmento da medula espinhal avaliado, foram consistentes

com a literatura para a MDC (March *et al.*, 2009; Coates e Wininger, 2010).

Uma distribuição similar das alterações no histopatológico tem sido observada em muitos outros casos de MDC (Coates e Wininger, 2010; Wininger *et al.*, 2011). Outros diagnósticos diferenciais estabelecidos para este relato, como a doença de disco intervertebral e as neoplasias, não possuem características microscópicas semelhantes às descritas para a MDC.

Um diagnóstico presuntivo de MDC frequentemente é realizado com base na falta de mielopatia compressiva clinicamente relevante. Para tal, os exames de neuroimagem podem ser especialmente úteis para identificar neoplasia da medula espinhal intramedular precoce e evidência de mielopatia compressiva extradural, além de frequentemente revelarem protrusões de disco, que pode atrapalhar um diagnóstico de MDC. O clínico, por sua vez, deve ser guiado pela experiência clínica para avaliar a rapidez da progressão da doença, a presença de hiperestesia paraespinhal e a gravidade da compressão da medula espinhal para explicar a gravidade da mielopatia (Coates e Wininger, 2010).

Em termos patológicos, a mielopatia degenerativa canina é uma axonopatia central primária, e as causas atribuídas a ela são bastante pesquisadas, principalmente pela sua similaridade nos aspectos genéticos e clínicos com a ELA humana, o que a tornou um modelo de estudo para a doença (Nardone *et al.*, 2015; Dewey e Costa, 2017). Awano *et al.* (2009) relataram, pela primeira vez, que a mutação causal para a MDC era uma transição (*c.118G>A*) no éxon 2 do gene *SOD1* (que leva à mudança de glutamato para lisina no aminoácido 40 da cadeia polipeptídica).

Essa mutação, citada anteriormente por Awano *et al.* (2009), foi identificada no cão descrito neste relato e, segundo a literatura, pode ser considerada como o principal fator de risco associado à manifestação da doença (Capucchio *et al.*, 2014; Holder *et al.*, 2014).

Um dos papéis dos testes genéticos é auxiliar o médico veterinário com o diagnóstico diferencial de distúrbios que compartilham sinais clínicos semelhantes (Mellersh, 2012), principalmente quando se fala das diferentes mutações dentro do mesmo gene ou em genes diferentes, que podem

levar ao mesmo quadro clínico, ou seja, o fenômeno de heterogeneidade genética. Esse fenômeno foi relatado em cães da raça Boiadeiro-Bernês com uma mutação diferente dentro do mesmo gene da *SOD1* (Wininger et al., 2011; Pfahler et al., 2014). Nessa raça, a mutação consiste em uma transversoão (c.52A>T) localizada no éxon 1 do gene da *SOD1* (que resulta na mudança de treonina para serina na posição 18 da cadeia polipeptídica), também associada ao aparecimento da MDC (Wininger et al., 2011; Pfahler et al., 2014).

Além da heterogeneidade genética, a MDC apresenta penetrância incompleta, ou seja, nem todos os cães homocigotos para as mutações causais associadas ao gene *SOD1* irão desenvolver a doença durante o tempo de vida (Awano et al., 2009). Diante disso, o veterinário precisa estar atento à associação do teste com os aspectos clínicos do paciente e ainda levar em consideração outros exames complementares associados. Assim, deve-se atentar não somente para os resultados da genotipagem, mas fazer a associação com o curso clínico da enfermidade, bem como, no caso da MDC, realizar o exame histopatológico da medula espinhal para o diagnóstico definitivo (McClellan e King, 2010).

Ao possuir a informação que um cão é homocigoto para a mutação no gene da *SOD1*, devem-se considerar ainda outras enfermidades que podem ter sinais semelhantes, uma vez que possuir o genótipo homocigoto para a doença não significará que a MDC irá se desenvolver, contudo o valor da genotipagem desse animal é agregado a outras análises que o clínico precisará realizar, incluindo a evolução do quadro clínico neurológico, as técnicas de imagem empregadas e exames histopatológicos (O'Brien e Leeb, 2014).

Neste cão, não houve a oportunidade de realizar o teste molecular para a investigação de uma mutação no gene da *SOD1* ainda em vida, e, portanto, na ocasião da coleta de segmento medular no *post mortem*, também foi coletada saliva por meio de *swab* oral para que esse animal participasse de um projeto de pesquisa que investigou essa mutação em cães de raças predispostas.

Como a idade média de início da enfermidade cursa entre nove e 11 anos de idade, muitos cães

com a mutação no gene *SOD1* podem morrer por outras causas antes de atingir essa idade, ou mesmo há relatos de cães que são homocigotos para o alelo mutante e que viveram, em média, 14-15 anos de idade, sem desenvolver sinais da doença (O'Brien e Leeb, 2014). Contudo, no presente caso, o cão possuía a idade descrita para o início do desenvolvimento da MDC e os sinais clínicos compatíveis, o que posteriormente foi confirmado no estudo histopatológico.

Devido aos aspectos genéticos que envolvem essa doença, as ferramentas de genotipagem têm se tornado cada vez mais uma tendência entre os veterinários e criadores, uma vez que é possível selecionar quais animais serão utilizados nos acasalamentos. Isso torna possível o controle ou, até mesmo em alguns casos, a erradicação de doenças. Contudo, essas ferramentas devem ser usadas com cautela e estratégias bem definidas, para que métodos rigorosos, a ponto de excluir animais que possam contribuir para a população, não sejam aplicados a um plantel (Lyons et al., 2016).

Uma vez que os testes de DNA estão se tornando mais aplicáveis, é fundamental que os clínicos compreendam a aplicação e a interpretação adequada dos resultados que eles trazem, levando em consideração os diversos aspectos que envolvem a enfermidade investigada (O'Brien e Leeb, 2014).

CONCLUSÕES

Tomados em conjunto, os achados clínicos, histopatológicos e o diagnóstico molecular permitiram confirmar o diagnóstico de mielopatia degenerativa canina em um cão Pastor-Suíço. Esses resultados contribuem para as investigações do aspecto molecular da doença, pois confirmam uma mutação já descrita no gene *SOD1* em cães, a qual é atribuída como fator de risco ao desenvolvimento da mielopatia degenerativa canina. Esse tipo de descrição clínica, associada a achados histopatológicos e moleculares, traz suporte científico para os clínicos introduzirem a MDC no diagnóstico diferencial de mielopatia nas raças descritas como predispostas à doença, bem como empregarem as ferramentas moleculares disponíveis para agregar valor ao seu diagnóstico.

REFERÊNCIAS

- AVERILL, D.R. Degenerative myelopathy in the aging German shepherd dog: clinical and pathologic findings. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.162, p.1045-1051, 1973.
- AWANO, T.; JOHNSON, G.S.; WADEB, C.M.; *et al.* Genome-wide association analysis reveals a SOD1 mutation in canine degenerative myelopathy that resembles amyotrophic lateral sclerosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, v.106, p.2794-2799, 2009.
- CAPUCCHIO, M.T.; SPALENZA, V.; BIASIBETTI, E.; BOTTERO, M.T. Degenerative myelopathy in German Shepherd Dog: comparison of two molecular assays for the identification of the SOD1:c.118G>A mutation. *Mol. Biol. Rep.*, v.41, p.665-670, 2014.
- COATES, J.R.; MARCH, P.A.; OGLESBEE, M.; RUAUX, C.G. Clinical characterization of a familial degenerative myelopathy in Pembroke Welsh Corgi dogs. *J. Vet. Intern. Med.*, v.21, p.1323-1331, 2007.
- COATES, J.R.; WININGER, F.A. Canine degenerative myelopathy. *Vet. Clin. N. Am. Small Anim. Pract.*, v.40, p.929-950, 2010.
- DEWEY, C.W.; COSTA, R.C. Mielopatias: doenças da medula espinhal. In: DEWEY, C.W.; COSTA, R.C. Neurologia canina e felina, guia prático. 3.ed. São Paulo: Guarã, 2017. p.379-462.
- HOLDER, A.L.; PRICE, J.A.; ADAMS, J.P.; HOLGER A.V. A retrospective study of the prevalence of the canine degenerative myelopathy associated superoxide dismutase 1 mutation (SOD1:c.118G > A) in a referral population of German Shepherd dogs from the UK. *Canine Genet. Epidemiol.*, v.1, p.1-6, 2014.
- IVANSSON, E.L.; MEGQUIER, K.; KOZYREV, S.V. *et al.*, Variants within the SP110 nuclear body protein modify risk of canine degenerative myelopathy. *PNAS*, v. 22, p.3091-3100, 2016.
- LYONS, L.A.; GRAHN, R.A.; GENOVA, F.; BECCAGLIA, M. Mucopolysaccharidosis VI in cats—clarification regarding genetic testing. *BMC Vet. Res.*, v.12, p.136, 2016.
- MARCH, P.A.; COATES, J.R.; ABYAD, R.J.; WILLIAMS, D.A. Degenerative myelopathy in 18 Pembroke Welsh Corgi dogs. *Vet. Pathol.*, v.46, p.241-250, 2009.
- MCCLELLAN, J.; KING M.C. Genetic heterogeneity in human disease. *Cell*, v.141, p.210-217, 2010.
- MELLERSH, C. DNA testing and domestic dogs. *Mamm. Genome*, v.23, p.109-123, 2012.
- NARDONE, R.; HÖLLER, Y.; TAYLOR, A.C.; PIERGIORGIO, L. Canine degenerative myelopathy: a model of human amyotrophic lateral. *Zoology*, v.119, p.64-73, 2015.
- O'BRIEN, D.P.; LEEB, T. DNA testing in neurologic diseases. *J. Vet. Intern. Med.*, v.28, p.1186-1198, 2014.
- PFAHLER, S.; BACHMANN, N.; FECHLER, C.; LEMPP, C. Degenerative myelopathy in a SOD1 compound heterozygous Bernese mountain dog. *Anim. Genet.*, v.45, p.309-310, 2014.
- REGITANO, A.C.L.; NICIURA, S.C.M.; IBELLI, A.M.G.; GOUVEIA, J.J.S. *Protocolos de biologia molecular aplicada à produção animal*. São Paulo: Embrapa Sudeste, 2007. 72p.
- TURBA, M.E.; LOECHEL, R.; ROMBOL, E.; GANDINI, G. Evidence of a genomic insertion in intron 2 of SOD1 causing allelic drop-out during routine diagnostic testing for canine degenerative myelopathy. *Anim. Genet.*, v.48, p.365-368, 2017.
- WININGER, F.A.; ZENG, R.; JOHNSON, G.S.; KATZ, M.L. Degenerative myelopathy in a bernese mountain dog with a novel SOD1 missense mutation. *J. Vet. Intern. Med.*, v.25, p.1166-1170, 2011.