

Utilización de potenciales evocados visuales para el diagnóstico y evolución de *Miastenia gravis* adquirida en caninos

Use of visual evoked potentials for the diagnosis and evolution of acquired *Myasthenia gravis* in canines

SURANITI, AP^{1,2}; LÓPEZ, CM^{1,3}; GILARDONI, LR^{1,4,5}; BERTTOTTI, A⁶; MUNDO, SL^{1,5}

¹Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias. ²Hospital Escuela de Medicina Veterinaria, Unidad de Neurología. ³Cátedra de Salud Pública. ⁴Cátedra de Semiología. ⁵Cátedra de Inmunología. ⁶Hospital Alemán, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

RESUMEN

La miastenia gravis adquirida (MGA) es una enfermedad inmunomediada que afecta a la especie canina, causada por la presencia de anticuerpos contra los colinorreceptores nicotínicos postsinápticos y la consiguiente interferencia en la transmisión neuromuscular de los músculos voluntarios. Seis caninos con alteraciones oculares y signología clínica compatible con MGA provenientes del Hospital Escuela de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Buenos Aires fueron diagnosticados por la presencia de anticuerpos anti receptor de acetilcolina en suero (ACRA). Estos animales mostraron déficits visuales, con ondas P100 de valores de amplitud disminuidas en los potenciales evocados (PEV). Se los trató con Bromuro de piridostigmina 0,5 mg/kg vía oral cada 12 h, durante 30 días y luego de este período, se re-evaluaron. Los PEV obtenidos luego del tratamiento mostraron que el 80% (5/6) de los animales incrementaron la amplitud de la onda P100. Los potenciales evocados visuales ofrecen un método no invasivo que permite identificar los efectos centrales de la MGA y su evolución terapéutica.

Palabras clave: (enfermedad neuromuscular), (diagnóstico), (caninos).

Recibido: 22-11-19

Aceptado: 18-06-20

Correspondencia *e-mail*: Adriana Suraniti asuraniti@fvvet.uba.ar

ABSTRACT

Acquired myasthenia gravis (MGA) is an immunomediated disease that affects the canine species, caused by the presence of antibodies against postsynaptic nicotinic cholinergic receptors and the consequent interference in the neuromuscular transmission of voluntary muscles. Six canines with ocular alterations and clinical signology compatible with MGA from the Hospital School of the Faculty of Veterinary Sciences of the University of Buenos Aires were diagnosed by the presence of antibodies against serum acetylcholine receptor (ACRA). These animals showed visual deficits, with P100 waves of diminished amplitude values in evoked potentials (VEP). They were treated with 0.5 mg / kg pyridostigmine bromide orally every 12 h, for 30 days and after this period, they were re-evaluated. The VEP obtained after treatment showed that 80% (5/6) of the animals increased the amplitude of the P100 wave. Visual evoked potentials offer a non-invasive method that identifies the central effects of AMS and its therapeutic evolution.

Keywords: (neuromuscular disease), (diagnosis), (canine).

INTRODUCCIÓN

La MGA es una enfermedad inmunomediada descrita en humanos⁸, en caninos y felinos^{2,7,15,17}. La forma generalizada de MG tiene como signo clínico principal la debilidad episódica que empeora con el ejercicio y mejora con el reposo. La forma focalizada se manifiesta principalmente con debilidad de la musculatura facial, extrínseca ocular, disfagia, megaesófago y cambio de voz¹.

En medicina humana se describe una MG ocular con alteración de la motilidad de los músculos extra-oculares (estrabismo y ptosis palpebral) y alteraciones visuales, diplopía^{19,20}; en medicina veterinaria es escasa la información al respecto.

Los potenciales evocados son una prueba clínica objetiva que permite evaluar las alteraciones visuales en la población humana con MG a través de un estímulo luminoso³ permitiendo evaluar la agudeza visual¹⁶.

La acción anticolinesterásica del Bromuro de piridostigmina permite que la acetilcolina permanezca mayor tiempo en el espacio neuromuscular, mejorando la contracción muscular en forma generalizada, en pacientes humanos^{3,5} y caninos^{3,17} con MG.

El objetivo del presente estudio fue aplicar la técnica de potenciales evocados visuales en caninos con MGA para identificar alteraciones visuales y su evolución post-tratamiento con Bromuro de piridostigmina.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se evaluaron 6 caninos que requirieron atención en el Hospital escuela FCV-UBA con signos oculares compatibles con MG. Los animales se sometieron a un examen objetivo general y particular e identificación de anticuerpos anti receptor de acetilcolina (ACRA). El valor de referencia de ACRA en caninos refiere que valores mayores a 0,6 nmol/L, es confirmatorio de la enfermedad.^{9,10,11,12,13}

Los propietarios/dueños de los animales que manifestaban alteraciones oftalmológicas fueron informados de la investigación (aprobación CICUAL 2015/22) e invitados a participar voluntariamente. Los 6 animales presentaron signos de ojo seco debido al déficit en el cierre palpebral (DCP) durante el sueño y uno de ellos presentó nistagmo espontáneo. La reseña, los signos visuales los valores de ACRA de los animales se muestran en la Tabla 1.

La evaluación de los potenciales evocados visuales (PEV) se realizó al iniciar el tratamiento.

El tratamiento se realizó con Bromuro de piridostigmina vía oral a dosis de 0,5 mg por kg cada 12 h durante 30 días. A los 30 días se evaluó la evolución de los pacientes a través de los signos clínicos y de los PEV. Se consideró como respuesta favorable la mejora de los signos clínicos (cierre completo de los párpados durante el sueño) y si los valores de PEV poseían una amplitud superior a 5,8 μ v/división y la latencia de la onda P era hasta 100 ms.

Tabla 1. Signos visuales y valores de ACRA al momento de la consulta. Hospital Escuela. FCV. UBA 2016-2017.

PACIENTE	EDAD (AÑOS)	RAZA	SEXO	SIGNOS VISUALES	VALORES ACRA (NMOL/L)
3	11	PINCHER	MACHO	DCP-NISTAGMO HORIZONTAL	0,67
7	11	MESTIZO	HEMBRA	DCP	1,22
8	12	POINTER	HEMBRA	DCP	0,79
12	8	LABRADOR RETRIEVER	MACHO	DCP	0,99
16	11	DOBERMAN	MACHO	DCP	0,89
20	8	GRAN DANES	MACHO	DCP	2,20

DCP: déficit cierre palpebral

Determinación de anticuerpo anti receptor de acetilcolina (ACRA): se realizó mediante la técnica de radioinmunoensayo (RIA), realizado por el Laboratorio del CADIMI (Centro de Asistencia, Docencia, Investigación en Miastenia Gravis, Argentina)^{13,14}.

El suero de cada uno de los caninos estudiados fue analizado utilizando Acetylcholine Receptor Autoantibody (AChRAb) RIA Kit - RSR Limited United Kingdom, según las instrucciones del fabricante reemplazando el anticuerpo primario por una anti-IgG-canina total (Sigma®)

Medición de los potenciales evocados visuales: se utilizó un equipo ATI Nautilus de la Unidad de Neurología del Hospital Escuela de Medicina Veterinaria. La técnica de registro PEV se realizó insertando tres electrodos aguja en la línea media de la cabeza: el electrodo positivo a nivel de la cresta nugal; el electrodo negativo en la región central y en la frente el electrodo tierra. Los parámetros utilizados fueron⁶: Tiempo de Análisis (ms): 400; Fuerza del disparo (Hz):2; Promediaciones: 100; Número de canales: 1; Rechazo de artefacto: si; Marcas: P100; Frecuencia inferior: 1; Frecuencia superior: 125. Como estímulo lumínico se utilizó un flash colocado a 15 cm de cada ojo a es-

timular y el ojo no evaluado se tapó con una torunda de algodón. La medición se repitió 2 veces en cada ojo. La sensibilidad se midió en microvoltios (μv) y el registro se observó sobre un cuadrante cuyas divisiones corresponden a 5,8 μv /división. En condiciones normales el valor de amplitud de las ondas P100 es de 5,8 microvoltios (μv). La latencia de la onda P100 se evaluó en milisegundos, considerando normal hasta 100 ms.

El análisis estadístico de los resultados se realizó utilizando el programa InfoStat (2016). Se empleó la prueba T para muestras apareadas, considerándose diferencias significativas cuando $p \leq 0,05$.

RESULTADOS

Los resultados de los PEV de los animales pre y post tratamiento se muestran en la Tabla 2.

Las latencias de las ondas P100 (antes y después del tratamiento) se mantuvieron dentro de los valores de referencia (hasta 120 ms). Se detectó una disminución estadísticamente significativa del periodo de latencia de P100 al comparar los datos obtenidos para cada animal antes y después del tratamiento ($p=0,02$).

En la Tabla 3 se muestran los valores de amplitud de cada paciente. En 5 de 6 pacientes los PEV mostraron una disminución significativa de entre el 30 al 40 % de la amplitud de la onda P100 (menor a $5,8\mu\text{V}$) que se normalizó en todos ellos a los 30 días del inicio del tratamiento (Figura 1). Todos respondieron en forma favorable al tratamiento para la MG con cierre palpebral normal.

La amplitud de la onda P100 antes del tratamiento en los pacientes estudiados fue en promedio 4,45. La amplitud de la onda P100 después del tratamiento en los pacientes estudiados fue en promedio 7,77.

El análisis estadístico utilizando la prueba T para diferencias apareadas mostró diferencias

significativas $p \leq 0,05$ en la amplitud de la onda P100 antes y después del tratamiento.

DISCUSIÓN

La MG en caninos resulta una patología difícil de diagnosticar. La sintomatología es variada y afecta a múltiples órganos. Trabajos previos de nuestro grupo caracterizan y confirman su existencia en la especie canina¹⁸. La presencia de alteraciones oculares se describe en los seres humanos enfermos^{11,12}. En veterinaria los reportes sobre afecciones oculares relacionados con la MGA son escasos, así como la aplicación de la técnica de los PEV para caracterizarlas.

Nuestro estudio de aplicación de PEV permitió identificar alteraciones en la transmisión

Tabla 2. Latencias de la onda P100 (PEV) en caninos antes y después del tratamiento con Bromuro de piridostigmina

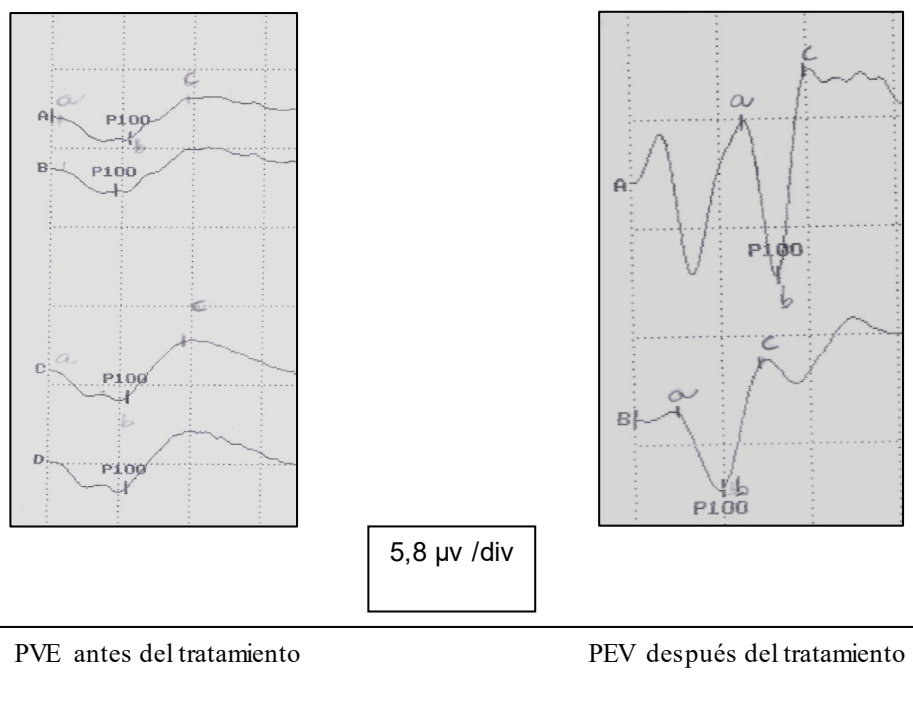
Paciente N°	Antes del tratamiento		Después del tratamiento	
	Ojo Derecho	Ojo Izquierdo	Ojo Derecho	Ojo Izquierdo
3	36,01	43,84	28,18	36,01
7	61,64	51,66	43,84	43,85
8	43,85	36,01	36,01	36,00
12	106,46	73,58	32,82	32,82
16	65,75	39,14	43,84	43,84
20	35,23	36,79	No se realizó	No se realizó

El valor de P100 se expresa en mseg y representa el promedio de las mediciones realizadas (VR hasta 120 con flash). OD: ojo derecho. OI: ojo izquierdo. El paciente N°20 no se repitieron los PEV ya que fueron conservados (normales) en la primera medición en ambos ojos.

Tabla 3. Amplitud de P100 (PEV) en caninos antes y después del tratamiento.

CANINO	OD a-b	OD b-c	OI a-b	OI b-c	OD a-b	OD b-c	OI a-b	OI b-c
3	2,3	3	3,1	4,6	3,32	7	4,99	8,5
7	1,33	2,08	3,02	1,08	4,33	4,7	3,2	4,8
8	2,29	3,7	2,1	4,8	9,2	17,4	8,7	12
12	2,83	2,68	1,77	1,69	4,2	3,1	2,1	1,9
16	8,3	10,8	4,01	5,6	11,2	19,8	11,7	13,3
20	6,2	9,1	10,14	10,49	ND	ND	ND	ND
Prom.	3,88	5,23	4,02	4,71	6,45	10,40	6,14	8,10
Desvío	2,74	3,73	3,10	3,36	3,52	7,66	3,99	4,79

P100 amplitud (VR: superior a $5,8\mu\text{V}$). Valores medidos de pico a pico (a-b y b-c). ND: no determinado.



PVE antes del tratamiento	PEV después del tratamiento
Derecho	Derecho
P 100= 36,01 ms ab= 2,3 μv; bc= 3 μv	P100 = 28,18 ms ab= 3,32 μv bc= 7 μv

Trazado de las ondas obtenidas en PEV correspondiente a un paciente representativo de los caninos estudiados. La amplitud de la onda P100 es medida en microvoltios (μv) y las latencias en milisegundos (ms). Cada división vertical corresponde a $5,8 \mu\text{v}$. Los PEV del ojo derecho (De) se obtuvieron en los canales a y b; del izquierdo (Iz) en los c y d.

Figura 1. Potenciales evocados visuales (paciente N°3). Hospital Escuela. FCV. UBA 2016-2017

neuromuscular del ojo. El período de latencia se mantuvo dentro de los parámetros normales, sin embargo, este período disminuyó significativamente después del tratamiento. Esta observación podría estar relacionada con una mejora visual. Algunos autores atribuyen el aumento del periodo de latencia con un proceso de desmielinización⁴.

En pacientes humanos con MG, Fotiou³ estudió los cambios en el procesamiento psicofisiológico de la visión, y describió las diferencias de la onda P100 antes y después del

tratamiento con Bromuro de piridostigmina, señalando que los resultados podrían ofrecer evidencia neurofisiológica de la transmisión colinérgica alterada en el sistema central. Nuestros resultados muestran que la amplitud de la onda P100 estaba disminuida en la mayoría de los pacientes y que se incrementó y normalizó luego del tratamiento. Esto indicaría la efectividad del tratamiento realizado dado que podría mejorar la transmisión del impulso nervioso en algunos pacientes⁴.

CONCLUSIONES

Lo hallado sugiere que los PEV ofrecen un método no invasivo para identificar los efectos centrales y la evolución terapéutica de la MG en caninos. Según reportes en medicina humana, la razón de esa alteración causada por la Miastenia Gravis aguda puede ser atribuida a una disfunción de receptores de acetilcolina en el SNC. Serán necesarias futuras investigaciones en Medicina veterinaria para poder confirmar si las variaciones en caninos son semejantes a las mencionadas en los seres humanos.

BIBLIOGRAFÍA

- Berrih-Aknin S, Frenkian-Cuvelier M, Eymard B. Diagnostic and clinical classification of autoimmune myasthenia gravis. *J Autoimmun* 2014;48-49:(143-148)
- Bexfield NH1, Watson PJ, Herrtage ME. Management of myasthenia gravis using cyclosporine in 2 dogs. *J Vet Intern Med.* 2006 Nov-Dec;20(6):1487-90.
- Fotiou,F; Fountoulakis,K. Evidence for a central cholinergic deficit in Myasthenia gravis. *J neuropsychiatry Clin Neurosci* 2000.(12:4)514-515
- Keeseey John C. Does myasthenia gravis affect the brain? *Review article Journal of the Neurological Sciences* 170 .1999 (77-89)
- Lennon VA, Lambert EH, Palmer AC, Cunningham J, Christie TR. Acquired and congenital myasthenia gravis in dogs: a study of 20 cases. In: Satoyoshi E, editor. *Myasthenia gravis: pathogenesis and treatment.* Tokyo: University of Tokyo Press; 1981. p. 51-4
- Nakayama, N., Arakawa, K. and Tarumoto, Y.. Visual function test in beagle with electro-physiological methods (ERG and VEP)—second report—. *Anim. Eye Res.* 1996 15: 148-154
- Richardson D. Acquired myasthenia gravis in a poodle. *Can Vet J.* 2011;52,2:(169-172)
- Silvestri NG, Wolfe GI. Myasthenia gravis. *Semin Neurol.* 2012; 32 (215-226)
- Shelton GD, Schule A, Kass PH. Risk factors for acquired myasthenia gravis in dogs: 1154 cases (1991-1995). *J Am Vet Med Assoc* 1997;211:1428-31
- Shelton GD, Willard MD, Cardinet IIIGH, Lindstrom J. Acquired myasthenia gravis. Selective involvement of esophageal, pharyngeal, and facial muscles. *J Vet Intern Med* 1990;4:281-4
- Shelton GD, Cardinet IIICH, Lindstrom JM. Canine and human myasthenia gravis autoantibodies recognize similar regions on the acetylcholine receptor. *Neurology* 1998;38:1417-23
- Shelton GD, Lindstrom JM. Spontaneous remission in canine myasthenia gravis: implications for assessing human MG therapies. *Neurology* 2001;57:2139-41
- Shelton GD: Canine seronegative acquired myasthenia gravis. *Proc 7th ACVIM Forum*1989.(999-1002)
- Shelton GD.Acquired Myasthenia gravis. *Journal Of Veterinary Internal Medicine.* November/December 1990. (281-284)
- Shelton D Myasthenia gravis and congenital myasthenic syndromes in dogs and cats:A history and mini-review *Neuromuscular Disorders* 26 (2016) 331-334
- Sims, MH.; Laratta, LJ. Visual Evoked Potentials in Cats using a light emitting diode stimulator. *Am J Res,* 1988. 49.(1876).
- Suraniti A. Caninos con síntomas de *miasthenia gravis*: diagnóstico, terapéutica y evolución *Tesis doctoral. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires.* 2015
- Surianiti A; Montoro,A; Gilardoni,L; Lopez,CM; Mieroski,A; Mundo,S. Perros con *miasthenia gravis* adquirida e hipotiroidismo.*Universidad de Zulia.* Venezuela. Revista Electrónica: Depósito Legal: / ISSN electrónico: 2477- 944X. ISSN 0798-2259. Marzo-abril 2018 (pág. 136-138)
- Tsivgoulis G, Dervenoulas G, Kokotis P, et al. Double seronegative myasthenia gravis with low density lipoprotein-4 (LRP4) antibodies presenting with isolated ocular symptoms. *J Neurol Sci* 2014;346;1-2:(328-330)
- Townsel,C;Keller, M ; Johnson,K ; Hussain,N Winston C Seronegative Maternal Ocular *Myasthenia Gravis* and Delayed Transient Neonatal *Myasthenia Gravis* *Am J Perinatol Rep* 2016;6:(133-136)