



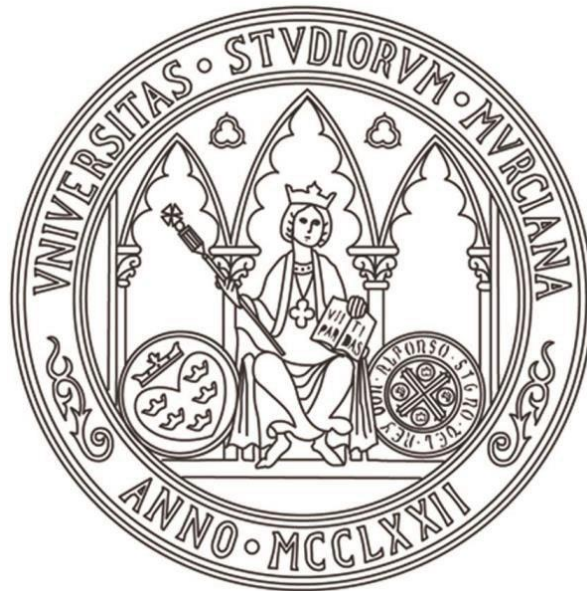
**UNIVERSIDAD DE MURCIA**  
**ESCUELA INTERNACIONAL DEL DOCTORADO**  
**TESIS DOCTORAL**

Avances en el estudio de biomarcadores en el líquido cefalorraquídeo canino y su relevancia en las meningoencefalitis de origen desconocido

**Dña. María Elena Verdú Serrano**

**2023**





**UNIVERSIDAD DE MURCIA**  
ESCUELA INTERNACIONAL DEL DOCTORADO  
TESIS DOCTORAL

Avances en el estudio de biomarcadores en el líquido cefalorraquídeo canino y su relevancia en las meningoencefalitis de origen desconocido

Autor: María Elena Verdú Serrano  
Director: Juan Diego García Martínez





**DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD  
DE LA TESIS PRESENTADA PARA OBTENER EL TÍTULO DE DOCTOR**

*Aprobado por la Comisión General de Doctorado el 19-10-2022*

D./Dña. María Elena Verdú Serrano

doctorando del Programa de Doctorado en

Ciencias Veterinarias

de la Escuela Internacional de Doctorado de la Universidad Murcia, como autor/a de la tesis presentada para la obtención del título de Doctor y titulada:

Avances en el estudio de biomarcadores en el líquido cefalorraquídeo canino y su relevancia en las meningoencefalitis de origen desconocido

y dirigida por,

D./Dña. Juan Diego García Martínez

D./Dña.

D./Dña.

**DECLARO QUE:**

La tesis es una obra original que no infringe los derechos de propiedad intelectual ni los derechos de propiedad industrial u otros, de acuerdo con el ordenamiento jurídico vigente, en particular, la Ley de Propiedad Intelectual (R.D. legislativo 1/1996, de 12 de abril, por el que se aprueba el texto refundido de la Ley de Propiedad Intelectual, modificado por la Ley 2/2019, de 1 de marzo, regularizando, aclarando y armonizando las disposiciones legales vigentes sobre la materia), en particular, las disposiciones referidas al derecho de cita, cuando se han utilizado sus resultados o publicaciones.

*Si la tesis hubiera sido autorizada como tesis por compendio de publicaciones o incluyese 1 o 2 publicaciones (como prevé el artículo 29.8 del reglamento), declarar que cuenta con:*

- La aceptación por escrito de los coautores de las publicaciones de que el doctorando las presente como parte de la tesis.*
- En su caso, la renuncia por escrito de los coautores no doctores de dichos trabajos a presentarlos como parte de otras tesis doctorales en la Universidad de Murcia o en cualquier otra universidad.*

Del mismo modo, asumo ante la Universidad cualquier responsabilidad que pudiera derivarse de la autoría o falta de originalidad del contenido de la tesis presentada, en caso de plagio, de conformidad con el ordenamiento jurídico vigente.

En Murcia, a 21 de Marzo de 2023

Fdo.: María Elena Verdú Serrano

*Esta DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD debe ser insertada en la primera página de la tesis presentada para la obtención del título de Doctor.*

Información básica sobre protección de sus datos personales aportados	
Responsable:	Universidad de Murcia. Avenida teniente Flomesta, 5. Edificio de la Convalecencia. 30003; Murcia. Delegado de Protección de Datos: dpd@um.es
Legitimación:	La Universidad de Murcia se encuentra legitimada para el tratamiento de sus datos por ser necesario para el cumplimiento de una obligación legal aplicable al responsable del tratamiento. art. 6.1.c) del Reglamento General de Protección de Datos
Finalidad:	Gestionar su declaración de autoría y originalidad
Destinatarios:	No se prevén comunicaciones de datos
Derechos:	Los interesados pueden ejercer sus derechos de acceso, rectificación, cancelación, oposición, limitación del tratamiento, olvido y portabilidad a través del procedimiento establecido a tal efecto en el Registro Electrónico o mediante la presentación de la correspondiente solicitud en las Oficinas de Asistencia en Materia de Registro de la Universidad de Murcia



# **Agradecimientos**

---

## Agradecimientos

Nunca te quejes de nadie, ni de nada, porque fundamentalmente tú has hecho lo que querías en tu vida.

Acepta la dificultad de edificarte a ti mismo y el valor de empezar corrigiéndote. El triunfo del verdadero hombre surge de las cenizas de su error.

Nunca te quejes de tu soledad o de tu suerte, enfréntala con valor y acéptala. De una manera u otra es el resultado de tus actos y pruebas que tú siempre has de ganar.

No te amargues de tu propio fracaso ni se lo cargues a otro, acéptate ahora o seguirás justificándote como un niño. Recuerda que cualquier momento es bueno para comenzar y que ninguno es tan terrible para claudicar.

No olvides que la causa de tu presente es tu pasado, así como la causa de tu futuro será tu presente.

Aprende de los audaces, de los fuertes, de quien no acepta situaciones, de quien vivirá a pesar de todo, piensa menos en tus problemas y más en tu trabajo y tus problemas sin eliminarlos morirán.

Aprende a nacer desde el dolor y a ser más grande que el más grande de los obstáculos, mírate en el espejo de ti mismo y serás libre y fuerte y dejarás de ser un títere de las circunstancias porque tú mismo eres tu destino.

Levántate y mira el sol por las mañanas y respira la luz del amanecer. Tú eres parte de la fuerza de tu vida, ahora despiértate, lucha, camina, decídete y triunfarás, en la vida; nunca pienses en la suerte, porque la suerte es: el pretexto de los fracasados.

**Pablo Neruda.**

---



## Agradecimientos

En primer lugar, me gustaría darle las gracias a mi director de tesis, Juan Diego, por estar siempre ahí, sobre todo, en los últimos momentos de este proyecto, cuando el teléfono no paraba de sonar, ultimando los detalles finales para que todo quedara perfecto. Gracias por tu apoyo incondicional.

Al Hospital Clínico Veterinario de la Universidad de Murcia y a la Facultad de Veterinaria, por haberme dado la formación que me ha permitido llegar hasta aquí.

Al Servicio de Neurología del Hospital Clínico Vetsia, por su colaboración en el estudio, facilitándonos la realización de éste. Y, en especial, a Isidro, como neurólogo de este centro, que se ha puesto a nuestra disposición para todo lo que necesitésemos.

A los técnicos de laboratorio, Susana y Luis, del Hospital Clínico Veterinario de la Facultad de Veterinaria, por ayudarme con el manejo y catalogación de las muestras, ayudándome a resolver cualquier duda.

A Alberto Muñoz, por ayudarme a comprender mejor la importancia de la estadística, a introducirla en este estudio de manera natural y a comprender que ciertos detalles hacen que una tesis sea más interesante que la mejor de las novelas.

A Irene, por apoyarme y ayudarme en la realización de todos los pasos burocráticos necesarios para permitir que esta tesis se haya podido publicar.

A mi familia: mis padres, hermanos, abuelos, tíos, primos y a los que ya no están aquí, pero que siempre están con nosotros. Por enseñarme los valores que me han ayudado a seguir adelante durante estos duros años y a seguir luchando para poder ver este sueño por fin cumplido, y poder tener en mis manos el fruto de tanto años de trabajo y esfuerzo.

A mi madre, Elena, por haberme dado la vida, y por haber luchado y haber hecho todo lo que estaba en su mano, para que sus hijos pudieran ser felices, alcanzar sus sueños y cumplir sus metas.

A mi tía Virginia, por darme una perspectiva desde fuera de la situación y ayudarme a reflexionar y ver las cosas desde otro punto de vista.

---

## Agradecimientos

A Eli, por haber estado pendiente de mi durante este tiempo, interesándose y preocupándose de que todo saliera bien, no sabes todo lo que me has demostrado en tan poco tiempo. Gracias, de corazón.

A Hugo, mi cuñado, por tu apoyo y por intentar ayudarme a poder terminar este proyecto más rápido. A veces la vida nos pone situaciones difíciles delante para enseñarnos una gran lección y que nos hagamos más fuertes al enfrentarlas.

Al destino, por haberme enseñado los pasos y las señales adecuadas para poder llegar a este momento.

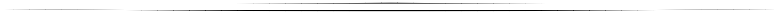
Y, sobre todo, gracias a ti, Cesco, por ser mi piedra angular. Por estar a mi disposición siempre que te he necesitado, sobre todo, en los momentos de más estrés, cuando la tensión se respiraba en el ambiente y, con dos palabras tuyas, me sacabas una sonrisa y me devolvías a la realidad. Estoy segura de que, sin ti, todo este proceso habría sido mucho más difícil, por no decir, prácticamente imposible. Gracias por existir y por haberte cruzado en mi camino.

Este trabajo está dedicado a mi abuela Loli, a mi madre, a mí padre; desde donde me estés viendo, al segundo padre que me ha regalado esta vida, Alfonso, a mis hermanos; Rocío y Alfonsito, a mi tía Virginia, pero especialmente te lo decido a ti, Cesco; por hacerme tremendamente más fácil de lo que esperaba todo este proceso y ayudarme a ver lo maravillosa que es la vida, ahora que tú estás a mi lado.

Gracias, gracias, gracias.

---

# Índice



# Índice

Agradecimientos.....	1
Índice.....	1
Índice de figuras y tablas.....	4
• Figuras.....	5
• Tablas.....	8
Resumen.....	9
Summary.....	12
Introducción.....	15
Objetivos.....	20
Revisión bibliográfica.....	22
• El sistema nervioso central y sus componentes.....	23
• La barrera hematoencefálica y su función.....	32
• Las enfermedades inflamatorias del SNC y las MOD.....	37
• Tipos de MOD.....	41
• Características y funciones del líquido cefalorraquídeo.....	53
• Obtención de las muestras de LCR.....	55
• Análisis del líquido cefalorraquídeo.....	65
• Utilidad del líquido cefalorraquídeo.....	74
• Parámetros medidos en el LCR.....	77
Material y métodos.....	97
• Comité de Ética y Experimentación.....	98
• Población utilizada para el estudio.....	98
• Criterios de inclusión.....	99
• Criterios de exclusión.....	100

## Índice

• Grupo control (Grupo A) .....	101
• Grupo problema sin corticoides (Grupo B) .....	102
• Grupo problema con corticoides (Grupo C) .....	104
• Técnicas y tipo de ensayo para la medición .....	105
• Estadística .....	116
Resultados .....	117
• Parámetros que fueron detectados con alteraciones estadísticamente significativas en el LCR .....	118
• Parámetros que fueron detectados sin alteraciones estadísticamente significativas en el LCR .....	119
• Parámetros que no se pudieron medir en el LCR.....	120
• Diferencias observadas entre el grupo B y grupo A .....	121
• Diferencias observadas entre el grupo C y el grupo A .....	122
• Diferencias observadas entre el grupo B y el grupo C respecto al grupo A	123
• Diferencias observadas entre el grupo B y el grupo C .....	126
Discusión.....	127
• Parámetros alterados en animales con MOD .....	129
• Parámetros medidos sin significancia estadística en animales con MOD	136
• Parámetros no detectados en líquido cefalorraquídeo canino.....	138
• Influencia del tratamiento con glucocorticoides en perros con MOD .....	140
Conclusiones.....	141
Bibliografía .....	143
Abreviaturas .....	188
Anexos .....	194

## Índice

- Grupo Control ..... 195
- Grupo problema.....204
- Grupo problema con corticoides.....218

# **Índice de figuras y tablas**

---

- Figuras

<b>Figura 1.</b> Localización del encéfalo y de la médula espinal.....	23
<b>Figura 2.</b> Disposición sustancia gris y sustancia blanca en el encéfalo y en la médula espinal.....	24
<b>Figura 3.</b> Vista lateral de las divisiones anatómicas del encéfalo.....	26
<b>Figura 4.</b> Vista ventral de las divisiones anatómicas del encéfalo.....	26
<b>Figura 5.</b> Organización de los segmentos medulares en la médula espinal.....	27
<b>Figura 6.</b> Corte transversal de un segmento medular.....	28
<b>Figura 7.</b> Sistema ventricular.....	29
<b>Figura 8.</b> Distribución de las meninges en el encéfalo.....	30
<b>Figura 9.</b> Distribución de las meninges en la médula espinal.....	30
<b>Figura 10.</b> Imagen necropsia de la piamadre y la aracnoides en el encéfalo.....	31
<b>Figura 11.</b> Imagen necropsia de la duramadre en el encéfalo.....	31
<b>Figura 12.</b> Elementos que componen la BHE.....	33
<b>Figura 13.</b> Localización de las vellosidades aracnoideas.....	54
<b>Figura 14.</b> Puntos de referencia para la extracción de LCR a través de la CM.....	58
<b>Figura 15.</b> Puntos de referencia alternativos de la CM.....	59
<b>Figura 16.</b> Recolección de LCR de la CM.....	60
<b>Figura 17.</b> Extracción de LCR de la CL.....	62



## Índice de figuras y tablas

<b>Figura 18.</b> Localización de la CL.....	62
<b>Figura 19.</b> Recolección de LCR de la CL.....	63
<b>Figura 20.</b> Muestras de LCR.....	63
<b>Figura 21.</b> LCR turbio.....	66
<b>Figura 22.</b> LCR hemorrágico, normal y xantocrómico.....	66
<b>Figura 23.</b> Cámara de Neubauer.....	68
<b>Figura 24.</b> Cámara de Fuchs-Rosenthal.....	68
<b>Figura 25.</b> Citocentrífuga.....	69
<b>Figura 26.</b> Cámara de sedimentación de fabricación casera.....	70
<b>Figura 27.</b> Analizador automático de bioquímica Olympus AU600®.....	105
<b>Figura 28.</b> Interior del analizador automático de bioquímica Olympus AU600®.....	105
<b>Figuras 29 y 30.</b> RM muestra 20.....	195
<b>Figuras 31,32 y 33.</b> RM muestra 21.....	196
<b>Figuras 34, 35 y 36.</b> RM muestra 11.....	197
<b>Figuras 37 y 38.</b> RM muestra 18.....	198
<b>Figura 39.</b> RM muestra 35.....	199
<b>Figuras 40, 41 y 42.</b> RM muestra 30.....	200
<b>Figuras 43 y 44.</b> RM muestra 46.....	201
<b>Figuras 45 y 46.</b> RM muestra 3.....	202

## Índice de figuras y tablas

<b>Figuras 47 y 48.</b> RM muestra 17.....	203
<b>Figuras 49-52.</b> RM muestra 60.....	205
<b>Figuras 53-57.</b> RM muestra 41.....	207
<b>Figuras 58-61.</b> RM muestra 59.....	209
<b>Figuras 62, 63 y 64.</b> RM muestra 10.....	211
<b>Figuras 65 y 66.</b> RM muestra 4.....	213
<b>Figuras 67, 68 y 69.</b> RM muestra 38.....	214
<b>Figuras 70-73.</b> RM muestra 8.....	216
<b>Figura 74.</b> RM muestra 23.....	217
<b>Figuras 75-80.</b> RM muestra 9.....	219
<b>Figuras 81, 82 y 83.</b> RM muestra 15.....	221
<b>Figuras 84,85 y 86.</b> RM muestra 34.....	223
<b>Figuras 87,88 y 89.</b> RM muestra 39.....	225
<b>Figuras 90 y 91.</b> RM muestra 47.....	227
<b>Figuras 92, 93 y 94.</b> RM muestra 52.....	228
<b>Figura 95.</b> RX cervical muestra 27.....	231
<b>Figura 96.</b> RX cervical ventroflexión muestra 27.....	231
<b>Figura 97.</b> TC muestra 27.....	230
<b>Figura 98.</b> RM muestra 27.....	230

- Tablas

<b>Tabla 1.</b> Entidades clínicas para las siglas VITAMIND.....	17
<b>Tabla 2.</b> Resumen de terapias inmunomoduladoras para MOD.....	44
<b>Tabla 3.</b> Datos de los animales que forman el grupo control (Grupo A).....	101
<b>Tabla 4.</b> Datos de los animales que forman el grupo problema (Grupo B).....	103
<b>Tabla 5.</b> Datos de los animales que forman el grupo problema con corticoides (Grupo C).....	104
<b>Tabla 6.</b> Resultados de los parámetros medidos en LCR.....	120
<b>Tabla 7.</b> Análisis estadístico de los parámetros detectados en LCR de perros sanos (Grupo A) y perros con MOD (Grupo B).....	121
<b>Tabla 8.</b> Análisis estadístico de los parámetros detectados en LCR de perros sanos (Grupo A) y perros con MOD tratados con corticoides (Grupo C).....	122
<b>Tabla 9.</b> Análisis estadístico de los parámetros detectados en LCR de perros sanos (Grupo A), perros con MOD (Grupo B) y perros con MOD tratados con corticoides (Grupo C)....	124
<b>Tabla 10.</b> Análisis estadístico de las diferencias y similitudes observadas en los parámetros detectados en LCR de perros con MOD (grupo B) y perros con MOD tratados con corticoides (grupo C).....	125

# **Resumen**

---

**Antecedentes:** Las enfermedades inflamatorias del sistema nervioso central (SNC), en perros, son procesos difíciles de diagnosticar por la estructura de este órgano y por el bajo porcentaje de casos que se observan en la clínica. Las pruebas de imagen y el análisis del líquido cefalorraquídeo (LCR) son fundamentales para su diagnóstico. En perros con meningoencefalitis de etiología desconocida (MOD), sólo es posible el diagnóstico definitivo de estos animales, de manera postmortem, ya que la resonancia magnética (RM) y el análisis del LCR son incapaces de ofrecer un diagnóstico definitivo, ni de distinguir entre los distintos subtipos de MOD. Por este motivo se ha medido un panel de 26 parámetros (proteínas totales, creatinina, urea, calcio, fósforo, UIBC, hierro, ferritina, amilasa, CK, ALT, LDH, colesterol, triglicéridos, ALP, GGT, AST, glucosa, proteína C reactiva, haptoglobina, ADA, TIOL, CUPRA, TEA, ACHE y BCHE) en LCR, para buscar biomarcadores, que ayuden al diagnóstico precoz y a la distinción entre los subtipos, en los animales que padecen este tipo de patologías.

**Material y métodos:** Los animales de este estudio se dividieron en: grupo control (grupo A), compuesto por animales con epilepsia idiopática y grupo problema, que se subdividió en dos: perros con MOD (grupo B) y perros con MOD tratados con glucocorticoides (grupo C). Se obtuvo una RM y análisis rutinario de LCR en todos ellos, descartándose las meningoencefalitis de origen infeccioso en los animales que presentaban MOD. La medición de los parámetros en LCR se realizó mediante un analizador automático de bioquímica. Para realizar el estudio comparativo entre grupos (grupo control, grupo problema y grupo problema con corticoides) se aplicó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, seguido del test de Dunn para comparaciones múltiples.

**Resultados:** Tras la medición de los 26 parámetros se observó que 19 pudieron ser detectados en LCR canino (proteínas totales, creatinina, urea, calcio, fósforo, ferritina, amilasa, colesterol, triglicéridos, LDH, AST, GGT, glucosa, CRP, ADA, CUPRA, TEA, ACHE y BCHE) mostrando algunos de ellos alteraciones estadísticamente significativas entre los grupos, mientras que en otros parámetros no fue posible su medición (UIBC, hierro, CK, ALT, ALP, haptoglobina y TIOL).

## Resumen

**Discusión:** La utilidad de biomarcadores para el diagnóstico precoz de enfermedades inflamatorias del SNC, es la tendencia en medicina humana. Estos biomarcadores no sólo se han utilizado para el diagnóstico precoz, sino también para ofrecer un pronóstico e incluso monitorizar la efectividad de determinados tratamientos. En el caso de las MOD, hasta ahora no hay estudios con una información relevante que sea capaz de solventar el gran inconveniente de no poder obtener un diagnóstico definitivo de estas patologías, que no sea de manera postmortem. Ni que ayude a que el diagnóstico de los distintos subtipos de éstas deje de realizarse de manera presuntiva. La medición de un panel de analitos ha resultado de utilidad, al observarse valores diferentes en parámetros del LCR entre el grupo control y el grupo problema. Estos resultados podrían tener utilidad como marcadores tempranos de esta patología, ayudando a la distinción entre los diferentes subtipos de MOD e incluso podrían ser de utilidad para el pronóstico de la enfermedad y el seguimiento de los animales que se encuentren bajo tratamiento.

**Conclusiones:** Existen analitos en LCR que varían en perros con epilepsia idiopática y perros con MOD que podrían utilizarse como biomarcadores de estas patologías. Además, otros analitos son detectables en LCR canino, pero no varían en perros con epilepsia idiopática y perros con MOD. Finalmente, otros parámetros no se pudieron detectar en el LCR de los perros incluidos en este estudio y debería considerarse su medición utilizando otras técnicas analíticas más sensibles. La administración de glucocorticoides varía los resultados obtenidos en el LCR, hecho que debe considerarse para la correcta interpretación de estos analitos en perros tratados con estos fármacos.

# Summary

---

## Summary

**Background:** Inflammatory diseases of the central nervous system (CNS), in dogs, are difficult processes to diagnose due to the structure of this organ and the low percentage of cases observed in the clinic. Imaging tests and cerebrospinal fluid (CSF) analysis are essential for diagnosis. In dogs with meningoencephalitis of unknown etiology (MOU), definitive diagnosis of these animals is only possible postmortem, since magnetic resonance imaging (MRI) and CSF analysis are unable to provide a definitive diagnosis, nor to distinguish between the different subtypes of MOU. For this reason, a panel of 26 parameters was measured (total protein, creatinine, urea, calcium, phosphorus, UIBC, iron, ferritin, amylase, CK, ALT, LDH, cholesterol, triglycerides, ALP, GGT, AST, glucose, C-reactive protein, haptoglobin, ADA, TIOL, CUPRA, TEA, ACHE and BCHE) in CSF, to search for biomarkers, which help early diagnosis and distinction between subtypes, in animals suffering from this type of pathologies.

**Material and methods:** The animals in this study were divided into: control group (group A), composed of animals with idiopathic epilepsy and problem group, which was subdivided into two: dogs with MOU (group B) and dogs with MOU treated with glucocorticoids (group C). MRI and routine CSF analysis were obtained in all of them, ruling out meningoencephalitis of infectious origin in the animals with MOU. CSF parameters were measured using an automatic biochemistry analyzer. To perform the comparative study between groups (control group, problem group and problem group with corticoids), the Kruskal-Wallis nonparametric test was applied, followed by Dunn's test for multiple comparisons.

**Results:** After measurement of the 26 parameters it was observed that 19 could be detected in canine CSF (total proteins, creatinine, urea, calcium, phosphorus, ferritin, amylase, cholesterol, triglycerides, LDH, AST, GGT, glucose, CRP, ADA, CUPRA, TEA, ACHE and BCHE) showing some of them statistically significant alterations between groups, while in other parameters their measurement was not possible (UIBC, iron, CK, ALT, ALP, haptoglobin and TIOL).



## Summary

**Discussion:** The use of biomarkers for the early diagnosis of inflammatory diseases of the CNS is a trend in human medicine. These biomarkers have not only been used for early diagnosis, but also to provide a prognosis and even to monitor the effectiveness of certain treatments. In the case of MOU, so far there are no studies with relevant information that would be able to solve the major drawback of not being able to obtain a definitive diagnosis of these pathologies, other than postmortem. Nor that would help to stop the diagnosis of the different subtypes of these diseases from being made in a presumptive manner. The measurement of a panel of analytes has been useful, as different values in CSF parameters were observed between the control group and the problem group. These results could be useful as early markers of this pathology, helping to distinguish between the different subtypes of MOU and could even be useful for the prognosis of the disease and the follow-up of the animals under treatment.

**Conclusions:** There are CSF analytes that vary in dogs with idiopathic epilepsy and dogs with MOU that could be used as biomarkers of these pathologies. In addition, other analytes are detectable in canine CSF, but do not vary in dogs with idiopathic epilepsy and dogs with MOU. Finally, other parameters could not be detected in the CSF of the dogs included in this study and their measurement using other more sensitive analytical techniques should be considered. The administration of glucocorticoids varies the results obtained in CSF, a fact that should be considered for the correct interpretation of these analytes in dogs treated with these drugs.

# **Introducción**

---

## Introducción

La presentación de pacientes neurológicos en la consulta veterinaria supone con frecuencia un reto complicado para la clínica de pequeños animales. La neurología posee muchas particularidades que hacen que los casos clínicos puedan resultar difíciles o complejos. Conocer las peculiaridades de la neurología y seguir un método adecuado con el paciente son la clave del éxito en la resolución de los casos neurológicos (Morales & Montoliu, 2012).

La estructura y funcionamiento del sistema nervioso (SN) son diferentes a cualquier otro órgano o sistema y, en general poco conocidos. Además, la incidencia de problemas neurológicos es baja y los clínicos suelen estar poco habituados a tratar con ellos (Gernone et al., 2022).

Los pacientes neurológicos sufren a menudo cuadros clínicos desagradables y desconcertantes para el propietario, donde el manejo puede ser complicado debido a la presencia de dolor, de posturas particulares o comportamientos anormales. Además, en neurología se barajan con frecuencia pronósticos reservados o desfavorables, donde es necesario una actuación inmediata y adecuada para mejorar la resolución del caso y la supervivencia del paciente (Orlandi et al., 2020).

En base a todas estas connotaciones se deriva la necesidad de un abordaje específico y protocolarizado de los casos. (Pierce & Albert, 2022).

El diagnóstico diferencial en los pacientes neurológicos también está protocolarizado, y se basa en el acrónimo VITAMIND, donde cada una de sus letras corresponde a la inicial de una etiología o entidad clínica determinada (Tabla 1). La aplicación de las diferentes enfermedades bajo entidades comunes se justifica desde un punto de vista histórico debido a la ausencia inicial de pruebas para explorar el sistema nervioso central, lo que requería de una precisión mayor en el diagnóstico diferencial limitándose principalmente a la anamnesis y la exploración (Tappin et al., 2011).

## Introducción

<b>Protocolo VITAMIND</b>	<b>Inicio</b>	<b>Curso</b>
<b>Vascular</b>	Agudo	No progresivo
<b>Inflamatorio-infeccioso</b>	Crónico/Agudo	Progresivo
<b>Traumático</b>	Agudo	No progresivo
<b>Anomalía congénita</b>	Crónico	Progresivo/No progresivo
<b>Metabólico</b>	Crónico/Agudo	Insidioso/Progresivo
<b>Idiopático</b>	Según enfermedad	Según enfermedad
<b>Neoplásico</b>	Crónico	Progresivo
<b>Degenerativo</b>	Crónico	Progresivo

Tabla 1. Tabla resumen de las entidades clínica para las siglas VITAMIND

La lista de entre los posibles diagnósticos diferenciales se ordenarán por orden de probabilidad dependiendo de la edad del animal y raza, encabezada por las enfermedades más probables y acabada por las menos probables. Las enfermedades inflamatorias son la segunda causa más probable de diagnóstico diferencial en los pacientes neurológicos, por lo que el porcentaje de pacientes que se presentan en la clínica con patologías inflamatorias del SNC es estadísticamente más elevado que para otro tipo de entidades clínicas (Kipar et al., 1998).

## Introducción

Las enfermedades inflamatorias del SNC son un grupo heterogéneo, que engloba a múltiples enfermedades. Incluye a las inflamaciones de etiología infecciosa y a las no infecciosas o de origen inmunomediado, que son denominadas “de etiología desconocida”. (J. N. Nessler et al., 2021).

En estas enfermedades inflamatorias de etiología desconocida (MOD), en las que los hallazgos clínicos sugieren una etiología no infecciosa, pero no se ha llegado al diagnóstico definitivo histopatológico, las pruebas complementarias de diagnóstico por imagen y; la obtención y recolección del líquido cefalorraquídeo (LCR) son fundamentales para llegar al diagnóstico presuntivo (Cornelis et al., 2019).

Aunque se han investigado múltiples marcadores para el diagnóstico de este tipo de patologías, el diagnóstico definitivo, en la actualidad, se basa esencialmente en la histopatología postmortem. Actualmente se están investigando diferentes marcadores para ayudar al diagnóstico de este tipo de procesos. Las proteínas de fase aguda, como la proteína C reactiva, ha resultado útil en el diagnóstico de meningitis sensible a los esteroides, así como de otras afecciones inflamatorias sistémicas (Andersen-Ranberg et al., 2021).

También la proteína ácida fibrilar glial (GFAP) parece ser un buen marcador de encefalitis de perros, particularmente en los de la raza Carlino (Shibuya et al., 2007).

Los marcadores de diagnóstico propuestos a menudo carecen de especificidad para hacer un diagnóstico clínico de MOD, y aún menos para distinguir entre los diferentes subtipos de MOD. La búsqueda de biomarcadores en LCR, para conseguir un diagnóstico en las enfermedades inflamatorias de etiología desconocida o que ayude a distinguir entre los diferentes subtipos de éstas se ha convertido en un reto (Andersen-Ranberg et al., 2021).

## Introducción

En las meningoencefalitis de origen desconocido, al verse afectadas las estructuras que forman parte del encéfalo y del sistema meníngeo, es lógico pensar que la medición de ciertos parámetros en el líquido cefalorraquídeo puede verse afectada. Por lo tanto, encontrar biomarcadores de estas patologías en LCR, que incluso pudieran ofrecernos un diagnóstico precoz de las mismas podría suponer una mejoría importante en la calidad de vida de estos pacientes, al poder implantarse un tratamiento paliativo antes de que la sintomatología asociada a estos procesos deteriore gravemente el estado del animal y de su propietario (Andersen-Ranberg et al., 2021).

# Objetivos

---

## Objetivos

Con el fin de recabar una mayor información sobre las patologías del SNC en pequeños animales, y más concretamente en animales con MOD, se ha medido un panel de analitos en el LCR, con la hipótesis de que puedan aportar información de relevancia sobre este tipo de patologías y ayudar a un diagnóstico temprano de las mismas.

Los objetivos de este estudio son dos:

1. Valorar que analitos se pueden medir en el líquido cefalorraquídeo de perros con meningoencefalitis de origen desconocido.
2. Estudiar la existencia de alteraciones en diferentes parámetros, en animales con meningoencefalitis de origen desconocido, con el fin de valorar si estos parámetros podrían considerarse biomarcadores de la enfermedad, ayudar a un diagnóstico definitivo de las enfermedades inflamatorias de etiología desconocida, distinguir entre los subtipos de éstas o incluso ayudar a obtener un diagnóstico precoz de la misma.

Nuestra hipótesis de trabajo es que se van a encontrar alteraciones en diferentes parámetros en el LCR de perros con MOD.



# **Revisión bibliográfica**

---

- **El sistema nervioso central y sus componentes**

El sistema nervioso central está formado por una red tisular altamente especializada, que se encarga de recibir diferentes informaciones y desencadenar las respuestas adecuadas para adaptar al organismo a su situación y necesidades. Según el tipo de estímulo recibido y el nivel neuroanatómico donde se integre, se aprecian respuestas reflejas o conscientes, que modifican tanto funciones vegetativas como somáticas. Este tejido nervioso contiene dos tipos celulares principales: las neuronas y las células de sostén (Morales & Montoliu, 2012).

Anatómicamente el SNC está formado por el encéfalo y la médula espinal (Figura 1). Ambos se encuentran protegidos por una envoltura ósea, en concreto, por el cráneo y la columna vertebral respectivamente. Además, el SNC está recubierto por tres membranas denominadas meninges. Desde un punto de vista macroscópico, en un corte transversal se diferencian la sustancia gris y la sustancia blanca (Poada et al., 2021):

- **Sustancia gris:** Se corresponde con cúmulos de somas neuronales y es de aspecto grisáceo, motivo por el cual se denomina así.
- **Sustancia blanca:** Se corresponde con grupos de fibras y es de aspecto blanquecino, debido a su elevado contenido en mielina.

Tanto en el encéfalo como en la médula espinal, la sustancia gris y blanca se distribuyen en una disposición particular y característica (Klinck et al., 2017) (Figura 2).

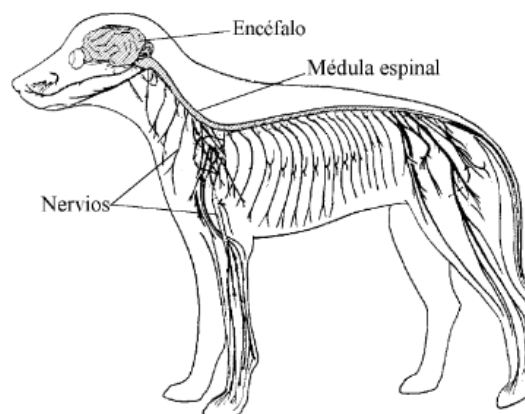


Figura 1. Localización del encéfalo y la medula espinal.

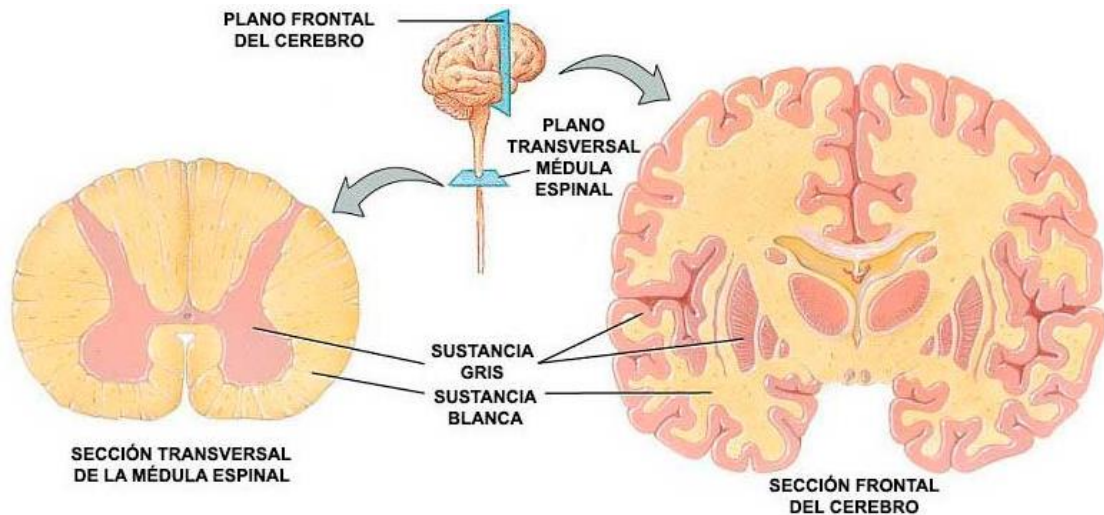


Figura 2. Disposición de la sustancia gris y la sustancia blanca en el encéfalo y en la médula espinal.

## **Encéfalo**

El encéfalo es la porción intracraneal del SNC. Presenta tres divisiones anatómicas principales: cerebro, cerebelo y tronco del encéfalo. Aunque conforman una estructura indivisible y están necesariamente interrelacionadas, se tratan de forma independiente (Aige, 2002) (Figuras 3 y 4):

- **Cerebro:** También llamado telencéfalo, es la porción más rostral del encéfalo. Está formado por dos hemisferios cerebrales, conectados entre ellos y unidos al tronco del encéfalo. La corteza cerebral tiene funciones de asociación sensitiva y motora, presenta múltiples pliegues o circunvoluciones, separados por surcos, lo que permite aumentar la superficie cortical (King, 1999).
- **Cerebelo:** Ocupa una posición caudal en el encéfalo, situado sobre el tronco del encéfalo y bajo el tentorio. Está formado por un vermis (porción central impar) y dos hemisferios cerebelosos (porciones laterales). La corteza también presenta numerosos pliegues y fisuras que separan diferentes lóbulos. En la base del cerebelo se encuentran los pedúnculos cerebelosos que conectan el cerebelo con el tronco del encéfalo. Los pedúnculos cerebelosos rostrales lo unen al mesencéfalo, los medios al puente y los caudales a la médula oblongada (Moro et al., 2003).

- **Tronco del encéfalo:** Es la porción del encéfalo que ocupa la fosa medial y caudal del cráneo. En el tronco del encéfalo existe una red entrecruzada de sustancia gris y sustancia blanca, llamada por su aspecto formación reticular, que se reconoce principalmente en la porción central de éste. Las divisiones anatómicas del tronco del encéfalo de rostral a caudal son: diencefalo, mesencefalo, puente y médula oblongada (Pesini et al., 2004).
  - Diencefalo: Es la porción más rostral del tronco del encéfalo. Aunque corresponde anatómicamente al tronco del encéfalo, algunos signos clínicos derivados de las lesiones diencefálicas son similares a los de las lesiones cerebrales, por lo que clínicamente se habla con frecuencia de localizaciones o signos prosencefálicos (Hintzen et al., 2018). El prosencefalo corresponde al cerebro y al diencefalo conjuntamente.
  - Mesencefalo: Se sitúa entre el diencefalo y el puente, y conecta con el cerebelo mediante los pedúnculos cerebelosos rostrales. Se distingue anatómicamente una porción dorsal (tecto o techo) y una porción ventral (pedúnculos cerebrales). El techo presenta cuatro prominencias llamadas colículos. Los colículos rostrales forman parte de las vías visuales, mientras que los colículos caudales forman parte de las vías auditivas (King, 1999).
  - Puente: También llamado metencefalo, se sitúa entre el mesencefalo y la médula oblongada, y conecta con el cerebelo mediante los pedúnculos cerebelosos medios. Se distinguen anatómicamente una porción dorsal o tegmento y una porción ventral. El tegmento corresponde al suelo del cuarto ventrículo (Aige, 2002).
  - Médula oblongada: También llamada mielencefalo, es la porción más caudal del tronco del encéfalo y se continua con la médula espinal en su salida por el agujero magno. Conecta con el cerebelo a través de los pedúnculos cerebelosos caudales. Se distinguen dorsalmente el tegmento y ventralmente las pirámides (Hayashi et al., 1987).

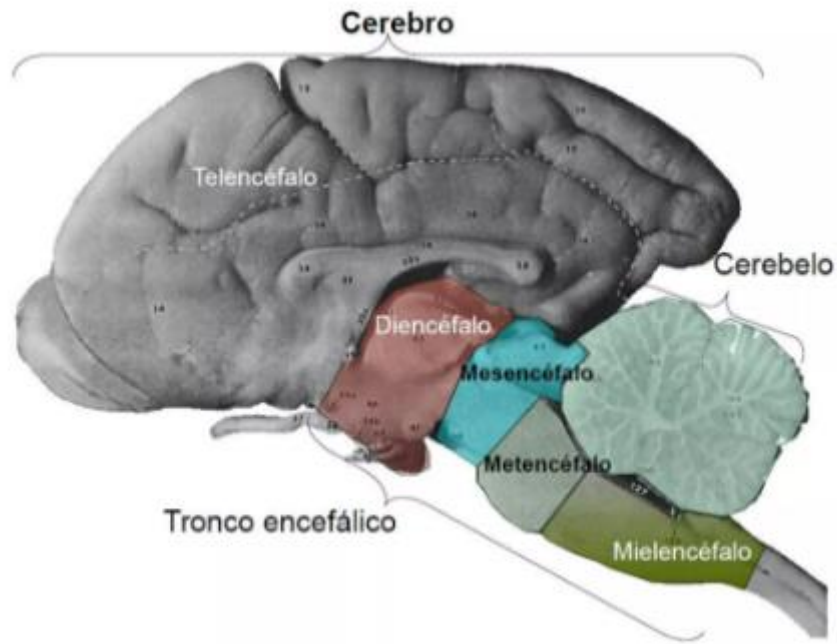


Figura 3. Vista lateral de las divisiones anatómicas del encéfalo.

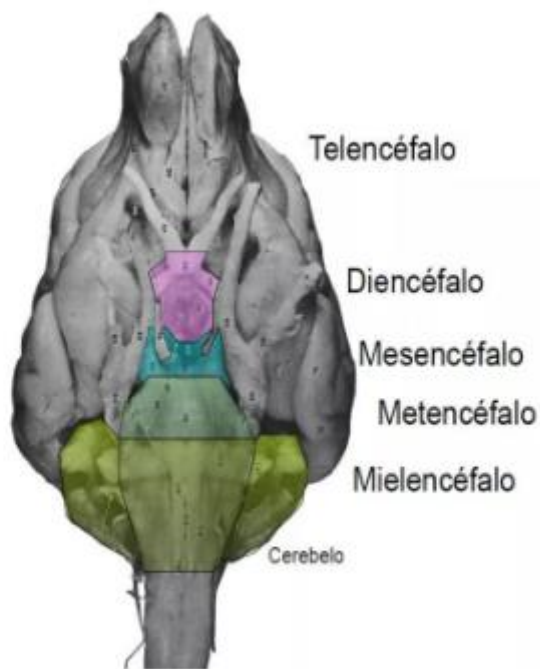


Figura 4. Vista ventral de las divisiones anatómicas del encéfalo.

## Médula espinal

La médula espinal es la parte del SNC protegida por la columna vertebral. Se sitúa en el interior del canal vertebral, como la continuación de la médula oblongada a través del agujero magno y hasta alcanzar las últimas vértebras lumbares o sacras (R. Platt & J. Olby, 2008).

La médula espinal es una estructura cilíndrica con un ligero aplanamiento dorsoventral, que presenta dos engrosamientos (intumescencias) y finaliza caudalmente en un estrechamiento cónico (cono medular). Presenta una organización segmentaria, formada por múltiples segmentos medulares con una estructura similar entre ellos (Figura 5). En cada segmento medular se aprecian dos raíces ventrales y dos raíces dorsales. Una sección transversal de la médula espinal evidencia una estructura interna simétrica, separada a nivel del plano medio por el surco medio dorsal y por la fisura mediana dorsal (Alvarado et al., 2013).

Presenta, además, una pequeña luz interior que corresponde al canal central, que se trata de un estrecho canal vestigio de la luz del tubo neural embrionario (Figura 6). Es la continuación del cuarto ventrículo del encéfalo, del que se hablará posteriormente, está tapizado por ependimocitos y contiene LCR (Morales & Montoliu, 2012).

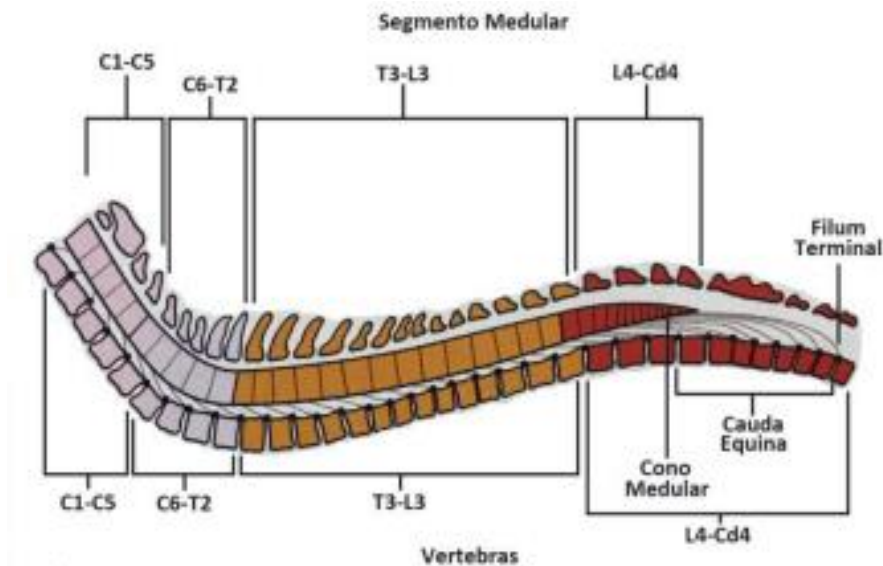


Figura 5. Organización de los segmentos medulares en la médula espinal.

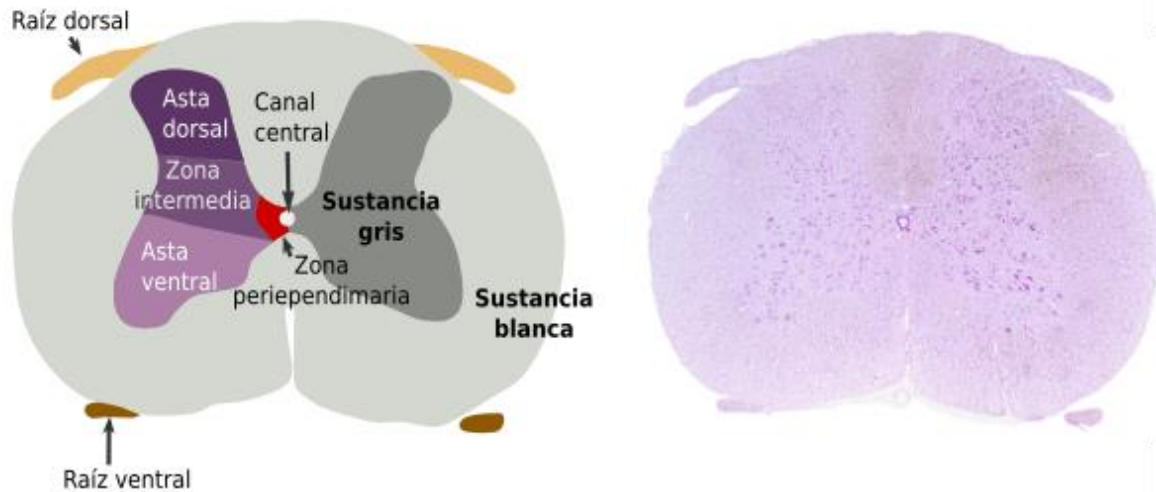


Figura 6. Corte transversal de un segmento medular.

### **Sistema ventricular**

El sistema ventricular está formado por un conjunto de cavidades continuas situadas en el interior del SNC y por las que circula el LCR. Estas cavidades son un vestigio de la luz del tubo neural embrionario, y se encuentran tapizadas por ependimocitos (González-Soriano et al., 2001).

En el encéfalo se distinguen cuatro ventrículos: dos ventrículos laterales, el tercer ventrículo y el cuarto ventrículo. Cada uno de los ventrículos laterales se sitúa en el interior de un hemisferio cerebral y presenta una forma arqueada. El tercer ventrículo se encuentra en el diencéfalo y tiene forma de anillo dispuesto alrededor de la adherencia intertalámica. El cuarto ventrículo se localiza a nivel del puente y la médula oblongada rostral, ventralmente al cerebelo (Morales & Montoliu, 2012).

Los dos ventrículos laterales se comunican con el tercer ventrículo a través de los agujeros interventriculares. El tercer y el cuarto ventrículo se comunican mediante el acueducto mesencefálico. El cuarto ventrículo se continúa con el canal central de la médula espinal y presenta además unos recesos laterales por donde el LCR pasa del sistema ventricular al espacio aracnoideo (Figura 7) (Schmidt et al., 2015).

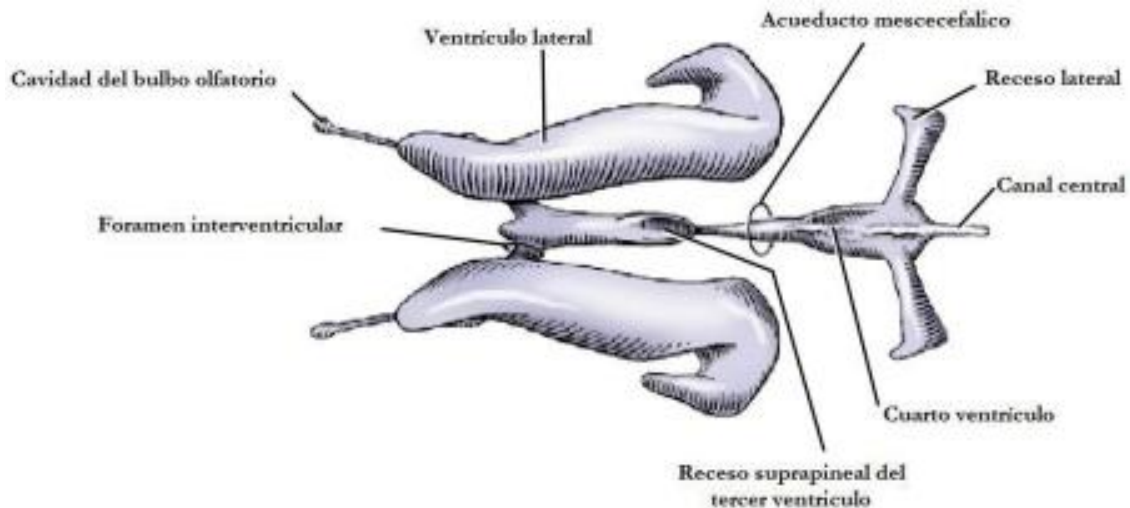


Figura 7. Sistema ventricular.

### Meninges del encéfalo

Las meninges son tres estructuras membranosas que envuelven al SNC. De interna a externa se dividen en: la piamadre, la aracnoides y la duramadre (Figuras 8 y 9). La piamadre y la aracnoides son finas y débiles, y se conocen también como leptomeninges. La duramadre es más gruesa y fibrosa, y se conoce también como paquimeninge (Summers et al., 1995). Se describen así (Agüera Carmona & Ruiz López, 2005):

- **Piamadre:** Es la más interna y se mantiene en íntimo contacto con el parénquima nervioso (Figura 10). Sus vasos sanguíneos constituyen la barrera hematoencefálica, que tiene una permeabilidad selectiva, importante para la nutrición del SNC y la acción de drogas con tropismo neurológico. Esta membrana también regula la concentración molecular del LCR.
- **Aracnoides:** Reviste internamente a la duramadre y se une a la piamadre mediante unas trabéculas (Figura 10). Entre la piamadre y la aracnoides existe el espacio subaracnoideo, por el que circula el LCR.



- **Duramadre:** Es la membrana más externa. En el encéfalo, se encuentra adherida al periostio del cráneo y albergando a los senos que recogen la sangre venosa del encéfalo (Figura 11). Se encuentra separada del hueso en el canal vertebral por el espacio epidural. Existen unas prolongaciones internas de la duramadre que separan diferentes estructuras encefálicas como la hoz del cerebro, que se sitúa dentro de la fisura longitudinal del cerebro y separa a ambos hemisferios cerebrales. Otra estructura es la tienda del cerebelo, que se sitúa a continuación de la apófisis tentoria y separa a cerebro de cerebelo. Clínicamente se habla con frecuencia de estructuras o lesiones infratentoriales y supratentoriales, en referencia a su situación anatómica respecto a la apófisis tentoria. Entre la aracnoides y la duramadre existe un espacio virtual llamado espacio subdural (Dasgupta & Jeong, 2019).

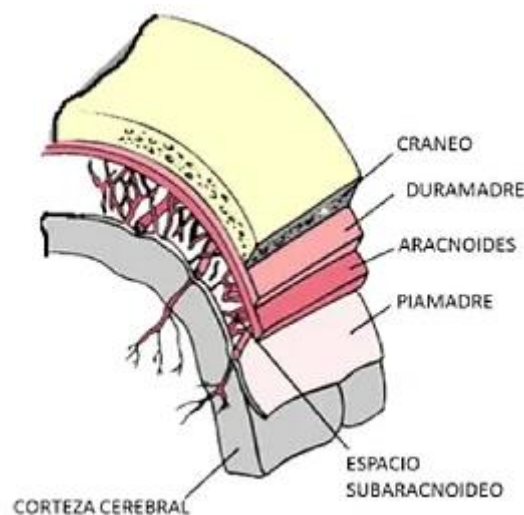


Figura 8. Distribución de las meninges en el encéfalo

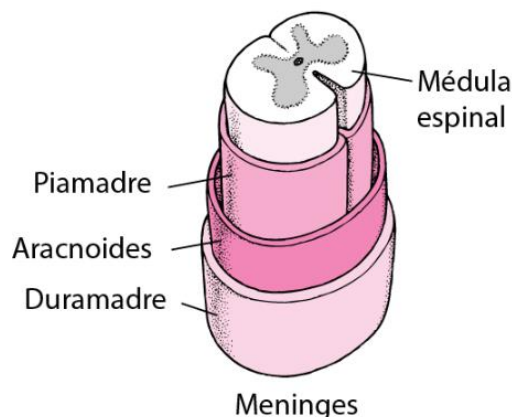


Figura 9. Distribución de las meninges en la médula espinal.

## Revisión bibliográfica

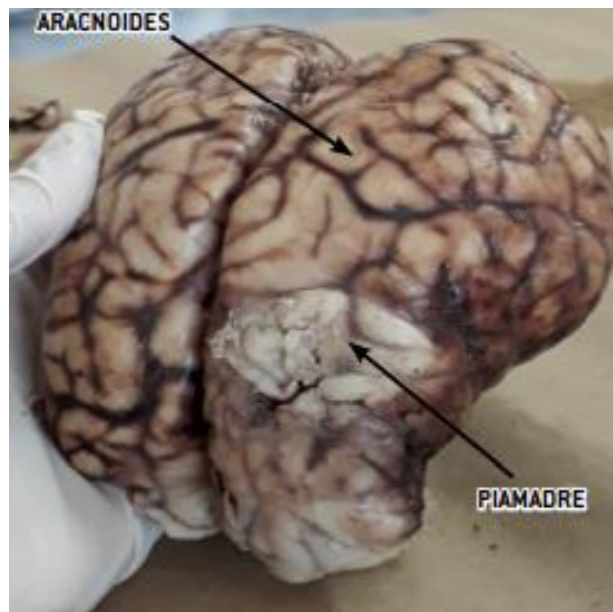


Figura 10. Imagen de necropsia de la piamadre y la aracnoides en el encéfalo.



Figura 11. Imagen de necropsia de la duramadre en el encéfalo.

Debido a la disposición de la piamadre respecto a la aracnoides, en determinadas zonas el espacio subaracnoideo se ensancha dando lugar a cisternas, repletas de LCR. De entre las múltiples cisternas existentes, destacan por su interés clínico (King, 1999):

- **Cisterna magna:** O cisterna cerebelomedular. Se sitúa entre el cerebelo y la médula oblongada. Esta cisterna suele ser la zona de elección más frecuente para la extracción de las muestras de LCR (Fatih et al., 2014).
- **Cisterna cuadrigémina:** Situada en posición dorsal a los colículos mesencefálicos (Silva et al., 2022).
- **Cisterna lumbar:** Situada entre el cono medular de la médula espinal (sobre el nivel vertebral de L2) y el extremo inferior del espacio subaracnoideo (sobre el nivel vertebral de S2). Este espacio está ocupado por las raíces anterior y posterior que constituyen la cola de caballo y el filum terminal. También es una zona de elección para la extracción de muestras de LCR (Edward et al., 1998).

### • La barrera hematoencefálica y su función

La barrera hematoencefálica (BHE) es una capa de aislamiento que impide la entrada al encéfalo de sustancias procedentes de la circulación sanguínea. Se encuentra tapizando estructuras capilares que penetran en el SNC, y consta de tres elementos (Figura 12) (Webb & Muir, 2000):

- **Endotelio capilar especializado:** Las células endoteliales están altamente especializadas y caracterizadas por menor actividad de pinocitosis, ausencia de fenestraciones y con una expresión característica de receptores del transporte transmembrana. En los capilares cerebrales, cada célula endotelial está íntimamente unida a las células adyacentes, lo que hace impermeable la pared interna del capilar. El sellado del endotelio se asocia principalmente a tres proteínas: la claudina, la ocludina y moléculas de adhesión celular; además de presentar otras proteínas citoplasmáticas accesorias que las anclan (Helms et al., 2015).

- **Membrana basal continua:** Compuesta de células de alta densidad que se denominan pericitos y que restringen el paso de sustancias del torrente sanguíneo mucho más de lo que lo hacen las células endoteliales capilares en otras partes del cuerpo. Los pericitos son células murales, contráctiles que se envuelven alrededor de las células endoteliales de los capilares en todo el cuerpo. Estas células se incrustan en la membrana basal, donde se comunican con las células endoteliales de los vasos más pequeños por medio de contacto físico directo y de señalización paracrina. Los capilares en el cerebro están envueltos por pericitos que, responden a la actividad neuronal y controlan el flujo sanguíneo en un nivel más local que las arteriolas (Liu et al., 2006).
- **Procesos astrocitarios pericapilares:** Los procesos astrocitarios rodean las células endoteliales de la barrera hematoencefálica, proporcionando apoyo bioquímico a estas células. Numerosos procesos astrocitarios rodean más del 90 % de la superficie de células endoteliales del cerebro y junto con pericitos, células de microglía, y terminaciones neuronales, forman la unidad neurovascular (Qin et al., 2019).

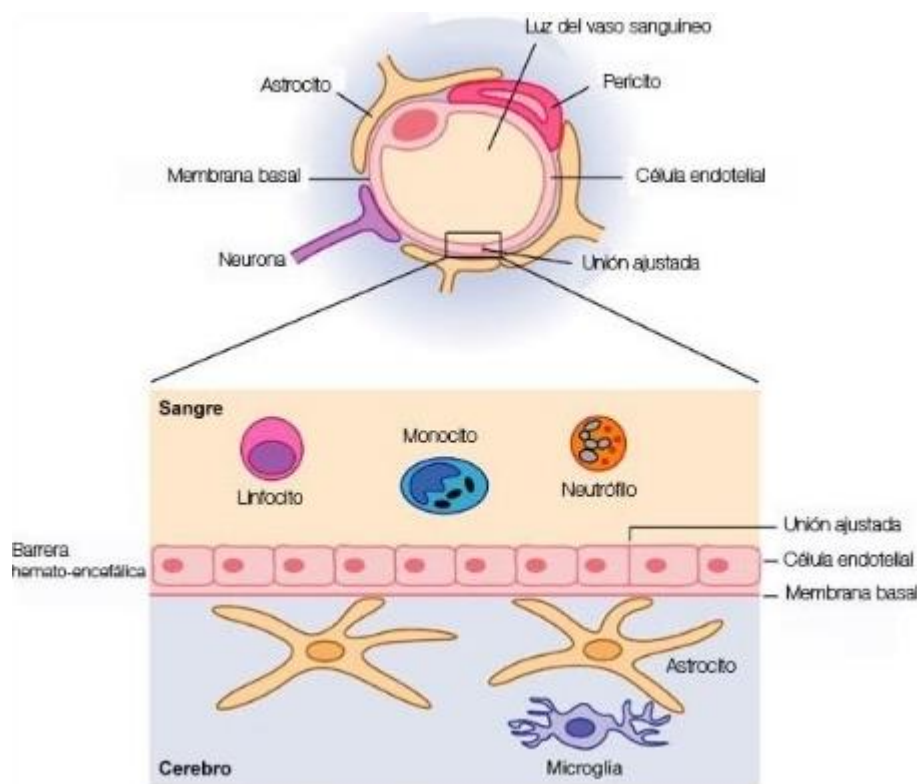


Figura 12. Elementos que componen la barrera hematoencefálica.

Sus características le confieren escasa permeabilidad y elevada resistencia eléctrica, lo que mantiene al SNC en condiciones aisladas e independizadas del resto del organismo (Vernon et al., 2011), y de este modo permite excluir del cerebro a cerca del 100% de las grandes moléculas neuroterapéuticas y más del 98% de todos los fármacos de moléculas pequeñas (Pardridge, 2011).

El parénquima del SNC se encuentra enclavado en un ambiente parcialmente aislado de cambios en la composición sanguínea gracias a la barrera hematoencefálica. Está difiere sustancialmente de los capilares de la circulación general en tres características fundamentales (Hawkins, 2005):

- La más importante es la presencia de uniones estrechas entre las células endoteliales con ausencia de fenestraciones entre éstas (zónula ocluyente)
- La presencia de los pericitos, descritos anteriormente, asociados a una membrana basal que rodean al capilar.
- Una red de prolongaciones de los astrocitos que envuelven las estructuras del SNC.

Esta conformación impide que las sustancias tóxicas para el SNC tengan acceso directo a su parénquima, a la vez que permite un control más exhaustivo del riego sanguíneo. Un pequeño número de regiones en el cerebro, incluyendo el techo del tercer y cuarto ventrículo, el techo del diencefalo y la glándula pineal, no tienen barrera hematoencefálica (McConnell & Mishra, 2022).

La barrera hematoencefálica actúa de manera eficaz al proteger al cerebro de la mayoría de los patógenos. Por lo tanto, las infecciones del cerebro son muy raras, graves y difíciles de tratar. Los anticuerpos son demasiado grandes para cruzar la barrera hematoencefálica, y sólo ciertos antibióticos son capaces de traspasarla. En algunos casos, un fármaco tiene que ser administrado directamente en el LCR, para que así pueda entrar en el cerebro mediante el cruce de esta barrera (Ishida, 2004).

## Revisión bibliográfica

El superar la dificultad de la administración de agentes terapéuticos a regiones específicas del cerebro presenta un reto importante para el tratamiento de la mayoría de las patologías del SNC. En su papel neuroprotector, las funciones de la barrera hematoencefálica obstaculizan el suministro de muchos agentes de diagnóstico y terapéuticos potencialmente importantes para el encéfalo. Moléculas y anticuerpos terapéuticos que de otro modo podrían ser eficaces en el diagnóstico y terapia no atraviesan la barrera hematoencefálica en cantidades adecuadas. Los métodos para la administración de fármacos a través de la barrera hematoencefálica incluyen la implantación intracerebral y la distribución potenciada por convección. (Pardridge, 2011).

La barrera hematoencefálica es más permeable durante la inflamación. Esto permite a algunos antibióticos y fagocitos moverse a través de la barrera hematoencefálica cuando ésta se encuentra alterada. Sin embargo, esto también permite que las bacterias y los virus puedan infiltrarse. Una de las vías más comunes que emplean los pocos virus capaces de infectar el SNC es comenzar a través de una terminación nerviosa, como las terminaciones nerviosas de la mucosa olfativa, para a continuación ascender hasta el encéfalo por el nervio olfativo (Rudd et al., 2006). El Herpesvirus tipo 1 que provoca la Enfermedad de Aujeszky fue capaz de penetrar a través de las terminaciones nerviosas de la mucosa oral de perros de caza y propagarse hasta el cerebro a través de los axones nerviosos provocando un cuadro clínico de esta patología en los animales (Dieguez, 2020).

Esta barrera permite el paso del agua, algunos gases y de moléculas solubles en lípidos por medio de difusión pasiva, así como el transporte selectivo de moléculas tales como glucosa y aminoácidos que son cruciales para la función neuronal (Maeda & Kanda, 2013).

Otros métodos utilizados para atravesar la barrera hematoencefálica implican el uso de sistemas de transporte endógenos, incluyendo transportadores portadores tales como los portadores de glucosa y aminoácidos; mediados por el receptor de transcitosis para insulina o transferrina; y el bloqueo de transportadores de salida activos, tales como la glicoproteína P. (Veziere et al., 2001).

## Revisión bibliográfica

Los péptidos son capaces de cruzar la barrera hematoencefálica a través de diversos mecanismos, lo que ha permitido la apertura de nuevas vías de diagnóstico y terapias (Banks et al., 1982). Sin embargo, estos datos de transporte a la barrera hematoencefálica se encuentran dispersos en la literatura, en diferentes tipos de disciplinas, utilizando metodologías diversas e informes de distintos aspectos de afluencia o salida (Lessard et al., 2022; Pardridge, 2011).

Por lo tanto, una base de datos integral de péptidos que atravesaban la barrera hematoencefálica fue construida para recopilar los datos disponibles en la literatura (van Dorpe et al., 2012).

La base de datos es una herramienta útil para priorizar las opciones de los péptidos, para evaluar diferentes respuestas de la barrera hematoencefálica o estudiar de manera cuantitativa y estructural las propiedades de las relaciones de péptidos. Debido a que una multitud de métodos se han utilizado para evaluar el comportamiento de los compuestos de la barrera hematoencefálica, se han clasificado estos métodos y sus respuestas (Trapa et al., 2019).

Por otra parte, la barrera hematoencefálica puede impedir la entrada de lipofílicos y neurotóxicos potenciales, como la toxina botulínica, que se puede encontrar en algunos alimentos y afectar a los nervios periféricos. La barrera hematoencefálica a menudo evita que este tipo de toxinas lleguen al sistema nervioso central donde pueden causar daños graves o fatales, por medio de un mecanismo de transporte activo mediado por la glicoproteína P (Hao et al., 2019).

- Las enfermedades inflamatorias del SNC y las MOD

Las enfermedades inflamatorias del sistema nervioso central son un grupo importante a considerar, cuando un animal presenta disfunción neurológica. En este tipo de patologías, por la relación anatómica entre estas estructuras, más de un área del SN suele estar involucrada en un proceso inflamatorio. Así, la inflamación de las meninges (meningitis) y la inflamación del encéfalo (encefalitis) se producen frecuentemente de forma simultánea (meningoencefalitis) en un mismo animal, aunque cada una puede darse por separado también (R. Platt & J. Olby, 2008).

Las enfermedades inflamatorias, como norma general, tienden a presentar un inicio agudo y un curso progresivo, aunque en ocasiones también aparecen de una forma más crónica. La distribución puede ser multifocal o difusa, y frecuentemente asimétrica en el SNC. Las manifestaciones neurológicas son bastante variables y reflejan la localización de los focos inflamatorios en el interior del sistema nervioso (Cynthia, M.; Kahn, 2007).

Los síntomas que aparecen en los animales con meningoencefalitis, independientemente de su etiología y localización son: fiebre, hiperestesia, rigidez y dolor cervical; y contracciones musculares paraespinales (Cornelis et al., 2019). Las manifestaciones neurológicas específicas reflejan la localización de los focos inflamatorios en el interior del sistema nervioso, observándose desde depresión a coma, ceguera, paresia progresiva, ataxia cerebelosa o vestibular, opistótonos, déficits de los nervios craneales y convulsiones (Cynthia, M.; Kahn, 2007).

Las causas de inflamación del SNC pueden ser infecciosas y no infecciosas. En pequeños animales las causas infecciosas incluyen (Nghiem & Schatzberg, 2010):

- Organismos víricos: como el responsable del moquillo canino.
- Organismos protozoarios: como *Toxoplasma gondii* o *Neospora caninum*.
- Organismos fúngicos: como el responsable de la criptococosis.
- *Rickettsias*: responsables de la ehrlichiosis y la Fiebre de las Montañas Rocosas.



Las causas inflamatorias del SNC no infecciosas se engloban actualmente bajo el nombre de meningoencefalitis o meningoencefalomielitis de origen desconocido (MOD). Las más comúnmente diagnosticadas en perros incluyen enfermedades como la meningoencefalitis granulomatosa (GME), la meningoencefalitis necrotizante (MEN), la leucoencefalitis necrotizante (LEN) y meningoencefalomielitis eosinofílica (Coelho et al., 2019).

Las MOD constituyen un conjunto de enfermedades inflamatorias asupurativas, que se caracterizan por un infiltrado perivascular de células reticuloendoteliales y ausencia de agentes infecciosos como responsables de las mismas y en las que no se ha obtenido un diagnóstico histopatológico. Sin embargo, existen algunos aspectos clínicos y de imagen que pueden sugerir una enfermedad específica (Morales & Montoliu, 2012).

El diagnóstico definitivo de las MOD se realiza mediante histopatología. Son difíciles de clasificar, diagnosticar y tratar. La meningoencefalitis granulomatosa, la meningoencefalitis necrotizante, la leucoencefalitis necrotizante y la meningoencefalitis eosinofílica varían en presentación clínica y hallazgos de imagen (Granger et al., 2010).

Para la realización de un correcto diagnóstico de las meningoencefalitis debería realizarse un examen oftalmológico para valorar si existe evidencia de cambios en el fondo de ojo o uveítis compatibles con enfermedad inflamatoria (Smith et al., 2018).

El diagnóstico presuntivo de una enfermedad inflamatoria del SNC típicamente se basa en la detección, en el análisis del LCR, de un incremento de leucocitos, junto con un incremento en la concentración de proteínas. En pocos casos, puede obtenerse un LCR normal en un animal con una enfermedad inflamatoria del SNC confirmada. Esto puede ocurrir en el caso de que la inflamación no implique a las meninges o al endotelio del sistema ventricular o si el animal ha sido tratado con un corticoesteroide previamente a la extracción del LCR. Las elevaciones de la concentración de proteínas pueden ser el resultado de la ruptura de la barrera hematoencefálica o de la producción intracraneal de anticuerpos. Es probable que estos dos mecanismos contribuyan a la elevación del nivel de proteínas que se observa en la mayoría de las enfermedades del SNC (Cornelis et al., 2016).

## Revisión bibliográfica

La evaluación mediante citología del LCR proporciona información adicional sobre la posible causa de la meningoencefalitis en estos animales. Así, las enfermedades víricas, bacterianas, protozoarias, fúngicas y las producidas por rickettsias; presentan características diferentes en cuanto a la morfología y tipo celular que se suele encontrar en este fluido. En un intento de identificar la causa infecciosa de la inflamación, se realizan pruebas adicionales entre las que se pueden incluir: el cultivo del LCR para organismos bacterianos o fúngicos; medición de título de anticuerpos o antígenos en suero y LCR; análisis por PCR del LCR, si está disponible (Uchida et al., 2016).

Los resultados del análisis del LCR, en la mayoría de los casos permiten la distinción entre desórdenes inflamatorios y otras categorías de enfermedad (Lowrie et al., 2013).

Además de la información que proporciona el LCR, la resonancia magnética (RM) es una prueba complementaria de diagnóstico por imagen que sirve de ayuda en la evaluación de algunas afecciones inflamatorias, pero el diagnóstico definitivo basado en las imágenes no siempre es posible debido a que muchas enfermedades inflamatorias y no inflamatorias tienen apariencia similar. Además, esta prueba ofrece información sobre el pronóstico de esta patología y riesgo de mortalidad del animal (Pellegrino, F.; Suraniti, A.; Garibaldi, 2003).

La repetición del análisis de LCR a los 3 meses de tratamiento aporta información útil, pues es cuando aumenta el riesgo de recidivas en estos animales. Además de éste, se han encontrado una serie de factores que intervienen en el pronóstico de la enfermedad (Lowrie et al., 2013):

- Las lesiones focales tienen más supervivencia que las multifocales.
- Los perros que presentan convulsiones viven menos.
- La mayoría de las muertes suelen ocurrir en las primeras 4 semanas.
- La supervivencia tras 3 meses es un indicador de buen pronóstico.

- El aumento de la presión intracraneal da un pobre pronóstico a largo plazo. Así, la pérdida de surcos cerebrales y la herniación a través del foramen magnum incrementa el riesgo de mortalidad en los primeros 3 meses del diagnóstico.

El tratamiento de los animales con meningoencefalitis está destinado al proceso primario que ocasiona la patología. Una vez se ha realizado un diagnóstico de encefalomiелitis basado en los resultados del LCR puede iniciarse un tratamiento con clindamicina (10mg/kg vía oral cada 12 horas) y/o trimetoprim-sulfonamida (15mg/kg vía oral cada 12 horas) para tratar infecciones protozoarias potenciales, mientras los resultados de las pruebas adicionales serológicas o de PCR están pendientes. Si no se detecta ninguna causa infecciosa o el animal no responde a la terapia antibiótica inicial, se puede llegar al diagnóstico presuntivo de MOD y se inicia un tratamiento con glucocorticoides. En estos casos, dosis antiinflamatorias frecuentemente son efectivas para aliviar los signos clínicos, pero pueden ser necesarias dosis más altas, inmunosupresoras en algunos casos, para manejar apropiadamente una enfermedad inmunomediada (Lawn & Harcourt-Brown, 2022).

Tras comenzar el tratamiento de un perro con MOD es posible no lograr una imagen de RM normal, al cabo de los 3 meses de haberse iniciado éste, y la resolución de todas las lesiones que se observen en la imagen es necesaria antes de interrumpir el tratamiento administrado al animal. Repetir la extracción de LCR y la RM en los perros con MOD, parece una herramienta útil de pronóstico de la enfermedad (Lowrie et al., 2013).

El pronóstico en los animales con meningoencefalitis es variable y depende de la inflamación y; de la extensión y gravedad de los déficits neurológicos asociados. Algunas infecciones, especialmente aquellas causadas por agentes protozoarios y fúngicos, son difíciles de erradicar y son frecuentes las recaídas. Además, pueden persistir déficits neurológicos residuales a pesar de un tratamiento exitoso de una infección debido a lesiones irreversibles causadas por el agente etiológico (Muñana & Luttgen, 1998).

- Tipos de MOD

Se han descrito diferentes tipos de MOD en base a su histopatología, y que inicialmente se descubrieron asociadas a un determinado tipo de razas. Catalogadas como enfermedades inflamatorias del SNC, las meningoencefalitis de origen desconocido, son las siguientes (J. N. Nessler et al., 2022):

### **Meningoencefalitis granulomatosa**

La meningoencefalitis granulomatosa es una enfermedad inflamatoria no supurativa, de etiología desconocida, que afecta al SNC de perros y menos frecuentemente de gatos (Schwab et al., 2007).

Aunque la causa de la GME es desconocida, las características de la lesión sugieren una posible base inmunológica de la enfermedad (Vandeveldt et al., 1981), como una hipersensibilidad mediada por células T de tipo retardado (Kipar et al., 1998).

Otros estudios señalaron una posible causa infecciosa tipo vírica como responsable de la aparición de la enfermedad, pero no se encontró ningún agente vírico responsable de la misma por técnicas inmunohistoquímicas (Sarfaty et al., 1986).

Se ha observado una cierta predisposición racial, presentándose más comúnmente en perros de raza pequeña y toy de mediana edad (adultos jóvenes), con una posible predisposición de caniches y terriers, aunque cualquier raza puede estar afectada. Tampoco hay distinciones por sexo (Muñana & Luttgen, 1998).

Existen tres formas clinicopatológicas de la enfermedad (Granger et al., 2010):

- La **forma ocular** de la enfermedad se manifiesta con un inicio agudo de las pupilas dilatadas que no responden a la luz, secundaria a una neuritis óptica.

- La **forma focal** de la enfermedad se debe a la presencia de una única masa granulomatosa, con áreas de predilección en la región del puente y médula oblongada (ángulo cerebelopontino); y el prosencéfalo. Esta forma focal tiene un inicio más gradual y una progresión lenta, que suele ser de 3 a 6 meses.
- La **forma difusa** de la enfermedad se presenta con signos clínicos que sugieren una lesión en el SNC multifocal, donde las áreas más frecuentemente involucradas son el cerebro, el tronco del encéfalo, cerebelo y la médula espinal cervical. Los signos clínicos normalmente son agudos y progresivos.

Para el diagnóstico de la GME es necesario la realización de la hematología y la bioquímica sérica, que suelen ser normales; aunque en la forma difusa se puede encontrar un leucograma inflamatorio (Barnes et al., 2019).

Las técnicas de imagen, como la RM, pueden mostrar una masa en la forma focal de la enfermedad, mientras que en la forma difusa el parénquima del encéfalo puede presentar un aspecto heterogéneo. El hallazgo más común es una o más masas que realzan el contraste. La imagen, por lo general, resulta no diferenciable entre lesiones inflamatorias o neoplasia, por lo que en estos casos la extracción de LCR es crucial para su diferenciación (Oliphant et al., 2017).

El análisis del LCR típicamente revela una pleocitosis, que suele ser de ligera a marcadamente mononuclear (20 a 100 células nucleadas/ml), con un incremento asociado en la concentración de proteínas. Sin embargo, se han descrito en ocasiones pleocitosis mixtas, así como análisis de LCR normal, especialmente en el caso de la GME ocular (Bailey & Higgins, 1986).

El diagnóstico definitivo sólo se puede realizar mediante histología en el examen *post-mortem* o mediante biopsia. El diagnóstico *ante-mortem* es presuntivo en la mayoría de los casos, basado en las características clínicas, el análisis del LCR, la exclusión de etiologías infecciosas; y las peculiaridades y distribución de las lesiones en el encéfalo en la RM (Cornelis et al., 2019).

## Revisión bibliográfica

El tratamiento más frecuentemente prescrito para la GME consiste en corticoesteroides a dosis inmunosupresoras, por lo general prednisona (1 - 2mg/kg, cada 24h) hasta la resolución de los signos, con disminución gradual de la dosis hasta establecer la dosis mínima efectiva. Han sido utilizados otros fármacos inmunomoduladores, como por ejemplo la citarabina (citosina arabinosa) y la procarbacina (Adamo et al., 2007). La citarabina (CA) se administra a 50 mg/m<sup>2</sup> por vía s.c., cada 12 horas, durante 2 días consecutivos y cada tres semanas. La procarbacina se ha recomendado a una dosis de 25 – 50 mg/m<sup>2</sup> por vía oral, cada 24 horas, con un intento de reducir la dosis a días alternos después de un mes de tratamiento. Los dos fármacos son mielosupresores, y deberían realizarse hemogramas completos regularmente durante el curso de la terapia (Coates et al., 2007).

La administración de CA mediante infusión de velocidad continua (CRI) ha mostrado ventajas farmacocinéticas y farmacodinámicas sobre la dosificación intermitente tradicional. Aún se desconoce si estas ventajas se traducen en eficacia clínica (Barber & Barber, 2022; Lowrie et al., 2016).

Además de los protocolos de tratamientos descritos para los fármacos que se han especificado anteriormente, existen otros protocolos que se han utilizado para los animales con meningoencefalitis de origen desconocido, que se detallan, en la siguiente tabla (Tabla 2) (Coates & Jeffery, 2014).

Revisión bibliográfica

Fármaco	Dosis
Azatioprina	<p>2 mg/kg PO, cada 24 h, durante 2 semanas.</p> <p>Luego se disminuye a 2 mg/kg, cada 48 h, indefinidamente.</p> <p>Objetivo: días alternos con prednisona.</p>
Ciclosporina	<p>3–15 mg/kg PO, cada 12 h; o 5–12 mg/kg PO, cada 24 h.</p> <p>Cuando se usa en combinación con ketoconazol 8 mg/kg, PO, cada 24 h.</p>
<p>Ciclofosfamida</p> <p>Vincristina</p> <p>Prednisona (COP)</p>	<p>Ciclofosfamida: 50 mg/m<sup>2</sup>, PO, cada 48 h, durante 8 semanas, luego dado en semanas alternas.</p> <p>Vincristina: 0.5 mg/m<sup>2</sup> IV, cada 7 d, durante 8 semanas, luego cada 14 d.</p> <p>Prednisona: 40 mg/m<sup>2</sup>, PO, cada 24 h, durante 7 d, después 20 mg/m<sup>2</sup>, cada 48 h, durante 7 semanas, luego se administra la misma dosis en semanas alternas.</p>
Arabinósido de citosina	<p>50 mg/m<sup>2</sup> SC, cada 12 h, durante 2 días consecutivos.</p> <p>Repetir cada 3 semanas, durante 4 ciclos.</p> <p>El intervalo de tratamiento se alarga 1 semana, cada 4 ciclos, con un intervalo máximo de 6–8 semanas.</p> <p>Alternativamente dosis al mismo intervalo usando infusión IV en 200 mg/m<sup>2</sup>, durante 8 h.</p>
Leflunomida	<p>1.5–4.0 mg/kg PO, cada 24 h y ajustar en base a los niveles sanguíneos (20–40 µg/mL).</p>
Lomustina	<p>60 mg/m<sup>2</sup> PO, cada 6 semanas.</p>

## Revisión bibliográfica

Fármaco	Dosis
Micofenolato mofet	<p>Dosis inicial de 10–20 mg/kg PO, cada 12 h.</p> <p>(Dosis más bajas, como, 5 mg/kg, pueden ser administradas si hay preocupación por los efectos secundarios gastrointestinales);</p> <p>Después de un mes se reduce a 5–10 mg/kg cada 12 h.</p>
Prednisona	<p>1-2 mg/kg PO, cada 12 h, durante 3–4 semanas;</p> <p>0.5–1 mg/kg PO, cada 12 h, durante 6 semanas;</p> <p>0.25–0.5 mg/kg PO, cada 12 h, durante 3 semanas;</p> <p>0.25–0.5 mg/kg PO, cada 24 h, durante 3 semanas;</p> <p>0.25–0.5 mg/kg PO, cada 48 h, indefinidamente.</p>
Procarbazina	25–50 mg/m <sup>2</sup> PO, cada 24 h.

Tabla 2: Resumen de terapias inmunomoduladoras para MOD.

Existe otro tipo de procedimiento, consiste en la aplicación de radioterapia para el tratamiento de perros con la forma focal de la enfermedad, con resultados exitosos en algunos pacientes y puede considerarse para los perros refractarios a la medicación (Muñana & Luttgen, 1998).



En general, el pronóstico es desfavorable, con unos tiempos de supervivencia que varían desde semanas hasta años. La forma difusa de la enfermedad tiene el peor pronóstico con un tiempo de supervivencia de semanas a meses, pero puede ser mortal, teniendo lugar entre 1 a 3 semanas desde el inicio de la patología. La mayoría de los pacientes mejoran con la terapia, pero las recidivas son comunes y muchos animales son finalmente eutanasiados a causa de los desórdenes neurológicos que se generan. Sin embargo, unos pocos animales se pueden recuperar con terapia (Adamo et al., 2007).

### **Meningoencefalitis necrotizante**

La meningoencefalitis necrotizante es un proceso neurológico crónico y progresivo, descrito inicialmente en el Carlino, motivo por el cual antiguamente se denominaba encefalitis del Carlino. Actualmente se ha observado en otras razas como el Yorkshire terrier y el Bichón maltés. Además de, descripciones esporádicas de casos similares en otros perros de raza pequeña, como los Shih tzus. Los animales afectados suelen tener de 6 meses a 7 años de edad, pero los animales jóvenes parecen estar más predispuestos (Schatzberg, 2010).

La etiología de la enfermedad es desconocida. Se ha sugerido que es consecuencia de una infección por un herpesvirus tipo alfa, basándose en las simulaciones histológicas con este tipo de infección en humanos. Sin embargo, los intentos para aislar el virus no han sido exitosos (Schatzberg et al., 2005).

La predisposición racial y el hecho de que muchos pacientes compartan ancestros comunes apunta a factores genéticos. Conceptualmente, pareciera que una predisposición genética del huésped expuesto a los antígenos dispara una respuesta inmune, resultando la encefalitis, pero esta hipótesis tampoco se ha podido confirmar (Moon et al., 2015).

## Revisión bibliográfica

Las características patológicas consisten en una meningoencefalitis necrotizante no supurativa, predominantemente en la corteza cerebral. Frecuentemente está implicada la sustancia blanca subcortical. En algunas áreas cerebrales existe necrosis sin inflamación concurrente, por lo que la necrosis debe ser la lesión inicial. Se han descrito patrones distintos en las razas que más frecuentemente se ven afectadas por esta patología (Nessler et al., 2022). Se distinguen:

- En los animales de raza Carlino se observa más frecuentemente en animales jóvenes y adultos jóvenes, y provoca crisis convulsivas y otros signos de disfunción cerebral (Cordy & Holliday, 1989).
- La enfermedad descrita en los malteses también presenta una predilección por el cerebro (Stalis et al., 1995).

Puede tener un curso agudo o crónico. La forma aguda se caracteriza por convulsiones, casi siempre acompañadas de conducta anormal, marcha circular, ataxia, ceguera o dolor cervical. La enfermedad progresa rápidamente, culminando en general en estado de coma en 1 o 2 semanas. La forma crónica se manifiesta generalmente con convulsiones recurrentes focales o generalizadas. Al inicio las deficiencias neurológicas interictales pueden estar ausentes, pero en un período de 4 a 6 semanas se desarrollan signos neurológicos que evidencian compromiso con disfunción del cerebro anterior e incluyen letargia, ataxia, deambulación en círculos y ceguera (Cornelis et al., 2019).

El diagnóstico presuntivo se basa en las características clínicas y de imagen, junto a los análisis de laboratorio. La hematología y la bioquímica sérica, por lo común, son normales (Lotti et al., 1999).

La TC y la RM son muy útiles en el diagnóstico, posibilitando a menudo, la identificación de áreas focales de edema o necrosis en el cerebro anterior. La TC puede revelar un área focal hipodensa en el parénquima encefálico que se corresponde con el área de necrosis (Schatzberg, 2010).

En la RM se observan áreas de incremento de intensidad de la señal en el encéfalo, las lesiones afectan principalmente a prosencéfalo, con pérdida de la demarcación de la sustancia blanca y gris. Las lesiones son hiperintensas en las imágenes ponderadas en T2 e iso o hipointensas en T1 y pueden presentar un ligero realce tras la administración de contraste (Oliphant et al., 2017).

En el análisis del LCR se observa una pleocitosis linfocítica en la mayoría de los casos (70 a 600 células nucleadas/ml). Predominan pequeños linfocitos con menor número de grandes células mononucleares. Los neutrófilos son poco comunes. La concentración de las proteínas está incrementada (Schatzberg, 2010).

El diagnóstico definitivo se basa en el examen histopatológico de tejido cerebral, obtenido por biopsia o necropsia. Los diagnósticos diferenciales principales son la GME y la LEN (Young et al., 2009).

El pronóstico es grave y la enfermedad es típicamente fatal. Los pacientes con la presentación crónica mejoran con la administración de glucocorticoides en combinación con fármacos inmunomoduladores, como se ha descrito en las GME (Pellegrino, F.; Suraniti, A.; Garibaldi, 2003).

### **Leucoencefalitis necrotizante**

Previamente denominada encefalitis necrotizante del Yorkshire terrier. Se caracteriza por la presencia de múltiples lesiones inflamatorias y necróticas en el encéfalo, que afectan a la sustancia blanca y gris. No se tiene muy claro si la MEN y la LEN son enfermedades distintas o si son dos variantes de la misma enfermedad (Barber & Barber, 2022).

Afectan de forma más frecuente a los Yorkshire, aunque también puede afectar a otras razas, se han encontrado casos de leucoencefalitis necrotizante descritos en la raza Chihuahua (Higgins et al., 2008) y en la raza Bulldog francés (Timmann et al., 2007).

Sin embargo, se diagnostican casos de MEN en Yorkshire y casos de LEN en Carlinos y malteses (Schatzberg, 2010) La LEN suele afectar a perros algo mayores, con una media de 4,5 años (Talarico & Schatzberg, 2010).

La etiología de la enfermedad se desconoce con precisión, aunque se sospecha de un proceso autoinmune con un importante componente genético. Al igual que en el caso de las GME, no se ha demostrado presencia de virus ni de otros agentes infecciosos en la mayoría de los animales afectados (Schatzberg, 2010).

Si se han observado anticuerpos frente a la proteína ácida fibrilar glial (GFAP) en LCR, aunque se desconoce si son causa o consecuencia de las lesiones (Shibuya et al., 2007).

Los signos clínicos reflejan la localización de las lesiones en el SNC. Principalmente son lesiones en prosencéfalo, tronco del encéfalo o ambos. Es posible detectar dolor cervical, que podría ser debido a la meningitis o a las lesiones intracraneales. El curso suele ser rápidamente progresivo, aunque en algunos casos puede ser crónico y lentamente progresivo durante algunos meses (Gonçalves et al., 2022).

En la RM se observan lesiones que afectan principalmente a la sustancia blanca subcortical y es más frecuente observar áreas quísticas de necrosis (Kuwamura et al., 2002). El realce es variable y puede ser en forma de anillo (Lotti et al., 1999).

La TC es menos específica que la RM. Pueden observarse lesiones hipodensas multifocales en prosencéfalo, que pueden o no realzar tras la administración de contraste, y en casos más crónicos se aprecian cambios quísticos (Lezmi et al., 2007).

En el análisis del LCR suele observarse pleocitosis mononuclear, con predominio de linfocitos, aunque puede ser mixta en algunos casos (Kuwamura et al., 2002).

A nivel histopatológico se aprecian lesiones que se extienden desde la sustancia blanca periventricular. Suelen ser bilaterales y asimétricas, con áreas de necrosis. Son más frecuentes en el tronco del encéfalo. La necrosis puede formar áreas de cavitación mayores que en las MEN (Coates & Jeffery, 2014). La inflamación meníngea es mínima (Schatzberg, 2010).

El diagnóstico definitivo se obtiene únicamente mediante histopatología. Sin embargo, puede conseguirse un nivel de sospecha clínica muy elevado basándose en la reseña, los signos clínicos y los resultados de la RM y el LCR; y descartando posibles agentes infecciosos. Los diagnósticos diferenciales principales son la GME y las MEN (Tipold, 1995).

El tratamiento es el mismo que se utiliza para las GME y las MEN. En la mayoría de los pacientes no se obtiene un diagnóstico definitivo antes del inicio del tratamiento, pero se tiene una sospecha elevada de meningoencefalitis inflamatoria. La mayoría de las descripciones que evalúan la eficacia de los distintos tratamientos incluyen casos con sospecha de MOD (sin una caracterización histológica) y casos confirmados por necropsia, por lo que existe un sesgo hacia los animales con alteraciones más graves y que han muerto o han sido eutanasiados (J. Nessler et al., 2020).

La administración de glucocorticoides produce una respuesta variable y, aunque en muchos pacientes se observa una mejoría clínica inicial, ésta suele ser temporal. Además, su administración crónica produce efectos secundarios que pueden afectar a la calidad de vida del animal y de su propietario. La utilización concomitante de otros fármacos inmunosupresores permite incrementar notablemente el tiempo de supervivencia de los pacientes afectados y reducir los efectos secundarios asociados a la administración de glucocorticoides. Aunque el tratamiento puede producir la remisión completa de los signos clínicos, en general no es curativo y debe mantenerse durante el resto de la vida del animal. Si al disminuir la dosis de glucocorticoides se observan recidivas, éstas deben tratarse de forma agresiva ya que pueden ser refractarias al tratamiento e incluso pueden requerir de un tercer fármaco inmunosupresor (Granger et al., 2010).

El pronóstico depende de la gravedad del cuadro al inicio del tratamiento y de la medicación utilizada. Si no se administra tratamiento inmunosupresor de forma temprana los signos suelen progresar rápidamente hasta la muerte del animal. Los tiempos de supervivencia descritos varían entre un mes, en animales tratados únicamente con glucocorticoides hasta más de tres años en casos de administración concomitante de otros fármacos inmunosupresores (Cornelis et al., 2016).

### **Meningoencefalitis eosinofílica**

La meningoencefalitis eosinofílica se caracteriza por ser una enfermedad inflamatoria del SNC en la que, en el LCR se observan gran cantidad de eosinófilos, este es el hallazgo común en estos los animales en los que se ha observado este tipo de MOD (Zdora et al., 2022).

De los tipos que existen, es de la que menos casos se han observado y no se conoce tanto como las anteriores. Los animales que la padecen presentan una inflamación idiopática eosinofílica del SNC (Bennett et al., 1997). Afecta de forma más frecuente a perros de razas grandes y existe una aparente predisposición en Golden Retriever y Rottweiler. Aparece con más frecuencia en animales jóvenes, aunque se han descrito casos en perros de hasta 10 años. Los machos están más predispuestos (Bennett et al., 1997; Smith & Maxie, 1989; Windsor et al., 2009).

Es una enfermedad de aparente etiología autoinmune (se sospecha de una reacción de hipersensibilidad de tipo I) que afecta principalmente a perros y que se ha descrito en un gato. Aunque esta etiología autoinmune no se ha confirmado (Williams et al., 2008; Windsor et al., 2009).

Otro posible agente etiológico de esta enfermedad podrían ser las parasitaciones provocadas por parásitos como *A. cantonensis* y cisticercos cerebrales, que podrían ocasionarla temporalmente, pero los resultados no son concluyentes (Vielmo et al., 2022).

También se ha formulado la hipótesis de que *Toxoplasma* o *Neospora* sean la causa subyacente, pero se carece de test inmunohistoquímico que evidencie esta teoría (Aroch et al., 2018).

Pueden presentar lesiones focales o multifocales que afecten al SNC en distinto grado, ocasionando una amplia variedad de signos clínicos. Predominan los signos de disfunción de prosencéfalo, incluyendo cuadros de alteraciones de conductas de eliminación y de comportamiento; depresión, dolor cervical, ceguera, torneo, marcha compulsiva, ataxia y ataques epilépticos (Olivier et al., 2010). Éstos pueden estar asociados a signos de tronco de encéfalo (especialmente vestibulocerebelosos) y en raras ocasiones de médula espinal, especialmente cervical (Bennett et al., 1997; Smith & Maxie, 1989).

## Revisión bibliográfica

El hemograma y bioquímica sanguínea suelen ser normales y la eosinofilia que se observa en LCR no se correlaciona con una eosinofilia en sangre. Aunque en algunos casos puede detectarse también eosinofilia en el hemograma (Williams et al., 2008).

Los resultados de la RM pueden ser variables. En algunos casos no se detectan alteraciones y en otros pueden observarse lesiones focales o multifocales hiperintensas en T2 que realzan tras la administración de contraste, especialmente en prosencéfalo (Cardy & Cornelis, 2018). Otros cambios incluyen realce de las meninges, atrofia cortical y realce de los nervios craneales V, VII y VIII (Salvadori et al., 2007; Windsor et al., 2009).

Al igual que en el resto de MOD, el diagnóstico presuntivo se basa en un incremento en el LCR de la concentración de las proteínas junto con la presencia de pleocitosis, en este caso eosinofílica (Grevel & Machus, 1992) y en la ausencia de causas infecciosas (meningoencefalitis protozoarias, fúngicas o parasitarias principalmente). El grado de pleocitosis es variable y el porcentaje de eosinófilos varía entre el 20 y 100% (Smith & Maxie, 1989; Windsor et al., 2009).

Para realizar el diagnóstico definitivo es necesario visualizar una muestra histopatológica del tejido dañado mediante biopsia o necropsia. (Salvadori et al., 2007).

No hay un tratamiento específico para la enfermedad, pero los signos clínicos también suelen mejorar con la administración de glucocorticoides, a 1-1,5mg/kg/12 horas seguidos de dosis decrecientes durante 4-12 meses, en función de la resolución de los signos y la aparición de recaídas (Bennett et al., 1997; Smith & Maxie, 1989; Windsor et al., 2009).

Un porcentaje elevado de casos (75%) mejoran progresivamente hasta la resolución de los signos tras la administración de glucocorticoides (Windsor et al., 2009). Las recaídas son posibles al disminuir las dosis de tratamiento, aunque en general los signos se resuelven al volver a incrementar la dosis de glucocorticoides (Bennett et al., 1997).

- **Características y funciones del líquido cefalorraquídeo**

El LCR es un ultrafiltrado del plasma que se encuentra en el sistema ventricular encefálico, el canal central de la médula espinal y en el espacio subaracnoideo. Tiene escaso contenido proteico y celular; y baña al SNC. Se forma sobre todo en los plexos coroideos de los ventrículos encefálicos y en menor cantidad en los capilares del encéfalo, células del parénquima nervioso y endotelios (Filis et al., 2017).

Los plexos coroideos son una estructura vascular modificada, que consta de una red capilar tapizada por la piamadre y por células endoteliales. Son los principales productores de LCR y se encuentran en todos los ventrículos (sobre todo en los laterales y en cuarto ventrículo) (Pardo et al., 2018).

El LCR se produce a una velocidad constante, independientemente de la presión del LCR en los ventrículos, y esta velocidad de producción depende de la presión osmótica sanguínea (Filis et al., 2017).

El LCR se reabsorbe principalmente a nivel de las vellosidades aracnoideas, que drenan a los senos del sistema venoso, aunque también se absorbe, entre otros, a nivel de las venas y vasos linfáticos que se encuentran alrededor de las raíces nerviosas espinales y craneales; y a nivel de los vasos del parénquima nervioso (di Terlizzi & Platt, 2006).

Las vellosidades aracnoideas son pequeñas protuberancias de la aracnoides (Figura 13), que sobresalen en los senos venosos duros del encéfalo y permiten que el LCR salga del espacio subaracnoideo y entre en el torrente sanguíneo. Los senos venosos son dilataciones venosas situadas en el interior de la duramadre o del cráneo. En los senos también se reabsorbe LCR de forma pasiva si la presión del LCR excede a la presión venosa (Zhao et al., 2010).

El LCR fluye caudalmente a través del sistema ventricular del encéfalo hacia el canal central de la médula espinal en dirección a la cauda equina. Pasa desde el sistema ventricular a través del parénquima del SNC hasta el espacio subaracnoideo, donde es reabsorbido por el sistema venoso mediante las vellosidades aracnoideas y una pequeña cantidad sale junto a las raíces espinales (Pellegrino, F.; Suraniti, A.; Garibaldi, 2003).



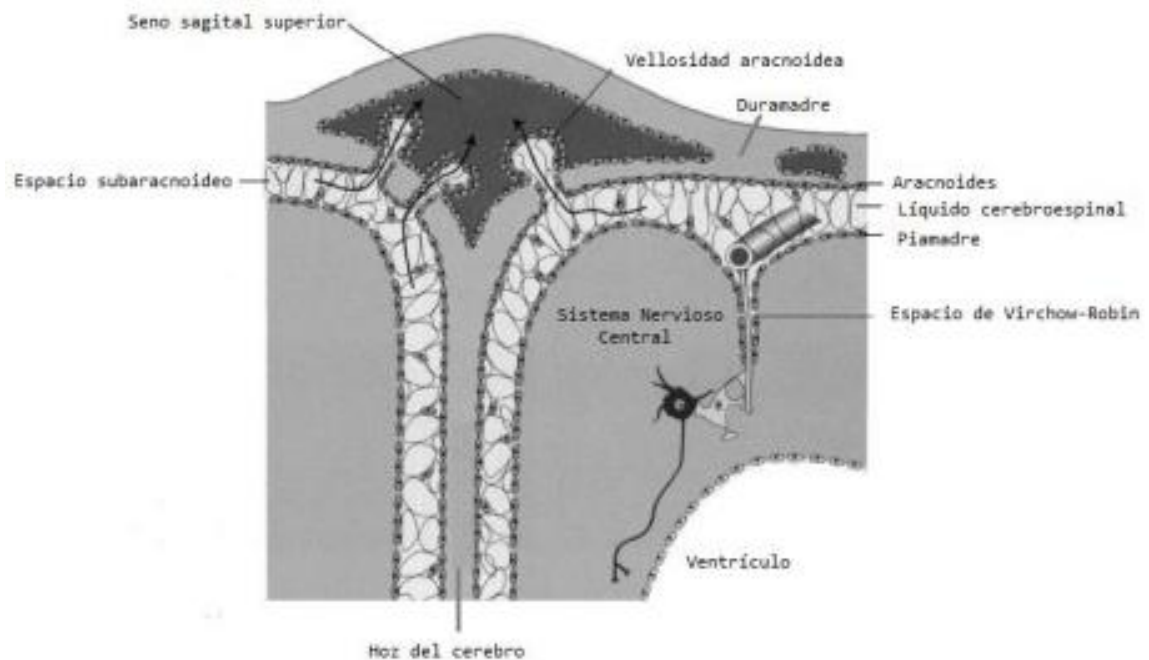


Figura 13. Localización de las vellosidades aracnoideas.

Las funciones del LCR son las siguientes:

- Protección del encéfalo y de la médula espinal mediante la amortiguación de impactos contra las estructuras óseas adyacentes. El encéfalo se encuentra suspendido en el LCR, lo que permite minimizar y amortiguar traumatismos (Filis et al., 2017).
- Estabilización de la presión intracraneal (PIC). Protege al parénquima del SNC de las variaciones en las presiones arterial y venosa central, asociadas a la postura, la respiración y la realización de esfuerzos (Bailey & Vernau, 1997). El incremento de volumen sanguíneo en la cavidad craneana hace disminuir el volumen de LCR, y viceversa. En elevaciones patológicas del volumen intracraneal, el LCR compensa parcialmente el incremento de PIC acomodándose en el espacio subaracnoideo cervical de forma temporal (di Terlizzi & Platt, 2006).

- Excreción de sustancias potencialmente tóxicas derivadas del metabolismo encefálico. Regula el entorno químico del SNC, permitiendo que estos productos abandonen el tejido encefálico a través de los espacios perivasculares hacia el espacio subaracnoideo (Bailey & Vernau, 1997).
- Transporte de sustancias biológicamente activas como sustancias neuroendocrinas, neurotransmisores y opioides (di Terlizzi & Platt, 2006).
- Proporciona un aporte nutritivo al SNC, ayudando al mantenimiento de la homeóstasis (di Terlizzi & Platt, 2009).

Las extracciones de muestras de LCR están indicadas para problemas del SNC como encefalopatías o miopatías. Las enfermedades que con más frecuencia producen alteraciones en el LCR son las inflamatorias y las neoplásicas del SNC. Por el contrario, no suelen detectarse alteraciones en el LCR en enfermedades congénitas, metabólicas y tóxicas (Chrisman et al., 1984).

### • Obtención de las muestras de LCR

Antes de proceder a la extracción del LCR es importante recordar que, el material necesario debe prepararse previamente al inicio del proceso, para minimizar el tiempo de anestesia y el riesgo del paciente. Son necesarios, como mínimo: máquina de afeitar, guantes estériles, una aguja espinal y un recipiente estéril para la recolección del LCR (Morales & Montoliu, 2012).

Se debe rasurar el área donde se vaya a realizar la extracción de LCR y prepararla para realizar la punción de forma aséptica. Se debe colocar al paciente y seguir la técnica de punción adecuada para el punto de extracción seleccionado (Cellio, 2001).

La extracción y recolección del LCR conlleva complicaciones que pueden ser graves y que se resumen en (Chrisman et al., 1984):

- Relacionadas con la anestesia: hipotensión, bradicardia, arritmias, apnea.
- Herniación cerebral o cerebelosa secundaria a cambios en la PIC.
- Lesión traumática del tejido nervioso (médula oblongada, cerebelo, médula espinal) producida por la aguja espinal (Luján Feliu-Pascual et al., 2008; Platt et al., 2005).
- Hemorragia en el SNC.
- Colapso del tubo endotraqueal durante la flexión cervical (extracciones en CM).
- Infección meníngea iatrogénica.

La punción requiere de anestesia general y de una actuación potencialmente arriesgada. Aunque el riesgo es normalmente bajo, cada paciente debe valorarse en particular, y realizar la punción sólo si la información a obtener compensa los riesgos que se derivan (di Terlizzi & Platt, 2006).

Previamente a la anestesia es imprescindible realizar analíticas sanguíneas (hemograma y bioquímica). Conviene utilizar un protocolo anestésico adecuado para minimizar riesgos, evitando la ketamina, ya que podría facilitar un incremento de la PIC (Moon et al., 2015).

En pacientes con incremento de la PIC, la punción puede provocar un gradiente de presión que genere un desplazamiento caudal de las estructuras intracraneales, herniación de los hemisferios cerebrales por debajo de la apófisis tentorial y herniación del cerebelo por el agujero magno (Cook & DeNicola, 1988). Es importante recordar que dicho riesgo existe tanto para extracciones en cisterna magna, como para extracciones lumbares (Chrisman et al., 1984).

## Revisión bibliográfica

Para evitarlo está indicado realizar técnicas de imagen como la RM o, en su defecto, el TC, antes de la extracción del LCR. La RM es el método de elección para descartar procesos que produzcan incrementos de la PIC o alteraciones anatómicas en la fosa caudal que contraindiquen la punción (Chrisman, 1992).

Si existe un incremento de la PIC, pero es imprescindible el análisis de LCR, puede administrarse manitol previamente a la extracción y realizar ventilación asistida para mantener la  $PCO_2$  entre 30-35 mmHg, lo que permite disminuir la PIC y reducir, aunque no eliminar, el riesgo de herniación (Cellio, 2001).

La extracción y análisis del LCR deben realizarse previamente a la mielografía, ya que el medio de contraste puede producir un incremento de proteínas y leucocitos (Widmer et al., 1992). Además, la introducción de contraste en el espacio subaracnoideo está contraindicada en el caso de meningitis (Chrisman, 1992).

Durante la extracción, no se debe ejercer una presión negativa con una jeringa conectada directamente a la aguja espinal para extraer el LCR. La aspiración puede disminuir rápidamente la presión del LCR, lo que podría provocar hemorragias intracraneales o herniación (cerebral o/y cerebelar). De la misma forma, la extracción de un volumen excesivo de LCR puede inducir hemorragias o herniación, pero en la mayoría de los pacientes se puede recoger 1ml por cada 5kg de peso vivo, sin complicaciones (Chrisman, 1992).

Es importante saber realizar la extracción de este líquido de la manera adecuada, para minimizar el riesgo de los pacientes y conocer las características que permitan diferenciar si la muestra está contaminada con sangre de manera iatrogénica o si proviene de una hemorragia (Sivolapenko et al., 2022).

La obtención de las muestras de LCR puede ser desde la cisterna magna (CM) o desde la cisterna lumbar (CL). La técnica se realiza de la siguiente manera (Bersan, 2019).

### **Extracción desde la CM:**

Para la extracción de LCR desde la cisterna magna es necesaria la colaboración de tres personas: una para realizar la punción, otra para mantener la cabeza del paciente correctamente posicionada y otra para realizar ventilación asistida, en caso de que fuera necesario (Chrisman, 1992).

Con el paciente colocado en decúbito lateral y el dorso cerca del borde de la mesa, se eleva la nariz del paciente hasta situar el plano sagital del morro paralelo a la mesa. En ese momento se flexiona completamente el cuello y se estiran los pabellones auriculares rostralmente. Es muy importante vigilar que al flexionar el cuello no se colapse el tubo endotraqueal, lo que interferiría con la anestesia. Existen dos maneras de identificar correctamente el espacio atlanto-occipital (AO) mediante puntos de referencia (Elias & Brown, 2008).

- Palpar el triángulo delimitado por la protuberancia occipital y los puntos más prominentes de las alas del atlas. El punto en donde insertar la aguja se localiza en la línea media dorsal entre las alas del atlas y la zona de un tercio a la mitad caudalmente a la protuberancia occipital (el punto más craneal del triángulo formado por los puntos de referencia) (Figura 14).
- Como alternativa, se puede localizar la línea media palpando la protuberancia occipital. El espacio atlanto-occipital debe de estar situado en esa línea media al mismo nivel que el borde más craneal de las alas del atlas (Figura 15).

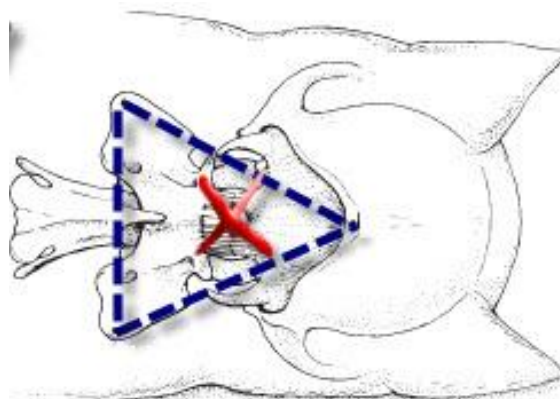


Figura 14. Puntos de referencia para la extracción a través de la CM.

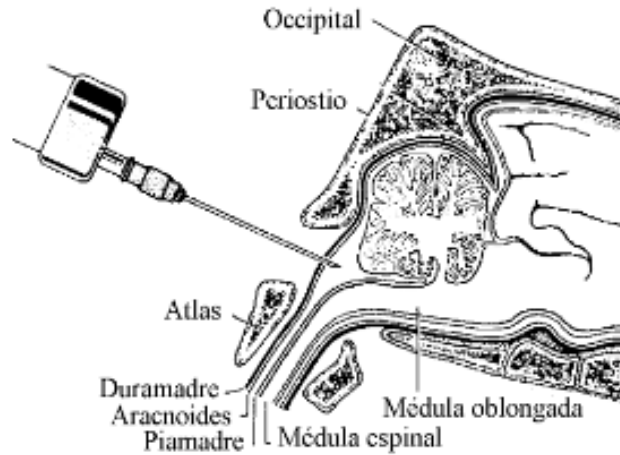


Figura 15. Puntos de referencia alternativos para la extracción a través de la CM.

Se coloca la aguja directamente sobre la línea media, perpendicularmente al cuello, a nivel del espacio AO y se avanza lentamente 1 – 2 mm cada vez. Se puede retirar el fiador una vez que se haya atravesado la piel. Mientras se avanza la aguja a través de los diferentes planos musculares y las meninges hasta la cisterna magna, se pueden llegar a percibir uno o dos “clics”. Al atravesar la duramadre se notará una disminución de la resistencia. Cuando se haya conseguido entrar en el espacio subaracnoideo el LCR comenzará a fluir libremente por la aguja. Resulta conveniente dejar caer unas gotas de LCR antes de recoger la muestra en el caso de obtener sangre (Sivolapenko et al., 2022).

Si el líquido toma un aspecto más transparente recogeremos una muestra para su posterior análisis; en el caso de continuar teniendo aspecto sanguinolento deberíamos retirar la aguja y reiniciar todo el proceso. Si mientras avanzamos la aguja notamos que llega a tocar hueso podemos redirigirla craneal o caudalmente hasta conseguir introducirla en el espacio AO. En caso de continuar sin poder entrar en el AO, retiraremos la aguja y volveremos a iniciar todo el procedimiento de nuevo tras reevaluar los puntos de referencia anatómicos (Kurokawa et al., 2009).

## Revisión bibliográfica

Una vez situada adecuadamente la aguja, se recoge el LCR dejándolo fluir y caer gota a gota en un tubo estéril o aspirando las gotas en una jeringa estéril según van formándose en el extremo de la aguja espinal (Figura 16). Podemos incrementar la velocidad de flujo de LCR en la aguja espinal comprimiendo las yugulares, lo que debemos evitar en el caso de aumento de la PIC (Suñol et al., 2021).

Una vez se haya obtenido un volumen suficiente o deje de fluir el LCR retiraremos la aguja espinal de la cisterna magna. Normalmente quedan algunas gotas de LCR en la aguja espinal que pueden aprovecharse y recogerse recolocando el fiador de la aguja mientras mantenemos el extremo de la aguja sobre el tubo (Chrisman, 1992).



Figura 16. Recolección de LCR de la CM.

**Extracción desde la CL:**

En la mayoría de los casos se prefiere la punción en cisterna magna. La punción lumbar es técnicamente más complicada, se extrae menor cantidad de LCR y existe mayor riesgo de contaminación sanguínea de la muestra. Sin embargo, está indicada en las siguientes situaciones:

- En lesiones de localización espinal, ya que existen más probabilidades de obtener una muestra alterada si se extrae el LCR caudalmente a la lesión (Thomson et al., 1990).
- En casos de inflamaciones del sistema nervioso periférico que afecten a las raíces nerviosas (Chrisman et al., 1984).
- En pacientes con sospecha de subluxación atlantoaxial, ya que existe un riesgo elevado de compresión de la médula oblongada al posicionar al animal para la extracción cerebelomedular (Bersan, 2019).

Para la extracción desde la cisterna lumbar, flexionaremos la columna con el paciente colocado en decúbito lateral. Identificaremos el espacio intervertebral apropiado, que en perro sería L4-L5 o, preferiblemente, L5-L6. Para ello, palparemos las crestas ilíacas, la apófisis espinosa situada inmediatamente craneal a las crestas ilíacas es la de L6. Situaremos la aguja espinal en la línea media, justo cranealmente a la apófisis espinosa adecuada, formando un ángulo de 45° con la aguja dirigida cranealmente (Figura 17 y 18) (R. Platt & J. Olby, 2008).

Avanzaremos la aguja de la misma manera descrita para la extracción de la CM, pero en este caso no es necesario retirar el fiador. Si la colocación es la adecuada, la aguja pasará a través o cerca de la cauda equina/médula espinal caudal, lo que suele provocar una contracción de la cola o de la extremidad posterior. Habitualmente el líquido se extrae del espacio subaracnoideo ventral (Seo et al., 2014).



## Revisión bibliográfica

Aparte de contracciones de la cola o de la extremidad, o de pequeñas hemorragias medulares que puedan contaminar la muestra, no es frecuente que se desarrollen efectos indeseables de importancia tras este método de extracción. (Chrisman, 1992) Se puede minimizar el riesgo de lesión neurológica iatrogénica obteniendo el LCR del espacio subaracnoideo dorsal en vez del ventral (Kurokawa et al., 2009).

Una vez dentro de la cisterna lumbar, se retira el estilete de la aguja espinal y se deja fluir el LCR (Figura 19). Si no se obtiene LCR puede retirarse ligeramente la aguja o rotarla con suavidad y esperar a que fluya (Chrisman, 1992).

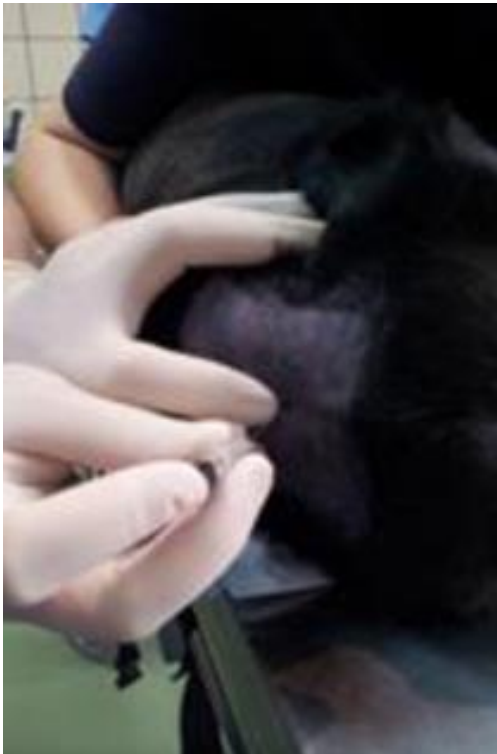


Figura 17. Extracción de LCR de la CL.

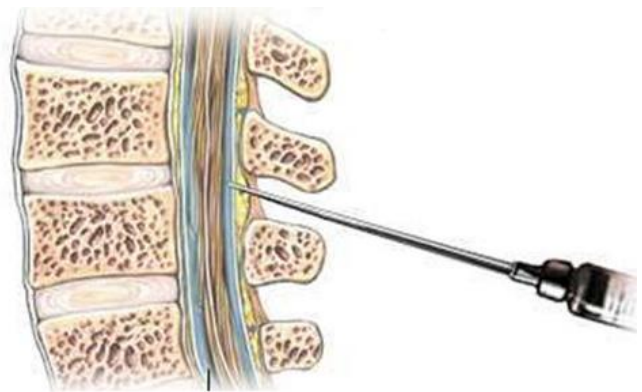


Figura 18. Localización de la CL.



Figura 19. Recolección de LCR de la CL.

**Manejo de la muestra obtenida:**

El LCR debe recolectarse en una jeringa estéril o un tubo de plástico, ya que en los tubos de cristal pueden adherirse las células (Figura 20) (Fenner, 2000). Si la muestra fuera especialmente hemorrágica debería colocarse en un tubo con EDTA para evitar la coagulación (Peterson et al., 2020). Las muestras destinadas a cultivo bacteriano deben conservarse sin anticoagulante (Bersan, 2019).



Figura 20. Muestras de LCR.

El LCR posee un bajo contenido proteico, lo que provoca la rápida degeneración de los leucocitos presentes en la muestra. Esto resulta en una alteración del recuento celular y especialmente del diferencial, ya que las células mononucleares se deterioran más rápido que los neutrófilos (Fry et al., 2006). El grado de deterioro de la muestra depende de su concentración de proteínas y del tiempo que se tarde en realizar el análisis. Para minimizar la degradación celular y preservar sus características citológicas, el LCR debería analizarse durante los 30 minutos posteriores a su extracción (Chrisman et al., 1984).

Sin embargo, se ha descrito que si las muestras se mantienen refrigeradas a 4°C y se analiza antes de las 4-8 horas de la extracción, la degradación celular es mínima, especialmente en muestras con contenido proteico >50 mg/dl (Fry et al., 2006).

Se han descrito algunas técnicas que permiten conservar la muestra el tiempo suficiente para enviar el LCR a un laboratorio para su análisis. Las muestras pueden conservarse mediante refrigeración y añadiendo 30 µl de suero autólogo a 0,25 ml de LCR (Bienzle et al., 2000) o 50 µl de suero fetal bovino a 0,2 ml de LCR; o Hetastarch® (Hydroxyethyl starch) (Fry et al., 2006). Al añadir suero autólogo o bovino se consiguen conservar los leucocitos del LCR durante 24-48 horas tras la extracción, pero esto conllevará un falso aumento del contenido total de proteínas. En este caso, la determinación de proteínas se realiza sobre una segunda muestra sin suero añadido (Peterson et al., 2020). La conservación con Hetastarch® no altera la determinación de proteínas, aunque diluye la muestra (Fry et al., 2006). Puede optarse también por añadir una gota de formol tamponado al 10% a 1-2 ml de LCR para preservar las células (Burlina et al., 2017).

- **Análisis del líquido cefalorraquídeo**

El análisis del LCR es la prueba diagnóstica complementaria de mayor relevancia para el diagnóstico de los procesos inflamatorios del SNC, como son las MOD (Chrisman, 1992).

No todas las enfermedades del SNC tienen que causar necesariamente alteraciones en el LCR. Esto va a depender de la localización de la misma y de su naturaleza. Así, las lesiones intraaxiales como los tumores no suelen exfoliar células al LCR, causando un mínimo o nulo cambio en éste. Ocurre lo mismo con la mayoría de lesiones extradurales, como las hernias discales. Además, el recuento leucocitario del LCR no se correlaciona con la severidad o el pronóstico de la enfermedad del SNC; simplemente refleja el grado de afectación meníngea o ependimaria de la patología, motivo por el cual se encuentra elevado en los animales con MOD (Kipar et al., 1998).

El volumen mínimo de LCR que se requiere para realizar un análisis completo es de, aproximadamente, 0,5-1 ml, aunque siempre que sea posible es preferible obtener entre 2-3 ml, por si se requieren análisis complementarios (Cellio, 2001).

Las técnicas de análisis para el LCR se clasifican en: técnicas básicas, como son las características macroscópicas y microscópicas; y técnicas adicionales como son los cultivos bacterianos y fúngicos; títulos de anticuerpos, PCR y tinciones especiales (Morales & Montoliu, 2012).

### **Características macroscópicas**

Se valoran la coloración, aspecto y turbidez del LCR mediante observación macroscópica de la muestra (R. Platt & J. Olby, 2008).

El LCR suele ser incoloro. En casos de un número de leucocitos marcadamente elevado, por encima de los 500 leucocitos WBC/ $\mu$ l, se puede originar un LCR de color turbio (Figura 21) (Gilbert et al., 2021).

Puede colorearse por la presencia de células o restos de la lisis celular dando una coloración rojiza o amarillo-anaranjada (xantocrómico). Cuando está presente, la xantocromía suele deberse a una hemorragia crónica. Se debe determinar si la coloración rojiza es debido a una hemorragia iatrogénica o patológica. Lo diferenciaremos mediante la observación macroscópica y microscópica (Figura 22). Debemos sospechar de hemorragia patológica si la muestra permanece uniformemente rojiza durante la extracción, mientras que sospecharemos de contaminación sanguínea secundaria a una hemorragia iatrogénica en el caso de que durante la extracción pase de inicialmente rojiza a una tonalidad incolora (Brune et al., 2022).



Figura 21. LCR turbio.



Figura 22. LCR hemorrágico, normal y xantocrómico.

También se puede centrifugar una muestra de LCR rojizo en un Eppendorf. La presencia de un sobrenadante xantocrómico es altamente indicativa de hemorragia patológica; un sobrenadante incoloro es sugestivo de contaminación por hemorragia iatrogénica (MacNeill et al., 2018).

La presencia de bilirrubina en el LCR provoca la xantocromía. Los eritrocitos que llegan al LCR debido a la hemorragia se metabolizan, lo que en última instancia resulta en la formación de bilirrubina. En raras ocasiones, la bilirrubina conjugada puede atravesar la barrera hematoencefálica si su concentración sérica está marcadamente incrementada. Si la barrera hematoencefálica está dañada, tanto la bilirrubina conjugada, como la no conjugada pueden atravesarla (Hu et al., 2014).

Infrecuentemente se observa un LCR verde-amarillento o negro-grisáceo. La coloración verde-amarillenta puede deberse a un recuento elevado de células nucleadas, como en el caso de inflamación purulenta (meningitis séptica). Los gránulos de melanina o melanocitos son un hallazgo poco frecuente en el LCR. Si están presentes en una concentración suficiente, como en melanomas del SNC, pueden provocar una coloración grisácea (Paradis, 1998).

### **Características microscópicas:**

#### **Recuento celular**

Además de su coloración, el análisis del LCR implica como mínimo determinar el número de células y el tipo celular; y cuantificar la concentración de proteínas (Gilbert et al., 2021).

Para realizar el recuento celular, se determinan el número de eritrocitos y de leucocitos por separado. El recuento de células se realiza manualmente con una cámara de recuento (cámara de Neubauer o cámara de Fuchs-Rosenthal) (Figuras 23 y 24). El LCR debe homogeneizarse con cuidado antes de introducirlo en la cámara, sin agitar, ya que podría causar deformación de las células (Cook & DeNicola, 1988).

## Revisión bibliográfica

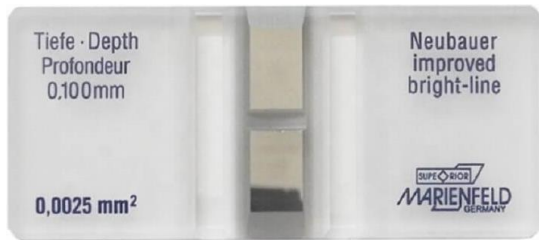


Figura 23. Cámara de Neubauer.



Figura 24. Cámara de Fuchs-Rosenthal.

El recuento de eritrocitos y leucocitos se determina colocando el LCR sin diluir en ambas cámaras de una cámara de recuento. El recuento se realiza una vez las células se han asentado en las cámaras, para lo cual colocaremos la cámara de recuento sobre una placa de Petri humidificada durante cinco minutos antes de proceder al recuento celular. Cada cámara contiene nueve grandes cuadrados. Para obtener el recuento total de leucocitos y eritrocitos por microlitro, contaremos el número de ellos en el cuadrado del centro y en los cuatro cuadrados situados en las esquinas de ambas cámaras.

Si el número de leucocitos es excesivo, sólo contaremos los de uno de los cuadrados grandes y ese número lo multiplicaremos por diez para obtener el recuento total de leucocitos por microlitro (Shahan et al., 2021).

Hay que tener especial cuidado en distinguir los leucocitos de cualquier eritrocito que esté presente. Los eritrocitos presentan un aspecto uniforme, sin núcleo y en ocasiones puede observarse la depresión central, mientras que los leucocitos son en general de diferente tamaño y de aspecto granular. Se requiere cierta experiencia para diferenciar eritrocitos y leucocitos en la cámara de recuento. En general, no resultan útiles los recuentos automatizados debido a la baja concentración de células de las muestras (Zimmermann & Curtis, 2021).

## Citología

Permite determinar el diferencial leucocitario y la presencia de células atípicas o de microorganismos en la muestra. Debe realizarse siempre, incluso cuando el recuento se leucocitos se encuentra dentro de los valores de referencia. El LCR suele presentar concentraciones de leucocitos relativamente bajas, por lo que es necesario concentrar la muestra antes de proceder al examen microscópico, para obtener un recuento diferencial. Existen varias técnicas descritas para la concentración de las células del LCR, de las cuales las más utilizadas son la citocentrifugación y la sedimentación (Cellio, 2001):

- **La citocentrifugación:** Requiere de una centrifugadora celular que trabaje a bajas revoluciones (500 rpm) (Figura 25). Presenta la ventaja de requerir muy poca cantidad de LCR y mantiene la morfología celular, aunque las células pueden presentar mayor vacuolización secundariamente a la citocentrifugación (Cellio, 2001). Concentra las células de LCR sobre un portaobjetos, incluso las de una única gota de LCR (Christopher et al., 1988). El principal inconveniente es el coste de la citocentrífuga. Mediante este método se consigue recuperar un 15% de las células de la muestra (de Almeida et al., 2016).



Figura 25. Citocentrífuga.



- **Sedimentación:** Requiere de una cámara de sedimentación unida a un portaobjetos, que puede ser de construcción casera (Figura 26). Puede utilizarse cualquier estructura cilíndrica de plástico (por ejemplo, un tubo de plástico o una jeringa de insulina recortados), que se une al portaobjetos mediante una pinza o se sella mediante parafina. Se introducen 0,25-0,5 ml de LCR en la cámara y se deja sedimentar durante 25 minutos (Chrisman, 1992) Después se aspira el líquido y se retira el cilindro con cuidado. El LCR sobrante se retira con un papel absorbente. Los resultados de esta técnica son comparables a los de la citocentrifugación (Fenner, 1998).

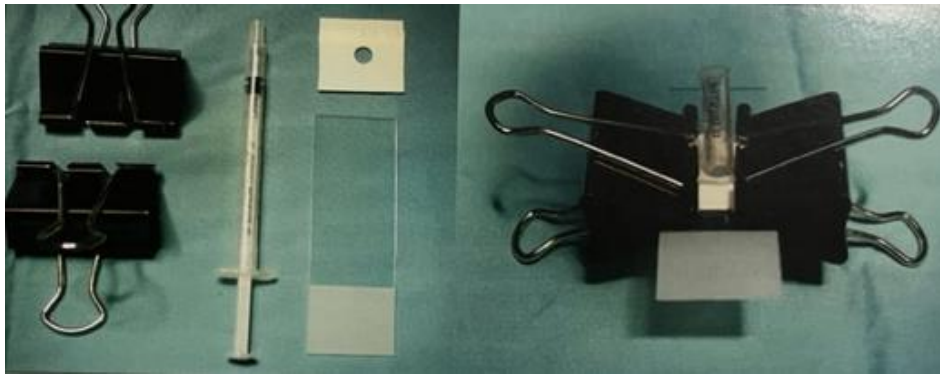


Figura 26. Cámara de sedimentación de fabricación casera.

Una vez que se han concentrado las células en el portaobjetos, se seca al aire y se tiñe con una tinción de tipo Romanowsky (Diff-Quick o Wright-Giemsa) u otro tinte comercial para leucocitos (Cellio, 2001). En un LCR normal predominan las células mononucleares. Normalmente, el 60-70% del recuento celular diferencial lo conforman pequeños linfocitos bien diferenciados; el 30-40% lo suelen representar células fagocitarias mononucleares mínimamente vacuoladas. Generalmente, el fondo es incoloro y puede contener algunos eritrocitos, pequeñas cantidades de colorante de tinción precipitado y, en ocasiones, células epiteliales escamosas contaminantes. A veces se encuentran células ependimarias agrupadas. Los neutrófilos maduros no degenerados y eosinófilos son infrecuentes y deben representar <2% de los leucocitos de la muestra sin contaminación sanguínea (R. Platt & J. Olby, 2008).

El aumento del número de leucocitos en el LCR (la presencia de  $<5$  WBC/ $\mu$ l en la CM o  $<7$ WBC/ $\mu$ l en la CL) es patológico, y se denomina pleocitosis. Ésta se puede caracterizar en función del tipo de leucocito predominante (Brooks et al., 2022). Se distinguen (Agüera Carmona & Ruiz López, 2005):

- **Pleocitosis linfocítica:** Se observan más de un 50% de linfocitos. Este hallazgo suele observarse en animales que presentan meningoencefalitis necrotizante. Este tipo de proceso se asocia a una pleocitosis moderada o marcada clásicamente linfocítica, aunque también se describen pleocitosis mixtas. Los linfocitos pueden ser atípicos (linfoblastos) o bien diferenciados. Aunque habitualmente los animales con meningoencefalitis granulomatosa (GME) presentan pleocitosis mixtas, también pueden desarrollar pleocitosis linfocíticas (Danciu et al., 2021). Este tipo de pleocitosis también puede observarse en meningoencefalitis víricas como el moquillo o la rabia (Barnes et al., 2003; Green et al., 2020).
- **Pleocitosis mixta:** En una pleocitosis mixta la población de células nucleadas predominante es una mezcla de linfocitos y grandes fagocitos mononucleares, junto a un número variable de neutrófilos. También pueden estar presentes algunas células plasmáticas y algún eosinófilo. Es el resultado clásico de una muestra de LCR de un perro con GME. Normalmente, este proceso provoca una pleocitosis de moderada a marcada (Draper et al., 2021).
- **Pleocitosis neutrofílica:** En una pleocitosis neutrofílica hay un predominio neutrofílico. Estos valores se suelen encontrar en perros con actividad epileptiforme excesiva. La inyección del medio de contraste durante una mielografía también puede provocar, temporalmente, pleocitosis neutrofílica (Tipold & Schatzberg, 2010).
- **Pleocitosis eosinofílica:** Se observa un predominio eosinofílico. Estos valores se suelen encontrar en perros con meningoencefalitis eosinofílica (Cardy & Cornelis, 2018).

### **Determinación de proteínas**

Para determinar la concentración de proteínas del LCR existen métodos cuantitativos y cualitativos (Morales & Montoliu, 2012).

La concentración es muy inferior a la sanguínea y por tanto no puede detectarse mediante un refractómetro. La cuantificación de proteínas del LCR se realiza en laboratorios mediante técnicas colorimétricas. No es necesario realizar la determinación inmediatamente después de la punción, y puede congelarse el LCR para su envío al laboratorio (Shahan et al., 2021).

Además, existen métodos cualitativos que permiten estimar la concentración de proteínas (tira de orina y el test de Pandy), aunque son métodos poco precisos. Mediante una tira de orina pueden detectarse incrementos de proteínas por encima de 100 mg/dl, pero incrementos inferiores en general no son detectables (Cook & DeNicola, 1988). El test de Pandy consiste en añadir unas gotas de LCR a 1 ml de reactivo de Pandy (solución de cristales de fenol) y observar la reacción sobre un fondo oscuro (Chrisman et al., 1984).

El test se considera positivo cuando el LCR vira a blanco al contactar con el reactivo. La reacción se valora de negativo a positivo en función del viraje, lo que es directamente proporcional al incremento de globulinas en LCR (Chrisman, 1992).

Las concentraciones proteicas normales en el LCR dependen de la especie, el lugar de donde se ha extraído la muestra y el método utilizado para la determinación de las proteínas, por lo que resulta más adecuado interpretar los resultados según los valores de referencia establecidos por el mismo laboratorio que cuantifica la concentración (Suñol et al., 2021).

El flujo normal de LCR en sentido cráneo-caudal conlleva una concentración proteica diferente entre las muestras extraídas a nivel de la CM o de la CL. Los valores de referencia de la concentración de proteínas en animales que no presentan ninguna patología inflamatoria del SNC están en <25mg/dl, si la extracción se realiza desde la CM; y < 35mg/dl, cuando la extracción se realiza desde la CL (Shamir et al., 2019).

En condiciones normales, las muestras lumbares tienen unas concentraciones más altas que las cerebelomedulares. Esta diferencia puede llegar a aumentar en presencia de una patología del SNC, especialmente si la médula espinal está afectada. La concentración proteica normal depende del lugar de donde se ha extraído la muestra y el método utilizado para la determinación de las proteínas (Prell et al., 1988).

Dependiendo de los resultados de los análisis básicos y si se sospecha de una etiología inflamatoria o infecciosa, existen distintas técnicas útiles que pueden realizarse sobre el LCR para la detección de agentes infecciosos y para la interpretación de los resultados obtenidos (Chrisman, 1992).

### **Cultivos bacterianos y fúngicos**

Si se sospecha de infecciones bacterianas o fúngicas debería cultivarse la muestra de LCR. Son necesarios como mínimo 0,25-0,5 ml de LCR. Son muy frecuentes los falsos negativos, ya que el número de microorganismos presentes suele ser muy bajo (Chrisman, 1983) y algunas bacterias sufren rápida autólisis en el interior del recipiente de recolección (Radaelli & Platt, 2002).

### **Títulos de anticuerpos**

Pueden realizarse serologías en LCR para detectar anticuerpos víricos, fúngicos, protozoarios o rickettsiales. Sin embargo, ante un título positivo es difícil diferenciar si la producción de anticuerpos contra un agente específico se ha producido en el sistema nervioso o si su presencia se debe a disrupción de la barrera hematoencefálica o a contaminación sanguínea de la muestra. Pueden realizarse títulos de anticuerpos en sangre paralelamente para comprobarlos con los obtenidos en el LCR e incrementar así la fiabilidad de los títulos positivos en LCR (R. Platt & J. Olby, 2008).

### **Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)**

En laboratorios de referencia pueden realizarse PCR sobre LCR para la detección de algunos de los agentes que producen infecciones en el SNC, incluyendo *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, *Ehrlichia canis*, *Rickettsia rickettsii* y el virus del moquillo canino (Morales & Montoliu, 2012).

### **Tinciones especiales**

Las tinciones Gram son útiles para la visualización de bacterias intracelulares. Pueden realizarse también tinciones con tinta china o nuevo azul de metileno para la detección de agentes fúngicos, en especial, *Cryptococcus neoformans* (Chrisman, 1983).

- **Utilidad del líquido cefalorraquídeo**

En la última década se han visto tremendos esfuerzos en el descubrimiento y validación de biomarcadores para enfermedades neurodegenerativas, desde biomarcadores basados en biofluidos (sangre o LCR), hasta ácidos nucleicos, tejidos e imágenes. Si bien el ADN sigue siendo un biomarcador predominante utilizado para identificar formas familiares de enfermedades neurodegenerativas, varios tipos de ARN se han relacionado más recientemente con formas esporádicas de enfermedades neurodegenerativas durante los últimos años. Los enfoques de imágenes continúan evolucionando y están haciendo importantes contribuciones al compromiso de los objetivos y los biomarcadores de diagnóstico temprano. La incorporación de biomarcadores en el desarrollo de fármacos y ensayos clínicos para enfermedades neurodegenerativas promete ayudar en el desarrollo y demostración de la eficacia de los fármacos para los trastornos neurológicos (Jeromin & Bowser, 2017).

Actualmente, en medicina humana, la búsqueda de biomarcadores en el LCR que puedan indicar cambios tempranos para la detección de ciertas patologías, así como la posibilidad de poder valorar la respuesta a ciertos tratamientos en estas patologías a nivel del SNC se está convirtiendo en una tendencia, lo que lleva a pensar que estos marcadores también podrían ser de utilidad en medicina veterinaria (Bielekova & Pranzatelli, 2017). La medición del LCR ha resultado de utilidad en patologías como el Alzheimer, donde se revisaron 15 biomarcadores tanto en LCR como en suero, para evaluar cuales de ellos estaban más alterados en dicha patología (Olsson et al., 2016; Blennow & Zetterberg, 2018). En la enfermedad de Parkinson se han logrado avances en el descubrimiento de biomarcadores, y el LCR es de particular interés para estudiarlos por su cercanía a las estructuras cerebrales (Kwon et al., 2022).

En la esclerosis múltiple, el reciente desarrollo de ensayos sensibles para la cadena ligera de neurofilamentos (NfL), una proteína citoesquelética de neuronas expresada en axones, se ha convertido en un nuevo biomarcador potencial para predecir la actividad y progresión de la enfermedad. Los axones dañados del sistema nervioso central liberan NfL en el líquido cefalorraquídeo (LCR) y la sangre. (Yang et al., 2022).

En medicina veterinaria se realizó un estudio para identificar el potencial de NfL como una herramienta de apoyo para el diagnóstico, pronóstico y seguimiento de las MOD en perros. Las concentraciones de NfL en suero y LCR se midieron utilizando tecnología de matriz de molécula única. La concentración de NfL mostró una disminución significativa en el grupo de buena respuesta al tratamiento y un aumento significativo en el grupo de mala respuesta al tratamiento, por este motivo la cadena ligera del neurofilamento se puede considerar un biomarcador potencial para el diagnóstico de las MOD y evaluar la respuesta al tratamiento (Gaetani et al., 2019).

Además del citado anteriormente, existen relativamente pocos estudios que relacionen las alteraciones en las concentraciones de neurotransmisores, enzimas y sustratos metabólicos neuronales con diferentes patologías del SNC, otro ejemplo sería el estudio sobre la proteína chaperona en trastornos crónicos de la médula espinal de perros (Shafie et al., 2014).

Las mediciones de diferentes rangos de parámetros en el LCR son muy escasas, se han encontrado más estudios de estos parámetros en otros fluidos biológicos. Los marcadores de estrés oxidativo se han observado tanto en suero (Rubio et al., 2018), como en saliva en los animales domésticos (Contreras-Aguilar, Rubio, et al., 2022).

En patologías que afectan al SNC como las MOD, se observan alteraciones en las estructuras encefálicas y en el LCR, motivo por el cual es tan importante el estudio de éste, conocer las características de un LCR normal, para poder diferenciar entre muestras de animales sanos y animales que presentan este tipo de patologías (de Risio et al., 2015).

La correcta actividad neuronal está íntimamente ligada al flujo sanguíneo cerebral, por lo que en las patologías del SNC, una reducción en el aporte sanguíneo, provocará un déficit de nutrientes en este sistema y una alteración del metabolismo glucídico oxidativo, lo que provocará la sintomatología neurológica que se observa en estas patologías. Como consecuencia de esto, las neuronas se verán obligadas a emplear rutas metabólicas alternativas que van a producir metabolitos detectables en el LCR (Sato et al., 2007).

Este hecho se puede observar claramente en el Síndrome de Disfunción Cognitiva Canina (SDCC), en el que la alteración del metabolismo oxidativo provoca una cascada metabólica que conlleva una menor producción de ATP. Esto comporta una reducción de la actividad de la bomba  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPasa}$ , provocando el aumento del  $\text{K}^+$  extracelular, el bloqueo de la despolarización neuronal y el deterioro de la función cognitiva (Stylianaki et al., 2020). Se han publicado bastantes artículos, en los que se dan a conocer los beneficios de determinadas dietas enriquecidas con antioxidantes, vitaminas, ácidos grasos  $\omega_3$  y triglicéridos de cadena media, donde, tanto personas con demencia; como perros con SDCC se benefician de su ingesta (DeGiorgio & Taha, 2016; Scorza et al., 2013). En el perro, los factores de riesgo y las causas del SDCC no se han investigado completamente, aunque ciertos parámetros como la deficiencia de hormonas sexuales y el estrés oxidativo parecen estar asociados con un mayor riesgo de envejecimiento cerebral acelerado (Pan, 2021).

Los resultados del análisis del LCR proporcionan rápidamente información que puede ser de utilidad para la elección del tratamiento, el pronóstico o indicativa de la necesidad de realizar más pruebas diagnósticas. Sin embargo, los resultados pueden ser normales incluso en presencia de alteraciones significativas del SNC. Además, en contadas ocasiones el análisis del LCR por sí mismo proporciona un diagnóstico definitivo. Los hallazgos del LCR deben ser interpretados en el contexto de una historia clínica, unos signos clínicos y otras pruebas diagnósticas (Karlsson et al., 2015).

- **Parámetros medidos en el LCR**

En medicina humana, se han encontrado estudios, en los que algunos de estos analitos han resultado de utilidad en enfermedades inflamatorias del SNC (Harrer et al., 2021). Este panel está compuesto por diferentes parámetros que han sido clasificados en los distintos grupos que se detallan a continuación (Shafie et al., 2013).

1. **Proteínas totales:**

Las proteínas que se encuentran en mayor concentración en el suero son la albúmina y las globulinas. A su vez, el grupo de globulinas estará formado por varias fracciones que pueden ser cuantificadas mediante técnicas de electroforesis (Kushner, I.; Mackiewicz, 1993).

El líquido cefalorraquídeo se analizó para detectar proteínas totales, albúmina y patrones electroforéticos de albúmina y alfa, beta y gammaglobulinas en 10 perros sanos y 35 perros con trastornos del SNC. Se observaron cuatro patrones en la electroforesis. Estos patrones se correlacionaron con las condiciones clínicas y patológicas observadas. Los resultados del estudio mostraron que la electroforesis ayuda al diagnóstico de trastornos del SNC de los perros (Sorjonen, 1987).



## 2. Parámetros renales:

En este grupo se encuentran urea y creatinina. Su aumento indica alteración de la funcionalidad a nivel renal. Hay que tener en cuenta que no se consideran parámetros de daño renal temprano, ya que la creatinina empieza a verse elevada cuando más del 75% de las nefronas están dañadas (Michael et al., 2021).

- La **creatinina** (CREA) es un producto metabólico no enzimático de la creatina y la fosfocreatina, que en condiciones normales se produce a una tasa constante desde el tejido muscular esquelético. Es una molécula pequeña y no circula unida a proteínas plasmáticas, por lo que se filtra libremente a nivel glomerular. No se reabsorbe, pero se secreta por el túbulo proximal en un porcentaje variable, que aumenta a medida que progresa la insuficiencia renal. Las limitaciones de la creatinina como biomarcador son que está determinada por factores como son la masa muscular, la ingesta proteica, el ejercicio y el uso de medicamentos que pueden bloquear la secreción tubular, como la cimetidina y la trimetoprima. Además, los fibratos podrían aumentar la producción de creatinina a nivel muscular. (Huidobro E. et al., 2018). Se han encontrado elevaciones de CREA en LCR de personas con esquizofrenia (Swahn & Sedvall, 1988).
- La **urea** proviene del exceso de nitrógeno en el cuerpo, que en el hígado se transforma en ésta mediante el ciclo de la urea y se encuentra como producto de desecho en la orina. Este parámetro se ha medido, por primera vez, en asnos miniatura adultos clínicamente sanos en LCR, junto con otros parámetros. Observándose que el análisis del LCR puede proporcionar información importante además de la obtenida por el examen clínico. (Mozaffari & Samadieh, 2013).

## 3. Minerales:

El fósforo y el calcio son minerales que también están relacionados con la funcionalidad renal (Martiarena et al., 2016), pero constituyen otro tipo de analitos diferentes, motivo por el cual se han catalogado dentro de otro grupo distinto.

- El **calcio** es un mineral necesario para formar y mantener los huesos, también se usa para llevar a cabo muchas funciones importantes, es el mineral más abundante en el organismo (National Institutes Of Health, 2016). El organismo mantiene los niveles séricos de este mineral dentro de unos límites estrechos y estables por un estricto balance entre la entrada y la salida de este elemento al líquido extracelular. En la conservación de esta homeostasis están implicados principalmente tres órganos: intestino, hueso y riñón. Las denominadas hormonas calciotrópicas, parathormona, calcitonina y los metabolitos de la vitamina D regulan estos procesos (Carral San Laureano et al., 2000).
- El **fósforo** es un mineral que se encuentra en todas las células del organismo. La mayor parte del fósforo se encuentra en los huesos y en los dientes, otra parte se encuentra en los genes. Se utiliza para producir energía y llevar a cabo muchos procesos químicos importantes (Gal & Dahl, 2014). Estos parámetros también se han medido en el LCR de asnos adultos clínicamente normales (Mozaffari & Samadieh, 2013).

#### 4. Parámetros de almacenamiento del hierro:

En este grupo se distinguen varios parámetros: La transferrina, medida como capacidad total de unión de hierro (UIBC), la ferritina y el hierro. Estos parámetros tienen utilidad clínica al formar parte del perfil férrico para el estudio de las anemias, para su detección y monitorización durante el tratamiento de éstas (Erramouspe, 2012).

- La **transferrina** es la principal metaloproteína ligadora de hierro que se encuentra en el plasma. Es principalmente responsable del transporte de hierro por el cuerpo. La capacidad total de unión de hierro (UIBC) en el suero es una medición de la concentración de transferrina sérica porque cantidades insignificantes de hierro circulante se unen a otras proteínas. La UIBC es baja o reducida en situaciones de anemia y de enfermedad inflamatoria, porque es una PFA (proteína de fase aguda) negativa (Pannen, B. H. J.; Robotham, 1995).

Esta enzima se ha encontrado incrementada en el LCR de paciente con enfermedad de Creutzfeldt-Jakob y se considera un biomarcador para su diagnóstico junto a la enzima ferroxidasa (Haldar et al., 2013).

Se realizó otro estudio en medicina humana sobre las diferentes isoformas de la transferrina, para valorar si su concentración guardaba relación con las distintas enfermedades neurológicas. Los resultados sugieren que la transferrina podría ser un biomarcador de producción alterada de LCR (Murakami et al., 2019).

- La **ferritina** es una proteína de depósito de hierro. Hay dos formas de almacenamiento de hierro: una forma movilizable como ferritina y la fracción insoluble como hemosiderina. De esta manera se dispone de hierro no reactivo necesario para la eritropoyesis y procesos celulares. Se encuentra en altas concentraciones en hepatocitos, células del sistema retículo endotelial del hígado, bazo y médula ósea. Refleja el estado de los depósitos de hierro. Es un parámetro sensible para la detección de deficiencia de hierro y para la monitorización del tratamiento (Erramouspe, 2012). Valores disminuidos de ferritina sérica son altamente específicos de anemia ferropénica (Short & Domagalski, 2013). Se encuentra también disminuida en hipotiroidismo (Tiwari et al., 2021) y deficiencia de ascorbato (Li et al., 2020). Se encuentran valores aumentados en sobrecarga de hierro (García-Casal et al., 2021), hemocromatosis hereditaria (Khader, 2014) y eritropoyesis inefectiva (Huang et al., 2019). Es una proteína de fase aguda positiva, por lo tanto, está elevada en inflamación, infecciones, neoplasias y enfermedad hepática (Senjo et al., 2018). La ferritina se ha visto incrementada en el LCR de pacientes con el síndrome de piernas inquietas (Clardy et al., 2006). También en pacientes con Alzheimer (Ayton et al., 2023).
- El **hierro** es un mineral presente en todas las células del cuerpo humano, forma parte de la hemoglobina cuya función es transportar el oxígeno de los pulmones a todo el organismo. Depositado en la mioglobina actúa como facilitador de oxígeno, participa como transportador de electrones en el proceso de respiración celular y, al parecer, participa de la función inmunitaria y en el rendimiento cognitivo; sin embargo, no está muy claro el papel del hierro en estas dos últimas funciones (Radakovich, L. B.; Santangelo, K. S.; Olver, 2015).

El organismo humano almacena el hierro en forma de ferritina y hemosiderina. Las células cerebrales utilizan hierro para la síntesis de neurotransmisores y posiblemente de mielina (Alcaraz López et al., 2006). El hierro se ha encontrado incrementado en pacientes con ventriculomegalia grave en casos de hidrocefalia (Mahaney et al., 2022).

#### 5. **Enzimas pancreáticas:**

La amilasa es una enzima hidrolasa que tiene la función de catalizar la reacción de hidrólisis del glucógeno y el almidón para formar fragmentos de glucosa (dextrinas, maltosa) y glucosa libre. En los animales se produce principalmente en las glándulas salivares (sobre todo en las glándulas parótidas) y en el páncreas. Existen varios tipos de amilasas: la  $\alpha$ -amilasa (Janeček et al., 2014),  $\beta$ -amilasa (Ohnishi et al., 1985) y la  $\gamma$ -amilasa (Rozenfel'd et al., 1962). Estas enzimas se utilizan para el diagnóstico de procesos patológicos, como la pancreatitis (Peyrot des Gachons & Breslin, 2016; K. Simon et al., 1991) En animales con pancreatitis aguda se ha encontrado esta enzima también en el líquido cefalorraquídeo, por lo que puede atravesar la barrera hematoencefálica (Noble et al., 1970).

#### 6. **Enzimas musculares:**

Dentro de este grupo se encuentran varios parámetros. Sus características son las siguientes:

- **Creatinin quinasa (CK):** También conocida como creatina fosfoquinasa es la enzima encargada de catalizar la producción de fosfocreatina a través de la fosforilación de una molécula de creatina, consumiendo una molécula de ATP en el proceso. La mayor parte de la creatina de nuestro organismo se encuentra en las células musculares, no es de extrañar entonces, que la mayor concentración de esta enzima también se encuentre allí. Su incremento indica daño a nivel muscular (Phornphutkul et al., 1974) .

La CK es una isoenzima que se presenta en forma de dímero con dos tipos de subunidades denominadas M (muscular) y B (cerebral). Estas se combinan para formar tres estructuras diferentes: CK-1 (BB), CK-2 (MB) y CK-3 (MM). La expresión predominante en el músculo esquelético es la isoforma CK-3 o MM. Otros tejidos con altas concentraciones de CK son el miocardio, donde destaca la isoforma CK-2 o MB y el cerebro, cuya isoforma predominante es la CK-1 o BB. La presencia elevada de CK es consecuencia de daños en la membrana del sarcolema, por lo que una CK permanente elevada podría ser signo de patología muscular, cardíaca o cerebral (Fernández Alba, 2014).

Este parámetro ha servido de biomarcador, en estudios previos, encontrándose elevado en perros con enfermedades inflamatorias del SNC, viéndose este parámetro más elevado en las extracciones se realizaban a nivel lumbar (Lampe et al., 2020).

La enzima CK también se ha medido en el LCR de perros con diferentes patologías a nivel del SN, para valorar si su concentración puede ser de utilidad diagnóstica para varios grupos de afecciones neurológicas. Las muestras se dividieron en grupos según áreas anatómicas del SN y; según la naturaleza de la afección diagnosticada. El análisis estadístico mostró que esta enzima por sí sola no puede utilizarse como herramienta de diagnóstico. Tampoco hubo un valor diagnóstico para diferentes grupos de enfermedades o áreas anatómicas del SN (Ferreira, 2016).

- **Lactato deshidrogenasa (LDH):** Se puede encontrar en la sangre y en otros fluidos del cuerpo, como saliva o LCR (Nagai, 1963) . Su presencia es mayor en corazón, hígado, riñones, músculos, glóbulos rojos, cerebro y pulmones. Cumple una función importante en la producción de energía para el organismo, participando en el metabolismo energético anaerobio. Se encuentra en casi todos los tejidos, y cuando se produce daño en éstos, se libera. Unos niveles de LDH altos pueden indicar que ciertos tejidos han sufrido daños por una enfermedad o lesión (M. Lee et al., 2021). Su elevación se ha considerado de utilidad como biomarcador pronóstico en pacientes con neoplasias (Deme & Telekes, 2017).

Tanto los valores de LDH, como los de CK obtenidos en el LCR se pueden ver muy distorsionados por la contaminación con sangre iatrogénica. Estos parámetros han resultado útiles para el diagnóstico y pronóstico de enfermedades neurológicas, pero se deben tener en cuenta estas precauciones (Brune et al., 2022).

- **ALT:** También llamada transaminasa glutámico-pirúvica (GPT), es una enzima que pertenece al grupo de las transaminasas o aminotransferasas. Se encuentra principalmente en las células del hígado y riñón; pero también se encuentra en el corazón y en los músculos. La elevación de las cifras normales puede indicar una lesión hepática, cardíaca o muscular (Banfi et al., 2012).  
Su función es catalizar la transferencia del grupo amino de la alanina al ácido  $\alpha$ -cetoglutarico dando lugar a piruvato y glutamato, importantes en la producción de energía celular (Yip et al., 2021).

## 7. Lípidos:

Los lípidos son moléculas orgánicas hidrófobas pero solubles en disolventes no polares. Pueden estar formados por cadenas alifáticas saturadas o insaturadas o por anillos aromáticos. Son compuestos muy diversos. Algunos forman parte del tejido adiposo, que brinda soporte, protección y almacenamiento energético (Brown, 2021). En este grupo se encuentran: el colesterol y los triglicéridos

- **Colesterol:** Es un lípido esteroide que se encuentra en los tejidos corporales de todos los animales vertebrados y en su plasma sanguíneo. Es una sustancia estructural esencial para la membrana plasmática. Es una molécula imprescindible para la vida por sus numerosas funciones: estructural, precursor de la vitamina D, precursor de las hormonas sexuales, precursor de las hormonas corticoesteroidales, precursor de las sales biliares y precursor de la balsa de lípidos. No se han encontrado artículos en los que esta enzima se haya estudiado en el LCR de perros, pero en humana, incrementos de colesterol y ciertas apolipoproteínas, como la apolipoproteína E, están relacionados con la demencia senil (Kölsch et al., 2006) y ciertas enfermedades neurodegenerativas (Achariyar et al., 2016), al ser una proteína

multifuncional, con funciones centrales en la formación, metabolismo y transporte de lípidos; incluido el colesterol, a través del LCR y el plasma (Darreh-Shori et al., 2012). La regulación de su expresión tiene una conexión importante con enfermedades neurológicas y neurodegenerativas como la enfermedad de Alzheimer (Kölsch et al., 2006), el Parkinson (Griffiths et al., 2021), accidentes cerebrovasculares (Li, Li et al., 2020) y otras enfermedades (Yin & Wang, 2018).

- **Triglicéridos:** Son ésteres derivados de glicerol y tres ácidos grasos. Son los principales constituyentes de la grasa corporal en muchos animales. También están presentes en la sangre, para permitir la transferencia bidireccional de grasa adiposa y glucosa en sangre desde el hígado. Hay muchos tipos diferentes de triglicéridos, la principal división es entre saturados e insaturados (M. A. Lampe et al., 1983). En humana, los niveles altos de triglicéridos se han relacionado con patologías como arterioesclerosis, lo que conlleva un riesgo de enfermedad cardíaca y accidente cerebrovascular (Generoso et al., 2019; Raposeiras-Roubin et al., 2021). Tampoco se han encontrado artículos en los que se encontrará este analito en el LCR de perros, pero si se ha detectado en humana, en pacientes con Alzheimer, considerándose un biomarcador de la enfermedad (Bernath et al., 2020).

## 8. Parámetros hepáticos:

Estos parámetros se suelen utilizar para valorar la funcionalidad hepática y suelen verse alterados en caso de que exista alguna patología relacionada con este órgano, aunque estos analitos se pueden encontrar en más tejidos, por lo que también pueden verse alteradas por otras causas. En este grupo distinguimos: la fosfatasa alcalina (ALP), la gamma glutamiltransferasa (GGT) y la aspartato aminotransferasa (AST) (Imbery et al., 2022). No se han encontrado estudios, ni en humana ni en veterinaria que hablen de estos parámetros en LCR.

- **Fosfatasa alcalina:** Es una enzima hidrolasa responsable de eliminar los grupos fosfato (desfosforilación) de varias moléculas como nucleótidos, proteínas y otros compuestos fosforilados. Son enzimas que se encuentran presentes en casi todos los tejidos del organismo, siendo particularmente altas en huesos, hígado, placenta, intestinos y riñón. Tanto su aumento como su disminución tienen significado clínico (Kojima et al., 2017).
- **GGT:** Es una enzima hepática que existe en una gran cantidad de tejidos, pero su presencia predomina a nivel de los hepatocitos, siendo un marcador de laboratorio de la enfermedad hepática. Está presente en las membranas celulares de los riñones, el conducto biliar, páncreas, hígado, bazo, corazón, cerebro y vesículas seminales. Está involucrada en la transferencia de aminoácidos a través de la membrana celular y el metabolismo de los leucotrienos. La GGT juega un papel clave en el ciclo de la gamma-glutamil, una vía de síntesis y degradación de glutatión y de desintoxicación de drogas y xenobióticos (Paolicchi et al., 2003).  
El producto de este metabolismo es la cisteína, cuya función es preservar la homeostasis intracelular del estrés oxidativo (Sutherland, 1989).
- **AST:** También conocida como glutamino oxalacético transaminasa (GOT), esta enzima se clasifica dentro de las transaminasas de clase I. Se encuentra en varios tejidos del organismo de los mamíferos, especialmente en el corazón, hígado y tejido muscular; aunque también se encuentra presente en hematíes, riñón y cerebro. Se suele elevar en patologías como: infarto agudo de miocardio, hepatopatía aguda, miopatías, daño pulmonar, por el empleo de determinados fármacos y en casos de enfermedad o trastorno en el que las células resulten dañadas gravemente (de Schepper et al., 1987; B. S. Jones & Harcourt-Brown, 2022).



**9. Glucosa:**

La glucosa es un monosacárido que contiene seis átomos de carbono y es el compuesto libre o combinado más abundante en la naturaleza. Es la fuente primaria de síntesis de energía de las células, mediante su oxidación catabólica, y es el componente principal de polímeros de importancia estructural como la celulosa y de polímeros de almacenamiento energético como el almidón y el glucógeno (Mulukutla et al., 2016). Se han encontrado niveles disminuidos de glucosa en LCR de perros con enfermedades inflamatorias del SNC (Weber et al., 2012).

**10. Proteínas de fase aguda:**

La respuesta de fase aguda es la reacción que se produce en el animal como respuesta a disturbios de la homeostasis causados por la infección, daño tisular, procesos inflamatorios, crecimiento neoplásico o desordenes inmunológicos (Kushner I., Gewurz H. & D., 1981).

Este mecanismo fisiológico produce alteraciones en el equilibrio hidroelectrolítico, en el metabolismo del nitrógeno, glucosa y lípidos; en la síntesis de hormonas, en la temperatura corporal y la producción de células sanguíneas. Muchos de estos cambios suceden en horas o días y son iniciados por la producción y liberación de citoquinas como el factor de necrosis tumoral-alfa (TNF $\alpha$ ), la interleucina-1 (IL-1), la interleucina-6 (IL-6) y la interleucina-8 (IL-8) en respuesta al estímulo nocivo (Herpers et al., 2009).

La respuesta de fase aguda incluye fiebre, modificación importante en la síntesis hepática de proteínas de fase aguda, aumento de neutrófilos inmaduros circulantes, disminución de concentraciones séricas de hierro y zinc, cambios en el metabolismo de los macronutrientes, disminución en la concentración de albúmina, prealbúmina y transferrina y aumento en la concentración de cortisol. El incremento de las proteínas de fase aguda puede variar, según el tipo de proteína (Kushner, I.; Mackiewicz, 1993). En este grupo se distinguen:

- La **proteína C reactiva (CRP)**: se denominó así por su capacidad de unirse a la fracción C del polisacárido de los neumococos (Briles et al., 1989). Esta proteína interviene en la adaptación o defensa del organismo hospedador frente al patógeno. Además de unirse a las membranas de algunos agentes infecciosos, la CRP parece promover la activación del complemento y puede unirse a la cromatina nuclear de las células dañadas (Szalai et al., 2000). Es una proteína perteneciente a la familia de las pentraxinas y está formada por cinco subunidades idénticas unidas por enlaces no covalentes (Black et al., 2004). Al contrario que la CRP del humano y del caballo, que no son glucoproteínas (Tugirimana et al., 2011), dos de las cinco subunidades de la CRP del perro están glucosiladas (Waritani et al., 2020).  
La CRP es una proteína de fase aguda mayor, incrementando rápidamente en el plasma de perros (Reusing, Mhayara S. O et al, 2015). Muestra un aumento en las concentraciones séricas en perros con inflamación sistémica por causas como: cirugía, traumas, infecciones o neoplasia (Chrisensen, M. B.; Eriksen, T.; Kjelgaard-Hansen, 2015).  
La proteína C reactiva se midió en el LCR de perros con diferentes trastornos inflamatorios, siendo más elevada en estos animales que en los que presentaban compresión medular o epilepsia idiopática (Martínez-Subiela et al., 2011).  
La proteína C reactiva también se ha visto incrementada en perro con enfermedad congestiva cardíaca debida a una enfermedad de la válvula mitral (Reimann et al., 2016).
- La **haptoglobina**: Tiene una importante función protegiendo los tejidos del hospedador de los metabolitos del oxígeno, que son liberados por parte de las células fagocíticas durante la inflamación (Kushner, I.; Mackiewicz, 1993). Es una glicoproteína que existe en forma de dímero y de polímero. La lisis de los eritrocitos en la circulación (hemólisis intravascular) libera hemoglobina libre hacia el plasma, y los tetrámeros de hemoglobina se disocian de forma espontánea en  $\alpha$ - $\beta$  dímeros que son unidos por la haptoglobina (Shih et al., 2014) Cada monómero de haptoglobina puede unir de forma irreversible un dímero  $\alpha$ - $\beta$ , evitando parte de la pérdida de hemoglobina (y por ello pérdida de hierro) en la orina tras la hemólisis intravascular (Makimura, S. y Suzuki, 1982).

También sirve para la protección frente a infecciones bacterianas por unirse a la hemoglobina libre en los tejidos infectados, limitando la disponibilidad de hierro para el crecimiento bacteriano (Eaton et al., 1982). Además, la haptoglobina funciona como un antioxidante, porque la hemoglobina libre promueve las lesiones oxidativas, que son inhibidas por unirse a la haptoglobina (di Masi et al., 2020). Finalmente, se ha descrito que inhibe varios aspectos de la función de los neutrófilos (Oh et al., 1990).

El complejo hemoglobina-haptoglobina es eliminado del plasma por los hepatocitos y macrófagos, y la presencia de una baja concentración plasmática de haptoglobina en perros, gatos y caballos sugiere que existe hemólisis intravascular reciente o actual (Andersen et al., 2017).

Es una proteína de fase aguda, y la medición de concentraciones aumentadas en el plasma facilita evidencias de inflamación (Melgar et al., 2005) o infección (Kasvosve et al., 2010) en todos los animales domésticos examinados, aunque los valores aumentados también pueden ser resultado de la administración de glucocorticoides en algunas especies (perros y vacas) (Solter, P.; Hoffmann, W. E.; H... et al., 1991). Sólo la haptoglobina libre se detecta en las pruebas espectrofotométricas de haptoglobina; consecuentemente, las concentraciones de haptoglobina plasmática total no pueden medirse de forma precisa en muestras hemolizadas en las que parte o toda la haptoglobina está unida a la hemoglobina (Meyer, D. J.; Harvey, 2007).

La proteína C reactiva y la haptoglobina, junto a otras proteínas de fase aguda, se han detectado en el LCR de perros con hernias, ocurridas de manera natural, a nivel de los discos vertebrales, midiéndose la concentración de estas proteínas antes y después del daño producido a nivel del SNC y encontrándose cambios significativos en el LCR (Anderson et al., 2015).

Las proteínas de fase aguda se han medido en perros con *Dirofilaria immitis*, antes y después de administrarles un tratamiento adulticida, para determinar el daño vascular sufrido en estos perros (Falcón-Cordón et al., 2022; Méndez et al., 2015).

Estas proteínas también se han medido en la leishmaniosis canina para evaluarlas en los diferentes estadios clínicos de la enfermedad (Pardo-Marin et al., 2020).

Debido a la gran cantidad de bibliografía que hay sobre las proteínas de fase aguda y su utilidad en gran número de patologías de carácter inflamatorio, hay grandes perspectivas de futuro sobre su uso clínico (Cerón et al., 2005).

### **11. Parámetros del Sistema Inmune:**

En este grupo sólo se encuentra la adenosina deaminasa (ADA). Es una enzima que interviene en el metabolismo de las purinas. Promueve la desaminación de la adenosina, dando como resultado inosina, que puede continuar su proceso metabólico transformándose en hipoxantina. Interviene en el desarrollo y mantenimiento del sistema inmune, en la diferenciación de células epiteliales y en la gestación. Se distinguen tres isoenzimas diferentes: ADA<sub>1</sub>, ADA<sub>2</sub> y tADA (Gao et al., 2022). La mayor parte de la actividad ADA se encuentra en los linfocitos y los monocitos, siendo en ellos unas diez veces superior a la encontrada en los otros tejidos (Franco et al., 1998; Mesa-Nuñez & Mortellaro, 2022). Presenta un gran interés clínico al encontrarse una relación entre los valores disminuidos en este parámetro y algunas formas de inmunodeficiencia (Bradford et al., 2017) o tipos de cáncer (Zhulai et al., 2022). También se ha encontrado elevación de este parámetro en ciertos líquidos biológicos, como la saliva, en el curso de enfermedades que presentan una respuesta inmune de tipo celular (Kohn et al., 2019) Este parámetro también se ha medido en perras que presentaban carcinoma mamario, resultando ser un parámetro con significancia clínica, con un efecto antiinflamatorio en las muestras de tumores, probablemente para modular la respuesta inflamatoria (Machado et al., 2015).

## **12. Parámetros de estrés oxidativo:**

En la década de 1930, Leonor Michaelis propuso que los radicales libres mediaban en la mayoría, si no en todas, las reacciones de oxidación que involucraban moléculas orgánicas (Michaelis, 1939). Aunque esta declaración fue generalmente incorrecta, estimuló un interés sustancial en la participación de los radicales libres en diferentes transformaciones químicas. Inicialmente se creía que la alta reactividad química de los radicales libres no era compatible con su presencia en organismos vivos (Commoner et al., 1954).

Sin embargo, a principios de la década de 1950, los radicales libres se encontraron en sistemas biológicos (Commoner et al., 1954) y prácticamente de inmediato se propuso que estuvieran implicados en diversas patologías (Gerschman et al., 1954) y el envejecimiento (Harman, 1956).

Se observó que existían microambientes separados para mitocondrias, lisosomas y peroxisomas; y que cada uno contenía un sistema generador de especies reactivas de oxígeno (ROS) acoplado a un sistema de defensa antioxidante adyacente. Se sugirió que esta compartimentación puede ser el mecanismo de defensa endógeno más importante contra el estrés oxidativo (Mcmichael, 2007).

El concepto de estrés oxidativo fue introducido por Helmut Sies en 1985 en el capítulo introductorio de su libro titulado “Estrés oxidativo” donde también dio la primera definición de este fenómeno (Sies, 1985). Este trabajo seminal y otros, de este mismo autor, inspiraron muchas investigaciones en el campo del estrés oxidativo de tal manera que, en la actualidad, el concepto de estrés oxidativo es bien aceptado y ampliamente utilizado en los campos básicos y aplicados de la biología y la medicina (Storey, 1996; Jones & Sies, 2015; Cadenas et al., 2016; Salim, 2017; Islam, 2017; Garaschuk et al., 2018; Lushchak, 2021). Además, es un concepto importante en la adaptación al estrés ambiental por parte de los organismos (Storey, 1996; Lushchak, 2011)

El estrés oxidativo es causado por un desequilibrio entre la producción de especies reactivas del oxígeno y la capacidad del sistema biológico de neutralizar rápidamente los reactivos intermedios o reparar el daño resultante a través de moléculas antioxidantes que puedan neutralizar los radicales libres (Brieger et al., 2012).

Los radicales libres fueron descubiertos a principios del siglo XX por Moses Gomberg (1900) (Alkadi, 2020), son moléculas con uno o más (deben ser impares) electrones no apareados en la capa externa. No todas las especies que causan daño oxidativo son radicales libres, por eso un término más adecuado es el de ROS (Brieger et al., 2012).

Los ROS son capaces de reaccionar con todas las moléculas orgánicas: ácidos nucleicos, proteínas, carbohidratos y lípidos (Liochev, 2013). La principal fuente de formación de ROS, en las células, es la fuga de electrones de las cadenas de transporte de electrones (B. Yang et al., 2019). Se estima que entre el 90-95% del oxígeno que pasa a través de la mitocondria se transforma en agua y se queda un 5-10% restante, que formará los ROS. La generación de ROS se mantiene al mínimo gracias a la alta eficiencia de la transferencia de electrones y el secuestro de iones metálicos (Rubio & Cerón, 2021).

El daño producido por los ROS a las proteínas y al ADN puede tener efectos de gran alcance que conducen a mutaciones y eventualmente carcinogénesis (Sahoo et al., 2022). De hecho, los ROS ahora se consideran una clase importante de carcinógeno y han estado implicados en la iniciación, promoción y la progresión del cáncer. La asociación entre la inflamación crónica y el cáncer pueden estar mediados a través de la liberación de ROS desde los leucocitos durante la inflamación, con el consiguiente daño en el ADN (Mcmichael, 2007).

Estos parámetros oxidativos son los que dan lugar al estrés oxidativo dentro del organismo (Hook et al., 2004). A lo largo de los años de la historia de la ciencia se han ido dando definiciones para explicar lo que es el estrés oxidativo, así la primera definición de estrés oxidativo, como se ha indicado anteriormente, la dio H. Sies en 1985 como: “una alteración en el equilibrio prooxidante-antioxidante a favor del primero, que conduce a un daño potencial”.

El equilibrio alterado entre pro y antioxidantes es un punto clave en esta definición. Más tarde, el autor actualizó la definición a “Un desequilibrio entre los oxidantes y los antioxidantes a favor de los oxidantes, que puede causar daño, se denomina “estrés oxidativo” (Sies, 1997). Cabe señalar aquí dos aspectos: Dado que los radicales libres son especies de vida muy corta, no se pueden acumular y, por lo tanto, sólo se puede hablar de sus niveles de estado estacionario; y la investigación ha demostrado que los radicales libres no sólo son especies nocivas, sino que también están involucrados en una serie de procesos regulatorios normales (D. P. Jones, 2008).

Muchas de las predicciones que se realizaron con el descubrimiento de los radicales libres y los ROS resultaron ser correctas y ahora tenemos información sustancial que respalda la participación de los radicales libres en diversas patologías y el envejecimiento. La teoría de los radicales libres sobre el envejecimiento es probablemente la mejor sustentada experimentalmente y es muy apreciada por la comunidad científica (Gladyshev, 2014; Harman, 1956; Viña et al., 2013).

En este grupo se distinguen dos antioxidantes:

- El **TIOL**: son moléculas que contienen un grupo sulfhidrilo en la cadena lateral (SH) y actúan como antioxidantes, estabilizando los radicales libres al aceptar su electrón desapareado. De hecho, los tioles juegan un papel crucial en los organismos vivos, ya que contribuyen a mantener la homeostasis redox celular al regular los potenciales de oxidación-reducción y las proporciones de proteínas tiol-disulfuro. Estos parámetros se han utilizado como biomarcadores en diferentes estadios del fallo cardíaco canino (Rubio et al., 2020).
- El **CUPRA**: El cobre participa en funciones de carácter antioxidante, protegiendo a las células de los efectos tóxicos de los radicales libres. Actúa como cofactor de las enzimas: fenoloxidasas, ascorbato oxidasa, superóxido dismutasa (SOD); y participa en el transporte de electrones en las cadenas respiratoria y fotosintética. Potencia el sistema inmunitario, en la formación de enzimas, proteínas y neurotransmisores; y facilita la fijación del calcio y del fósforo (Singh et al., 2017; Vázquez-Ovando et al., 2022). No se han encontrado estudios que hayan detectado este parámetro en LCR.

### 13. Parámetros de estrés:

El estrés es una reacción fisiológica del organismo en el que entran en juego diversos mecanismos de defensa para afrontar una situación que se percibe como amenazante o de demanda incrementada (Rom & Reznick, 2015).

Fisiológica o biológicamente es la respuesta de un organismo a un factor de estrés, como una condición ambiental o un estímulo. El estrés es el método que tiene el organismo de reaccionar a un desafío (Galluzzi et al., 2018). Existen una gran variedad de eventos estresantes, atendiendo a la naturaleza de los mismos, la respuesta a éstos se origina mediante la activación del sistema nervioso simpático (SNS), que da lugar a la respuesta de lucha o huida; provocando: vasoconstricción periférica, midriasis, taquicardia, taquipnea, ralentización de la motilidad intestinal, pérdida de pigmentación en el cabello, etc (D'Alessio et al., 2001).

Este sistema produce una liberación masiva en el torrente sanguíneo de glucocorticoides: catecolaminas (adrenalina y noradrenalina), cortisol y encefalina (Willette et al., 1991). Con el consiguiente aumento de la glucosa, factores de coagulación, aminoácidos libres y factores inmunitarios. La sangre se hace trombolítica, con lo que aumentan los riesgos de accidente cerebrovascular (ACV) y otras trombosis (von Känel & Dimsdale, 2000).

El organismo desarrolla estos mecanismos para aumentar las probabilidades de supervivencia frente a una amenaza a corto plazo, pero no para ser mantenidos indefinidamente (von Känel & Dimsdale, 2000). Se distinguen dos tipos de estrés (Lu et al., 2021):

- **Eustrés o estrés positivo:** Es un proceso natural y habitual de adaptación circunstancial, que consiste en la activación del SNS con el objetivo de resolver una situación compleja (McEwen, 2006).



- **Distrés o estrés negativo:** Es aquel que supera el potencial de homeostasis o equilibrio del organismo causándole fatiga, mayores niveles de ansiedad, de irritabilidad y de ira (F. Simon et al., 2014). El estrés mantenido puede provocar consecuencias, debidas al aumento del gasto de energía, el descenso del descanso y el consiguiente agotamiento del organismo (Palumbo et al., 2020). A medio y largo plazo, este estado de alerta sostenido desgasta las reservas del organismo y provoca inmunodepresión (Dragoş & Tănăsescu, 2010). Además, la liberación de hormonas de estrés inhibe la maduración de los linfocitos, encargados de la inmunidad específica (Dhabhar, 2014).

Debido a que el cuerpo no puede mantener el estado de estrés durante largos períodos de tiempo, el sistema parasimpático (SNP) tiene la tendencia a hacer regresar al cuerpo a las condiciones fisiológicas normales o homeostasis (D. P. Williams et al., 2017).

Dentro del grupo de los parámetros de estrés, sólo se encuentra un parámetro, la actividad esterasa total (TEA). La esterasa es un enzima hidrolasa que rompe enlaces éster por medio de la hidrólisis. Existen un amplio rango de estereasas que difieren en su especificidad de sustrato, su estructura proteica y su función biológica. Esta enzima se ha encontrado en muestras salivares de vacas como biomarcador de estrés, junto con otros biomarcadores, muchos de los cuales se han descrito previamente. El análisis de la mayoría de estos analitos fue estadísticamente significativo (Contreras-Aguilar, Vallejo-Mateo, et al., 2022).

#### 14. **Neurotransmisores:**

Dentro de este apartado se encuentran las enzimas del grupo de las colinesterasas. Estos compuestos catalizan la hidrólisis del neurotransmisor acetilcolina sobrante en el espacio sináptico en colina y ácido acético, reacción necesaria para permitir que la neurona colinérgica retorne a su estado de reposo después de la activación, evitando así una activación excesiva causada por la acetilcolina, que produciría una sobreestimulación el efector y, como consecuencia, daño en la neurona o en el músculo. Existen dos tipos de colinesterasas y su diferencia radica en sus respectivas preferencias por el sustrato.

Se clasifican así:

- **Acetilcolinesterasa (ACHE):** Se encuentra principalmente en sangre y en las sinapsis nerviosas. Hidroliza el sustrato del neurotransmisor acetilcolina más rápido (Bareggi & Giacobini, 1978). Existen con varias isoformas moleculares, cada una con propiedades catalíticas similares, aunque difieren en la forma de adherirse a la superficie de la membrana celular (Das et al., 2005). Modular la actividad de la acetilcolinesterasa es una de las maniobras terapéuticas fundamentales en aliviar las funciones cognitivas en pacientes con Alzheimer (Pakaski & Kasa, 2003).
- **Butirilcolinesterasa (BCHE):** Es muy similar en su estructura a la enzima acetilcolinesterasa (Chatonnet & Lockridge, 1989). Se encuentra en todos los tejidos del organismo, principalmente en el hígado (Jasiecki et al., 2021). No se encuentra en los glóbulos rojos (Inestrosa et al., 1994). También participan en la hidrólisis de ésteres de colina, aunque su papel fisiológico aún no está muy claro (Lockridge, 2015). Hidroliza el sustrato del neurotransmisor butirilcolina más rápido. (Scarsella et al., 1979; D'Angelo & Scarsella, 1979).

Se han realizado estudios prospectivos con doble ciego, para valorar la actividad de la acetilcolinesterasa en el LCR de perros después de una convulsión y perros con enfermedad del disco intervertebral, comparándose con el resultado obtenido en perros sanos. A pesar de que los resultados no mostraron diferencias significativas en cuanto a la concentración de esta enzima en el LCR de los grupos del estudio, nos proporciona nueva información sobre la ACHE en el LCR de perros tras sufrir convulsiones naturales (Chai et al., 2013).

Se han encontrado gran cantidad de estudios en medicina veterinaria, en los que alguno de los analitos descritos previamente se ha detectado en el LCR de perros con diversas patologías. Se destacan los siguientes: en perros en herniación de disco intervertebral, la proteína de mielina básica se ha utilizado considerándose un biomarcador de pronóstico para estas patologías (Fosgate, 2010). Además, la proteína tau se ha encontrado en el LCR de perros considerándose un biomarcador de la severidad del daño espinal en perros con esta misma patología (Roerig et al., 2013).

Otros parámetros, como la expresión del microARN en el líquido cefalorraquídeo de perros, también se ha considerado un biomarcador para la distinción entre pacientes con y sin espondilomielopatía cervical (Vansteenkiste et al., 2019)

En perros con MOD, la cadena ligera de neurofilamento (NfL) se ha usado como un biomarcador de una buena respuesta al tratamiento clínico, y se podría considerar su utilidad como un marcador de diagnóstico para la MOD (Yun et al., 2021). Este estudio se basó en los realizados previamente en medicina humana, utilizando esta misma proteína como biomarcador de diferentes desordenes neurológicos (Gaetani et al., 2019).

En enfermedades inflamatorias del SNC, se han encontrado elevaciones del lactato en el LCR (Mariani et al., 2019). Además, este mismo parámetro también se ha visto incrementado en el LCR de perros que sufrían convulsiones (Mariani et al., 2020).

Por norma general, en la mayoría de los estudios, se suele valorar la respuesta de un solo biomarcador y, como se ha visto, la elevación de un analito en el LCR, por sí solo, no tiene un valor diagnóstico relevante para los procesos relacionados con el SNC, pero es más probable que un panel de analitos nos muestre una información más destacada sobre las enfermedades neurológicas, pues, en medicina humana, un panel de posibles biomarcadores para el Alzheimer, mostro unos resultados mucho más plausibles, que los estudios previos con un solo biomarcador (Jeromin & Bowser, 2017).

El diagnóstico de los perros con MOD es bastante complejo por la naturaleza idiopática de la patología, por lo que cualquier analítico que pueda ayudar a un diagnóstico precoz, en este tipo de patologías, mejoraría la calidad de vida de los animales afectados por esta enfermedad, ya que, hasta el momento, el diagnóstico definitivo de la enfermedad sólo se puede hacer a través de la histopatología de manera postmortem (Cornelis et al., 2019).

# **Material y métodos**

---

- **Comité de Ética y Experimentación**

Las muestras utilizadas para nuestro estudio fueron muestras de desecho, que se extrajeron y utilizaron previamente con finalidad diagnóstica. El sobrante de las muestras fue reutilizado en nuestro estudio, amparado por el Comité de Bioseguridad y Experimentación (CBE) con código 335/2020.

- **Población utilizada para el estudio**

Las muestras utilizadas en este estudio provienen de perros enfermos que llegaron a la consulta de Medicina Interna (Neurología) del Hospital Veterinario de la Universidad de Murcia y al Servicio de Neurología del Hospital Veterinario Vetsia de Madrid por problemas neurológicos de neurolocalización intracraneal entre los años 2019-2022. Dentro del protocolo diagnóstico fue necesaria la realización de una resonancia magnética y extracción de LCR para intentar llegar a un diagnóstico y aplicar un tratamiento. Aquellas muestras de LCR provenientes de animales cuyo diagnóstico clínico era de una meningoencefalitis de origen desconocido, en lugar de ser desechadas según la legislación vigente, fueron congeladas a -20°C hasta su reutilización en este estudio.

El grupo control estuvo formado por aquellas muestras de animales que acudieron a la consulta de Neurología por convulsiones y que reunían los criterios señalados por la IVETF-2015 con un nivel de significación Tier II para un diagnóstico clínico de epilepsia idiopática.

- **Criterios de inclusión**

Todas las muestras utilizadas en este estudio provienen de animales con un diagnóstico clínico de meningoencefalitis de origen desconocido en base a las pruebas de imagen y LCR. En concreto, se utilizó un aparato de resonancia de bajo campo donde deberían apreciarse lesiones mal definidas, hiperbrillantes en las secuencias potenciadas T2, al menos en el encéfalo anterior y una pleocitosis predominantemente mononuclear en el LCR junto con pruebas negativas para los agentes infecciosos de la zona.

Para que los animales pudieran formar parte de este estudio clínico debían de cumplir los siguientes criterios específicos:

- **Tener una historia clínica completa y detallada con:** Reseña, motivo de consulta, anamnesis y; exámenes físicos y neurológicos completos.
- **Hemograma y bioquímica completa** antes de empezar el tratamiento.
- **Examen de LCR completo con:** Diferenciación celular y concentración de proteínas. La concentración de proteínas debería estar por encima de 25 mg/dl, el número de células debería ser superior a 7 células/ $\mu$ l y con una población predominantemente mononuclear.
- **Animales mayores de 6 meses de edad.**
- **Animales negativos a meningoencefalitis de origen infeccioso:** con pruebas negativas, bien serológicas o de PCR en LCR, frente a *Neospora caninum*, *Toxoplasma gondii*, *Cryptococcus neoformans* y moquillo.
- **Pruebas de imagen:** Deben presentar una RM con una o múltiples lesiones hiperintensas en T2 compatibles con una RM según los criterios establecidos (Granger et al., 2010).

- Criterios de exclusión

Los animales que presentaban alguna de las características que se describen a continuación no pudieron formar parte del estudio:

- Animales que **sólo presentaban neuritis óptica** como signo neurológico.
- Animales con **reticulosis neoplásica**.
- Animales con **meningoencefalitis infecciosa**.
- Animales con **historiales clínicos incompletos**.

Con todas las muestras que formaron parte del estudio clínico se hicieron tres grupos:

- Grupo control o Grupo A.
- Grupo problema sin corticoides o Grupo B.
- Grupo problema con corticoides o Grupo C.

- Grupo control (Grupo A)

Los animales pertenecientes a este grupo presentaron un diagnóstico clínico de epilepsia idiopática (EI) según los criterios señalados por la IVEFT-2015 con un nivel de significación Tier II (De Risio et al., 2015). Brevemente estos criterios implican que estos animales no presentan una lesión estructural subyacente en el encéfalo, el inicio de la primera crisis debería estar entre los 6 meses y los 6 años, presentar un examen neurológico interictal normal, una RM irreseñable y unos valores de ácidos biliares pre y postprandiales normales. En este tipo de epilepsia se presume, con un nivel alto de significación, que las convulsiones tienen un origen genético.

La población del grupo control está conformada por un total de 9 muestras. Los datos clínicos de cada individuo perteneciente a este grupo se describen en la tabla 3.

<b>Nº muestra</b>	<b>Raza</b>	<b>Sexo</b>	<b>Edad</b>	<b>Peso</b>	<b>Fecha extracción</b>
20	Mestizo	Macho	3 años	21,7 kg	25/07/2019
21	Beagle	Hembra	5 años	19,2 kg	16/07/2019
11	Border Collie	Hembra	7 años	18 kg	05/07/2019
18	American Staffordshire terrier	Hembra	7 años	18,7 kg	11/07/2019
35	Chihuahua	Macho	4 años	3,1 kg	04/07/2019
30	Angora	Hembra	11 años	4 kg	06/06/2019
46	Golden Retriever	Macho	3 años	35,8 kg	24/05/2019
3	Común europeo	Hembra	6 años	5,7 kg	15/07/2019
17	Mestiza	Hembra	8 meses	13,5 kg	06/06/2019



Tabla 3. Datos de los animales que forman el grupo control (Grupo A). En esta tabla se indica la fecha de extracción de las muestras de LCR, ya que este estudio se ha ido realizando a lo largo de varios años, es un estudio longitudinal.

- **Grupo problema sin corticoides (Grupo B)**

La población perteneciente al grupo problema está formada por animales con un diagnóstico presuntivo de MOD, independientemente de que se sospechara de: meningoencefalitis granulomatosa (GME), meningoencefalitis necrotizantes (MEN y LEN) o meningoencefalitis eosinofílica. Las características y clasificación de esta patología ya han sido detallada previamente.

Estos animales fueron a la clínica con una sintomatología neurológica, en todos ellos se realizó una anamnesis completa, un examen neurológico, una RM compatible con el diagnóstico presuntivo de MOD y; la extracción del LCR con pleocitosis predominantemente mononuclear y ausencia de agente infeccioso implicado. La población del grupo problema sin corticoides está conformada por un total de 10 muestras. Los datos clínicos de cada individuo perteneciente a este grupo se describen en la tabla 4.

## Material y métodos

<b>Nº muestra</b>	<b>Raza</b>	<b>Sexo</b>	<b>Edad</b>	<b>Peso</b>	<b>Fecha extracción</b>
57	Mestizo	Macho	7 años	N/D	14/08/2019
60	Pomerania	Hembra	4 años	3,7 kg	22/07/2019
41	Bulldog francés	Macho	7 años	18 kg	12/07/2019
59	Chihuahua	Macho	2 años	2,2 kg	30/05/2019
10	Bichón maltés	Macho	3 años	4,3 kg	24/04/2019
4	Weimaraner	Macho	8 años	32 kg	15/04/2019
38	Yorkshire terrier	Macho	1 año	2,4 kg	26/06/2019
8	Mestizo	Macho	6 años	6,4 kg	03/04/2019
23	Papillon	Macho	2 años	4 kg	08/04/2019
42	Mestiza	Hembra	4 años	11,2 kg	03/06/2019

Tabla 4. Datos de los animales que forman el grupo problema sin corticoides (Grupo B).

- Grupo problema con corticoides (Grupo C)

La población perteneciente al grupo problema con corticoides también presenta meningoencefalitis de origen desconocido, pero a diferencia del grupo anterior, estos animales recibieron la administración de antiinflamatorios esteroideos (glucocorticoides) en el momento de la remisión al Servicio de Neurología por su veterinario habitual.

Al igual que en los otros grupos de estudio, en todos ellos se realizó una anamnesis completa, un examen neurológico, una RM compatible con el diagnóstico presuntivo de MOD y una extracción de LCR. La población del grupo problema con corticoides está conformada por un total de 7 muestras. Los datos clínicos de cada individuo perteneciente a este grupo se indican en la tabla 5.

Nº muestra	Raza	Sexo	Edad	Peso	Fecha extracción
9	Bichón maltés	Hembra	2 años	2,4 kg	03/07/2019
15	Yorkshire terrier	Macho	9 años	2,1 kg	29/04/2019
34	Bichón maltés	Hembra	5 años	4,9 kg	30/09/2019
39	Mestiza	Hembra	6 años	8 kg	25/09/2019
47	Perro de Aguas	Macho	8 meses	21 kg	07/08/2019
52	Bichón maltés	Hembra	9 años	5 kg	27/06/2019
27	Yorkshire terrier	Macho	3 años	3,1 kg	06/06/2019

Tabla 5. Datos de los animales que forman el grupo problema con corticoides (Grupo C).

- Técnicas y tipo de ensayo para la medición

Para la medición de los parámetros que forman parte de este estudio se ha utilizado el analizador automático de bioquímica Olympus AU600® (Olympus Diagnostica GmbH, Hamburg, Germany) (Figuras 27 y 28). Las técnicas específicas utilizadas para cada uno de ellos son las siguientes:



Figura 27. Analizador automático de bioquímica Olympus AU600®.

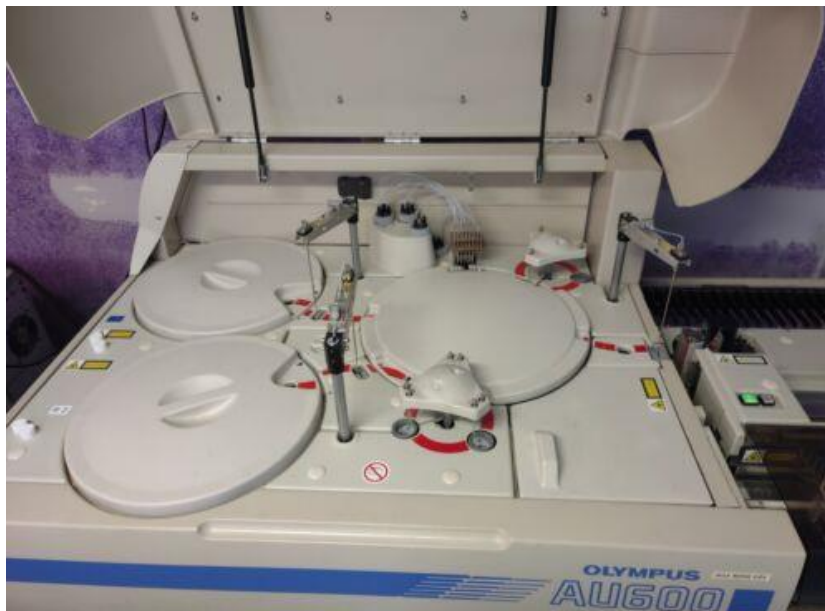


Figura 28. Interior del analizador automático de bioquímica Olympus AU600®.

### **Proteínas totales**

En la técnica utilizada para la determinación de proteínas en LCR se utiliza el reactivo OSR6170®.

Esta técnica es distinta a la usada para la medición de proteínas en suero, ya que la concentración de este parámetro en LCR es menor y se precisa de una técnica más precisa. Combinando rojo de pirogalol y molibdato se obtiene un complejo rojo con una absorbancia máxima de 470 nm.

El análisis se basa en el cambio de absorción resultante de la fijación del complejo de rojo de pirogalolo y molibdato a grupos amínicos básicos de moléculas de proteínas. Se forma un complejo azul-púrpura con una absorbancia máxima de 600 nm. La absorbancia de este complejo es directamente proporcional a la concentración proteínica de la muestra.

### **Creatinina**

En la técnica utilizada para la determinación de creatinina en LCR se utiliza el reactivo OSR6178®.

Es una prueba colorimétrica cinética (método de Jaffé) (Moore & Sharer, 2017) para cuantificar la creatinina en analizadores Olympus. La prueba se basa en que, en un medio alcalino la creatinina forma con el ácido pícrico, un compuesto de coloración amarillo-anaranjada.

La velocidad del cambio de la absorbancia a 520/800 nm es proporcional a la concentración de creatinina de la muestra. Los analizadores Olympus calculan automáticamente la concentración de creatinina de cada muestra (Mazzachi et al., 2000).

### **Urea**

La técnica utilizada para la determinación de urea en LCR es la prueba UV cinética, utilizando el reactivo OSR6134®.

La urea se hidroliza en presencia de agua y ureasa para producir amoníaco y dióxido de carbono. El amoníaco resultado de la primera reacción se combina en 2-oxoglutarato y NADH en presencia de glutamato-deshidrogenasa (GLDH) para producir glutamato y NAD<sup>+</sup>. La disminución de la absorbancia de NADH por unidad de tiempo es proporcional a la concentración de urea (Talker & E., 1964).

### **Calcio**

La técnica utilizada para la determinación de calcio en LCR es la prueba colorimétrica, utilizando el reactivo OSR6113®.

Los iones de calcio reaccionan con o-Cresoltaleína-complexone en medio alcalino para producir un complejo de color púrpura. Con este método, la absorbancia del complejo Ca-o-CPC se cuantifica bicromáticamente a 570/660 nm. El aumento de la absorbancia resultante de la mezcla de la reacción es directamente proporcional a la concentración de calcio en la muestra (Lin et al., 1999).

### **Fósforo**

La técnica utilizada para la determinación del fósforo en LCR es la prueba colorimétrica con luz ultravioleta, utilizando el reactivo OSR6122®.

El fósforo inorgánico reacciona con el molibdato, para formar un complejo heteropoliácido. El empleo de un tensioactivo hace innecesaria la preparación de un filtrado apteínico. La absorbancia de 340/380 nm es directamente proporcional a la concentración de fósforo inorgánico de la muestra (Gamst & Try, 1980).

### **UIBC**

La técnica utilizada para la determinación de la capacidad de fijación de hierro insaturado en LCR es la prueba colorimétrica, utilizando el reactivo OSR61205®.

El  $\text{Fe}^{2+}$  del reactivo 1 reacciona con el Nitroso-PSAP del reactivo 2 y forma un complejo de color verde intenso. Si se añade una muestra a la prueba, la cantidad total o bien una parte de los iones de hierro se fija específicamente a la transferrina en los lugares de fijación de hierro insaturado en el pH alcalino. Por tanto, no se encuentran disponibles para la reacción colorimétrica con el Nitroso-PSAP.

La diferencia entre los cambios registrados en las absorbancias cuantificadas con o sin muestra equivale a la cantidad de hierro fijada a la transferrina. Dicha diferencia será la capacidad de fijación de hierro insaturado (UIBC) (Perrotta, 1996).

### **Hierro**

La técnica utilizada para la determinación del hierro en LCR es la prueba colorimétrica, utilizando el reactivo OSR6186®.

El método Olympus utiliza TPTZ [2,4,6-Tri-(2-piridil)-5-triacina] como cromógeno. En un medio ácido, el hierro fijado a la transferrina se disocia en iones férricos libres y apotransferrina.

El ácido clorhídrico y el ascorbato sódico reducen los iones férricos al estado ferroso. Los iones ferrosos reaccionan entonces con la TPTZ para formar un complejo de coloración azul, cuantificable bicromáticamente a 600/800 nm. El aumento de la absorbancia es directamente proporcional a la cantidad presente de hierro (Bakker, 1991).

### **Ferritina**

La técnica utilizada para la determinación de la ferritina en LCR es una prueba de inmunoturbidimetría, utilizando el reactivo OSR61203®.

Las reacciones aglutinantes con látex se deben a la agregación de esferas de látex revestidas de anticuerpos, siempre que haya una cantidad suficiente de antígeno (muestra). Los inmunocomplejos formados en disolución dispersan la luz proporcionalmente a su tamaño, forma y concentración. Si hay exceso de anticuerpos, el incremento de la cantidad de antígeno aumenta la dispersión. Los turbidímetros miden la reducción de la luz incidente por reflexión, absorción o dispersión.

En el procedimiento Olympus, la base de este análisis es la cuantificación de la pérdida de intensidad lumínica transmitida (aumento de la absorbancia) a través de partículas suspendidas en disolución, como consecuencia de complejos formados durante la reacción antígeno-anticuerpo. El reactivo Olympus Ferritin es una suspensión de partículas de látex de poliestireno, de tamaño uniforme, revestidas con anticuerpo antiferritínico policlonal de conejo. La combinación de una muestra (que contine ferritina) con el reactivo Olympus Ferritin produce una mezcla aglutinante. Esta mezcla se cuantifica espectrofotométricamente en los analizadores bioquímicos Olympus (Bernard & Lauwerys, 1984).

### **Amilasa**

La técnica utilizada para la determinación de la  $\alpha$ -amilasa en LCR es la prueba colorimétrica cinética, utilizando el reactivo OSR6182®.

Este método está basado en las recomendaciones de la IFCC (International Federation of Clinical Chemistry). En la prueba colorimétrica de la  $\alpha$ -amilasa se utiliza como sustrato 4,6-etilideno(G<sub>7</sub>)-p-nitrofenil(G<sub>1</sub>)- $\alpha$ -D-maltoheptaosida (etilideno-G<sub>7</sub>PNP). Dicho sustrato reacciona con  $\alpha$ -amilasa y los fragmentos con  $\alpha$ -glucosidasa provocando una liberación al 100% p-Nitrofenol (PNP). El aumento de la absorbancia a 410 nm es directamente proporcional a la actividad de  $\alpha$ -amilasa en la muestra (Lorentz, 1998).



### **Creatin quinasa (CK)**

La técnica utilizada para la determinación de CK en LCR es la prueba UV cinética, utilizando el reactivo OSR6179®.

Este método está basado en las recomendaciones de la “Federación Internacional de Bioquímica Clínica” (IFCC). La CK cataliza reversiblemente la transferencia de un grupo fosfato entre el fosfato de creatina y el difosfato de adenosina (ADP), para obtener creatina y trifosfato de adenosina (ATP). El trifosfato de adenosina (ATP) así formado sirve para producir 6-fosfato de glucosa y difosfato de adenosina (ADP) a partir de la glucosa. Esta reacción se cataliza mediante la hexocinasa (HK), que necesita iones de magnesio para alcanzar la máxima actividad. El 6-fosfato de glucosa se oxida por efecto de la enzima 6-fosfato de glucosa deshidrogenasa (G6P-DH), con reducción simultánea de la coenzima nicotinamida-adenina-dinucleótido-fosfato (NADP) para obtener NADPH y 6-fosfogluconato. La tasa de aumento de la absorbancia, situada en 340/660 nm por causa de la formación de NADPH, es directamente proporcional a la actividad de la CK de la muestra (Hørder et al., 1991).

### **Alanina aminotransferasa (ALT)**

La técnica utilizada para la determinación de ALT en LCR es la prueba UV cinética, utilizando el reactivo OSR6107®.

Este método está basado en las recomendaciones de la “Federación Internacional de Bioquímica Clínica” (IFCC). La ALT transfiere el grupo amino desde la alanina al 2-oxoglutarato, para formar piruvato y glutamato. La adición de fosfato de piridoxal a la mezcla reactiva garantiza la máxima actividad catalítica de la ALT. La reacción del piruvato con el NADH, catalizada por la lactato deshidrogenasa (LDH), produce lactato y  $\text{NAD}^+$ . La pérdida de absorbancia atribuible al consumo del NADH, cuantificada en 340 nm, es proporcional a la actividad de la ALT de la muestra. El piruvato endógeno se elimina durante el período de incubación (Bergmeyer et al., 1986).

### **Lactato deshidrogenasa (LDH)**

La técnica utilizada para la determinación de LDH en LCR es la prueba UV cinética, utilizando el reactivo OSR6126®.

Este método está basado en las recomendaciones del Comité escandinavo de enzimas. La LDH cataliza la reducción del piruvato a lactato con un pH neutro. Esta reacción va acompañada de la oxidación de NADH en NAD<sup>+</sup>. La disminución del NADH se mide a 340 nm y es directamente proporcional a la actividad enzimática en la muestra (Keiding et al., 1974).

### **Colesterol**

La técnica utilizada para la determinación del colesterol en LCR es la prueba colorimétrica, utilizando el reactivo OSR6116®.

El reactivo Olympus Cholesterol utiliza un método enzimático para cuantificar el colesterol. En dicho procedimiento, los ésteres de colesterol de una muestra se hidrolizan con colesterol esterase (CHE). El colesterol libre resultante se oxida con oxidasa de colesterol (CHO) y se transforma en colesteno-3-uno, produciéndose simultáneamente peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) que se combina oxidativamente con 4-aminoantipirina y fenol en presencia de peroxidasa (POD), para dar lugar a un cromóforo. El colorante de quinoneimina roja que se forma puede cuantificarse espectrofotométricamente a 540/600 nm como un incremento de la absorbancia (Allain et al., 1974).

### **Triglicéridos**

La técnica utilizada para la determinación de los triglicéridos en LCR es la prueba colorimétrica enzimática, utilizando el reactivo OSR61118®.

El procedimiento Olympus Triglyceride se basa en una serie de reacciones enzimáticas combinadas. Los triglicéridos de la muestra se hidrolizan combinando lipasas microbianas para obtener glicerol y ácidos grasos. El glicerol se fosforilata con trifosfato de adenosina (ATP) en presencia de glicerolcinas (GK) para producir glicerol-3-fosfato.

## Material y métodos

Este glicerol-3-fosfato se oxida mediante oxígeno molecular en presencia de oxidasa de glicerolfosfato (GPO) para producir peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) y fosfato de dihidroxiacetona. El  $H_2O_2$  generado reacciona con 4-aminofenazona, N,N-bis(4-sulfobutil)-3,5-dimetilanilina sal disódica (MADB) en presencia de peroxidasa (POD) para producir un cromóforo, que se somete a una lectura a 660/800 nm. El aumento de la absorbancia hasta 660/800 nm es proporcional al triglicérido contenido en la muestra (Shephard & Whiting, 1990).

### **Fosfatasa alcalina (ALP)**

La técnica utilizada para la determinación de la ALP en LCR es la prueba colorimétrica cinética mediante el reactivo OSR6104®.

Este método está basado en las recomendaciones de la “Federación Internacional de Bioquímica Clínica” (IFCC). La actividad de la fosfatasa alcalina se calcula mediante la cuantificación de la velocidad de transformación del p-nitrofenilfosfato (p-NFF) en p-nitrofenol (p-NF) en presencia de iones de magnesio y zinc, y de 2-amino-2-metil-1-propanol (AMP) como aceptor de fosfato con pH 10,4.

La velocidad de transformación en la absorbancia como consecuencia de la formación de p-NF se cuantifica bicromáticamente a 410/480 nm y es directamente proporcional a la actividad de la fosfatasa alcalina en la muestra (Tietz et al., 1983).

### **Gamma glutamiltransferasa (GGT)**

La técnica utilizada para la determinación de la GGT en LCR es la prueba colorimétrica cinética mediante el reactivo OSR6120®.

Este método está basado en las recomendaciones de la “Federación Internacional de Bioquímica Clínica” (IFCC). La GGT cataliza la transferencia del grupo  $\gamma$ -glutamílico, entre el sustrato ( $\gamma$ -glutamil-3-carboxilo-4-nitroanilida) y la glicilglicina, produciendo 5-amino-2-nitrobenzoato. El cambio de absorbancia a 410/480 nm, debido a la formación de 5-amino-2-benzoato, es directamente proporcional a la actividad de la GGT de la muestra (Shaw et al., 1983).

### **Aspartato aminotransferasa (AST)**

La técnica utilizada para la determinación de la AST en LCR es la prueba UV cinética mediante el reactivo OSR6109®.

Este método está basado en las recomendaciones de la “Federación Internacional de Bioquímica Clínica” (IFCC). La AST cataliza la transaminación del aspartato y del 2-oxoglutarato, formando L-glutamato y oxalacetato. La adición de fosfato de piridoxal a la mezcla reactiva garantiza la máxima actividad catalítica de la AST. La malato-deshidrogenasa (MDH) reduce el oxalacetato a L-malato, en tanto que el NADH se transforma en NAD<sup>+</sup>. La pérdida de absorbancia atribuible al consumo del NADH, cuantificada en 340 nm, es proporcional a la actividad de AST de la muestra. El piruvato endógeno se elimina, mediante la reacción de la lactato deshidrogenasa (LDH), durante el período de incubación (Bergmeyer et al., 1986).

### **Glucosa**

La técnica utilizada para la determinación de la glucosa en LCR es la prueba UV enzimática (método de la hexocinasa) (Sonagra & Motiani, 2022) mediante el reactivo OSR6121®.

La glucosa se fosforila con hexocinasa (HK) en presencia de trifosfato de adenosina (ATP) e iones de magnesio para producir glucosa-6-fosfato y difosfato de adenosina (ADP). La 6-fosfato de glucosa deshidrogenasa (G6P-DH) oxida específicamente el 6-fosfato de glucosa y produce 6-fosfato de gluconato con la correspondiente reducción de NAD<sup>+</sup> a NADH. El aumento de absorbancia hasta 340 nm es proporcional a la concentración de glucosa en la muestra (Sacks et al., 2011).

### **Proteína C reactiva (CRP)**

La técnica utilizada para la determinación de la CRP en LCR es la prueba inmunturbidimétrica mediante el reactivo OSR6147®.

Al mezclar una muestra con solución amortiguadora y solución de antisuero, la CRP reacciona específicamente con los anticuerpos de CRP antihumana, produciendo complejos insolubles. La absorbancia de estos complejos es proporcional a la concentración de CRP en la muestra (Dati et al., 1996).

### **Haptoglobina**

La técnica utilizada para la determinación de la haptoglobina en LCR es la prueba inmunturbidimétrica mediante el reactivo OSR6165®.

Al mezclar una muestra con solución amortiguadora y solución de antisuero, la haptoglobina humana reacciona específicamente con los anticuerpos de haptoglobina antihumana, produciendo complejos insolubles. La absorbancia de estos complejos es proporcional a la concentración de haptoglobina en la muestra (Dati et al., 1996).

Los parámetros restantes se determinaron mediante técnicas diferentes, basadas en estudios en los que se había realizado previamente la medición de dichos analitos, estos se detallan a continuación:

### **Adenosina deaminasa (ADA)**

La determinación de este enzima se realizó mediante un ensayo previamente utilizado para medir dicha enzima en diferentes fluidos corporales, de distintas especies animales con patologías inflamatorias y sin ellas, para su extrapolación a otro fluido corporal diferente como es LCR.

En este estudio se observó la actividad enzimática del ADA total (tADA) y sus isoenzimas ADA1 y ADA2 en suero y saliva canina, equina, porcina y bovina y sus cambios en diferentes situaciones inflamatorias en cada especie.

## Material y métodos

Además, se desarrolló y validó un método automatizado para la medición de ADA<sub>2</sub>. Se necesitó una concentración de eritro-9-(2-hidroxi-3-nonil) adenina (EHNA) de 0,47 mM para la inhibición de ADA<sub>1</sub> en muestras caninas y porcinas (suero y saliva) y saliva bovina, mientras que para la saliva equina se necesitó 0,94 mM. Un procedimiento automatizado para medir ADA<sub>2</sub> que consiste en agregar EHNA a un reactivo comercial para la medición de tADA proporcionó resultados repetitivos y precisos, siendo equivalente a una incubación manual de la muestra con EHNA a una concentración similar (Contreras-Aguilar et al., 2020).

### **Parámetros de estrés oxidativo**

La determinación de estos parámetros se realizó mediante el ensayo previamente utilizado, donde se midió un panel integrado por biomarcadores del estado antioxidante, como capacidad antioxidante reductora cúprica (CUPRAC), capacidad reductora férrica del plasma (FRAP), capacidad antioxidante equivalente a Trolox (TEAC), tiol y paraoxonasa tipo 1 (PON-1), y del estado oxidante, como el estado oxidante total (TOS), la actividad del peróxido (POX-Act), los compuestos derivados del oxígeno reactivo (d-ROM), los productos de proteína de oxidación avanzada (AOPP) y las sustancias reactivas del ácido tiobarbitúrico (TBARS).

Todos los ensayos fueron repetitivos y precisos en ambos tipos de muestras. Además, mostraron cambios después de la adición de ácido ascórbico que están en línea con los resultados publicados previamente, siendo en sangre entera más sensible para detectar estos cambios las condiciones experimentales (González-Arostegui et al., 2022).

### **Actividad estereasa total (TEA)**

La determinación de la TEA se realizó en base al estudio en el que se media esta enzima en saliva mediante un ensayo espectrofotométrico automatizado (Tecles et al., 2016).

### **Neurotransmisores (ACHE y BCHE)**

La determinación de BCHE en LCR se realizó usando butirilcolina como sustrato, mientras que la ACHE se midió después de inhibir la BCHE con etopropazina y usando acetilcolina como sustrato (Tvarijonaviute et al., 2013).

- Estadística

En primer lugar, se realizó un estudio de normalidad de los datos a través de la prueba de Shapiro-Wilk tras la que se observó una distribución no paramétrica de los mismos.

Para realizar el estudio comparativo entre grupos (grupo control, grupo problema y grupo problema con corticoides) se aplicó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, seguido del test de Dunn para comparaciones múltiples.

Los valores fueron corregidos mediante el test de Tukey. Los valores se indican como medianas y rangos. Se consideraron significativos aquellos p valores menores de 0,05. Los diferentes análisis estadísticos se realizaron con el programa GraphPad® para Mac (Versión 8.1).

# **Resultados**

---



## Resultados

En base a los resultados se van a clasificar las muestras de nuestro estudio en tres grupos diferentes:

- Parámetros que fueron detectados con alteraciones estadísticamente significativas en el LCR.
  - Parámetros que fueron detectados sin alteraciones estadísticamente significativas en el LCR.
  - Parámetros que no se pudieron medir en el LCR.
- 
- **Parámetros que fueron detectados con alteraciones estadísticamente significativas en el LCR**

En las muestras del LCR del estudio fueron encontradas diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes grupos de estudio en los siguientes parámetros:

- **Proteínas totales.**
- **Urea.**
- **Ferritina.**
- **Amilasa.**
- **Colesterol.**
- **AST.**
- **TEA.**
- **BCHE.**
- **ACHE.**

## Resultados

- **Parámetros que fueron detectados sin alteraciones estadísticamente significativas en el LCR**

También se observaron ciertos parámetros que, si fueron detectados, pero que no resultaron ser estadísticamente significativos. Los analitos que se encuadran dentro de este grupo son los siguientes:

- **Creatinina.**
- **Calcio.**
- **Fósforo.**
- **LDH.**
- **Triglicéridos.**
- **GGT.**
- **Glucosa.**
- **CRP.**
- **ADA.**
- **Antioxidante CUPRA.**

## Resultados

- **Parámetros que no se pudieron medir en el LCR**

Dentro del panel de marcadores seleccionados, no se pudieron detectar en las muestras de LCR los siguientes:

- **UIBC.**
- **Hierro.**
- **CK.**
- **ALT.**
- **Fosfatasa alcalina.**
- **Haptoglobina.**
- **Antioxidante TIOL.**

Tabla 6. Tabla resumen de los resultados de los parámetros medidos en LCR.

Parámetros significativos	Parámetros no significativos	Parámetros no medidos
<b>Proteínas totales</b>	<b>Creatinina</b>	<b>UIBC</b>
<b>Urea</b>	<b>Calcio</b>	<b>Hierro</b>
<b>Ferritina</b>	<b>Fósforo</b>	<b>CK</b>
<b>Amilasa</b>	<b>LDH</b>	<b>ALT</b>
<b>Colesterol</b>	<b>Triglicéridos</b>	<b>Fosfatasa alcalina</b>
<b>AST</b>	<b>GGT</b>	<b>Haptoglobina</b>
<b>TEA</b>	<b>Glucosa</b>	<b>Antioxidante TIOL</b>
<b>BCHE</b>	<b>CRP</b>	
<b>ACHE</b>	<b>ADA</b>	
	<b>Antioxidante CUPRA</b>	

Los analitos que, si resultaron estadísticamente significativos, se clasificaron atendiendo al grupo de estudio sobre el que se encontraba esa diferencia.

## Resultados

- Diferencias observadas entre el grupo B y grupo A

Los analitos estadísticamente significativos en esta comparación fueron: un lípido, el colesterol y un parámetro del sistema nervioso, la BCHE.

El valor del colesterol fue significativamente más alto en el grupo B (1,34 mg/dL, rango 0,64-2,76 mg/dL) que en el grupo A (0,1 mg/dL, rango 0,01-0,9mg/dL) (p=0,003).

El valor de la BCHE fue significativamente más alto en el grupo B (66,21  $\mu\text{mol/ml-min}$ , rango 26,53-214,4  $\mu\text{mol/ml-min}$ ) que en el grupo A (33,63  $\mu\text{mol/ml-min}$ , rango 14,1-46,25  $\mu\text{mol/ml-min}$ ) (p=0,024).

Parámetro	Mediana (rango) grupo A	Mediana (rango) grupo B	Kruskall-Wallis (p-valor)	Dunn test (p-valor)
				A vs B
Colesterol (mg/dl)	0,1 (0,01-0,9)	1,34 (0,64-2,76)	0,002*	0,003*
BCHE ( $\mu\text{mol/ml-min}$ )	33,63 (14,1-46,25)	66,21 (26,53-214,4)	0,02*	0,024*

Tabla 7. Análisis estadístico de los parámetros detectados en LCR de perros sanos (Grupo A) y perros con MOD (Grupo B).

Los asteriscos indican la significación estadística encontrada: \*p-valor<0,05; \*\*p-valor<0,001; \*\*\*p-valor<0,0001.

## Resultados

- Diferencias observadas entre el grupo C y el grupo A

Los analitos estadísticamente significativos de esta comparación fueron: un parámetro renal, la urea; un parámetro hepático; la AST y un neurotransmisor; la ACHE

El valor de urea fue significativamente más alto en el grupo C (45,8 mg/dL, rango 26,9-92,5 mg/dL) que en el grupo A (25,2 mg/dL, rango 15,1-43,8 mg/dL) ( $p=0,035$ ).

El valor de AST fue significativamente más alto en el grupo C (18,8 UI/L, rango 7,3-46,6 UI/L) que en el grupo A (7,8 UI/L, rango 2-14,5 UI/L) ( $p=0,016$ ).

El valor de ACHE fue significativamente más alto en el grupo C (63,7  $\mu\text{mol/ml-min}$ , rango 44,84-206,1  $\mu\text{mol/ml-min}$ ) que en el grupo A (39,41  $\mu\text{mol/ml-min}$ , rango 9,22-58,87  $\mu\text{mol/ml-min}$ ) ( $p=0,0119$ ).

Parámetro	Mediana (rango) grupo A	Mediana (rango) grupo C	Kruskall-Wallis (p-valor)	Dunn test (p-valor)
				A vs C
Urea (mg/dl)	25,2 (15,1-43,8)	45,8 (26,9-92,5)	0,04*	0,035*
AST (UI/L)	7,8 (2-14,5)	18,8 (7,3-46,6)	0,01*	0,016*
ACHE ( $\mu\text{mol/ml-min}$ )	39,41 (9,22-58,87)	63,7 (44,84-206,1)	0,013*	0,0119*

Tabla 8. Análisis estadístico de los parámetros detectados en LCR de perros sanos (Grupo A) y perros con MOD tratados con corticoides (Grupo C).

Los asteriscos indican la significación estadística encontrada: \* $p\text{-valor}<0,05$ ; \*\* $p\text{-valor}<0,001$ ; \*\*\* $p\text{-valor}<0,0001$ .

## Resultados

- **Diferencias observadas entre el grupo B y el grupo C respecto al grupo A**

Los analitos estadísticamente significativos de esta comparación fueron: las proteínas totales, un parámetro de almacenamiento del hierro; la ferritina; la enzima pancreática amilasa y un parámetro de estrés, la TEA.

El valor de proteínas totales fue significativamente más alto en el grupo B (54,36 mg/dL, rango 8,98-214,3 mg/dL) ( $p=0,006$ ) y en el grupo C (70,67 mg/dL, rango 12,77-104,2 mg/dL) ( $p=0,026$ ) que en el grupo A (12,44 mg/dL, rango 1,14-22,34 mg/dL). No se observaron diferencias significativas entre el grupo B y el grupo C.

El valor de la ferritina fue significativamente más alto en el grupo B (17  $\mu\text{g/l}$ , rango 11-96  $\mu\text{g/l}$ ) ( $p=0,011$ ) y en el grupo C (52  $\mu\text{g/l}$ , rango 13-90  $\mu\text{g/l}$ ) ( $p=0,005$ ) que en el grupo A (10  $\mu\text{g/l}$ , rango 7-15  $\mu\text{g/l}$ ). No se observaron diferencias significativas entre el grupo B y el grupo C.

El valor de la amilasa fue significativamente más alto en el grupo B (12,5 UI/L, rango 3,5-23,9 UI/L) ( $p=0,031$ ) y en el grupo C (12,65 UI/L, rango 5,1-28,4 UI/L) ( $p=0,041$ ) que en el grupo A (4,3 UI/L, rango 2,6-10,3 UI/L). No se observaron diferencias significativas entre el grupo B y el grupo C.

El valor de la TEA fue significativamente más alto en el grupo B (32,4 IU/ml, rango 20,72-87,12 IU/ml) ( $p=0,003$ ) y en el grupo C (32,26 IU/ml, rango 20,06-42,21 IU/ml) ( $p=0,020$ ) que en el grupo A (19,14 IU/ml, rango 6,85-24,99 IU/ml). No se observaron diferencias significativas entre el grupo B y el grupo C.

## Resultados

Parámetro	Mediana (rango) grupo A	Mediana (rango) grupo B	Mediana (rango) grupo C	Kruskall-Wallis (p-valor)	Dunn test (p-valor)	
					A vs B	A vs C
Proteínas totales (mg/dL)	12,44 (1,14-22,34)	54,36 (8,98-214,3)	70,67 (12,77-104,2)	0,0034*	0,006**	0,026*
Ferritina (µg/l)	10 (7-15)	17 (11-96)	52 (13-90)	0,001**	0,011*	0,005**
Amilasa (UI/L)	4,3 (2,6-10,3)	12,5 (3,5-23,9)	12,65 (5,1-28,4)	0,012*	0,031*	0,041*
TEA (IU/ml)	19,4(6,85-24,99)	32,4 (20,72-87,12)	32,26 (20,06-42,21)	0,0018**	0,003**	0,020*

Tabla 9. Análisis estadístico de los parámetros detectados en LCR de perros sanos (Grupo A), perros con MOD (Grupo B) y perros con MOD tratados con corticoides (Grupo C).

Los asteriscos indican la significación estadística encontrada: \*p-valor<0,05; \*\*p-valor<0,001; \*\*\*p-valor<0,0001.

## Resultados

Parámetro	Mediana (rango) grupo A	Mediana (rango) grupo B	Mediana (rango) grupo C2	Kruskall-Wallis (p-valor)	Dunn test (p-valor)	
					A vs B	A vs C
Proteínas totales (mg/dL)	12,44 (1,14-22,34)	54,36 (8,98-214,3)	70,67 (12,77-104,2)	0,0034*	0,006**	0,026*
Ferritina (µg/l)	10 (7-15)	17 (11-96)	52 (13-90)	0,001**	0,011*	0,005**
Amilasa (UI/L)	4,3 (2,6-10,3)	12,5 (3,5-23,9)	12,65 (5,1-28,4)	0,012*	0,031*	0,041*
TEA (IU/ml)	19,4(6,85-24,99)	32,4 (20,72-87,12)	32,26 (20,06-42,21)	0,0018**	0,003**	0,020*
Urea (mg/dl)	25,2 (15,1-43,8)	26,65 (21,9-89,2)	45,8 (26,9-92,5)	0,04*	0,489	0,035*
AST (UI/L)	7,8 (2-14,5)	12,8 (5,1-28,8)	18,8 (7,3-46,6)	0,01*	0,071	0,016*
ACHE (µmol/ml·min)	39,41 (9,22-58,87)	51,27 (26,28-172,6)	63,7 (44,84-206,1)	0,013*	0,216	0,0119*
Colesterol (mg/dl)	0,1 (0,01-0,9)	1,34 (0,64-2,76)	0,72 (0,02-1,42)	0,002*	0,003*	0,525
BCHE (µmol/ml·min)	33,63 (14,1-46,25)	66,21 (26,53-214,4)	62,59 (31,81-72,77)	0,02*	0,024*	0,118

Tabla 10. Análisis estadístico de las diferencias y similitudes observadas en los parámetros detectados en LCR de perros con MOD (grupo B) y perros con MOD tratados con corticoides (grupo C).

Los asteriscos indican la significación estadística encontrada: \*p-valor<0,05; \*\*p-valor<0,001; \*\*\*p-valor<0,0001.



- **Diferencias observadas entre el grupo B y el grupo C**

En los resultados observados hay parámetros que han sido estadísticamente significativos para el grupo B y el grupo C, respecto al grupo A, de manera simultánea; pero también hay determinados parámetros que sólo han sido estadísticamente significativos para el grupo B, respecto al grupo A o que sólo han sido estadísticamente significativos para el grupo C, respecto al grupo A, lo que genera diferencias entre los animales que han sido tratados con corticoides y los que no, a pesar de que padezcan la misma patología.

Las diferencias observadas se resumen en la tabla 10.

# Discusión

---

## Discusión

La utilidad de biomarcadores para el diagnóstico precoz de enfermedades inflamatorias del SNC, se está estudiando de forma muy activa en la medicina humana. Estos biomarcadores no sólo se han utilizado para el diagnóstico precoz, sino también para ofrecer un pronóstico e incluso monitorizar la efectividad de determinados tratamientos. Por ejemplo, en la enfermedad de Parkinson, se utilizaron los monocitos como biomarcadores para definir los resultados del tratamiento con sargramostim para dicha patología (Abdelmoaty et al., 2022).

Las meningoencefalitis de origen desconocido, también son enfermedades inflamatorias del SNC y a pesar de que se han encontrado gran cantidad de estudios sobre estas patologías que hablan sobre su diagnóstico (Cornelis et al., 2019), los diferentes subtipos existentes (Coates & Jeffery, 2014), factores de riesgo (Lawn & Harcourt-Brown, 2022), posibles etiologías (J. N. Nessler et al., 2021), hallazgos de imagen (Oliphant et al., 2017), protocolos de tratamiento (Lowrie et al., 2013) o pronóstico (Cornelis et al., 2016), ninguno de ellos da una información relevante que sea capaz de solventar el gran inconveniente de no poder obtener un diagnóstico definitivo de estas patologías, que no sea de manera postmortem.

La medición de un panel de analitos en los animales que presentan esta patología podría ser de utilidad, al observarse valores diferentes en alguno de los parámetros que se han podido medir entre el grupo control, correspondiente a animales con epilepsia idiopática y el grupo problema (grupo B y grupo C), que si presentaban dicha patología. Estos analitos podrían utilizarse para el diagnóstico temprano de esta patología, considerarse biomarcadores de la misma, diferenciar entre los distintos subtipos de MOD e incluso podrían ser de utilidad para el pronóstico de la enfermedad y el seguimiento de los animales que se encuentren bajo tratamiento.

- **Parámetros alterados en animales con MOD**

Los parámetros que fueron estadísticamente significativos en los animales que presentaban meningoencefalitis de origen desconocido, respecto a los no la presentaban se detallan a continuación.

### **Proteínas totales**

Este parámetro debía estar alterado en los animales con MOD, ya que era un criterio de inclusión para formar parte del estudio, por lo que se sospechaba que este parámetro iba a estar alterado en los animales que padecieran la patología.

Se encontró elevado tanto en el grupo B, como en el grupo C. Sin encontrarse diferencias estadísticas significativas entre ambos grupos. El motivo por el que este parámetro se encuentra elevado puede ser debido a (Morales & Montoliu, 2012):

- Aumento de la producción de proteínas en LCR.
- Alteración de la barrera hematoencefálica, que permite la entrada de proteínas de la circulación sistémica hasta el SNC.
- Obstrucción del flujo de LCR.

En la mayoría de las lesiones inflamatorias del SNC, el incremento de este parámetro, junto al del recuento leucocitario en LCR, suelen ser un hallazgo clínico habitual. Este parámetro también se ha encontrado elevado en otros estudios de animales con MOD (Lowrie et al., 2013).

### **Ferritina**

La ferritina se encontró elevada tanto el grupo B, como en el grupo C. Sin encontrarse diferencias estadísticas significativas entre ambos grupos. No hay estudios en medicina veterinaria en los que se haya medido este parámetro en LCR de animales con esta patología.

En medicina humana, la ferritina se observó disminuida en el LCR de pacientes con el síndrome de piernas inquietas (RLS), sospechándose que este trastorno pueda estar relacionado con la regulación errónea del hierro a nivel del SNC. Este descenso se encontró en RLS de inicio temprano, pero no tardío (Clardy et al., 2006).

El hecho de que este parámetro se encuentre elevado en animales con MOD podría deberse a que la ferritina actúa como una proteína de fase aguda, por lo que se eleva en presencia de inflamación. Este parámetro si se ha visto elevado en pacientes con Alzheimer, observándose más elevado en pacientes con un cuadro clínico más avanzado (Aytton et al., 2023). Estos resultados concuerdan con los observados en los animales con MOD.

### **Amilasa**

La amilasa se encontró elevada tanto el grupo B, como en el grupo C. Sin encontrarse diferencias estadísticas significativas entre ambos grupos. Esta enzima se ha encontrado elevada en el LCR de perros con proceso de pancreatitis aguda (Noble et al., 1970).

En estudios de medicina humana, algo más antiguos, esta enzima también se encontró elevada en el LCR de pacientes que presentaban encefalopatía pancreática, lo que cuadra con los resultados que se han observado en nuestro estudio, ya que ambas patologías cursan con inflamación en el SNC (Rothermich & von Haam, 1941).

### **Actividad esterasa total (TEA)**

La TEA se encontró elevada tanto el grupo B, como en el grupo C. Sin encontrarse diferencias estadísticas significativas entre ambos grupos. No hay estudios en medicina veterinaria en los que se haya medido este parámetro en LCR de animales con esta patología.

Este parámetro se midió en humanos, en saliva, antes y después de un estrés físico, observándose elevada después de éste (Tecles et al., 2016). Pero tampoco se ha encontrado ningún estudio que midiera este parámetro en LCR en medicina humana.

Se realizó un estudio para probar el valor diagnóstico del test rápido de la esterasa (LE) para la detección temprana de la pleocitosis en el LCR de pacientes con sospecha de meningitis bacteriana aguda, siendo este test rápido positivo para estos paciente con una alta especificidad y sensibilidad (Shokouhi et al., 2018) Este parámetro, pertenece a la familia de las esterases y su valor, cuadra con el observado en nuestro estudio. Ambas patologías son enfermedades inflamatorias del SNC, siendo en nuestro estudio la causa no infecciosa, a diferencia del estudio de medicina humana, por lo que podrían extrapolarse los resultados y considerarse como antecedentes en medicina humana.

### **Colesterol**

El colesterol se encontró elevado solamente en el grupo B. Encontrándose diferencias significativas en los valores del grupo C, respecto al B. No hay estudios en medicina veterinaria en los que se haya medido este parámetro en LCR de animales con esta patología.

En medicina humana, la determinación de este parámetro junto con otros lípidos se realizó para ayudar al diagnóstico temprano de pacientes con Alzheimer, usarse como biomarcador y predecir la progresión de la patología. El aumento del colesterol se asoció con Alzheimer (Agarwal & Khan, 2020). Este resultado concuerda con el observado en nuestro estudio.

## Discusión

En el grupo C, compuesto por animales que también presentaban la misma patología, pero que se medicaron previamente al estudio con glucocorticoides, este parámetro no se vio incrementado. Este hecho puede ser debido a que los fármacos administrados previamente pudieran modificar los valores de ciertos parámetros obtenidos en LCR.

Un estudio realizado en conejos con meningitis infecciosa mostró que un tratamiento a corto plazo con glucocorticoides (1-2 días) tuvo un efecto desintoxicante significativo sin prolongar los períodos de inflamación en los tejidos del SNC y no empeoró los resultados de la enfermedad según los datos clínicos y electroencefalográficos (Ivanov & Lobzin, 1981) Estos resultados, no cuadran con los de nuestro estudio, podría ser porque se trata de especies animales diferentes.

### **Butilcolinesterasa (BCHE)**

La BCHE se encontró elevada solamente en el grupo B. Encontrándose diferencias significativas en los valores del grupo C, respecto al B. No hay estudios en medicina veterinaria en los que se haya medido este parámetro en LCR de animales con esta patología.

En medicina humana, la determinación de BCHE en LCR se correlacionó, en pacientes con Parkinson, con aquellos que presentaban atrofia cerebral, cuyas concentraciones de BCHE en el LCR fueron más elevadas que los pacientes sin atrofia. Estas alteraciones en la actividad BCHE en LCR pueden estar relacionadas con la gliosis que se produce en el tejido cerebral en degeneración (Sirviö et al., 1987).

En el grupo C este parámetro no se vio incrementado. Este hecho puede ser debido a que los fármacos administrados previamente pudieran modificar los valores de ciertos parámetros obtenidos en LCR.

### **Urea**

La urea se encontró elevada solamente en el grupo C. Encontrándose diferencias significativas en los valores del grupo B, respecto al C. No hay estudios en medicina veterinaria en los que se haya medido este parámetro en LCR de animales con esta patología.

En medicina humana, en pacientes con hipertensión intracraneal idiopática (HII), la urea basal en LCR, fue menor en los pacientes que presentaban esta patología, correlacionándose con la PIC y la gravedad de la cefalea. Este parámetro incrementó a los 12 meses, lo que sugiere una desregulación metabólica en estos pacientes (Grech et al., 2022) Estos resultados coinciden con lo que se ha observado en nuestro estudio, el motivo por el cual esté parámetro primero disminuye y luego aumenta en el LCR, posiblemente esté relacionado con el incremento de la PIC.

En el grupo B este parámetro no se vio incrementado. Este hecho puede ser debido a que, al no haber sido tratado previamente con ningún medicamento inmunosupresor, el funcionamiento de la detoxificación del LCR, no se haya visto alterado.

### **Aspartato aminotransferasa (AST)**

La AST se encontró elevada solamente en el grupo C. Encontrándose diferencias significativas en los valores del grupo B, respecto al C. No hay estudios en medicina veterinaria en los que se haya medido este parámetro en LCR de animales con esta patología.

En medicina veterinaria, se investigó si la AST podría ser un biomarcador del LCR para estimar la degeneración del SNC en animales con gangliosidosis GM1 y evaluar la eficacia de la terapia a largo plazo con glucocorticoides para esta patología. Este parámetro, se incrementó en LCR en animales con gangliosidosis GM1, por lo que podría usarse como biomarcador de la patología y para evaluar la eficacia de las nuevas terapias propuestas para esta enfermedad.



## Discusión

Además, se trató preliminarmente a un perro afectado por dicha patología con la administración oral prolongada de prednisolona y se evaluó la eficacia de este ensayo terapéutico utilizando biomarcadores de LCR. Sin embargo, este tratamiento no cambió ni el curso clínico ni los biomarcadores del LCR del perro afectado, lo que sugiere que la terapia con glucocorticoides no sería eficaz para tratar la gangliosidosis GM1 (Sato et al., 2007) Lo que concuerda con los resultados observados en nuestro estudio.

Por otro lado, en medicina humana, se realizó un estudio para determinar las actividades catalíticas de AST en el LCR para detectar isquemia cerebral. El estudio mostró que el nivel de AST en el LCR podría ser un biomarcador de diagnóstico relevante de la presencia e intensidad del daño en el tejido cerebral, al encontrarse este parámetro más elevado en pacientes en estado vegetativo o muertos (Kelbich et al., 2020) Lo que concuerda también con los resultados obtenidos en nuestro estudio.

En el grupo B este parámetro no se vio incrementado. Este hecho puede ser debido a que este parámetro puede verse elevado por toxicidad medicamentosa, pues los pacientes del grupo C, estaban en tratamiento previo al estudio (Wang et al., 2022). También puede verse incrementado por la presencia de convulsiones, por lo que cabe la posibilidad de los pacientes pertenecientes al grupo C tuvieran un mayor número de crisis convulsivas, que los pertenecientes al grupo B (Lee et al., 2019).

### **Acetilcolinesterasa (ACHE)**

La ACHE se encontró elevada solamente en el grupo C. Encontrándose diferencias significativas en los valores del grupo B, respecto al C. No hay estudios en medicina veterinaria en los que se haya medido este parámetro en LCR de animales con esta patología. Pero, se realizó un estudio en perros con convulsiones, para valorar la actividad ACHE en LCR tras la administración de clorpromacina. Esta actividad se vio incrementada tras la administración del fármaco, lo que apoya la hipótesis de un origen neuronal de la ACHE en LCR (Bareggi & Giacobini, 1978).

## Discusión

En medicina humana, la potenciación de la actividad colinérgica central se ha propuesto como un enfoque terapéutico para mejorar la función cognitiva en pacientes con Alzheimer. El aumento de la concentración de acetilcolina en el cerebro mediante la modulación de la actividad de la ACHE es una de las estrategias terapéuticas más prometedoras. Los esfuerzos para tratar la patología subyacente basados en la modulación del procesamiento de la proteína precursora de amiloide (APP) para disminuir la acumulación de beta-amiloide también son muy importantes. Recientemente se ha propuesto que las alteraciones en el metabolismo de la APP desempeñan un papel clave en los efectos duraderos de los inhibidores de la ACHE (Pakaski & Kasa, 2003).

Los resultados observados en los estudios, tanto de medicina veterinaria, como de medicina humana son contrarios a los observados en nuestro estudio, ya que en ambos, el incremento de la actividad ACHE es un indicador de buen pronóstico de la enfermedad. En nuestro estudio esta actividad se ha visto incrementada en pacientes que presentaban la patología. Si lo comparamos con el estudio de medicina veterinaria, en el que la administración de clorpromacina incrementaba la actividad ACHE, podría deberse a que estos animales, a pesar de estar enfermos, estaban bajo tratamiento antes de incluirse en el estudio, lo que pudo haber incrementado este parámetro.

- **Parámetros medidos sin significancia estadística en animales con MOD**

### **Creatinina**

En medicina humana, se han encontrado elevaciones de creatinina en el LCR de pacientes con esquizofrenia (Swahn & Sedvall, 1988). Esta patología no existe en la especie de estudio, motivo por el cual no se habrá detectado en LCR.

### **Calcio y fósforo**

No se han encontrado estudios, ni en medicina humana, ni en medicina veterinaria que hayan resultado estadísticamente significativos. Lo que concuerda con los resultados de nuestro estudio.

### **LDH y GGT**

En medicina humana, los niveles de CK, LDH y GGT se midieron en el LCR de pacientes con meningitis tuberculosa y piógena. Se observó que los niveles de CK y LDH en el LCR eran significativamente más elevados en las meningitis, por lo que podrían considerarse biomarcadores de diagnóstico y pronóstico. Pero se requieren más estudios para establecer su utilidad. La GGT no aumentó en el LCR con respecto al control (Dash & Patro, 2014). Los resultados de CK y LDH son contrarios a nuestro estudio, podría ser porque en este caso se trata de meningitis de origen infeccioso. En cambio, los resultados obtenidos en la GGT sí coinciden con los obtenidos en nuestro estudio.

### **Triglicéridos**

Los triglicéridos se han considerado un biomarcador de la enfermedad de Alzheimer en medicina humana (Bernath et al., 2020) Estos resultados no coinciden con los obtenidos en nuestro estudio, pero esta patología no existe en la especie de estudio, motivo por el cual podrían no ser coincidentes.

### **Glucosa**

En medicina veterinaria, se realizó un estudio para determinar si la concentración de glucosa en el LCR podía utilizarse como un biomarcador para las meningoencefalitis de origen bacteriano en perros, pero los resultados no fueron concluyentes, obteniéndose las mismas concentraciones de glucosa en el grupo problema, que en el grupo control (Weber et al., 2012) Estos resultados concuerdan con los obtenidos en nuestro estudio.

### **Proteína C reactiva (CRP)**

Esta proteína se encuentra incrementada en el suero de un gran número de enfermedades de tipo inflamatorio en la bibliografía veterinaria, motivo por el cual se pensaba que también estaría incrementada en el LCR de los animales con MOD, al ser una patología inflamatoria del SNC.

Esta proteína se ha encontrado incrementada en el LCR de perros con trastornos inflamatorios, en comparación con perros que presentaban compresión de la médula espinal o EI. La cuantificación de la proteína CRP en el LCR se realizó utilizando un ensayo inmunofluorimétrico de resolución temporal adaptado (TR-IFMA). (Martínez-Subiela et al., 2011). Este estudio no concuerda con los resultados observados en el nuestro, puede ser debido a que la técnica de ensayo para la medición de LCR fue diferente a la usada en nuestro estudio.

### **Adenosina deaminasa (ADA)**

No se han encontrado estudios, en medicina veterinaria, ni en medicina humana en los que se haya medido este parámetro en LCR.

En medicina veterinaria, hay un estudio en el que este parámetro y sus isoenzimas se midieron en saliva y suero de las especies canina, porcina, equina y bovina. La actividad de ADA total y sus diferentes isoenzimas, se correlacionaron con otros biomarcadores de inflamación y podrían utilizarse potencialmente como biomarcadores de inflamación y activación inmunitaria en las especies de estudio (Contreras-Aguilar et al., 2020).

Los resultados de este estudio no concuerdan con los obtenidos en el nuestro, podría ser debido a que la detección en este parámetro para el LCR sea menor que para otros fluidos corporales.

### **CUPRA**

No se han encontrado estudios, en medicina veterinaria, ni en medicina humana en los que se haya medido este parámetro en LCR.

- **Parámetros no detectados en líquido cefalorraquídeo canino**

En las muestras del LCR del estudio hay ciertos parámetros que no se pudieron medir. Se sospecha que puede haber sido por no haber realizado una técnica de medición lo suficientemente sensible para dichos parámetros o bien porque no existían en este fluido en cantidades cuantificables.

Los parámetros que no se detectaron en LCR son los siguientes:

### **Capacidad de unión al hierro (UIBC)**

No se han encontrado estudios en medicina veterinaria, en los que se detectara este parámetro en el LCR.

En medicina humana, este parámetro se ha encontrado incrementado en el LCR de paciente con enfermedad de Creutzfeldt-Jakob y se considera un biomarcador para su diagnóstico junto a la enzima ferrosidaxa (Haldar et al., 2013). Estos resultados no concuerdan con los observados en nuestro estudio, posiblemente porque esta patología no existe en nuestra especie de estudio.

### **Hierro**

No se han encontrado estudios en medicina veterinaria, en los que se detectara este parámetro en el LCR.

En medicina humana, el incremento del hierro y de la ferritina en el LCR, está relacionada con ventriculomegalia grave temprana en hidrocefalia poshemorrágica prematura (Mahaney et al., 2022). Estos resultados no coinciden con los observados en nuestro estudio, aunque en el caso de la ferritina sí que son coincidentes. Posiblemente la técnica utilizada para la medición del hierro no fue la adecuada.

### **Creatinin quinasa (CK)**

Este parámetro se ha observado en el LCR de perros con enfermedades neurológicas. Observándose más elevado en las extracciones lumbares que en las de la CM (R. Lampe et al., 2020) Estos resultados no cuadran con los observados en nuestro estudio, posiblemente porque la técnica de medición para este parámetro no ha sido la adecuada en nuestro estudio.

### **Alanina aminotransferasa (ALT)**

No se han encontrado estudios en medicina veterinaria, en los que se detectara este parámetro en el LCR.

En medicina humana, se midió la ALT, junto a otras enzimas en pacientes con accidente cerebrovascular isquémico. Se encontraron más elevadas en dichos pacientes, lo que indica la gravedad de la lesión cerebral y la hipoxia resultante del tejido cerebral. Los altos niveles de actividad enzimática, particularmente durante un largo período de tiempo, siempre predicen un mal pronóstico (Rooze & Kaasik, 1988). Los resultados obtenidos no concuerdan con los de nuestro estudio, posiblemente porque este tipo de patologías no se diagnostican en la especie de estudio.

### **Fosfatasa alcalina**

No se han encontrado estudios, en medicina veterinaria, ni en medicina humana en los que se haya medido este parámetro en LCR.

### **Haptoglobina**

No se han encontrado estudios, en medicina veterinaria, ni en medicina humana en los que se haya medido este parámetro en LCR.

### **TIOL**

No se han encontrado estudios, en medicina veterinaria, ni en medicina humana en los que se haya medido este parámetro en LCR.

- **Influencia del tratamiento con glucocorticoides en perros con MOD**

No se han encontrado estudios en medicina veterinaria que hablen sobre los efectos que pueda tener la terapia con glucocorticoides sobre el LCR en animales con enfermedades inflamatorias del SNC.

En medicina humana se realizó un estudio en paciente con meningoencefalitis criptocócica para valorar la eficacia del tratamiento con glucocorticoides, a dosis decreciente, para el tratamiento del síndrome inflamatorio postinfeccioso. Los resultados obtenidos revelaron descensos en la glucosa, glóbulos blancos, proteínas y marcadores inflamatorios celulares en el LCR, una semana después de recibir glucocorticoides (Anjum et al., 2021). En todo caso, en base a nuestros resultados, es importante indicar que los tratamientos con glucocorticoides pueden tener influencia en ciertos analitos del LCR.

# **Conclusiones**

---



## Conclusiones

- 1º Existen analitos en LCR que varían en perros con epilepsia idiopática y perros con MOD, por lo que estos parámetros alterados (proteínas totales, ferritina, amilasa, TEA, colesterol, BCHE, urea, AST, ACHE) podrían utilizarse como biomarcadores de estas patologías.
- 2º Existen analitos detectables en LCR canino pero que no varían en perros con epilepsia idiopática y perros con MOD (creatinina, calcio, fósforo, LDH, GGT, triglicéridos, glucosa, CRP, ADA, CUPRA). Estos analitos deberían ser estudiados en otras patologías del SNC para evaluar su utilidad.
- 3º El hierro, UIBC, CK, ALT, ALP, haptoglobina y TIOL no se pudieron detectar en el LCR de los perros incluidos en este estudio. Algunos de estos parámetros como la ALP, haptoglobina o el antioxidante TIOL no se han detectado en el LCR de ninguna especie animal, ni en la especie humana. Se debería valorar la opción de realizar la medición de estos parámetros mediante otras técnicas analíticas más sensibles que permitan su cuantificación.
- 4º La administración de glucocorticoides varía los resultados obtenidos en urea, AST, ACHE, colesterol y BCHE en el LCR, hecho que debe considerarse para la correcta interpretación de estos analitos en perros tratados con estos fármacos.

# **Bibliografía**

---

## Bibliografía

- Abdelmoaty, M. M., Machhi, J., Yeapuri, P., Shahjin, F., Kumar, V., Olson, K. E., Mosley, R. L., & Gendelman, H. E. (2022). Monocyte biomarkers define sargramostim treatment outcomes for Parkinson's disease. *Clinical and Translational Medicine*, 12(7). <https://doi.org/10.1002/ctm2.958>
- Acharyar, T. M., Li, B., Peng, W., Verghese, P. B., Shi, Y., McConnell, E., Benraiss, A., Kasper, T., Song, W., Takana, T., Holtzman, D. M., Nedergaard, M., & Deane, R. (2016). Glymphatic distribution of CSF-derived apoE into brain is isoform specific and suppressed during sleep deprivation. *Molecular Neurodegeneration*, 11(1), 1-20. <https://doi.org/10.1186/s13024-016-0138-8>
- Adamo, P. F., Adams, W. M., & Steinberg, H. (2007). Granulomatous meningoencephalomyelitis in dogs. *Compendium (Yardley, PA)*, 29(11), 678-690.
- Agarwal, M., & Khan, S. (2020). Plasma Lipids as Biomarkers for Alzheimer's Disease: A Systematic Review. *Cureus*, 4(12), 1-12. <https://doi.org/10.7759/cureus.12008>
- Agüera Carmona, S., & Ruiz Lopez, S. (2005). *Sistema Nervioso de los Animales Domésticos*.
- Aige, V. (2002). *El encéfalo de perro. Atlas fotográfico*. Servet Publicacions.
- Alcaraz López, G., Bernal Parra, C., Aristizábal Gil, M., Ruiz Villa, M., & Fox Quintana, J. (2006). Anemia por déficit de hierro en niños menores de cinco años y su relación con el consumo de hierro en la alimentación. Turbo, Antioquia, Colombia. *Investigación y Educación en Enfermería*, 24(2), 16-29. [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-53072006000200002%0A](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-53072006000200002%0A)
- Alkadi, H. (2020). A Review on Free Radicals and Antioxidants. *Infectious Disorders Drug Targets*, 20(1), 16-26. <https://doi.org/10.2174/1871526518666180628124323>
- Allain, C. C., Poon, L. S., Chan, C. S., Richmond, W., & Fu, P. C. (1974). Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clinical Chemistry*, 20(4), 470-475.

## Bibliografía

- Alvarado, L., Veterinarias, C., & Funcionales, C. (2013). *Determinación del daño medular y del estrés oxidativo en líquido cefalorraquídeo de perros ( Canis lupus familiaris ) con trauma espinal inducido*. 18, 26-31.
- Andersen, C. B. F., Stødkilde, K., Sæderup, K. L., Kuhlee, A., Raunser, S., Graversen, J. H., & Moestrup, S. K. (2017). Haptoglobin. *Antioxidants and Redox Signaling*, 26(14), 814-831. <https://doi.org/10.1089/ars.2016.6793>
- Andersen-Ranberg, E., Berendt, M., & Gredal, H. (2021). Biomarkers of non-infectious inflammatory CNS diseases in dogs — Where are we now? Part I: Meningoencephalitis of unknown origin. *Veterinary Journal*, 273, 105678. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2021.105678>
- Anderson, K. M., Welsh, C. J., Young, C., Levine, G. J., Kerwin, S. C., Boudreau, C. E., Reyes, I., Mondragon, A., Griffin, J. F., Cohen, N. D., & Levine, J. M. (2015). Acute Phase Proteins in Cerebrospinal Fluid from Dogs with Naturally-Occurring Spinal Cord Injury. *Journal of Neurotrauma*, 32(21), 1658-1665. <https://doi.org/10.1089/neu.2015.3895>
- Anjum, S., Dean, O., Kosa, P., Magone, M. T., King, K. A., Fitzgibbon, E., Kim, H. J., Zalewski, C., Murphy, E., Billioux, B. J., Chisholm, J., Brewer, C. C., Krieger, C., Elsegeiny, W., Scott, T. L., Wang, J., Hunsberger, S., Bennett, J. E., Nath, A., ... Williamson, P. (2021). Outcomes in Previously Healthy Cryptococcal Meningoencephalitis Patients Treated with Pulse Taper Corticosteroids for Post-infectious Inflammatory Syndrome. *Clinical Infectious Diseases*, 73(9), E2789-E2798. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa1901>
- Aroch, I., Baneth, G., Salant, H., Nachum-Biala, Y., Berkowitz, A., Shamir, M., & Chai, O. (2018). Neospora caninum and Ehrlichia canis co-infection in a dog with meningoencephalitis. *Veterinary Clinical Pathology*, 47(2), 289-293. <https://doi.org/10.1111/vcp.12582>
- Ayton, S., Janelidze, S., Kalinowski, P., Palmqvist, S., Belaidi, A. A., Stomrud, E., Roberts, A., Roberts, B., Hansson, O., & Bush, A. I. (2023). CSF ferritin in the clinicopathological

## Bibliografía

- progression of Alzheimer's disease and associations with APOE and inflammation biomarkers. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 94(3), 211-219. <https://doi.org/10.1136/jnnp-2022-330052>
- Bailey, C. S., & Higgins, R. J. (1986). Characteristics of cerebrospinal fluid associated with canine granulomatous meningoencephalomyelitis: a retrospective study. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 188(4), 418-421.
- Bailey, C. S., & Vernau, W. (1997). *Clinical Biochemistry of Domestic Animals: Vol. Cerebroesp* (Fifth Edit, Número 27). <http://journal.um-surabaya.ac.id/index.php/JKM/article/view/2203>
- Bakker, A. J. (1991). Influence of monoclonal immunoglobulins in direct determinations of iron in serum. *Clinical Chemistry*, 37(5), 690-694.
- Banfi, G., Colombini, A., Lombardi, G., & Lubkowska, A. (2012). Metabolic markers in sports medicine. En *Advances in Clinical Chemistry* (1.<sup>a</sup> ed., Vol. 56). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394317-0.00015-7>
- Banks, W. A., Kastin, A. J., & Coy, D. H. (1982). Delta sleep-inducing peptide crosses the blood-brain-barrier in dogs: Some correlations with protein binding. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 17(5), 1009-1014. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(82\)90486-5](https://doi.org/10.1016/0091-3057(82)90486-5)
- Barber, R., & Barber, J. (2022). Differential T-cell responses in dogs with meningoencephalomyelitis of unknown origin compared to healthy controls. *Frontiers in Veterinary Science*, 9. <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.925770>
- Bareggi, S. R., & Giacobini, E. (1978). Acetylcholinesterase activity in ventricular and cisternal csf of dogs: Effect of chlorpromazine. *Journal of Neuroscience Research*, 3(5-6), 335-339. <https://doi.org/10.1002/jnr.490030504>
- Barnes, H. L., Chrisman, C. L., Farina, L., & Detrisac, C. J. (2003). Clinical evaluation of rabies virus meningoencephalomyelitis in a dog. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 39(6), 547-550. <https://doi.org/10.5326/0390547>

## Bibliografía

- Barnes, H. L., Granick, M. N., Pinkerton, M. E., & Keuler, N. S. (2019). Case-control study of risk factors for Granulomatous Meningoencephalomyelitis in Dogs. *Small Animals*, 254(7), 7-10.
- Bennett, P. F., Allan, F. J., Guilford, W. G., Julian, A. F., & Johnston, C. G. (1997). Idiopathic eosinophilic meningoencephalitis in rottweiler dogs: three cases (1992-1997). *Australian veterinary journal*, 75(11), 786-789. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1997.tb15651.x>
- Bergmeyer, H. U., Hørder, M., & Rej, R. (1986a). International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) Scientific Committee, Analytical Section: approved recommendation (1985) on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 2. IFCC method for aspartate aminotransferase (. *Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry. Zeitschrift Fur Klinische Chemie Und Klinische Biochemie*, 24(7), 497-510.
- Bergmeyer, H. U., Hørder, M., & Rej, R. (1986b). International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) Scientific Committee, Analytical Section: approved recommendation (1985) on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 3. IFCC method for alanine aminotransferase (L-. *Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry. Zeitschrift Fur Klinische Chemie Und Klinische Biochemie*, 24(7), 481-495.
- Bernard, A., & Lauwerys, R. (1984). Turbidimetric latex immunoassay for serum ferritin. *Journal of Immunological Methods*, 71(2), 141-147. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(84\)90060-7](https://doi.org/10.1016/0022-1759(84)90060-7)
- Bernath, M. M., Bhattacharyya, S., Nho, K., Barupal, D. K., Fiehn, O., Baillie, R., Risacher, S. L., Arnold, M., Jacobson, T., Trojanowski, J. Q., Shaw, L. M., Weiner, M. W., Doraiswamy, P. M., Kaddurah-Daouk, R., & Saykin, A. J. (2020). Serum triglycerides in Alzheimer disease: Relation to neuroimaging and CSF biomarkers. *Neurology*, 94(20), E2088-E2098. <https://doi.org/10.1212/WNL.00000000000009436>

## Bibliografía

- Bersan, E. (2019). Samples Collected From the Cerebellomedullary Cistern of Steroid-Responsive Meningitis Arteritis in Dogs. *Journal of American Veterinary Medical Association*, 255(9), 9-11.
- Bielekova, B., & Pranzatelli, M. R. (2017). Promise, Progress, and Pitfalls in the Search for Central Nervous System Biomarkers in Neuroimmunological Diseases: A Role for Cerebrospinal Fluid Immunophenotyping. *Seminars in Pediatric Neurology*, 24(3), 229-239. <https://doi.org/10.1016/j.spen.2017.08.001>
- Bienzle, D., McDonnell, J. J., & Stanton, J. B. (2000). *Analysis of cerebrospinal fluid from dogs and cats* Bienzle. 216(11), 2-5.
- Black, S., Kushner, I., & Samols, D. (2004). C-reactive protein. *Journal of Biological Chemistry*, 279(47), 48487-48490. <https://doi.org/10.1074/jbc.R400025200>
- Blennow, K., & Zetterberg, H. (2018). Biomarkers for Alzheimer's disease: current status and prospects for the future. *Journal of Internal Medicine*, 284(6), 643-663. <https://doi.org/10.1111/joim.12816>
- Bradford, K. L., Moretti, F. A., Carbonaro-Sarracino, D. A., Gaspar, H. B., & Kohn, D. B. (2017). Adenosine Deaminase (ADA)-Deficient Severe Combined Immune Deficiency (SCID): Molecular Pathogenesis and Clinical Manifestations. *Journal of Clinical Immunology*, 37(7), 626-637. <https://doi.org/10.1007/s10875-017-0433-3>
- Brieger, K., Schiavone, S., Miller, F. J., & Krause, K. H. (2012). Reactive oxygen species: From health to disease. *Swiss Medical Weekly*, 142(August), 1-14. <https://doi.org/10.4414/smw.2012.13659>
- Briles, D. E., Forman, C., Horowitz, J. C., Volanakis, J. E., Benjamin, W. H., McDaniel, L. S., Eldridge, J., & Brooks, J. (1989). Antipneumococcal effects of C-reactive protein and monoclonal antibodies to pneumococcal cell wall and capsular antigens. *Infection and Immunity*, 57(5), 1457-1464. <https://doi.org/10.1128/iai.57.5.1457-1464.1989>
- Brooks, M., Duong, D., Shivapathasundram, G., & Sheridan, M. (2022). Cerebrospinal fluid white cell count to red cell count ratio as a predictor of ventriculitis in patients with

## Bibliografía

external ventricular drains. *ANZ Journal of Surgery*, 92(12), 3278-3282.  
<https://doi.org/10.1111/ans.17725>

Brown, D. A. (2021). Membrane organization. Lipid rafts. *Encyclopedia of Biological Chemistry: Third Edition*, 2, 817-820. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819460-7.00583-1>

Brune, J. E., Chen, A. v., & Coffey, T. (2022). Determination of the effect of iatrogenic blood contamination on lactate dehydrogenase and creatine kinase activity in canine cerebrospinal fluid. *Veterinary Clinical Pathology*, January, 1-7.  
<https://doi.org/10.1111/vcp.13184>

Burlina, A. B., Celato, A., Polo, G., Edini, C., & Burlina, A. P. (2017). The Utility of CSF for the Diagnosis of Primary and Secondary Monoamine Neurotransmitter Deficiencies. *Ejifcc*, 28(1), 64-76.  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28439219>  
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC5387700>

Cadenas, E., Packer, L., & Traber, M. G. (2016). Antioxidants, oxidants, and redox impacts on cell function - A tribute to Helmut Sies - A t. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 595, 94-99. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2015.11.012>

Cardy, T. J. A., & Cornelis, I. (2018). Clinical presentation and magnetic resonance imaging findings in 11 dogs with eosinophilic meningoencephalitis of unknown aetiology. *Journal of Small Animal Practice*, 59(7), 422-431. <https://doi.org/10.1111/jsap.12837>

Carral San Laureano, F., Oliveira Fuster, G., & Aguilar Diosdado, M. (2000). Homeostasis del calcio, fósforo y magnesio. *Medicina Integral*, 36(7), 261-266.  
<https://www.elsevier.es/es-revista-medicina-integral-63-articulo-homeostasis-del-calcio-fosforo-magnesio-12960>

Cellio, B. C. (2001). Collecting, Processing, and Preparing Cerebrospinal Fluid in Dogs and Cats. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*, 23, 785-792.



## Bibliografía

- Cerón, J. J., Eckersall, P. D., & Martínez-Subiela, S. (2005). Acute phase proteins in dogs and cats: Current knowledge and future perspectives. *Veterinary Clinical Pathology*, 34(2), 85-99. <https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2005.tb00019.x>
- Chai, O., Sommer, A., Zimmerman, G., Soreq, H., Friedman, A., Bdolah-Abram, T., Aroch, I., & Shamir, M. H. (2013). Acetylcholinesterase activity in the cerebrospinal fluid of dogs with seizures. *Veterinary Journal*, 198(1), 292-294. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2013.06.027>
- Chatonnet, A., & Lockridge, O. (1989). Comparison of butyrylcholinesterase and acetylcholinesterase. *Biochemical Journal*, 260(3), 625-634. <https://doi.org/10.1042/bj2600625>
- Chrisensen, M. B.; Eriksen, T.; Kjølgaard-Hansen, M. (2015). C-reactive protein: quantitative marker of surgical trauma and post-surgical complications in dogs: a systematic review. *Acta veterinaria scandinavica*, 57(71).
- Chrisman, C. L. (1983). *Cerebrospinal fluid evaluation* (W. B. Saunders, Ed.; 1<sup>o</sup> Edition).
- Chrisman, C. L. (1992). Cerebrospinal fluid analysis. *The Veterinary clinics of North America. Small animal practice*, 22(4), 781-810. [https://doi.org/10.1016/S0195-5616\(92\)50077-8](https://doi.org/10.1016/S0195-5616(92)50077-8)
- Chrisman, C. L., Cork, L. C., & Gamble, D. A. (1984). Neuroaxonal dystrophy of Rottweiler dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 184(4), 464-467.
- Christopher, M. M., Perman, V., & Hardy, R. M. (1988). Reassessment of cytologic values in canine cerebrospinal fluid by use of cytocentrifugation. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 192(12), 1726-1729.
- Clardy, S. L., Earley, C. J., Allen, R. P., Beard, J. L., & Connor, J. R. (2006). Ferritin subunits in CSF are decreased in restless legs syndrome. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 147(2), 67-73. <https://doi.org/10.1016/j.lab.2005.06.011>
- Coates, J. R., Barone, G., Dewey, C. W., Vitale, C. L., Holloway-Azene, N. M., & Sessions, J. K. (2007). Procarbazine as adjunctive therapy for treatment of dogs with presumptive

## Bibliografía

- antemortem diagnosis of granulomatous meningoencephalomyelitis: 21 cases (1998-2004). *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 21(1), 100-106. [https://doi.org/10.1892/0891-6640\(2007\)21\[100:PAATFT\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1892/0891-6640(2007)21[100:PAATFT]2.0.CO;2)
- Coates, J. R., & Jeffery, N. D. (2014). Perspectives on meningoencephalomyelitis of unknown origin. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, 44(6), 1157-1185. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2014.07.009>
- Coelho, A. M., Cherubini, G., de Stefani, A., Negrin, A., Gutierrez-Quintana, R., Bersan, E., & Guevar, J. (2019). Serological prevalence of toxoplasmosis and neosporosis in dogs diagnosed with suspected meningoencephalitis in the UK. *Journal of Small Animal Practice*, 60(1), 44-50. <https://doi.org/10.1111/jsap.12937>
- Commoner, B., Townsend, J., & Pake, G. E. (1954). Free radicals in biological materials. *Nature*, 174(4432), 689-691.
- Contreras-Aguilar, M. D., Rubio, C. P., González-Arostegui, L. G., Martín-Cuervo, M., Cerón, J. J., Ayala, I., Henriksen, I. M. H., Jacobsen, S., & Hansen, S. (2022). Changes in Oxidative Status Biomarkers in Saliva and Serum in the Equine Gastric Ulcer Syndrome and Colic of Intestinal Aetiology: A Pilot Study. *Animals*, 12(5). <https://doi.org/10.3390/ani12050667>
- Contreras-Aguilar, M. D., Tvarijonaviciute, A., Monkeviciene, I., Martín-Cuervo, M., González-Arostegui, L. G., Franco-Martínez, L., Cerón, J. J., Tecles, F., & Escribano, D. (2020). Characterization of total adenosine deaminase activity (ADA) and its isoenzymes in saliva and serum in health and inflammatory conditions in four different species: An analytical and clinical validation pilot study. *BMC Veterinary Research*, 16(1), 1-13. <https://doi.org/10.1186/s12917-020-02574-2>
- Contreras-Aguilar, M. D., Vallejo-Mateo, P. J., Lamy, E., Cerón, J. J., & Rubio, C. P. (2022). Changes in salivary analytes in cows due to the in vitro presence of feed. *BMC Veterinary Research*, 18(1), 1-10. <https://doi.org/10.1186/s12917-022-03371-9>

## Bibliografía

- Cook, J. R., & DeNicola, D. B. (1988). Cerebrospinal fluid. *The Veterinary clinics of North America. Small animal practice*, 18(3), 475-499. [https://doi.org/10.1016/S0195-5616\(88\)50051-7](https://doi.org/10.1016/S0195-5616(88)50051-7)
- Cordy, D. R., & Holliday, T. A. (1989). A Necrotizing Meningoencephalitis of Pug Dogs. *Veterinary Pathology*, 26(3), 191-194. <https://doi.org/10.1177/030098588902600301>
- Cornelis, I., van Ham, L., Gielen, I., de Decker, S., & Bhatti, S. F. M. (2019). Clinical presentation, diagnostic findings, prognostic factors, treatment and outcome in dogs with meningoencephalomyelitis of unknown origin: A review. *Veterinary Journal*, 244, 37-44. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2018.12.007>
- Cornelis, I., Volk, H. A., van Ham, L., & de Decker, S. (2016). Prognostic factors for 1-week survival in dogs diagnosed with meningoencephalitis of unknown aetiology. *Veterinary Journal*, 214, 91-95. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2016.05.008>
- Cynthia, M.; Kahn, B. A. (2007). *Manual Merck de Veterinaria* (E. Océano, Ed.; 6° Edición).
- D'Alessio, D. A., Kieffer, T. J., Taborsky, G. J., & Havel, P. J. (2001). Activation of the Parasympathetic Nervous System Is Necessary for Normal Meal-Induced Insulin Secretion in Rhesus Macaques<sup>1</sup>. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 86(3), 1253-1259. <https://doi.org/10.1210/jcem.86.3.7367>
- Danciu, C. G., Szladovits, B., Crawford, A. H., Ognean, L., & de Decker, S. (2021). Cerebrospinal fluid analysis lacks diagnostic specificity in dogs with vestibular disease. *Veterinary Record*, 189(10), 1-8. <https://doi.org/10.1002/vetr.557>
- D'Angelo, P., & Scarsella, G. (1979). Some data on cholinesterases in the cerebrospinal fluid of the dog. *Bollettino della Societa italiana di biologia sperimentale*, 55(11), 1067-1071.
- Darreh-Shori, T., Siawesh, M., Mousavi, M., Andreasen, N., & Nordberg, A. (2012). Apolipoprotein  $\epsilon 4$  modulates phenotype of butyrylcholinesterase in CSF of patients with Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 28(2), 443-458. <https://doi.org/10.3233/JAD-2011-111088>

## Bibliografía

- Das, A., Dikshit, M., & Nath, C. (2005). Role of molecular isoforms of acetylcholinesterase in learning and memory functions. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *81*(1), 89-99. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2005.02.006>
- Dasgupta, K., & Jeong, J. (2019). Developmental Biology of the Meninges. *Physiology & behavior*, *176*(3), 139-148. <https://doi.org/10.1002/dvg.23288>.Developmental
- Dash, P. C., & Patro, D. (2014). Role of CSF CK, LDH, GGTP enzyme levels in diagnostic and prognostic evaluation of meningitis. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, *8*(7), 19-22. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2014/9675.4615>
- Dati, F., Schumann, G., Thomas, L., Aguzzi, F., Baudner, S., Bienvenu, J., Blaabjerg, O., Blirup-Jensen, S., Carlström, A., Petersen, P. H., Johnson, A. M., Milford-Ward, A., Ritchie, R. F., Svendsen, P. J., & Whicher, J. (1996). Consensus of a group of professional societies and diagnostic companies on guidelines for interim reference ranges for 14 proteins in serum based on the standardization against the IFCC/BCR/CAP Reference Material (CRM 470). International Federation of Cl. *European Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry: Journal of the Forum of European Clinical Chemistry Societies*, *34*(6), 517-520.
- de Almeida, S. M., Rotta, I., de Conto, A. J., Antonelli Filho, D., Roda, C. D., Yamada, E. Y., & Singer, G. M. B. (2016). Higher positive identification of malignant CSF cells using the cytocentrifuge than the Suta chamber. *Arquivos de Neuro-Psiquiatria*, *74*(10), 816-822. <https://doi.org/10.1590/0004-282X20160120>
- de Risio, L., Bhatti, S., Muñana, K., Penderis, J., Stein, V., Tipold, A., Berendt, M., Farquhar, R., Fischer, A., Long, S., Mandigers, P. J. J., Matiasek, K., Packer, R. M. A., Pakozdy, A., Patterson, N., Platt, S., Podell, M., Potschka, H., Batlle, M. P., ... Volk, H. A. (2015). International veterinary epilepsy task force consensus proposal: Diagnostic approach to epilepsy in dogs. *BMC Veterinary Research*, *11*(1). <https://doi.org/10.1186/s12917-015-0462-1>
- de Schepper, J., van der Stock, J., & Capiou, E. (1987). The characteristic pattern of aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase in the bitch with the cystic

## Bibliografía

- hyperplasia-pyometra complex: Effect of medical or surgical treatment. *Veterinary Research Communications*, 11(1), 65-75. <https://doi.org/10.1007/BF00361327>
- DeGiorgio, C. M., & Taha, A. Y. (2016). Omega-3 fatty acids ( $\omega$ -3 fatty acids) in epilepsy: animal models and human clinical trials. *Expert Review of Neurotherapeutics*, 16(10), 1141-1145. <https://doi.org/10.1080/14737175.2016.1226135>
- Deme, D., & Telekes, A. (2017). Prognostic importance of lactate dehydrogenase (LDH) in oncology. *Orvosi Hetilap*, 158(50), 1977-1988. <https://doi.org/10.1556/650.2017.30890>
- Dhabhar, F. S. (2014). Effects of stress on immune function: The good, the bad, and the beautiful. *Immunologic Research*, 58(2-3), 193-210. <https://doi.org/10.1007/s12026-014-8517-0>
- di Masi, A., de Simone, G., Ciaccio, C., D'Orso, S., Coletta, M., & Ascenzi, P. (2020). Haptoglobin: From hemoglobin scavenging to human health. *Molecular Aspects of Medicine*, 73(March), 100851. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2020.100851>
- di Terlizzi, R., & Platt, S. (2006). The function, composition and analysis of cerebrospinal fluid in companion animals: Part I - Function and composition. *Veterinary Journal*, 172(3), 422-431. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2005.07.021>
- di Terlizzi, R., & Platt, S. R. (2009). The function, composition and analysis of cerebrospinal fluid in companion animals: Part II - Analysis. *Veterinary Journal*, 180(1), 15-32. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.11.024>
- Dieguez, E. (2020). Enfermedad de Aujeszky en trece perros. *Clin Vet Peq Anim*, 40(1), 29-32. <https://www.clinvetpeqanim.com/index.php?pag=articulo&art=156>
- Dragoş, D., & Tănăsescu, M. D. (2010). The effect of stress on the defense systems. *Journal of medicine and life*, 3(1), 10-18.
- Draper, A. C. E., Marshall, L. J. C., Williams, T. L., Archer, J., & Alves, L. (2021). Retrospective evaluation of hyperproteinorrachia without pleocytosis (albuminocytologic dissociation) and survival in dogs. *Veterinary Clinical Pathology*, 50(3), 376-383. <https://doi.org/10.1111/vcp.12984>

## Bibliografía

- Eaton, J. W., Brandt, P., Mahoney, J. R., & Lee, J. T. (1982). Haptoglobin: A natural bacteriostat. *Science*, *215*(4533), 691-693. <https://doi.org/10.1126/science.7036344>
- Edward, R., Savolaine, M. D., Jyoti, B., Pandya, M. D., Samuel, H., Greenblatt, M. D., Steven, R., & Conover, M. D. (1998). Anatomy of the Human Lumbar Epidural Space: New Insights Using CT-Epidurography. *Anesthesiology*, *68*, 217-220.
- Elias, A., & Brown, C. (2008). Cerebellomedullary cerebrospinal fluid collection in the dog. *Lab Animal*, *37*(10), 457-458. <https://doi.org/10.1038/labani1008-457>
- Erramouspe, B. (2012). Determinación de Ferritina Sérica Determinación de Receptor soluble de transferrina. *Hematología*, *16*(2), 1-3. <http://www.sah.org.ar/revista/numeros/vol16-n2-122-123.pdf>
- Falcón-Cordón, Y., Tvarijonaviciute, A., Montoya-Alonso, J. A., Muñoz-Prieto, A., Caro-Vadillo, A., & Carretón, E. (2022). Evaluation of acute phase proteins, adiponectin and endothelin-1 to determine vascular damage in dogs with heartworm disease (*Dirofilaria immitis*), before and after adulticide treatment. *Veterinary Parasitology*, *309*, 109759. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2022.109759>
- Fatih, A., Melih, C., Ozgur, K., Feyzi, S. B., Kadir, T., & Fazilet, K. (2014). Calcifying pseudoneoplasm of the cerebellomedullary cistern: A case report and review of the literature. *Neurology India*, *62*(4), 443-445. <https://doi.org/10.4103/0028-3886.141255>
- Fenner, W. D. (1998). Chapter 92: Central nervous system infections. En W. B. S. Company (Ed.), *Infectious diseases in the dog and cat* (2<sup>o</sup> Edition, pp. 647-657).
- Fenner, W. D. (2000). *Veterinary Internal Medicine: Diseases of the Dog and Cat*.
- Fernandez Alba, J. (2014). Creatina Quinasa. *Biomarcadores y Rendimiento Deportivo*, *1*.
- Ferreira, A. (2016). Diagnostic value of creatine kinase activity in canine cerebrospinal fluid. *Canadian Veterinary Journal*, *57*(10), 1081-1086.

## Bibliografía

- Filis, A. K., Aghayev, K., & Vrionis, F. D. (2017). *The physiology of CSF is a complex topic, and treatment for hydrocephalus typically depends on its cause. Cerebrospinal Fluid and Hydrocephalus: Physiology, Diagnosis, and Treatment*. 24(1), 2-4.
- Fosgate, G. T. (2010). *Cerebrospinal Fluid Myelin Basic Protein as a Prognostic Biomarker in Dogs with Thoracolumbar Intervertebral Disk Herniation*. 890-896.
- Franco, R., Valenzuela, A., Lluís, C., & Blanco, J. (1998). Enzymatic and extraenzymatic role of ecto-adenosine deaminase in lymphocytes. *Immunological Reviews*, 161, 27-42. <https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.1998.tb01569.x>
- Fry, M. M., Vernau, W., Kass, P. H., & Vernau, K. M. (2006). Effects of time, initial composition, and stabilizing agents on the results of canine cerebrospinal fluid analysis. *Veterinary Clinical Pathology*, 35(1), 72-77. <https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2006.tb00090.x>
- Gaetani, L., Blennow, K., Calabresi, P., di Filippo, M., Parnetti, L., & Zetterberg, H. (2019). Neurofilament light chain as a biomarker in neurological disorders. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, 1-12. <https://doi.org/10.1136/jnnp-2018-320106>
- Gal, N. J., & Dahl, W. J. (2014). Datos sobre el fósforo. *Edis*, 2014(7). <https://doi.org/10.32473/edis-fs252-2014>
- Galluzzi, L., Yamazaki, T., & Kroemer, G. (2018). Linking cellular stress responses to systemic homeostasis. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 19(11), 731-745. <https://doi.org/10.1038/s41580-018-0068-0>
- Gamst, O., & Try, K. (1980). Determination of serum-phosphate without deproteinization by ultraviolet spectrophotometry of the phosphomolybdic acid complex. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 40(5), 483-486. <https://doi.org/10.3109/00365518009101872>

## Bibliografía

- Gao, Z. W., Yang, L., Liu, C., Wang, X., Guo, W. T., Zhang, H. Z., & Dong, K. (2022). Distinct Roles of Adenosine Deaminase Isoenzymes ADA1 and ADA2: A Pan-Cancer Analysis. *Frontiers in Immunology*, 13(May), 1-12. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.903461>
- Garaschuk, O., Semchyshyn, H. M., & Lushchak, V. I. (2018). Healthy brain aging: Interplay between reactive species, inflammation and energy supply. *Ageing Research Reviews*, 43, 26-45. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2018.02.003>
- Garcia-Casal, M. N., Pasricha, S. R., Martinez, R. X., Lopez-Perez, L., & Peña-Rosas, J. P. (2021). Serum or plasma ferritin concentration as an index of iron deficiency and overload. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2021(5). <https://doi.org/10.1002/14651858.CD011817.pub2>
- Generoso, G., Janovsky, C. C. P. S., & Bittencourt, M. S. (2019). Triglycerides and triglyceride-rich lipoproteins in the development and progression of atherosclerosis. *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity*, 26(2), 109-116. <https://doi.org/10.1097/MED.0000000000000468>
- Gernone, F., Uva, A., Maiolini, A., & Zatelli, A. (2022). A review of the neural control of micturition in dogs and cats: neuroanatomy, neurophysiology and neuroplasticity. *Veterinary Research Communications*, 46(4), 991-998. <https://doi.org/10.1007/s11259-022-09966-9>
- Gerschman, R., Gilbert, D. L., Nye, S. W., & Dwyer, P. (1954). Oxygen Poisoning and X-irradiation: A Mechanism in Common. *Science*, 26-29.
- Gilbert, S. E., Cardy, T. J., Bertram, S., & Taylor-Brown, F. (2021). Diagnostic utility of cerebrospinal fluid analysis in dogs with suspected idiopathic epilepsy. *Australian Veterinary Journal*, 99(1-2), 1-5. <https://doi.org/10.1111/avj.13018>
- Gladyshev, V. N. (2014). The free radical theory of aging is dead. Long live the damage theory! *Antioxidants and Redox Signaling*, 20(4), 727-731. <https://doi.org/10.1089/ars.2013.5228>



## Bibliografía

- Gonçalves, R., de Decker, S., Walmsley, G., Butterfield, S., & Maddox, T. W. (2022). Inflammatory Disease Affecting the Central Nervous System in Dogs: A Retrospective Study in England (2010–2019). *Frontiers in Veterinary Science*, 8(January), 1-11. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.819945>
- González-Arostegui, L. G., Muñoz-Prieto, A., Tvarijonaviciute, A., Cerón, J. J., & Rubio, C. P. (2022). Measurement of Redox Biomarkers in the Whole Blood and Red Blood Cell Lysates of Dogs. *Antioxidants*, 11(2). <https://doi.org/10.3390/antiox11020424>
- González-Soriano, J., García, P. M., Contreras-Rodríguez, J., Martínez-Sainz, P., & Rodríguez-Veiga, E. (2001). Age-related changes in the ventricular system of the dog brain. *Annals of Anatomy*, 183(3), 283-291. [https://doi.org/10.1016/S0940-9602\(01\)80236-3](https://doi.org/10.1016/S0940-9602(01)80236-3)
- Granger, N., Smith, P. M., & Jeffery, N. D. (2010). Clinical findings and treatment of non-infectious meningoencephalomyelitis in dogs: A systematic review of 457 published cases from 1962 to 2008. *Veterinary Journal*, 184(3), 290-297. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2009.03.031>
- Grech, O., Seneviratne, S. Y., Alimajstorovic, Z., Yiangou, A., Mitchell, J. L., Smith, T. B., Mollan, S. P., Lavery, G. G., Ludwig, C., & Sinclair, A. J. (2022). Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy Metabolomics in Idiopathic Intracranial Hypertension to Identify Markers of Disease and Headache. *Neurology*, 99(16), E1702-E1714. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000201007>
- Green, L., Cook, L., Martinez, M., & Green, E. (2020). Distemper Encephalomyelitis Presenting with Lower Motor Neuron Signs in a Young Dog. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 56(2), 127-132. <https://doi.org/10.5326/JAAHA-MS-6736>
- Grevel, V., & Machus, B. (1992). [Cytology of the cerebrospinal fluid of dogs and cats with symptoms of meningitis/meningoencephalitis. Part 3]. *Tierärztliche Praxis*, 20(2), 199-214.
- Griffiths, W. J., Abdel-Khalik, J., Moore, S. F., Wijeyekoon, R. S., Crick, P. J., Yutuc, E., Farrell, K., Breen, D. P., Williams-Gray, C. H., Theofilopoulos, S., Arenas, E., Trupp,

## Bibliografía

- M., Barker, R. A., & Wang, Y. (2021). The Cerebrospinal Fluid Profile of Cholesterol Metabolites in Parkinson's Disease and Their Association With Disease State and Clinical Features. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 13(August), 1-13. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2021.685594>
- Haldar, S., Beveridge, 'Alim J., Wong, J., Singh, A., Galimberti, D., Borroni, B., Zhu, X., Blevins, J., Greenlee, J., Perry, G., Mukhopadhyay, C. K., Schmotzer, C., & Singh, N. (2013). A low-molecular-weight ferroxidase is increased in the CSF of sCJD cases: CSF ferroxidase and transferrin as diagnostic biomarkers for sCJD. *Antioxidants and Redox Signaling*, 19(14), 1662-1675. <https://doi.org/10.1089/ars.2012.5032>
- Hao, F., Feng, Y., & Guan, Y. (2019). A Novel Botulinum Toxin TAT-EGFP-HCS Fusion Protein Capable of Specific Delivery Through the Blood-brain Barrier to the Central Nervous System. *CNS & Neurological Disorders Drug Targets*, 18(1), 37-43. <https://doi.org/10.2174/1871527317666181011113215>
- Harman, D. (1956). Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *Journal of gerontology*, 11(3), 298-300. <https://doi.org/10.1093/geronj/11.3.298>
- Harrer, C., Otto, F., Pilz, G., Haschke-Becher, E., Trinkka, E., Hitzl, W., Wipfler, P., & Harrer, A. (2021). The CXCL13/CXCR5-chemokine axis in neuroinflammation: evidence of CXCR5+CD4 T cell recruitment to CSF. *Fluids and Barriers of the CNS*, 18(1), 1-9. <https://doi.org/10.1186/s12987-021-00272-1>
- Hawkins, B. T. (2005). The BBB/Neurovascular Unit in Health and Disease. . *Pharmacological Reviews* , 57(2), 173-185. <https://doi.org/10.1124/pr.57.2.4.173>
- Hayashi, M., Ishii, H., Handa, Y., Kobayashi, H., Kawano, H., & Kabuto, M. (1987). Role of the medulla oblongata in plateau-wave development in dogs. *Journal of Neurosurgery*, 67(1), 97-101. <https://doi.org/10.3171/jns.1987.67.1.0097>
- Helms, H. C., Abbott, N. J., Burek, M., Cecchelli, R., Couraud, P. O., Deli, M. A., Förster, C., Galla, H. J., Romero, I. A., Shusta, E. v., Stebbins, M. J., Vandenhoute, E., Weksler, B., & Brodin, B. (2015). In vitro models of the blood-brain barrier: An overview of commonly used brain endothelial cell culture models and guidelines for their use.

## Bibliografía

*Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 36(5), 862-890.  
<https://doi.org/10.1177/0271678X16630991>

Herpers, B. L., Endeman, H., de Jong, B. A. W., de Jongh, B. M., Grutters, J. C., Biesma, D. H., & van Velzen-Blad, H. (2009). Acute-phase responsiveness of mannose-binding lectin in community-acquired pneumonia is highly dependent upon MBL2 genotypes. *Clinical and Experimental Immunology*, 156(3), 488-494. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2009.03929.x>

Higgins, R. J., Dickinson, P. J., Kube, S. A., Moore, P. F., Couto, S. S., Vernau, K. M., Sturges, B. K., & Lecouteur, R. A. (2008). Necrotizing meningoencephalitis in five chihuahua dogs. *Veterinary Pathology*, 45(3), 336-346. <https://doi.org/10.1354/vp.45-3-336>

Hintzen, A., Pelzer, E. A., & Tittgemeyer, M. (2018). Thalamic interactions of cerebellum and basal ganglia. *Brain Structure and Function*, 223(2), 569-587. <https://doi.org/10.1007/s00429-017-1584-y>

Hook, G. J., Spitz, D. R., Sim, J. E., Higashikubo, R., Baty, J. D., Moros, E. G., & Roti Roti, J. L. (2004). Evaluation of parameters of oxidative stress after in vitro exposure to FMCW- and CDMA-modulated radiofrequency radiation fields. *Radiation Research*, 162(5), 497-504. <https://doi.org/10.1667/RR3251>

Hørder, M., Elser, R. C., Gerhardt, W., Mathieu, M., & Sampson, E. J. (1991). International Federation of Clinical Chemistry, Scientific Division Committee on Enzymes: approved recommendation on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 7. IFCC method for creatine kinase (ATP: creatine N-phosphot. *European Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry: Journal of the Forum of European Clinical Chemistry Societies*, 29(7), 435-456.

Hu, H. H., Bian, Y. C., Liu, Y., Sheng, R., Jiang, H. di, Yu, L. S., Hu, Y. Z., & Zeng, S. (2014). Evaluation of blood-brain barrier and blood-cerebrospinal fluid barrier permeability of 2-phenoxy-indan-1-one derivatives using in vitro cell models. *International Journal of Pharmaceutics*, 460(1-2), 101-107. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2013.11.013>

## Bibliografía

- Huang, Y., Lei, Y., Liu, R., Liu, J., Yang, G., Xiang, Z., Liang, Y., & Lai, Y. (2019). Imbalance of erythropoiesis and iron metabolism in patients with thalassemia. *International Journal of Medical Sciences*, 16(2), 302-310. <https://doi.org/10.7150/ijms.27829>
- Huidobro E., J. P., Tagle, R., & Guzmán, A. M. (2018). Creatinina y su uso para la estimación de la velocidad de filtración glomerular. *Revista médica de Chile*, 146(3), 344-350. <https://doi.org/10.4067/s0034-98872018000300344>
- Imbery, C. A., Dieterle, F., Ottka, C., Weber, C., Schlotterbeck, G., Müller, E., Lohi, H., & Giger, U. (2022). Metabolomic serum abnormalities in dogs with hepatopathies. *Scientific Reports*, 12(1), 1-14. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-09056-5>
- Inestrosa, N. C., Alarcón, R., Arriagada, J., Donoso, A., Alvarez, J., & Campos, E. O. (1994). Blood markers in Alzheimer disease: Subnormal acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase in lymphocytes and erythrocytes. *Journal of the Neurological Sciences*, 122(1), 1-5. [https://doi.org/10.1016/0022-510X\(94\)90044-2](https://doi.org/10.1016/0022-510X(94)90044-2)
- Ishida, T. (2004). Development of drug delivery system for intrathecal administration and its therapeutic effect on cerebral vasospasm and ischemia. *Yakugaku Zasshi*, 124(8), 541-547. <https://doi.org/10.1248/yakushi.124.541>
- Islam, M. T. (2017). Oxidative stress and mitochondrial dysfunction-linked neurodegenerative disorders. *Neurological Research*, 39(1), 73-82. <https://doi.org/10.1080/01616412.2016.1251711>
- Ivanov, K. S., & Lobzin, I. v. (1981). Effect of glucocorticoids on benzylpenicillin penetration across the hemato-encephalic barrier and on the clinical course and outcome of meningococcal meningitis. *Antibiotiki*, 26(12), 932-936.
- Janeček, Š., Svensson, B., & MacGregor, E. A. (2014).  $\alpha$ -Amylase: An enzyme specificity found in various families of glycoside hydrolases. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 71(7), 1149-1170. <https://doi.org/10.1007/s00018-013-1388-z>
- Jasiecki, J., Szczoczarz, A., Cysewski, D., Lewandowski, K., Skowron, P., Waleron, K., & Wasag, B. (2021). Butyrylcholinesterase–Protein interactions in human serum.

## Bibliografía

*International Journal of Molecular Sciences*, 22(19).  
<https://doi.org/10.3390/ijms221910662>

Jeromin, A., & Bowser, R. (2017). Biomarkers in neurodegenerative diseases. En *Advances in Neurobiology* (Vol. 15). [https://doi.org/10.1007/978-3-319-57193-5\\_20](https://doi.org/10.1007/978-3-319-57193-5_20)

Jones, B. S., & Harcourt-Brown, T. (2022). Comparison of serum creatine kinase and aspartate aminotransferase activity in dogs with Neospora meningoencephalitis and noninfectious meningoencephalitis. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 36(1), 141-145. <https://doi.org/10.1111/jvim.16334>

Jones, D. P. (2008). Radical-free biology of oxidative stress. *American Journal of Physiology - Cell Physiology*, 295(4). <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00283.2008>

Jones, D. P., & Sies, H. (2015). The Redox Code. *Antioxidants and Redox Signaling*, 23(9), 734-746. <https://doi.org/10.1089/ars.2015.6247>

Karlsson, I., Hagman, R., Johannisson, A., Wang, L., Södersten, F., & Wernersson, S. (2015). Multiplex cytokine analyses in dogs with pyometra suggest involvement of KC-like chemokine in canine bacterial sepsis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 170, 41-46. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2016.01.005>

Kasvosve, I., Speeckaert, M. M., Speeckaert, R., Masukume, G., & Delanghe, J. R. (2010). Haptoglobin Polymorphism and Infection. *Advances in Clinical Chemistry*, 50(10), 23-46. [https://doi.org/10.1016/S0065-2423\(10\)50002-7](https://doi.org/10.1016/S0065-2423(10)50002-7)

Keiding, R., Hördler, M., Denmark, W. G., Pitkänen, E., Tenhunen, R., Strömme, J. H., Theodorsen, L., Waldenström, J., Tryding, N., & Westlund, L. (1974). Recommended methods for the determination of four enzymes in blood. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 33(4), 291-306. <https://doi.org/10.1080/00365517409082499>

Kelbich, P., Radovnický, T., Selke-Krulichová, I., Lodin, J., Matuchová, I., Sameš, M., Procházka, J., Krejsek, J., Hanuljaková, E., & Hejčl, A. (2020). Can aspartate

## Bibliografía

aminotransferase in the cerebrospinal fluid be a reliable predictive parameter? *Brain Sciences*, 10(10), 1-7. <https://doi.org/10.3390/brainsci10100698>

Khader, N. (2014). Structural dynamic modification to predict modal parameters of multiple beams. *Conference Proceedings of the Society for Experimental Mechanics Series*, 8, 365-377. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-00876-9\\_45](https://doi.org/10.1007/978-3-319-00876-9_45)

King, D. S. (1999). Central nervous system infections. Basic concepts. *The Nursing Clinics of North America*, 34(3), 761-771.

Kipar, A., Baumgartner, W., Vogl, C., Gaedke, K., & Wellman, M. (1998). Immunohistochemical Characterization of Inflammatory Cells in Brains of Dogs with Granulomatous Meningoencephalitis. *Vet Pathol*, 35, 43-52.

Klinck, M. P., Mogil, J. S., Moreau, M., Lascelles, B. D. X., Flecknell, P. A., Poitte, T., & Troncy, E. (2017). Translational pain assessment: Could natural animal models be the missing link? *En Pain* (Vol. 158, Número 9). <https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000000978>

Kohn, D. B., Hershfield, M. S., Puck, J. M., Aiuti, A., Blincoe, A., Gaspar, H. B., Notarangelo, L. D., & Grunebaum, E. (2019). Consensus approach for the management of severe combined immune deficiency caused by adenosine deaminase deficiency. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 143(3), 852-863. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2018.08.024>

Kojima, K., Ohno, K., Kanemoto, H., Goto-Koshino, Y., Fukushima, K., & Tsujimoto, H. (2017). Analysis of serum corticosteroid-induced alkaline phosphatase isoenzyme in dogs with hepatobiliary diseases. *Journal of Small Animal Practice*, 58(5), 257-262. <https://doi.org/10.1111/jsap.12623>

Kölsch, H., Lütjohann, D., Jessen, F., Urbach, H., von Bergmann, K., Maier, W., & Heun, R. (2006). Polymorphism in neuropeptide Y influences CSF cholesterol levels but is no major risk factor of Alzheimer's disease. *Journal of Neural Transmission*, 113(2), 231-238. <https://doi.org/10.1007/s00702-005-0319-z>

## Bibliografía

- Kurokawa, T., Yumiya, Y., Fujisawa, H., Shirao, S., Kashiwagi, S., Sato, M., Kishi, H., Miwa, S., Mogami, K., Kato, S., Akimura, T., Soma, M., Ogasawara, K., Ogawa, A., Kobayashi, S., & Suzuki, M. (2009). Elevated concentrations of sphingosylphosphorylcholine in cerebrospinal fluid after subarachnoid hemorrhage: A possible role as a spasmogen. *Journal of Clinical Neuroscience*, *16*(8), 1064-1068. <https://doi.org/10.1016/j.jocn.2009.01.010>
- Kushner I., Gewurz H., B. M., & D. (1981). C-reactive protein and the acute phase response. *Journal of Laboratory Clinical Medicine*, *97*, 739-749.
- Kushner, I.; Mackiewicz, A. (1993). Acute Phase Response: an overview En: Acute Phase Protein. Molecular biology, biochemistry and clinical applications pp. *CRC Press London*, *3*(19).
- Kuwamura, M., Adachi, T., Yamate, J., Kotani, T., Ohashi, F., & Summers, B. A. (2002). Necrotising encephalitis in the Yorkshire terrier: A case report and literature review. *Journal of Small Animal Practice*, *43*(10), 459-463. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.2002.tb00014.x>
- Kwon, E. H., Tennagels, S., Gold, R., Gerwert, K., Beyer, L., & Tönges, L. (2022). Update on CSF Biomarkers in Parkinson's Disease. *Biomolecules*, *12*(2), 1-15. <https://doi.org/10.3390/biom12020329>
- Lampe, M. A., Burlingame, A. L., Whitney, J., Williams, M. L., Brown, B. E., Roitman, E., & Elias, P. M. (1983). Human stratum corneum lipids: characterization and regional variations. *Journal of Lipid Research*, *24*(2), 120-130.
- Lampe, R., Foss, K. D., Hague, D. W., & Barger, A. M. (2020). Comparison of creatine kinase in cerebrospinal fluid collected from the cerebellomedullary and lumbar cisterna in 10 dogs with neurologic disease. *Veterinary Clinical Pathology*, *49*(3), 436-439. <https://doi.org/10.1111/vcp.12885>
- Lawn, R. W., & Harcourt-Brown, T. R. (2022). Risk factors for early death or euthanasia within 100 days of diagnosis in dogs with meningoencephalitis of unknown origin.

## Bibliografía

*Veterinary Journal (London, England: 1997)*, 287, 105884.  
<https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2022.105884>

Lee, M., Lee, N., Bae, M. H., Han, Y. M., Park, K. H., Byun, S. Y., & Kim, C. (2021). Using lactate dehydrogenase to predict the severity of respiratory distress in term newborn infants with no perinatal asphyxia. *Turkish Journal of Pediatrics*, 63(3), 393-403.  
<https://doi.org/10.24953/turkiped.2021.03.006>

Lee, Y. J., Hwang, S. K., & Kwon, S. (2019). Acute necrotizing encephalopathy in children: A long way to go. *Journal of Korean Medical Science*, 34(19), 1-9.  
<https://doi.org/10.3346/jkms.2019.34.e144>

Lessard, E., Rennie, K., Haqqani, A., Ling, B., Whitfield, J., Paradis, A., Araujo, J., Yoganathan, N., Gillard, J., Stanimirovic, D., & Chakravarthy, B. (2022). Pharmacokinetics and Pharmacodynamic Effect of a Blood-Brain Barrier-Crossing Fusion Protein Therapeutic for Alzheimer's Disease in Rat and Dog. *Pharmaceutical Research*, 39(7), 1497-1507. <https://doi.org/10.1007/s11095-022-03285-z>

Lezmi, S., Toussaint, Y., Prata, D., Lejeune, T., Ferreira-Neves, P., Rakotovao, F., Fontaine, J. J., Marchal, T., & Cordonnier, N. (2007). Severe necrotizing encephalitis in a Yorkshire terrier: Topographic and immunohistochemical study. *Journal of Veterinary Medicine Series A: Physiology Pathology Clinical Medicine*, 54(4), 186-190.  
<https://doi.org/10.1111/j.1439-0442.2007.00925.x>

Li, Li; Li, Rongwen; Zacharek, Alex; Wang, Fengjie; Landschoot-Ward, Julie; Chopp, Michael; Chen, Jieli and Cui, X. (2020). ABCA1/ApoE/HDL Signaling Pathway Facilitates Myelination and Oligodendrogenesis after Stroke. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(4369), 1-18.

Li, N., Zhao, G., Wu, W., Zhang, M., Liu, W., Chen, Q., & Wang, X. (2020). The Efficacy and Safety of Vitamin C for Iron Supplementation in Adult Patients With Iron Deficiency Anemia: A Randomized Clinical Trial. *JAMA network open*, 3(11), e2023644.  
<https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2020.23644>



## Bibliografía

- Lin, J., Idee, J. M., Port, M., Diai, A., Berthommier, C., Robert, M., Raynal, I., Devoldere, L., & Corot, C. (1999). Interference of magnetic resonance imaging contrast agents with the serum calcium measurement technique using colorimetric reagents. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 21(5), 931-943. [https://doi.org/10.1016/S0731-7085\(99\)00188-0](https://doi.org/10.1016/S0731-7085(99)00188-0)
- Liochev, S. I. (2013). Reactive oxygen species and the free radical theory of aging. *Free Radical Biology and Medicine*, 60, 1-4. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2013.02.011>
- Liu, Y., Lu, J. B., & Ye, Z. R. (2006). Permeability of injured blood brain barrier for exogenous bFGF and protection mechanism of bFGF in rat brain ischemia. *Neuropathology*, 26(3), 257-266. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1789.2006.00693.x>
- Lockridge, O. (2015). Review of human butyrylcholinesterase structure, function, genetic variants, history of use in the clinic, and potential therapeutic uses. *Pharmacology and Therapeutics*, 148, 34-46. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2014.11.011>
- Lorentz, K. (1998). Approved recommendation on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 9. IFCC method for  $\alpha$ -amylase (1,4- $\alpha$ -D-glucan 4-glucanohydrolase, EC 3.2.1.1). *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 36(3), 185-203. <https://doi.org/10.1515/CCLM.1998.034>
- Lotti, D., Capucchio, M. T., Gaidolfi, E., & Merlo, M. (1999). Necrotizing encephalitis in a Yorkshire Terrier: Clinical, imaging, and pathologic findings. *Veterinary Radiology and Ultrasound*, 40(6), 622-626. <https://doi.org/10.1111/j.1740-8261.1999.tb00889.x>
- Lowrie, M., Smith, P. M., & Garosi, L. (2013). Meningoencephalitis of unknown origin: investigation of prognostic factors and outcome using a standard treatment protocol. *Vet Rec*, 172(20), 527. <https://doi.org/10.1136/vr.101431>
- Lowrie, M., Smith, P. M., & Garosi, L. (2016). Meningoencephalitis of unknown origin: investigation of prognostic factors and outcome using a standard treatment protocol. *Veterinary Journal*, 213(20), 1-5. <https://doi.org/10.1136/vr.101431>

## Bibliografía

- Lu, S., Wei, F., & Li, G. (2021). The evolution of the concept of stress and the framework of the stress system. *Cell Stress*, 5(6), 76-85. <https://doi.org/10.15698/CST2021.06.250>
- Luján Feliu-Pascual, A., Garosi, L., Dennis, R., & Platt, S. (2008). Iatrogenic brainstem injury during cerebellomedullary cistern puncture. *Veterinary Radiology and Ultrasound*, 49(5), 467-471. <https://doi.org/10.1111/j.1740-8261.2008.00410.x>
- Lushchak, V. I. (2011). Adaptive response to oxidative stress: Bacteria, fungi, plants and animals. *Comparative Biochemistry and Physiology - C Toxicology and Pharmacology*, 153(2), 175-190. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2010.10.004>
- Lushchak, V. I. (2021). Interplay between bioenergetics and oxidative stress at normal brain aging. Aging as a result of increasing disbalance in the system oxidative stress-energy provision. *Pflugers Archiv: European Journal of Physiology*, 473(5), 713-722. <https://doi.org/10.1007/s00424-021-02531-4>
- Machado, V. S., Crivellenti, L. Z., Bottari, N. B., Tonin, A. A., Pelinson, L. P., Borin-Crivellenti, S., Santana, A. E., Torbitz, V. D., Moresco, R. N., Duarte, T., Duarte, M. M. M. F., Schetinger, M. R. C., Morsch, V. M., Jaques, J. A., Tinucci-Costa, M., & da Silva, A. S. (2015). Oxidative stress and inflammatory response biomarkers in dogs with mammary carcinoma. *Pathology Research and Practice*, 211(9), 677-681. <https://doi.org/10.1016/j.prp.2015.06.011>
- MacNeill, A. L., Andre, B. G., Zingale, Y., Packer, R. A., & McGrath, S. (2018). The effects of iatrogenic blood contamination on total nucleated cell counts and protein concentrations in canine cerebrospinal fluid. *Veterinary Clinical Pathology*, 47(3), 464-470. <https://doi.org/10.1111/vcp.12639>
- Maeda, T., & Kanda, T. (2013). [Blood-brain barrier and blood-nerve barrier in neuroinflammatory diseases]. *Nihon rinsho. Japanese journal of clinical medicine*, 71(5), 789-794.
- Mahaney, K. B., Buddhala, C., Paturu, M., Morales, D. M., Smyser, C. D., Limbrick, D. D., Gummidipundi, S. E., Han, S. S., & Strahle, J. M. (2022). Elevated cerebrospinal fluid iron and ferritin associated with early severe ventriculomegaly in preterm

## Bibliografía

posthemorrhagic hydrocephalus. *Journal of Neurosurgery. Pediatrics*, 30(2), 169-176.  
<https://doi.org/10.3171/2022.4.PEDS21463>

Makimura, S. y Suzuki, N. (1982). Quantitative determination of bovine serum haptoglobin and its elevation in some inflammatory diseases. *Jpn. J. Vet. Sci.*, 44, 15-21.

Mariani, C. L., Nye, C. J., Ruterbories, L., Tokarz, D. A., Green, L., Lau, J., Zidan, N., Early, P. J., Muñana, K. R., Olby, N. J., Lee, C. S., & Guevar, J. (2020). Cerebrospinal fluid lactate concentrations in dogs with seizure disorders. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 34(6), 2562-2570. <https://doi.org/10.1111/jvim.15953>

Mariani, C. L., Nye, C. J., Tokarz, D. A., Green, L., Lau, J., Zidan, N., Early, P. J., Guevar, J., Muñana, K. R., Olby, N. J., & Miles, S. (2019). Cerebrospinal fluid lactate in dogs with inflammatory central nervous system disorders. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 33(6), 2701-2708. <https://doi.org/10.1111/jvim.15606>

Martiarena, B., Castillo, V., Regonant, M., Quintana, H., Brandi, G., Visintini, A., Lamarca, G., & Ruidiaz, V. (2016). Evaluacion del metabolismo fosforo calcio en perros con IRC. *Redvet*, 17, 1-9.

Martínez-Subiela, S., Caldin, M., Parra, M. D., Ottolini, N., Bertolini, G., Bernal, L. J., García-Martínez, J. D., & Cerón, J. J. (2011). Canine C-reactive protein measurements in cerebrospinal fluid by a time-resolved immunofluorimetric assay. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 23(1), 63-67. <https://doi.org/10.1177/104063871102300109>

Mazzachi, B. C., Peake, M. J., & Ehrhardt, V. (2000). Reference range and method comparison studies for enzymatic and Jaffé creatinine assays in plasma and serum and early morning urine. *Clinical Laboratory*, 46(1-2), 53-55.

McConnell, H. L., & Mishra, A. (2022). Cells of the Blood-Brain Barrier: An Overview of the Neurovascular Unit in Health and Disease. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 2492, 3-24. [https://doi.org/10.1007/978-1-0716-2289-6\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-2289-6_1)

## Bibliografía

- McEwen, B. S. (2006). Protective and damaging effects of stress mediators: Central role of the brain. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 8(4), 367-381. <https://doi.org/10.31887/dcns.2006.8.4/bmcewen>
- Mcmichael, M. A. (2007). *Maureen Oxidative Estress Dogs and Cats*. 231(5).
- Melgar, S., Karlsson, A., & Michaëlsson, E. (2005). Acute colitis induced by dextran sulfate sodium progresses to chronicity in C57BL/6 but not in BALB/c mice: Correlation between symptoms and inflammation. *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology*, 288(6 51-6), 1328-1338. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00467.2004>
- Méndez, J. C., Carretón, E., Martínez-Subiela, S., Tvarijonaviciute, A., Cerón, J. J., & Montoya-Alonso, J. A. (2015). Acute phase protein response in heartworm-infected dogs after adulticide treatment. *Veterinary Parasitology*, 209(3-4), 197-201. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.02.036>
- Mesa-Nuñez, C., & Mortellaro, A. (2022). T cells and monocytes: A dangerous liaison in adenosine deaminase 2 deficiency. *Journal of Leukocyte Biology*, 111(2), 297-299. <https://doi.org/10.1002/JLB.3CE1021-561R>
- Meyer, D. J.; Harvey, J. W. (2007). *Medicina Laboratorial Veterinaria, Interpretación y diagnosis* (Elsevier, Ed.; 3º Edición).
- Michael, H. T., Mack, R. M., Hegarty, E., McCrann, D. J., & Grauer, G. F. (2021). A longitudinal study of the persistence of increased creatinine and concordance between kidney biomarkers in cats and dogs. *Veterinary Journal (London, England : 1997)*, 276, 105729. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2021.105729>
- Michaelis, L. (1939). Free radicals as intermediate steps of oxidation-reduction. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*, 7, 33-49.
- Moon, J. H., Jung, H. W., Lee, H. C., Jeon, J. H., Kim, N. H., Sur, J. H., Ha, J., & Jung, D. I. (2015). A study of experimental autoimmune encephalomyelitis in dogs as a disease

## Bibliografía

- model for canine necrotizing encephalitis. *Journal of Veterinary Science*, 16(2), 203-211. <https://doi.org/10.4142/jvs.2015.16.2.203>
- Moore, J. F., & Sharer, J. D. (2017). Methods for quantitative creatinine determination. *Current Protocols in Human Genetics*, 2017(April), A.3O.1-A.3O.7. <https://doi.org/10.1002/cphg.38>
- Morales, C., & Montoliu, P. (2012). *Neurología Canina y Felina* (M. E. Veterinarias, Ed.; 1º Edición).
- Moro, L., Martins, A. S., Alves, C. M., Santos, F. G. A., del Puerto, H. L., & Vasconcelos, A. C. (2003). Apoptosis in the cerebellum of dogs with distemper. *Journal of Veterinary Medicine, Series B*, 50(5), 221-225. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0450.2003.00657.x>
- Mozaffari, A. A., & Samadieh, H. (2013). Analysis of serum and cerebrospinal fluid in clinically normal adult miniature donkeys. *New Zealand Veterinary Journal*, 61(5), 297-299. <https://doi.org/10.1080/00480169.2012.757724>
- Mulukutla, B. C., Yongky, A., Le, T., Mashek, D. G., & Hu, W. S. (2016). Regulation of Glucose Metabolism – A Perspective From Cell Bioprocessing. *Trends in Biotechnology*, 34(8), 638-651. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2016.04.012>
- Muñana, K. R., & Luttgren, P. J. (1998). Prognostic factors for dogs with granulomatous meningoencephalomyelitis: 42 cases (1982-1996). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 212(12), 1902-1906.
- Murakami, Y., Saito, K., Ito, H., & Hashimoto, Y. (2019). Transferrin isoforms in cerebrospinal fluid and their relation to neurological diseases. *Proceedings of the Japan Academy Series B: Physical and Biological Sciences*, 95(5), 198-210. <https://doi.org/10.2183/pjab.95.015>
- Nagai, J. (1963). Diagnostic Use of the Determination of Lactate Dehydrogenase in the blood serum and other Body Fluids. *Rinsho byori. The Japanese journal of clinical pathology*, 11, 413-418.

## Bibliografía

- National Institutes Of Health. (2016). Datos Sobre El calcio. *National Institutes of Health, Office of Dietary Supplements*, 4. <https://ods.od.nih.gov/pdf/factsheets/Zinc-DatosEnEspañol.pdf>
- Nessler, J. N., Jo, W. K., Osterhaus, A. D. M. E., Ludlow, M., & Tipold, A. (2021). Canine Meningoencephalitis of Unknown Origin—The Search for Infectious Agents in the Cerebrospinal Fluid via Deep Sequencing. *Frontiers in Veterinary Science*, 8(December), 1-6. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.645517>
- Nessler, J. N., Oevermann, A., Schawacht, M., Gerhauser, I., Spitzbarth, I., Bittermann, S., Steffen, F., Schmidt, M. J., & Tipold, A. (2022). Concomitant necrotizing encephalitis and granulomatous meningoencephalitis in four toy breed dogs. *Frontiers in Veterinary Science*, 9. <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.957285>
- Nessler, J., Wohlsein, P., Junginger, J., Hansmann, F., Erath, J., Söbbeler, F., Dziallas, P., & Tipold, A. (2020). Meningoencephalomyelitis of Unknown Origin in Cats: A Case Series Describing Clinical and Pathological Findings. *Frontiers in Veterinary Science*, 7(May). <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00291>
- Nghiem, P. P., & Schatzberg, S. J. (2010). Conventional and molecular diagnostic testing for the acute neurologic patient. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 20(1), 46-61. <https://doi.org/10.1111/j.1476-4431.2009.00495.x>
- Noble, J., Doutres, J. C., Palmade, J., & Amar, A. (1970). [Apropos of an oneiric during acute pancreatitis. Presence of amylase activity in the CSF]. *Bordeaux medical*, 3(11), 2727-8 passim.
- Oh, S. K., Pavlotsky, N., & Tauber, A. I. (1990). Specific binding of haptoglobin to human neutrophils and its functional consequences. *Journal of Leukocyte Biology*, 47(2), 142-148. <https://doi.org/10.1002/jlb.47.2.142>
- Ohnishi, M., Okada, G., Taniguchi, H., & Sakano, Y. (1985). Beta-amylase. *Tanpakushitsu kakusan koso. Protein, nucleic acid, enzyme*, 30(5), 404-412.

## Bibliografía

- Oliphant, B. J., Barnes Heller, H. L., & White, J. M. (2017). Retrospective Study Evaluating Associations Between Midline Brain Shift on Magnetic Resonance Imaging and Survival in Dogs Diagnosed With Meningoencephalitis of Unknown Etiology. *Veterinary Radiology and Ultrasound*, *58*(1), 38-43. <https://doi.org/10.1111/vru.12434>
- Olivier, A. K., Parkes, J. D., Flaherty, H. A., Kline, K. L., & Haynes, J. S. (2010). Idiopathic eosinophilic meningoencephalomyelitis in a Rottweiler dog. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, *22*(4), 646-648. <https://doi.org/10.1177/104063871002200427>
- Olsson, B., Lautner, R., Andreasson, U., Öhrfelt, A., Portelius, E., Bjerke, M., Hölttä, M., Rosén, C., Olsson, C., Strobel, G., Wu, E., Dakin, K., Petzold, M., Blennow, K., & Zetterberg, H. (2016). CSF and blood biomarkers for the diagnosis of Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Neurology*, *15*(7), 673-684. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(16\)00070-3](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(16)00070-3)
- Orlandi, R., Gutierrez-Quintana, R., Carletti, B., Cooper, C., Brocal, J., Silva, S., & Gonçalves, R. (2020). Clinical signs, MRI findings and outcome in dogs with peripheral vestibular disease: A retrospective study. *BMC Veterinary Research*, *16*(1), 1-10. <https://doi.org/10.1186/s12917-020-02366-8>
- Pakaski, M., & Kasa, P. (2003). Role of acetylcholinesterase inhibitors in the metabolism of amyloid precursor protein. *Current Drug Targets. CNS and Neurological Disorders*, *2*(3), 163-171. <https://doi.org/10.2174/1568007033482869>
- Palumbo, M. L., Prochnik, A., Wald, M. R., & Genaro, A. M. (2020). Chronic Stress and Glucocorticoid Receptor Resistance in Asthma. *Clinical Therapeutics*, *42*(6), 993-1006. <https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2020.03.002>
- Pan, Y. (2021). Nutrients, Cognitive Function, and Brain Aging: What We Have Learned from Dogs. *Medical Sciences*, *9*(4), 72. <https://doi.org/10.3390/medsci9040072>
- Pannen, B. H. J.; Robotham, J. L. (1995). The acute-phase response. *New Horiz.*, *3*, 183-197.

## Bibliografía

- Paolicchi, A., Sotiropoulou, M., Perego, P., Daubeuf, S., Visvikis, A., Lorenzini, E., Franzini, M., Romiti, N., Chieli, E., Leone, R., Apostoli, P., Colangelo, D., Zunino, F., & Pompella, A. (2003).  $\gamma$ -Glutamyl transpeptidase catalyses the extracellular detoxification of cisplatin in a human cell line derived from the proximal convoluted tubule of the kidney. *European Journal of Cancer*, 39(7), 996-1003. [https://doi.org/10.1016/S0959-8049\(03\)00067-4](https://doi.org/10.1016/S0959-8049(03)00067-4)
- Paradis, M. R. (1998). Tumors of the central nervous system. En *The Veterinary clinics of North America. Equine practice* (Vol. 14, Número 3). [https://doi.org/10.1016/S0749-0739\(17\)30186-4](https://doi.org/10.1016/S0749-0739(17)30186-4)
- Pardo, I. D., Shoieb, A. M., Garman, R., Mirsky, M., Santos, R., & Houle, C. (2018). Spontaneous Ectopic Choroid Plexus with Sclerosis in Adult Beagle Dogs. *Toxicologic Pathology*, 46(5), 608-609. <https://doi.org/10.1177/0192623318776885>
- Pardo-Marin, L., Ceron, J. J., Tecles, F., Baneth, G., & Martínez-Subiela, S. (2020). Comparison of acute phase proteins in different clinical classification systems for canine leishmaniosis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 219. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2019.109958>
- Pardridge, W. M. (2011). Drug transport in brain via the cerebrospinal fluid. *Fluids and Barriers of the CNS*, 8(1), 7. <https://doi.org/10.1186/2045-8118-8-7>
- Pellegrino, F.; Suraniti, A.; Garibaldi, L. (2003). *El libro de la Neurología para la Práctica clínica* (E. Intermédica, Ed.; 1º Edición).
- Perrotta, G. (1996). *Iron and total binding capacity. Clinical Chemistry theory, analysis and correlation* (A. Pesce & L. Kaplan, Eds.).
- Pesini, P., Pego-Reigosa, R., Tramu, G., & Coveñas, R. (2004). Distribution of ACTH immunoreactivity in the diencephalon and the brainstem of the dog. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 27(4), 275-282. <https://doi.org/10.1016/j.jchemneu.2004.05.002>
- Peterson, L. N., Christian, J. A., Bentley, R. T., Moore, G. E., & Thomovsky, S. A. (2020). Evaluation of the hydroxyethyl starch stabilizing agent, Vetstarch, in the preservation of



## Bibliografía

- canine cerebrospinal fluid samples. *Veterinary Clinical Pathology*, 49(1), 95-99. <https://doi.org/10.1111/vcp.12834>
- Peyrot des Gachons, C., & Breslin, P. A. S. (2016). Salivary Amylase: Digestion and Metabolic Syndrome. *Current Diabetes Reports*, 16(10). <https://doi.org/10.1007/s11892-016-0794-7>
- Phornphutkul, K. S., Anuras, S., Koff, R. S., Seeff, L. B., Mahler, D. L., & Zimmerman, H. J. (1974). Causes of increased plasma creatine kinase activity after surgery. *Clinical Chemistry*, 20(3), 340-342.
- Pierce, M. E., & Albert, D. V. F. (2022). Delivering the Diagnosis: A Practical Approach to a Patient With a Functional Neurological Disorder. *Seminars in Pediatric Neurology*, 41, 100948. <https://doi.org/10.1016/j.spen.2021.100948>
- Platt, S. R., Dennis, R., Murphy, K., & de Stefani, A. (2005). Hematomyelia secondary to lumbar cerebrospinal fluid acquisition in a dog. *Veterinary Radiology and Ultrasound*, 46(6), 467-471. <https://doi.org/10.1111/j.1740-8261.2005.00085.x>
- Poad, L., de Decker, S., & Fenn, J. (2021). Acquired cervical scoliosis in two dogs with inflammatory central nervous system disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 35(5), 2421-2426. <https://doi.org/10.1111/jvim.16257>
- Prell, G. D., Khandelwal, J. K., Burns, R. S., & Green, J. P. (1988). Histamine Metabolites in Cerebrospinal Fluid of the Rhesus Monkey (*Macaca mulatto*): Cisternal-Lumbar Concentration Gradients. *Journal of Neurochemistry*, 50(4), 1194-1199. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1988.tb10592.x>
- Qin, W., Li, J., Zhu, R., Gao, S., Fan, J., Xia, M., Zhao, R. C., & Zhang, J. (2019). Melatonin protects blood-brain barrier integrity and permeability by inhibiting matrix metalloproteinase-9 via the NOTCH3/NF-κB pathway. *Aging*, 11(23), 11391-11415. <https://doi.org/10.18632/aging.102537>
- R. Platt, S., & J. Olby, N. (2008). *Manual de Neurología en pequeños animales* (Ediciones S, Ed; 2º Edición).

## Bibliografía

- Radaelli, S. T., & Platt, S. R. (2002). Bacterial meningoencephalomyelitis in dogs: a retrospective study of 23 cases (1990-1999). *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 16(2), 159-163. [https://doi.org/10.1892/0891-6640\(2002\)016<0159: bmidar>2.3.co;2](https://doi.org/10.1892/0891-6640(2002)016<0159: bmidar>2.3.co;2)
- Radakovich, L. B.; Santangelo, K. S.; Olver, C. S. (2015). Reticulocyte hemoglobin content does not differentiate true from functional iron deficiency in dog. *Veterinary Clinical Pathology*, 44(4), 511-518.
- Raposeiras-Roubin, S., Rosselló, X., Oliva, B., Fernández-Friera, L., Mendiguren, J. M., Andrés, V., Bueno, H., Sanz, J., Martínez de Vega, V., Abu-Assi, E., Iñiguez, A., Fernández-Ortiz, A., Ibáñez, B., & Fuster, V. (2021). Triglycerides and Residual Atherosclerotic Risk. *Journal of the American College of Cardiology*, 77(24), 3031-3041. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2021.04.059>
- Reimann, M J, Ljungvall, I.; Hillstrom, A; Moller, J. E.; Hogman, R.; Falk, T.; Hogland, K.; Haggstrom, J.; Olsen, L. H. (2016). Increases serum C-reactive protein concentrations in dogs with congestive heart failure due to myxomatous mitral valve disease. *Veterinary Journal*, 209, 113-118.
- Reusing, Mhayara S. O.; Poneze, Clara A. C.; da Silva, Daniella M.; Oliveira, Debora M. M. C.; Sousa, Renato S.; Dittrich, Rosangela L.; Gregios, S. D. (2015). Fast test .reactive protein detection (FASTest (R) CRP canine) as an aid for the diagnosis of pyometra in bitches. *Pesquisa veterinaria brasileira*, 35(12), 975-979.
- Roerig, A., Carlson, R., Tipold, A., & Stein, V. M. (2013). Cerebrospinal fluid tau protein as a biomarker for severity of spinal cord injury in dogs with intervertebral disc herniation. *Veterinary Journal*, 197(2), 253-258. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2013.02.005>
- Rom, O., & Reznick, A. Z. (2015). The stress reaction: A historical perspective. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 905, 1-4. [https://doi.org/10.1007/5584\\_2015\\_195](https://doi.org/10.1007/5584_2015_195)
- Rooze, M. I., & Kaasik, A. E. (1988). Enzymatic activity of the cerebrospinal fluid in patients with cerebral infarct. *Zhurnal nevroptologii i psikiatrii imeni S.S. Korsakova (Moscow, Russia : 1952)*, 88(12), 18-21.

## Bibliografía

- Rothermich, N. O., & von Haam, E. (1941). Pancreatic encephalopathy. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 1(11), 872-881. <https://doi.org/10.1210/jcem-1-11-872>
- Rozenfel'd, E. L., Popova, I. A., & Shubina, A. I. (1962). Liver alpha-1,4-exopolyglucosidase (gamma-amylase). *Biokhimiia (Moscow, Russia)*, 26, 880-884.
- Rubio, C. P., & Cerón, J. J. (2021). Spectrophotometric assays for evaluation of Reactive Oxygen Species (ROS) in serum: general concepts and applications in dogs and humans. *BMC Veterinary Research*, 17(1), 1-13. <https://doi.org/10.1186/s12917-021-02924-8>
- Rubio, C. P., Saril, A., Kocaturk, M., Tanaka, R., Koch, J., Ceron, J. J., & Yilmaz, Z. (2020). Changes of inflammatory and oxidative stress biomarkers in dogs with different stages of heart failure. *BMC Veterinary Research*, 16(1), 1-14. <https://doi.org/10.1186/s12917-020-02650-7>
- Rubio, C. P., Tvarijonaviciute, A., Caldin, M., Hernández-Ruiz, J., Cerón, J. J., Martínez-Subiela, S., & Tecles, F. (2018). Stability of biomarkers of oxidative stress in canine serum. *Research in Veterinary Science*, 121(June), 85-93. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2018.09.007>
- Rudd, P. A., Cattaneo, R., & von Messling, V. (2006). Canine Distemper Virus Uses both the Anterograde and the Hematogenous Pathway for Neuroinvasion. *Journal of Virology*, 80(19), 9361-9370. <https://doi.org/10.1128/jvi.01034-06>
- Sacks, D. B., Arnold, M., Bakris, G. L., Bruns, D. E., Horvath, A. R., Kirkman, M. S., Lernmark, A., Metzger, B. E., & Nathan, D. M. (2011). Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. *Clinical Chemistry*, 57(6). <https://doi.org/10.1373/clinchem.2010.161596>
- Sahoo, B. M., Banik, B. K., Borah, P., & Jain, A. (2022). Reactive Oxygen Species (ROS): Key Components in Cancer Therapies. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 22(2), 215-222. <https://doi.org/10.2174/1871520621666210608095512>

## Bibliografía

- Salim, S. (2017). Oxidative stress and the central nervous system. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 360(1), 201-205. <https://doi.org/10.1124/jpet.116.237503>
- Salvadori, C., Baroni, M., Arispici, M., & Cantile, C. (2007). Magnetic resonance imaging and pathological findings in a case of canine idiopathic eosinophilic meningoencephalitis. *Journal of Small Animal Practice*, 48(8), 466-469. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.2007.00400.x>
- Sarfaty, D., Carrillo, J. M., & Greenlee, P. G. (1986). Differential diagnosis of granulomatous meningoencephalomyelitis, distemper, and suppurative meningoencephalitis in the dog. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 188(4), 387-392.
- Satoh, H., Yamato, O., Asano, T., Yonemura, M., Yamauchi, T., Hasegawa, D., Orima, H., Arai, T., Yamasaki, M., & Maede, Y. (2007a). Cerebrospinal fluid biomarkers showing neurodegeneration in dogs with GM1 gangliosidosis: Possible use for assessment of a therapeutic regimen. *Brain Research*, 1133(1), 200-208. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2006.11.039>
- Scarsella, G., Toschi, G., Bareggi, S. R., & Giacobini, E. (1979). Molecular forms of cholinesterases in cerebrospinal fluid, blood plasma, and brain tissue of the beagle dog. *Journal of Neuroscience Research*, 4(1), 19-24. <https://doi.org/10.1002/jnr.490040104>
- Schatzberg, S. J. (2010). Idiopathic Granulomatous and Necrotizing Inflammatory Disorders of the Canine Central Nervous System. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, 40(1), 101-120. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2009.09.003>
- Schatzberg, S. J., Haley, N. J., Barr, S. C., de Lahunta, A., & Sharp, N. J. H. (2005). Polymerase chain reaction screening for DNA viruses in paraffin-embedded brains from dogs with necrotizing meningoencephalitis, necrotizing leukoencephalitis, and granulomatous meningoencephalitis. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 19(4), 553-559. [https://doi.org/10.1892/0891-6640\(2005\)19\[553:PCRSFD\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1892/0891-6640(2005)19[553:PCRSFD]2.0.CO;2)
- Schmidt, M. J., Laubner, S., Kolecka, M., Failing, K., Moritz, A., Kramer, M., & Ondreka, N. (2015). Comparison of the relationship between cerebral white matter and grey matter

## Bibliografía

in normal dogs and dogs with lateral ventricular enlargement. *PLoS ONE*, 10(5), 1-14.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0124174>

Schwab, S., Herden, C., Seeliger, F., Papaioannou, N., Psalla, D., Polizopoulou, Z., & Baumgärtner, W. (2007). Non-suppurative Meningoencephalitis of Unknown Origin in Cats and Dogs: an Immunohistochemical Study. *Journal of Comparative Pathology*, 136(2-3), 96-110. <https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2006.11.006>

Scorza, C. A., Calderazzo, L., Cavalheiro, E. A., Cysneiros, R. M., & Scorza, F. A. (2013). Sudden unexpected death in dogs with epilepsy: Risks versus benefits of omega-3 fatty acid supplementation for man's best friend. *Epilepsy and Behavior*, 27(3), 508-509. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2013.02.021>

Senjo, H., Higuchi, T., Okada, S., & Takahashi, O. (2018). Hyperferritinemia: causes and significance in a general hospital. *Hematology*, 23(10), 817-822. <https://doi.org/10.1080/10245332.2018.1488569>

Seo, E., Choi, J., Choi, M., & Yoon, J. (2014). Computed tomographic evaluation of cervical vertebral canal and spinal cord morphometry in normal dogs. *Journal of Veterinary Science*, 15(2), 187-193. <https://doi.org/10.4142/jvs.2014.15.2.187>

Shafie, I. N. F., Anderson, T. J., Penderis, J., Eckersall, P. D., & McLaughlin, M. (2013). A protocol for the management of canine cerebrospinal fluid for the proteomic assessment of putative biomarkers. *Veterinary Journal*, 197(3), 836-841. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2013.05.039>

Shafie, I. N. F., McLaughlin, M., Burchmore, R., Lim, M. A. A., Montague, P., Johnston, P. E. J., Penderis, J., & Anderson, T. J. (2014). The chaperone protein clusterin may serve as a cerebrospinal fluid biomarker for chronic spinal cord disorders in the dog. *Cell Stress and Chaperones*, 19(3), 311-320. <https://doi.org/10.1007/s12192-013-0457-4>

Shahan, B., Choi, E. Y., & Nieves, G. (2021). Cerebrospinal fluid analysis. *American Family Physician*, 103(7), 422-428. [https://doi.org/10.5005/jp/books/14203\\_26](https://doi.org/10.5005/jp/books/14203_26)

## Bibliografía

- Shamir, S. K., Hagen, C. R. M., Foley, M. P., Gilroy, C. v., Yu, J., & Amsellen, P. M. (2019). Effects of stylet-in versus stylet-out collection of cerebrospinal fluid from the cisterna magna on contamination of samples, sample quality and collection time. *Am. J. Vet. Res*, 80(8), 1-5.
- Shaw, L. M., Strømme, J. H., London, J. L., & Theodorsen, L. (1983). International Federation of Clinical Chemistry. Scientific Committee, Analytical Section. Expert Panel on Enzymes. IFCC methods for measurement of enzymes. Part 4. IFCC methods for gamma-glutamyltransferase [(gamma-glutamyl)-peptide: amino acid gamma-glu. *Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry*, 135(3), 315F-338F.
- Shephard, M. D., & Whiting, M. J. (1990). Falsely low estimation of triglycerides in lipemic plasma by the enzymatic triglyceride method with modified Trinder's chromogen. *Clinical Chemistry*, 36(2), 325-329.
- Shibuya, M., Matsuki, N., Fujiwara, K., Imajoh-Ohmi, S., Fukuda, H., Pham, N. T., Tamahara, S., & Ono, K. (2007). Autoantibodies against Glial Fibrillary Acidic Protein (GFAP) in cerebrospinal fluids from pug dogs with necrotizing meningoencephalitis. *Journal of Veterinary Medical Science*, 69(3), 241-245. <https://doi.org/10.1292/jvms.69.241>
- Shih, A. W. Y., Mcfarlane, A., & Verhovsek, M. (2014). Haptoglobin testing in hemolysis: Measurement and interpretation. *American Journal of Hematology*, 89(4), 443-447. <https://doi.org/10.1002/ajh.23623>
- Shokouhi, S., Karamipour, M., Darazam, I. A., Sepehrvand, N., Ahmadi, H., & Sajadi, M. M. (2018). Diagnostic Value of the Leukocyte Esterase Test for Early Detection of Pleocytosis in Cerebrospinal Fluid of Patients with Suspected Acute Bacterial Meningitis. *Infectious Disorders - Drug Targets*, 18(1), 29-34. <https://doi.org/10.2174/1871526517666170317112233>
- Short, M. W., & Domagalski, J. E. (2013). Iron deficiency anemia: Evaluation and management. *American Family Physician*, 87(2), 98-104.
- Sies, H. (1985). *Oxidative stress: Introductory remarks* (H. Sies, Ed.). Academic Press.

## Bibliografía

- Sies, H. (1997). Physiological Society Symposium: Impaired Endothelial and Smooth Muscle Cell Function in Oxidative Stress. *Experimental Physiology*, 82(2), 291-295. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.1997.sp004024>
- Silva, M. A., Chang, H., Weng, J., Hernandez, N. E., Shah, A. H., Wang, S., Niazi, T., & Ragheb, J. (2022). Surgical management of quadrigeminal cistern arachnoid cysts: case series and literature review. *Journal of Neurosurgery: Pediatrics*, 29(4), 427-434. <https://doi.org/10.3171/2021.11.PEDS21497>
- Simon, F., Giovanni, G., Thomas, F., & Felix, C. (2014). Restraint stress enhances arterial thrombosis in vivo - Role of the sympathetic nervous system. *Stress - The International Journal on the Biology of Stress*, 17, 126-132.
- Simon, K., Gładysz, A., Bakońska-Pacoń, E., Sobiech, K. A., & Dzik, T. (1991). The activity of alpha-amylase and gamma-amylase in serum and pancreatic homogenate of rats with experimental liver damage treated with colchicine. *Materia Medica Polona. Polish Journal of Medicine and Pharmacy*, 23(2), 103-106.
- Singh, A., Singh, N. B., Hussain, I., & Singh, H. (2017). Effect of biologically synthesized copper oxide nanoparticles on metabolism and antioxidant activity to the crop plants *Solanum lycopersicum* and *Brassica oleracea* var. botrytis. *Journal of Biotechnology*, 262, 11-27. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2017.09.016>
- Sirviö, J., Soininen, H. S., Kutvonen, R., Hyttinen, J. M., Helkala, E. L., & Riekkinen, P. J. (1987). Acetyl- and butyrylcholinesterase activity in the cerebrospinal fluid of patients with Parkinson's disease. *Journal of the Neurological Sciences*, 81(2-3), 273-279. [https://doi.org/10.1016/0022-510X\(87\)90102-X](https://doi.org/10.1016/0022-510X(87)90102-X)
- Sivolapenko, D., Duncan, J., Eivers, C., Liuti, T., & Marioni-Henry, K. (2022). Utility of a flexed neck sagittal magnetic resonance imaging sequence for the assessment of cerebellomedullary cistern in dogs. *Journal of Anatomy*, 241(1), 13-19. <https://doi.org/10.1111/joa.13643>
- Smith, & Maxie. (1989). Estudio del LCR en Meningoencefalitis eosinofílica. *Journal of Veterinary Internal Medicine*.

## Bibliografía

- Smith, S. M., Westermeyer, H. D., Mariani, C. L., Gilger, B. C., & Davidson, M. G. (2018). Optic neuritis in dogs: 96 cases (1983-2016). *Veterinary Ophthalmology*, 21(5), 442-451. <https://doi.org/10.1111/vop.12528>
- Solter, P.; Hoffmann, W. E.; Hungerford; L. L.; Siegel, J. P. ; S., & Denis, S. H.; Dorner, J. L. (1991). Haptoglobin and Ceruloplasmin as determinants of inflammation in dogs. *Am. J. Vet. Res*, 52, 1738-1742.
- Sonagra, A. D., & Motiani, A. (2022). *Hexokinase Method*.
- Sorjonen, D. C. (1987). Total protein, albumin quota, and electrophoretic patterns in cerebrospinal fluid of dogs with central nervous system disorders. *American Journal of Veterinary Research*, 48(2), 301-305.
- Stalis, I. H., Chadwick, B., Dayrell-Hart, B., Summers, B. A., & van Winkle, T. J. (1995). Necrotizing meningoencephalitis of Maltese dogs. *Veterinary pathology*, 32(3), 230-235. <https://doi.org/10.1177/030098589503200303>
- Storey, K. B. (1996). Oxidative stress: animal adaptations in nature. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research = Revista Brasileira de Pesquisas Medicas e Biologicas*, 29(12), 1715-1733.
- Stylianaki, I., Polizopoulou, Z. S., Theodoridis, A., Koutouzidou, G., Baka, R., & Papaioannou, N. G. (2020). Amyloid-beta plasma and cerebrospinal fluid biomarkers in aged dogs with cognitive dysfunction syndrome. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 34(4), 1532-1540. <https://doi.org/10.1111/jvim.15812>
- Summers, B. A., Cummings, J. F., & Lahunta, A. de. (1995). *Veterinary Neuropathology*. Mosby.
- Suñol, A., Garcia-Pertierra, S., & Faller, K. M. E. (2021). Cerebrospinal fluid analysis in dogs: Main patterns and prevalence of albuminocytological dissociation. *Veterinary Record*, 188(5), 1-7. <https://doi.org/10.1002/vetr.27>



## Bibliografía

- Sutherland, R. J. (1989). Biochemical evaluation of the hepatobiliary system in dogs and cats. *The Veterinary clinics of North America. Small animal practice*, 19(5), 899-927. [https://doi.org/10.1016/S0195-5616\(89\)50104-9](https://doi.org/10.1016/S0195-5616(89)50104-9)
- Swahn, C. G., & Sedvall, G. (1988). CSF creatinine in schizophrenia. *Biological Psychiatry*, 23(6), 586-594. [https://doi.org/10.1016/0006-3223\(88\)90005-4](https://doi.org/10.1016/0006-3223(88)90005-4)
- Szalai, A. J., van Ginkel, F. W., Wang, Y., McGhee, J. R., & Volanakis, J. E. (2000). Complement-Dependent Acute-Phase Expression of C-Reactive Protein and Serum Amyloid P-Component. *The Journal of Immunology*, 165(2), 1030-1035. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.165.2.1030>
- Talarico, L. R., & Schatzberg, S. J. (2010). Idiopathic granulomatous and necrotising inflammatory disorders of the canine central nervous system: A review and future perspectives. *Journal of Small Animal Practice*, 51(3), 138-149. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.2009.00823.x>
- Talker, H., & E., S. G. (1964). Enzymatische Harnstoffbestimmung in Blut und Serum im optischen Test nach WARBURG. *Kurze wissenschaftliche Mitteilungen*, 174-175.
- Tappin, S. W., Taylor, S. S., Tasker, S., Dodkin, S. J., Papasouliotis, K., & Murphy, K. F. (2011). Serum protein electrophoresis in 147 dogs. *Veterinary Record*, 168(17), 456. <https://doi.org/10.1136/vr.d88>
- Tecles, F., Tvarijonavičiute, A., de Torre, C., Carrillo, J. M., Rubio, M., García, M., Cugat, R., & Cerón, J. J. (2016). Total esterase activity in human saliva: Validation of an automated assay, characterization and behaviour after physical stress. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 76(4), 324-330. <https://doi.org/10.3109/00365513.2016.1163417>
- Thomson, C. E., Kornegay, J. N., & Stevens, J. B. (1990). Analysis of cerebrospinal fluid from the cerebellomedullary and lumbar cisterns of dogs with focal neurologic disease: 145 cases (1985-1987). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 196(11), 1841-1844.

## Bibliografía

- Tietz, N. W., Rinker, A. D., & Shaw, L. M. (1983). IFCC Methods for the Measurement of Catalytic Concentration of Enzymes Part 5. IFCC Method for Alkaline Phosphatase. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 21(11), 731-760. <https://doi.org/10.1515/cclm.1983.21.11.731>
- Timmann, D., Konar, M., Howard, J., & Vandeveld, M. (2007). Necrotising encephalitis in a French bulldog. *Journal of Small Animal Practice*, 48(6), 339-342. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.2006.00239.x>
- Tipold, A. (1995). *Diagnosis of Inflammatory and Infectious Diseases of the Central Nervous System in Dogs: A Retrospective Study*. 9(5), 304-314.
- Tipold, A., & Schatzberg, S. J. (2010). An update on steroid responsive meningitis-arteritis. *Journal of Small Animal Practice*, 51(3), 150-154. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.2009.00848.x>
- Tiwari, R., Saharia, G. K., & Mangaraj, M. (2021). Evaluation of Serum Ferritin and Anti-Thyroid Peroxidase Antibody Status in Newly Diagnosed Subclinical Cases of Hypothyroidism. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders Drug Targets*, 21(8), 1453-1458. <https://doi.org/10.2174/1871530320666200925125404>
- Trapa, P. E., Troutman, M. D., Lau, T. Y., Wager, T. T., Maurer, T. S., Patel, N. C., West, M. A., Umland, J. P., Carlo, A. A., Feng, B., & Liras, J. L. (2019). In vitro–in vivo extrapolation of key transporter activity at the blood–brain barrier S. *Drug Metabolism and Disposition*, 47(4), 405-411. <https://doi.org/10.1124/dmd.118.083279>
- Tugirimana, P. L., de Clercq, D., Holderbeke, A. L., Kint, J. A., de Cooman, L., Deprez, P., & Delanghe, J. R. (2011). A functional turbidimetric method to determine C-reactive protein in horses. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 23(2), 308-311. <https://doi.org/10.1177/104063871102300217>
- Tvarijonavičiute, A., Ceron, J. J., & Tecles, F. (2013). Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase activities in obese Beagle dogs before and after weight loss. *Veterinary Clinical Pathology*, 42(2), 207-211. <https://doi.org/10.1111/vcp.12032>

## Bibliografía

- Uchida, K., Park, E., Tsuboi, M., Chambers, J. K., & Nakayama, H. (2016). Pathological and immunological features of canine necrotising meningoencephalitis and granulomatous meningoencephalitis. *Veterinary Journal*, 213, 72-77. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2016.05.002>
- van Dorpe, S., Bronselaer, A., Nielandt, J., Stalmans, S., Wynendaele, E., Audenaert, K., van de Wiele, C., Burvenich, C., Peremans, K., Hsuchou, H., de Tré, G., & de Spiegeleer, B. (2012). Brainpeps: The blood-brain barrier peptide database. En *Brain Structure and Function* (Vol. 217, Número 3). <https://doi.org/10.1007/s00429-011-0375-0>
- Vandeveldel, M., Fatzer, R., & Frankhauser, R. (1981). Immunohistological studies on primary reticulosis of the canine brain. *Veterinary Pathology*, 18(5), 577-588. <https://doi.org/10.1177/030098588101800502>
- Vansteenkiste, D. P., Fenger, J. M., Fadda, P., Martin-Vaquero, P., & da Costa, R. C. (2019). MicroRNA expression in the cerebrospinal fluid of dogs with and without cervical spondylomyelopathy. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 33(6), 2685-2692. <https://doi.org/10.1111/jvim.15636>
- Vázquez-Ovando, A., Mejía-Reyes, J. D., García-Cabrera, K. E., & Velázquez-Ovalle, G. (2022). Capacidad antioxidante: conceptos, métodos de cuantificación y su aplicación en la caracterización de frutos tropicales y productos derivados. *Revista Colombiana de Investigaciones Agroindustriales*, 9(1), 9-33. <https://doi.org/10.23850/24220582.4023>
- Vernon, H., Clark, K., & Bressler, J. P. (2011). In vitro models to study the blood brain barrier. *Methods in Molecular Biology*, 758(1), 153-168. [https://doi.org/10.1007/978-1-61779-170-3\\_10](https://doi.org/10.1007/978-1-61779-170-3_10)
- Veziere, J., Lesourd, M., Jollivet, C., Montero-Menei, C., Benoit, J. P., & Menei, P. (2001). Analysis of brain biocompatibility of drug-releasing biodegradable microspheres by scanning and transmission electron microscopy. *Journal of Neurosurgery*, 95(3), 489-494. <https://doi.org/10.3171/jns.2001.95.3.0489>

## Bibliografía

- Vielmo, A., Schwertz, C. I., Piva, M. M., Echenique, J. V. Z., de Lorenzo, C., Surita, L. E., de Andrade, C. P., & Sonne, L. (2022). Eosinophilic meningoencephalitis caused by rat lungworm (*Angiostrongylus cantonensis*) migration in a white-eared opossum (*Didelphis albiventris*) with concurrent distemper virus in southern Brazil. *Parasitology Research*, 121(5), 1545-1549. <https://doi.org/10.1007/s00436-022-07471-1>
- Viña, J., Borrás, C., Abdelaziz, K. M., Garcia-Valles, R., & Gomez-Cabrera, M. C. (2013). The free radical theory of aging revisited: The cell signaling disruption theory of aging. *Antioxidants and Redox Signaling*, 19(8), 779-787. <https://doi.org/10.1089/ars.2012.5111>
- von Känel, R., & Dimsdale, J. E. (2000). Effects of sympathetic activation by adrenergic infusions on hemostasis in vivo. *European Journal of Haematology*, 65(6), 357-369. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0609.2000.065006357.x>
- Wang, C.-Y., Deng, Y., Li, P., Zheng, S., Chen, G., Zhou, G., Xu, J., Chen, Y.-P., Wang, Z., Jin, X., Tang, J.-M., Hu, K.-P., Bi, J.-F., Zhang, P., Li, C.-X., Huang, A., Lv, G.-J., Xiao, X.-H., Zou, Z., & Ji, D. (2022). Prediction of biochemical nonresolution in patients with chronic drug-induced liver injury: A large multicenter study. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 75(6), 1373-1385. <https://doi.org/10.1002/hep.32283>
- Waritani, T., Cutler, D., & Chang, J. (2020). Development of canine C-reactive protein assays. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 62(1), 10-14. <https://doi.org/10.1186/s13028-020-00549-9>
- Webb, A. A., & Muir, G. D. (2000). The blood-brain barrier and its role in inflammation. *Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 14(4), 399-411. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2000.tb02248.x>
- Weber, J., Maiolini, A., & Tipold, A. (2012). Evaluation of decreased glucose levels in the cerebrospinal fluid of dogs. *Tierärztliche Praxis. Ausgabe K, Kleintiere/Heimtiere*, 40(5), 325-332.

## Bibliografía

- Widmer, W. R., DeNicola, D. B., Blevins, W. E., Cook, J. R. J., Cantwell, H. D., & Teclaw, R. F. (1992). Cerebrospinal fluid changes after iopamidol and metrizamide myelography in clinically normal dogs. *American Journal of Veterinary Research*, *53*(3), 396-401.
- Willette, R. N., Hieble, J. P., & Sauermech, C. F. (1991). The role of alpha adrenoceptor subtypes in sympathetic control of the acral-cutaneous microcirculation. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, *256*(2), 599-605.
- Williams, D. P., Joseph, N., Sones, E., Chetluru, S., Hillecke, T. K., Thayer, J. F., & Koenig, J. (2017). Effects of body mass index on parasympathetic nervous system reactivity and recovery following orthostatic stress. *Journal of Nutrition, Health and Aging*, *21*(10), 1250-1253. <https://doi.org/10.1007/s12603-016-0817-8>
- Williams, J. H., Köster, L. S., Naidoo, V., Odendaal, L., van Veenhuysen, A., de Wit, M., & van Wilpe, E. (2008). Review of idiopathic eosinophilic meningitis in dogs and cats, with a detailed description of two recent cases in dogs. *Journal of the South African Veterinary Association*, *79*(4), 194-204. <https://doi.org/10.4102/jsava.v79i4.272>
- Windsor, R. C., Sturges, B. K., Vernau, K. M., & Vernau, W. (2009). *Cerebrospinal Fluid Eosinophilia in Dogs*. 275-281.
- Yang, B., Chen, Y., & Shi, J. (2019). Reactive oxygen species (ROS)-based nanomedicine [Review-article]. *Chemical Reviews*, *119*(8), 4881-4985. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.8b00626>
- Yang, J., Hamade, M., Wu, Q., Wang, Q., Axtell, R., Giri, S., & Mao-Draayer, Y. (2022). Current and Future Biomarkers in Multiple Sclerosis. *International Journal of Molecular Sciences*, *23*(11), 1-27. <https://doi.org/10.3390/ijms23115877>
- Yin, Y., & Wang, Z. (2018). ApoE and neurodegenerative diseases in aging. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, *1086*, 77-92. [https://doi.org/10.1007/978-981-13-1117-8\\_5](https://doi.org/10.1007/978-981-13-1117-8_5)

## Bibliografía

- Yip, T. C. F., Wong, V. W. S., & Wong, G. L. H. (2021). Alanine Aminotransferase Level: The Road to Normal in 2021. *Hepatology Communications*, 5(11), 1807-1809. <https://doi.org/10.1002/hep4.1788>
- Young, B. D., Levine, J. M., Fosgate, G. T., Lahunta, A. de, Flegel, T., Matiasek, K., Miller, A., Silver, G., Sharp, N., Greer, K., & Schatzberg, S. J. (2009). Magnetic Resonance Imaging Characteristics of Necrotizing Meningoencephalitis in Pug Dogs. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 527-535.
- Yun, T., Koo, Y., Chae, Y., Lee, D., Kim, H., Kim, S., Chang, D., Na, K. J., Yang, M. P., & Kang, B. T. (2021). Neurofilament light chain as a biomarker of meningoencephalitis of unknown etiology in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 35(4), 1865-1872. <https://doi.org/10.1111/jvim.16184>
- Zdora, I., Raue, J., Söbbeler, F., Tipold, A., Baumgärtner, W., & Nessler, J. N. (2022). Case report: Lympho-histiocytic meningoencephalitis with central nervous system vasculitis of unknown origin in three dogs. *Frontiers in Veterinary Science*, 9. <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.944867>
- Zhao, K., Sun, H., Shan, Y., Mao, Y. B., & Zhang, H. (2010). Cerebrospinal fluid absorption disorder of arachnoid villi in a canine model of hydrocephalus. *Neurology India*, 58(3), 371-376. <https://doi.org/10.4103/0028-3886.65601>
- Zhulai, G., Oleinik, E., Shibaev, M., & Ignatev, K. (2022). Adenosine-Metabolizing Enzymes, Adenosine Kinase and Adenosine Deaminase, in Cancer. *Biomolecules*, 12(3), 1-18. <https://doi.org/10.3390/biom12030418>
- Zimmermann, P., & Curtis, N. (2021). Bacterial Meningitis in the Absence of Pleocytosis in Children: A Systematic Review. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, 40(6), 582-587. <https://doi.org/10.1097/INF.0000000000003085>

# **Abreviaturas**

---

## Abreviaturas

**ACHE:** Acetilcolinesterasa.

**ACV:** Accidente cerebrovascular.

**ADA:** Adenosina deaminasa.

**ADA<sub>1</sub>:** Adenosina deaminasa 1.

**ADA<sub>2</sub>:** Adenosina deaminasa 2.

**tADA:** Adenosina deaminasa total.

**ADN:** Ácido desoxirribonucleico.

**ADP:** Difosfato de adenosina.

**ALKP:** Fosfatasa alcalina.

**ALP:** Fosfatasa alcalina.

**ALT:** Alanina aminotransferasa.

**AMP:** 2-amino-2-metil-1-propanol.

**AO:** Espacio atlanto-occipital.

**AOPP:** Productos de proteína de oxidación avanzada.

**APP:** Proteína precursora de amiloide.

**ARN:** Ácido ribonucleico.

**AST:** Aspartato aminotransferasa.

**ATP:** Trifosfato de adenosina.

**BCHE:** Butirilcolinesterasa.

**BHE:** Barrera hematoencefálica.

**CA:** Citarabina, citosina arabinosa o arabinósido de citosina.

**Ca-o-CPC:** Calcio-o-Cresoltaleína-complexone.

**CBE:** Comité de Bioseguridad y Experimentación.

**CHE:** Colesterol estereasa.



## Abreviaturas

**CHO:** Oxidasa de colesterol

**CJD:** Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob.

**CK:** Creatinin quinasa.

**CK-1 (BB):** Creatinin quinasa cerebral.

**CK-2 (MB):** Creatinin quinasa miocárdica.

**CK-3 (MM):** Creatinin quinasa muscular.

**CL:** Cisterna lumbar.

**CM:** Cisterna magna.

**COP:** Protocolo COP: Ciclofosfamida, vincristina y prednisona

**CREA:** Creatinina.

**CRI:** Infusión continua.

**CRP:** Proteína C reactiva.

**CUPRA:** Capacidad antioxidante reductora cúprica.

**d-ROM:** Compuestos derivados del oxígeno reactivo.

**EHNA:** Eritro-9-(2-hidroxi-3-nonil) adenina.

**EI:** Epilepsia idiopática.

**etileno-G<sub>7</sub>PNP:** 4,6-etilideno(G<sub>7</sub>)-p-nitrofenil(G<sub>1</sub>)- $\alpha$ -D-maltoheptaosida.

**FLAIR:** Recuperación de inversión atenuada por fluidos.

**FRAP:** Capacidad reductora férrica del plasma.

**G6P-DH:** 6-fosfato de glucosa deshidrogenasa

**GFAP:** Proteína ácida fibrilar glial.

**GGT:** Gamma glutariltransferasa.

**GK:** Glicerolcinasa.

**GLDH:** Glutamato deshidrogenasa.

## Abreviaturas

**GME:** Meningoencefalitis granulomatosa.

**GOT:** Glutamino oxalacético transaminasa.

**GPO:** Glicerolfosfato.

**GPT:** Transaminasa glutámico-pirúvica.

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>:** Peróxido de hidrógeno.

**HII:** Hipertensión intracraneal idiopática.

**HK:** Hexocinasa.

**IFCC:** Federación Internacional de Bioquímica Clínica.

**IL-1:** Interleucina 1

**IL-6:** Interleucina 6

**IL-8:** Interleucina 8

**IM:** Aplicación por vía intramuscular.

**IV:** Aplicación por vía intravenosa.

**LCR:** Líquido cefalorraquídeo.

**LDH:** Lactato deshidrogenasa.

**LE:** Leucocito estereasa.

**LEN:** Leucoencefalitis necrotizante.

**MADB:** N,N-bis(4-sulfobutil)-3,5-dimetilanilina sal disódica.

**MDH:** Malato deshidrogenasa.

**MEN:** Meningoencefalitis necrotizante.

**MOD:** Meningoencefalitis de origen desconocido.

**NAD<sup>+</sup>:** Nicotinamida adenina dinucleótido (forma oxidada).

**NADH:** Nicotinamida adenina dinucleótido (forma reducida).

**NADP:** Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (forma oxidada).

## Abreviaturas

**NADPH:** Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (forma reducida).

**NfL:** Cadena ligera de neurofilamentos.

**PCO<sub>2</sub>:** Presión parcial de dióxido de carbono.

**PCR:** Reacción en cadena de la polimerasa.

**PFA:** Proteínas de fase aguda.

**PIC:** Presión intracraneal.

**p-NF:** p-Nitrofenol.

**P-NFF:** p-Nitrofenilfosfato.

**PNP:** p-Nitrofenol.

**PO:** Aplicación por vía oral.

**POD:** Peroxidasa.

**PON-1:** Paraoxonasa tipo 1.

**POX-Act:** Actividad del peróxido.

**RLS:** Síndrome de piernas inquietas.

**RM:** Resonancia magnética.

**ROS:** Especies reactivas de oxígeno.

**RR:** Recuento celular.

**RX:** Radiografía.

**SC:** Aplicación por vía subcutánea.

**SCID:** Inmunodeficiencia combinada severa.

**SDCC:** Síndrome de Disfunción Cognitiva Canina.

**SH:** Grupo sulfhidrilo.

**SN:** Sistema nervioso.

**SNC:** Sistema nervioso central.

## Abreviaturas

**SNP:** Sistema nervioso parasimpático.

**SNS:** Sistema nervioso simpático.

**SOD:** Superóxido dismutasa.

**SRMA:** Meningitis-arteritis que responde a corticoides.

**TBARS:** Sustancias reactivas del ácido tiobarbitúrico.

**TC:** Tomografía computerizada.

**TEA:** Actividad esterasa total.

**TEAC:** Capacidad antioxidante equivalente a Trolox.

**TIBC:** Capacidad total de unión al hierro.

**TIOL:** Antioxidante con un grupo sulfhidrilo.

**TNF- $\alpha$ :** Factor de necrosis tumoral alfa.

**TOS:** Estado oxidante total.

**TPTZ:** [2,4,6-Tri-(2-piridil)-5-triacina].

**TR-IFMA:** Ensayo inmunofluorimétrico de resolución temporal adaptado.

**UIBC:** Capacidad de unión al hierro.

**UV:** Radiación ultravioleta.

**WBC:** Recuento de glóbulos blancos.

# **Anexos**

---

Se anexan las historias clínicas detalladas de las muestras que han formado parte del estudio, junto con las imágenes de la RM de cada una de ellas.

- Grupo Control

**Muestra 20:**

NHC 27588, Hachiko, perro mestizo, macho, de 3 años. Paciente con episodios compatibles con crisis convulsivas desde hace un año y medio.

Examen neurológico y análisis de sangre, sin alteraciones significativas. Los ácidos biliares y el amoniaco se encuentran dentro del rango fisiológico. Se realiza RM (Figuras 29 y 30) y se toma muestra de LCR para descartar alteraciones estructurales encefálicas o inflamatorias. Una vez descartadas este tipo de patologías, el diagnóstico es el de EI.



Figura 29. RM muestra 20.

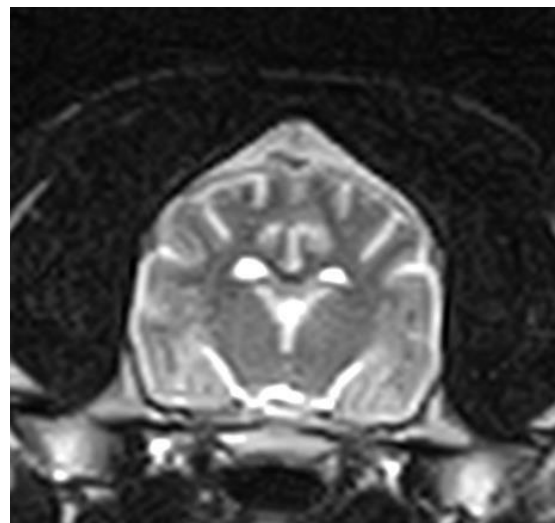


Figura 30. RM muestra 20.

**Muestra 21:**

NHC 27988, Xana, Beagle, hembra, de 5 años. Paciente que sufrió tres episodios compatibles con crisis convulsivas hace un mes.

No se encuentran alteraciones en la exploración física. En el examen neurológico hay una disminución bilateral del reflejo de amenaza. Se realizan análisis de sangre, ecocardiografía y radiografía de tórax; sin observarse alteraciones significativas en ninguna de estas pruebas.

En la RM de cráneo no se observan alteraciones en la morfología ni señal de las estructuras intracraneales (Figuras 31, 32 y 33). En el análisis del LCR tanto el recuento como el tipo celular permanecen en rangos fisiológicos. La ausencia de alteraciones significativa en todas las pruebas realizadas lleva al diagnóstico de EI.

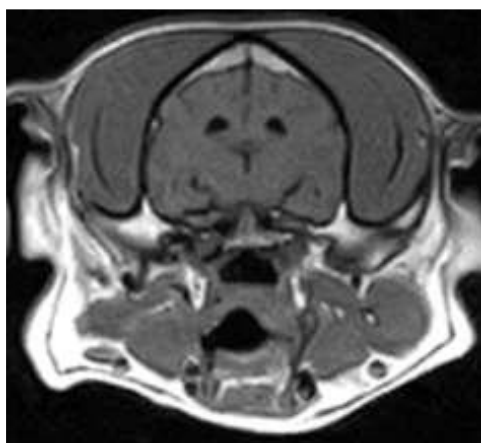


Figura 31. RM muestra 21.

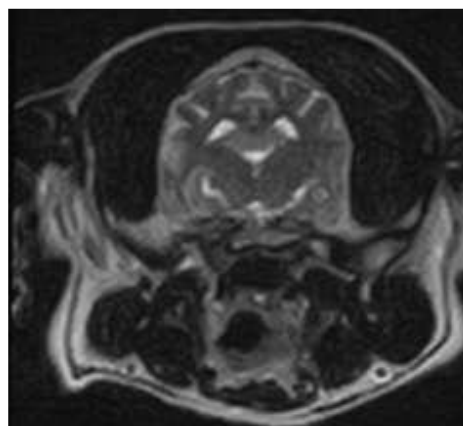


Figura 32. RM muestra 21.

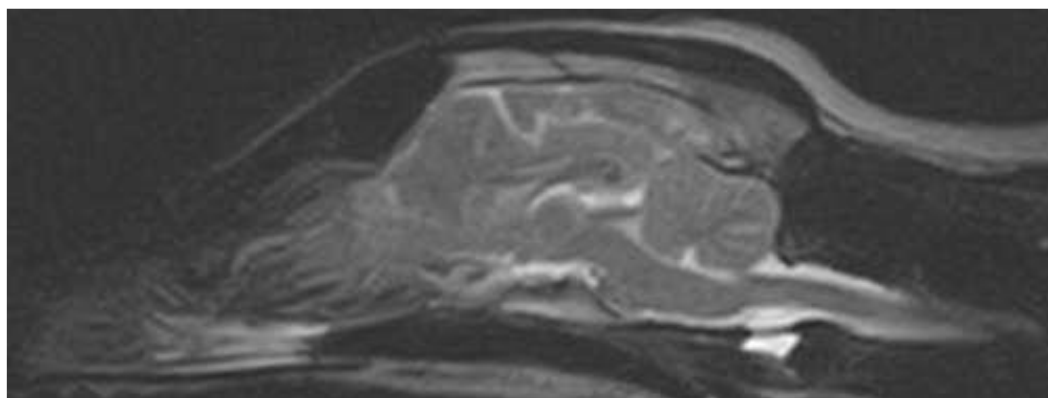


Figura 33. RM muestra 21.

**Muestra 11:**

NHC 27849, Abhy, Border Collie, hembra, de 7 años. Paciente con episodios compatibles con crisis convulsivas desde hace aproximadamente un año.

No se encuentran alteraciones en el examen físico ni en el examen neurológico. El análisis de sangre y de LCR no presentan alteraciones. Los ácidos biliares y el amoniaco se encuentran dentro del rango fisiológico. La RM no presenta alteraciones en la morfología, ni señal de las estructuras intracraneales (Figuras 34, 35 y 36). Estos hallazgos sugieren la presencia de EI.

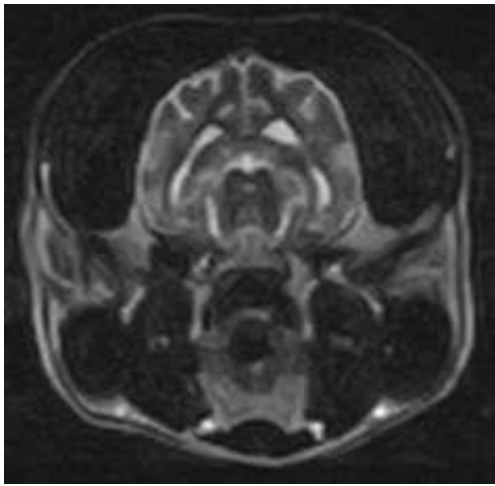


Figura 34. RM muestra 11.



Figura 35. RM muestra 11.

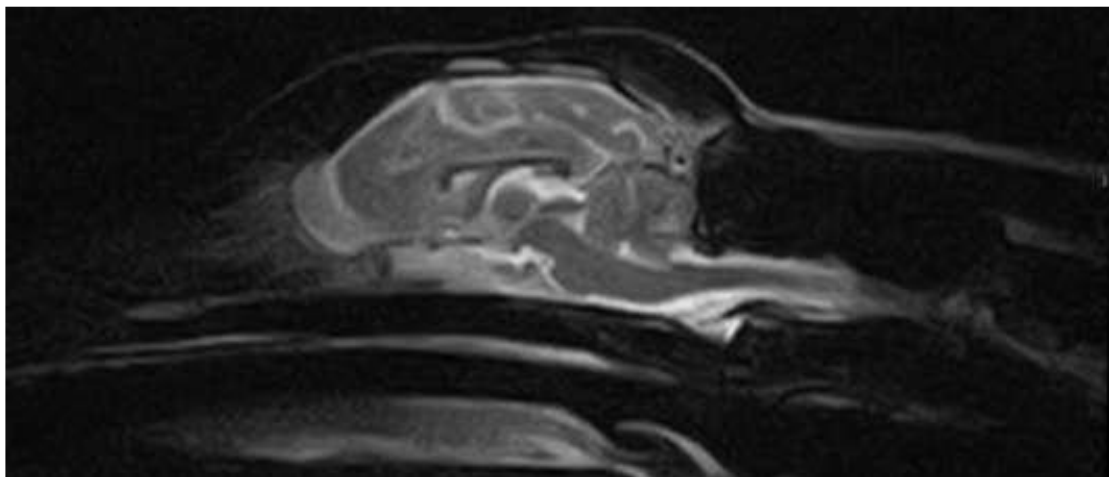


Figura 36. RM muestra 11.



**Muestra 18:**

NHC 27962, Noa, American Staffordshire Terrier, hembra, de 7 años. Paciente con episodios compatibles con crisis epileptiformes. Los episodios se presentan agrupados en racimo (4 ataques en 24 horas).

El examen físico y la exploración neurológica no presentan alteraciones. En la analítica sanguínea se observa un leve aumento de AST y ALT. La radiografía de tórax no presenta alteraciones. Se determinan ácidos biliares y amoniaco, encontrándose en rangos fisiológicos. El análisis del LCR no presenta alteraciones. La RM presenta una asimetría en los ventrículos laterales con una dilatación moderada del ventrículo izquierdo. No se observan alteraciones en la señal ni en la morfología del resto de estructuras estudiadas.

Tras los hallazgos clínicos se sospecha que el diagnóstico más probable sea una EI. Se observan alteraciones a nivel de la RM por la gran cantidad de crisis convulsivas que ha sufrido el animal y el daño neurológico subyacente que pueden haber generado éstas (Figuras 37 y 38).



Figura 37. RM muestra 18.

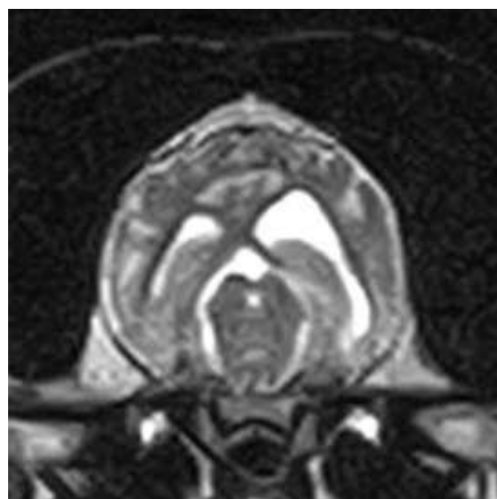


Figura 38. RM muestra 18.

**Muestra 35:**

NHC 27831, Kiko, Chihuahua, macho, de 4 años. Paciente con episodios compatibles con crisis convulsivas.

No se encuentran alteraciones en el examen físico, ni en la exploración neurológica. El análisis de sangre no presenta alteraciones significativas. Los ácidos biliares y el amoniaco se encuentran dentro del rango fisiológico. El análisis del LCR no presenta alteraciones. La RM no presenta alteraciones en la morfología ni señal de las estructuras intracraneales (Figura 39). La ausencia de alteraciones significativas en las pruebas realizadas sugiere que el diagnóstico más probable sea la EI.

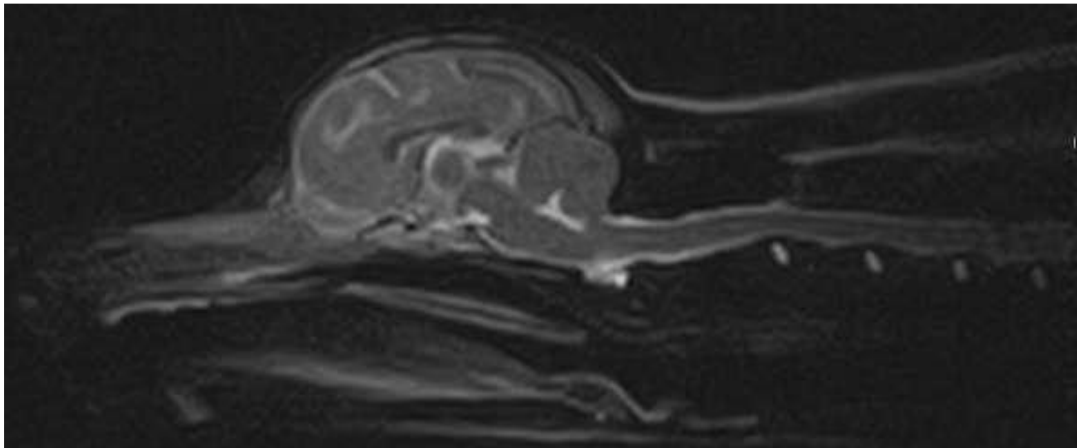


Figura 39. RM muestra 35.

**Muestra 30:**

NHC 27342, Candela, Angora, hembra, de 11 años. Paciente que ha sufrido dos episodios compatibles con crisis convulsivas.

No se encuentran alteraciones en el examen físico ni en la exploración neurológica. El análisis de sangre no presenta alteraciones significativas. El análisis del LCR no presenta alteraciones. La RM no presenta alteraciones en la morfología ni señal de las estructuras intracraneales. El sistema ventricular es normal. No se aprecian captaciones anómalas en el contraste (Figuras 40, 41 y 42). La ausencia de alteraciones significativas en las pruebas realizadas sugiere la presencia de una EI.

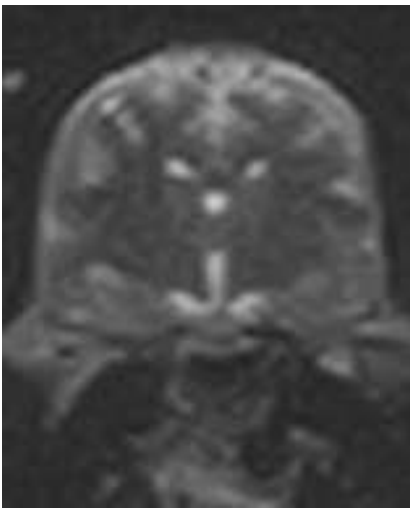


Figura 40. RM muestra 30.

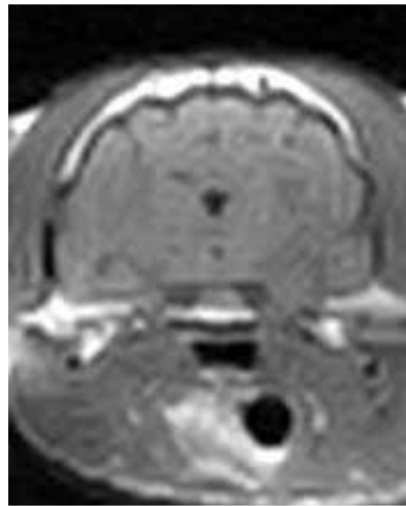


Figura 41. RM muestra 30.

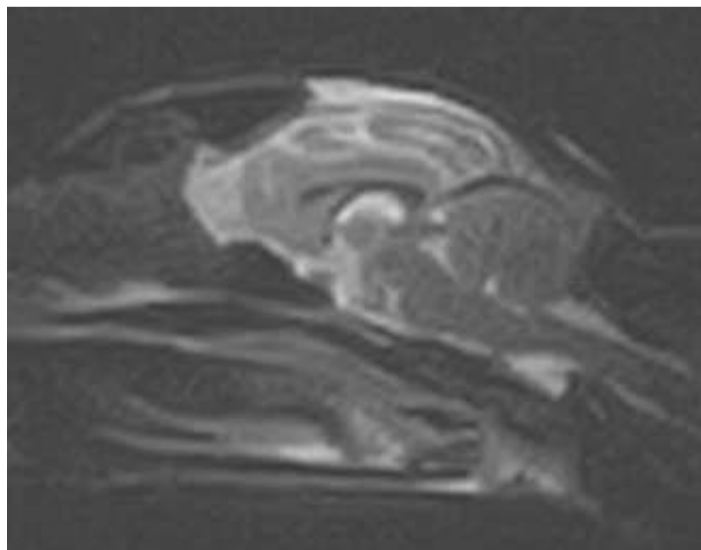


Figura 42. RM muestra 30.

**Muestra 46:**

NHC 27118, Xan, Golden Retriever, macho, de 3 años. Paciente con episodios compatibles con crisis convulsivas desde hace 3 semanas.

El examen físico y la exploración neurológica son normales. El análisis de sangre no presenta alteraciones significativas. Las determinaciones de amoniac y ácidos biliares se encuentran dentro de los rangos fisiológicos. El análisis del LCR no presenta alteraciones.

La RM no presenta alteraciones en la señal del parénquima ni captaciones anómalas de contraste, como único cambio destacable se aprecia una mayor prominencia de surcos y circunvoluciones cerebrales, así como del sistema ventricular (Figuras 43 y 44). La ausencia de alteraciones significativas en las pruebas realizadas sugiere la presencia de una EI.



Figura 43. RM muestra 46.

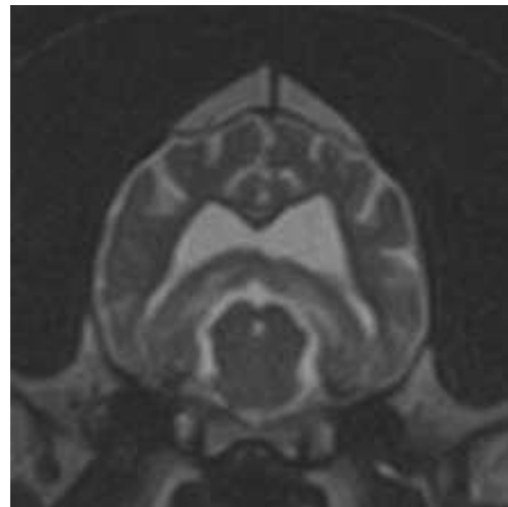


Figura 44. RM muestra 46.

**Muestra 3:**

NHC 28014, María, Común europeo, hembra, 6 años. Paciente con episodios compatibles con crisis convulsivas.

No se encuentran alteraciones en el examen físico. En la exploración neurológica hay una disminución bilateral de la reacción de amenaza. El análisis de sangre presenta hipofosfatemia y una leve elevación de ALT. La ecografía abdominal no presenta hallazgos reseñables. Los ácidos biliares y el amoniaco se encuentran dentro de los rangos fisiológicos.

El análisis del LCR no presenta alteraciones. La RM no presenta alteraciones en la morfología ni señal de las estructuras intracraneales (Figuras 45 y 46). La ausencia de alteraciones significativas en las pruebas realizadas sugiere la presencia de una EI.

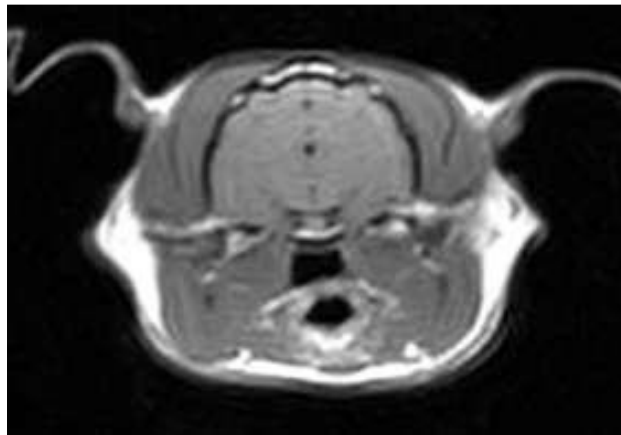


Figura 45. RM muestra 3.

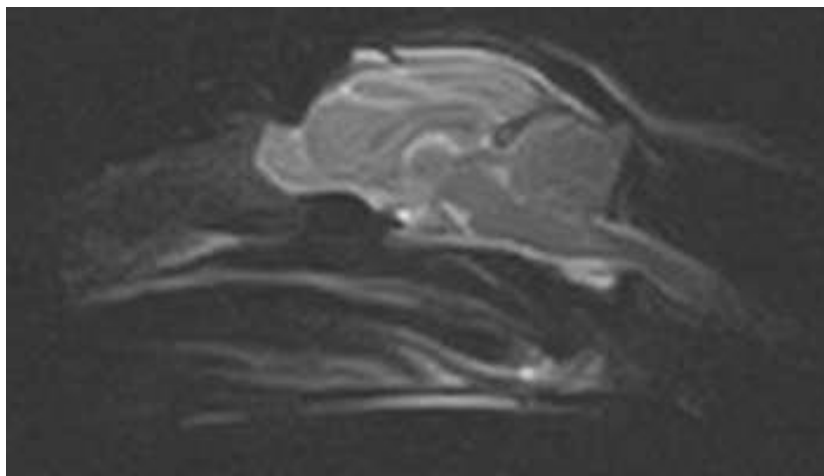


Figura 46. RM muestra 3.

**Muestra 17:**

NHC 27255, Rosita, mestiza, hembra, de 8 meses. Paciente con episodios compatibles con crisis convulsivas desde hace más de 1 semana, agrupadas en racimo, con varios episodios diarios.

No se encuentran alteraciones en el examen físico ni en la exploración neurológica. El análisis de sangre no presenta alteraciones significativas. El amoniaco y los ácidos biliares se encuentran dentro del rango fisiológico.

El análisis del LCR no presenta alteraciones destacables. Se realizan determinaciones de PCR en LCR frente a: *Bartonella spp*, *Borrelia burgdorferii*, *Moquillo canino*, *Cryptococcus neoformans/C. gattii*, *Neospora spp* y *Toxoplasma gondi*, siendo los resultados de estas determinaciones negativos.

En la RM no se aprecian alteraciones en la morfología ni señal de las estructuras intracraneales (Figuras 47 y 48). La ausencia de alteraciones significativas en las pruebas realizadas sugiere la presencia de una EI.

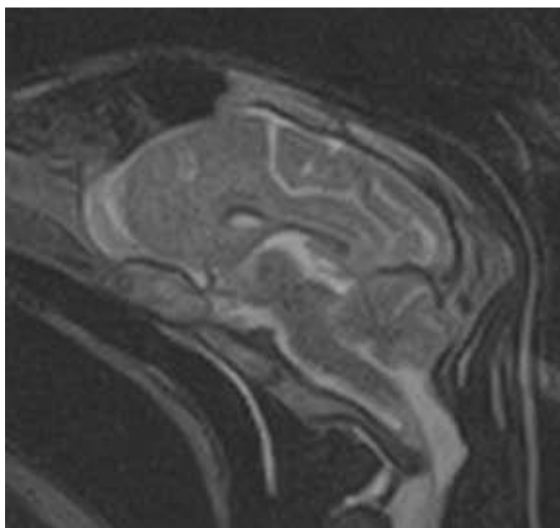


Figura 47. RM muestra 17.

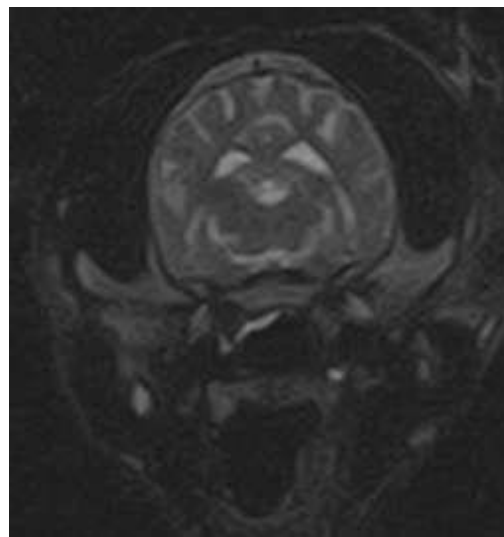


Figura 48. RM muestra 17.

- Grupo problema

**Muestra 57:**

NHC 28534, Klaus, mestizo, macho, de 7 años. Paciente con episodios de decaimiento.

El examen físico no presenta alteraciones. El examen neurológico revela alteración del estado mental en grado de depresión y debilidad generalizada. La analítica sanguínea no presenta alteraciones relevantes.

Se realiza test rápido frente a *Leishmania*, *Dirofilaria*, *Enfermedad de Lyme*, *Ehrlichia* y *Anaplasma* con resultado negativo. El análisis del LCR muestra recuento celular de 32 células/mm<sup>3</sup> con predominio de linfocitos 81,6%, neutrófilos 9,6% y monocitos 8,8%. Se procesa la muestra de LCR para la determinación de PCR frente a *Moquillo canino*, con resultado negativo.

En la RM no se aprecian alteraciones en la morfología ni señal de las estructuras intracraneales. Los hallazgos clínicos indican la presencia de un proceso inflamatorio meningoencefálico de origen desconocido.

**Muestra 60:**

NHC 28113, Mia, Pomerania, hembra, de 4 años. Paciente con incoordinación y pérdida parcial de la visión. Examen físico sin alteraciones.

El examen neurológico revela alteración del estado mental, indicando la presencia de una afección intracraneal difusa con predominio de afección hemisférica izquierda.

El análisis sanguíneo no presenta alteraciones relevantes. El análisis del LCR muestra: recuento celular de 17 células/mm<sup>3</sup> con predominio de linfocitos 84%, monocitos 9% y neutrófilos 6%. Se procesa el LCR para determinación de patologías infecciosas, con resultado negativo.

## Anexos

En la RM de cráneo se aprecian: múltiples lesiones intra-axiales ubicadas en el tectum mesencefálico izquierdo, sustancia blanca cerebelar y periventricularmente (parcheado alrededor del acueducto mesencefálico y del ventrículo lateral izquierdo a nivel de los núcleos caudados) (Figuras 49-52). Dichas lesiones son difusas con límites irregulares y manifiestan captación de contraste, especialmente en el área cerebelar que, además, es la de mayor tamaño. Todas ellas se caracterizan por provocar prolongación de los tiempos de relajación en las secuencias básicas.

Los hallazgos clínicos indican la presencia de un proceso inflamatorio meningoencefálico de origen desconocido.

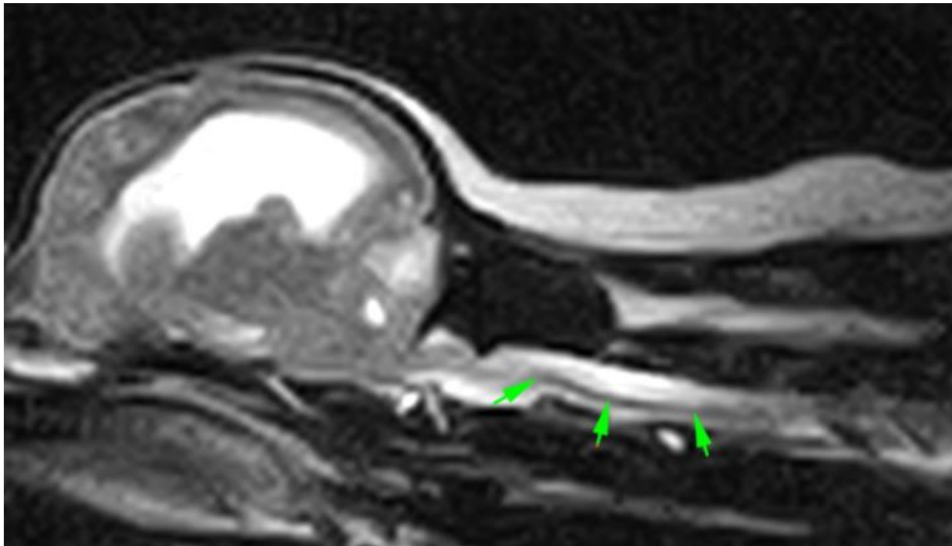


Figura 49. RM muestra 60.

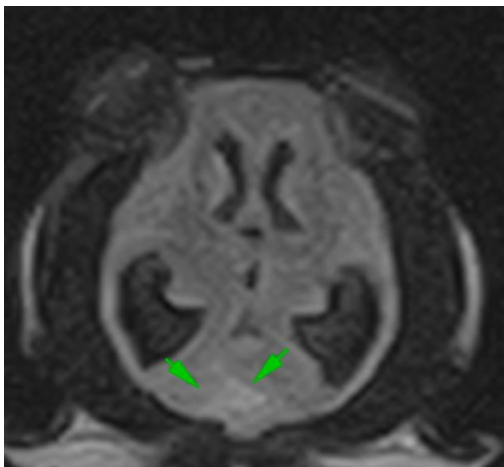


Figura 50. RM muestra 60.

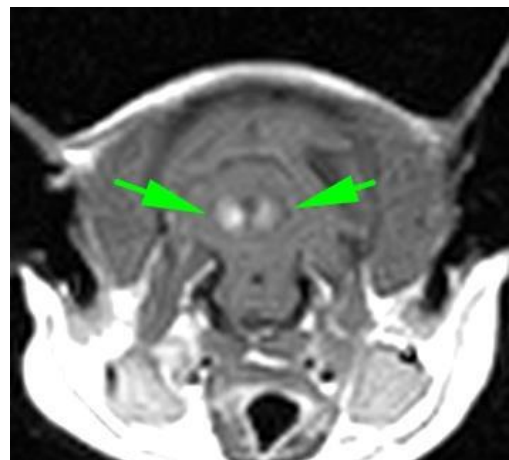


Figura 51. RM muestra 60.



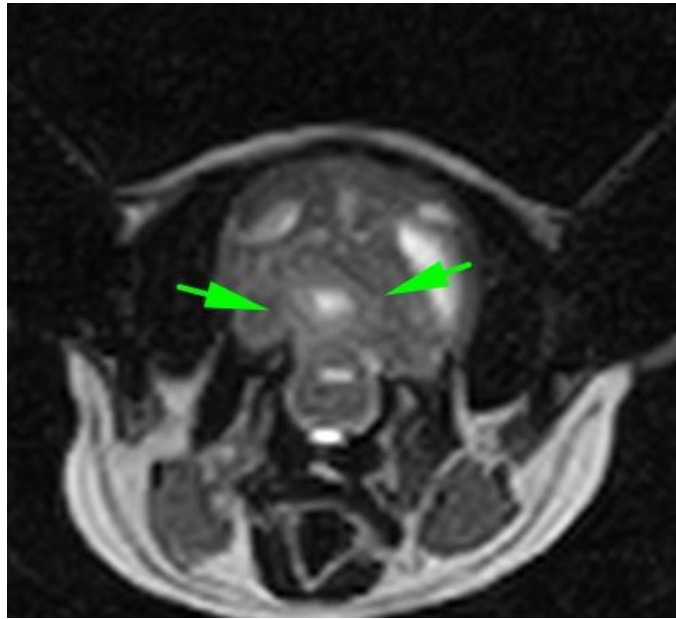


Figura 52. RM muestra 60.

**Muestra 41:**

NHC 27972, Atila, Bulldog francés, macho, de 7 años. Paciente con debilidad de miembros pélvicos.

Exploración física sin alteraciones relevantes. La exploración neurológica revela paraparesia con déficit de las reacciones posturales. Los reflejos medulares son normales. Reacción tónica del cuello positiva.

El análisis de sangre no presenta alteraciones relevantes. El análisis del LCR presenta un recuento celular de 321 células/mm<sup>3</sup> con predominio de linfoblastos (86%) y monocitos (14%). Se procesa la muestra de LCR para realizar la determinación de microproteínas: 110 mg/dl (< 27 mg/dl), y determinación de patologías infecciosas, con resultado negativo.

## Anexos

En la RM de cráneo se aprecia una alteración parcheada de la señal del parénquima de la medula oblongada que manifiesta leve hiperintensidad en las secuencias ponderadas en T2 con captación de contraste en las meninges adyacentes. Dicha lesión tiene bordes mal definidos y no ejerce efecto masa (Figuras 53-55). Por otro lado, se aprecia una ocupación bilateral de las bullas timpánicas (puntas de flecha verdes) por contenido que manifiesta prolongación de los tiempos de relajación en las secuencias básicas y no se realza tras la administración endovenosa de contraste (Figuras 56-57). La ocupación no muestra signos de expansión ósea apreciándose una buena definición de los límites de sus corticales. Los hallazgos clínicos indican la presencia de meningoencefalomielitis de origen desconocido.

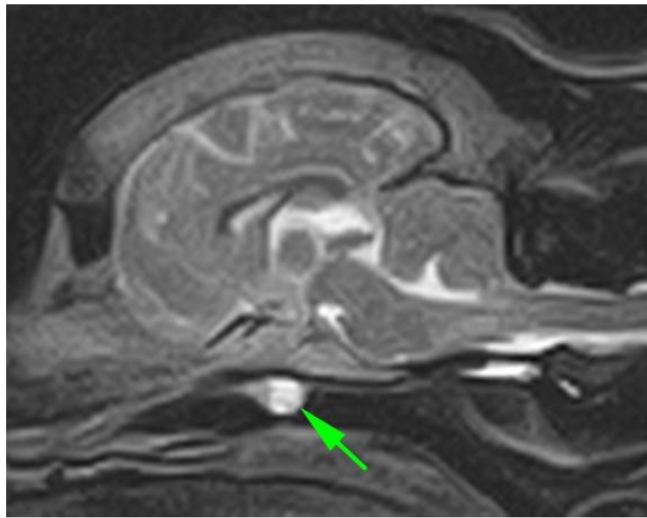


Figura 53. RM muestra 41



Figura 54. RM muestra 41

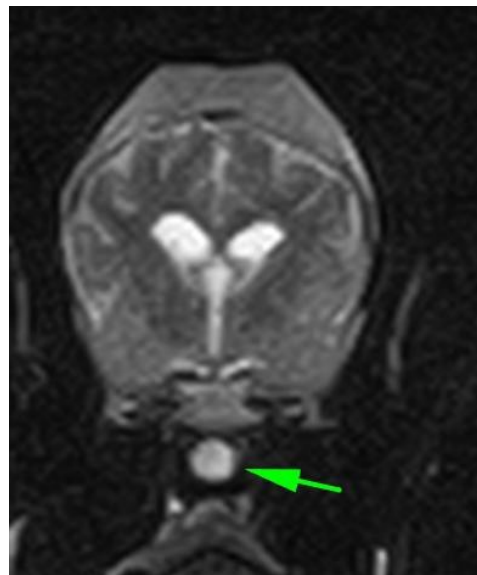


Figura 55. RM muestra 41

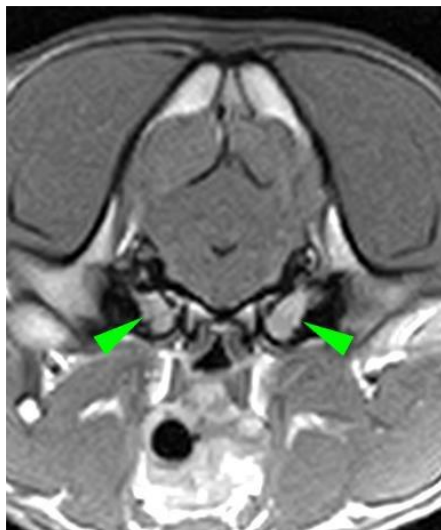


Figura 56. RM muestra 41.

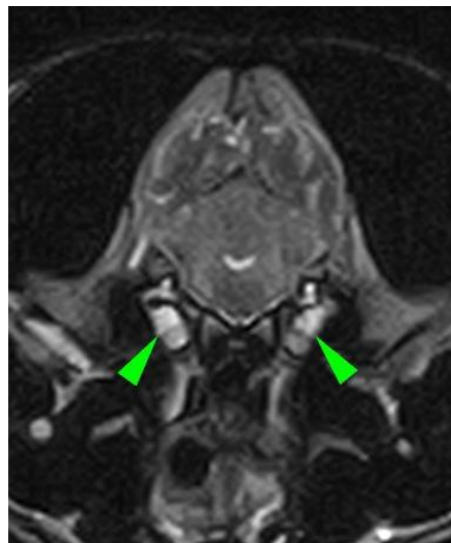


Figura 57. RM muestra 41.

### **Muestra 59:**

NHC 27219, Bobby, Chihuahua, macho, de 2 años. Paciente con incoordinación y temblores de cabeza intencionales.

Examen físico sin alteraciones. El examen neurológico revela ataxia vestibulo-cerebelar con temblores de intención, monoparesia de miembro pélvico izquierdo, disminución bilateral de la reacción de amenaza y sensibilidad consciente.

El análisis de sangre no presenta alteraciones significativas. El análisis del LCR presenta un recuento celular de 3 células/mm<sup>3</sup>. Se procesa la muestra de LCR para realizar la determinación de microproteínas: 29mg/dL y determinación de patologías infecciosas con resultado negativo.

En la RM de cráneo se aprecian múltiples lesiones intra-axiales, localizadas de manera nodular a lo largo de la sustancia blanca bihemisférica, con nodulación de mayor tamaño en área prefrontal izquierda. También se aprecia una lesión localizada en el aspecto dorsal de la médula oblonga. Las lesiones manifiestan hiperintensidad en las secuencias ponderadas en T2 y FLAIR (flechas verdes) e hipointensidad en secuencias T1W, a excepción de la lesión de mayor tamaño, que capta contraste de manera intensa y homogénea (Figuras 58-61). Todas las lesiones son difusas y con límites irregulares.

## Anexos

Por otro lado, se aprecia una mayor prominencia de los surcos cerebrales y dilatación moderada del sistema ventricular al completo, así como reducción del tamaño de la adhesión intertalámica.

Los hallazgos clínicos son muy sugerentes de la presencia de un proceso inflamatorio meningoencefálico de origen desconocido (probablemente meningoencefalitis granulomatosa). Aunque, la ausencia de alteraciones en el análisis de LCR es infrecuente en pacientes con este tipo de procesos.

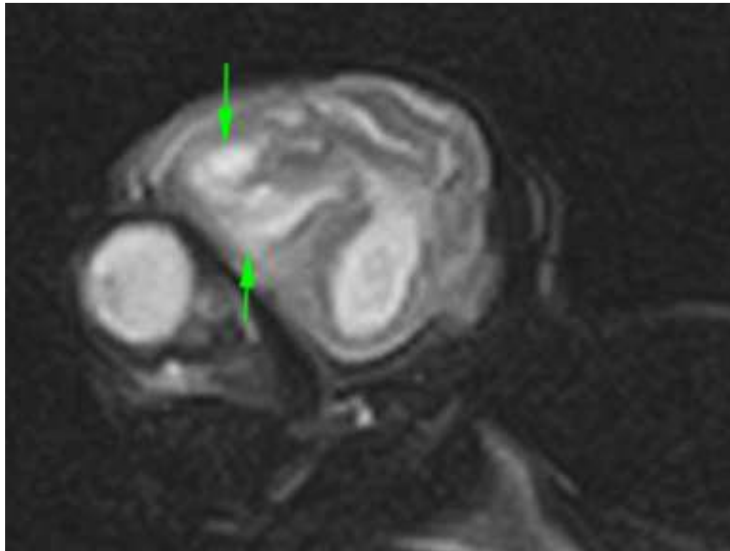


Figura 58. RM muestra 59.

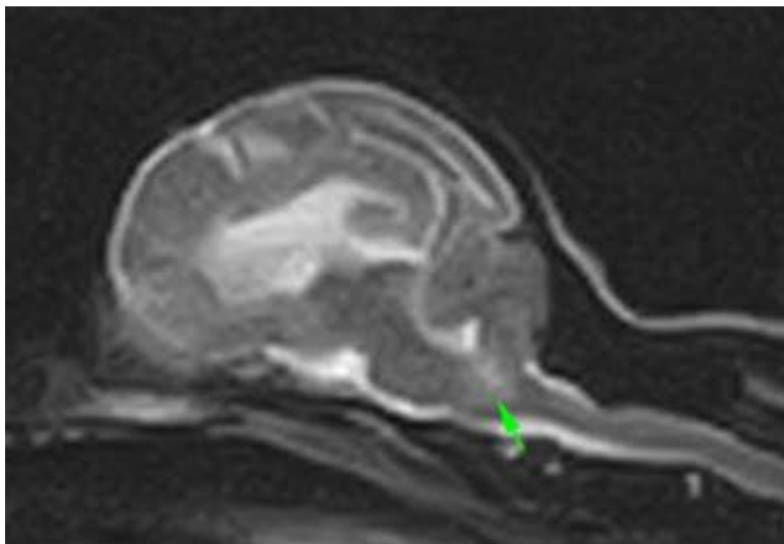


Figura 59. RM muestra 59.



Figura 60. RM muestra 59.

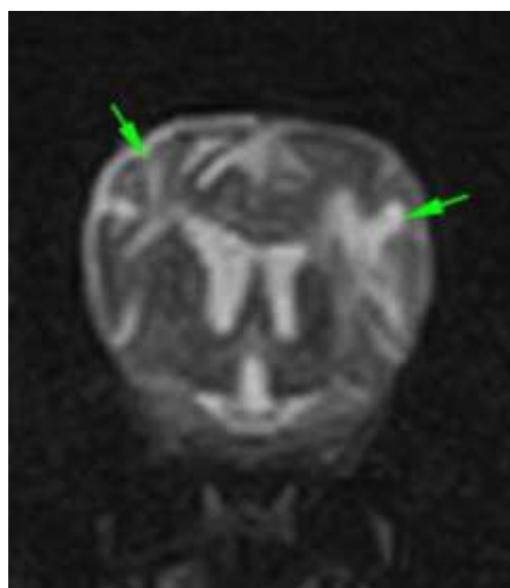


Figura 61. RM muestra 59.

### **Muestra 10:**

NHC 26614, Robin, Bichón maltes, macho, de 3 años y medio de edad. Paciente que manifiesta episodios de espasmos musculares y exceso de salivación que progresa a incoordinación, mayor en el lado derecho.

Examen físico sin alteraciones. La exploración neurológica revela ataxia vestibulocerebelar y ausencia de reacción de amenaza en el ojo derecho. El análisis de sangre no presenta alteraciones significativas.

El análisis del LCR presenta un recuento celular de 312 células/mm<sup>3</sup> con predominio de linfocitos 72%, monocitos 16 % y neutrófilos 11%. Se procesa la muestra de LCR para realizar determinación de PCR frente a *Bartonella spp*, *Borrelia burgdorferii*, *Moquillo canino*, *Cryptococcus neoformans/C. gattii*, *Neospora spp* y *Toxoplasma gondi*, con resultado negativo.

## Anexos

En la RM de cráneo como único hallazgo se aprecia una dilatación de la cisterna cuadrigémina, (punta de flecha) en continuidad caudal al tercer ventrículo, que ejerce un leve efecto masa sobre las estructuras adyacentes (Figuras 62, 63 y 64). No se aprecian alteraciones de la señal de las estructuras craneales ni captación anómala de contraste. Los hallazgos clínicos indican la presencia de un proceso inflamatorio meningomiélico de origen desconocido.

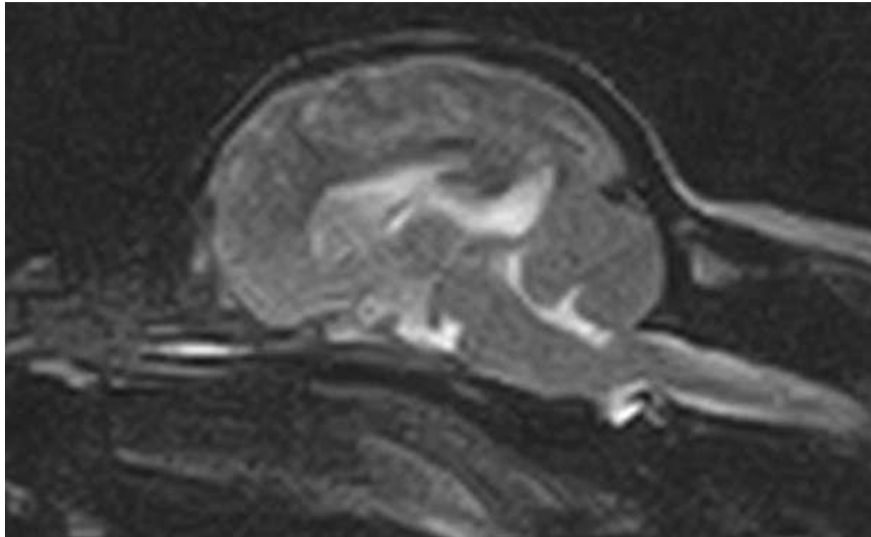


Figura 62. RM muestra 10.

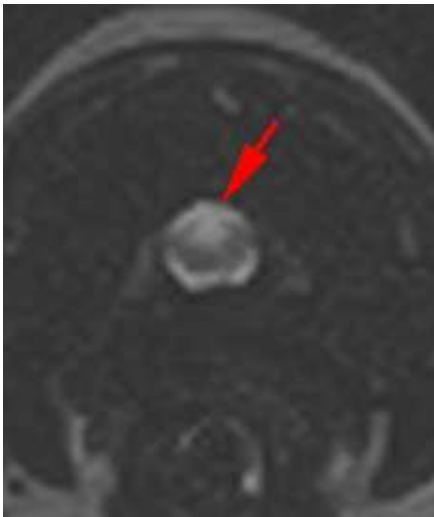


Figura 63. RM muestra 10.

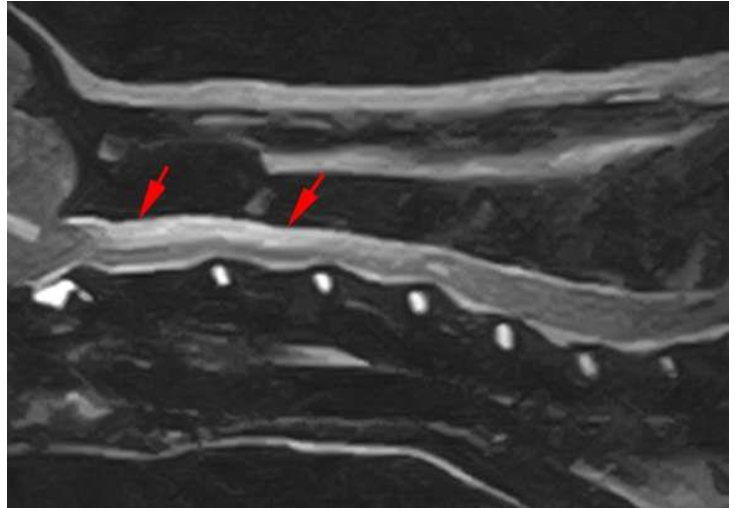


Figura 64. RM muestra 10

**Muestra 4:**

NHC 26449, Max, Weimaraner, macho, de 8 años de edad. Paciente con deterioro progresivo de su estado neurológico.

Examen físico sin alteraciones. El examen neurológico revela alteración del estado mental y ataxia vestibulo-cerebelar con ladeo de la cabeza hacia la izquierda.

El análisis de sangre no presenta alteraciones significativas. El análisis del LCR muestra pleocitosis 38 células/mm<sup>3</sup> de carácter mixto predominantemente mononuclear linfocítico (64%) frente a 25% neutrófilos y 13% monocitos. Se procesa muestra de LCR para realizar determinación de PCR frente a *Bartonella spp*, *Borrelia burgdorferii*, *Moquillo canino*, *Cryptococcus neoformans/C. gattii*, *Neospora spp* y *Toxoplasma gondi*, con resultado negativo.

En la RM de cráneo se evidencia una alteración parcheada de la señal del parénquima de la médula oblongada, mesencéfalo, cerebelo y primeros segmentos medulares (Figuras 65 y 66). Estas lesiones, de indudable origen intra-axial, producen prolongación de los tiempos de relajación y no se realzan de manera significativa tras la administración de contraste endovenoso. Las lesiones no tienen bordes bien definidos, aunque su morfología es fundamentalmente redondeada. En todos los casos producen efecto masa con tumefacción del tejido asociado que da lugar a colapso de cisternas supracoliculares y espacio subaracnoideo.

Los hallazgos clínicos indican la presencia de un proceso inflamatorio meningoencefálico de origen desconocido.

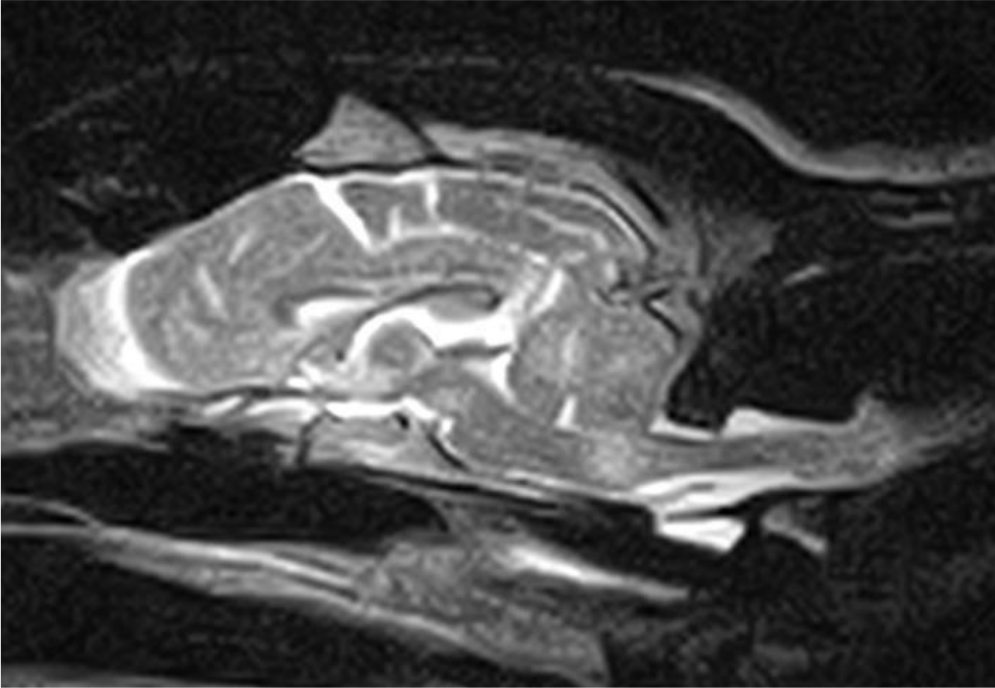


Figura 65. RM muestra 4

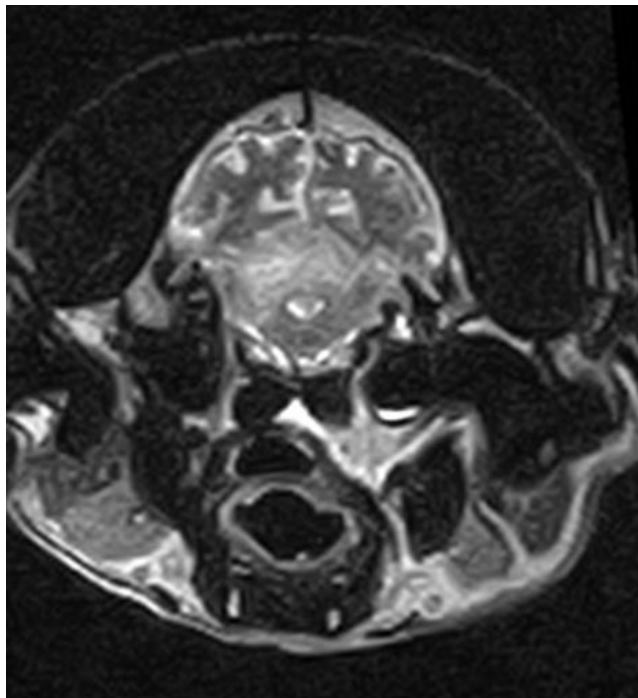


Figura 66. RM muestra 4



**Muestra 38:**

NHC 26150, Tico, Yorkshire terrier, macho, de 1 año. Paciente que, desde hace dos semanas desde la visita presenta dilatación pupilar bilateral.

El examen físico no presenta alteraciones. La exploración neurológica revela ausencia bilateral de reacción de amenaza, tetraparesia y ataxia propioceptiva.

El análisis de sangre no presenta alteraciones. La determinación de los ácidos biliares está dentro del rango fisiológico. El análisis del LCR muestra un recuento celular de 33 células/mm<sup>3</sup> con predominio de linfocitos (60%) y monocitos (40%). Se procesa la muestra de LCR para determinación de patologías infecciosas con resultado negativo.

En la RM de cráneo no se aprecian alteraciones en la morfología ni señal de las estructuras intracraneales (Figuras 67, 68 y 69). Los hallazgos clínicos indican la presencia de un proceso inflamatorio meningoencefálico de origen desconocido (probablemente meningoencefalitis granulomatosa).

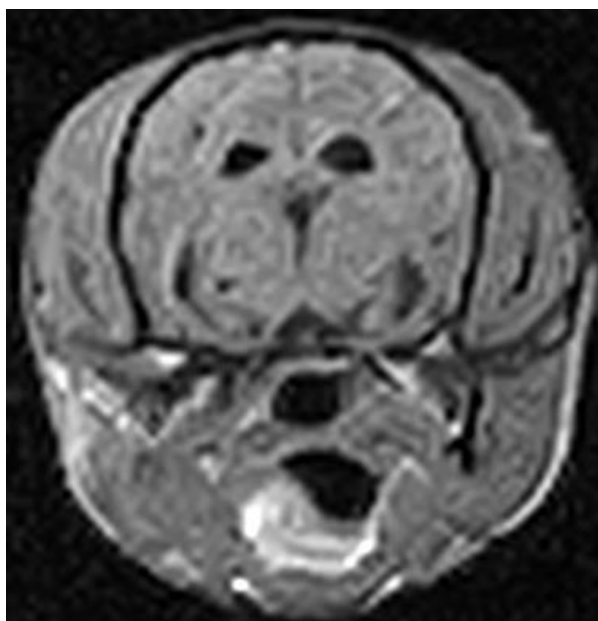


Figura 67. RM muestra 38.

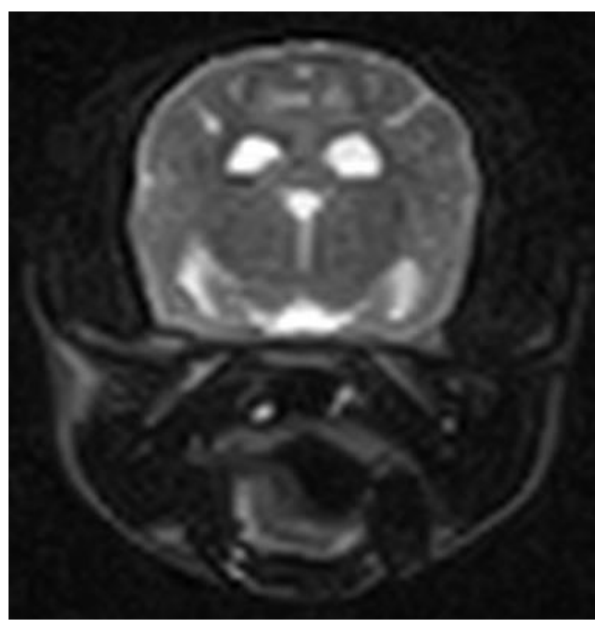


Figura 68. RM muestra 38.

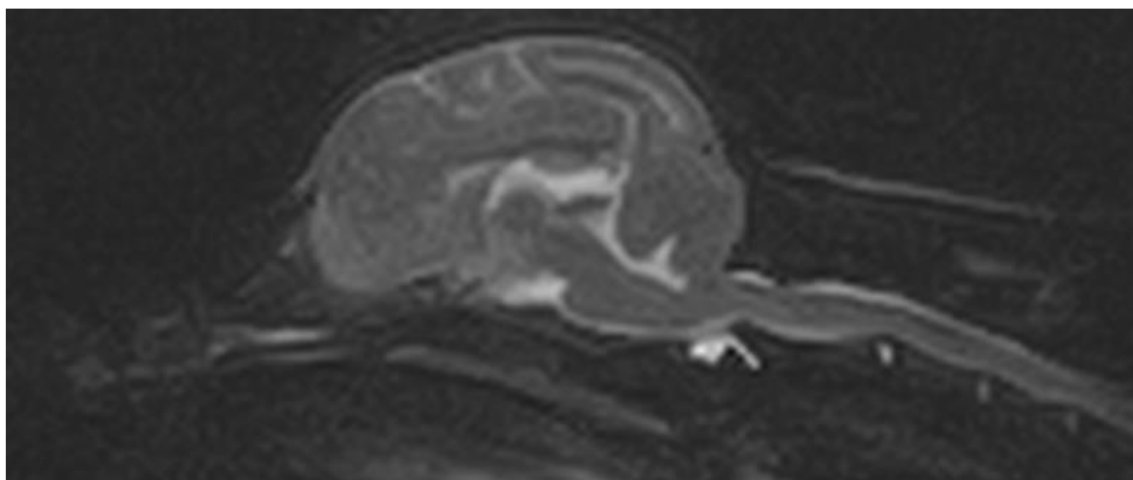


Figura 69. RM muestra 38.

**Muestra 8:**

NHC 26281, Tanuki, mestizo, macho, de 6 años. Paciente con decaimiento y mirada perdida. El examen físico no presenta alteraciones. La exploración neurológica revela marcha en círculos hacia la izquierda, con ladeo de la cabeza también hacia ese lado.

El análisis de sangre muestra una leve leucocitosis con neutrofilia y un leve aumento de la albúmina. El análisis del LCR muestra un recuento celular de 27 células/mm<sup>3</sup>. Se procesa la muestra de LCR para realizar determinación de PCR frente a *Bartonella spp*, *Borrelia burgdorferii*, *Moquillo canino*, *Cryptococcus neoformans/C. gattii*, *Neospora spp* y *Toxoplasma gondi*, con resultado negativo.

En la RM de cráneo se observa una lesión intra-axial, ubicada en el tronco encefálico con epicentro en el puente y; extensión sobre mesencéfalo y aspecto rostral de la médula oblongada. Esta lesión presenta homogeneidad de señal caracterizada por hiperintensidad en las secuencias T2W y FLAIR e isointensidad en las secuencias T1W, que no realza tras la administración de contraste endovenoso (Figuras 70-73). La lesión tiene bordes mal definidos y forma redondeada lateralizada hacia la derecha. Produce un efecto masa con tumefacción del tejido y; colapso del tercer ventrículo y aspecto rostral del cuarto ventrículo.

## Anexos

Los hallazgos clínicos indican la presencia de un proceso inflamatorio meningoencefálico de origen desconocido.

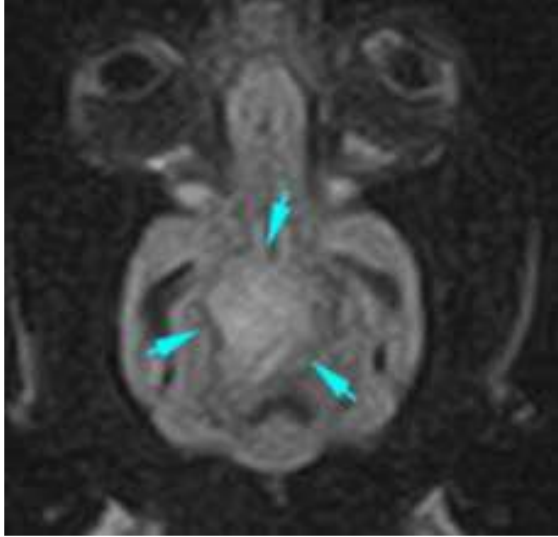


Figura 70. RM muestra 8.

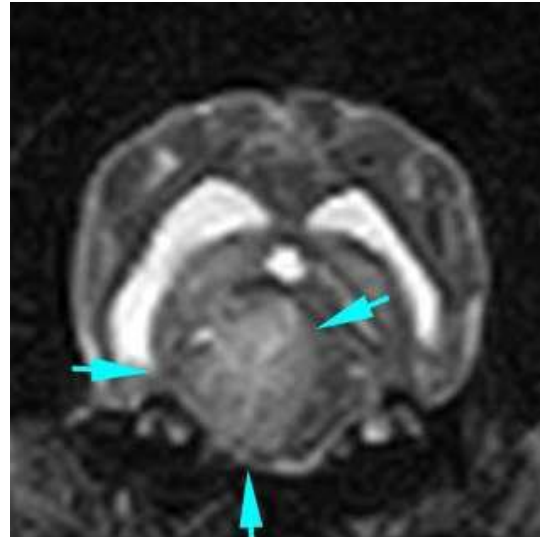


Figura 71. RM muestra 8.

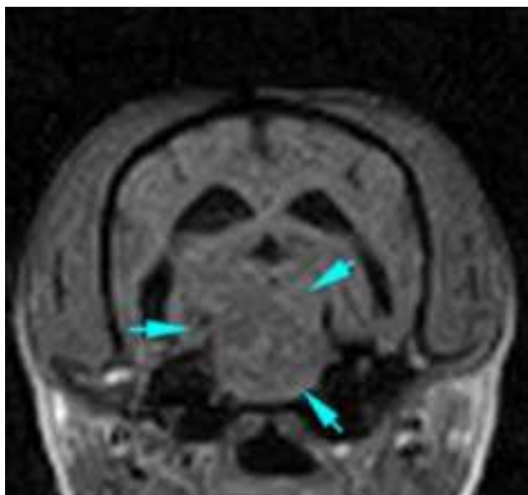


Figura 72. RM muestra 8.

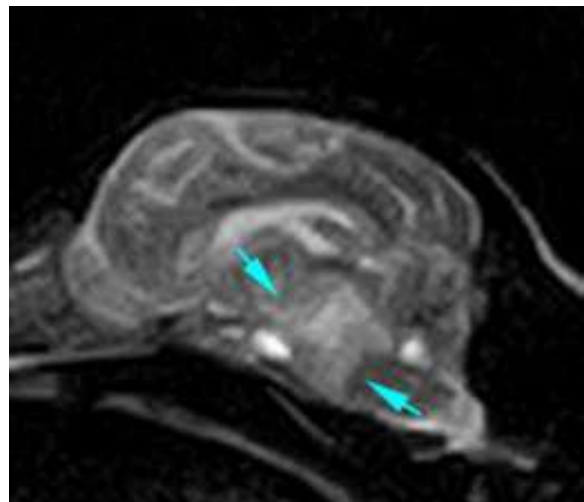


Figura 73. RM muestra 8.

**Muestra 23:**

NHC 26334, Furia, Papillon, macho, de 2 años. Paciente con pérdida de visión de carácter agudo. Examen físico sin alteraciones. El examen oftalmológico muestra edema de papila en el ojo izquierdo.

El examen neurológico revela midriasis con ausencia bilateral de reacción de amenaza. Ausencia de reflejos fotomotores con estimulación del ojo izquierdo y reducido con estímulo en el ojo derecho.

El análisis de sangre no presenta alteraciones significativas. El análisis del LCR presenta un recuento y tipo celular que permanecen en rangos fisiológicos. Se procesa la muestra de LCR para determinación de patologías infecciosas, con resultado negativo.

En la RM de cráneo no se aprecian alteraciones significativas en las vías visuales ni estructuras oculares. Se aprecia una indentación craneal de la lámina del atlas sobre el occipital y una prominencia del vermis cerebelar a través del foramen magno con obliteración del espacio subaracnoideo dorsal (Figura 74).

Los hallazgos clínicos indican la presencia de una MOD, se observan signos compatibles con neuritis óptica bilateral, solapamiento de occipital y malformación tipo-Chiari, sin repercusión clínica en la actualidad.

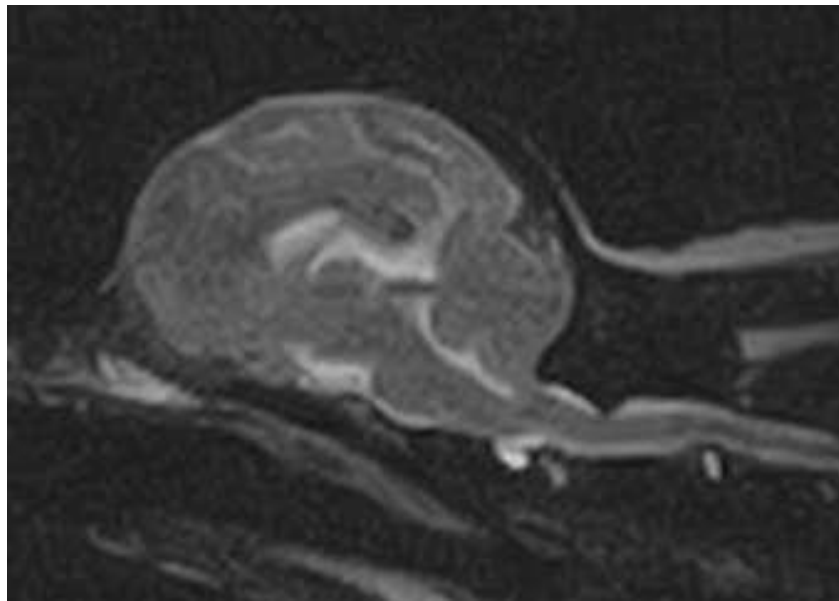


Figura 74. RM muestra 23

**Muestra 42:**

NHC 27218, Viernes, mestizo, hembra, de 4 años. Paciente con un cuadro de vómitos crónicos.

Examen físico sin alteraciones significativas. El examen neurológico revela disminución bilateral del reflejo palpebral y sensibilidad consciente normal.

El análisis de sangre muestra picos de hiperglucémicas transitorias. Se aprecia un ligero aumento de la CPK. Radiografía de tórax y ecografía abdominal sin alteraciones. Las PCR de *Toxoplasma* y *Neospora* son negativas.

El análisis del LCR presenta un recuento y tipo celular dentro de rangos fisiológicos. La determinación de microproteínas en LCR tampoco presenta alteraciones significativas.

En la RM de cráneo no se aprecian alteraciones en la morfología ni en la señal de las estructuras estudiadas. La morfología y conformación del sistema ventricular es normal. No hay captaciones anómalas de contraste. Los pares craneales son normales. Los hallazgos clínicos sugieren como diagnóstico más probable una MOD.

- Grupo problema con corticoides

**Muestra 9:**

NHC 27805, Deedee, Bichón maltes, hembra, de 2 años. Paciente con episodios de incoordinación desde hace 2 meses, con buena respuesta al tratamiento con antiinflamatorios glucocorticoides que se han ido retirando gradualmente. Examen físico sin alteraciones.

El examen neurológico revela alteración del estado mental en grado de obnubilación, ataxia y marcha en círculos hacía la derecha.

## Anexos

La analítica de sangre no presenta alteraciones significativas. El análisis del LCR muestra un recuento celular de 132 células/mm<sup>3</sup> con predominio de linfocitos 54% y monocitos 46%. Se procesa la muestra de LCR para detección de patologías infecciosas con resultado negativo.

En la RM de cráneo se aprecian múltiples lesiones intra-axiales, que manifiestan hiperintensidad en las secuencias ponderadas en T2 y FLAIR e hipointensidad en T1, que afectan fundamentalmente a la sustancia gris de los lóbulos frontales, lóbulo temporal derecho y lóbulos occipitales (Figuras 75-80). Dichas lesiones son difusas, con límites irregulares, no ejercen efecto masa aparente y no se realzan tras la administración endovenosa de contraste.

Los hallazgos clínicos indican la presencia de un proceso inflamatorio meningoencefálico de origen desconocido (probablemente meningoencefalitis granulomatosa).

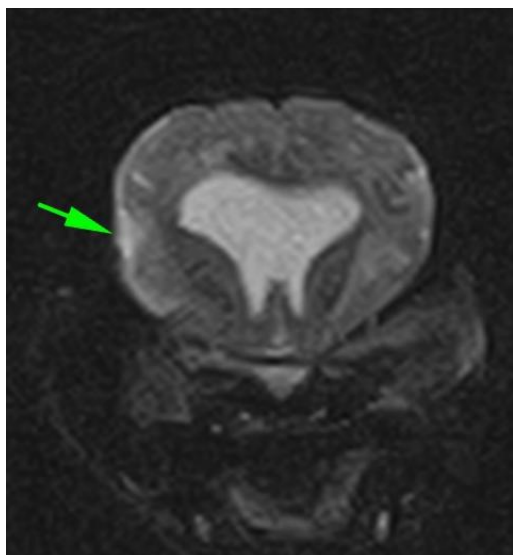


Figura 75. RM muestra 9.

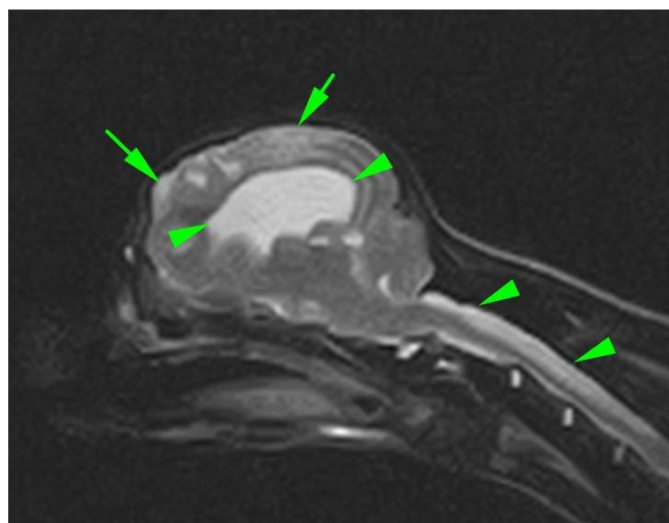


Figura 76. RM muestra 9.

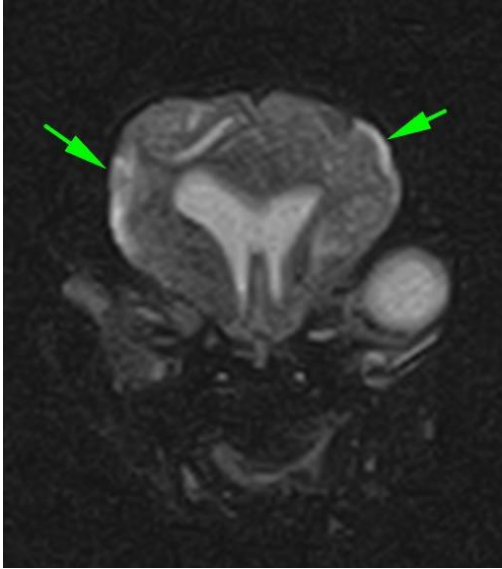


Figura 77. RM muestra 9.

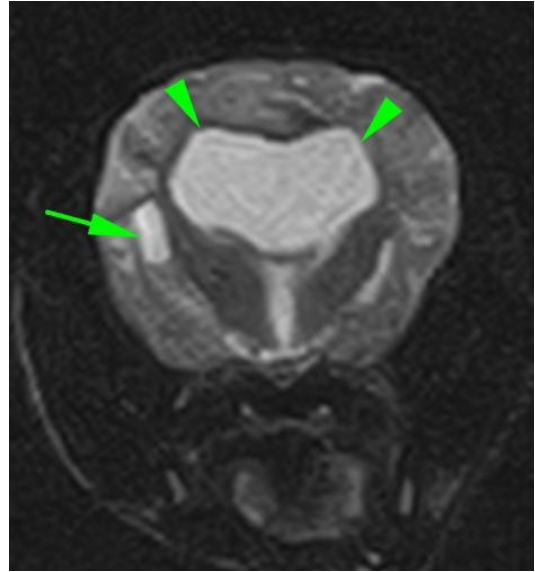


Figura 78. RM muestra 9.

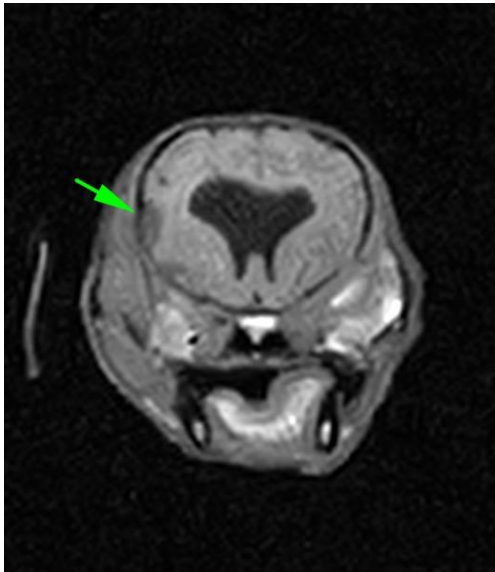


Figura 79. RM muestra 9.

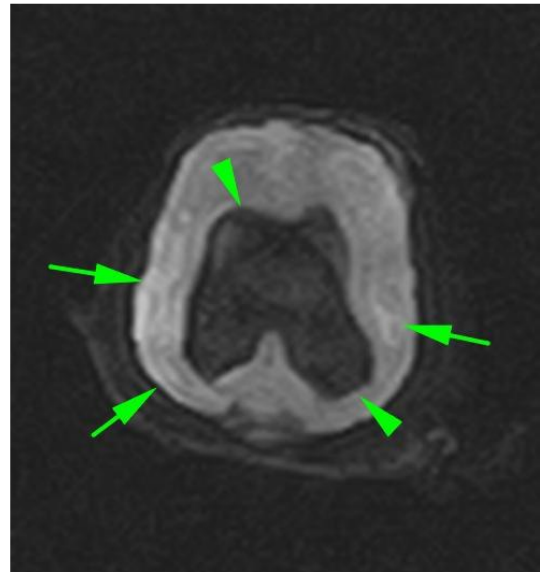


Figura 80. RM muestra 9.

**Muestra 15:**

NHC 26689, Simba, Yorkshire terrier, macho, de 9 años. Paciente con incoordinación y debilidad de miembros torácicos, con tendencia a la ambulación en círculos hacia la derecha, de aparición súbita hace una semana. En la actualidad está sin tratamiento tras una inyección de antiinflamatorios no esteroideos en su veterinario habitual hace 3 días. Examen físico sin alteraciones.

El examen neurológico revela tendencia a la marcha compulsiva, tetraparesia más acentuada en bípedo izquierdo, con retraso en las reacciones posturales de dicho bípedo y retraso en la reacción de amenaza del ojo izquierdo.

La analítica sanguínea no presenta alteraciones relevantes. El análisis del LCR muestra un recuento celular de 29 células/mm<sup>3</sup> (RR< 5 células/mm<sup>3</sup>). Se procesa la muestra de LCR para determinación de patologías infecciosas, con resultado negativo.

La RM de cráneo muestra en las secuencias FLAIR una hiperintensidad periventricular centrada alrededor del ventrículo lateral derecho sin ejercer efecto masa ni desviación o colapso ventricular. Por otro lado, se aprecia una mínima prominencia del vermis cerebelar a través del foramen magno (Figuras 81,82 y 83). Los hallazgos clínicos indican la presencia de un proceso inflamatorio meningoencefálico de origen desconocido.

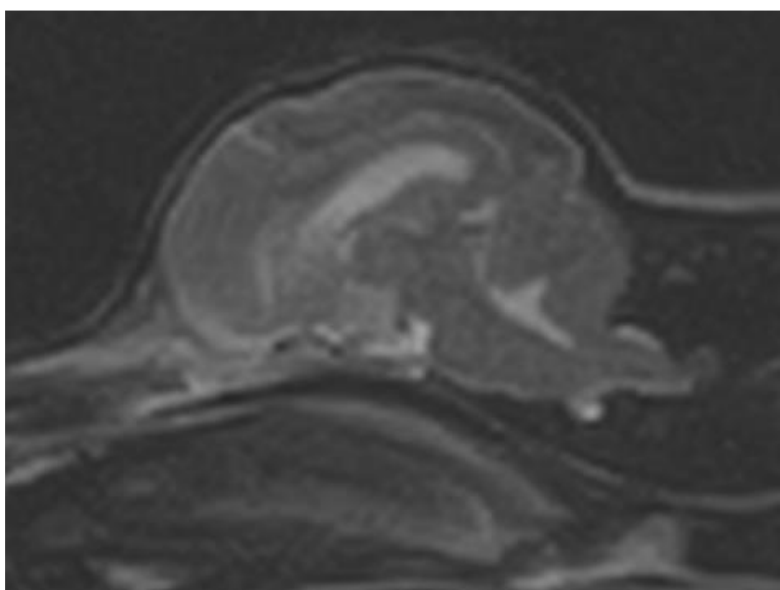


Figura 81. RM muestra 15.



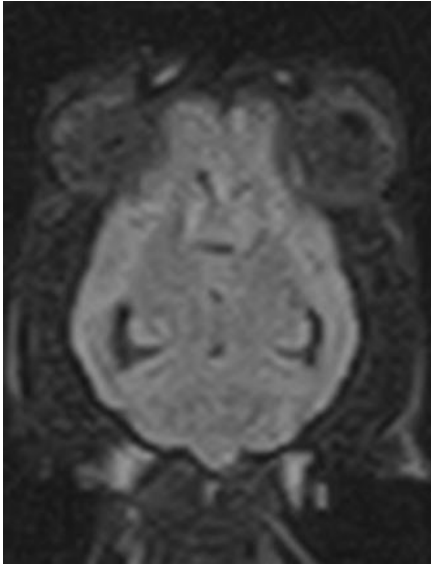


Figura 82. RM muestra 15.

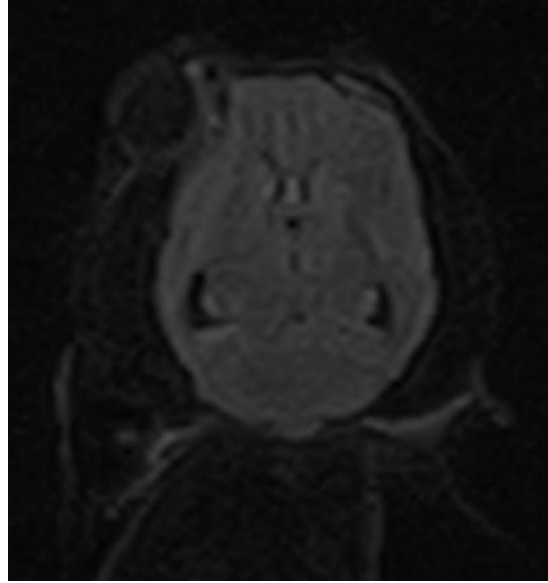


Figura 83. RM muestra 15.

**Muestra 34:**

NHC 29280, Yena, Bichón maltés, hembra, de 5 años. Paciente que hace 24 horas ha manifestado episodios de dolor aparentemente cervical. Actualmente se encuentra en tratamiento con Apoquel® por problemas dermatológicos para los que ha estado, hasta hace dos semanas, en tratamiento con corticoides.

Examen físico sin alteraciones. El examen neurológico es normal, salvo por la reticencia a la manipulación cervical.

El análisis de sangre presenta una elevación moderada de ALT, ALKP, GGT y AST. El amoniaco se encuentra dentro del rango fisiológico. Radiografías de tórax y ecografía abdominal sin hallazgos relevantes.

## Anexos

El análisis del LCR muestra pleocitosis mixta (recuento celular de 201 células/mm<sup>3</sup> con predominio de monocitos (52%), neutrófilos (35%) y linfocitos (13%). Se procesa muestra de LCR para realizar la determinación de PCR frente a *Bartonella spp*, *Borrelia burgdorferii*, *Moquillo canino*, *Cryptococcus neoformans/C. gattii*, *Neospora spp* y *Toxoplasma gondi* con resultado negativo.

En la RM de cráneo se aprecia una alteración parcheada de la señal del parénquima nervioso centrada en el lóbulo frontoparietal izquierdo y parietal derecho, con aparente predilección por la sustancia gris cortical pero cuyos límites afectan también a la sustancia blanca adyacente (Figuras 84, 85 y 86). Los límites de estas lesiones están muy mal definidos y tiene forma irregular. El tejido manifiesta prolongación de los tiempos de relación en las secuencias básicas y no se realiza tras la administración de contraste endovenoso.

Los hallazgos clínicos y radiológicos indican la presencia de un proceso inflamatorio meningoencefálico de origen desconocido.

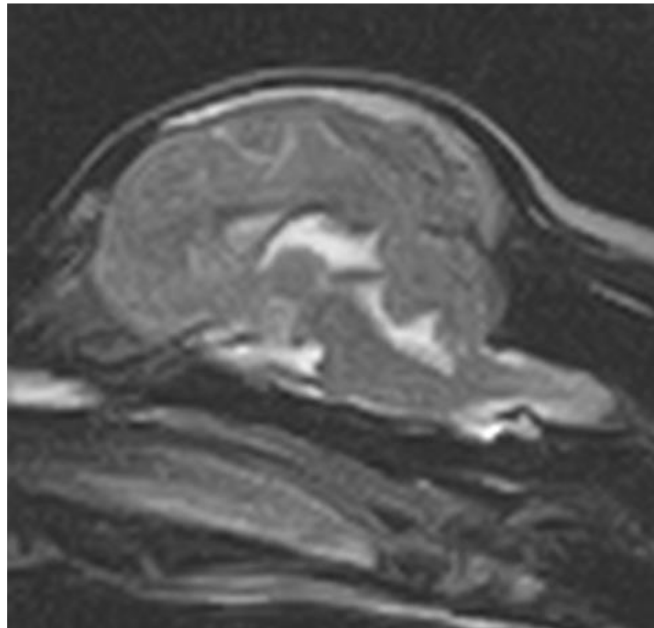


Figura 84. RM muestra 34.

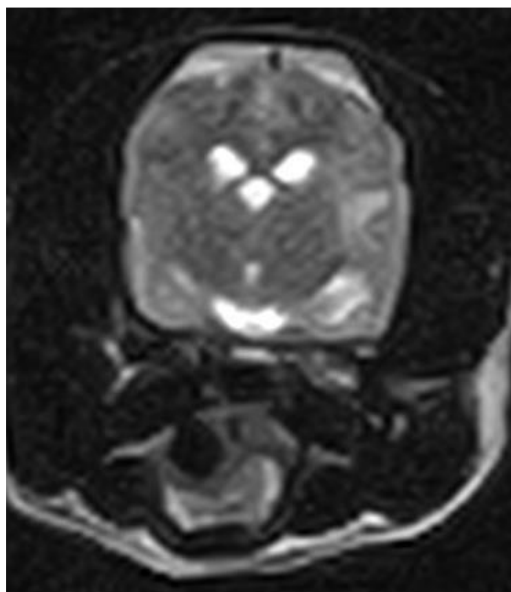


Figura 85. RM muestra 34.

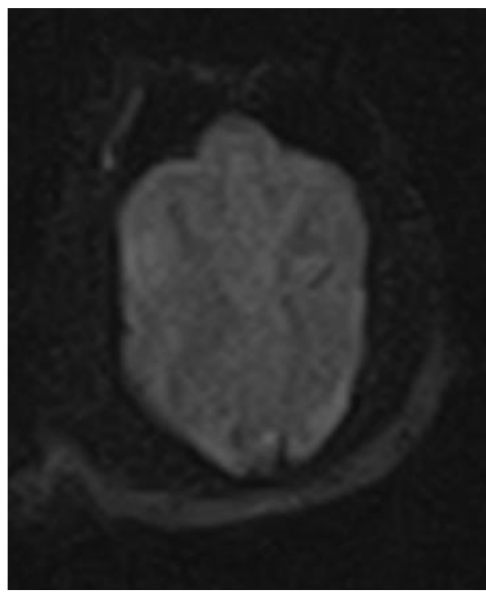


Figura 86. RM muestra 34.

**Muestra 39:**

NHC 29215, Maya, mestiza, hembra, de 6 años. Paciente con episodios de dolor inespecífico desde hace 10 meses, con buena respuesta al tratamiento con dosis inmunosupresoras de glucocorticoides y ciclosporina.

Examen físico sin alteraciones. El examen neurológico revela marcha con cierto grado de rigidez en los miembros torácicos y leve paraparesia ambulatoria.

El análisis de sangre no muestra ninguna alteración significativa. El análisis del LCR muestra un recuento celular de 182 células/mm<sup>3</sup> con predominio de monocitos 67%, linfocitos 26% y neutrófilos 7%. Se procesa la muestra de LCR para determinación de patologías infecciosas, con resultado negativo.

En la RM de cráneo no se aprecian alteraciones en la morfología ni señal de las estructuras intracraneales (Figuras 87, 88 y 89). No se aprecia captación anómala de contraste. Los hallazgos clínicos indican la presencia de un proceso inflamatorio meningomiélico de origen desconocido.

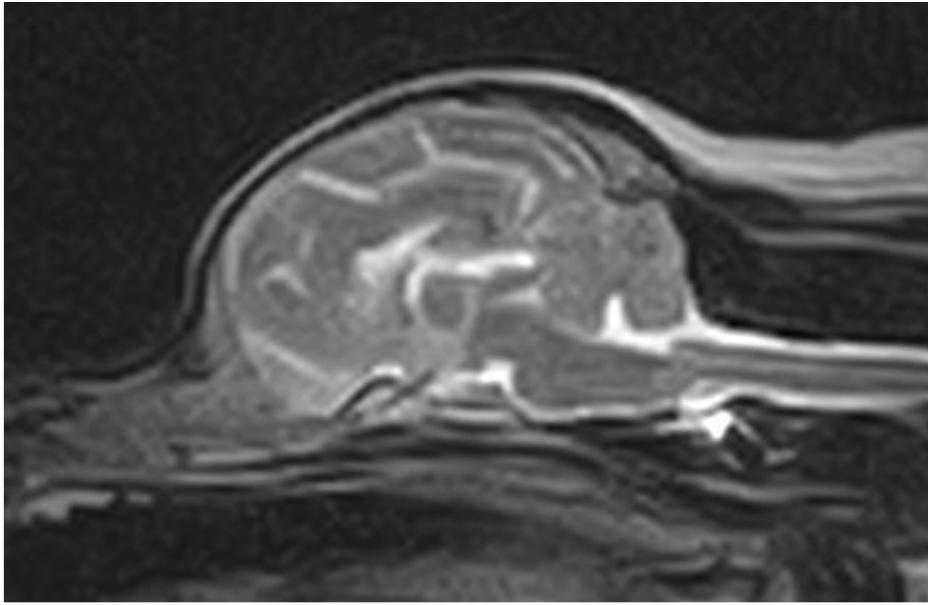


Figura 87. RM muestra 39.

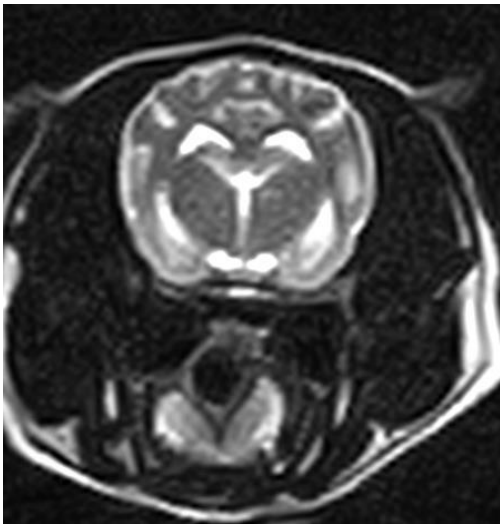


Figura 88. RM muestra 39.

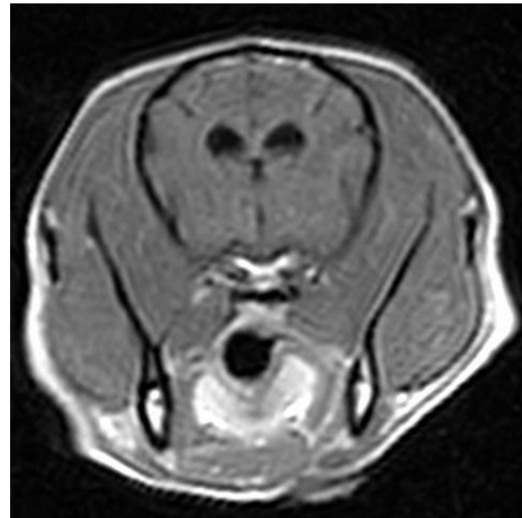


Figura 89. RM muestra 39.

**Muestra 47:**

NHC 28393, Lupin, Perro de aguas, macho, de 8 meses. Paciente con episodios de hipertermia desde hace 3 semanas con respuesta parcial al tratamiento con Amoxicilina-Ácido Clavulánico, Kefloridina y Prednisona; que mejora por completo cuando se trata con Septrin®, pero que recidiva tras la retirada de la medicación.

Actualmente se encuentra en tratamiento con paracetamol y gabapentina. La exploración física revela hipertermia (39.6 °C). La exploración neurológica revela dolor a la manipulación de la columna torácica lumbar y sacra; y reacción tónica del cuello positiva.

La analítica de sangre refleja anemia y; leucocitosis neutrofílica monocítica y linfocítica. Además, presenta un leve aumento de la fosfatasa alcalina. La radiografía de columna no presenta alteraciones relevantes. Se realiza serología para *Anaplasma*, *Ehrlichia*, *Borrelia*, *Filaria*; con resultado negativo. La serología para Leishmania también es negativa. El análisis del LCR muestra un recuento celular de 1450 células/mm<sup>3</sup> con predominio de neutrófilos 90% y monocitos 10%. Se procesa la muestra de LCR para determinación de patologías infecciosas, con resultado negativo.

En la RM de cráneo no se aprecian alteraciones significativas. En la RM de la región toracolumbar se aprecia como único hallazgo una disminución de la señal de los núcleos pulposos de los discos intervertebrales L4-L5, L5-L6 y L6-L7 (Figuras 90 y 91). No se aprecian alteraciones de la señal ni morfología del resto de estructuras espinales ni lesiones compresivas sobre el cordón medular.

La historia clínica y los hallazgos de las pruebas realizadas son compatibles con proceso inflamatorio meningomielítico de origen desconocido.

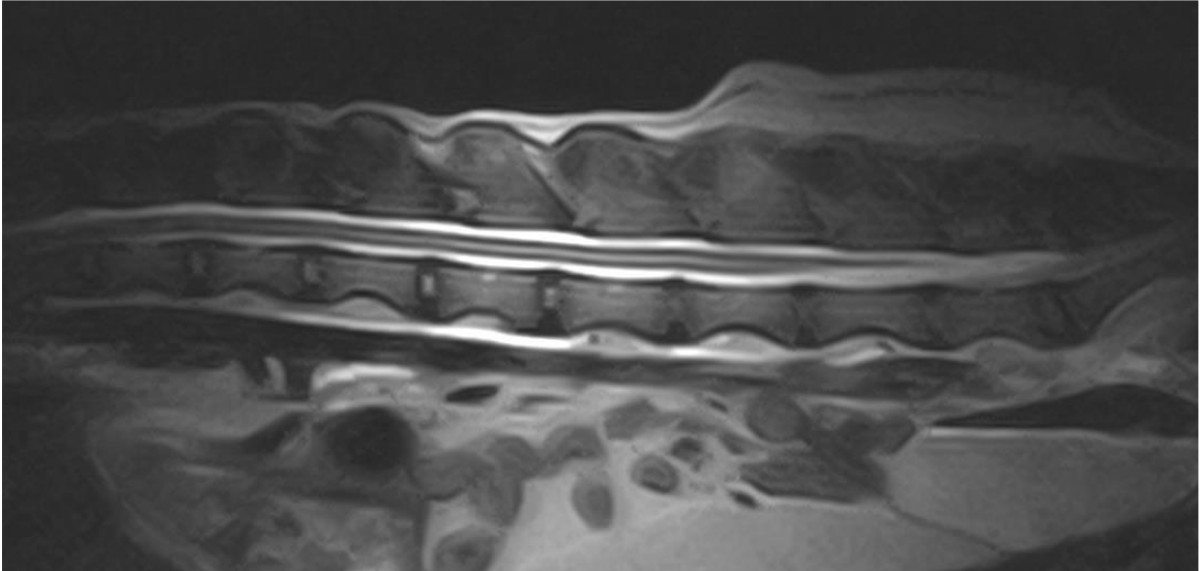


Figura 90. RM muestra 47.

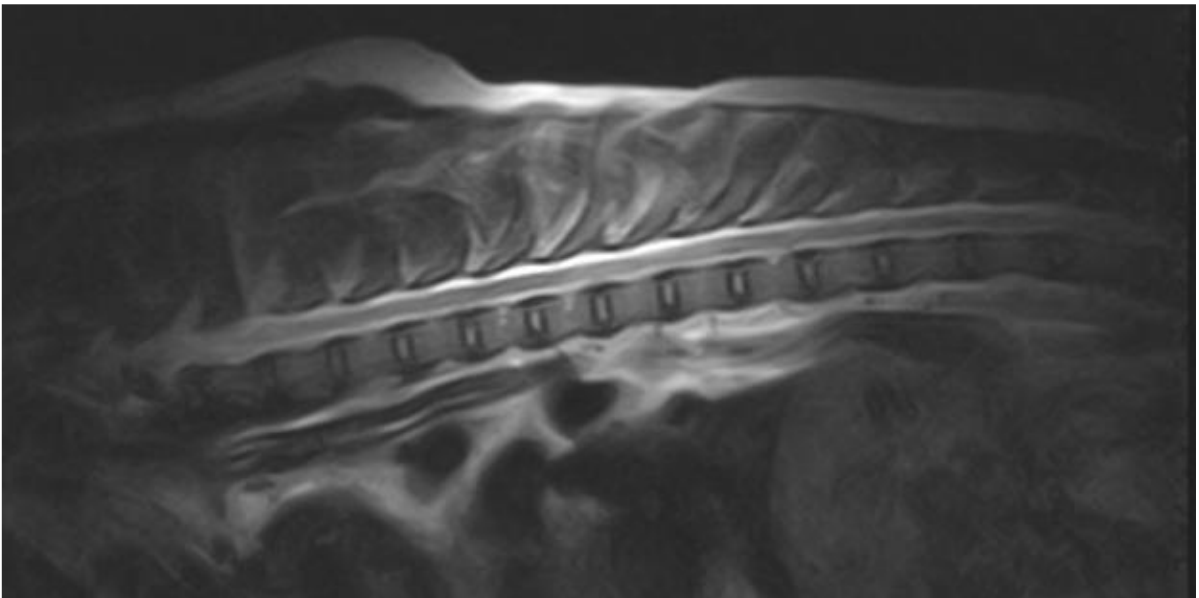


Figura 91. RM muestra 47.

**Muestra 52:**

NHC 27692, Aria, Bichón maltés, hembra, de 9 años. Paciente que hace un mes manifestó un episodio de descoordinación y pérdida de equilibrio, con marcha en círculos hacia la izquierda que responde a tratamiento con corticoides y recidiva tras su retirada. Examen físico sin alteraciones. El examen neurológico no revela alteraciones.

La analítica de sangre no presenta alteraciones significativas. Se realiza una ecografía abdominal en la que no se observan hallazgos relevantes. El análisis del LCR muestra un recuento celular de 87 células/mm<sup>3</sup> con predominio de monocitos 58%, linfocitos 37% y macrófagos 5%. Se procesa la muestra de LCR para determinación de patologías infecciosas, con resultado negativo.

En la RM de cráneo no se aprecian alteraciones en la morfología ni señal de las estructuras intracraneales (Figuras 92, 93 y 94). El sistema ventricular es de apariencia y conformación normal. No hay captaciones anómalas de contraste.

Los hallazgos clínicos indican la presencia de un proceso inflamatorio meningoencefálico de origen desconocido (probablemente meningoencefalitis granulomatosa).

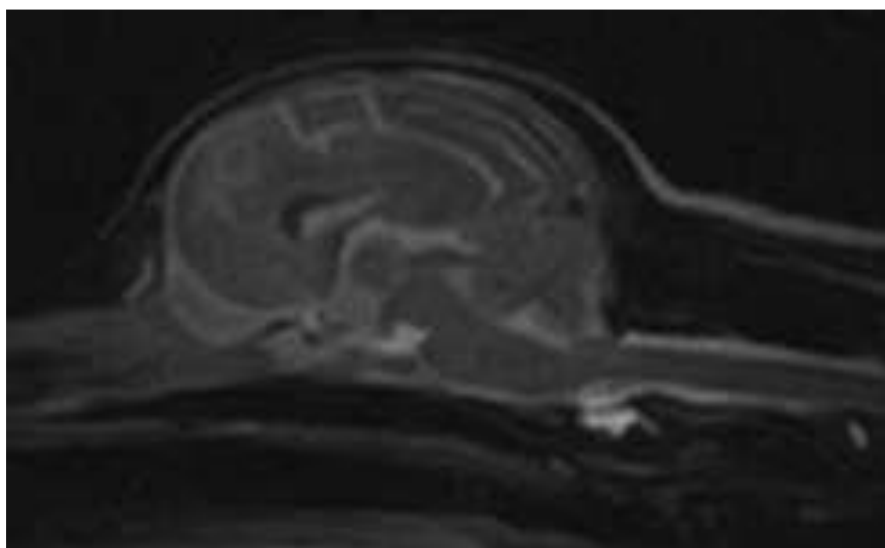


Figura 92. RM muestra 52.

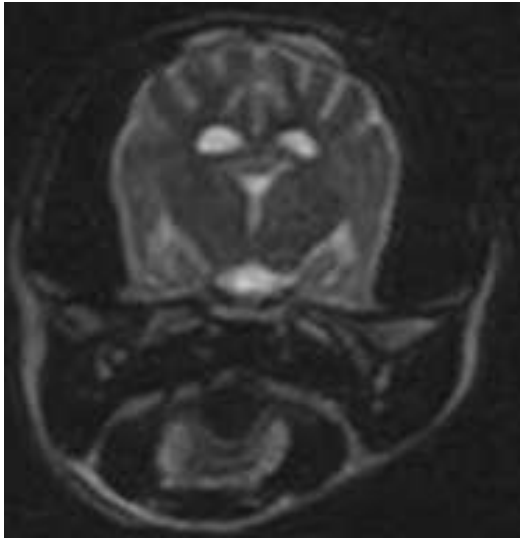


Figura 93. RM muestra 52.

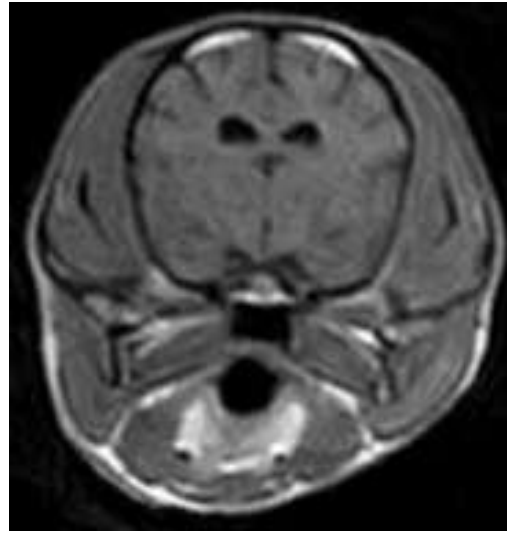


Figura 94. RM muestra 52.

**Muestra 27:**

NHC 27300, Chui, Yorkshire terrier, macho, de 3 años. Paciente con dolor inespecífico y reticencia al movimiento desde hace 1 semana. Con respuesta parcial al tratamiento con corticoides, pero tuvieron que retirarlos al provocarle gastroenterocolitis. En la actualidad está siendo tratado con una dieta gastrointestinal.

La exploración física no revela alteraciones. La exploración neurológica revela postura envarada y dolor severo a la manipulación de la columna cervical.

La analítica sanguínea no presenta alteraciones significativas. El análisis del LCR presenta un recuento celular de 5 células/mm<sup>3</sup>. Se procesa la muestra de LCR para determinación de patologías infecciosas, con resultado negativo.

Se realizan radiografías de la columna cervical en posición fisiológica y en ventroflexión, donde se aprecia un aumento de la distancia entre la apófisis espinosa del axis y el arco dorsal del atlas en la flexión forzada (Figuras 95 y 96). Sin embargo, el cuerpo del axis no parece tener movimiento por lo que se descarta una inestabilidad subclínica.



## Anexos

Se realiza una tomografía computarizada de la columna cervical, en la que no se aprecian lesiones óseas en la articulación occipitoatlantoaxial. Tampoco se aprecian fenómenos de inestabilidad craneocervical (Figura 97). En la RM de columna cervical no se aprecian alteraciones en la morfología ni en la señal de las estructuras espinales (Figura 99). La historia clínica y la ausencia de alteraciones en las pruebas realizadas indican la presencia de un proceso inflamatorio meningoencefálico de origen desconocido.

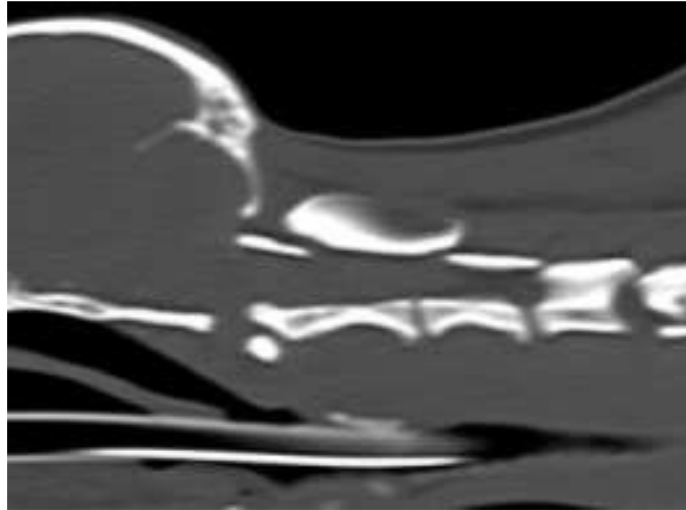


Figura 98. TC muestra 27

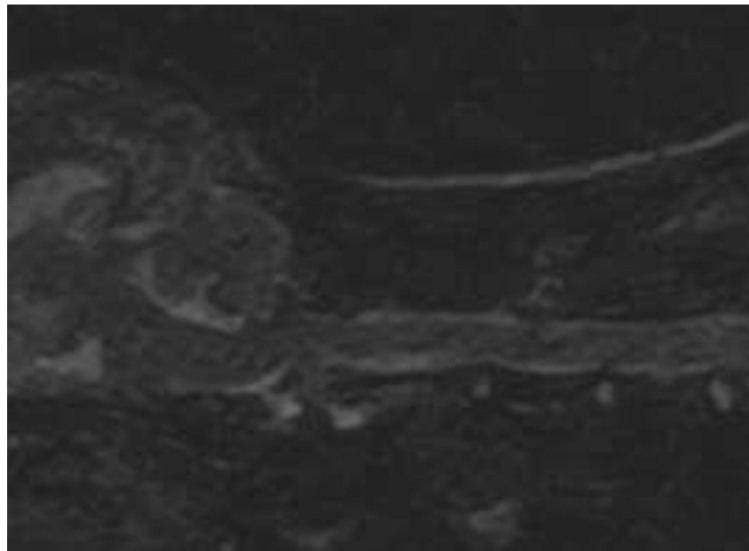


Figura 99. RM muestra 27



Figura 95. RX cervical muestra 27.



Figura 96. RX cervical en ventroflexión muestra 27.

---