

**JOANA HENRIQUES SIMÕES MARQUES**

**ABORDAGEM DA NEURORREABILITAÇÃO  
FUNCIONAL EM CÃES COM MIELOPATIA  
DEGENERATIVA**

**Orientadora:** Professora Doutora Maria João da Costa Soares da Silva

**Coorientadora:** Mestre Ângela Paula Neves Rocha Martins

**Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias**

**Faculdade de Medicina Veterinária**

**Lisboa**

**2019**

**JOANA HENRIQUES SIMÕES MARQUES**

**ABORDAGEM DA NEURORREABILITAÇÃO  
FUNCIONAL EM CÃES COM MIELOPATIA  
DEGENERATIVA**

Dissertação defendida em provas públicas para a obtenção do Grau de Mestre em Medicina Veterinária no curso de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária conferido pela Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, no dia 05 de abril de 2019, com o Despacho Reitoral nº81/2019, com a seguinte composição de júri:

**Presidente:** Professora Doutora Laurentina Pedroso

**Arguente:** Professor Doutor Artur Varejão (UTAD)

**Orientadora :** Professora Doutora Maria João Soares

**Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias**

**Faculdade de Medicina Veterinária**

**Lisboa**

**2019**

---

## **Agradecimentos**

As minhas primeiras palavras de agradecimento dirigem-se à Doutora Ângela Martins, por ser um exemplo de dedicação e força. Obrigada por todos os ensinamentos transmitidos e por sempre me incentivar a acreditar em mim.

À Doutora Maria João Soares, por ter aceitado ser a minha orientadora e por toda a disponibilidade e auxílio na realização desta dissertação de mestrado.

A toda a equipa do HVA e CRAA, por me receberem e apoiarem durante o meu estágio curricular. Um agradecimento especial ao Doutor Bruno Melo e à Enfermeira Catarina.

Ao Doutor João Ribeiro, que despoletou em mim o interesse pela área de neurologia, por me ter recebido como estagiária no Centro de Referência Veterinária, e por toda a inspiração, motivação e conhecimentos que me transmitiu.

Aos meus amigos de faculdade, por todo o apoio e companheirismo. Esta jornada não teria sido a mesma sem vocês.

Aos meus amigos de longa data e familiares, por fazerem parte de quem eu sou e por sempre acreditarem em mim, mesmo quando eu não acreditava.

Aos meus fiéis companheiros de 4 patas, ao Ega, ao Dimas e à Ellie, pela dedicação muito própria e pelas incontáveis horas de companhia junto ao computador.

Aos meus avós por, apesar da ausência, continuarem naturalmente tão presentes em mim.

Por fim, um agradecimento especial aos meus pais e irmãs, por me aturarem em mil ocasiões e pelo apoio e carinho que sempre me deram ao longo de toda a minha vida.

A Todos, o meu muito obrigado.

## **Resumo**

A Mielopatia Degenerativa Canina é uma doença neurodegenerativa que afeta cães adultos de diversas raças. Numa fase inicial, caracteriza-se por uma ataxia assimétrica dos membros pélvicos, progredindo para paraplegia e, eventualmente, perda de mobilidade dos membros torácicos e atrofia muscular generalizada. A Mielopatia Degenerativa é uma doença progressiva e fatal, sendo histopatologicamente classificada como uma axonopatia multissistémica central e periférica, não existindo um tratamento médico eficaz.

Recentemente, uma mutação no gene superóxido dismutase 1 canino (SOD1) revelou ser um fator de risco para o desenvolvimento de Mielopatia Degenerativa, sugerindo uma homologia com a Esclerose Lateral Amiotrófica, uma doença neurodegenerativa em humanos.

O uso da neuroreabilitação funcional em doentes neurológicos com disfunção motora tem vindo a ser amplamente estudado na medicina humana, sendo justificado pela plasticidade do sistema nervoso.

O objetivo principal deste estudo consistiu na compreensão do papel da neuroreabilitação funcional na reorganização neural e na avaliação dos seus benefícios na recuperação da funcionalidade em cães com Mielopatia Degenerativa.

Para tal, uma amostra de cinco cães com diagnóstico por exclusão de Mielopatia Degenerativa foi selecionada para o estudo, tendo estes sido sujeitos a um protocolo terapêutico de neuroreabilitação funcional desenvolvido para a doença em questão, num regime de internamento no Centro de Reabilitação Animal da Arrábida (CRAA).

Os resultados obtidos revelaram uma melhoria da função motora dos animais à saída do centro, assim como uma recuperação significativa dos reflexos espinhais periféricos e da atrofia e tónus muscular dos doentes, demonstrando a eficácia do protocolo de neuroreabilitação funcional na abordagem à Mielopatia Degenerativa.

Em conclusão, a neuroreabilitação funcional pode possuir um papel fundamental na recuperação da funcionalidade em cães com Mielopatia Degenerativa, permitindo melhorar a sua qualidade de vida.

**Palavras chave:** Mielopatia Degenerativa Canina, neuroreabilitação funcional, neuroplasticidade, Esclerose Lateral Amiotrófica.

## **Abstract**

Canine degenerative myelopathy is an adult-onset neurodegenerative disease that occurs in several breeds of dogs. In an early stage, the disease is characterized by asymmetric hindlimb ataxia, progressing to paraplegia and, eventually, loss of mobility in the forelimbs and generalised muscle atrophy. Degenerative Myelopathy is a progressive and fatal disease, being histopathologically classified as a multisystem central-peripheral axonopathy, with no effective medical therapy.

Recently, a mutation in the canine superoxide dismutase 1 (SOD1) gene has been shown to be a risk factor for Canine Degenerative Myelopathy suggesting homology to familial SOD1 Amyotrophic Lateral Sclerosis.

The use of functional neurorehabilitation in neurological patients with motor impairment has been studied in human medicine and is justified by the nervous system plasticity.

The main aim of this study was to understand the role of functional neurorehabilitation in neural reorganization and to evaluate its benefits in the functional recovery of dogs with Degenerative Myelopathy.

For such, a sample of five dogs with a diagnosis of exclusion of Degenerative Myelopathy was selected to the study and was subject to the therapeutic protocol, in an internment regime in Centro de Reabilitação da Arrábida (CRAA).

The results revealed an improvement of the motor function of the animals studied and a significant recovery of peripheral spinal reflexes and muscle tone and atrophy, thus suggesting the effectiveness of the neurorehabilitation protocol in the approach to Degenerative Myelopathy.

In conclusion, this study has shown that functional neurorehabilitation may have an important role in the functional recovery of dogs with Degenerative Myelopathy, improving their quality of life.

**Key words:** Canine Degenerative Myelopathy, functional neurorehabilitation, neuroplasticity, Amyotrophic Lateral Sclerosis.

## **Lista de Abreviaturas, Siglas e Símbolos**

**AAAA** - Atividade autónoma articular ativa

**AVC** - Acidente Vascular Cerebral

**BDNF** - Fator neurotrófico derivado do cérebro (do inglês *brain-derived neurotrophic factor*)

**CCRP** - Certificação internacional de reabilitação canina (do inglês *certified canine rehabilitation practitioner*)

**CRAA** - Centro de Reabilitação Animal da Arrábida

**DDDIV** - Doença degenerativa do disco intervertebral

**EACA** - Ácido  $\epsilon$ -aminocapróico

**ECG** - Eletrocardiograma

**EEF** - Estimulação elétrica funcional

**EFM** - Escala de Frankel modificada

**EMCA** - Escala de marcha em campo aberto

**ELA** - Esclerose Lateral Amiotrófica

**EM** - Esclerose Múltipla

**EMG** - Eletromiografia

**Fa** - Frequência absoluta

**FMV-UL** - Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa

**Fr** - Frequência relativa

**GPC** - Geradores de padrão central

**GLAST** - Transportador de aspartato- glutamato (do inglês *glutamate aspartate transporter*)

**GLT-1** - Transportador de glutamato 1 (do inglês *glutamate transporter-1*)

**HVA** - Hospital Veterinário da Arrábida

**IGF-I** - Fator de crescimento semelhante à insulina I (do inglês *insulin-like growth factor-I*)

**IgG** - Imunoglobulina G

**IgM** - Imunoglobulina M

**LCR** - Líquido cefalorraquidiano

**MD** - Mielopatia Degenerativa

**MSCs** - Células estaminais mesenquimatosas (do inglês *mesenchymal stem cells*)

**NGF** - Fator de crescimento nervoso (do inglês *nerve growth factor*)

**NMI** - Neurónio motor inferior

**NMI $\alpha$**  - Neurónio motor inferior alfa

**NMI $\gamma$**  - Neurónio motor inferior gama

**NMS** - Neurónio motor superior

**NPCs** - Células precursoras neurais (do inglês, *neural precursor cells*)

**NRF** - Neuroreabilitação funcional

**PNRF-MD** - Protocolo de neuroreabilitação funcional para a Mielopatia Degenerativa

**REP** - Reflexos espinhais periféricos

**RM** - Ressonância magnética

**SNC** - Sistema nervoso central

**SNP** - Sistema nervoso periférico

**SOD1** - Superóxido dismutase 1

**TC** - Tomografia computadorizada

**TENS** - Estimulação elétrica nervosa transcutânea (do inglês *transcutaneous electrical nerve stimulation*)

**TL** - Treino locomotor

**TRA** - Tapete rolante aquático

**TRT** - Tapete rolante terrestre

**ULHT** - Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

**VCNM** - Velocidade de condução dos nervos motores

**VEGF** - Fator de crescimento endotelial vascular (do inglês *vascular endothelial growth factor*)

**WCP** - Welsh Corgi Pembroke

## Índice Geral

<b>Agradecimentos</b> .....	1
<b>Resumo</b> .....	2
<b>Abstract</b> .....	3
<b>Lista de Abreviaturas, Siglas e Símbolos</b> .....	4
<b>I- RELATÓRIO DESCRITIVO DO ESTÁGIO CURRICULAR</b> .....	12
1- Descrição das atividades desenvolvidas .....	12
2- Casuística .....	13
2.1- Distribuição por espécie animal .....	14
2.2- Distribuição por área clínica .....	14
2.2.1 - Medicina preventiva .....	15
2.2.2 - Clínica médica .....	16
2.2.3 - Clínica cirúrgica .....	17
2.2.4 - Medicina de urgência .....	17
2.2.5 - Medicina física e de reabilitação funcional .....	18
2.3- Exames complementares de diagnóstico .....	19
<b>II- ABORDAGEM DA NEURORREABILITAÇÃO FUNCIONAL EM CÃES COM MIELOPATIA DEGENERATIVA</b> .....	20
<b>1- INTRODUÇÃO</b> .....	20
1.1- Sistema nervoso .....	20
1.1.1- Sistema nervoso central .....	20
1.1.2- Sistema nervoso periférico .....	21
1.1.3- Sistema motor somático .....	22
1.1.3.1- Neurónio motor superior e neurónio motor inferior .....	22
1.1.3.2- Sistema piramidal e extrapiramidal .....	23
1.1.4- Sistema sensorial somático .....	25
1.1.4.1- A proprioção .....	25
1.1.5- Neuroanatomia da contração muscular .....	26
1.1.5.1- Arco reflexo .....	26
1.1.5.2- Reflexo miotático .....	26
1.2- Mielopatia Degenerativa Canina .....	28

1.2.1-	Predisposição racial na Mielopatia Degenerativa.....	28
1.2.2-	Idade e predominância de género na Mielopatia Degenerativa.....	29
1.2.3-	Histopatologia da Mielopatia Degenerativa .....	30
1.2.3.1-	Histopatologia da medula espinhal.....	30
1.2.3.2-	Histopatologia do encéfalo .....	31
1.2.3.3-	Histopatologia dos nervos e músculos .....	32
1.2.4-	Etiologia e patogénese da Mielopatia Degenerativa.....	33
1.2.4.1-	Mutação genética SOD1 em cães com Mielopatia Degenerativa .....	35
1.2.5-	Apresentação clínica da Mielopatia Degenerativa .....	36
1.2.6-	Diagnósticos diferenciais da Mielopatia Degenerativa .....	39
1.2.7-	Diagnóstico clínico da Mielopatia Degenerativa.....	40
1.2.7.1-	Exames complementares de diagnóstico .....	40
1.2.7.2-	Teste genético da Mielopatia Degenerativa .....	41
1.2.7.3-	Biomarcadores para diagnóstico de Mielopatia Degenerativa .....	42
1.2.8-	Tratamento da Mielopatia Degenerativa .....	43
1.3-	Esclerose Lateral Amiotrófica.....	44
1.4-	Terapêutica com células estaminais mesenquimatosas .....	46
1.5-	Mielopatia Degenerativa Canina como modelo de doença para a Esclerose Lateral Amiotrófica .....	47
1.6-	Neuroreabilitação funcional.....	48
1.6.1-	Conceito de plasticidade do sistema nervoso central .....	49
1.6.2-	Treino locomotor na neuroreabilitação funcional .....	49
1.6.2.1-	Treino locomotor em tapete rolante terrestre .....	52
1.6.2.2-	Treino locomotor no tapete rolante aquático.....	53
1.6.3-	Modalidades de estimulação elétrica.....	53
1.6.3.1-	Estimulação elétrica transcutânea .....	54
1.6.3.2-	Estimulação elétrica funcional .....	55
1.7-	Objetivos .....	56
<b>2-</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>57</b>
2.1-	Organização da entrada dos doentes no centro de reabilitação animal .....	57
2.2-	Critérios de seleção .....	57
2.3-	Consulta de neuroreabilitação funcional.....	58

2.4-	Protocolo de neuroreabilitação funcional do HVA/CRAA para a Mielopatia Degenerativa.....	59
2.5-	Método estatístico .....	61
<b>3-</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>61</b>
3.1-	Caracterização da amostra.....	62
3.1.1-	Idade dos doentes.....	62
3.1.2-	Raça dos doentes .....	63
3.1.3-	Género dos doentes.....	63
3.1.4-	Peso vivo dos doentes.....	64
3.1.5-	Doenças concomitantes .....	64
3.1.6-	Teste genético .....	65
3.2-	Descrição da evolução clínica .....	65
3.2.1-	Grau neurológico segundo a escala de Frankel modificada .....	67
3.2.2-	Grau neurológico segundo a escala de marcha em campo aberto .....	67
3.2.3-	Reflexo espinhal periférico flexor .....	68
3.2.4-	Reflexo espinhal periférico patelar.....	69
3.2.5-	Reflexo espinhal periférico cutâneo do tronco .....	69
3.2.6-	Reflexo espinhal periférico bulbo-cavernoso .....	70
3.2.7-	Reflexo espinhal periférico extensor cruzado .....	70
3.2.8-	Reflexo espinhal periférico de babinski .....	71
3.2.9-	Tónus muscular.....	71
3.2.10-	Atrofia muscular .....	72
<b>4-</b>	<b>DISCUSSÃO DE RESULTADOS</b> .....	<b>73</b>
<b>5-</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>76</b>
<b>6-</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>77</b>
	ANEXO I- O SISTEMA MOTOR SOMÁTICO .....	i
	ANEXO II- O SISTEMA SENSORIAL SOMÁTICO .....	iii
	ANEXO III- ENSAIOS CLÍNICOS COM TERAPIAS CELULARES .....	iv
	ANEXO IV – ESCALAS DE AVALIAÇÃO NEUROLÓGICA .....	ix

## Índice de Tabelas

<i>Tabela 1-</i> Distribuição da casuística por área clínica.....	15
<i>Tabela 2-</i> Distribuição da casuística na área da medicina preventiva.....	15
<i>Tabela 3-</i> Distribuição da casuística na área de clínica médica.....	16
<i>Tabela 4-</i> Distribuição da casuística na área da clínica cirúrgica.....	17
<i>Tabela 5-</i> Distribuição da casuística na área medicina de urgência.....	17
<i>Tabela 6-</i> Distribuição da casuística na área de medicina física e reabilitação funcional.....	18
<i>Tabela 7-</i> Distribuição dos exames complementares de diagnóstico.....	19
<i>Tabela 8-</i> Taxas de prevalência para a MD de determinadas raças de cães.....	29
<i>Tabela 9-</i> Classificação esquemática dos sinais clínicos da MD canina.....	38
<i>Tabela 10-</i> Resumo das características dos animais do estudo.....	62
<i>Tabela 11-</i> Resumo da evolução clínica dos animais do estudo.....	65

## Índice de Figuras

<b>Figura 1-</b> Representação dos principais feixes ascendentes e descendentes da medula espinhal.....	24
<b>Figura 2-</b> Esquematização da co-ativação de NMI $\gamma$ e NMI $\alpha$ .....	27
<b>Figura 3-</b> Secção T12 da medula espinhal de um cão saudável .....	31
<b>Figura 4-</b> Secção T12 da medula espinhal de um cão WCP com de MD .....	31
<b>Figura 5-</b> Esquematização da fisiopatologia da ELA.....	46
<b>Figura 6-</b> Treino locomotor em tapete rolante terrestre.....	59
<b>Figura 7-</b> Treino locomotor em tapete rolante aquático.....	59
<b>Figura 8-</b> Aplicação da técnica estimulação elétrica .....	60

## Índice de Gráficos

<b>Gráfico 1-</b> Distribuição da casuística por espécie animal .....	14
<b>Gráfico 2-</b> Distribuição da amostra em relação à idade.....	62
<b>Gráfico 3-</b> Distribuição da amostra em relação à raça.....	63
<b>Gráfico 4-</b> Distribuição da amostra em relação ao género.....	63
<b>Gráfico 5-</b> Distribuição da amostra em relação ao peso vivo.....	64
<b>Gráfico 6-</b> Distribuição da amostra em relação à presença de doenças concomitantes.....	64
<b>Gráfico 7-</b> Distribuição da amostra em relação ao teste genético.....	65
<b>Gráfico 8-</b> Distribuição da amostra em relação ao grau neurológico segundo a EFM.....	67
<b>Gráfico 9-</b> Distribuição da amostra em relação ao grau neurológico segundo a EMCA.....	68
<b>Gráfico 10-</b> Distribuição da amostra em relação ao REP flexor.....	68
<b>Gráfico 11-</b> Distribuição da amostra em relação ao REP patelar.....	69
<b>Gráfico 12-</b> Distribuição da amostra em relação REP cutâneo do tronco.....	69
<b>Gráfico 13-</b> Distribuição da amostra em relação REP bulbo-cavernoso.....	70
<b>Gráfico 14-</b> Distribuição da amostra em relação ao REP extensor cruzado...	70
<b>Gráfico 15 -</b> Distribuição da amostra em relação ao REP de Babinski.....	71
<b>Gráfico 16-</b> Distribuição da amostra em relação ao tónus muscular.....	72
<b>Gráfico 17-</b> Distribuição da amostra em relação à atrofia muscular.....	72

## **I- RELATÓRIO DESCRITIVO DO ESTÁGIO CURRICULAR**

O presente relatório pretende elucidar as atividades desenvolvidas ao longo do estágio curricular do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária da Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias (ULHT), o qual decorreu durante um período de 4 meses, de 2 de outubro de 2017 a 2 de fevereiro de 2018, no Hospital Veterinário da Arrábida (HVA) e no Centro de Reabilitação Animal da Arrábida (CRAA), sob a orientação da Dr.<sup>a</sup> Ângela Martins.

O HVA apresenta um serviço de consultas com um atendimento especializado, contando com especialistas das mais diversas áreas, tais como cardiologia, dermatologia, odontologia, oncologia, ortopedia, reprodução e obstetrícia e acupuntura. O hospital dispõe de um serviço de urgências 24h com médico veterinário permanente.

Desde 2007 que o hospital apostou na área da reabilitação animal, pelo que uma grande parte da casuística observada está relacionada com esta área. Além da reabilitação animal, outra área da medicina veterinária onde o hospital é uma referência é a da medicina de urgências.

Durante o estágio a autora acompanhou a equipa do hospital tendo participado nas áreas da medicina preventiva, clínica médica, clínica cirúrgica, medicina de urgências e medicina de reabilitação animal.

O estágio curricular permitiu a consolidação e aplicação prática dos conhecimentos académicos adquiridos ao longo do curso, bem como a aquisição de novos conhecimentos em diversas áreas, indo de encontro aos principais objetivos do mesmo.

### **1- DESCRIÇÃO DAS ATIVIDADES DESENVOLVIDAS**

O estágio curricular incidiu particularmente na área de medicina física e reabilitação funcional, onde se verificou uma elevada casuística. O acompanhamento das consultas de referência desta especialidade permitiu a observação do exame de reabilitação funcional e a formulação de protocolos adequados a cada caso. Quanto aos casos acompanhados em regime de internamento ou ambulatório, no CRAA, estes possibilitaram a execução de exercícios de cinesioterapia, treino locomotor (terrestre e aquático) e a aplicação de diversas modalidades terapêuticas.

Ao longo do estágio curricular foi ainda possibilitada a participação ativa em consultas de medicina preventiva e clínica médica de diferentes especialidades, com ênfase na execução de exames físicos e realização de exames complementares de diagnóstico.

O acompanhamento de diversos casos clínicos em regime de internamento foi outra componente relevante do estágio curricular, tendo possibilitado a execução de variadas terapêuticas, administração de medicação, monitorização e realização de exames complementares de diagnóstico.

Tendo em conta que a medicina de urgência constitui uma das áreas de referência do HVA, foi possível contactar com esta área através da participação nos processos de triagem, na aplicação de protocolos atualizados e na administração de medicação e monitorização de doentes em regime de cuidados intensivos.

A nível da clínica cirúrgica, além da participação na elaboração de protocolos anestésicos e do acompanhamento pré, intra e pós-cirúrgico, foi possível a participação em processos cirúrgicos como circulante, ajudante de cirurgião ou na monitorização anestésica.

Durante o período de estágio foi também possível a assistência e participação ativa nas aulas desta especialidade dadas pela professora convidada Ângela Martins, na Faculdade de Medicina Veterinária da ULHT.

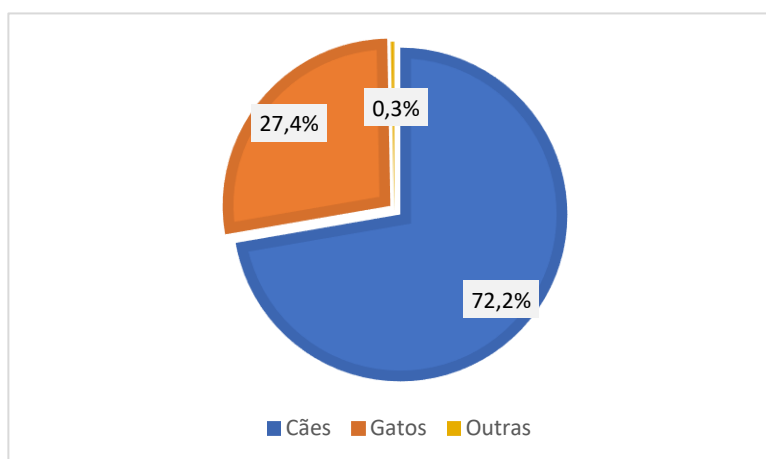
## **2- CASUÍSTICA**

Os dados relativos à casuística foram recolhidos durante o período de estágio no HVA e CRAA, distribuindo-se de acordo com a espécie animal e pelas áreas de medicina preventiva, clínica médica, clínica cirúrgica, medicina de urgência e medicina física e de reabilitação funcional. No entanto, é necessário referir que a contabilização dos dados não corresponde necessariamente ao número total de animais, mas sim, ao número de casos observados, uma vez que, num mesmo animal se podem desenvolver doenças concomitantes ou realizarem-se diversos exames de diagnóstico, podendo ainda um caso de clínica médica necessitar de uma abordagem cirúrgica. Por outro lado, a casuística descrita não reflete exatamente o trabalho hospitalar, mas sim as atividades observadas e executadas pela estagiária.

Os dados estatísticos serão apresentados em frequência absoluta (Fa), a qual corresponde ao número total de casos observados e em frequência relativa (Fr), que permite a comparação entre os casos assistidos, com o universo total de casos, apresentando-se sob a forma de percentagem ( $Fr = Fa/n \times 100$ ).

## 2.1- Distribuição por espécie animal

Durante o período de estágio, foram observados animais de várias espécies, encontrando-se a casuística assim dividida em cães, gatos e outras espécies. A maioria dos animais pertenciam à espécie canina com 1045 casos, seguindo-se os gatos com 397 casos, e ainda 5 casos pertencentes a outras espécies, num total de 1447 casos acompanhados, conforme o representado no gráfico 1. As outras espécies observadas corresponderam a dois coelhos, um suíno, um peru e uma chinchila.



*Gráfico 1-* Distribuição da casuística por espécie animal (%).

## 2.2- Distribuição por área clínica

De acordo com a tabela 1, é possível constatar que a área clínica de maior destaque foi a clínica médica (42,23%), seguindo-se da área de medicina física e reabilitação funcional (23,72%) e da medicina de urgências (14,70%), ambas áreas de referência do HVA. A medicina preventiva é a área com menor expressão (8,11%), sendo a área com menor número de casos seguidos durante o período de estágio.

Nesta secção não são referidos os casos relativos a animais de outras espécies, uma vez que durante todo o estágio foram apenas observados 5 casos, não apresentando assim valor estatístico significativo.

**Tabela 1** – Distribuição da casuística por área clínica.

Área Clínica	Canídeos	Felídeos	Total	
	Fa	Fa	Fa	Fr
Medicina preventiva	72	45	117	8,11%
Clínica médica	454	155	609	42,23%
Clínica cirúrgica	82	80	162	11,23%
Medicina de urgências	117	95	212	14,70%
Medicina física e reabilitação funcional	320	22	342	23,72%
<b>Total</b>	1045	397	1442	100%

### 2.2.1 - Medicina preventiva

As consultas de medicina preventiva representam um ramo crucial na clínica de animais de companhia, tendo o médico veterinário um papel preponderante na prevenção da saúde animal e saúde pública. Estas incluem os procedimentos de imunoprofilaxia, desparasitação, identificação eletrónica, bem como o exame clínico geral e a educação dos tutores para os cuidados básicos de saúde animal.

A área da medicina preventiva representa cerca de 8,11% dos casos observados, sendo a área que menos se destacou ao longo do estágio. Apesar de apresentarem pouca expressão em relação às restantes áreas, esta proporção não é referente à dinâmica que se verifica no HVA, mas sim às consultas assistidas pela estagiária nesta vertente. Através da tabela 2 é possível concluir que durante o período de estágio foram intervencionados maior número de canídeos nesta área, relativamente aos felídeos, sendo que o ato de vacinação foi o procedimento mais frequente em ambas as espécies.

**Tabela 2** – Distribuição da casuística na área da medicina preventiva.

Medicina Preventiva	Canídeos	Felídeos	TOTAL	
	Fa	Fa	Fa	Fr
Vacinação	39	26	65	55,5%
Desparasitação	28	19	47	40,2%
Outros	5	0	5	4,3%
<b>Total</b>	72	45	117	100%

### 2.2.2 - Clínica médica

A clínica médica é uma área da medicina veterinária extremamente extensa, uma vez que é composta pelas várias áreas de especialidade existentes em medicina.

A nível da clínica médica, as especialidades que se destacaram ao longo do estágio foram a neurologia (24,0%), oncologia (19,2%) e a ortopedia e doenças músculo-esqueléticas (18,6%). A área de especialidade com maior relevância nos canídeos foi a de neurologia seguida de doenças músculo-esqueléticas e oncologia. Em relação aos felídeos, a área de maior relevância foi a de oncologia seguida da área das doenças infecciosas e parasitárias.

A tabela 3 evidencia a distribuição da casuística de acordo com a área de clínica médica, encontrando-se esta área dividida em diversas especialidades.

**Tabela 3-** Distribuição da casuística na área de clínica médica.

Clínica Médica	Canídeos	Felídeos	Total	
	Fa	Fa	Fa	Fr
<b>Cardiologia</b>	13	7	20	3,3%
<b>Dermatologia</b>	28	9	37	6,1%
<b>Doenças infecciosas e parasitárias</b>	25	22	47	7,7%
<b>Endocrinologia</b>	8	5	13	2,1%
<b>Gastroenterologia e glândulas anexas</b>	30	12	42	6,9%
<b>Ginecologia, andrologia, reprodução e obstetrícia</b>	5	2	7	1,1%
<b>Neurologia</b>	131	15	146	24,0%
<b>Oftalmologia</b>	7	4	11	1,8%
<b>Oncologia</b>	77	40	117	19,2%
<b>Ortopedia e músculo-esquelético</b>	99	14	113	18,6%
<b>Otorrinolaringologia</b>	6	2	8	1,3%
<b>Pneumologia</b>	15	12	27	4,4%
<b>Urologia</b>	5	9	14	2,3%
<b>Toxicologia</b>	5	2	7	1,1%
<b>Total</b>	454	155	609	100%

### 2.2.3 - Clínica cirúrgica

A área de clínica cirúrgica, encontra-se dividida em duas principais áreas: cirurgia ortopédica e cirurgia de tecidos moles. As cirurgias de tecidos moles apresentam uma maior expressão (81,5%), conforme evidenciado na tabela 4, destacando-se, particularmente, as orquiectomias e ovariectomias de caráter eletivo, que representam cerca de 50% das cirurgias realizadas. Certos procedimentos, como as mastectomias e nodulectomias também foram frequentemente observados. Também foi observada a realização de outros procedimentos cirúrgicos com alguma frequência, como a laparotomia exploratória e toracocentese, recorrendo-se às mesmas como meio de diagnóstico e como procedimentos de urgência. Relativamente à cirurgia ortopédica, as osteossínteses foram as cirurgias predominantes.

**Tabela 4** – Distribuição da casuística na área da clínica cirúrgica.

Clínica cirúrgica	Canídeos	Felídeos	Total	
	Fa	Fa	Fa	Fr
<b>Cirurgia ortopédica</b>	18	12	30	18,5%
<b>Cirurgia dos tecidos moles</b>	64	68	132	81,5%
<b>Total</b>	82	80	162	100%

### 2.2.4 - Medicina de urgência

A abordagem à medicina de urgência, ao longo do período de estágio, foi possibilitada através da elevada casuística observada nesta área (14,7%). Em termos de incidência clínica, as urgências de origem respiratória revelaram-se as mais frequentes, seguindo-se os doentes politraumatizados, urgências neurológicas (intracranianas e medulares) e intoxicações.

**Tabela 5** – Distribuição da casuística na área medicina de urgência.

Medicina de urgência	Canídeos	Felídeos	Total	
	Fa	Fa	Fa	Fr
<b>Urgências Respiratórias</b>	50	41	91	42,9%
<b>Politraumatizados</b>	39	36	75	35,4%

<b>Urgências</b>	24	18	42	19,8%
<b>Neurológicas</b>				
<b>Intoxicações</b>	4	0	4	1,9%
<b>Total</b>	117	95	212	100%

### 2.2.5 - Medicina física e de reabilitação funcional

Na área da medicina física e reabilitação funcional, as doenças observadas podem ser do foro neurológico ou ortopédico/músculo-esquelético. Conforme o representado na tabela 6, a maioria dos animais consultados nesta área pertencem à espécie canina, com 320 casos, em comparação com os 22 apresentados na espécie felina, existindo uma predominância de casos neurológicos (64%).

A alteração neurológica mais frequente é a hérnia discal de Hansen tipo I, comum em raças condrodistróficas. As hérnias de Hansen tipo II, comuns em raças de porte médio a grande, são menos frequentes, seguindo-se outras doenças como a síndrome vestibular periférica e mielopatia por embolia fibrocartilaginosa. A nível ortopédico, destacam-se a displasia da anca e a osteoartrite, sobretudo em animais mais velhos e de raças com porte médio a grande, seguidas de tendinites e fraturas ósseas. A utilização de modalidades terapêuticas é comum numa abordagem multimodal da reabilitação funcional, sendo o laser classe IV a mais utilizada devido à sua multifuncionalidade, seguida da estimulação elétrica e hidroterapia.

**Tabela 6** – Distribuição da casuística na área de medicina física e reabilitação funcional.

<b>Medicina física e reabilitação funcional</b>	<b>Canídeos</b>	<b>Felídeos</b>	<b>Total</b>	
	Fa	Fa	Fa	Fr
<b>Neurológico</b>	213	6	219	64,0%
<b>Ortopédico/músculo-esquelético</b>	107	16	123	36,0%
<b>Total</b>	320	22	342	100%

### 2.3- Exames complementares de diagnóstico

A realização de meios complementares de diagnóstico é essencial, uma vez que, além de constituírem um auxílio na exclusão de diagnósticos diferenciais e na obtenção de um diagnóstico definitivo, estes possibilitam a monitorização de doentes críticos ou em regime de internamento. Tal como consta na tabela 7, o meio complementar de diagnóstico a que mais se recorreu foi o eletrocardiograma (ECG) visto que este se encontra inserido no protocolo de monitorização do HVA/CRAA, o qual é efetuado entre 3 a 4 vezes por dia, aplicando-se a doentes críticos, cardíacos e geriátricos que se encontrem em regime de internamento.

Em termos de percentagem destacam-se, ainda, as análises hematológicas e bioquímicas, fazendo parte do painel geral básico numa abordagem clínica mais detalhada ao doente, seguindo-se os exames radiográficos.

Por último, é de referir a possibilidade de assistir a exames de tomografia computadorizada (TC) realizados em casos referenciados pelo HVA/CRAA, na Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa (FMV-UL) sob a orientação do Professor António Ferreira, acompanhando todo o procedimento.

**Tabela 7-** Distribuição dos exames complementares de diagnóstico.

Exames complementares de diagnóstico	Canídeos	Felídeos	Total	
	Fa	Fa	Fa	Fr
<b>Hemograma</b>	153	82	235	20,6%
<b>Análises bioquímicas</b>	139	77	216	18,9%
<b>Análises endócrinas</b>	21	11	32	2,8%
<b>Ionograma</b>	25	15	40	3,5%
<b>Radiografia</b>	90	28	118	10,4%
<b>TC</b>	4	0	4	0,4%
<b>Ecografia</b>	29	12	41	3,6%
<b>ECG</b>	328	96	424	37,2%
<b>PAAF</b>	4	1	5	0,4%
<b>PT e APTT</b>	10	0	10	0,9%
<b>Teste de fluoresceína</b>	5	0	5	0,4%
<b>Urianálise</b>	5	5	10	0,9%
<b>Total</b>	813	327	1140	100%

**Legenda:** PAAF- punção aspirativa por agulha fina; PT- tempo de protrombina (do inglês *prothrombin time*); APTT - tempo de tromboplastina parcialmente ativada (do inglês *activated partial thromboplastin time*).

## **II- ABORDAGEM DA NEURORREABILITAÇÃO FUNCIONAL EM CÃES COM MIELOPATIA DEGENERATIVA**

### **1- INTRODUÇÃO**

#### **1.1- Sistema nervoso**

O sistema nervoso divide-se em duas partes principais, central e periférica, com base nas suas localizações anatómicas (Behan, 2006). O sistema nervoso central (SNC) consiste no encéfalo e na medula espinhal, apresentando-se ambos envolvidos por tecido ósseo (crânio e coluna vertebral, respetivamente) (Behan, 2006; Dewey, 2006; Lorenz *et al.*, 2011a; Thomson & Hahn, 2012a; Taylor, 2014). O sistema nervoso periférico (SNP) conecta órgãos periféricos (músculos, pele e glândulas), através de nervos aferentes (sensoriais) e eferentes (motores) com o encéfalo e a medula espinhal (Behan, 2006; Lorenz *et al.*, 2011a).

##### **1.1.1- Sistema nervoso central**

O SNC é composto pelo encéfalo e pela medula espinhal (Lorenz *et al.*, 2011a; Thomson & Hahn, 2012b). Este é externamente revestido por três camadas de tecido de suporte fibroso, chamadas meninges e, internamente, pelo sistema ventricular que contém o líquido cefalorraquidiano (LCR) que se liga ao espaço subaracnoide (Thomson & Hahn, 2012b).

A medula espinhal encontra-se dentro do canal vertebral, assegurando deste modo a necessária proteção a esta estrutura frágil, sendo em termos de forma semelhante a um cilindro alongado e achatado dorso-ventralmente (Konig & Liebich, 2004). Quanto à extensão, esta prolonga-se desde o limite caudal do tronco encefálico, ao nível do forâmen magno, até à sexta vértebra lombar nos canídeos, podendo ocorrer pequenas variações individuais face ao descrito (Sharp & Wheeler, 2005).

A medula espinhal é dividida em diversos segmentos medulares. Cada segmento é definido como sendo uma porção da medula espinhal que dá origem a um par de nervos espinhais. No cão, a medula espinhal é constituída por cerca de 36 segmentos: 8 cervicais, 13 torácicos, 7 lombares, 3 sacrais e, usualmente, 5 caudais. Cada segmento tem um número de raízes nervosas

dorsais e ventrais unindo-se cada uma delas à sua porção dorso-lateral e ventro-lateral, respetivamente. O gânglio é encontrado na raiz dorsal antes da sua união com a raiz ventral, a nível do forâmen intervertebral. O nervo espinhal emerge desse forâmen e imediatamente se divide em 2 ramos, dorsal e ventral (de Lahunta & Glass, 2009a).

Em termos funcionais, a divisão da medula espinhal faz-se em região cervical cranial (C1-C5), intumescência cervicotorácica (C6-T2), região toracolombar (T3-L3) e intumescência lombosagrada (L4-S3) (Thomson & Hahn, 2012b). As regiões das intumescências cervical e lombar condicionam um aumento de dimensões em diâmetro da medula espinhal nestes segmentos, uma vez que são os locais onde se originam os neurónios motores inferiores (NMI) dos membros torácicos e pélvicos (Sharp & Wheeler, 2005).

### **1.1.2- Sistema nervoso periférico**

O SNP consiste nos nervos e gânglios nervosos que se encontram localizados fora do encéfalo e da medula espinhal, sendo a sua principal função conectar o SNC à cabeça, tronco, membros e vísceras (Thomson & Hahn, 2012a).

Existem três tipos de fibras nervosas:

1. As fibras nervosas aferentes, que trazem informação dos órgãos periféricos para o SNC;
2. As fibras nervosas eferentes, que enviam informação do SNC para os órgãos periféricos;
3. As fibras nervosas integrantes (interneurónios), que funcionam como pontes entre fibras nervosas aferentes e fibras nervosas eferentes e têm a capacidade de processar, organizar e guardar informação (Morales & Aige, 2012).

As fibras nervosas aferentes e eferentes formam os nervos espinhais que, surgindo sob a forma de uma raiz dorsal e ventral, de ambos os lados da medula espinhal, definem os segmentos medulares espinhais (Morales & Aige, 2012; Thomson & Hahn, 2012b).

As raízes dorsais contêm fibras nervosas aferentes que confluem na medula espinhal e cada uma contém um gânglio nervoso que alberga os seus corpos celulares (Morales & Aige, 2012; Thomson & Hahn, 2012a).

As raízes ventrais contêm fibras nervosas eferentes que saem da medula para enervar órgãos periféricos. As fibras nervosas eferentes podem ser somáticas, enervando músculo estriados, ou autonómicas, enervando músculo liso e cardíaco (Morales & Aige, 2012; Thomson & Hahn, 2012a).

### **1.1.3- Sistema motor somático**

O sistema motor tem como função manter a postura estática e dinâmica e controlar o movimento voluntário e a marcha. Este sistema pode ser dividido em dois componentes: o neurónio motor superior (NMS) e o neurónio motor inferior (NMI) (Thomson & Hahn, 2012c).

#### **1.1.3.1- Neurónio motor superior e neurónio motor inferior**

Os NMI são neurónios eferentes que ligam o SNC a um órgão efector. O seu corpo celular encontra-se localizado nos segmentos espinhais dos cornos ventrais e intermédios da substância cinzenta e nos núcleos de nervos cranianos no tronco cerebral. O seu axónio sai do SNC pelas raízes nervosas ventrais, que depois originam os nervos espinhais e posteriormente os nervos periféricos que fazem sinapse com o órgão efector. O NMI é o último neurónio na cadeia de neurónios que produz contração muscular, sendo responsável pelo arco reflexo (Olby, 2004; Lorenz *et al.*, 2011b; Thomson & Hahn, 2012c).

São conhecidos dois tipos de NMI. Os neurónios motores inferiores alfa ( $NMI\alpha$ ), que enervam as fibras musculares extrafusais, e os neurónios motores inferiores gama ( $NMI\gamma$ ), que enervam as fibras musculares intrafusais (Jennings & Bailey, 2006). A sua atividade é iniciada, regulada, modulada e terminada pelo NMS (Thomson & Hahn, 2012c).

Os corpos celulares dos NMI estão localizados na substância cinzenta da intumescência cervicotorácica (segmentos C6-T2) para os membros torácicos e na intumescência lombosacral (segmentos L4-S3) para os membros pélvicos. Lesões a estes níveis resultam em sinais de NMI nos membros correspondentes. Os sinais mais característicos de lesão no NMI são a paresia flácida, reflexos espinhais periféricos (REP) diminuídos ou ausentes (hiporeflexia ou areflexia, respetivamente), tónus muscular diminuído ou ausente (hipotonia ou atonia, respetivamente) e atrofia muscular grave (atrofia neurogénica) (Olby, 2004).

Os NMS são responsáveis por iniciar o movimento e modular a atividade do NMI. Estão localizados no tronco cerebral e no córtex motor e são controlados pelo prosencéfalo, que

planeia e coordena a função motora. Os seus axónios ligam-se ao NMI quer diretamente ou indiretamente, através de interneurónios, estimulando ou inibindo a sua atividade. São responsáveis pelo início e manutenção dos movimentos voluntário, moderando e coordenando a atividade dos NMI mantendo um tónus muscular normal (Olby, 2004; Thomson & Hahn, 2012c).

Na medula espinhal os tratos do NMS são encontrados no funículo ventral e no funículo lateral. Geralmente, os tratos localizados no funículo lateral são facilitadores dos músculos flexores e os tratos no funículo ventral tem uma função facilitadora dos músculos extensores (Thomson & Hahn, 2012c).

Nas lesões do NMS há diminuição da inibição sobre os NMI caudais à lesão, principalmente dos músculos extensores, o que resulta numa hipertonidade muscular, com parésia/plegia espástica, REP normais ou aumentados, ou mesmo anormais, como a presença do reflexo extensor cruzado. Pode observar-se atrofia muscular por desuso, que aparece lentamente e afeta a totalidade do membro (Thomson & Hahn, 2012c).

Os sinais clínicos diferem grandemente nas doenças do NMS e do NMI. Adicionalmente, estes variam consoante os segmentos medulares afetados (tabela 1 do anexo I).

### **1.1.3.2- Sistema piramidal e extrapiramidal**

Funcionalmente e anatomicamente, o sistema NMS é dividido, com base na sua origem, nos feixes que se originam no córtex motor, no lobo frontal, e nos feixes que se originam em núcleos de NMS em outras partes do encéfalo. Os feixes que se originam no córtex motor têm influência nos movimentos voluntários complexos e passam pelas pirâmides da *medulla oblongata*. Os feixes que se originam em outras áreas do encéfalo são mais importantes para a marcha e postura e não passam nas pirâmides da *medulla oblongata*. Os sistemas foram, deste modo, classificados em piramidal e extrapiramidal, correspondentemente (Jennings, 2006; de Lahunta *et al.*, 2015a). Na figura 1 estão representados os principais feixes piramidais e extrapiramidais do sistema motor, assim como os feixes ascendentes sensoriais.

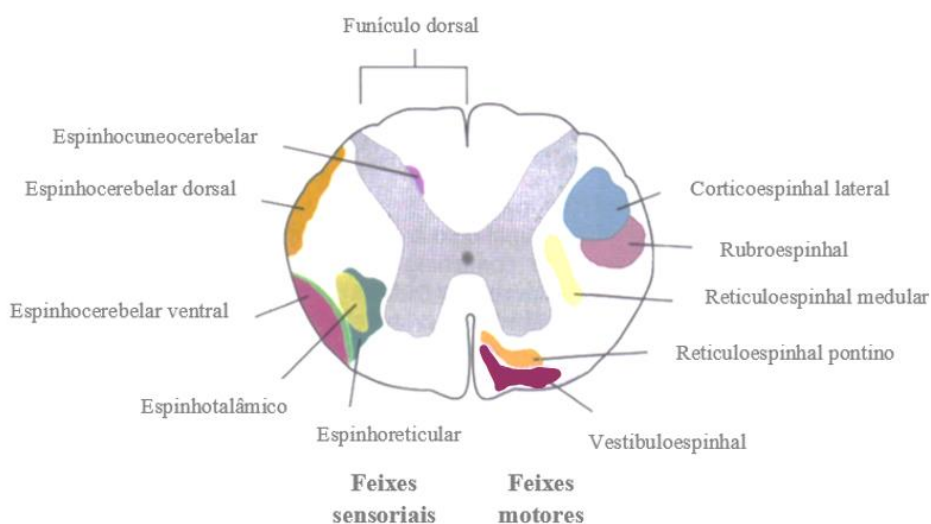
O sistema piramidal é responsável pela realização de movimentos voluntários complexos, não sendo, no entanto, necessário para a iniciação da marcha nos animais. As fibras piramidais, com origem no córtex motor, do lobo frontal, passam nas pirâmides da *medulla oblongata*, cruzando contralateralmente, e descem pelo funículo lateral da substância branca, ao

longo da medula espinhal. A sua principal influência é sobre os neurónios motores que contro- lam os músculos mais distais, sendo facilitador da flexão. O principal feixe envolvido é o cor- ticoespinhal (Sharp & Wheeler, 2005; Thomson & Hahn, 2012c).

O sistema piramidal está apenas presente nos mamíferos e lesões neste provocam efei- tos mais profundos nos primatas e humanos visto que estes têm este sistema mais desenvolvido (Sharp & Wheeler, 2006; Thomson & Hahn, 2012c). Em mamíferos domésticos, a secção ex- perimental das pirâmides da *medulla oblongata* não originou défices na locomoção, no entanto, causam défices nas reações posturais nos membros contralaterais (Dewey, 2006; Jennings, 2006; Thomson & Hahn, 2012c).

Os feixes extrapiramidais influenciam os NMI dos nervos craniais e espinhais e têm como principal função a regulação da postura e dos movimentos rítmicos, semiautomáticos. O sistema extrapiramidal, nas espécies domésticas, é muito mais importante para a função motora do que o sistema piramidal. Compreende diversos feixes, originados em diferentes núcleos lo- calizados no encéfalo. Os principais feixes que determinam este sistema são o feixe rubroespi- nhal, feixe reticuloespinhal medular, feixe reticuloespinhal pontino e o feixe vestibuloespinhal (Rossignol & Frigon, 2011; Thomson & Hahn, 2012c).

Na tabela 2 do anexo I estão reportados os diversos feixes motores do sistema pirami- dal e extrapiramidal com a respetiva origem, trajeto, localização e função.



**Figura 1-** Representação dos principais feixes ascendentes e descendentes da medula espinhal (adaptado de Garosi, L., 2004).

#### **1.1.4- Sistema sensorial somático**

O sistema sensorial somático é composto por recetores sensoriais periféricos e as vias aferentes que enervam os músculos esqueléticos. A sua função consiste na transmissão e interpretação de toda a informação sensorial recolhida no ambiente externo e interno (Robertson & Mead, 2013).

Os recetores sensoriais podem ser encontrados na pele, nos músculos, nos tendões e nos órgãos viscerais. São classificados, de acordo com os tipos de estímulos que os ativam em mecanorecetores, proprioceptores e nociceptores (Kamerling, 2006; Robertson & Mead, 2013).

##### **1.1.4.1- A proprioção**

A proprioção é a capacidade de reconhecer a localização espacial, posição e orientação das diferentes partes do corpo entre elas e em relação ao espaço envolvente, sendo essencial para a regulação da postura e do movimento (Lorenz *et al.*, 2011a; de Lahunta *et al.*, 2015b). A proprioção reconhece como as articulações, os músculos e os tendões se movimentam, com base em impulsos proprioceptivos de fusos musculares, órgãos tendinosos de Golgi e mecanorecetores. A informação proprioceptiva recebida por estes recetores periféricos é transmitida via nervos espinhais à medula espinhal e através de feixes medulares ascendentes específicos que atingem o encéfalo, referidos no anexo II, tabela 1 (Thomson & Hahn, 2012d; Dewey, 2008; de Lahunta *et al.*, 2015b).

A proprioção consciente está envolvida na execução de movimentos voluntários complexos, iniciando-se pela informação aferente de mecanorecetores, passando pelo tálamo, sendo processada no córtex somatossensorial (Thomson & Hahn, 2012d; de Lahunta *et al.*, 2015b).

A proprioção subconsciente está envolvida na coordenação da postura, da locomoção e de movimentos semiautomáticos. Utiliza impulsos sensoriais provenientes de fusos musculares e de corpúsculos tendíneos de Golgi, sendo a informação transmitida à medula espinhal e ao cerebelo (Thomson & Hahn, 2012d; de Lahunta *et al.*, 2015b).

O principal sinal clínico de disfunção proprioceptiva é a ataxia (Lorenz *et al.*, 2011a).

### **1.1.5- Neuroanatomia da contração muscular**

#### **1.1.5.1- Arco reflexo**

A atividade reflexa é fundamental para a postura corporal e para a locomoção e representa uma resposta involuntária inata do sistema nervoso a um estímulo. O arco reflexo envolve um recetor periférico, um nervo aferente que faz sinapse, diretamente ou por meio de um interneurónio, com um nervo eferente que se projeta até ao órgão alvo, normalmente um músculo esquelético, provocando uma resposta motora estereotipada (Klein & Cunningham, 2013; de Lahunta *et al.*, 2015b). Os recetores que existem no arco reflexo convertem a energia em potencial de ação que se propagam por um nervo sensorial (nervo aferente). Estes nervos conduzem o potencial de ação do recetor para o SNC e penetram na medula espinal através das raízes dorsais. O nervo motor (nervo eferente), que sai da medula espinal através das raízes ventrais, conduz o potencial de ação do SNC para o órgão-alvo (efetor) que causa a resposta reflexa (Thomson & Hahn 2012c).

#### **1.1.5.2- Reflexo miotático**

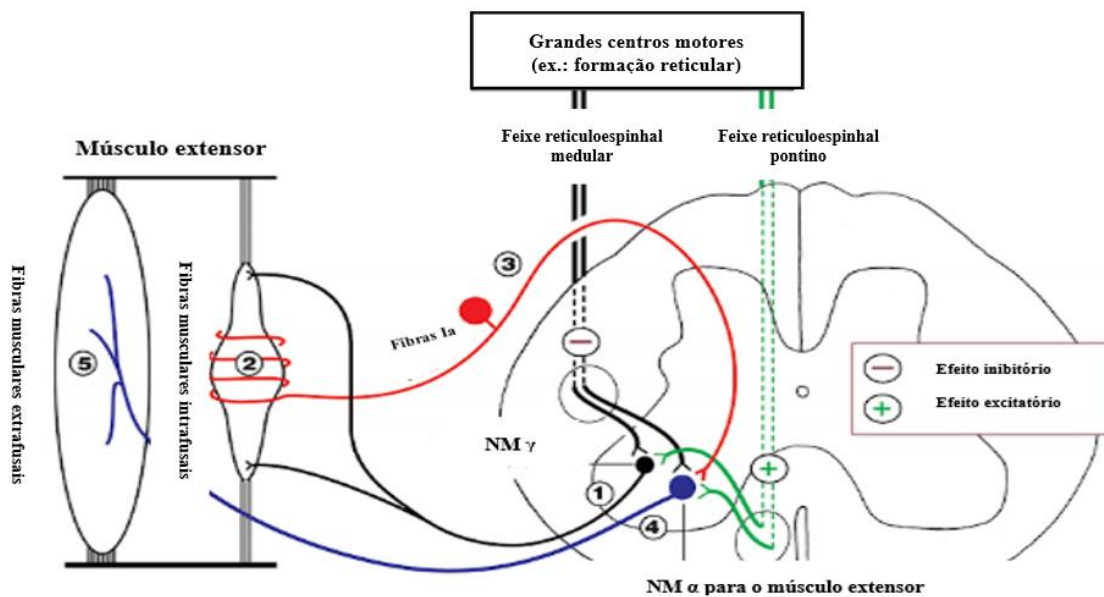
Os fusos musculares, dispostos em paralelo às fibras musculares que se contraem e que fornecem informação sobre o comprimento do músculo, são recetores sensoriais proprioceptivos espalhados por todo o tecido muscular e detetam o estiramento muscular promovendo a informação sensorial para o SNC. Estes são compostos por feixes de fibras musculares intrafusais especializadas, que contêm elementos contrácteis nas extremidades e recetores sensoriais no centro. Estas fibras estão contidas dentro de uma cápsula e são inervadas pelo NMI $\gamma$  nas duas extremidades do fuso e ligadas funcionalmente a ambos os tendões, através do tecido conjuntivo do músculo (Junqueira & Carneiro, 2013; Jennings & Bailey, 2006; de Lahunta *et al.*, 2015b).

As fibras musculares que promovem o encurtamento físico do músculo são chamadas de fibras musculares extrafusais, que se dispõem paralelamente às fibras musculares intrafusais, logo, quando o músculo é estirado, o fuso muscular também é estirado (Jennings & Bailey, 2006; Thomson & Hahn, 2012c; de Lahunta *et al.*, 2015b). As fibras musculares extrafusais são inervadas pelos NMI $\alpha$  (Klein, 2013; De Lahunta, *et al.* 2015b).

O estiramento do centro do fuso muscular provoca a ativação dos recetores sensoriais, que por sua vez estimulam as fibras nervosas aferentes tipo Ia, e o impulso sensorial produzido ascende à medula espinhal através de nervos espinhais. No SNC as fibras nervosas aferentes tipo Ia fazem sinapse com NMI $\alpha$ , que por sua vez estimulam as fibras extrafusais e consequentemente ocorre contração muscular, reduzindo o estiramento do fuso muscular (Jennings & Bailey, 2006; de Lahunta *et al.*, 2015b; Thomson & Hahn, 2012c).

As fibras musculares intrafusais e os NMI $\gamma$ , formam o sistema fusimotor, enquanto as fibras extrafusais e os NMI $\alpha$  formam as unidades motoras (Thomson & Hahn, 2012c).

Quando um músculo é estimulado a contrair, ambos os NMI são estimulados em simultâneo, sendo este processo designado como co-ativação alfa ( $\alpha$ )–gama ( $\gamma$ ). O seu objetivo é manter a extensão sobre a região central das fibras musculares intrafusais do fuso muscular quando o músculo se encontra ativamente contraído. Através deste processo é obtido um tónus muscular apropriado, essencial para a postura e os movimentos normais (figura 2) (Thomson & Hahn 2012c, Uemura, 2015).



**Figura 2-** Esquematisação da co-ativação de NMI  $\gamma$  e  $\alpha$ . (1)- Ativação do NMI  $\gamma$  através de grandes centros motores; (2)- ativação do NMI  $\gamma$  presente nas fibras intrafusais, induzindo a sua contração; (3)- ativação de fibras sensoriais Ia; (4)- ativação do NMI  $\alpha$  através das fibras Ia; (5)- contração das fibras extrafusais em resposta à ativação do NMI  $\alpha$  (adaptado de Uemura, 2015).

## 1.2- Mielopatia Degenerativa Canina

A Mielopatia Degenerativa (MD) é uma doença neurodegenerativa progressiva e fatal da medula espinhal que afeta cães adultos.

### 1.2.1- Predisposição racial na Mielopatia Degenerativa

A MD é geralmente associada a raças de cães grandes e aos seus cruzamentos, maioritariamente a cães da raça Pastor Alemão adultos. A prevalência geral na população canina é de 0,19%, com uma prevalência específica para o Pastor Alemão de 2,01%. Apesar do Pastor Alemão ser a raça mais comumente afetada, a MD tem sido reportada em outras raças e está a emergir em diversas raças puras (Coates *et al.*, 2007).

Foram reportados casos de MD, confirmados por histopatologia, no Pastor Alemão (Averill, 1973; Griffiths & Duncan, 1975; Braund & Vandeveld, 1978; Johnston *et al.*, 2000; Awano *et al.*, 2009), Husky Siberiano (Bichsel *et al.*, 1983), Welsh Corgi Pembroke (WCP) (Coates *et al.*, 2007; March *et al.*, 2009), Boxer (Awano *et al.*, 2009; Miller *et al.*, 2009), Poodle Miniatura (Matthew & de Lahunta, 1985), Poodle médio (Coates & Wininger, 2010), Chesapeake Bay Retriever (Awano *et al.*, 2009; Long *et al.*, citado por Coates & Wininger, 2010), Leão da Rodésia (Awano *et al.*, 2009), Soft-coated Wheaten Terrier (Coates & Wininger, 2010), Boiadeiro de Berna (Wininger *et al.*, 2011), Labrador Retriever (Coates & Wininger, 2010), Kerry Blue Terrier (Coates & Wininger, 2010), Fox Terrier de pelo duro (Coates & Wininger, 2010), American Eskimo dog (Coates & Wininger, 2010), Pug (Coates & Wininger, 2010) e raças cruzadas (Averill, 1973). Foram descritas outras raças com diagnóstico presuntivo, sem confirmação por histopatologia, como o Setter irlandês (Griffiths & Duncan, 1975), Labrador (Kathmann *et al.*, 2006), Hovawart (Kathmann *et al.*, 2006), Kuvasz (Kathmann *et al.*, 2006), Collie (Kathmann *et al.*, 2006), Pastor Belga (Kathmann *et al.*, 2006), Schnauzer gigante (Kathmann *et al.*, 2006), Mastiff (Kathmann *et al.*, 2006), Borzoi (Kathmann *et al.*, 2006), Grand Danois (Polizopoulou *et al.*, 2008) e Cavalier King Charles Spaniel (Shafie, 2013).

A elevada prevalência de MD em raças específicas sugere uma potencial significância de um fator genético na etiologia da doença (Coates *et al.*, 2007). As prevalências de determinadas raças para a MD estão sumarizadas na tabela 8, tendo estas sido calculadas pelo número

de cães apresentados aos hospitais de ensino veterinário na América do Norte entre 1 janeiro de 1990 e 31 de dezembro de 1999 (Coates et al., 2007).

**Tabela 8-** Taxas de prevalência para a MD de determinadas raças de cães (adaptado de Coates et al., 2007).

<i>Raça</i>	<i>Prevalência (%)</i>
Pastor Alemão	2,01
Chesapeake Bay Retriever	0.83
Leão da Rodésia	0.74
Setter Irlandês	0.68
Boxer	0.59
WCP	0.58
Collie	0.38
Raças cruzadas	0.15

### 1.2.2- Idade e predominância de género na Mielopatia Degenerativa

A MD é geralmente associada a cães mais velhos, no entanto, existe uma variação substancial na idade de aparecimento dos sinais clínicos, desde os 6 meses (Longhofer et al., 1990) aos 15 anos (Cherubini et al., 2008). Existem poucos casos descritos de MD em cães jovens, sendo a idade de aparecimento dos sinais clínicos usualmente superior a 5 anos, com uma idade média de 9 anos em cães de raças grandes (Averill, 1973; Griffiths & Duncan, 1975; Johnston et al., 2000; Kathmann et al., 2006). Em WCP, a idade média reportada é de 11 anos de idade (Coates et al., 2007).

Não existe uma predisposição de género na MD, afetando igualmente machos e fêmeas. No entanto, deverá estar presente um efeito de raça (Coates et al., 2007). Os machos Pastor Alemão estão mais representados na maioria dos estudos (Averill, 1973; Griffiths & Duncan; 1975; Johnston et al., 2000), contudo em dois estudos realizados em WCP, existia uma predominância de fêmeas afetadas (Coates et al., 2007; March et al., 2009).

### **1.2.3- Histopatologia da Mielopatia Degenerativa**

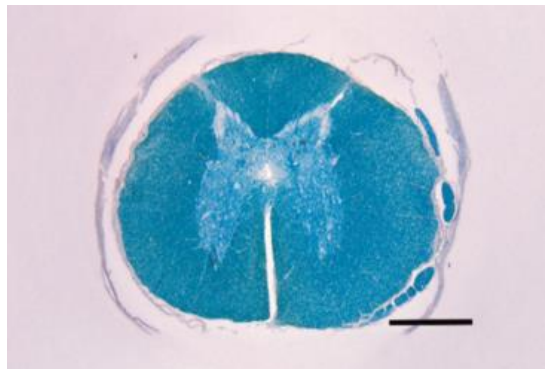
#### **1.2.3.1- Histopatologia da medula espinhal**

As alterações histopatológicas da medula espinhal em cães afetados com MD são caracterizadas por uma degenerescência axonal não inflamatória com consequente desmielinização (Averill, 1973; Griffiths & Duncan, 1975; Braund & Vandeveld, 1978; Coates & Wininger, 2010). As alterações degenerativas são extensas e foram reportadas nos feixes descendentes e ascendentes de todos os funículos medulares (Coates *et al.*, 2007).

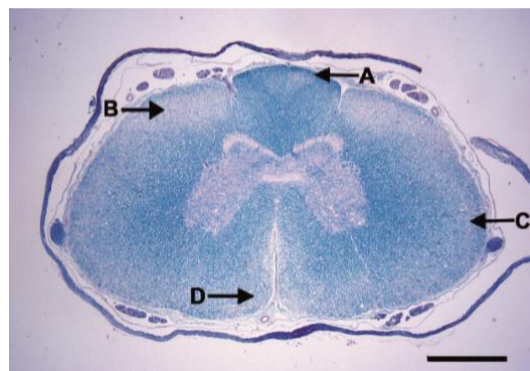
Os cães com MD têm padrões característicos de vacuolização axonal cilíndrica. A perda regional de axónios pode ser muito grave, e são substituídos por extensas áreas de astrogliose (Averill, 1973; Griffiths & Duncan, 1975; Johnston *et al.*, 2000; March *et al.*, 2009). Ocasionalmente, observam-se macrófagos nas áreas com restos axonais e mielínicos, que indicam fragmentação da mielina e fagocitose, secundárias ao processo degenerativo (Averill, 1973; Coates *et al.*, 2007; March *et al.*, 2009). Foi demonstrado que os macrófagos CD18 positivos se encontram moderadamente aumentados em regiões onde a lesão é mais pronunciada (March *et al.*, 2009).

Apesar das lesões degenerativas serem observadas em todos os funículos medulares, estas são, geralmente, mais proeminentes no funículo lateral, afetando o trato espinocerebelar dorsal, corticoespinhal, reticuloespinhal e rubroespinhal. As lesões no funículo dorsal tendem a localizar-se medialmente, no fascículo grácil. Também estão descritas alterações no funículo ventral, localizadas maioritariamente ao redor da fissura mediana ventral. Apesar da distribuição da lesão envolver a mielina e os axónios da medula espinhal em todos os funículos, a região torácica média a caudal encontra-se afetada em maior extensão (figura 3 e 4) (Coates *et al.*, 2007).

Foi sugerido que a região torácica possui uma maior vulnerabilidade neuronal que pode contribuir para a patogénese da MD (Averill, 1973). Esta vulnerabilidade pode estar relacionada com a diminuição da perfusão medular proveniente das artérias radiculares, que são de menor diâmetro neste segmento (Caulkins *et al.*, 1989).



**Figura 3-** Secção T12 da medula espinhal de um cão não afetado com MD. Sem regiões definidas de palidez da substância branca. Coloração com *Luxol Fast Blue* (adaptado de Coates *et al.*, 2007).



**Figura 4-** Secção T12 da medula espinhal de um cão WCP com diagnóstico de MD. Áreas de degenerescência e perda axonal são caracterizadas por regiões definidas de palidez da substância branca: fascículo grácil (A); porção dorsal do funículo dorsal (B); porção ventral do funículo lateral (C); e funículo ventral (D). Coloração com *Luxol Fast Blue* (adaptado de coates *et al.*, 2007).

Lesões nos feixes ascendentes e descendentes na porção dorsal do funículo lateral e nas vias ascendentes no funículo dorsal podem explicar a perda de propriocepção geral e parapésia. A progressão das lesões nas vias ascendentes gerais propriocetivas e das vias de NMS descendentes para segmentos torácicos craniais e cervicais da medula espinhal explicam a progressão clínica para ataxia geral propriocetiva e tetraparesia (Coates & Wininger, 2010).

A incontinência fecal e urinária observada em alguns casos pode estar associada com lesões no funículo dorsal das regiões toracolombar e lombosacral da medula espinhal, que comprimem as vias sensoriais responsáveis pela distensão colorretal e da bexiga urinária. A interrupção dessas vias pode também contribuir para uma perda da resposta sensorial visceral para os centros no cérebro, resultando na perda de reconhecimento de distensão rectal e/ou da bexiga, e eventual evacuação e micção involuntária (Coates & Wininger, 2010).

### 1.2.3.2- Histopatologia do encéfalo

A caracterização das lesões no encéfalo de cães afetados com MD é muito limitada. Apesar das descrições iniciais descreverem alterações patológicas da MD restritas à medula espinhal, um estudo reportou as primeiras alterações no encéfalo, que consistiam em cromatólise, neuronofagia e gliose principalmente do núcleo rubro, mas também do núcleo vestibular

lateral e nos núcleos cerebelares lateral (denteado) e medial (fastigial) (Johnston *et al.*, 2000). No entanto, outros autores que examinaram o encéfalo de cães com MD com microscopia ótica não observaram alterações (Averill, 1973; Braund & Vandeveld, 1978; March *et al.*, 2009).

### **1.2.3.3- Histopatologia dos nervos e músculos**

Tradicionalmente foi afirmado que as lesões da MD se restringiam ao SNC (Averill, 1973; Griffiths & Duncan, 1975). Os nervos periféricos, quando examinados, foram descritos como normais ou com perda esporádica de axónios (Averill, 1973; March *et al.*, 2009), ou com lesões degenerativas nas suas raízes dorsais (Griffiths & Duncan, 1975).

Nos últimos anos, várias descrições clínicas e histopatológicas indicaram que a MD não se encontra restrita à medula espinhal (Awano *et al.*, 2009; Shelton *et al.*, 2012). Deste modo, a distribuição das lesões e a progressão clínica da MD é idêntico ao descrito em certos tipos de Esclerose Lateral Amiotrófica (ELA), uma doença neurodegenerativa em humanos, com afeção de ambos os NMS e NMI. Em semelhança, cães afetados com MD apresentam, numa fase inicial da doença, sinais de NMS, com posterior progressão para sinais de NMI (Coates *et al.*, 2007; Coates & Wininger, 2010).

Um estudo documentou anormalidades em cães de raça Boxer e WCP paraplégicos afetados com MD, consistentes com atrofia muscular com desinervação e desmielinização dos nervos periféricos (Shelton *et al.*, 2012). Foi descrita uma variabilidade marcada no tamanho das miofibrilas com numerosas fibras atroficas. A perda de fibras e mielina foram evidentes no interior de ramos nervosos intramusculares, sinais compatíveis com degenerescência do tipo walleriana. No nervo fibular os sinais consistiram na perda massiva de fibras e fibrose endoneural. Todas estas alterações foram observadas em fases avançadas da doença, embora alguns cães de raça Boxer tenham mostrado pequenos grupos de fibras atroficas nos músculos bíceps femorais e nos gastrocnémios em fases intermédias de MD (Shelton *et al.*, 2012).

Num estudo recente, foram caracterizadas as alterações patológicas nos músculos intercostais de cães de raça Boxer e WCP com MD, em distintas fases de progressão da doença. Os sinais consistiram em atrofia muscular, fibrose, aumento da variabilidade da forma e tamanho das fibras musculares, e alteração na composição dos tipos de fibras. No entanto, estas alterações patológicas não foram acompanhadas pela retração do complexo formado pelas terminações do neurónio motor e os recetores de acetilcolina do músculo, o que sugere que a atrofia muscular não possui como causa primária uma desinervação física (Morgan *et al.*, 2013).

#### 1.2.4- Etiologia e patogénese da Mielopatia Degenerativa

Vários estudos têm vindo a considerar possíveis etiologias para a MD, sem conseguir, no entanto, esclarecer na íntegra as causas subjacentes da doença. Antes da identificação de uma mutação genética, a MD tinha sido associada a diversas etiologias, nomeadamente defeitos autoimunes, metabólicos e tóxicos, assim como a deficiências nutricionais, tais como deficiências em vitamina B12 e vitamina E (Coates & Wininger, 2010).

A recente descoberta da associação entre a MD e uma mutação no gene SOD1, que codifica a proteína Cu-Zn superóxido dismutase 1 (SOD1), provocou um ponto de inflexão na compreensão da doença. Este gene foi considerado um candidato viável uma vez que, em humanos, a mutação SOD1 é responsável pela ELA (Awano *et al.*, 2009). A mutação SOD1 foi pela primeira vez identificada em doentes com ELA em 1993 (Rosen *et al.*, 1993).

A proteína SOD1, uma das proteínas mais abundantes do SNC, possui 153 aminoácidos e funciona como um homodímero, catalisando a produção de radicais superóxido a peróxido de hidrogénio e oxigénio molecular, o que a converte num mecanismo de defesa antioxidante celular (Sandelin *et al.*, 2007; Coates & Wininger, 2010).

A mutação resulta numa proteína com alterações conformacionais, que se acumula nos neurónios e na glia. A proteína alterada pode induzir neurodegenerescência pela alteração da sua atividade biológica e/ou a propensão para a formação de agregados intracelulares, que lhe conferem propriedades tóxicas (Rothstein, 2009).

Estudos recentes caracterizaram as 2 proteínas mutantes caninas SOD1 identificadas até ao momento, a E40K e a T18S, tendo observado que estas formam dímeros enzimáticos ativos que possuem uma grande propensão para formar agregados em cultivos celulares. Este facto sustenta o papel tóxico das isoformas da proteína mutante na MD do cão (Crisp *et al.*, 2013).

Estudos imunohistoquímicos realizados em secções da medula espinhal de cães com MD, utilizando anticorpos contra a proteína SOD1, revelaram a presença de inclusões citoplasmáticas nos corpos neuronais, sugestivas de agregados proteicos (Awano *et al.*, 2009). Estas inclusões eram semelhantes às encontradas em doentes com ELA com mutações SOD1 e em ratinhos transgénicos com a mutação SOD1 humana (Nagai *et al.*, 2001).

Apesar de ser conhecido que a mutação SOD1 está relacionada com o aparecimento da MD, os mecanismos subjacentes ao seu modo de ação e à subsequente neurodegenerescência

são ainda incertos (Awano *et al.*, 2009). Várias hipóteses têm vindo a ser propostas e parece provável que a neurodegenerescência causada pela mutação SOD1 seja o resultado de uma combinação de mecanismos, apontando para uma patogénese multifatorial e complexa, tal como acontece na ELA (Awano *et al.*, 2009; Bonafede & Mariotti, 2017).

Muitas hipóteses têm vindo a ser propostas para explicar a neurodegenerescência observada na ELA, a partir de estudos com modelos animais expressando diferentes mutações da SOD1. Estas incluem o stress oxidativo, acumulação de agregados proteicos intracelulares, disfunção mitocondrial, defeitos no transporte axonal, alteração da função das células gliais e excitotoxicidade promovida pelo glutamato. É presumível que a convergência dos diversos mecanismos seja responsável pelo aparecimento da doença e pela sua progressão (Bruijn *et al.* 2004; Rothstein 2009).

A vulnerabilidade seletiva dos neurónios motores com a mutação SOD1 permanece sem explicação, no entanto pode estar relacionada com a grande demanda energética necessária para o transporte axonal (Shaw & Egget, 2000). Com efeito, os neurónios motores são muito suscetíveis ao stress oxidativo e à disfunção mitocondrial, o que aumenta a sua vulnerabilidade em relação a outros componentes celulares (Robberecht *et al.*, 2000).

Num estudo recente (Ogawa *et al.*, 2014), foram estudadas as alterações neuronais e a expressão das concentrações do transportador de glutamato 1 (GLT-1, do inglês *glutamate transporter 1*) e do transportador de glutamato/aspartato (GLAST, do inglês *glutamate aspartate transporter*) na medula espinhal de 10 cães da raça WCP (5 deles afetados com MD com mutação SOD1 e 5 saudáveis) e 5 cães da raça Beagle sem sinais neurológicos. O estudo teve por base a teoria da morte neuronal que ocorre na ELA pela excitotoxicidade pelo glutamato, devido a uma deficiência do ciclo glutamina/glutamato. Os autores encontraram uma diminuição significativa do número de neurónios no corno ventral da substância cinzenta medular em cães afetados com MD, sem alteração no tamanho das células. A expressão de GLT-1 estava marcadamente reduzida, sem alterações na expressão do transportador de glutamato/aspartato GLAST. Os resultados indicam que a excitotoxicidade por glutamato relacionada com a expressão reduzida de GLT-1 pode estar envolvida na perda neuronal observada na MD, tal como sucede na ELA, embora os eventos intraneuronais possam diferir entre ambas as doenças (Ogawa *et al.*, 2014).

#### 1.2.4.1- Mutação genética SOD1 em cães com Mielopatia Degenerativa

Num estudo realizado por Awano e colegas, a sequenciação do gene SOD1 revelou uma mutação no nucleótido 118 que prediz uma transição de G para A no exão 2 (SOD1:c.188G>A), resultando numa mutação missense (de sentido errado) no aminoácido 40 (Awano *et al.*, 2009).

Na mutação E40K canina, como a E40G humana e outras mutações ELA associadas a SOD1, a lisina substitui o glutamato na posição correspondente ao aminoácido 40 da sequência de SOD1, provocando alterações conformacionais que podem alterar a sua função (Awano *et al.*, 2009).

Num estudo de Awano *et al.*, através do mapeamento genético de 38 cães WCP com diagnóstico de MD e 17 cães WCP controlo, foram identificadas fortes associações no cromossoma 31, numa região que contém o gene SOD1. Todas as 38 amostras de cães com MD eram homozigóticas para o alelo SOD1:c.118A, enquanto as 17 amostras do grupo de controlo consistiam em 10 homozigóticas A/A, 6 heterozigóticas A/G e 1 homozigótico normal G/G (Awano *et al.*, 2009).

Adicionalmente, foram sequenciados para o alelo mutante A em SOD1 outros 64 cães WCP e 418 representantes de outras 4 raças (Pastor Alemão, Boxer, Leão da Rodésia e Chesapeake Bay Retriever), nos quais se demonstrou uma forte associação entre o fenótipo da MD e a homozigose para o alelo A (Awano *et al.*, 2009).

No estudo, 96% dos cães com diagnóstico presuntivo de MD foram confirmados como homozigóticos A/A, no entanto o genótipo homozigota também foi detetado em 34% dos cães do grupo controlo, nenhum dos quais apresentou sinais de MD. O genótipo heterozigota A/G foi encontrado em 32% dos indivíduos do grupo controlo, contra 2 % do grupo dos cães afetados com MD, sendo estes animais potenciais portadores do gene mutante SOD1. E ainda, 2% dos animais do grupo afetado e 34% do grupo controlo resultaram normais, significando que possuem o alelo primitivo G/G (Awano *et al.*, 2009).

O diagnóstico dos cães com sinais clínicos de MD, que não eram homozigóticos para o alelo mutante SOD1:c.118A (4%), não foi confirmado por imagiologia ou histopatologia em nenhum dos cães, podendo estes ter sido diagnosticados incorretamente (Awano *et al.*, 2009).

Este estudo exibiu ainda um número considerável de cães homozigóticos para o alelo mutante nos grupos controlo sem sinais clínicos de MD. Estas observações sugerem que a MD

é uma doença autossômica recessiva de penetrância incompleta (Awano *et al.*, 2009). Este difere do modo de transmissão autossômico dominante, tipicamente encontrado na ELA associada a SOD1; no entanto, em alguns tipos familiares, a isoforma de N90A SOD1 está associada com uma transmissão recessiva de ELA com penetrância incompleta (Khoris *et al.*, 2000). Nestes casos, a história clínica da doença dos humanos é muito semelhante à correspondente da MD nos cães (Awano *et al.*, 2009).

Num outro estudo, Zeng *et al.* reportaram que o diagnóstico de MD foi confirmado histopatologicamente em 8 cães heterozigóticos A/G para SOD1c.118, sem outras variantes de sequência previstas de alterar a estrutura primária da SOD1 codificada. A ocorrência de MD confirmada por histopatologia nesses cães heterozigóticos A/G para SOD1c.118, sugeriu que apesar dos homozigóticos normais e os heterozigóticos terem um baixo risco de desenvolver a doença, este risco é mais elevado nos heterozigóticos (Zeng *et al.*, 2014).

Recentemente, um estudo genético identificou uma outra mutação SOD1 num cão da raça Boiadeiro de Berna com diagnóstico histopatológico de MD. A sequenciação de SOD1 revelou uma mutação no nucleótido 52 que prediz uma transição de A para T (SOD1;c. 52A>T) resultando numa mutação missense T18S em SOD1. Nesta mutação, a serina substitui a treonina na posição correspondente ao aminoácido 18 na sequência de SOD1 (Wininger *et al.*, 2011). Em contraste ao alelo SOD1:c.118G>A, que é muito frequente na população canina, o alelo SOD1:c.52A>T parece estar restrito à raça Boiadeiro de Berna (Wininger *et al.*, 2011; Zeng, 2014).

### **1.2.5- Apresentação clínica da Mielopatia Degenerativa**

A suspeita de MD é estabelecida perante um quadro de ataxia geral propriocetiva nos membros pélvicos e paraparésia espástica com sinais de NMS, de início insidioso, carácter progressivo e frequentemente assimétrico. Na maioria dos cães, os sinais clínicos da doença são consistentes com uma lesão de NMS que é caracterizada por REP normais ou aumentados e défices propriocetivos, com uma localização neuroanatômica nos segmentos medulares de T3 a L3. A nociceção não é geralmente afetada (Averill, 1973; Griffiths & Duncan, 1975; Braund & Vandeveld, 1978).

Com a evolução da doença, os sinais clínicos progridem para paraplegia com eventual compromisso dos membros torácicos. Na tabela 9 está representada a evolução dos sinais clínicos com a progressão da doença (Coates & Wininger, 2010).

Os primeiros sinais clínicos da MD são a ataxia geral propriocetiva e moderada paresia com espasticidade nos membros pélvicos. No exame físico pode observar-se uma claudicação assimétrica nos membros pélvicos, e arrastamento dos dedos de um ou ambos os membros, podendo observar-se um desgaste ou sangramento das unhas. A proprioceção consciente pode estar afetada de forma uni ou bilateral, dependendo da gravidade da doença (Johnston, 1998; Griffiths & Duncan, 1975). As anormalidades observadas nos REP são consistentes com uma paresia de NMS localizada nos segmentos T3 a L3 da medula espinhal, estando o REP patelar normal a exagerado. No entanto, a hiporreflexia do reflexo patelar pode ser observada em aproximadamente 10-15% dos casos (Griffiths & Duncan, 1975), podendo esta diminuição estar relacionada com um declínio normal relacionado com a idade em animais mais velhos. O REP flexor na maioria dos cães afetados pode estar normal ou exibir reflexo extensor cruzado, sugestivo de uma disfunção de NMS crónica (Coates & Wininger, 2010).

Com a progressão da doença observam-se dificuldades a subir ou descer escadas (Johnston et al., 2001). Nesta fase é frequente observar o cruzamento dos membros pélvicos durante a marcha e movimentos de oscilação pélvica (Lorenz et al., 2011c). São por vezes observados tremores nos membros pélvicos ou fasciculações durante a estação e a marcha (Coates & Wininger, 2010).

A progressão da doença não é constante, e em alguns cães os sinais clínicos podem estabilizar após a fase aguda (Shafie, 2013). No entanto, a maioria progride para uma paraparesia não ambulatória, geralmente entre os 6 a 9 meses após o aparecimento da doença e, especialmente os cães de porte grande, são eutanasiados nesta altura. (Matthews & de Lahunta, 1985; Coates *et al.*, 2007; Coates & Wininger, 2010; Lorenz *et al.*, 2011c).

As raças de cães de porte mais pequeno podem ser cuidadas pelos tutores por mais tempo, sendo a duração da doença geralmente maior (Matthews & de Lahunta, 1985; Coates *et al.*, 2007). Num estudo realizado por Coates *et al.* (2007), o tempo médio de duração de doença em WCP foi de 19 meses, tendo os sinais progredido para os membros torácicos, na maioria dos animais, quando a eutanásia foi realizada.

Na fase tardia da doença os sinais clínicos alteram-se e o exame neurológico sugere uma lesão de NMI, com frequente compromisso ascendente que irá afetar adicionalmente os membros torácicos (Averill, 1973; Matthews & de Lahunta, 1985; Kathmann *et al.*, 2006; Coates *et al.*, 2007; Awano *et al.*, 2009). A paraparesia torna-se mais simétrica e evolui para tetraplegia flácida, com atrofia muscular neurogénica e hiporreflexia, que se desenvolve entre os 9 a 18 meses desde o aparecimento da doença (Coates *et al.*, 2007; Awano *et al.*, 2009; Coates &

Wininger, 2010; Shafie, 2013). Em fases mais avançadas os animais podem apresentar sinais de disfunção do tronco cerebral, tais como disfonia e disfagia, que podem aparecer entre os 24 e os 36 meses desde o começo da doença. A alteração dos esfíncteres não é um sinal clínico habitual da MD, no entanto, foram descritos alguns casos de incontinência urinária e fecal numa fase final da doença (Matthews & de Lahunta, 1985; Coates *et al.*, 2007; Awano, 2009; Coates & Wininger, 2010).

**Tabela 9** –Classificação esquemática dos sinais clínicos da MD canina (adaptado de Coates & Wininger, 2010).

<b>Duração da doença</b>	<b>Sinais neurológicos</b>
<b>0-12 meses</b>	<p><b>Paraparésia de NMS e ataxia geral propriocetiva</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Ataxia geral propriocetiva progressiva</li> <li>• Paraparésia espástica e assimétrica</li> <li>• REP intactos</li> </ul>
<b>9-18 meses</b>	<p><b>Paraparésia a paraplegia não ambulatória</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Perda de massa muscular ligeira a moderada</li> <li>• REP dos membros pélvicos reduzidos a ausentes</li> <li>• Paraparésia não ambulatória a paraplegia</li> </ul>
<b>14-24 meses</b>	<p><b>Paraplegia de NMI a fraqueza dos membros torácicos</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Sinais de fraqueza dos membros torácicos</li> <li>• Paraplegia flácida</li> <li>• REP nos membros pélvicos ausentes</li> <li>• Perda severa de massa muscular nos membros pélvicos</li> <li>• Incontinência urinária e fecal</li> </ul>
<b>&gt;36 meses</b>	<p><b>Sinais do tronco cerebral e tetraplegia de NMI</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Tetraplegia flácida</li> <li>• REP cutâneo do tronco diminuído a ausente</li> <li>• Disfonia e disfagia</li> <li>• Perda severa e generalizada de massa muscular</li> <li>• Incontinência urinária e fecal</li> </ul>

Em qualquer fase da doença, é importante destacar a ausência de dor paraespinhal (Coates & Wininger, 2010; Lorenz *et al.*, 2011c).

A causa de morte natural na MD não está determinada uma vez que os cães afetados são geralmente eutanasiados quando se instala a paraparésia não ambulatória. No entanto, foi observada dificuldade respiratória que potencialmente poderia levar a falha respiratória (Vasquez, 2011). Estas observações são consistentes com as alterações patológicas que foram identificadas recentemente nos músculos intercostais de cães afetados com MD (Morgan *et al.*, 2013).

### 1.2.6- Diagnósticos diferenciais da Mielopatia Degenerativa

O diagnóstico da MD pode ser desafiante uma vez que a sua apresentação clínica inicial pode mimetizar várias doenças da medula espinhal. Adicionalmente, como a MD afeta principalmente cães mais velhos, predispostos a diversas doenças ortopédicas e neurológicas, a potencial presença de outras condições pode afetar a interpretação do exame neurológico (Braund, 1987; Coates & Wininger, 2010; Lorenz *et al.*, 2011c).

Na prática clínica suspeita-se de MD em cães adultos que mostrem ataxia e paraparésia progressiva, no entanto, estes sinais podem estar presentes com outras doenças como neoplasias espinhais ou doença degenerativa do disco intervertebral (DDDIV), que podem ser despistados por imagiologia, mas que frequentemente coexistem no mesmo animal, dificultando a tomada de decisões (Coates & Wininger, 2010).

Nas fases iniciais da doença, quando as alterações neurológicas são subtis, os diagnósticos diferenciais devem incluir doenças ortopédicas (displasia da anca, rutura do ligamento cruzado e doença articular degenerativa) e doenças abdominais (doença prostática e hérnia perianal) (Coates & Wininger, 2010). Quando os sinais neurológicos se tornam mais evidentes, as principais doenças medulares a considerar como diagnóstico diferencial são a DDDIV, podendo ocorrer tanto a extrusão como a protrusão do disco intervertebral, mielopatia por embolia fibrocartilaginosa, lesão traumática medular, neoplasias espinhais e processos infecciosas ou inflamatórios (Coates & Wininger, 2010; da Costa & Moore, 2010). A doença neurológica mais comum que pode afetar cães adultos de raças grandes, podendo simular uma MD, é a protrusão discal (hérnia Hansen tipo II), embora nas raças condróstróficas, que também podem ser afetadas por MD, como o WCP, a extrusão discal (hérnia Hansen tipo I) é mais provável (Coates & Wininger, 2010).

A ausência de dor paraespinhal é um dado clínico importante para orientar o diagnóstico para a MD (Coates & Wininger, 2010; Lorenz *et al.*, 2011c).

O posicionamento proprioceptivo é um teste útil que permite distinguir entre doenças neurológicas e ortopédicas. Animais com doenças ortopédicas não apresentam déficits proprioceptivos, enquanto os animais afetados com MD apresentam, geralmente, déficits a nível sensorial (Coates & Wininger, 2010).

Num doente com doença medular crónica, especialmente em raças predispostas como o Pastor Alemão, o diagnóstico de MD baseado exclusivamente nos sinais clínicos é inespecífico e não é mais provável que o de doença discal protrusiva (Coates & Wininger, 2010; Lorenz *et al.*, 2011c).

### **1.2.7- Diagnóstico clínico da Mielopatia Degenerativa**

O diagnóstico clínico de MD é um verdadeiro desafio devido ao espectro de sinais clínicos se apresentar comum a diversas doenças, assim como à ausência de um exame complementar específico (Coates & Wininger, 2010; Shafie, 2013).

As doenças degenerativas do SNC não mostram grandes alterações imagiológicas, sendo o diagnóstico definitivo de MD apenas possível após a morte do doente. Os exames imagiológicos e a análise do LCR podem aumentar o grau de suspeita de MD, no entanto, o diagnóstico definitivo requer confirmação histopatológica (Coates & Wininger, 2010).

Um diagnóstico *ante mortem* adequado deve ser baseado na anamnese e no reconhecimento inicial dos sinais clínicos, assim como no seu padrão de progressão, complementado por um conjunto de etapas de diagnóstico para excluir outras doenças sendo, assim, um diagnóstico por exclusão (Coates & Wininger, 2010).

#### **1.2.7.1- Exames complementares de diagnóstico**

Os exames de diagnóstico mais utilizados incluem a análise do LCR, testes eletrodiagnósticos e exames imagiológicos, como a mielografia, TC e Ressonância Magnética (RM). Um diagnóstico presuntivo de MD é frequentemente realizado tendo por base a ausência de mielopatia compressiva clinicamente relevante (Coates & Wininger, 2010).

A RM é especialmente útil para identificar fases iniciais de neoplasias intramedulares e evidenciar mielopatias compressivas. No entanto, as imagens frequentemente revelam hérnias discais que podem confundir o diagnóstico, especialmente em cães mais velhos, que podem apresentar ambas as doenças concomitantemente. Nestes casos é importante avaliar minuciosamente as alterações encontradas no contexto do quadro clínico e considerar particularmente a rapidez de progressão da doença, a presença de hiperestesia paraespinal e o volume de medula comprimida, de modo a estimar a significância clínica do transtorno compressivo (Coates & Wininger, 2010). Por estes motivos, geralmente as imagens obtidas não permitem obter uma

informação conclusiva no diagnóstico de MD, exceto quando se caracterizam pela ausência de sinais positivos para uma compressão medular (Cherubini *et al.*, 2008).

Alguns clientes ficam relutantes a realizar exames imagiológicos avançados quando a MD é um dos diferenciais devido ao fraco prognóstico associado à doença. Nestes casos, um ensaio com corticosteroides pode ser útil na diferenciação de MD e mielopatia compressiva. A administração de corticosteroides resulta, tipicamente, numa melhoria dos cães com mielopatia compressiva, no entanto, os cães com MD não beneficiam deste tratamento (Coates & Wininger, 2010).

A análise do LCR pode contribuir para a exclusão de doenças inflamatórias e infecciosas. Cães com MD tipicamente têm resultados da análise do LCR normais, sem alteração na contagem celular (Coates *et al.*, 2007), no entanto pode encontrar-se uma elevação ligeira da contagem celular (Bichsel *et al.*, 1984) e uma elevação ligeira a moderada da proteína total, resultante possivelmente de um aumento da albumina no LCR (Cherubini *et al.*, 2008).

Os resultados dos testes eletrodiagnósticos variam de acordo com a fase da doença (Griffiths & Duncan, 1975; Kathmann *et al.*, 2006; Coates *et al.*, 2007). Nas fases iniciais da doença, estudos eletrofisiológicos, tal como eletromiografia (EMG) e velocidade de condução dos nervos motores (VCNM) têm falhado na deteção de alterações, sugerindo que os nervos periféricos e as fibras motoras não estão afetadas nesta fase (Griffiths & Duncan, 1975). Em fases mais avançadas, a partir aproximadamente dos 14 meses, o EMG mostra atividade espontânea multifocal na musculatura apendicular dos membros distais (Coates *et al.*, 2007; Awano *et al.*, 2009; Coates & Wininger, 2010). O registo dos potenciais de ação musculares compostos (onda M), após estimulação do nervo tibial e nervo ulnar, mostrou uma dispersão temporal e diminuição de amplitude. A velocidade de condução nervosa motora proximal e distal encontrava-se diminuída (Awano *et al.*, 2009). Estes sinais fornecem evidências da axonopatia nos nervos motores e desmielinização, que ocorrem nas fases tardias de MD (Coates & Wininger, 2010).

### **1.2.7.2- Teste genético da Mielopatia Degenerativa**

Está disponível um teste genético para a MD, uma vez que foram identificadas duas mutações recessivas no gene SOD1 como responsáveis pelo desenvolvimento da doença, uma no exão 1 (específica da raça Boiadeiro de Berna) e outra no exão 2 (não específica de raça) (Lorenz *et al.*, 2011c).

Os cães homocigóticos para a mutação têm maior risco de desenvolverem a doença e contribuem com um cromossoma com o alelo mutante para toda a sua descendência. Os animais heterocigóticos apresentam um menor risco de desenvolverem a doença clínica, no entanto podem transmitir 1 cromossoma com o alelo mutante para metade da sua descendência. Por outro lado, os homocigóticos normais dificilmente desenvolvem a doença e vão providenciar toda a sua descendência com um alelo normal (Coates & Wininger, 2010).

Este teste genético, para além de fornecer informação útil ao clínico em cães com diagnóstico diferencial de MD, pode ser usado pelos criadores de cães que pretendam reduzir a incidência da doença na raça ou numa linhagem. No entanto, a seleção dos animais de modo a evitar cruzar portadores pode levar à redução da diversidade genética, especialmente em raças nas quais o alelo é muito frequente (Awano *et al.*, 2009; Holder *et al.*, 2014).

### **1.2.7.3- Biomarcadores para diagnóstico de Mielopatia Degenerativa**

Um estudo recente avaliou a possibilidade dos neurofilamentos fosforilados pesados (pNF-H, da sigla em inglês) serem usados como biomarcadores de diagnóstico da MD. Estes neurofilamentos correspondem a uma abundante proteína estrutural dos axónios motores mielinizados e foi considerado um biomarcador promissor para lesões no sistema nervoso em humanos e cães (Toedebusch *et al.*, 2017). Um aumento da sua concentração foi associado com um fraco prognóstico em cães com lesão aguda e severa da medula espinhal secundária a hérnia discal Hansen tipo I (Nishida *et al.*, 2014; Mashita *et al.*, 2015). Adicionalmente, um aumento da concentração de pNF-H no sangue e no LCR demonstrou um elevado potencial de diagnóstico e relação com a progressão da doença em pacientes diagnosticados com ELA (Boylan *et al.*, 2013). No estudo realizado por Toedebusch e colegas, foram avaliadas as concentrações no LCR e no sangue, através de um kit ELISA, de animais afetados com MD e comparados com diferentes grupos de controlo de animais sem MD. A concentração de pNF-H encontrava-se aumentada no LCR dos cães com MD relativamente aos grupos controlo, no entanto não foi observado um aumento da sua concentração no sangue. Comparando todos os grupos, uma concentração de pNF-H no LCR superior a 20,25ng/ml foi considerada como tendo uma sensibilidade de 80,4% e uma especificidade de 90,0% para identificar a MD. Com estes resultados, os autores consideram que a quantificação da concentração de pNF-H no LCR tem potencial como um teste de diagnóstico fiável para a MD. No, entanto, não foi observada uma relação entre a fase de progressão da doença e a concentração de pNF-H no LCR. (Toedebusch

*et al.*, 2017). Apesar de estudos prévios terem demonstrado que constituintes proteicos do LCR estavam aumentados em animais com MD, nenhum havia demonstrado especificidade para a MD. Os resultados deste estudo recente indicam que a quantificação da pNF-H é uma ferramenta promissora para o diagnóstico antemortem para a MD (Toedebusch *et al.*, 2017).

### **1.2.8- Tratamento da Mielopatia Degenerativa**

Os protocolos de tratamento para a MD que têm sido usados até ao momento são empíricos, sem uma base em evidências científicas. Por esse motivo, na atualidade, não existe certeza dos efeitos positivos dos tratamentos sintomáticos propostos, nem uma modalidade terapêutica específica para o tratamento de MD (Coates & Wininger, 2010).

Foram utilizados diversos fármacos imunossupressoras com base na hipótese imuno-mediada em relação à etiologia da MD. Glucocorticoides, ciclofosfamida e azatioprina foram usados em casos de MD, tendo sido especulado que estes abrandavam a evolução da doença em cães afetados, no entanto, nenhum destes fármacos teve um efeito positivo, no sentido de inibir a progressão da mesma (Clemmens, 1992; Polizopolou *et al.*, 2008). Um agente anti-protease, o ácido  $\epsilon$ -aminocapróico (EACA), foi proposto para o maneio a longo prazo da MD, uma vez que poderia contribuir para aumentar o tempo da evolução da doença (Clemmens, 1992). Um estudo recente avaliou a terapia combinada com ácido  $\epsilon$ -aminocaproico e N-acetilcisteína com vitaminas B, C e E, não tendo, contudo, encontrado efeitos benéficos (Polizopolou *et al.*, 2008). A terapia com cobalamina parenteral ou tocoferol oral também não teve efeitos positivos na progressão neurológica num estudo em cães com MD (Williams *et al.*, 1985).

A reabilitação funcional tem sido tradicionalmente recomendada em casos de MD. Num estudo recente foram avaliados os efeitos da realização de reabilitação intensiva e a longo prazo em 22 cães afetados com MD, executada pelos tutores, desde o diagnóstico presuntivo da doença até à eutanásia. Todos os tutores receberam instruções detalhadas sobre a forma de realizar uma reabilitação adequada. Os cães afetados que receberam reabilitação intensiva (exercícios de marcha 3 a 4 vezes por dia, massagens e movimentos articulares passivos, ou hidroterapia diária) tiveram um tempo de sobrevivência maior, com uma média de 225 dias, em comparação com cães que receberam reabilitação moderada (exercícios de marcha 3 vezes por dia, massagens ou hidroterapia semanais), que tiveram uma média de sobrevivência de 130 dias, ou que não fizeram reabilitação, com uma média de sobrevivência de 55 dias (Kathmann *et al.*, 2006).

Atualmente é reconhecido que a reabilitação e a aplicação dos princípios da reabilitação física podem contribuir para melhorar a qualidade de vida dos cães afetados com MD, no entanto esta abordagem não parece influenciar o prognóstico da doença a longo prazo (Coates & Wininger, 2010).

Em neurociência surgem estudos que descrevem diversas abordagens de neuroreabilitação funcional (NRF) intensiva para todas as doenças de síndrome NMS, que por transposição podemos aplicar à veterinária e assim aos cães com MD, sendo descritos adiante.

### **1.3- Esclerose Lateral Amiotrófica**

A ELA é uma doença neurodegenerativa fatal caracterizada pela morte seletiva dos NMS e NMI (Rothstein, 2009).

A ELA foi descrita pela primeira vez em 1869 pelo neurologista francês Jean-Martin Charcot e a doença ficou conhecida nos Estados Unidos quando o jogador de baseball Lou Gehrig foi diagnosticado com a doença em 1939, sendo muitas vezes denominada doença de Lou Gehrig ou de doença de Charcot (Rothstein, 2009).

É estimado que a doença tenha uma incidência de 2/100,000 e uma prevalência de 6-7/100,000 no mundo (Ardersen & Al-Chalabi, 2001), sendo a doença de neurónio motor mais comum em humanos adultos (Cleveland & Rothstein, 2001).

Habitualmente a idade média de aparecimento da doença ocorre entre os 50-60 anos de idade, embora em alguns casos possa manifestar-se a partir da segunda década de vida, e a sobrevida média dos doentes situa-se entre os 3-5 anos após o diagnóstico (Wijesekera & Leigh, 2009; Rothstein, 2009). A doença é mais comum no sexo masculino do que no feminino, com uma incidência de 1,5:1 (Zarei *et al.*, 2015).

A ELA é categorizada em 2 formas distintas. A forma mais comum é a esporádica (90-95%), não possuindo uma componente hereditária aparente. Os restantes 5-10% dos casos possuem um carácter familiar, mais comumente com hereditariedade autossómica dominante, designada de ELA familiar (Cleveland & Rothstein, 2001). A etiologia da ELA esporádica é considerada multifatorial, provavelmente relacionada com diversos fatores genéticos e ambientais. Os fatores genéticos mais comuns na ELA são as mutações nos genes SOD1 e C9orf7, sendo as mutações no gene SOD1 a segunda forma de ELA mais comum, correspondendo a cerca de 20% dos casos familiares e 5% dos casos esporádicos (Boilée *et al.*, 2006).

Doentes com ELA apresentam manifestações clínicas de uma degenerescência motora progressiva e variam dependendo da localização do neurónio motor envolvido (Wijesekera & Leigh, 2009).

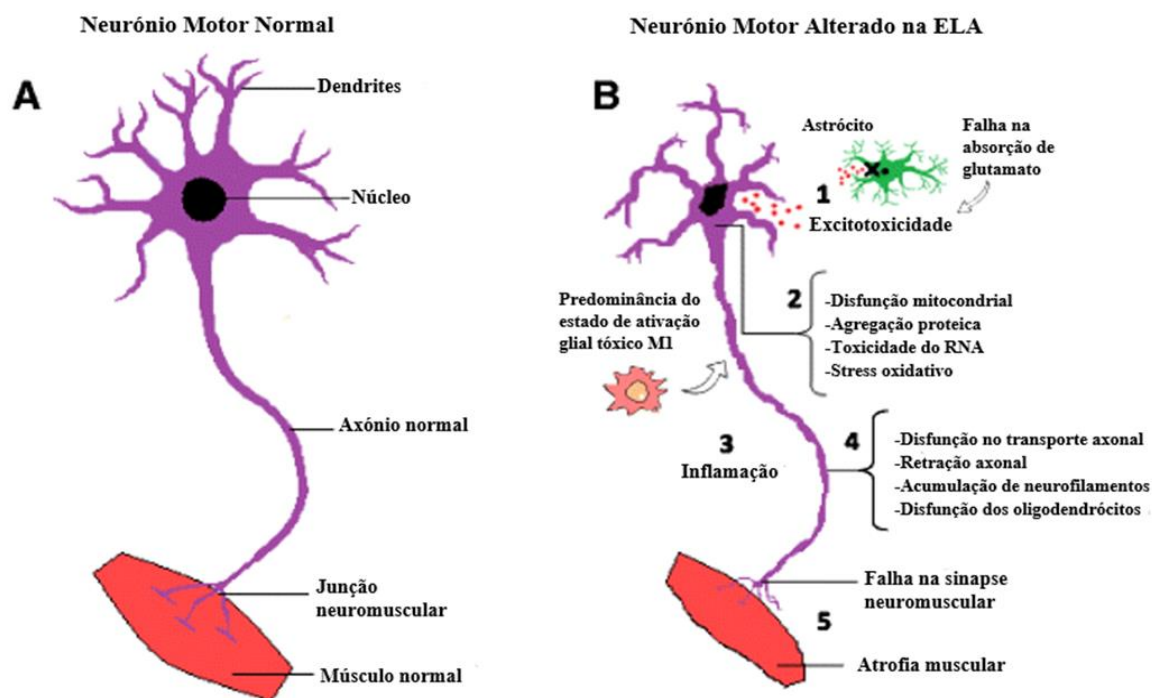
Numa fase inicial da doença, os doentes começam por apresentar fraqueza muscular localizada, podendo iniciar-se nos membros superiores ou inferiores. Numa minoria dos casos de ELA, em cerca de 25% dos doentes, estes podem começar por exibir sinais bulbares, tais como disartria e disfagia (Wijesekera & Leigh 2009).

Geralmente, os sintomas iniciais são assimétricos e desenvolvem-se de forma progressiva e generalizada. A paresia espástica desenvolve-se gradualmente após os primeiros sinais clínicos, afetando a destreza manual e a marcha, sendo seguida por atrofia, câibras e fasciculações musculares. Em fases mais avançadas da doença, os doentes geralmente desenvolvem disartria e disfagia, e eventualmente ocorre insuficiência respiratória, sendo esta a principal causa de mortalidade (Wijesekera & Leigh, 2009; Zarei *et al.*, 2015).

Os mecanismos moleculares específicos por detrás do aparecimento e progressão da doença não estão totalmente esclarecidos. No entanto, vários mecanismos fisiopatológicos têm vindo a ser propostos (figura 5), nomeadamente: a formação de agregados proteicos intracelulares (Brujin *et al.*, 1998; Boilée *et al.*, 2006); stress oxidativo devido à alteração da atividade antioxidante da SOD1 (Zarei *et al.*, 2015); disfunção mitocondrial (Shi *et al.*, 2010); desregulação no processamento e toxicidade do RNA (Highley *et al.*, 2014); excitotoxicidade devido a uma ineficiente absorção do glutamato, causada pela deficiente expressão do GLT-1 pelos astrócitos (Shi *et al.*, 2010; Zarei *et al.*, 2015); resposta neuroinflamatória, caracterizada maioritariamente pela ativação da microglia de um estado anti-inflamatório e neuroprotetor (M2) para um estado predominantemente pró-inflamatório e neurotóxico (M1) (Zhao *et al.*, 2013); e defeitos no transporte axonal (Cleveland & Rothstein, 2001).

Tendo em conta a complexidade da patogénese da ELA, não existe até à data nenhum tratamento eficaz na cura da doença ou que melhore significativamente a qualidade de vida dos doentes. O único fármaco atualmente usado que esteja aprovado pela FDA (*Food and Drug Administration*) como terapêutica da ELA é o Riluzole, um derivado do Benzotiazol, que possui propriedades anti-excitatórias. Este fármaco diminui subtilmente a progressão da doença, aumentando a sobrevida em cerca de 2-3 meses. Para além deste fármaco, a terapêutica da ELA é apenas sintomática e de suporte, com o objetivo de melhorar a qualidade de vida dos doentes (Miller *et al.*, 2002; Van Den Bosch *et al.*, 2006).

Durante a última década, a potencial utilização de células estaminais como terapêutica de diferentes doenças neurodegenerativas tem ganho um crescente interesse, nomeadamente no tratamento da ELA. Apesar de ainda estar em fases iniciais e com múltiplas questões por solucionar, a terapêutica com células estaminais evidencia ter vários efeitos benéficos no tratamento de doenças neurodegenerativas (Ciervo *et al.*, 2017).



**Figura 5-** Fisiopatologia da ELA. A) Representação esquemática de um neurónio motor saudável. B) Representação esquemática de um neurónio motor da medula espinhal afetado por ELA (adaptado de Ciervo *et al.*, 2017).

#### 1.4- Terapêutica com células estaminais mesenquimatosas

Uma vez que a maioria das doenças neurodegenerativas apresentam etiologias múltiplas e complexas, as propriedades das MSCs evidenciam ser capazes abranger diferentes aspetos destas doenças (Volkman & Offen, 2017).

As células estaminais mesenquimatosas (MSCs, do inglês *mesenchymal stem cells*) contam com inúmeras características particulares que fazem com que estas sejam alvo, cada vez mais, de investigação na área da terapia celular. Para além de atrativas como fonte de células maduras virtualmente inesgotáveis, as MSCs também são capazes de produzir fatores neurotróficos. Foi atribuído a estes fatores uma importante função nos processos regenerativos e na

neuroprotecção, nomeadamente na indução da mitose, diferenciação celular, suporte à sobrevivência neuronal, propriedades antiapoptóticas, angiogénese, sinaptogénese, remielinização axonal e neurogénese (Lewis & Suzuki, 2014; Ciervo *et al.*, 2017).

As MSCs têm também ação imunorregulatória e interagem com diversas células envolvidas na resposta imunitária, tendo potencial para atenuar as respostas inflamatórias no SNC, contribuindo para um estado regulador e supressor das respostas imunes. As MSCs possuem ainda propriedades anti-apópticas e podem limitar a excitotoxicidade pela modulação da função dos astrócitos (Boido *et al.*, 2014).

Apesar das terapias celulares serem um conceito recente, nos últimos anos foram realizados vários estudos com células estaminais *in vivo* em modelos de ELA, assim como ensaios clínicos para testar a segurança e eficácia da sua utilização em doentes com ELA. No geral, os resultados destes estudos têm vindo a demonstrar que a terapêutica com células estaminais é um procedimento seguro e bem tolerado, e que apresenta um benefício clínico significativo. No entanto, o uso terapêutico de MSCs ainda é questionado pela falta de protocolos, tanto sobre a melhor forma de isolamento como das vias e doses de administração (Ciervo *et al.*, 2017).

Um sumário dos estudos com MSCs em modelos de ELA e dos ensaios clínicos com MSCs em doentes com ELA estão apresentados na tabela I e II do anexo III, respetivamente.

### **1.5- Mielopatia Degenerativa Canina como modelo de doença para a Esclerose Lateral Amiotrófica**

A Mielopatia Degenerativa canina apresenta diversas similaridades com algumas formas da Esclerose Lateral Amiotrófica em humanos. Ambas as doenças são caracterizadas por um declínio progressivo da função motora, acompanhado por alterações de degenerescência nos feixes medulares descendentes. Com base nestas semelhanças encontradas a nível das lesões e da progressão da doença, assim como pelo envolvimento da mutação no gene SOD1 em ambas as doenças, a MD Canina representa o primeiro modelo animal, de desenvolvimento natural, para a ELA em humanos.

Um obstáculo importante para o estudo da ELA consiste na escassez de tecidos disponíveis para estudo. Uma vez que os tecidos disponíveis de doentes com ELA são geralmente obtidos *postmortem*, em estágios finais da doença, as descrições patológicas da evolução da doença são raras. Em contraste, os cães com MD são eutanasiados em todos os

estágios da progressão da doença, fornecendo uma oportunidade para caracterizar a patogénese da progressão da doença que não é possível em humanos com ELA (Nardone, R. *et al.*, 2016).

Comparativamente aos ratos transgénicos com mutação SOD1, os cães afetados com MD não são geneticamente alterados, tendo a mutação no gene SOD1 ocorrido naturalmente sendo, assim, a progressão da doença mais comparável à ELA em humanos (Coates & Wininger, 2010; Nardone, R. *et al.*, 2016). Adicionalmente, os cães com MD são mais semelhantes aos humanos em tamanho, estrutura e complexidade do sistema nervoso, assim como na duração da doença. Outra característica importante dos cães afetados com MD consiste no facto destes animais domésticos partilharem o mesmo ambiente dos humanos, uma vez que alguns fatores ambientais têm vindo a ser considerados fatores de risco para o desenvolvimento da ELA (Nardone, R. *et al.*, 2016).

A MD canina pode ser considerada um modelo útil de doença para a ELA em humanos, e estudos adicionais com base neste modelo podem contribuir para uma melhor compreensão dos mecanismos fisiopatológicos subjacentes a ambas as doenças, assim como para o desenvolvimento e avaliação do potencial de abordagens terapêuticas.

## **1.6- Neuroreabilitação funcional**

Após uma lesão neurológica, pretende-se que os doentes readquiram equilíbrio, controlo postural e capacidade locomotora. Assim, o principal objetivo da NRF é que os doentes neurológicos readquiram independência funcional, de modo a melhorar a sua qualidade de vida (Harkema *et al.*, 2012a; Martins, 2015a).

A NRF assenta em fundamentos neuroanatômicos chave e é potenciada pela neuroplasticidade, uma propriedade intrínseca do SNC, sendo comum ao Homem e aos animais domésticos (Rossignol & Frigon, 2011; Lavrov *et al.*, 2015; Martins, 2015a).

A neuroplasticidade permite que, após lesão medular, mesmo que completa, seja possível reeducar o SNC, com modalidades da NRF, no sentido de recorrer a vias alternativas para recuperar a locomoção, a postura e o equilíbrio, possibilitando, assim, que o doente atinja autonomia (Dragone, 2015; Martins, 2015b).

### **1.6.1- Conceito de plasticidade do sistema nervoso central**

A plasticidade corresponde à capacidade adaptativa do sistema nervoso às mudanças ambientais constantes, encontradas durante o desenvolvimento e aprendizagem (Doyon & Benali, 2005).

Diversos estudos experimentais e clínicos têm demonstrado evidências de que a neuroplasticidade também ocorre em resposta a uma lesão ou doença, contribuindo para a preservação ou recuperação significativa da função (Bosnell *et al.*, 2011, Nudo, 2013).

A neuroplasticidade, em situações de lesão do SNC, tem como objetivos alterar as forças sinápticas de circuitos intactos ou a formação de novos circuitos através da reorganização anatómica do SNC, sendo a plasticidade neural designada como plasticidade sináptica e plasticidade anatómica, respetivamente (Grasso *et al.*, 2004).

A neuroplasticidade pode ocorrer em vários locais do SNC, tais como, a medula espinhal, córtex motor e tronco cerebral (Thompson & Wolpaw, 2014).

A plasticidade espontânea após uma lesão é, no entanto, inadequada para permitir uma regeneração e recuperação significativa da função. Contudo, algumas intervenções terapêuticas são capazes de recrutar e potenciar esta capacidade intrínseca, sendo neste sentido que a NRF pode desempenhar um papel fundamental (Rossignol & Frigon, 2011; Lavron *et al.*, 2015).

Desde a descoberta que a neuroplasticidade é dependente do exercício físico (Wolpaw & Tennissen, 2001), diversos estudos têm vindo a demonstrar a eficácia do treino locomotor (TL) em doentes e modelos animais com lesões no SNC (de Leon *et al.*, 2001; Edgerton & Roy, 2002; Rossignol *et al.*, 2006), nomeadamente em lesões traumáticas da medula espinhal, ELA, Acidente Vascular Cerebral (AVC), paralisia cerebral e na Esclerose Múltipla (EM) (Edwards, 2004; Elbasiouny *et al.*, 2010).

### **1.6.2- Treino locomotor na neuroreabilitação funcional**

A relação das alterações plásticas na medula espinhal com a atividade física sugeriu a possibilidade que esta poderia ser retreinada após uma lesão, numa tentativa de modificar a atividade dos circuitos neurais poupados e compensar a perda parcial de neurónios e conexões neurais (Edgerton *et al.*, 2001).

O TL é uma abordagem da NRF, baseada em princípios que promovem o movimento dos membros e do tronco para gerar informação sensorial consistente com a locomoção e melhorar a recuperação da marcha após danos neurológicos (Giesser *et al.*, 2007).

O TL desempenha um papel fulcral na NRF com uma contribuição primordial na recuperação locomotora dos doentes (Nielson *et al.*, 2015; Takao *et al.*, 2015). Através do TL pretende-se reativar a função neuromuscular, estimulando repetitivamente as vias aferentes, exacerbando o arco reflexo e, por sua vez, promover a neuroplasticidade (Harkema *et al.*, 2012b; Martins, 2015a).

Quando comprometida, a marcha deve ser treinada precocemente para os doentes manterem a atividade dos geradores de padrão central (GPC) e para facilitar o controlo postural e os padrões de movimento (Dietz & Harkema, 2004; Rossignol *et al.*, 2007). Os GPC estão localizados na medula espinhal e correspondem a vias neuronais, constituídas por neurónios excitatórios e inibitórios, que controlam as atividades motoras rítmicas, tais como a locomoção, mesmo na ausência de informação sensorial ascendente e supraespinhal motora (Grasso *et al.*, 2004; Thomson & Hahn, 2012c).

O desenvolvimento do TL em tapete rolante terrestre (TRT) em doentes neurológicos tem por base estudos em gatos adultos com lesões completas da medula espinhal e incapacidade de movimento nos membros pélvicos, os quais concluíram que existia uma recuperação parcial da marcha dos doentes após sete meses de TL em TRT, com suporte do peso corporal (Barbeau, H., 2003; Threlkeld A.J., 2003).

Uma possível explicação neurofisiológica para estas respostas motoras será que o movimento contínuo no tapete rolante e a repetição da marcha podem estimular os circuitos neuronais de controlo da locomoção, estimulando os GPC na medula espinhal (Capaday, 2002; Dietz & Harkema, 2004), sendo estes responsáveis por produzir um padrão de marcha cíclico, mesmo após uma lesão completa da medula espinhal (Rossignol *et al.*, 2007). A ativação dos GPC durante o TL pode favorecer a plasticidade neural através da regulação da interação entre o GPC e a atividade dos reflexos periféricos (Mackay-lyons, 2002).

Do mesmo modo, o TL em doentes com lesões incompletas da medula espinhal pode favorecer a sua reabilitação motora, especialmente através da plasticidade neural (Jakeman *et al.*, 2011), que permite a aprendizagem de um novo padrão de marcha. Esta aprendizagem está dependente de informações sensoriais específicas associadas à realização de tarefas motoras e da sua repetição (Edgerton *et al.*, 2001).

De um modo geral, a memorização do TL envolve todo um processo de reprogramação e retreinamento do sistema nervoso, envolvendo a estimulação aferente repetitiva e cíclica, estimulando a neuroplasticidade, possibilitando, por vias alternativas, que haja readaptação à estação e marcha (Harkema *et al.*, 2012b; Martins, 2015a).

Os principais objetivos do TL são aumentar a habilidade para suportar o peso corporal, otimizar as vias aferentes de modo a aumentar o arco reflexo e melhorar a postura, assim como maximizar a recuperação e minimizar a compensação (Harkema *et al.*, 2012b).

O TL pode promover alterações funcionais e estruturais no córtex cerebral, medula espinhal e músculos esqueléticos, e assim melhorar a função neuronal e muscular após lesão ou doença da medula espinhal (Fu *et al.*, 2016).

Um estudo desenvolvido por White e Castellano em doentes com EM, avaliou a influência do TL na produção de vários fatores de crescimento do sistema nervoso, tais como o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF, do inglês *brain-derived neurothrophic factor*), o fator de crescimento nervoso (NGF, do inglês *nerve growth fator*), e o fator de crescimento semelhante à insulina I (IGF-I, do inglês *insulin-like growth factor*), que têm um papel protetor em doenças neurodegenerativas, caracterizadas por uma variedade de padrões de inflamação, desmielinização e perda axonal (White & Castellano, 2008).

White e Castellano apresentaram evidências de que o TL pode influenciar os mecanismos anti-inflamatórios, o que pode reverter a perda de regulação imunitária associada à progressão da EM. As alterações induzidas pelo TL parecem influenciar uma complexa interação de hormonas, citocinas e fatores neurotróficos, tais como o BDNF, NGF e o IGF-1, que desempenham um papel na neurogénese, neuroprotecção do SNC e plasticidade sináptica, assim como na proliferação, diferenciação e sobrevivência das células do cérebro. Estes fatores podem influenciar favoravelmente as variáveis imunológicas presentes na EM e outras doenças neurodegenerativas (White & Castellano, 2008).

Outros estudos mostraram um aumento no número de astrócitos e células estaminais neurais endógenas no giro denteado, no hipocampo de ratos, após serem submetidos a TL a longo prazo (Cote *et al.*, 2011; Keeler *et al.*, 2012).

O TL pode aumentar a expressão de fatores neurotróficos, promovendo a proliferação de células endimárias e a sua diferenciação em células precursoras neurais (NPCs, do inglês *neural precursor cells*), e posteriormente em oligodendrócitos e astrócitos, resultando em regeneração dos nervos e numa melhor recuperação funcional (Kulbatski *et al.*, 2007). Adicional-

mente, o TL pode estimular fatores neurotróficos, tais como o BDNF, IGF-1 e o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF, do inglês *vascular endothelial growth factor*) a induzirem a regeneração de oligodendrócitos na medula espinhal (Gómez-Pinilla *et al.*, 2007) e ainda regular a agregação de astrócitos e promover a sua maturação e diferenciação (Li *et al.*, 2005).

Deste modo, os efeitos do treino locomotor na estrutura e função da medula espinhal após uma lesão incluem a reconstrução da estrutura neuronal, a proliferação e diferenciação celular, a ativação do metabolismo e expressão de substâncias neuronais e fatores neurotróficos (Fu *et al.*, 2016).

O TL pode ser realizado em tapete rolante terrestre (TRT) ou em tapete rolante aquático (TRA), permitindo a execução de programas distintos como o treino de resistência, de fortificação muscular e/ou proprioceptivo (Campbell & Huntingford, 2016).

#### **1.6.2.1- Treino locomotor em tapete rolante terrestre**

O treino locomotor em TRT disponibiliza uma adequada informação sensorial aos circuitos neurais espinhais. Este facilita a atividade dos GPC e permite a melhoria da velocidade da marcha, assim como possibilita uma maior intensidade do treino e repetição (Rossignol *et al.*, 2006; Sullivan *et al.*, 2007).

Um estudo em doentes com AVC grave mostrou que o TL em TRT é uma intervenção eficaz, uma vez que resulta numa melhoria das capacidades motoras e posturais. Neste estudo, os doentes com grandes incapacidades na marcha foram os que mais beneficiaram do treino (Barbeau & Visintin, 2003).

Um outro estudo concluiu que o exercício rítmico e repetitivo em TRT, com suporte dos doentes, é seguro e promoveu melhorias na função motora de doentes com ELA (Sanjak *et al.*, 2010).

Múltiplos estudos em medicina humana referem que o TL em TRT, com ou sem suporte do peso corporal, deve ser parte integrante dos programas de NRF no sentido de promover uma marcha funcional e um controlo motor eficaz durante a locomoção (Aaslund *et al.*, 2013; Gervasio *et al.*, 2014; Takao *et al.*, 2015).

### **1.6.2.2- Treino locomotor no tapete rolante aquático**

A terapêutica em TRA permite a realização de exercícios que seriam difíceis de realizar a nível terrestre ou mesmo uma ação mais eficaz dos mesmos, devido às propriedades únicas da água, das quais se destacam a densidade relativa, fluutuabilidade, pressão hidrostática, viscosidade, resistência, tensão superficial, turbulência e temperatura da água (Kesiktas *et al.*, 2004; Sherman *et al.*, 2013).

Esta modalidade permite o controlo da contração exacerbada, do espasmo muscular e do início do ciclo espasmo – dor, sendo assim benéfico no tratamento da espasticidade (Martins, 2016). Isto é assegurado, em parte, pela temperatura da água que promove a redução da ativação das fibras gama em conjunto com a ativação da inibição do NMI $\alpha$ , conduzindo a um estado de relaxamento muscular (Niebaum, 2013; Sherman *et al.*, 2013).

Múltiplos estudos avaliaram o efeito do TL em TRA em doentes com EM, tendo concluído que a modalidade era segura e associada a melhorias significativas em várias escalas motoras, especialmente devido aos seus efeitos positivos na espasticidade (Salem *et al.*, 2011; Correia de Sá *et al.*, 2011; Beer *et al.*, 2012).

A terapêutica em TRA para o tratamento de doentes com ELA é também sugerida, essencialmente devido aos seus potenciais efeitos benéficos no manejo das câibras e da espasticidade (Andersen *et al.*, 2012).

### **1.6.3- Modalidades de estimulação elétrica**

A electroestimulação deve ser associada ao TL de modo a melhorar os resultados da recuperação da locomoção voluntária ou fictícia (Martins, 2015b; Thompson & Walpaw, 2015).

De um modo geral, a eletroterapia baseia-se na aplicação de uma corrente elétrica de baixa a média frequência (até 250Hz) que estimula a componente motora ou sensorial dos nervos, de acordo com o protocolo e objetivo terapêutico pretendido. Assim, esta modalidade pode atuar desde a estimulação elétrica superficial dos músculos até à estimulação elétrica de nervos periféricos e centrais (Sherman *et al.*, 2013).

### 1.6.3.1- Estimulação elétrica transcutânea

A estimulação elétrica nervosa transcutânea (TENS, do inglês *transcutaneous electrical nerve stimulation*) consiste na estimulação de fibras sensoriais aferentes, de forma a causar uma sobrecarga dos interneurónios, tendo vindo a ser utilizada com sucesso no tratamento da dor neuropática secundária a lesões medulares (Finnerup *et al.*, 2007; Matsuo *et al.*, 2014).

A sua ação parece estar associada à inibição da ativação das células da glia, diminuição da expressão de citocinas pró-inflamatórias, diminuição da sensibilização neuronal à transmissão da dor e aumento da expressão de recetores de opióides a nível do corno dorsal da medula (Matsuo *et al.*, 2014; Hahm *et al.*, 2015).

O TENS deve ser associado ao TL uma vez que é considerada uma modalidade neuromodeladora dos circuitos posturais e da locomoção e apresenta um grande potencial no manejo da espasticidade (Lavrov *et al.*, 2015; Mills & Dossa, 2016). O mecanismo subjacente à modelação da espasticidade atribui-se à estimulação de fibras aferentes cutâneas que podem suprimir a excitabilidade motora neural ou pode estar associada à ativação da via de inibição recíproca, quando estimulados músculos antagonistas (Elbasiouny *et al.*, 2010; Smania *et al.*, 2010).

No caso de doentes hemiplégicos após AVC, foi demonstrada a eficácia na espasticidade de um protocolo de TENS com uma frequência de 100 Hz durante 20 minutos, perdurando o seu efeito durante 45 minutos (Potisk *et al.*, 1995; Martins, 2016b).

Também Armutlu avaliou o efeito de um protocolo de TENS com uma frequência de 100 Hz durante 20 minutos em doentes com EM, tendo sido observado, através da escala de Ashworth modificada (tabela 3 do anexo IV) e atividade mioelétrica, uma redução da espasticidade após 4 semanas de tratamento (Armutlu, 2003).

Por outro lado, também Hofstoetter *et al.*, 2014 concluíram que um protocolo de TENS com a frequência de 50 Hz durante 30 minutos reduz a co-ativação  $\alpha$ - $\gamma$  dos músculos espásticos e modifica os circuitos de excitabilidade dos neurónios motores através da estimulação das vias descendentes inibitórias, contribuindo para um aumento da amplitude de movimento articular e do controlo motor voluntário, o que facilita o treino locomotor de resistência e fortificação (Hofstoetter *et al.*, 2014).

### 1.6.3.2- Estimulação elétrica funcional

Quando a estimulação elétrica é usada para iniciar uma resposta na contração muscular, com o objetivo de ativar ou restaurar a função motora, é denominada de estimulação elétrica funcional (EEF) (Peckham & Knutson, 2005).

A EEF baseia-se na estimulação dos nervos através de uma corrente de baixa intensidade que gera um potencial de ação necessário à despolarização dos neurónios e posterior contração muscular (Peckham & Knutson, 2005).

Durante a aplicação da EEF ocorre uma integração do córtex sensorial e motor, ativando simultaneamente vias sensoriais aferentes e vias motoras eferentes, promovendo a contração muscular (Shin *et al.*, 2008; Gandolla *et al.*, 2014), o que pode contribuir para o acionamento de vias neurais comprometidas. Além disso, as contrações musculares promovidas pela EEF podem induzir alterações na estrutura intrínseca do músculo, estimulando o fortalecimento muscular e evitando a progressão da atrofia muscular (Gordon & Mao, 1994).

Em doentes com lesões do SNC, com comprometimento das sinapses entre os neurónios do córtex motor primário e os neurónios motores  $\alpha$ , que atuam na contração muscular eferente, a corrente elétrica da EEF ativa diretamente a fibra neural da terminação nervosa da placa motora, produzindo a sua despolarização e a consequente contração muscular (Peckham & Knutson, 2005).

Estudos em humanos com lesões neurológicas revelaram que este tipo de abordagem permite a ativação dos circuitos locomotores espinhais intrínsecos e, consequentemente, uma recuperação da funcionalidade dos doentes (Yan *et al.*, 2004; Hubli *et al.*, 2012).

A EEF promove a excitabilidade de novas conexões, possivelmente desenvolvidas durante o processo de regeneração neural, como resultado dos efeitos de protocolos de reabilitação funcional (Norrie *et al.*, 2005; Winchester *et al.*, 2005).

A EEF deve ser incorporada em protocolos de neuroreabilitação em veterinária como uma modalidade terapêutica de reabilitação, que promove a reorganização funcional neural, particularmente nas fases iniciais da locomoção, similarmente ao que é feito atualmente em medicina humana no manejo de doenças de NMS (Daly & Ruff, 2004; Lee *et al.*, 2013).

## 1.7- Objetivos

Ao longo dos anos, as doenças neurodegenerativas têm vindo a preocupar a classe médica da medicina humana no sentido de limitar a sua progressão, dando deste modo um impulso evolutivo na medicina física e de reabilitação. Surge assim a medicina da neurologia restaurativa, promovendo um retrocesso na evolução da doença e uma atividade diária autónoma e funcional por parte dos doentes.

Deste modo, na medicina veterinária, com a mesma regra de raciocínio, podemos transpor a evolução da neurociência para as doenças neurodegenerativas do cão, como é o caso da Mielopatia Degenerativa (MD).

A MD é uma doença que afeta na sua forma inicial o sistema motor neural de NMS, assim como as doenças de síndrome de NMS da medicina humana, nomeadamente a Esclerose Lateral Amiotrófica (ELA). Logo, como a neuroanatomia, fisiopatologia e apresentação clínica são similares, poderemos implementar programas de NRF baseados nos mesmos conceitos aos aplicados na medicina humana, de plasticidade e neuroreorganização neural.

As doenças neurodegenerativas, tanto na medicina humana como na medicina veterinária, progredem para um final fatal. Deste modo, elaborou-se o presente estudo com o objetivo de recolher informação acerca do papel da NRF, com uma abordagem intensiva, de forma a estimular interconexões tanto a nível dos feixes motores descendentes como dos circuitos intrínsecos de interneurónios motores medulares, que permitam uma reorganização neural, com a finalidade de obter maior funcionalidade temporal.

O estudo pretende ainda avaliar as diferenças obtidas quanto à evolução dos défices motores e sensoriais dos doentes perante a prescrição do protocolo de neuroreabilitação funcional para a Mielopatia Degenerativa (PNRF-MD), de modo a determinar se esta abordagem será uma opção para melhorar a qualidade de vida dos doentes.

## **2- MATERIAL E MÉTODOS**

O presente trabalho consiste num estudo clínico preliminar composto por cinco cães com diagnóstico presuntivo de MD por exclusão. A amostra estudada caracteriza-se por três cães de raça Pastor Alemão, um cão cruzado de Serra da Estrela e um cão Cruzado de Setter, com idades compreendidas entre os 8 e os 11 anos.

Este foi efetuado no Hospital Veterinário da Arrábida/ Centro de Reabilitação Animal da Arrábida (HVA/CRAA) durante o período entre 4 de maio de 2017 a 4 de fevereiro de 2018.

### **2.1- Organização da entrada dos doentes no centro de reabilitação animal**

De modo a evitar uma recolha de informação neurológica variável, podendo obter resultados menos válidos, todos os doentes do estudo seguiram a mesma linha condutora desde o momento de entrada no HVA/CRAA até à sua alta clínica, incluindo reavaliações posteriores.

Os doentes à entrada do HVA/CRAA foram submetidos a uma consulta de NRF realizada por o mesmo médico veterinário, instrutor do CCRP (*Certified Canine Rehabilitation Practitioner*) acreditado pela Universidade do Tennessee, na qual se prescreveu o PNRF-MD.

Nesta consulta realizou-se uma avaliação dos déficits motores e sensoriais, assim como do tónus e atrofia muscular, sendo esta descrita detalhadamente adiante. Os doentes foram também semanalmente sujeitos a uma avaliação mais geral pelo médico veterinário acima referido, permitindo ajustar o PNRF-MD às necessidades individuais de cada doente, embora a organização de base tenha sido sempre a mesma.

### **2.2- Critérios de seleção**

No estudo foram selecionados cães que apresentavam défices motores e sensoriais clássicos de lesão no sistema motor neural de NMS ou NMI por MD. Para poder afirmar clinicamente o diagnóstico da doença neurodegenerativa, foram excluídas todas as possibilidades de compressão medular através de exame por tomografia computadorizada e foram ainda excluídas as doenças infecciosas abaixo listadas, através da análise serológica (serologia de imunoglobulinas G (IgG) e imunoglobulinas M (IgM)) ao LCR ou ao sangue: toxoplasmose, neosporose,

erlichiose, rickettsiose, babesiose, leishmaniose, e doença infecciosa do vírus da esgana, todas elas compatíveis de originar meningites.

Para além do referido, todos os doentes efetuaram o teste genético com base na mutação do gene SOD1, tendo sido incluídos tanto doentes com o genótipo homocigótico para a mutação, como os heterocigóticos.

De referir que os cinco doentes incluídos no estudo seguiram a regra de independência para a raça, género, idade e peso vivo.

Assim sendo, foram excluídos gatos e cães com lesão no sistema motor neural de NMI e de NMS em que a etiologia neste caso seria: doença degenerativa do disco intervertebral (DDDIV), mielites imunomediadas, compressões medulares de origem neoplásica ou infiltrativas, presença de quistos aracnoideais medulares, lesões de origem traumática, discospondilites, neoplasias vertebrais e mielopatias vasculares, tais como a mielopatia por embolia fibrocartilaginosa e extrusão aguda não compressiva do núcleo pulposo.

### **2.3- Consulta de neuroreabilitação funcional**

A consulta de NRF foi composta por dois tipos de abordagens, a abordagem dinâmica e a abordagem estática. Na primeira, foi avaliada a marcha e os déficits motores e sensoriais de cada doente segundo a escala de Frankel modificada (EFM) (Levine *et al.*, 2009) e a escala de marcha em campo aberto (EMCA) (Olby *et al.*, 2001) (tabela 1 e 2 do anexo IV, respetivamente), tendo sido registado por filmagem com uma câmara Canon EOS Rebel T6 (EOS 1300D) e com a ajuda de dois técnicos de reabilitação do HVA/CRAA.

Na abordagem estática analisou-se o estado mental (alerta ou deprimido), a postura (cifose, lordose ou escoliose), as reações posturais (teste de posicionamento propriocetivo e observação de bases de sustentação alargada), os REP (reflexo patelar, reflexo extensor cruzado, reflexo flexor, reflexo bulbo-cavernoso, reflexo de babinski e reflexo do tronco cutâneo), através de Pinça Halstead mosquito ABC Curva 12 cm e Martelo de Taylor 18cm. Foi ainda avaliada a sensibilidade à dor, a palpação do tónus muscular (músculos do grupo extensor e músculos do grupo flexor) e o movimento de flexão simultâneo de todas as articulações do membro pélvico, de modo a obter a noção de espasticidade e rigidez muscular.

## 2.4- Protocolo de neuroreabilitação funcional do HVA/CRAA para a Mielopatia Degenerativa

Todos os doentes do estudo foram submetidos, durante um mês, ao mesmo PNRF-MD de base, tendo este algumas diferenciações complementares sempre que os doentes em questão apresentaram alterações concomitantes a nível ortopédico, ou mesmo, sinais clínicos limitativos da funcionalidade como espasticidade e rigidez muscular.

Uma vez que o doente com MD apresenta comunicação entre os centros supraespinhais e a intumescência pélvica, pretendeu-se, desta forma, prescrever exercícios que estimulem a excitabilidade da despolarização neural por parte dos feixes motores descendentes. Assim sendo, o treino locomotor, tanto no TRT e no TRA, foi efetuado de forma gradual.

No TRT (*Superior Fit Fur Life treadmill*), o PNRF-MD iniciou-se cinco a seis vezes por dia, em períodos temporais curtos de cinco minutos (0,8 a 1 km/h), de acordo com a área de conforto de cada doente. Após a adaptação do doente ao treino locomotor, entre três a quatro dias, o espaço temporal aumentou para dez minutos com repetição quatro vezes por dia (1.2 a 1.5 km/h). Ao fim de dez dias, trinta minutos três vezes ao dia (1.8 a 2 km/h) e, por fim, 40 a 60 minutos duas vezes ao dia (2.2 km/h com 5% inclinação) (figura 6).

Já no TRA (*Hidro Psysis, EUA*), os doentes realizavam o treino no período da manhã, sendo que nos primeiros cinco dias foi realizada a adaptação ao meio aquático, de dois a cinco minutos, com velocidade de 1



**Figura 6-** Treino locomotor no tapete rolante terrestre (fotografia gentilmente cedida pelo HVA/CRAA).



**Figura 7 –** Treino locomotor no tapete rolante aquático (fotografia gentilmente cedida pelo HVA/CRAA).

a 1,5 km/h, temperatura da água 22 a 24°C e linha de colocação de água ao nível da proeminência óssea do trocânter maior do fémur. Durante o período seguinte, de cinco a dez dias, foi realizado o aumento do espaço temporal para dez minutos e da velocidade para 1.8km a 2km/h. Após o décimo dia, o treino locomotor no TRA, teve como objetivo atingir uma hora de duração, com velocidade 3 a 3,5 km/h, linha de água a nível do maléolo lateral da tibia e inclinação de 5% (figura 7).

No sentido de promover a reorganização neural da intumescência pélvica, com evidência de despolarização do NMI alfa e gama, introduziu-se a modalidade terapêutica de EEF, representada na figura 8 (*aparelho BTL 4000 Premium*; BTL, Portugal).

Assim sendo, nos doentes que apresentaram hipotonicidade a nível do grupo muscular extensor e flexor, foi prescrita a técnica de co-contracção para estimulação simultânea de ambos os grupos, não respeitando, desta forma, a regra do agonista-antagonista (100 Hz; de 6 a 24 mA; ciclo de contracção/descanso 1:4; rampa de contracção ascendente de 4 segundos, *plateau* 10 segundos, rampa descendente dois segundos). Após a recuperação do tónus a nível do grupo muscular extensor, os doentes realizaram, apenas, a técnica segmental a nível do grupo muscular flexor, por estimulação no NMI alfa e gama do correspondente grupo. Da mesma forma, todos os doentes que apresentavam, unicamente, hipotonicidade do grupo muscular flexor, realizaram o mesmo tipo de técnica segmental.

A técnica da co-contracção foi elaborada com o eléctrodo de superfície (cátodo) na região anatómica paraespinal L4-L6 e eléctrodo de superfície (ânodo) no ponto motor do grupo muscular extensor. Simultaneamente, para estimulação do grupo muscular flexor, colocou-se o eléctrodo de superfícies (cátodo) na região anatomia L7-S1 e correspondente ânodo a nível do ponto motor do grupo flexor. Esta modalidade terapêutica foi realizada três vezes ao dia, numa fase inicial, tendo sido desmamada de acordo com a evolução neurológica dos doentes.



**Figura 8-** Aplicação da técnica de estimulação elétrica (fotografia gentilmente cedida pelo CRAA/HVA).

Na técnica segmental, a última representação de colocação de elétrodos acima mencionada, foi a escolhida com a parametrização de 60 Hz, 6 a 36 mA, ciclo de contração/descanso 1:5; rampa de contração ascendente de 4 segundos, *plateau* 10 segundos, rampa descendente dois segundos. Esta modalidade terapêutica foi executada três vezes ao dia, numa fase inicial, tendo sido desmamada de acordo com a evolução neurológica dos doentes.

Para além do referido, os doentes foram submetidos a um circuito de cinesioterapia ativo, três vezes por dia. Este circuito foi composto por passagem de obstáculos, passagem de alternância de pisos, subir e descer escadas e subir e descer rampas. A estimulação através do circuito supracitado foi realizada por dez repetições em cada série elaborada.

Todos os doentes que apresentaram sinais clínicos de osteoartrite articular, de forma concomitante, realizaram laserterapia classe IV (*lite cure companion therapy laser, litecure* EUA) com a técnica de 4 pontos em relação à articulação lesada, seguido de 30 movimentos articulares passivos. Adicionalmente, os doentes em que se observou o sinal clínico de espasticidade de grau 1 segundo a escala de Ashworth modificada, realizaram estimulação elétrica transcutânea no sentido do manejo da dor com parâmetros de 100 Hz, 6 mA, durante 20 minutos, diariamente, seguido de 30 alongamentos passivos da área muscular lesada.

## 2.5- Método estatístico

O programa informático utilizado para a elaboração da base de dados foi a folha de cálculo do Microsoft Office Excel ®.

A categorização da amostra foi feita tendo em conta as seguintes variáveis: género, idade, raça, peso vivo, presença de doenças concomitantes e resultado do teste genético, assim como as diferentes variáveis do exame de neuroreabilitação funcional, tais como, o grau neurológico segundo a EFM e a EMCA, REP flexor, REP patelar, REP do tronco cutâneo, REP bulbo-cavernoso, REP extensor cruzado, REP de babinski, tónus muscular e atrofia muscular.

As variáveis supramencionadas foram avaliadas numa consulta de NRF à entrada dos doentes no centro de reabilitação e após a aplicação do protocolo de NRF-MD, ao fim de 1 mês.

## 3- RESULTADOS

O estudo preliminar em questão, baseou-se numa amostra que contemplou cinco cães (n=5), com diagnóstico de MD por exclusão. Os cinco cães do estudo foram caracterizados segundo os critérios acima mencionados, descritos em seguida:

### 3.1- Caracterização da amostra

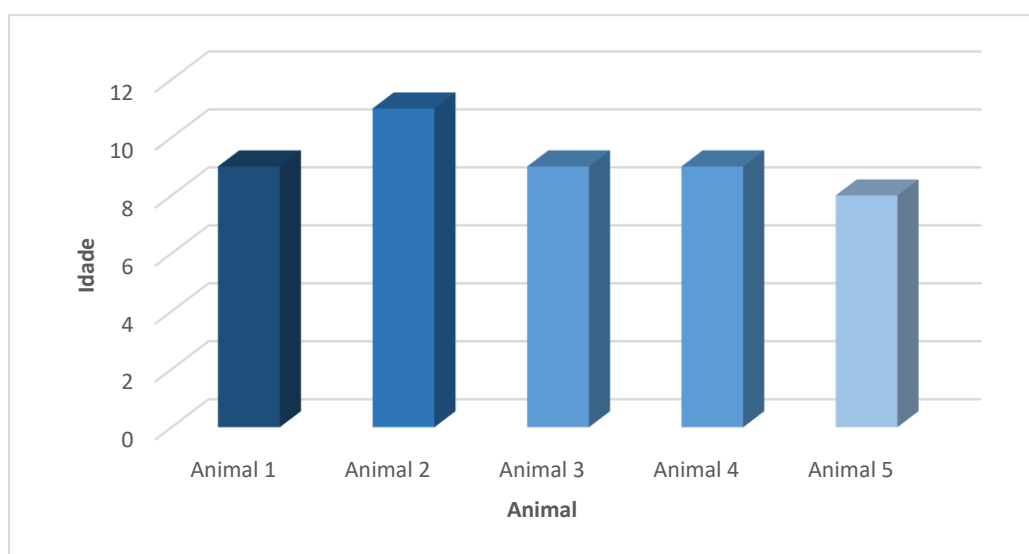
A população em estudo foi constituída por 5 cães cujas características principais estão descritas na Tabela 10.

**Tabela 10-** Resumo das características dos animais do estudo

Animal	Idade (anos)	Raça	Género	Peso vivo (kg)	Doenças concomitantes	Teste genético
A1	9	Cruzado de Setter	Fêmea	22	Luxação da patela	Homozigótico A/A
A2	11	Pastor Alemão	Macho	40	Ausente	Heterozigótico A/G
A3	9	Cruzado de Serra da Estrela	Macho	42	Displasia da anca e osteoartrite	Heterozigótico A/G
A4	9	Pastor Alemão	Macho	32	Displasia da anca	Heterozigótico A/G
A5	8	Pastor Alemão	Fêmea	35	Ausente	Homozigótico A/A

#### 3.1.1- Idade dos doentes

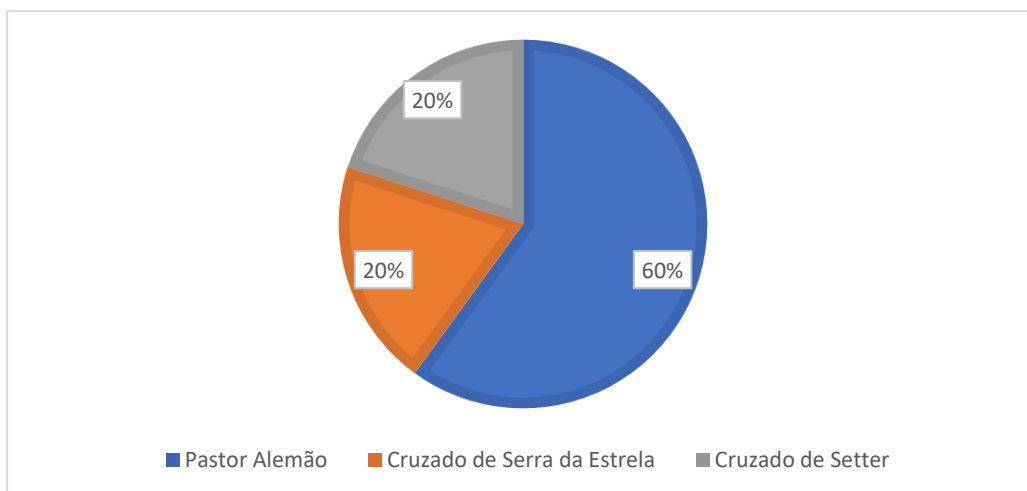
Em relação à idade, a distribuição está representada no gráfico 2. A amostra encontra-se entre os 8 e os 11 anos, verificando-se uma média de aproximadamente 9 anos de idade.



**Gráfico 2-** Distribuição da amostra em relação à idade

### 3.1.2- Raça dos doentes

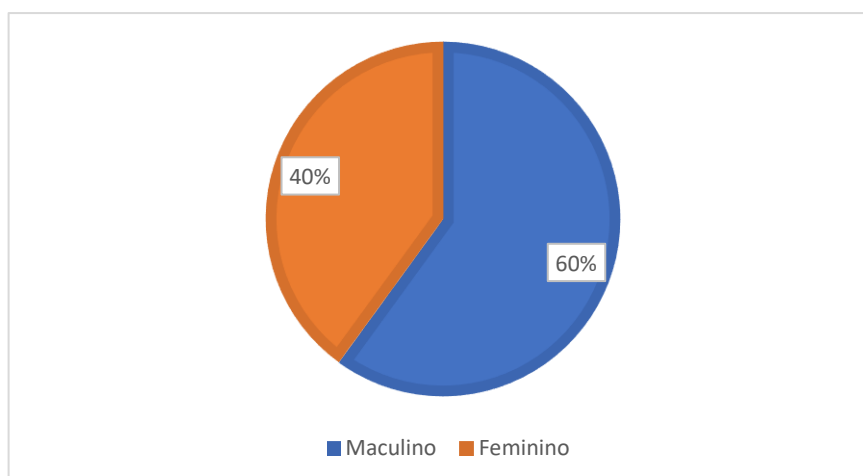
Em relação à raça, a distribuição encontra-se representada no gráfico 3, com destaque marcado nos cães de raça Pastor Alemão (60%), seguido de cruzado de Serra da Estrela e cruzado de Setter, ambas com 20%.



**Gráfico 3** - Distribuição da amostra em relação à raça

### 3.1.3- Género dos doentes

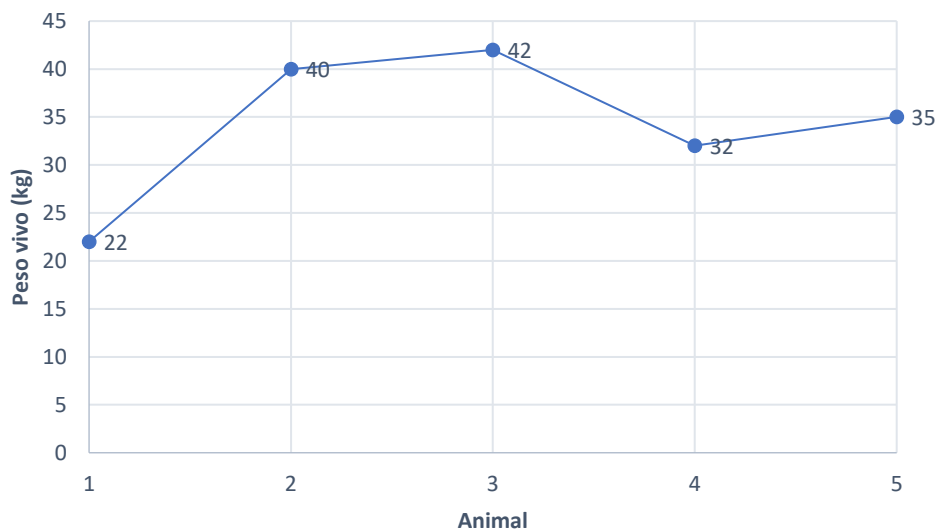
A amostra estudada caracteriza-se por 60% de cães do género masculino e, em menor percentagem, 40% do género feminino, tal como representado no gráfico 4.



**Gráfico 4** – Distribuição da amostra em relação ao género

### 3.1.4- Peso vivo dos doentes

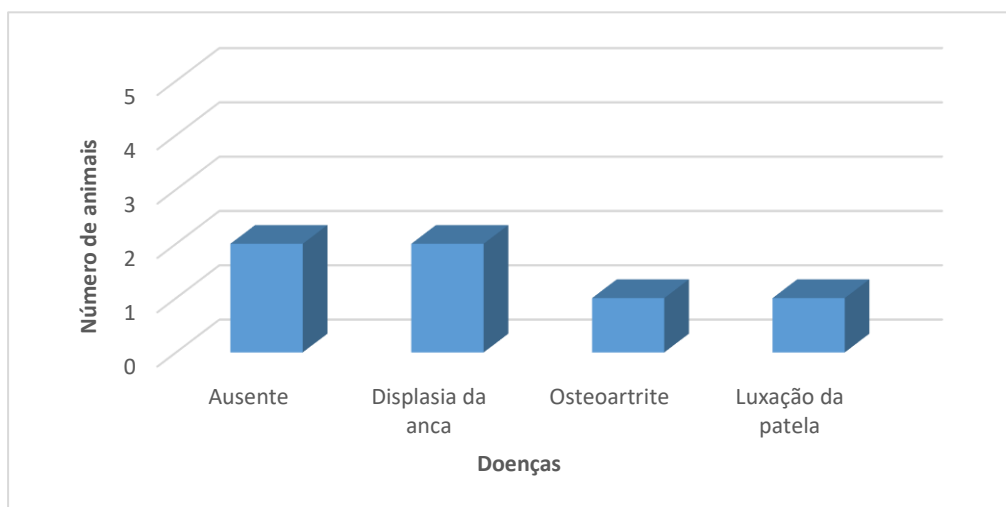
Em relação ao peso vivo, a amostra encontra-se entre os 22kg e os 42 kg (gráfico 5), verificando-se uma média de aproximadamente 34 kg.



**Gráfico 5** - Distribuição da amostra em relação ao peso vivo

### 3.1.5- Doenças concomitantes

Quanto à presença de doenças concomitantes, dois doentes (40%) não apresentavam diagnóstico de doenças concomitantes, um doente (20%) apresentava luxação da patela e dois (40%) foram diagnosticados com displasia da anca, um dos quais apresentava também osteoartrite (gráfico 6).

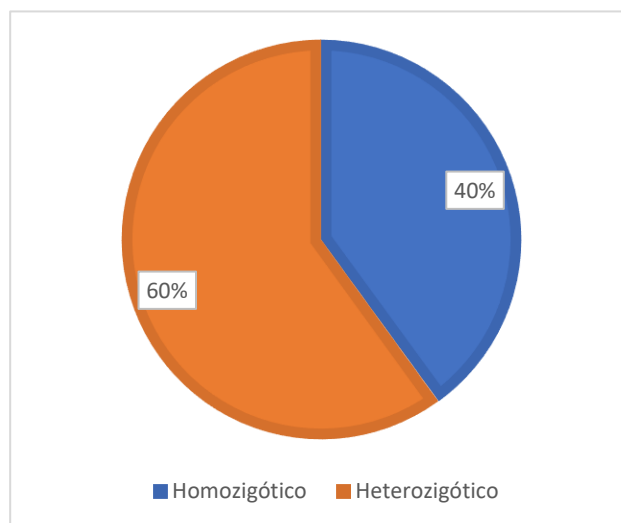


**Gráfico 6**- Distribuição da amostra em relação à presença de doenças concomitantes

### 3.1.6- Teste genético

Relativamente aos resultados do teste genético, três dos doentes (60%) eram heterozigóticos para a mutação SOD1 (A/G), enquanto os outros dois doentes (40%) eram homozigóticos (A/A), tal como representado no gráfico 7.

Verificou-se que os doentes heterozigóticos (A/G) para a mutação SOD1:c.118 correspondiam aos doentes do género masculino, enquanto os doentes homozigóticos para a mutação (A/A) correspondiam aos doentes do género feminino.



**Gráfico 7** - Distribuição da amostra em relação ao resultado do teste genético

### 3.2- Descrição da evolução clínica

As classificações quanto ao grau neurológico, segundo a EFM e a EMCA, assim como as avaliações dos reflexos espinhais periféricos, o tónus muscular e a atrofia muscular, foram avaliadas e registadas à entrada e à saída do centro e apresentam-se descritas na tabela 11. Estes foram analisados numa avaliação inicial, à entrada dos animais no centro de reabilitação, e após o protocolo de NRF-MD, ao fim de 1 mês.

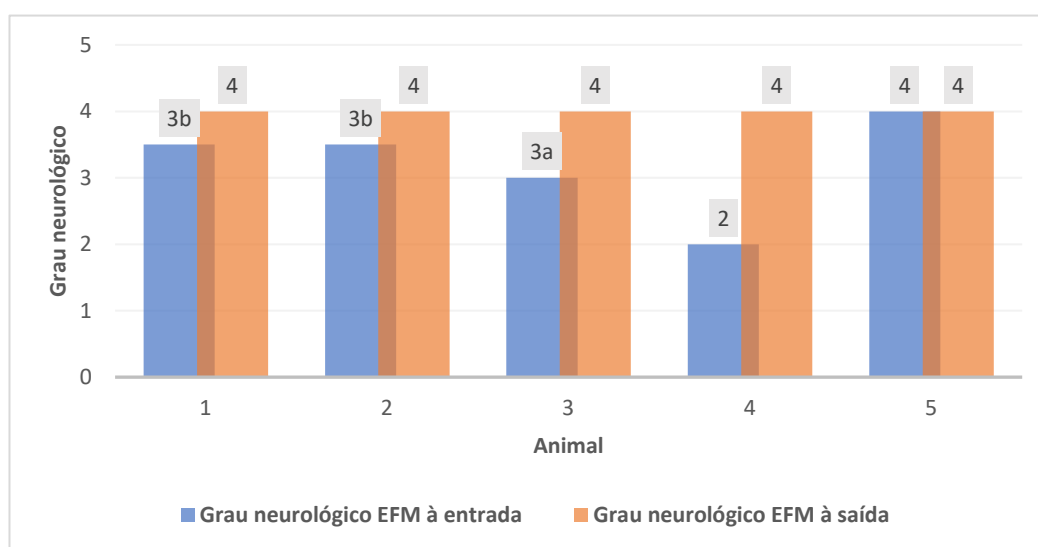
**Tabela 11** - Resumo da evolução clínica dos animais do estudo

Animal	A1	A2	A3	A4	A5
<b>Grau neurológico EFM à entrada</b>	3b	3b	3a	2	4
<b>Grau neurológico EFM à saída</b>	4	4	4	4	4
<b>Grau neurológico EMCA à entrada</b>	Estágio 2/ nível 4	Estágio 2/ nível 4	Estágio 2/ nível 5	Estágio 1/ nível 2	Estágio 4/ nível 9
<b>Grau neurológico EMCA à saída</b>	Estágio 3/ nível 8	Estágio 3/ nível 8	Estágio 4/ nível 9	Estágio 3/ nível 7	Estágio 4/ nível 11
<b>REP flexor à entrada</b>	Diminuído	Ausente	Diminuído	Ausente	Diminuído
<b>REP flexor à saída</b>	Normal/ aumentado	Normal/ aumentado	Normal/ aumentado	Normal/ aumentado	Normal/ aumentado

<b>REP patelar à entrada</b>	Normal	Normal	Normal	Diminuído	Normal
<b>REP patelar à saída</b>	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
<b>REP cutâneo tronco à entrada</b>	Normal	Diminuído	Diminuído	Ausente	Normal
<b>REP cutâneo tronco à saída</b>	Normal	Normal	Normal	Diminuído	Normal
<b>REP bulbo-cavernoso à entrada</b>	Ausente	Ausente	Diminuído	Ausente	Diminuído
<b>REP bulbo-cavernoso à saída</b>	Diminuído	Diminuído	Normal	Normal	Normal
<b>REP extensor cruzado à entrada</b>	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Presente
<b>REP extensor cruzado à saída</b>	Ausente	Presente	Presente	Presente	Presente
<b>REP babinski à entrada</b>	Ausente	Ausente	Presente	Ausente	Presente
<b>REP babinski à saída</b>	Ausente	Ausente	Presente	Ausente	Presente
<b>Tónus muscular à entrada</b>	Normal extensores	Normal extensores	Normal extensores	Hipotónicos extensores	Normal extensores
	Hipotónicos flexores	Hipotónicos flexores	Hipotónicos flexores	Hipotónicos flexores	Hipotónicos flexores
<b>Tónus muscular à saída</b>	Normal extensores	Normal extensores	Normal extensores	Normal extensores	Normal extensores
	Diminuídos flexores	Diminuídos flexores	Diminuídos flexores	Diminuídos flexores	Diminuídos flexores
<b>Atrofia muscular à entrada</b>	Grave	Grave	Grave	Grave	Grave
<b>Atrofia muscular à saída</b>	Ligeira	Ligeira	Ligeira	Moderada	Ligeira

### 3.2.1- Grau neurológico segundo a escala de Frankel modificada

Na avaliação do grau neurológico dos doentes segundo a EFM, esta variável é diversificada à entrada dos doentes no centro, com 20% dos doentes com um grau 2, 20% com grau 3a, 40% com grau 3b e 20% com grau 4. À saída, 100% dos doentes apresentava um grau neurológico 4, tendo 80% da amostra apresentado melhorias quanto ao grau neurológico, em comparação com a avaliação inicial (gráfico 8).



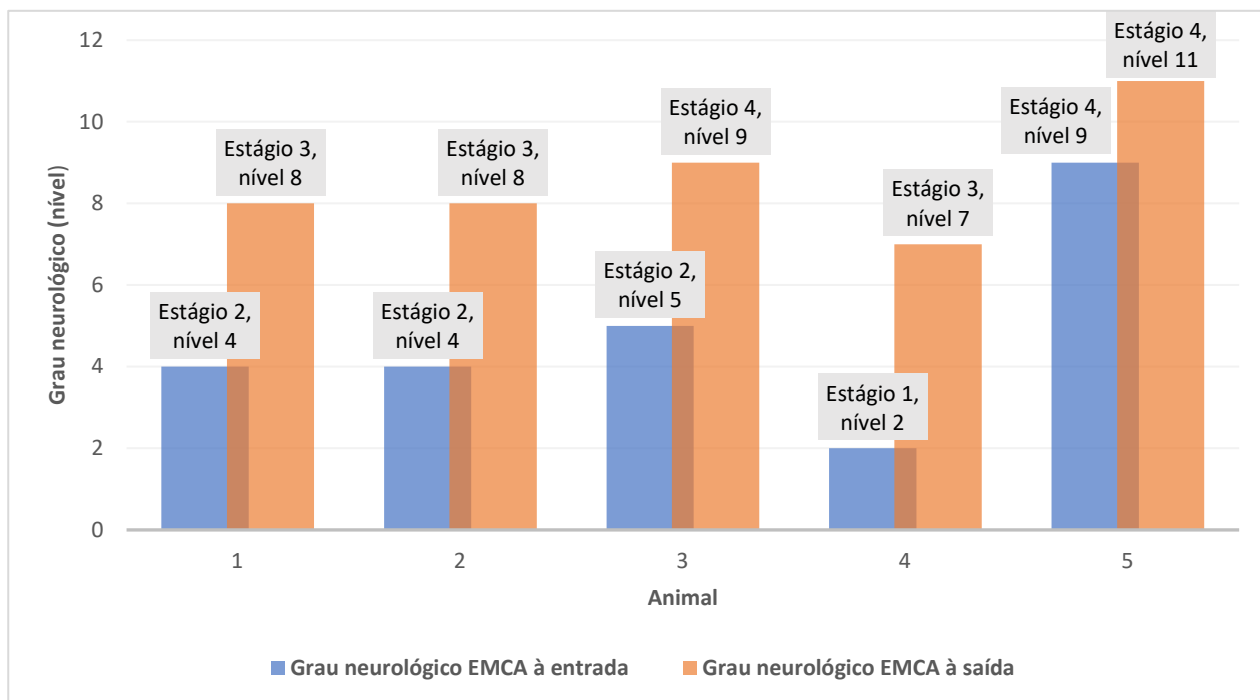
**Gráfico 8** – Distribuição da amostra em relação ao grau neurológico segundo a EFM

### 3.2.2- Grau neurológico segundo a escala de marcha em campo aberto

Relativamente à avaliação do grau neurológico dos doentes segundo a EMCA, à entrada 20% dos doentes encontravam-se no estágio 1/nível 2, 40% no estágio 2/nível 4, 20% no estágio 2/nível 5 e 20% no estágio 4/nível 9. À saída, 20% dos doentes encontravam-se no estágio 3/nível 7, 40% no estágio 3/nível 8, 20% no estágio 4/nível 9 e 20% no estágio 4/nível 11 (gráfico 9).

Na avaliação inicial dos doentes, a média do grau neurológico da amostra era de aproximadamente nível 5, enquanto à saída o grau neurológico evoluiu para uma média de aproximadamente nível 9.

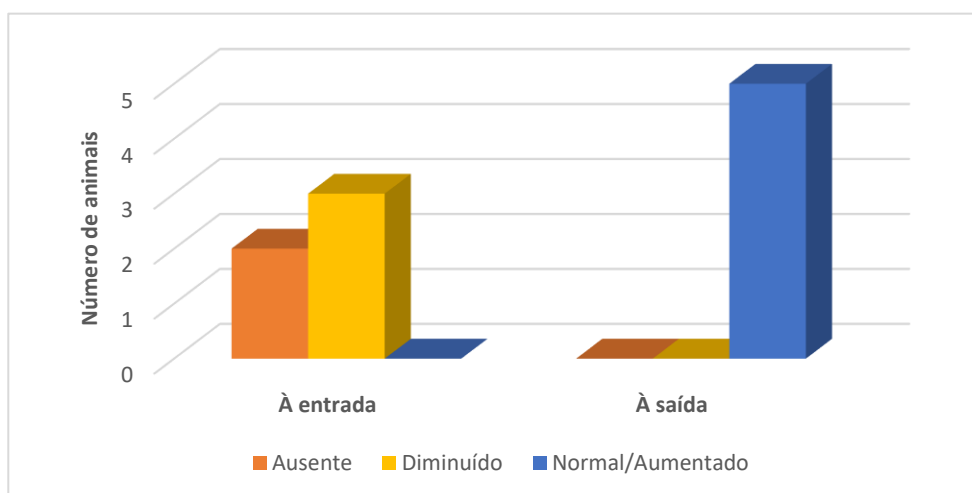
Na avaliação final, após a aplicação do PNRF-MD, observou-se que 100% dos doentes apresentavam uma melhoria do grau neurológico, segundo a EMCA.



**Gráfico 9** – Distribuição da amostra em relação ao grau neurológico segundo a EMCA

### 3.2.3- Reflexo espinhal periférico flexor

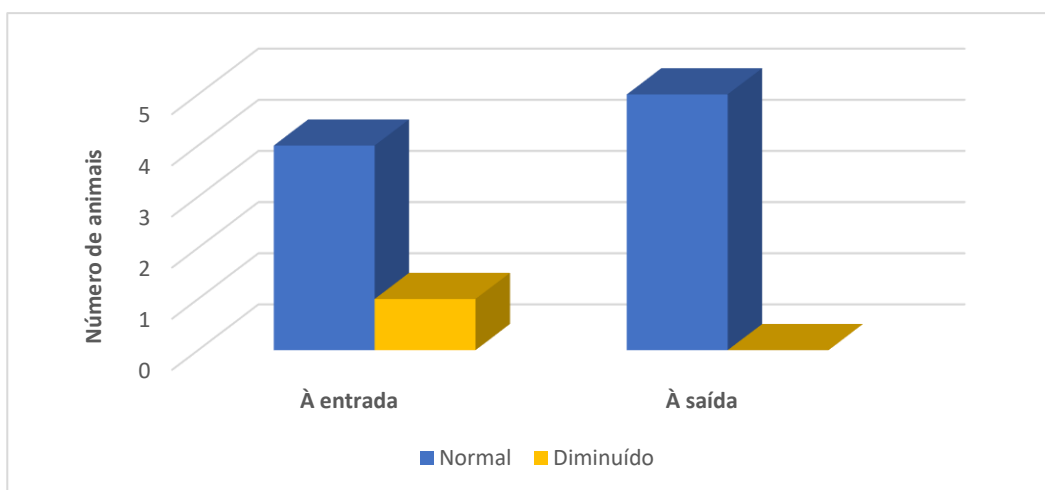
À entrada no centro, 40% dos doentes apresentavam o REP flexor ausente, enquanto os outros 60% apresentavam o REP flexor diminuído. À saída, 100% dos doentes tinham recuperado o REP flexor, encontrando-se este normal/aumentado (gráfico 10).



**Gráfico 10** – Distribuição da amostra em relação ao REP flexor

### 3.2.4- Reflexo espinhal periférico patelar

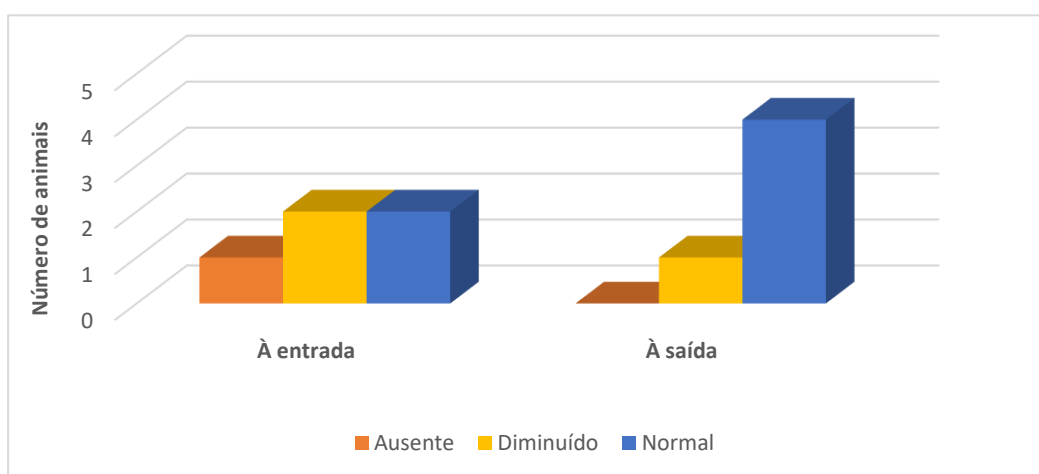
À entrada no centro, 80% dos doentes apresentava o REP patelar normal, enquanto nos restantes 20% o REP patelar estava diminuído. À saída, o REP patelar encontrava-se normal na totalidade da amostra (100%), tal como representado no gráfico 11.



**Gráfico 11** – Distribuição da amostra em relação REP patelar

### 3.2.5- Reflexo espinhal periférico cutâneo do tronco

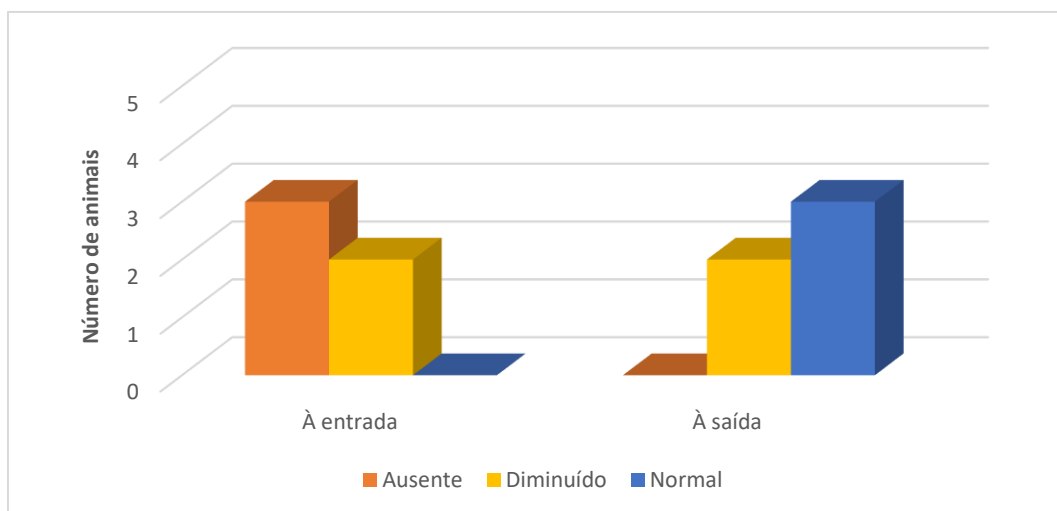
Na avaliação inicial, 20% dos doentes apresentava o REP cutâneo do tronco ausente, em 40% dos doentes estava diminuído e nos restantes 40% apresentava-se normal. Na avaliação final, o REP cutâneo do tronco estava presente em todos os doentes, estando diminuído em 20% da amostra e normal nos outros 80%, tal como representado no gráfico 12.



**Gráfico 12** – Distribuição da amostra em relação ao REP cutâneo do tronco

### 3.2.6- Reflexo espinal periférico bulbo-cavernoso

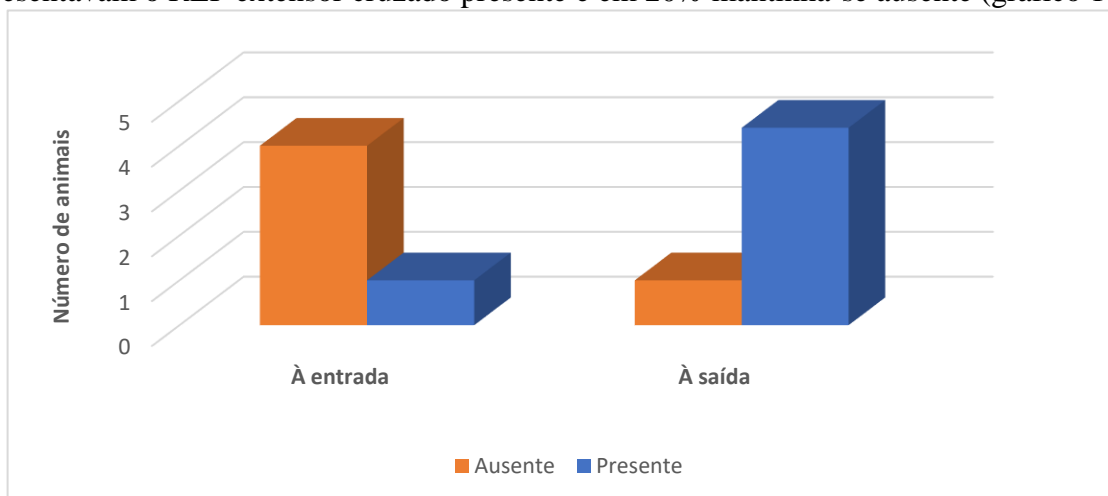
À entrada do centro, observou-se a ausência do REP bulbo-cavernoso em 60% dos doentes, enquanto nos restantes 40% este reflexo encontrava-se diminuído. À saída, 100% dos doentes tinha recuperado o REP bulbo-cavernoso, estando diminuído em 40% da amostra e normal em 60%, tal como representado na figura 13.



**Gráfico 13** – Distribuição da amostra em relação REP bulbo-cavernoso

### 3.2.7- Reflexo espinal periférico extensor cruzado

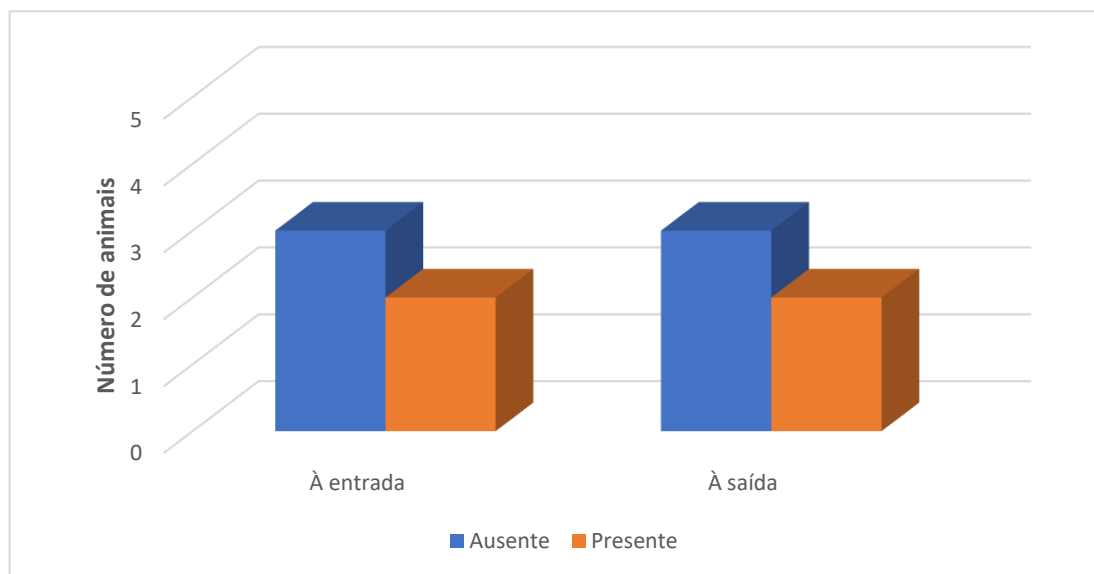
Na avaliação inicial, 80% dos doentes apresentavam o REP extensor cruzado ausente, enquanto nos restantes 20% este reflexo encontrava-se presente. À saída, 80% dos doentes apresentavam o REP extensor cruzado presente e em 20% mantinha-se ausente (gráfico 14).



**Gráfico 14**- Distribuição da amostra em relação ao REP extensor cruzado

### 3.2.8- Reflexo espinhal periférico de babinski

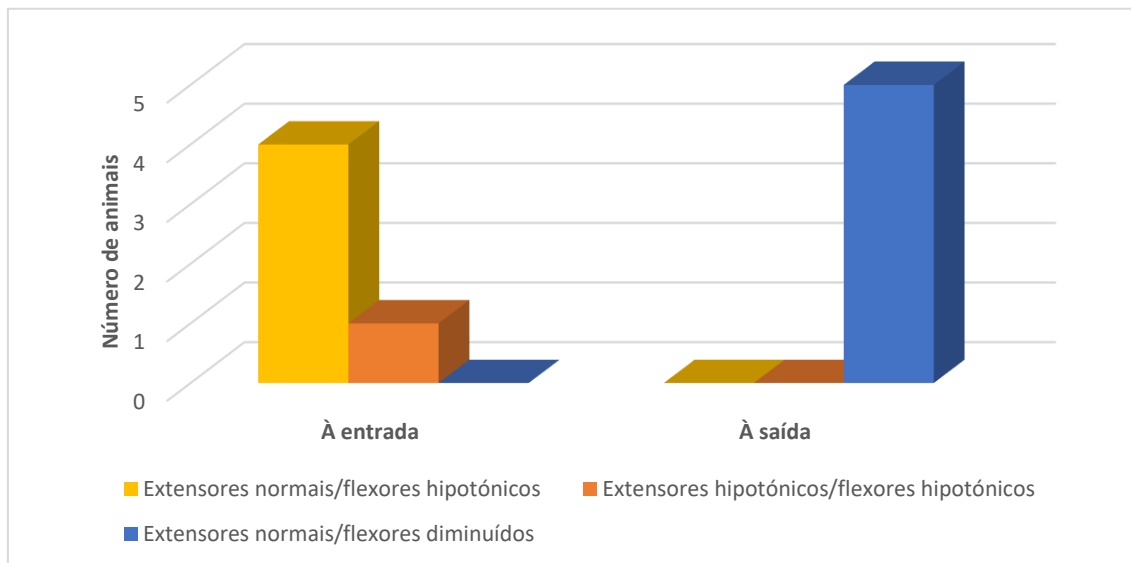
Na avaliação inicial do REP de babinski, este encontrava-se ausente em 60% dos doentes, enquanto nos restantes 40 % observou-se estar presente. Na avaliação final, verificou-se que este reflexo não sofreu alterações em 100% da amostra (gráfico 15).



*Gráfico 15* – Distribuição da amostra quanto ao REP de babinski

### 3.2.9- Tônus muscular

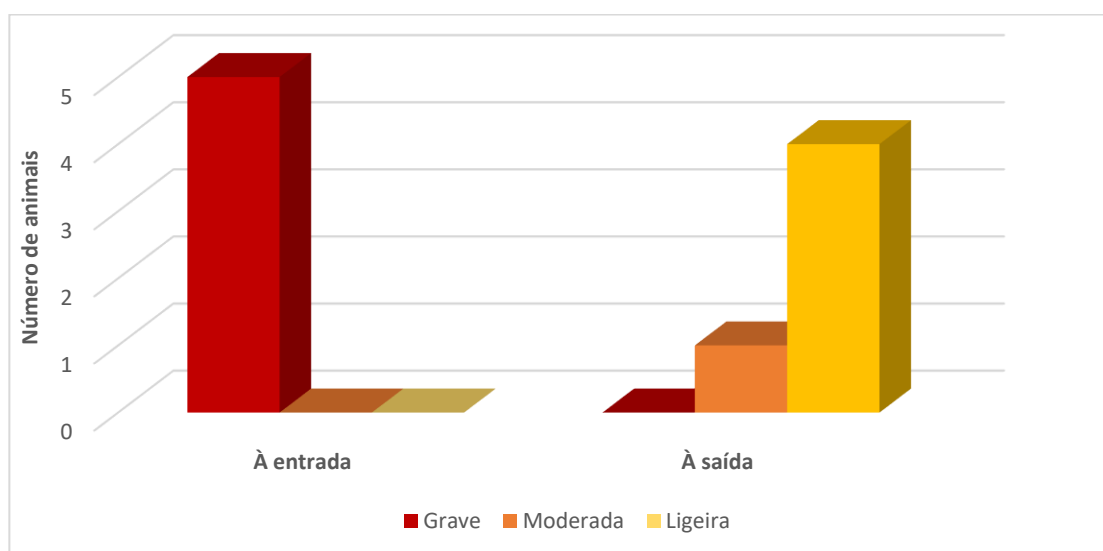
Quanto à avaliação do tônus muscular dos membros pélvicos, à entrada do centro quatro dos doentes (80%) apresentavam um tônus muscular normal nos músculos extensores e os flexores hipotónicos, enquanto um doente (20%) apresentava ambos os músculos extensores e flexores hipotónicos. À saída do centro, todos os doentes (100%) apresentavam os músculos extensores com um tônus normal e os músculos flexores apenas com um tônus diminuído (figura 16).



**Gráfico 16-** Distribuição da amostra em relação ao tónus muscular

### 3.2.10- Atrofia muscular

Em relação à atrofia muscular, na avaliação inicial observou-se uma atrofia grave em 100% dos doentes. Na avaliação final, à saída do centro, observou-se uma atrofia moderada em um doente (20%), enquanto os restantes quatro (80%) apresentavam uma atrofia ligeira, tal como representado na figura 17.



**Gráfico 17-** Distribuição da amostra em relação à atrofia muscular

#### 4- DISCUSSÃO DE RESULTADOS

O presente estudo clínico preliminar foi realizado em cinco cães com diagnóstico de MD por exclusão. Considera-se a MD uma doença neurodegenerativa que, quanto ao tratamento, existem poucos estudos que descrevam pragmaticamente o que realizar, sob o ponto de vista científico, de modo a promover a recuperação dos défices neurológicos necessários para o doente efetuar as tarefas diárias de forma funcional.

Em relação à predisposição racial da amostra obtida, o estudo está de acordo com Averill (1973), Coates *et al.* (2007) e Awano *et al.* (2009), que referem existir uma predisposição racial da raça Pastor Alemão, uma vez que esta apresenta uma prevalência de 60%.

Em relação à idade, existe uma concordância com os estudos de Johnston *et al.* (2000), que refere idades de apresentação dos sinais clínicos de MD entre os 7 e os 12 anos, e Kathmann *et al.* (2006), com uma amostra com uma média de 9,1 anos de idade.

Nas categorias género e peso, embora a amostra seja reduzida, verificou-se uma linha orientativa que aponta para uma inexistência de predisposição de género e, quanto ao peso vivo, observou-se uma maior incidência em cães de grande porte, seguindo-se os cães de porte médio, assim como descrito por Coates *et al.*, 2007.

Na amostra populacional de cinco cães, 60 % revelaram presença de doenças músculo-esqueléticas concomitantes, justificando-se pelo facto de a idade média dos cães em estudo ser de idade geriátrica. Este dado clínico é importante, sendo limitativo, juntamente com a degenerescência neural inerente à MD, para o bem-estar e funcionalidade dos doentes. Deste modo, encontra-se em sinergia com Coates & Wininger (2010) e Lorenz *et al.* (2011c), referindo ainda que a presença de doenças concomitantes pode ser uma causa limitante de um diagnóstico precoce.

Segundo o teste genético, a amostra populacional apresentou 60 % de animais heterozigóticos para a mutação, contrastando com 40 % de homozigóticos afetados. A inclusão no estudo de doentes heterozigóticos para a mutação é justificável pela informação de que estes doentes são portadores da mutação, podendo desenvolver a doença e transmitir a mutação à descendência embora, relativamente aos homozigóticos afetados, estes são um grupo populacional de menor risco, como refere Zeng *et al.* (2014).

Com este estudo clínico preliminar pretendeu-se entender qual a possível evolução clínica dos doentes após a realização de um PNRF-MD, bem como a capacidade de reorgani-

zação neural por parte do SNC após elaboração de diretrizes da medicina de neurologia restaurativa. Assim sendo, observou-se, quanto ao grau neurológico segundo a EFM, que doentes que à entrada se apresentavam paraplégicos ou paraparésicos não ambulatoriais, após a realização do PNRF-MD se encontravam num estado funcional de paraparésia ambulatória/ataxia em 100% dos casos. Tal sugere a presença de plasticidade neural necessária para a recuperação significativa da funcionalidade, como designa Grasso *et al.* (2004), Azari *et al.* (2005), Bosnell *et al.* (2011) e Nudo (2012).

No sentido de compreender as diferenças quanto ao movimento voluntário e, inerentemente, à atividade autónoma articular ativa (AAAA), todos os doentes foram avaliados segundo a EMCA. Desta forma, 20% dos doentes entraram sem AAAAA em nenhuma articulação (estágio 1/nível 2), 40% com AAAAA residual (estágio 2/nível 4), 20% com AAAAA em mais de 50% do tempo de avaliação de marcha (estágio 2/nível 5) e 20% com marcha normal com 90% de fraqueza nos membros pélvicos e presença de erros proprioceptivos (estágio 4/nível 9). Tal contrasta com a saída, na qual 20% da população apresentou AAAAA presente em todas as articulações, representando uma marcha normal, embora a sustentação do peso corporal fosse rudimentar (estágio 3/nível 7), 40% apresentou-se idêntico mas com espaço temporal de sustentação do peso corporal em 50% do tempo (estágio 3/nível 8), 20% com marcha e sustentação de peso corporal normal com fraqueza e défices proprioceptivos e de coordenação intra-membros grave (estágio 4/nível 9) e 20% com marcha e sustentação do peso corporal normal embora com alguma fraqueza relativamente aos membros pélvicos, bem como presença de erros proprioceptivos ligeiros (estágio 4/nível 11).

Pelos conceitos da neurociência, a marcha é um sinónimo de padrão locomotor de flexão e extensão de forma coordenada, ou seja, depende intrinsecamente da atividade dos GPC, responsáveis pelos padrões de movimento. Logo, no estudo em questão, sugere-se uma evidência para a estimulação dos circuitos intrínsecos excitatórios e inibitórios da medula espinhal, dependente de uma estimulação através do exercício físico, uma vez que todos os doentes evoluíram positivamente segundo a EMCA. Esta progressão evolutiva está de acordo com Wolpaw & Tennissen (2001) e Gjelsvik (2007).

Na observação da evolução clínica dos doentes verificou-se que, quanto ao reflexo periférico flexor existiu uma evolução positiva relativamente à sua presença na totalidade da amostra. A recuperação do reflexo flexor é acompanhada pela presença do reflexo extensor cruzado. Esta presença é essencial para o aparecimento do padrão locomotor flexão/extensão, sendo este primordial na obtenção da marcha. Como tal, a reeducação dos circuitos neurais e a

potenciação de novas conexões terão que ser obtidas para atingir o padrão locomotor referido (Campbell & Huntingford, 2016 e Fu *et al.*, 2016).

Surge, desta forma, a importância do treino locomotor, prescrito de forma intensiva, de modo a produzir fatores de crescimento do sistema nervoso, tais como o BDNF e, ainda, estimular o aparecimento de mecanismos anti-inflamatórios essenciais para regular os défices imunológicos presentes nas doenças neurodegenerativas como a MD (White & Castellano, 2008; Coté *et al.*, 2011; Keller *et al.*, 2012). Este poder de reorganização de plasticidade neural é ainda evidente no estudo pela recuperação, à saída, do reflexo espinhal periférico do tronco cutâneo e do reflexo espinhal periférico bulbo-cavernoso.

Na MD existem alterações histopatológicas a nível da medula espinhal, nervos e músculos semelhantes às observadas na ELA, sendo estas caracterizadas por um conjunto de alterações de deservação e desmielinização resultante numa atrofia muscular, fibrose e alteração estrutural no tipo de fibras musculares (Shelton *et al.*, 2012; Morgan *et al.*, 2013). A existência destas modificações histopatológicas explica a hipotonicidade, em 100% da amostra populacional, do grupo muscular flexor dos doentes à entrada no estudo. Do mesmo modo, e com relação direta, justifica-se a presença de atrofia muscular à entrada.

A capacidade de regeneração axonal, através do papel dos oligodendrócitos e da regulação da agregação dos astrócitos, é promovida pelo treino locomotor (Li *et al.*, 2005; Gómez-Pinilla *et al.*, 2007), o que explica a recuperação do tónus e atrofia muscular, por parte dos doentes, após um mês de PNRF-MD intensivo. Adicionalmente, as contrações musculares promovidas pela EEF, capazes de induzir alterações na estrutura intrínseca do músculo, estimulam igualmente o fortalecimento muscular (Gordon & Mao, 1994).

O estudo clínico preliminar, na sua base neurofisiológica, encontra-se de acordo com Côté *et al.* (2011), Rossignol & Frigon (2011), Keller *et al.*, (2012), Thompson & Wolpaw (2012), Lavrov *et al.*, (2015), Martins (2015a) e Martins (2015b), pois permitiu que doentes com MD com sinais clínicos mistos quanto aos dois sistemas motores, ou seja, não funcionais, após o PNRF-MD atinjam uma evolução positiva num curto espaço de tempo, no sentido de resolução quase total dos défices motores de locomoção, permitindo uma observação final de sinais clínicos únicos de NMS. Com isto, sugere-se que o PNRF-MD permitiu não só um atraso na progressão da doença como um retrocesso da sua evolução.

O estudo tem como primeira limitação a reduzida dimensão da amostra populacional. Para além disso, apesar de um exame geral semanal, não existiram consultas de NRF de seguimento, de forma a melhor entender como se efetuou o processo de reorganização neural e memorização da medula espinhal durante o tratamento.

Portanto, sugere-se a continuação do estudo com uma maior dimensão da amostra e, ainda, segundo o ponto de vista neurofisiológico em relação às doenças neurodegenerativas da medicina humana, uma abordagem integrativa entre PNRF-MD e medicina regenerativa, como sugerido por Ciervo *et al.* (2017), que confere às MSCs um papel primordial quanto à indução de mitoses celulares e à neuroprotecção, promovendo a sinaptogénese e neurogénese.

## 5- CONCLUSÃO

O estudo das doenças neurodegenerativas é de elevada importância na sociedade moderna, preocupando a comunidade médico-científica pelo seu carácter debilitante e progressivo. Assim, atrasar a sua progressão com a permanência de um estado fisiológico motor locomotivo funcional é o objetivo da ciência do século XXI. Doenças da medicina humana, como a EM e a ELA, exigem protocolos multidisciplinares intensivos, rigorosos e sincronizados, de modo estimular uma reorganização de plasticidade neural, com o objetivo de obter automaticidade e função de independência.

Assim sendo, este estudo clínico preliminar transpõe o referido para a MD dos cães, concluindo-se que um protocolo de neuroreabilitação funcional intensivo com as características anteriormente abordadas, tem a capacidade de reverter os défices motores quase na sua totalidade, consequentemente presentes devido a uma desmielinização neural, representados por sinais clínicos de NMI e indicativos de uma progressão da própria MD. Este apresenta ainda evidências de plasticidade dos feixes espinotalâmicos, espinocerebelares e proprioespinais com a presença de coordenação motora e redução de erros de equilíbrio postural.

Em conclusão, o PNRF-MD intensivo deve ser considerado uma opção terapêutica fundamental para doentes com MD, de modo a permitir uma obtenção de bem-estar e de qualidade de vida.

## 6- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aaslund, M. K., Helbostad, J. L., Moe-Nilssen, R. (2013). Walking during body-weight-supported treadmill training and acute responses to varying walking speed and body-weight support in ambulatory patients' post-stroke. *Physiother Theory Pract*, 29(4): 1–12.

Andersen, P.M., Abrahams, S., Borasio, G.D., de Carvalho, M., Chio, A., Van Damme, P., *et al.* (2012). EFNS guidelines on the Clinical management of Amyotrophic Lateral Sclerosis (MALS) – revised report of an EFNS task force. *Eur J Neurol*, 19:360-75.

Andersen, P. M., & Al-Chalabi, A. (2011). Clinical genetics of amyotrophic lateral sclerosis: what do we really know? *Nat Rev Neurol*, 7: 603–615.

Armutlu, K., Meriç, A., Kirdi N., Yakut, E., Karabudak, R. (2003). The effect of transcutaneous electrical nerve stimulation on spasticity in multiple sclerosis patients: a pilot study. *J Neurol Rehabil*, 17:79–82.

Averill, D.R. (1973). Degenerative myelopathy in the aging German Shepherd dog: Clinical and pathologic findings. *J Am Vet Med Assoc*, 162:1045–1051.

Awano, T., Johnson, G. S., Wade, C. M., Katz, M. L., Johnson, G. C., Taylor, J. F. *et al.* (2009). Genome-wide association analysis reveals a SOD1 mutation in canine degenerative myelopathy that resembles amyotrophic lateral sclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 106: 2794-2799.

Baek, W., Kim, Y.S., Koh, S.H., Lim, S.W., Kim, H.Y, Yi, H.J, Kim, H., *et al.* (2012). Stem cell transplantation into the intraventricular space via an Ommaya reservoir in a patient with amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurosurg Sci*, 56:261–263.

Barbeau, H. (2003). Locomotor training in neurorehabilitation: emerging rehabilitation concepts. *Neurorehabil Neural Repair*, 17(1):3-11.

Barbeau, H. & Visintin, M. (2003). Optimal outcomes obtained with body-weight support combined with treadmill training in stroke subjects. *Arch Phys Med Rehabil*, 84(10):1458–1465.

Beer S., Khan F., Kesselring J. (2012). Rehabilitation interventions in multiple sclerosis: An overview. *J Neurol*, 259:1994- 2008.

Behan, M. (2006). Organização do Sistema Nervoso. In H. H. Dukes & W.O. Reece (Eds.), *Dukes Fisiologia dos Animais Domésticos* (13ª Ed., pp. 705-716). Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.

Bichsel, P., Vandeveld, M., Lang, J., Kull-Hächler, S. (1983). Degenerative myelopathy in a family of Siberian husky dogs. *J Am Vet Med Assoc*, 183(9):998-1000.

Blanquer, M., Moraleda, J.M., Iniesta, F., Gómez-Espuch, J., Meca-Lallana, J., Villaverde, R., *et al.* (2012). Neurotrophic bone marrow cellular nests prevent spinal motoneuron degeneration in amyotrophic lateral sclerosis patients: a pilot safety study. *Stem cells* (Dayton, Ohio), 30:1277–1285.

Bohannon, R.W. & Smith, M.B. (1987). Interrater reliability of a modified Ashworth scale of muscle spasticity. *Phys Ther*, 67(2):206-207.

Boido, M., Garbossa, D., Fontanella, M., Ducati, A., Vercelli, A. (2014). Mesenchymal stem cell transplantation reduces glial cyst and improves functional outcome after spinal cord compression. *World Neurosurg*, 81: 183-190.

Boido, M., Piras, A., Valsecchi, V., Spigolon, G., Mareschi, K., Ferrero, I., *et al.* (2014). Human mesenchymal stromal cell transplantation modulates neuroinflammatory milieu in a mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *Cytotherapy*, 16(8):1059–1072.

Boillée, S., Vande Velde C., Cleveland, D.W. (2006). ALS: a disease of motor neurons and their nonneuronal neighbors. *Neuron*, 52: 39–59.

Bosnell, R.A., Kincses, T., Stagg, C.J., Tomassini, V., Kischka, U., Jbabdi, S., *et al.* (2011). Motor practice promotes increased activity in brain regions structurally disconnected after subcortical stroke. *Neurorehabil and neural repair*, 25:607–616.

Bonafede, R., & Mariotti, R. (2017). ALS Pathogenesis and Therapeutic Approaches: The Role of Mesenchymal Stem Cells and Extracellular Vesicles. *Front Cell Neurosci*, 11: 80.

Boucherie, C., Schafer, S., Lavand'homme, P., Maloteaux, J.M., Hermans, E. (2009). Chimerization of astroglial population in the lumbar spinal cord after mesenchymal stem cell transplantation prolongs survival in a rat model of amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurosci Res*, 87(9):2034–2046.

Boylan, K.B, Glass, J.D., Crook, J.E., Yang, C., Thomas, C.S., Desaro, P. *et al* (2013). Phosphorylated neurofilament heavy subunit (pNF-H) in peripheral blood and CSF as a potential prognostic biomarker in amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 84:467–472

Bruijn, L. I., Houseweart, M. K., Kato, S., Anderson, K. L., Anderson, S. D., Ohama, E., *et al.* (1998). Aggregation and motor neuron toxicity of an ALS-linked SOD1 mutant independent from wild-type SOD1. *Science*, 281: 1851-1854.

Braud, K.G. (1987). Hip dysplasia and degenerative myelopathy: making the distinction in dogs. *Vet Med*, 82:782-789.

Braund, K.G. & Vandeveld, M. (1978). German Shepherd dog myelopathy-a morphologic and morphometric study. *Am J Vet Res*, 39(8):1309-1315.

Campbell, M.F. & Huntingford, J.L. (2016). Nursing Care and Rehabilitation Therapy for Patients with Neurologic Disease. In C.W. Dewey & R.C. Costa (Eds.), *Practical Guide to Canine and Feline Neurology* (3<sup>a</sup> Ed., pp. 571-581). Iowa: Wiley Blackwell

Capaday, C. (2002) The special nature of human walking and its neural control. *Trends Neurosci*, 25(7):370-376.

Cashman, N., Tan, L.Y., Krieger, C., Madler, B., Mackay, A. Mackenzie, I., *et al.* (2008). Pilot study of granulocyte colony stimulating factor (GCSF)-mobilized peripheral blood stem cells in amyotrophic lateral sclerosis (ALS). *Muscle Nerve*, 37:620–625.

Caulkins, S.E., Purinton, P.T., Oliver, J.E. (1989). Arterial supply to the spinal cord of dogs and cats. *Am J Vet Res*, 50(3):425-430.

Chan-Il, C., Young-Don, L., Heejaung, K., Kim, S.H., Suh-Kim, H., Kim, S.S. (2013). Neural induction with neurogenin 1 enhances the therapeutic potential of mesenchymal stem cells in an amyotrophic lateral sclerosis mouse model. *Cell Transplant*, 22(5):855–870.

Cherubini, G.B., Lowrie, M., Anderson, T.J. (2008). Pelvic limb ataxia in the older dog 1. Assessment and non-painful conditions. *In practice*, 30: 384-391.

Chio, A., Mora, G., La Bella, V., Caponnetto, C., Mancardi, G., Sabatelli, M. *et al.* (2011). Repeated courses of granulocyte colony-stimulating factor in amyotrophic lateral sclerosis: clinical and biological results from a prospective multicenter study. *Muscle Nerve*, 43:189–195.

Ciervo, Y., Ning, K., Jun, X., Shaw, P.J., Mead, R.J. (2017). Advances, challenges and future directions for stem cell therapy in amyotrophic lateral sclerosis. *Mol Neurodegener*, 12(1):85.

Clemmons, R.M. (1992). Degenerative myelopathy. *Vet. Clin. North Am. Small Anim Pract*, 22:965-971.

Cleveland, D.W. & Rothstein, J.D. (2001). From Charcot to Lou Gehrig: deciphering selective motor neuron death in ALS. *Nat Rev Neurosci*, 2: 806–819.

Coates, J.R., March, P.A., Oglesbee, M., Ruaux, C.G., Olby, N.J., Berghaus, R.D. *et al.* (2007) Clinical characterization of a familial degenerative myelopathy in Pembroke Welsh Corgi dogs. *J Vet Intern Med*, 21:1323–1331.

Coates, J.R. & Wininger, F.A. (2010). Canine degenerative myelopathy. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 40:929–950.

Cote, M.P., Azzam, G.A., Lemay, M.A., Zhukareva., Houle, J.D. (2011). Activity-dependent increase in neurotrophic factors is associated with an enhanced modulation of spinal reflexes after spinal cord injury. *J Neurotrauma*, 28: 299-309.

Correia de Sá, J.C., Airas L., Bartholome E., Grigoriadis N., Mattle H., Oreja-Guevara C., *et al.* (2011). Symptomatic therapy in multiple sclerosis: A review for a multimodal approach in clinical practice. *Ther Adv Neurol Disord*, 4(3):139-168.

Crisp, M.J., Beckett, J., Coates, J.R., Miller, T.M. (2013). Canine degenerative myelopathy: biochemical characterization of superoxide dismutase 1 in the first naturally occurring non-human amyotrophic lateral sclerosis model. *Exp Neurol*, 248:1–9.

da Costa, R. & Moore, S. (2010). Differential Diagnosis of Spinal Diseases. *Vet Clin Small Anim*, 40: 755–763.

Daly, J.J. & Ruff, R.L. (2004). Feasibility of combining multichannel functional neuromuscular stimulation with weight-supported treadmill training. *J Neurol Sci*, 225(1-2): 105-115.

Deda, H., Inci, M.C., Kurekci, A.E., Sav, A., Kayihan, K., Ozgun, E., *et al.* (2009). Treatment of amyotrophic lateral sclerosis patients by autologous bone marrow-derived hematopoietic stem cell transplantation: a 1-year follow-up. *Cytotherapy*, 11:18–25.

de Lahunta, A., Glass, E., Kent, M (2015a). Upper Motor Neuron. In *Veterinary Neuroanatomy and Clinical Neurology* (4<sup>a</sup> Ed., pp. 222-236). St. Louis, Missouri: Elsevier.

de Lahunta, A., Glass, E., Kent, M. (2015b). General Sensory Systems: General Proprioception and General Somatic Afferent. In *Veterinary Neuroanatomy and Clinical Neurology* (4<sup>a</sup> Ed., pp. 237-256). St. Louis, Missouri: Elsevier.

de Leon, R. D., Roy, R. R., Edgerton, V. R. (2001). Is the recovery of stepping following spinal cord injury mediated by modifying existing neural pathways or by generating new pathways? A perspective. *Phys Ther*, 81(12): 1904–1911.

Dewey, C.W. (2008). Neuroanatomia Funcional e Não Funcional: a Chave para a Localização da Lesão. In *Neurologia de Cães e Gatos Guia Prático* (3ª Ed., pp.1-18). São Paulo: Roca.

Dietz, V. & Harkema, S.J. (2004). Locomotor activity in spinal cord-injured persons. *J Appl Physiol*, 96:1954-1960.

Doyon, J., & Benali, H. (2005). Reorganization and plasticity in the adult brain during learning of motor skills. *Curr Opin Neurobiol*, 15: 161–167.

Dragone, L. (2015). Rehabilitation of the Neurologic Front Limb. Presented on 4th VEPRO Conference International Conference on Physical Therapy and Rehabilitation of Animals, Gdansk, Poland.

Edgerton, V.R., Leon, R.D., Harkema, S.J., Hodgson, JA., London, N., Reinkensmeyer, D.J., *et al.* (2001). Retraining the injured spinal cord. *J Physiol*, 533:15-22.

Edgerton, V.R. & Roy, R.R. (2002). Paralysis recovery in humans and model systems. *Curr Opin Neurobiol*, 12(6):658-667.

Edwards, S. (2004). Tónus e movimento anormais em resultado de lesão neurológica: considerações para o tratamento. In *Fisioterapia Neurológica* (2ª Ed., pp. 92-102,108-109). Lisboa: Lusociência.

Elbasiouny, S. M., Moroz, D., Bakr, M. M., & Mushahwar, V. K. (2010). Management of Spasticity After Spinal Cord Injury: Current Techniques and Future Directions. *Neurorehabil Neural Repair*, 24(1): 23–33.

Finnerup, N.B., Sørensen, L., Biering-Sørensen, F., Johannesen, I.L., Jensen, T.S. (2007). Segmental hypersensitivity and spinothalamic function in spinal cord injury pain. *Exp Neurol*, 207:139–149.

Forostyak, S., Homola, A., Turnovcova, K., Svitil, P., Jendelova, P., Sykova, E. (2014). Intrathecal delivery of mesenchymal stromal cells protects the structure of altered perineuronal nets in SOD1 rats and amends the course of ALS. *Stem Cells*, 32(12):3163–172.

Fu, J., Wang, H., Deng, L., Li, J. (2016). Exercise training promotes functional recovery after spinal cord injury. *Neural Plast*, 4039580.

Gandolla, M., Ferrante, S., Molteni, F., Guanziroli, E., Frattini, T., Martegani, A., *et al.* (2014). Re-thinking the role of motor cortex: context-sensitive motor outputs? *Neuroimage*, 91:366-374.

Garosi, L. (2004). Lesion localization and differential diagnosis. In S.R. Platt & N.J. Olby (Eds.), *BSAVA Manual of Canine and Feline Neurology* (3<sup>a</sup>Ed., pp.28). Cheltenham: British Small Animal Veterinary Association.

Gervasio, S., Macleod, C., Esteban-Herreros, E., Meng, L. & Tejada, M.C. (2014). Motor Control and Emerging Therapies for Improving Mobility in Patients with Spasticity. In J.L. Pons & D. Torricelli (Eds.), *Emerging Therapies in Neurorehabilitation, Biosystems & Biorobotics 4* (pp. 147-153). Nova Iorque: Springer.

Giesser, B., Beres-Jones, J., Budovitch, A., Herlihy, E. and Harkema, S. (2007) Locomotor training using body weight support on a treadmill improves mobility in persons with MS. *Mult Scler*, 13: 224–231.

Gómez-Pinilla, F., Huie, J.R., Ying Z., *et al.* (2007). BDNF and learning: Evidence that instrumental training promotes learning within the spinal cord by up-regulating BDNF expression. *Neuroscience*, 148(4):893-906.

Gordon, T. & Mao, J. (1994). Muscle atrophy and procedures for training after spinal cord injury. *Phys Ther*, 74:50-60.

Grasso, R., Ivanenko, Y. P., Zago, M., Molinari, M., Scivoletto, G., Castellano, V., *et al.* (2004). Distributed plasticity of locomotor pattern generators in spinal cord injured patients. *Brain*, 127: 1019–1034.

Griffiths, I.R. & Duncan, I.D. (1975). Chronic degenerative radiculomyelopathy in the dog. *J Small Anim Pract*, 16(8):461-471.

Habisch, H.J., Janowski, M., Binder, D., Kuzma-Kozakiewicz, M., Widmann, A., Habich, A., *et al.* (2007). Intrathecal application of neuroectodermally converted stem cells into a mouse model of ALS: limited intraparenchymal migration and survival narrows therapeutic effects. *J Neural Transm* (Vienna), 114(11):1395–1406.

Hahm, S. C., Yoon, Y. W., Kim, J. (2015). High-frequency transcutaneous electrical nerve stimulation alleviates spasticity after spinal contusion by inhibiting activated microglia in rats. *Neurorehabil Neural Repair*, 29: 370–381.

Harkema, S. J., Schmidt, M., Behrman, A.L, Bratta, A., Sisto, S.A., Edgerton, V.R. (2012a). Establishing the neuro recovery network: multisite rehabilitation centers that promote activity - based therapies and assessments for neurologic disorders. *Arch Phys Med Rehab*, 93(9):1498-1507.

Harkema, S. J., Schmidt, M., Lorenz, D.J., Edgerton, V.R., Behrman, A.L. (2012b). Balance and Ambulation Improvements in individuals with chronic-Incomplete Spinal cord Injury using Locomotor training-based rehabilitation. *Arch Phys Med Rehab*, 93(9):1508-1517.

Highley, J.R, Kirby, J., Jansweijer, J.A., Webb, P.S., Hewamadduma, C.A., Heath, P.R., *et al.* (2014). Loss of nuclear TDP-43 in amyotrophic lateral sclerosis (ALS) causes altered expression of splicing machinery and widespread dysregulation of RNA splicing in motor neurones. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 40(6):670–685.

Hofstoetter, U., McKay, W., Tansey, K., Mayr, W., Kern, H., Minassian, K. (2014). Modification of spasticity by transcutaneous spinal cord stimulation in individuals with incomplete spinal cord injury. *J Spinal Cord Med*, 37(2): 202–211.

Holder, A.L., Price, J.A., Adams, J.P., Volk, H.A., Catchpole, B. (2014). 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*, 1(1):10.

Hubli, M., Dietz, V., Bolliger, M. (2012). Spinal Reflex Activity: A Marker for Neuronal Functionality After Spinal Cord Injury. *Neurorehabil Neural Repair*, 26(2): 188–196.

Jakeman, L.B., Hoschouer, E.L., Basso, D.M. (2011). Injured mice at the gym: review, results and considerations for combining chondroitinase and locomotor exercise to enhance recovery after spinal cord injury. *Brain Res Bull*, 84(4-5):317-326.

Jennings, D. (2006). Controle Supra-Espinal da Postura e do Movimento. In W. Reece (Ed.), Dukes: *Fisiologia dos animais domésticos* (12<sup>a</sup> Ed., pp. 842–857). Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.

Jennings, D. & Bailey, J. (2006). Controle Espinal da Postura e do Movimento. In W. O. Reece (Ed.), Dukes: *Fisiologia dos animais domésticos* (12<sup>a</sup> Ed., pp. 831–842). Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.

Johnston, P.E.J. (1998). Chronic degenerative myelopathy: a study of the pathology and pathogenesis (PhD Thesis). University of Glasgow.

Johnston, P.E.J., Barrie, J.A., McCulloch, M.C., Anderson, T.J., Griffiths, I.R. (2000). Central nervous system pathology in 25 dogs with chronic degenerative radiculomyelopathy. *Vet Rec*, 146(22):629-633.

Junqueira, L. C., & Carneiro, J. (2013). Tecido Nervoso. In *Histologia Básica* (12ª Ed, pp. 149–175). Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.

Kamerling, S. (2006). O Sistema Sensorial Somático. In W. Reece (Ed.), *Dukes Fisiologia dos animais domésticos* (12ª Ed., pp.831–842). Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.

Karussis, D., Karageorgiou, C., Vaknin-Dembinsky, A., Gowda-Kurkalli, B., Gomori, J.M., Kassis, I., *et al.* (2010). Safety and immunological effects of mesenchymal stem cell transplantation in patients with multiple sclerosis and amyotrophic lateral sclerosis. *Arch Neurol*, 67:1187–1194.

Kathmann I., Cizinauskas S., Doherr M.G., Steffen, F., Jaggy, A. (2006). Daily controlled physiotherapy increases survival time in dogs with suspected degenerative myelopathy. *J Vet Intern Med*, 20:927-932.

Keeler, B.E., Liu, G., Siegfried, R.N., Zhukareva, V., Murray, M., Houle, J.D. (2012). Acute and prolonged hindlimb exercise elicits different gene expression in motoneurons than sensory neurons after spinal cord injury. *Brain Res*, 1438:8–21.

Kesiktas, N., Paker, N., Erdogan, N., Gulsen, G., Bicki, D., Yilmaz, H. (2004). The use of hydrotherapy for the management of spasticity. *Neurorehabil Neural Repair*, 18(4):268–273.

Khoris, J., Moulard, B., Briolotti, V., Hayer, M., Durieux, A., Clavelou, P., *et al.* (2000). Coexistence of dominant and recessive familial amyotrophic lateral sclerosis with the D90A Cu, Zn superoxide dismutase mutation within the same country. *Eur J Neurol*, 7(2):207–211.

Kim, H., Kim, H.Y., Choi, M.R., Hwang, S., Nam, K.H., Kim, H.C., *et al.* (2010). Dose-dependent efficacy of ALS-human mesenchymal stem cells transplantation into cisterna magna in SOD1-G93A ALS mice. *Neurosci Lett*, 468(3):190–194.

Klein, B. G. (2013). Potenciais de membrana: Geração e Condução dos sinais elétricos nos neurónios. In William O. Reece (Eds.), *Dukes Fisiologia dos Animais Domésticos* (12ª Ed, pp. 717–731). Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.

Klein, B. G., & Cunningham, J. G. (2013). The Neuron. In B. G. Klein (Eds.), *Cunningham's Textbook of Veterinary Physiology* (5ª Ed, pp. 53–60). St. Louis: Elsevier Saunders.

König H., Misek I., Mülling Chr., Seeger J., Liebich H.-G. (2004). Sistema Nervoso Central. In König, H. & Liebich H-G (Eds.), *Anatomia dos Animais Domésticos. Texto e Atlas Colorido* (6ª Ed., pp. 496). Porto Alegre: Artmed.

Kulbatski, I., Mothe, A. J., Keating, A., Hakamata, Y., Kobayashi, E., Tator, C. H. (2007). Oligodendrocytes and radial glia derived from adult rat spinal cord progenitors: morphological and immunocytochemical characterization. *J Histochem Cytochem*, 55(3):209–222.

Lavrov, I., Musienko, P. E., Selionov, V. A., Zdunowski, S., Roy, R. R., Reggie, E. V., Gerasimenko, Y. (2015). Activation of spinal locomotor circuits in the decerebrated cat by spinal epidural and/or intraspinal electrical stimulation. *Brain Res*, 1600: 84–92.

Lee, S. Y., Kang, S. Y., Im, S. H., Kim, B. R., Kim, S. M., Yoon, H. M., & Han, E. Y. (2013). The effects of assisted ergometer training with a functional electrical stimulation on exercise capacity and functional ability in subacute stroke patients. *Ann Rehabil Med*, 37(5): 619-627.

Levine, G.J., Levine, J.M., Budke, C.M., Kerwin, S.C., Au, J., Vinayak, A. Hettlich, B.F., Slater, M.R. (2009). Description and repeatability of a newly developed spinal cord injury scale for dogs. *Prev Vet Med*, 89:121–127.

Lewis, C.M. & Suzuki, M. (2014). Therapeutic applications of mesenchymal stem cells for amyotrophic lateral sclerosis. *Stem Cell Res Ther*, 5(2): 32.

Li, J., Ding, Y. H., Rafols, J. A., Lai, Q., McAllister, J. P., & Ding, Y. (2005). Increased astrocytes proliferation in rats after running exercise. *Neuroscience Letters*, 386(3): 160–164.

Longhofer, S.L., Duncan, I.D., Messing, A. (1990). A degenerative myelopathy in young German shepherd dogs. *J Small Anim Pract*, 31:199–203.

Lorenz, M.D., Coates, J. R., & Kent, M. (2011a). Neurologic History, Neuroanatomy, and Neurologic Examination. In *Handbook of Veterinary Neurology* (5<sup>a</sup> Ed, pp.2-35). St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders.

Lorenz, M.D., Coates, J. R., & Kent, M. (2011b). Localization of Lesions in the Nervous System. In *Handbook of Veterinary Neurology* (5<sup>a</sup> Ed, pp.37-38). St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders.

Lorenz, M.D., Coates, J. R., & Kent, M. (2011c). Pelvic Limb Paresis, Paralysis or Ataxia. In *Handbook of Veterinary Neurology* (5<sup>a</sup> Ed, pp.130-132). St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders.

Mackay-lyons M. (2002). Central pattern generation of locomotion: a review of the evidence. *Phys Ther*, 82(1):69-83.

March P.A., Coates J.R., Abyad R.J., *et al.* (2009). Degenerative myelopathy in 18 Pembroke Welsh Corgi dogs. *Vet Pathol*, 46:241-250.

Martinez, H.R., Gonzalez-Garza, M.T., Moreno-Cuevas, J.E., Cato, E., Gutierrez-Jimenez, E., Segura, J.J. (2009). Stem-cell transplantation into the frontal motor cortex in amyotrophic lateral sclerosis patients. *Cytotherapy*, 11:26–34.

Martinez, H.R., Molina-Lopez, J.F., Alez-Garza, M.T., Moreno-Cuevas, J.E., Caro-Osorio, E., Gil-Valadez, A., *et al.* (2012). Stem cell transplantation in amyotrophic lateral sclerosis patients. Methodological approach, safety, and feasibility. *Cell Transplant*, 21(9):1899-1907.

Martins, A. (2015a). Functional Neurorehabilitation – The Locomotor Quadrupedal Animal Training Adapted to the Bipedal Human. *Int Arch Med*, 8: 1-11.

Martins, A. (2015b). The Importance of Quadruped Animal Model in Functional Neurorehabilitation for Human Biped. *Int Arch Med*, 8: 1-10.

Mashita, T., Kamishina, H., Nakamoto, Y., Akagi, Y., Nakanishi, A., Harasaki, Y., *et al.* (2015). Combination of serum phosphorylated neurofilament heavy subunit and hyperintensity of intramedullary T2W on magnetic resonance imaging provides better prognostic value of canine thoracolumbar intervertebral disc herniation. *J Vet Med Sci*, 77:433–438.

Matthews N.S. & de Lahunta A. (1985). Degenerative myelopathy in an adult miniature poodle. *J Am Vet Med Assoc*, 186(11):1213-1215.

Matsuo, H., Uchida, K., Nakajima, H., Guerrero, A. R., Watanabe, S., Takeura, N., Baba, H. (2014). Early transcutaneous electrical nerve stimulation reduces hyperalgesia and decreases activation of spinal glial cells in mice with neuropathic pain. *Pain*, 155(9): 1888–1901.

Mazzini, L, Ferrero, I, Luparello, V., Rustichelli, D., Gunetti, M., Mareschi, K. *et al.* (2010). Mesenchymal stem cell transplantation in amyotrophic lateral sclerosis: A Phase I clinical trial. *Exp Neurol*, 223:229–237.

Mazzini, L., Mareschi, K., Ferrero, I., Miglioretti, M., Stecco, A., Servo, S., *et al.* (2012). Mesenchymal stromal cell transplantation in amyotrophic lateral sclerosis: a long-term safety study. *Cytotherapy*, 14:56–60.

Mazzini, L., Mareschi, K., Ferrero, I., Vassallo, E., Oliveri, G., Nasuelli, N. *et al.* (2008). Stem cell treatment in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *J Neurol Sci*, 265:78–83.

Miller, A.D., Barber, R., Porter, B.F., Peters, R.M., Kent, M., *et al.* (2009). Degenerative myelopathy in two boxer dogs. *Vet Pathol*, 46(4):684-687.

Miller, R.G., Mitchell, J.D., Moore, D.H. (2002). Riluzole for amyotrophic lateral sclerosis (ALS)/motor neuron disease (MND). *Cochrane Database Syst Rev*, 3:CD001447.

Mills, P.B. & Dossa, F. (2016). Transcutaneous electrical nerve stimulation for management of limb spasticity: a systematic review. *Am J Phys Med Rehabil*, 95:309–318.

Morales, C. & Aige, V. (2012). Anatomía del Sistema Nervioso. In C. Morales & P. Montoliu (Eds.), *Neurología Canina y Felina* (pp. 1-52). Sant Cugat del Vallés, Barcelona: Multimédica Ediciones Veterinarias.

Morgan, B.R., Coates, J.R., Johnson, G.C., Bujnak, A.C., Katz, M.L. (2013). Characterization of intercostal muscle pathology in canine degenerative myelopathy: A disease model for Amyotrophic Lateral Sclerosis. *J Neurosc Res*, 91(12):1639-1650.

Nagai, M., Aoki, M., Miyoshi, I., Kato, M., Pasinelli, P., Kasai, N., Brown, R.H., Jr., Itoyama, Y. (2001). Rats expressing human cytosolic copper-zinc superoxide dismutase transgenes with amyotrophic lateral sclerosis: associated mutations develop motor neuron disease. *J. Neurosci*, 21: 9246–9254.

Nardone, R., Höller, Y., Taylor, A.C., Lochner, P., Tezzon, F, Golaszewski, *et al.* (2016). Canine degenerative myelopathy: a model of human amyotrophic lateral sclerosis. *Zoology*, 119(1):64-73.

Nefussy, B., Artamonov, I., Deutsch, V., Naparstek, E., Nagler, A., Drory, V.E. (2010). Recombinant human granulocyte-colony stimulating factor administration for treating amyotrophic lateral sclerosis: A pilot study. *Amyotroph Lateral Scler*, 11:187–193.

Niebaum, K. (2013). Rehabilitation Physical Modalities. In M. C. Zink & J.B. Van Dyke (Eds.), *Canine Sports Medicine and Rehabilitation* (pp.115-131). Ames, Iowa: John Wiley & Sons.

Nielsen, J., Haefeli, J., Salegio, E.A., Liu, A.W., Guandique, C.F., Stuck, E.D. *et al.* (2015). Leveraging biomedical informatics for assessing plasticity and repair in primate spinal cord injury. *Brain Res*, 1619:124-138.

Nishida, H., Nakayama, M., Tanaka, H., Kamishina, H., Izawa, T., Hatoya, S. (2014). Evaluation of serum phosphorylated neurofilament subunit NF-H as a prognostic biomarker in dogs with thoracolumbar intervertebral disc herniation. *Vet Surg*, 43:289–293.

Norrie, B. A., Nevett-Duchcherer, J. M., Gorassini, M.A. (2005). Reduced Functional Recovery by Delaying Motor Training After Spinal Cord Injury. *J Neurophysiol*, 94: 255-264.

Nudo, R. (2013). Recovery after brain injury: mechanisms and principles. *Front Hum Neurosci*, 7: 887.

Ogawa M., Uchida K., Yamato O., Inaba M., Uddin M.M., Nakayama H. (2014). Neuronal loss and decreased GLT-1 expression observed in the spinal cord of Pembroke Welsh Corgi dogs with canine degenerative myelopathy. *Vet Pathol*, 51:591602.

Olby, N.J., De Risio, L., Munana, K.R., Wosar, M.A., Skeen, T.M., Sharp, N.J.H., Keene B.W. (2001). Development of a functional scoring system in dogs with acute spinal cord injuries. *Am J Vet Res*, 62:1624–1628.

Olby, N. J. (2004). Tetraparesis. In S.R. Platt & N.J. Olby (Eds.), *BSAVA Manual of Canine and Feline Neurology* (3<sup>a</sup> Ed, pp.214-237). Cheltenham: British Small Animal Veterinary Association.

Peckham, P.H. & Knutson, J.S. (2005). Functional electrical stimulation for neuromuscular applications. *Ann Rev Biomed Eng*, 7(1): 327–360.

Petrou, P., Gothelf, Y., Argov, Z., Gotkine, M., Levy, Y. S., Karussis, D., *et al.* (2016). Safety and Clinical Effects of mesenchymal stem cells secreting neurotrophic factor transplantation in patients with amyotrophic lateral sclerosis: results of phase 1/2 and 2a clinical trials. *JAMA Neurol*, 73, 337–344.

Polizopoulou Z.S., Koutinas A.F., Patsikas M.N., Soubasis, N. (2008). Evaluation of a proposed therapeutic protocol in 12 dogs with tentative degenerative myelopathy. *Acta Vet Hung*, 56(3):293-301.

Potisk, K., Gregoric, M., & Vodovnik, L. (1995). Effects of transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS) on spasticity in patients with hemiplegia. *Scand J Rehabil Med*, 27(3), 169– 174.

Prabhakar, S., Marwaha, N., Lal, V., Sharma, R.R., Rajan, R., Khandewal, N. (2012). Autologous bone marrow-derived stem cells in amyotrophic lateral sclerosis: a pilot study. *Neurol India*, 60:465–469.

Robberecht W. (2000). Genetics of amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol*, 247(Suppl 6):VI/2–VI/6.

Robertson, J., & Mead, J. (2013). Anatomy and Physiology. In J. Robertson & Mead, *Physical Therapy and Massage for the dog* (pp. 11-58). London: Manson Publishing.

Rosen, D. R. Siddique, T., Patterson, D., Figlewicz, D.A., Sapp, P., Hentati, A. *et al.* (1993). Mutations in Cu/Zn superoxide dismutase gene are associated with familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nature*, 362: 59–62.

Rossignol, S. (2000). Locomotion and its recovery after spinal injury. *Curr Opin Neurobiol*, 10: 708–716.

Rossignol, S., Dubuc, R., Gossard, J. P. (2006). Dynamic sensorimotor interactions in locomotion. *Physiol Rev*, 86:89-154.

Rossignol, S., & Frigon, A. (2011). Recovery of locomotion after spinal cord injury: some facts and mechanisms. *Annu Rev Neurosci*, 34, 413–440.

Rossignol, S., Schwab, M., Schwartz, M., Fehlings, M.G. (2007). Spinal cord injury: time to move? *J Neurosci*, 27(44):11782-11792.

Rossignol S, Dubuc R, Gossard JP (2006). Dynamic sensorimotor interactions in locomotion. *Physiol Rev* 86 (1):89–154.

Rothstein J.D. (2009). Current hypotheses for the underlying biology of amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol*, 65(Suppl 1): S3–9.

Salem, Y., Scott, A.H., Karpatkin, H, Concert, G., Haller, L., Kaminsky, E.*et al.* (2011). Community-based group aquatic programme for individuals with Multiple Sclerosis: A pilot study. *Disabil Rehabil*, 33(9):720-728.

Sandelin, E., Nordlund, A., Andersen, P.M., Marklund, S.S., Oliveberg, M. (2007). Amyotrophic lateral sclerosis and associated copper/zinc superoxide dismutase mutations preferentially reduce the repulsive charge of the proteins. *J Biol Chem*, 282 (29):21230-21236.

Sanjak, M., Bravver, E., Bockenek, W.M., Norton, H.J., Brooks, B.R. (2010). Supported treadmill ambulation for amyotrophic lateral sclerosis: a pilot study. *Arch Phys Med Rehabil*, 91:1920–1929.

Shafie, I.N.F (2013). The establishment of potencial cerebrospinal fluid biomarkers for canine degenerative myelopathy (PhD Thesis). University of Glasgow.

Sharp, N.J. & Wheeler, S.J. (2005). Thoracolumbar disc disease. In *Small animal spinal disorders: diagnosis and surgery* (2<sup>a</sup>Ed., pp.128-159). Philadelphia: Elsevier Mosby.

Shaw, P.J & Eggett, C.J. (2000). Molecular factors underlying selective vulnerability of motor neurons to neurodegeneration in amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol*, 247(Suppl 1):17–27.

Shelton, G.D., Johnson, G.C., O'Brien, D.P., Katz, M.L., Pesayco, J.P., Chang, B.J., Mizisin, A.P., Coates, J.R. (2012). Degenerative myelopathy associated with a missense mutation in the superoxide dismutase 1 (SOD1) gene progresses to peripheral neuropathy in Pembroke Welsh corgis and boxers. *J Neurol Sci*, 318:55–64.

Sherman, J., Olby, N. J., Halling, K. B. (2013). Rehabilitation of the Neurological Patient. In S.R. Platt & N. J. Olby (Eds.), *BSAVA Manual of Canine and Feline Neurology* (4<sup>a</sup>Ed, pp. 484-486). Gloucester: British Small Animal Veterinary Association.

Shi P., Wei Y., Zhang J., Gal J., Zhu H. (2010). Mitochondrial dysfunction is a converging point of multiple pathological pathways in amyotrophic lateral sclerosis. *J Alzheimers Dis*, 20 (2): 11–24.

Shin, H.K., Cho, S.H., Jeon, H.S., Lee, Y.H., Song, J.C., Jang, S.H., *et al.* (2008). Cortical effect and functional recovery by the electromyography-triggered neuromuscular stimulation in chronic stroke patients. *Neurosci Lett*, 442:174-179.

Smania, N., Picelli, A., Munari, D., Geroin, C., Ianes, P., Waldner, A., Gandolfi, M. (2010). *Eur Phys Rehabil Med*, 46(3): 423–438

Sullivan, K.J., Brown, D.A., Klassen, T., Mulroy, S., Ge, T., Azen, S.P., *et al.* (2007). Effects of task-specific locomotor and strength training in adults who were ambulatory after stroke: results of the STEPS randomized clinical trial. *Phys Ther*, 87(12):1580–1602.

Suzuki, M., McHugh, J., Tork, C., Shelley, B., Hayes, A., Bellantuono, I., *et al.* (2002). Direct muscle delivery of GDNF with human mesenchymal stem cells improves motor neuron survival and function in a rat model of familial ALS. *Mol Ther*, 16(12):2002–2010.

Sykova, E., Rychmach, P., Drahoradova, I., Konradova, S., Ruzickova, K., Vorisek, I., *et al.* (2017). Transplantation of mesenchymal stromal cells in patients with amyotrophic lateral sclerosis: results of phase I/IIa clinical trial. *Cell Transplant*, 26: 647–658.

Takao, T., Tanaka, N., Iizuka, N., Saitou, H., Tamaoka, A., & Yanagi, H. (2015). Improvement of gait ability with a short-term intensive gait rehabilitation program using body

weight support treadmill training in community dwelling chronic poststroke survivors. *J Phys Ther Sci*, 27(1): 159–163.

Taylor, S. (2014). Disorders of the Spinal Cord. In R. W. Nelson & C. G. Couto (Eds.), *Small Animal internal Medicine* (5<sup>a</sup> Ed, pp.1048-1073). St. Louis, Mo: Elsevier/Mosby.

Thompson, A. K., & Wolpaw, J. R. (2014). The Simplest Motor Skill: Mechanisms and Applications of Reflex Operant Conditioning. *Exerc Sport Sci Rev*, 42(2): 82–90.

Thompson, A., & Wolpaw, J. (2015). Targeted neuroplasticity for rehabilitation. *Prog Brain Res*, 218: 157–172.

Thomson, C., & Hahn., (2012a). Regional Neuroanatomy. In *Veterinary Neuroanatomy: A Clinical Approach* (pp.1-10). Edinburgh: Saunders Elsevier.

Thomson, C., & Hahn., (2012b). Hierarchical Organisation in the Nervous System. In *Veterinary Neuroanatomy: A Clinical Approach* (pp.31-46). Edinburgh: Saunders Elsevier.

Thomson, C., & Hahn., (2012c). Reflexes and Motor Systems. In *Veterinary Neuroanatomy: A Clinical Approach* (pp.47-58). Edinburgh: Saunders Elsevier.

Thomson, C., & Hahn., (2012d). Ascending Somatic Sensory Tracts and Conscious Sensory Systems. In *Veterinary Neuroanatomy: A Clinical Approach* (pp.59-66). Edinburgh: Saunders Elsevier.

Threlkeld, A.J., Cooper, L.D., Monger, B.P., Craven, A.N., Haupt, H.G. (2003). Temporospatial and kinematic gait alternations during treadmill walking with body weigh suspension. *Gait Posture*, 17(3): 235-245.

Toedebusch, C.M., Bachrach, M.D., Garcia, V.B, Johnson, M.L, Katz, M.L, Shaw, G., *et al.* (2017). Cerebrospinal Fluid Levels of Phosphorylated Neurofilament Heavy as a Diagnostic Marker of Canine Degenerative Myelopathy. *J Vet Intern Med*, 31(2):513-520.

Uccelli, A., Milanese, M., Principato, M.C., Morando, S., Bonifacino, T., Vergani, L., *et al.* (2012). Intravenous mesenchymal stem cells improve survival and motor function in experimental amyotrophic lateral sclerosis. *Mol Med*, 18: 794–804.

Uemura, E. E. (2015). Motor System. In *Fundamentals of Canine Neuroanatomy and Neurophysiology* (pp. 257–287). Oxford: Wiley Blackwell.

Van Den Bosch, L., Van Damme, P., Bogaert, E., Robberecht, W. (2006). The role of excitotoxicity in the pathogenesis of amyotrophic lateral sclerosis. *Biochim Biophys Acta*, 1762(11-12):1068-1082.

Vercelli, A., Mereuta, O.M., Garbossa, D., Muraca, G., Mareschi, K., Rustichelli, D., *et al.* (2008). Human mesenchymal stem cell transplantation extends survival, improves motor performance and decreases neuroinflammation in mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *Neurobiol Dis*, 31(3):395–405.

Volkman R. & Offen D. (2017). Concise review: mesenchymal stem cells in neurodegenerative diseases. *Stem Cells*, 35:1867–1880.

Wijsekera L. C. & Leigh P. N. (2009). Amyotrophic lateral sclerosis. *Orphanet J Rare Dis*, 4:3.

Williams, D.A., Prymak, C., Baughan, J. (1985). Tocopherol (vitamin E) status in canine degenerative myelopathy. American College of Veterinary Internal Medicine 3<sup>rd</sup> Annual Meeting, San Diego, CA.

Winchester P., McColl R., Query R., Foreman N., Mosby J., Tansey K., Williamson J. (2005). Changes in supraspinal activation patterns following robotic locomotor therapy in motor-incomplete spinal cord injury. *Neurorehabil Neural Repair*, 19:313–324.

Wininger, F.A., Zeng R., Johnson, G.S., Katz, M.L., Johnson, G.C., Bush, W.W., *et al.* (2011). Degenerative myelopathy in a Bernese Mountain Dog with a novel *SOD1* missense mutation. *J Vet Inter Med*, 25:1166–1170.

Wolpaw J.R. & Tennissen A.M. (2001). Activity-dependent spinal cord plasticity in health and disease. *Annu Rev Neurosci*, 24:807–843.

White, L.J. & Castellano, V. (2008). Exercise and brain health--implications for multiple sclerosis: Part 1--neuronal growth factors. *Sports Med*, 38(2): 91-100.

Yan, T., HuiChan, C. Li, L. (2005). Functional electrical stimulation improves motor recovery of the lower extremity and walking ability of subjects with first acute stroke a randomized placebo-controlled trial. *Stroke*, 36:80–85.

Zarei, S., Carr, K., Reiley, L., Diaz, K., Guerra, O., Altamirano. P.F, *et al.* (2015). A comprehensive review of amyotrophic lateral sclerosis. *Surg Neurol Int*, 6:171.

Zeng, R., Coates, J.R, Johnson, G.C, Hansen, L., Awano, T., Kolicheski, A., *et al.* (2014). Breed distribution of SOD1 alleles previously associated with canine degenerative myelopathy. *J Vet Intern Med*, 28:515–521.

Zhao, C.P., Zhang, C., Zhou, S.N., Xie, Y.M., Wang, Y.H., Huang, H., *et al.* (2007). Human mesenchymal stromal cells ameliorate the phenotype of SOD1-G93A ALS mice. *Cytherapy*, 9(5):414–426.

Zhao, W., Beers, D. R., Appel, S. H. (2013). Immune-mediated mechanisms in the pathoprogession of amyotrophic lateral sclerosis. *J Neuroimmune Pharmacol*, 8:888-899.

Zhou, C., Zhang, C., Zhao, R., Chi, S., Ge, P. (2013). Human marrow stromal cells reduce microglial activation to protect motor neurons in a transgenic mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *J Neuroinflammation*, 10:52

## ANEXO I- O SISTEMA MOTOR SOMÁTICO

**Tabela 1-** Critérios de diferenciação entre lesões de NMS e NMI (adaptado de Platt & Olby, 2004)

<b>Critério</b>	<b>Lesão de NMS</b>	<b>Lesão de NMI</b>
<b>Postura</b>	Usualmente normal	Dificuldade em suportar o peso
<b>Marcha</b>	Marcha rígida e atáxica Atraso na protração	Marcha curta Tendência para colapso
<b>Função motora</b>	Paresia/plegia espástica	Paresia/plegia flácida
<b>Reflexos espinhais</b>	Normal a aumentado	Diminuído a ausente
<b>Tónus muscular em repouso</b>	Normal a aumentado	Diminuído a ausente
<b>Flexão e extensão passiva dos membros</b>	Ligeira resistência	Resistência diminuída
<b>Atrofia muscular</b>	Atrofia moderada por desuso	Atrofia neurogénica severa

**Tabela 2-** Feixes motores do sistema piramidal e extrapiramidal com respetiva origem, trajeto, localização e função. Adaptado de Thomson & Hahn, 2012c.

	<b>Feixes</b>	<b>Origem</b>	<b>Trajeto Anatómico</b>	<b>Localização medular</b>	<b>Função</b>
<b>Extrapiramidal</b>	Rubroespinal	Núcleo rubro	Contralateral	Funículo lateral	Função semelhante à do feixe corticoespinal, auxiliando os músculos flexores; em cães, é considerado o feixe mais importante no controlo do movimento voluntário.
	Reticuloespinal medular	Formação reticular	Contralateral e ipsilateral	Funículo lateral	Forte inibidor de NMI $\gamma$ dos músculos extensores (ipsilateral e contralateral).

	Reticuloespinal pontino	Formação reticular	Contralateral	Funículo ventral	Estimula o NMI $\gamma$ ipsilateral nos músculos extensores.
	Vestibuloespinal lateral	Núcleo vestibular lateral	Contralateral	Funículo ventral	Estimula o NMI $\gamma$ e $\alpha$ dos músculos extensores ipsilaterais; inibe os flexores ipsilaterais e extensores contra laterais
	Vestibuloespinal medial	Núcleo vestibular medial, rostral e caudal	Ipsilateral	Funículo ventral	Estimula e reforça a actividade muscular cervical e membro torácico.
<b>Piramidal</b>	Corticoespinal	Pirâmides medulares	Ipsilateral (25%) e contralateral (75%)	Funículo lateral e funículo ventral	-Corticoespinal lateral: responsável por movimentos das extremidades, não está muito desenvolvido em quadrúpedes; -Corticoespinal ventral: responsável por movimentos do pescoço e tronco, incluindo a função da bexiga.

## ANEXO II- O SISTEMA SENSORIAL SOMÁTICO

**Tabela 1-** Tratos medulares ascendentes proprioceptivos e a sua localização na medula espinhal (adaptado de Thomson & Hahn, 2012c).

<b>Tipo de Proprioção</b>	<b>Tratos</b>	<b>Localização</b>
<b>Proprioção consciente</b>	Fascículo Cuneiforme (proprioção do corpo, cranial a T8)	Funículo Dorsal
	Fascículo Gracilis e Trato Espinocerebelar dorsal (proprioção do corpo, caudal a T8)	
<b>Proprioção subconsciente</b>	Trato Espinocerebelar dorsal e ventral (proprioção da metade caudal do corpo)	Funículo Lateral
	Trato Espinocuneocerebelar e Espinocerebelar cranial (proprioção da metade cranial do corpo)	Funículo Dorsal e Lateral, respetivamente
	Trato Espinoreticular	Funículo Ventral
	Trato Espinopontino	
	Trato Espinovestibular	
Trato Espino-olivar		

## ANEXO III- ENSAIOS CLÍNICOS COM TERAPIAS CELULARES

**Tabela 1-** Sumário de estudos pré-clínicos de transfusão de MSCs em modelos de ELA (adaptado de Ciervo *et al.*, 2017; Lewis & Suzuki, 2014)

Modelo e espécie	Tipo de célula estaminal	Via de tratamento	Resultados	Observações <i>post-mortem</i> das MSCs	Referência
Camundongo SOD1 <sup>G93A</sup>	hBM- MSC	IV	Atraso no começo da doença de 14 dias; aumento da sobrevida em 18 dias; atraso na progressão da doença; redução da perda de NMs	Algumas MSCs no cérebro, tronco cerebral e medula; número considerável de MSCs nos rins, pulmão e baço.	Zhao <i>et al.</i> (2007)
Camundongo SOD1 <sup>G93A</sup>	hBM- MSC	IV	Aumento da sobrevida em 3 dias, atraso no início da doença em 5 dias; redução da perda de NMs	Algumas MSCs no tronco cerebral e medula espinhal; MSCs maioritariamente nos rins.	Chan-II <i>et al.</i> (2013)
Camundongo SOD1 <sup>G93A</sup>	mBM- MSCs	IV	Aumento da sobrevida em 17 dias, atraso no declínio da função motora (teste <i>rotarod</i> , reflexo extensor e alterações da marcha)	MSCs detetadas na medula espinhal e hipotálamo após 24 horas, com diminuição ao longo do tempo; nenhuma célula após 35 dias.	Ucelli <i>et al.</i> (2012)
Camundongo SOD1 <sup>G93A</sup>	Células do tipo neural derivadas de	Intratecal (cisterna magna)	Sem benefícios	MSCs no espaço subaracnoide perto da cisterna	Habish <i>et al.</i> (2007)

	hBM- MSC			magna e no cere- belo	
Camundongo SOD1 <sup>G93A</sup>	ALS- hBM- MSC	Intratecal (cisterna magna)	Aumento da sobre- vida em 8 dias, de- clínio mais lento do teste <i>rotarod</i> ; redu- ção da perda de NMs	MSCs detetadas no sistema ven- tricular, espaço subaracnoide, cé- rebro e medula espinhal	Kim <i>et al.</i> (2010)
Camundongo SOD1 <sup>G93A</sup>	hBM- MSCs	Intratecal (cisterna magna)	Aumento da sobre- vida em 14 dias, atraso no início da doença em 6 dias; diminuição da as- troglíose		Zhou <i>et al.</i> (2013)
Rato SOD1 <sup>G93A</sup>	GFP- hBM- MSC	Intratecal (cisterna magna)	Aumento da sobre- vida em 14 dias; re- dução da perda de NM; preservação da rede perineural	Ausente	Forostyak <i>et al.</i> (2014)
Rato SOD1 <sup>G93A</sup>	mBM- MSCs	Intratecal (cisterna magna)	Aumento da sobre- vida em 16 dias, atraso na progres- são da doença, re- dução da perda de NM e da inflama- ção; diminuição do número da micro- glia	MSCs sobrevive- ram na medula espinhal	Boucherie <i>et al.</i> (2009)
Camundongo SOD1 <sup>G93A</sup>	hBM- MSC	Intratecal (cisterna lombar, L5- L6)	Atraso na morte dos NMs; redução da astroglíose e modulação da ati- vação microglial	Meninges lom- bar, cervical e to- rácica. Migração para o parên- quima da medula espinhal	Boido <i>et al.</i> (2014)

Camundongo SOD1 <sup>G93A</sup>	hBM- MSC	Intraespi- nhal (L1- L2)	Melhoria significa- tiva da função mo- tora e no desempe- nho no teste <i>rota- rod</i> ; diminuição do número de astróci- tos e microglia	MSCs sobrevive- ram na medula espinhal	Vercelli <i>et al.</i> (2008)
Rato SOD1 <sup>G93A</sup>	GFP- hBM- MSC se- cretoras de GDNF	IM	Aumento da sobre- vida e redução da perda de NM; redu- ção na desenerva- ção das placas mo- toras	MSCs entre a lâ- mina basal e fi- bras musculares	Suzuki <i>et al.</i> (2008)

**Abreviaturas:** **hBM-MSC**- células estaminais mesenquimatosas com origem na medula óssea humana (do inglês, *human bone marrow derived mesenchymal stem cells*); **NMs** – neurónios motores; **mBM-MSC**- células estaminais mesenquimatosas com origem na medula óssea de rato (do inglês, *mouse bone marrow-derived mesenchymal stem cells*); **ALS-hBM-MSC**- hBM-MSC derivadas de pacientes com ELA (do inglês, *human bone marrow mesenchymal stem cells derived from ALS patients*); **GFP-hBM-MSC**- hBM-MSC marcadas pela proteína verde fluorescente (do inglês, *green fluorescent protein labelled hBM-MSC*); **GDNF**- fator neurotrófico derivado da glia (do inglês, *glial derived neural factor*); **IM**- intra-muscular; **IV**- intravenosa

**Tabela 2-** Sumário de ensaios clínicos com terapia celular em pacientes com ELA (adaptado de Lunn *et al.*, 2014).

Tipo de célula estaminal	Método de transferência	País	Número de pacientes	Resultados pretendidos	Conclusões	Referências
Mobilização de MSCs endógenas	n/a	Canada	8	Segurança	Abordagem é segura e viável	Cashman <i>et al.</i> , (2008)
	n/a	Itália	24	Segurança	Abordagem é segura e viável; estabilização da progressão da doença e resposta anti-inflamatória presente	Chio <i>et al.</i> , (2011)
	n/a	Israel	17 G-CSF 18 placebo	Eficácia	Abordagem é segura e viável; sem efeito significativo na progressão da doença	Nefussy <i>et al.</i> , (2010)

<b>MSCs autólogas</b>	Intraespinhal (C1-C2)	Turquia	13	Segurança	Abordagem é segura e viável; 9 pacientes com melhorias na ENMG e 1 estabilizou após 1 ano	Deda <i>et al.</i> , (2009)
	Intraespinhal (T7-T9)	Itália	9	Segurança	Abordagem é segura e viável; redução da velocidade do declínio funcional em 4 pacientes	Mazzini <i>et al.</i> , (2008, 2012)
	Intraespinhal (T4-T6)	Itália	10	Segurança	Abordagem é segura e viável	Mazzini <i>et al.</i> , (2010, 2012)
	Intraespinhal	Espanha	11	Segurança	Abordagem é segura e viável; sem aceleração no declínio da doença; aumento do número de NMs	Blanquer <i>et al.</i> , (2012)
	Intratecal	India	10	Segurança Eficácia	Abordagem é segura e viável; tendência inicial de estabilização da doença; sem declínio significativo da ALS-FRS após 1 ano	Prabhakar <i>et al.</i> , (2012)
	Intratecal	República Checa	26	Segurança	Abordagem é segura e viável; redução no declínio da ALS-FRS após 3 meses; em 80% dos doentes os valores da CVF mantiveram-se estáveis ou > 70% por um de 9 meses	Sykova <i>et al.</i> , (2017)

<b>MSCs autólogas</b>	Intratecal ou combinação de intratecal/intravenosa	Israel	10 intratecal 9 combinação	Segurança	Abordagem é segura e viável; observados efeitos imunomodulatórios	Karussis <i>et al.</i> , (2010)
	Intraventricular	Coreia do Sul	1	Segurança	Abordagem é segura e viável; sem conclusões sobre a eficácia devido ao estado avançado da doença	Baek <i>et al.</i> , (2012)
	Córtex Motor	México	10 MSC 10 controlo	Segurança	Abordagem é segura e viável; taxa de sobrevivência estatisticamente mais elevada em pacientes tratados	Martinez <i>et al.</i> , (2009)
	Córtex Motor	México	65	Segurança	Abordagem é segura e viável; necessário um estudo maior para avaliar a eficácia	Martinez <i>et al.</i> , (2012)
<b>MSCs autólogas secretoras de fator neurotrófico</b>	-Intratecal (fase 1/2) -Combinação intratecal e intramusculares (fase 2)	Israel	12 (fase 1/2) 14 (fase 2)	Segurança e eficácia	Abordagem segura e evidencia benefícios clínicos; 87% com resposta positiva na ALSFRS ou CVF	Petrou <i>et al.</i> , (2016)

**Abreviaturas:** **ALSFRS**- Escala de avaliação funcional da ELA (do inglês *ALS Functional Rating Scale*); **G-CSF**-Fator Estimulador de Colónias de Granulócitos (do inglês *Granulocyte-Colony Stimulating Factor*); **CVF**- Capacidade Vital Forçada; **ENMG** – eletroneuromiografia; **NMs**- neurónios motores; **n/a**- não aplicá-

## ANEXO IV – ESCALAS DE AVALIAÇÃO NEUROLÓGICA

**Tabela 1-** Escala de Frankel modificada (EFM) para cães com lesão da medula espinhal (Levine *et al.*, 2009).

Grau	Descrição da condição neurológica
0	Para/tetraplegia com ausência de nocicepção profunda
1	Para/tetraplegia com ausência de nocicepção superficial
2	Para/tetraplegia com nociceção intacta
3a	Para/tetraparesia não ambulatória; incapacidade de aguentar o peso corporal sem suporte
3b	Para/tetraparesia não ambulatória; capacidade de aguentar o peso corporal sem suporte
4	Para/tetraparesia ambulatória/ataxia
5	Marcha e sensibilidade normal

**Tabela 2 –** Escala de marcha em campo aberto (EMCA) (Olby *et al.*, 2001).

Estágio	Nível	Descrição da condição neurológica
1	0	Ausência de movimento dos membros pélvicos e sem sensibilidade à dor profunda
	1	Ausência de movimento dos membros pélvicos com sensibilidade à dor profunda
	2	Ausência de movimento dos membros pélvicos, mas com movimento voluntário da cauda
2	3	Marcha sem suporte do peso corporal (movimento de uma articulação)
	4	Marcha sem suporte do peso corporal, com >1 articulação envolvida <50% do tempo
	5	Marcha sem suporte do peso corporal, com >1 articulação envolvida >50% do tempo
3	6	Marcha com suporte do peso corporal, <10% do tempo
	7	Marcha com suporte do peso corporal, entre 10-50% do tempo
	8	Marcha com suporte do peso corporal, >50% do tempo
4	9	Marcha com suporte do peso corporal 100% do tempo, com redução da força dos membros pélvicos. Erros >90% do tempo (cruzamento dos membros pélvicos, quedas, etc.)

<b>5</b>	10	Marcha com suporte do peso corporal 100% do tempo, com redução da força dos membros pélvicos. Erros entre 50-90% do tempo
	11	Marcha com suporte do peso corporal 100% do tempo, com redução da força dos membros pélvicos. Erros <50% do tempo
	12	Ataxia do membro pélvico com força normal, mas com erros em mais de 50% do tempo (falta de coordenação com os membros torácicos, cruzamento dos membros pélvicos, etc.)
	13	Ataxia do membro pélvico com força normal e com erros em menos de 50% do tempo
	14	Marcha normal nos membros pélvicos

**Tabela 3** –Escala de Asworth modificada (adaptado de Bohannon & Smith, 1987)

<b>Grau</b>	<b>Descrição da condição neurológica</b>
<b>0</b>	Sem aumento do tónus muscular
<b>1</b>	Ligeiro aumento do tónus muscular, manifestado por uma resistência mínima no final do movimento de flexão ou extensão ( <i>end feel</i> ) da região afetada
<b>2</b>	Ligeiro aumento do tónus muscular na maioria da amplitude do movimento, contudo a região afetada move-se com facilidade
<b>3</b>	Aumento considerável do tónus muscular, movimento passivo difícil
<b>4</b>	A região afetada apresenta-se rígida em flexão ou extensão