



Líquido cefalorraquidiano: função, análise e alterações em doenças neurológicas em cães

Diego Noé Rodriguez Sánchez¹, Rogério Martins Amorim¹

Recibido: 10 diciembre 2015 / Aceptado:29 diciembre 2015

■ Resumen

Os cães domésticos compreendem a espécie mais atendida na rotina clínica diária, apresentando sinais clínicos neurológicos ocasionados devido a doenças do sistema nervoso central e periférico. O líquido cefalorraquidiano (LCR) é uma ferramenta valiosa para a abordagem de problemas em cães com sinais clínicos neurológicos. É importante conhecer um pouco mais sobre as técnicas de coleta, assim como a análise das características físico-químicas y citológicas do mesmo, e toda a informação que possam aportar no diagnóstico de enfermidades neurológicas.

Palabras clave: LCR, enfermidades neurológicas, cães .

¹ Facultad de Medicina Veterinaria y zootecnia, Universidad Estadual Paulista "Julio Mezquita Filho" Departamento de Clínica Veterinaria y servicio de Neurología Veterinaria, Botucatu- SP- Brasil
dnr_51@hotmail.com; diego.noemv@gmail.com



Líquido cefalorraquídeo: função, análisis y alteraciones en enfermedades neurológicas en caninos

■ Resumen

Los caninos domésticos son la especie más atendida en la rutina clínica diaria, presentando signos neurológicos causados por enfermedades del sistema nervioso central y periférico. El líquido cefalorraquídeo es una herramienta valiosa para el abordaje de problemas en caninos con signos clínicos neurológicos. Es importante conocer un poco más sobre las técnicas de colecta, así como el análisis de las características físico-químicas y citológicas del mismo, y toda la información que puedan aportar al diagnóstico de enfermedades neurológicas.

Palabras importantes: LCR, enfermedades neurológicas, caninos.

Cerebrospinal fluid: function, analysis and disturbances in neurologic diseases in canines

■ Abstract

Domestic canines are the most attended species in daily routine, presenting neurologic signs caused by diseases of the central and peripheral nervous system. The cerebrospinal fluid (CSF) is a valuable tool for the approaching to canines with neurological signs. It is important to know more about collection techniques, as well as physicochemical and cytological characteristics,

and all the information that can contribute with the diagnostic of neurological diseases.

Key words: CSF, neurologic diseases, canines.

■ Introdução

O sistema nervoso central (SNC) é frequentemente acometido por diversos processos patológicos, tais como doenças inflamatórias, infecciosas, vasculares, neoplásicas, entre outras. Os cães domésticos compreendem a espécie mais atendida na rotina clínica diária, apresentando sinais clínicos neurológicos ocasionados devido a doenças do sistema nervoso central e periférico. Na pesquisa diagnóstica de cães examinados por sinais neurológicos do encéfalo, rotineiramente são realizadas análises bioquímicas séricas, hemograma, urinálise, testes sorológicos, radiografias, ultrassom, análise do líquido cefalorraquidiano (LCR), tomografia computadorizada (TC) e ressonância magnética (RM) cerebral para auxílio no diagnóstico, assim se aproximando ao diagnóstico. As anormalidades do LCR podem ocorrer por muitas doenças, mas também podem revelar etiologias específicas (bactérias, protozoários) e algumas neoplasias. A imagem de ressonância magnética (IRM) é a ferramenta mais sensível para identificar lesões intracranianas. Entretanto, com o incremento da acessibilidade, a necessidade de se realizar a análise do LCR é questionada. Porém, na nossa rotina clínica desde o começo do uso das IRM a maioria de pacientes com enfermidades neurológicas, tem-se coletado e analisado o LCR, o que indica que as duas técnicas apresentam baixa sensibilidade, sendo necessário de correlacionar as duas para uma melhor acurácia diagnóstica.

Anatomia, Fisiologia e Função do Líquido Cefalorraquidiano (LCR)

Historicamente, Galeno (130-200 AD) descreveu a anatomia dos ventrículos no encéfalo e referenciou o líquido cefalorraquidiano como um fluido transparente. Em 1875, Ernest Key e Magnus Retzius publicaram o primeiro trabalho que confirmou a produção do LCR no plexo coróide, seu fluxo pelo sistema ventricular e reabsorção. A primeira punção lombar (PL) foi tentada por Corning, 1885, para instilar e estudar as propriedades anestésicas da cocaína (Rosenberg, 1990).

Os ventrículos laterais são os maiores espaços que contém LCR. Em mamíferos, o LCR flui desde estes espaços ao terceiro e quarto ventrículo pelo aqueduto mesencefálico e forâmen de Monro (região dorsal do mesencéfalo) respectivamente (De Lahunta, 1983; Fishman, 1992). Logo após, uma parcela do LCR entra no espaço subaracnóideo pelos forâmens de Magendie e bilateral de Luschka e, posteriormente, uma parte passa ao canal central da medula espinhal, acumulando-se nas cisternas da subaracnóide (cisterna cerebelomedular ou Magna) (Catala, 1998).

Se conhecem barreiras semipermeáveis no encéfalo: A barreira hematoencefálica (BHE) e a barreira sangue-LCR (BSLCR). A BHE consiste de uma interface entre o plasma e o fluido intersticial ao nível dos microcapilares intracerebrais, composta por células endoteliais não fenestradas com uniões interendoteliais estreitas, rodeadas por pericitos, macrófagos perivascularares e astrócitos, contribuindo na homeostase e proteção do SNC. Entre o plasma e o LCR, no plexo coróide (PC), se encontra a barreira do sangue-LCR (BSLCR), composta pela camada endotelial vascular fenestrada e o epitélio do plexo coróide, conformando uma área em contato com os ventrículos. O liquor é produzido neste PC constituído por células

epiteliais com microvilosidades, nos ventrículos laterais, terceiro e quarto ventrículo (Abbott, Ronnback, Hansson, 2006).

A formação do LCR é um processo ativo, mediado pelo fluxo de íons de acordo com uma gradiente osmótico. A bomba ATPase Na^+/K^+ na membrana do PC, induz a troca de 3 íons de Na^+ , sendo 2 íons para o espaço extracelular e 2 íons de K^+ ao intracelular. Adicionalmente, as proteínas aquaporinas da BHE movimentam o $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{Cl}^-$ juntos fora da célula (Redzic e Segal, 2004; Fishman, 1992; De Lahunta, 1983), portanto, se forma a gradiente osmótica e secreção unidirecional de NaCl e NaHCO_3 no espaço ventricular com posterior fluxo de água da corrente sanguínea e formação do LCR (Oshio et al., 2005; Nilsson; Lindvall-Axelsson; Owman, 1992). Finalmente, o LCR flui dos ventrículos ao espaço subaracnóide e é reabsorvido nas granulações aracnóides no seio sagital superior (Tripathi ; Tripathi, 1974; Levine; Povlishok; Becker; 1982).

As funções mais importantes do LCR compreendem a regulação da pressão intracraniana (PIC), a regulação do ambiente químico do sistema nervoso central (SNC) e o transporte de moléculas no encéfalo (Morrison, 2009). Além disso, elimina dióxido de carbono (CO_2), lactato e íons de hidrogênio (H^+) (Nilsson e Siesjo, 1983), e xenopartículas, tais como bactérias e células, transportadas ao espaço subaracnóide (Guyton e Hall, 2000). Desde o hipotálamo alguns hormônios passam pelo LCR atuando como um conduto aferente para outras regiões cerebrais (Hiyama et al., 2004).

Propriedades e Composição do LCR

Em condições normais o LCR é claro, incolor e similar a água. Normalmente não contém eritrócitos e o número de células nucleadas é variável e depende da espécie. Em cães, a



contagem total de células nucleadas (CTCN) é relatada em diversos intervalos, desde 0 até 2, 3 ou 4 cel/ μ L, porém acima de 3 cel/ μ L pode ser questionavelmente anormal, indicando pleocitose (aumento da concentração de células). Estas células são derivadas da circulação, (classificadas como células mononucleares maiores, linfócitos, neutrófilos, eosinófilos ou células atípicas Ransohoff; Kivisakk; Kidd, 2003). Enquanto as proteínas, a maior parte são derivadas do soro, contudo 20% podem ser sintetizadas pelo plexo coróide. A concentração de proteínas no soro é 200 vezes maior do que no LCR (7,0 gr/dl vs 35mg/dl), sendo a albumina em maior quantidade (56-76%), seguido das V-globulinas (5-12%) e as transtirretinas (5-6%) (Thompson, 1989).

Pela alta taxa metabólica do cérebro, a concentração normal de glicose no LCR representa de 60 à 80% (45-80 mg/dL) da concentração no sangue, o que é equivalente a 2/3 dos níveis séricos (Morrison, 2009; De Lahunta, 1983). Diversos íons, tais como o sódio, potássio, cálcio, magnésio, cloreto, fosfato, bicarbonato, podem ser encontrados no LCR normal. A razão do sódio LCR:plasma é perto de 0.93, sendo considerado o principal cátion osmoticamente ativo no LCR. As cargas elétricas são reguladas pela bomba Na⁺/K⁺ ATPase (Dickinson, Keel e Higgins, 2000).

Os níveis de potássio (3 mmol/L) são mantidos no LCR por mecanismos de controle, sendo importantes na função neuronal e liberação de neurotransmissores (Posner e Plum, 1967; Sakushima, 2011). O magnésio é o único cátion com uma maior concentração no LCR do que no soro, e contribui na excitabilidade cerebral (Terlizzi e Platt, 2006; Rosenberg, 1990; Maren, 1992).

Algumas enzimas, como a cretina kinase (CK) tipo B, é restrita ao sistema nervoso e está relacionada com o metabolismo oxidativo, a homeostase do

K⁺, e o transporte de neurotransmissores no encéfalo (Nussinovitch et al., 2002; Coplin et al., 1999).

Muitos mediadores inflamatórios são encontrados em diferentes concentrações no LCR normal. Os anticorpos em ausência de inflamação derivam-se do soro. Fisiologicamente, o LCR tem propriedades antiinflamatórias e imunoreguladoras, modulando a infiltração de leucócitos, linfócitos B e T, e células *natural killer* (NK) (Vilanova et al., 1998). Em associação, o LCR contém baixos níveis de enzimas proteolíticas, que apresentam a capacidade de degradar a BHE (Taylor e Strellein, 1996).

Alguns neurotransmissores fazem parte da composição normal do LCR, como o ácido gama-amino butírico (GABA) e o glutamato, sendo moléculas excitatória e inibitória, respectivamente, que contribuem na comunicação neuronal (Viera et al., 2006; Podell e Hadjiconstantinou, 1997; Molina et al., 2005). Os nucleotídeos cíclicos são achados no LCR de pacientes hígidos e atuam como segundos mensageiros para a regulação do metabolismo energético intracelular. A adenosina monofosfato cíclica (AMPC), implica funções corticais, e a monofosfato cíclico de guanossina (GMPc) está envolvida na foto-transdução (Rodriguez-Nunez et al., 2003; Cristofori et al., 2005; Stover; Lowitzsch; Kempinski, 1997).

Avaliação do Fluido Cerebrospinal

Avaliação Macroscópica

Turbação e Cor. A turvação pode aparecer com presença de leucócitos acima de 400 cel/mm³. A coloração rosada ou avermelhada se apresenta nas contagens de 500-6000 eritrócitos/mm. Se após a centrifugação o sobrenadante não se tornar incolor, sugere-se a presença de eritrócitos intactos por contaminação do sangue periférico

ou a ocorrência de hemorragia subaracnóide. A xantocromia (coloração amarelada ou amarelo-laranja) indica acúmulo de componentes como a oxihemoglobina, bilirrubina e metahemoglobina, derivados a partir da degradação dos eritrócitos e pelo aumento de proteínas por inflamação no SNC (usualmente 150mg/dl), hiperbilirrubinemia e neoplasias (Cook e DeNicola, 1988; De LaHunta, 1983).

Análise Quantitativa

Concentração de Proteínas e Contagem Total de Células Nucleadas (CTCN). Na região lombar, a concentração de proteínas e a CTCN é inferior ao comparar-se com a região cervical (cisterna cerebello-medular) (Bailey e Higgins; 1986). Na interpretação da CTNC, a pleocitose se classifica como primária se a população de um tipo de células compreende >85% das células nucleadas, e é caracterizada como pleocitose mista se nenhum dos tipos celulares atinge ao menos 85% das células nucleadas. A pleocitose pode ser classificada como leve (4-20 células/ μ L), moderada (21-500 células/ μ L) ou severa (>500 células/ μ L) (Bohn, Wills, West, 2006).

A concentração de proteínas é considerada aumentada acima de 25mg/dL (cisterna cerebello-medular) ou 35mg/dL (cisterna lombar), podendo ser classificada como leve (<50 mg/dL), moderada (<50-200 mg/dL) ou severa (> 200 mg/dL) (Bohn et al., 2006). A medição da relação entre a albumina sérica e a do LCR, referido como o quociente albumina (AQ), avalia a alteração da BHE. A maior imunoglobulina encontrada no LCR é a IgG e o seu aumento prevalece em diversas doenças inflamatórias, pela disfunção da BHE ou pela síntese intratecal (Thompson, 2005; Bailey e Vernai, 1997). A relação entre a quantidade da IgG no soro e no LCR pode ser calculada, em casos de enfermidades infecciosas específicas (Tipold, 1995a). A alta concentração de

IgA tem sido associada à meningite-arterite responsiva a esteróides (MARE), mas também é encontrada em outras doenças específicas como a meningoencefalite granulomatosa (MEG) e a cinomose canina. Normalmente, o LCR não contém eritrócitos, podendo observar-se em baixa concentração quando ocorre contaminação iatrogênica no ato da colheita e em casos de hemorragia aguda (Hurt e Smith, 1997).

As células mononucleares (linfócitos pequenos) predominam no LCR de cães saudáveis. Uma quantidade baixa (acima de 10% do CTCN) de neutrófilos maduros pode ser observada no LCR normal pela contaminação sistêmica (Chrisman, 1992). A presença de linfócitos medianos ou grandes pode indicar um processo patológico, mesmo sem o CTCN apresentar-se aumentado (Grevel e Machus, 1992). Os monócitos em estado patológico se convertem em macrófagos que contêm material fagocitado, eritrócitos, microrganismos e detritos celulares em vários estágios da digestão (Chrisman, 1992). As células plasmáticas podem ser observadas ocasionalmente com processos infecciosos, neoplásicos ou imunomediados ativos ou em resolução (Fenner, 1998).

Títulos de Anticorpos

Em animais que apresentem doenças infecciosas, a mensuração dos títulos de anticorpos no LCR pode ser mais confiável do que no soro. Diferentes testes para anticorpos são disponíveis para pesquisar protozoários, rickettsias, fungos e vírus. A produção intratecal de anticorpos específicos pode ser determinada com a relação do valor do anticorpo no soro e no LCR, da mesma forma que é detectada a produção intratecal de IgG (Matsuki et al., 2004).



Cultivo do LCR

Cultivos aeróbicos e anaeróbicos podem ser realizados diante da suspeita de doenças infecciosas. Todavia, é incomum obter resultados positivos em caso de meningites bacterianas, relacionado à inapropriada coleta da amostra, meio de cultura, baixo número e rápida autólise dos microrganismos (Tipold, 1995a, Negrini et al., 2000). A cultura de fungos tem sido utilizada para isolar *Cryptococcus spp.* (Fenner, 1998).

Reação de Polimerização em Cadeia (PCR)

A PCR pode identificar DNA e RNA de agentes infecciosos, principalmente quando os organismos não podem ser cultivados. A metodologia de amplificação por PCR é utilizada rotineiramente para auxílio diagnóstico com os seguintes patógenos: vírus da cinomose canina, *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, *Ehrlichia canis*, *Rickettsia rickettsii*, *Bartonella spp.*, *Borrelia burgdorferi*, vírus da leucemia felina (FeLV), vírus da imunodeficiência felina (FIV). O PCR negativo não descarta a presença de um agente infeccioso (Fenner, 1998; Stiles et al., 1996).

Características Gerais do LCR nas Doenças Encefálicas em Cães

Com níveis baixos de celularidade o LCR pode se apresentar opalescente ou ligeiramente turvo. Se a celularidade apresentar-se aumentada (200 WBC/ μ L ou 400 RBC/ μ L) o LCR pode mostrar-se turvo. A cor pode ser descrita como: (1) rosa ou laranja, (2) amarela, ou (3) marrom, derivados dos pigmentos dos eritrócitos, oxihemoglobina, bilirrubina e meta-hemoglobina respectivamente. A metahemoglobina no LCR é produto da redução da hemoglobina, assim a cor marrom pode ser vista em alguns hematomas subdurais crônicos encapsulados ou hemorragias

intracerebrais (Vernau, W; Vernau, K; Bailey, C, 2008). Outras causas que podem mudar a cor do LCR incluem a icterícia (anemia hemolítica ou enfermidade hepática) e proteinorraquia (Terlizzi e Platt, 2006; Fishman, 1992).

Em geral, a pleocitose é patológica, sendo dependente da etiologia, da severidade e do local da lesão. Nas amostras citocentrifugadas, a presença de neutrófilos e eosinófilos sem aumento do CTCN e sem a presença de contaminação sanguínea, podem indicar inflamação inicial ou leve, principalmente em lesões sem contato com as meninges, lesões medulares (p. ex. doença do disco intervertebral, DDIV, embolia fibrocartilaginosa, fraturas vertebrais), acidentes cerebrovasculares (infarto, hemorragia) e em doenças protozoárias (Neosporose.) (Ransahoff, Kivisakk e Kidd, 2003).

A pleocitose neutrofílica tem sido encontrada em doenças inflamatórias agudas, como trauma, hemorragia, infecções bacterianas e fúngicas, doenças imunomediadas, neoplasias e reação inflamatória após mielografia, (Terlizzi e Platt, 2006; Chrisman, 1992; Thomas, 1998). Em cães, a meningite arterite responsiva a esteróides (MARE) se relaciona com a presença de neutrófilos ativados em ausência de cultura positiva. Na infecção bacteriana, observa-se bactérias e neutrófilos ativados com contagem de neutrófilos de 2.000 à 10.000 células/ μ L no LCR (Negrini; Kellegger; Wald, 2000). A necrose e a inflamação por neoplasias no SNC pode gerar pleocitose neutrofílica leve até moderada ou incremento da concentração de neutrófilos com CTCN normal (Bailey e Higgins, 1986). Algumas neoplasias (meningioma) podem gerar esse tipo de pleocitose. Em cães, o vírus da cinomose pode desenvolver pleocitose neutrofílica contrária ao predomínio mononuclear (Thomas, 1998). Interessantemente, este tipo de pleocitose pode encontrar-se no pós-ictus em humanos e em cães e, raramente, nas meningoencefalites inflamatórias não-infecciosas (meningoencefalite

granulomatosa [MEG], meningoencefalite de etiologia não conhecida [(MUE) e meningoencefalite necrotizante [MEN]] (Freeman e Raskin, 2001).

Na pleocitose mononuclear, há aumento de linfócitos pequenos e maduros e/ou aumento de monócitos e macrófagos. A presença de linfócitos reativos sem aumento do CTCN pode ser um sinal de enfermidade no SNC. Infecções virais no SNC (vírus da cinomose) resultam em pleocitose linfocítica leve a moderada (Thomas, 1998) e, em alguns casos, aumento do número de macrófagos. Na MEG e na MUE o predomínio celular linfocítico é de 42% e 71% respectivamente, podendo ser leve, moderado ou severo na MEG (Chrisman, 1992). Na leucoencefalite necrotizante (LEN) autoimune das raças toy, a pleocitose monocítica e linfocítica apresenta-se de forma equivalente. Outras doenças que se apresentam com pleocitose linfocítica são o linfoma (marcada presença de linfócitos imaturos), a erlichiose, a toxoplasmose, a neosporose e alguns casos de meningite bacteriana após a antibioticoterapia ter sido instituída (Terlizzi e Platt, 2009; Thomas, 1998; Freeman e Raskin, 2001).

Na pleocitose mista, há pode-se encontrar uma população de linfócitos, monócitos e macrófagos, neutrófilos e poucos ou raros eosinófilos e células plasmáticas (pleocitose mista). De forma geral, as doenças relacionadas são a MEG, a fase crônica da MARE, a criptococose, a histoplasmose, a blastomicose, a aspergilose, a erlichiose, a toxoplasmose, a neosporose e a prototecose. Ainda, algumas doenças como doença do disco intervertebral (DDIV), mielomalácia e infarto isquêmico ou hemorrágico, produzem necrose e inflamação secundária e conseqüentemente uma pleocitose mista (Terlizzi e Platt, 2009).

Em cães, a presença de marcado predomínio eosinofílico no LCR tem sido associado à meningoencefalite eosinofílica responsiva a

esteróides, à angiostrongilose e à neosporose. Outros casos documentados incluem doenças infecciosas bacterianas, cinomose, raiva, toxoplasmose, neosporose, larvas de cuterebra, nematodos (angiostrongilose), cestodos, protothecose, criptococose, neoplasias (linfoma e astrocitoma), MEG, acidente cerebrovascular isquêmico, intoxicação com sal. Não existe, porém, correlação entre a eosinofilia periférica e a severidade da eosinofilia no LCR (Rumbaugh; Avindra, 2009).

Características Gerais do LCR em Doenças Específicas

Doenças Degenerativas. Pela ausência de inflamação nestas doenças, o LCR apresenta-se normal, mas pode existir produção intratecal de proteínas e presença de material metabólico acumulado como nas doenças de armazenagem mitocondrial (leucodistrofia globóide, mucopolisacaridose e fucosidose) (Keller e Lamarre 1992). Na mielopatia degenerativa, o CCNT pode estar normal ou aumentado, apresentando leve a moderado incremento das proteínas (aproximadamente 40 à 70mg/dL) (Waxman et al., 1980).

Doenças Idiopáticas. Na MUO a análise do LCR pode exibir pleocitose mononuclear e aumento da concentração das proteínas, podendo variar de acordo com a severidade do quadro. Por outro lado, na MEG as proteínas e o CCNT podem apresentar um moderado a marcado aumento, com predomínio variável de linfócitos, monócitos, macrófagos e neutrófilos (Tipold, 1994; Braund, 1994). Ocasionalmente, as células plasmáticas apresentam-se de tamanho maior, com abundante citoplasma (Braund, 1994). Na eletroforese, a albumina e o índice de IgG podem estar aumentados (Tipold, 1994).

Doenças Imunomediadas. Napolirradiculoneurite idiopática aguda, a anormalidade clássica no LCR é a dissociação albuminocitológica. Tanto o



nível de IgG como o índice de IgG podem estar aumentados, indicando produção intratecal (Cuddon, 1990), já na MARE, por ser uma meningite não supurativa, o LCR expõe uma marcada pleocitose neutrofílica (>500 cel/ μ L e 75-100 % de neutrófilos) e moderado a marcado aumento do número das proteínas em ausência de cultura positiva. O índice de IgG é tipicamente aumentado e as IgA e IgM podem encontrar-se incrementados (Tipold et al., 1994; De Lahunta, 2010).

Doenças Infecciosas

• **Doenças Bacterianas.** O LCR pode apresentar-se claro, opaco ou turvo, incolor ou âmbar, de acordo com a quantidade de células e proteínas. O CCNT possui um alto percentual de neutrófilos degenerados ($>75\%$), podendo ser degenerados (Tipold, 1995). O índice de IgG é usualmente aumentado (Tipold et al., 1993; 1994). Se o animal for tratado pode haver elevações moderadas do CCNT e concentração de proteínas (Sturges et al., 2006). A cultura pode ser porque algumas bactérias sofrem autólise no tubo, no entanto se devem tentar sempre que for possível (Negrini; Kelleger; Wald, 2000).

• **Doenças Rickettsiais.** Em cães com erlichiose neural, o LCR mostra-se semelhante às doenças virais, no qual o CCNT e as proteínas podem aparecer de leve à moderadamente elevadas, com predomínio de pleocitose mononuclear (Maretzki et al., 1994). O quociente da albumina apresenta-se elevado (Sorjonen et al., 1987). Ocasionalmente, as mórulas de *Ehrlichia canis* são observadas no LCR das células mononucleares ou dos neutrófilos. Nessas enfermidades, também, os títulos de IgG ou IgM podem estar aumentados (Breitschwerdt et al., 1990).

• **Doenças Virais.** O LCR associado a essas doenças caracteriza-se por alterações inflamatórias não supurativas. O CTCN e as proteínas totais exibem um aumento de leve

a moderado. A população de células pode ser mista, com predomínio mononuclear parcial ou total. Os índices de IgG, IgA e IgM podem estar aumentados. Além disto, o LCR pode encontrar-se normal, principalmente se as meninges não estão envolvidas (Tipold, 1995; Fishman, 1992). Especificamente **na cinomose canina**, as anormalidades no LCR dependem da fase da doença. Portanto, na fase aguda, que é evidenciada por uma reação não-inflamatória e desmielinizante, o LCR pode estar normal ou próximo do normal, demonstrando apenas um leve aumento do CTCN ou proteínas totais (Tipold, 1995). Pela permeabilidade da BHE há proteino o índice de IgG pode ser normal ou ocasionalmente aumentado e a IgM normal (Vandevolve et al., 1989; Tipold et al., 1995).

Ocasionalmente, o LCR pode estar normal ou ter alterações muito sutis (Sorjonen et al., 1991; Tipold, 1995). A presença de anticorpos pode indicar infecção. Em alguns casos pela encefalomalácia pode-se apresentar pleocitose neutrofílica (Valdevelde e Spano, 1977). Devido a falta de especificidade e variabilidade do LCR nessas doenças, a PCR em Tempo Real (RT-PCR) para a detecção do RNA viral é a prova mas sensível para a detecção (Amude et al., 2006). No caso da raiva, a informação é escassa em relação as anormalidades no LCR. Por causa do perigo na saúde humana, a coleta de LCR deve ser evitada caso haja suspeita de raiva. Nos animais, o LCR pode ser normal ou anormal, consistindo de leve a moderada pleocitose, com leve aumento das proteínas, predomínio de linfócitos, macrófagos, neutrófilos e ocasionalmente células plasmáticas. Os títulos de IgM podem incrementar em duas a três semanas depois do início da raiva clínica, portanto um título negativo não exclui a possibilidade de infecção (Braund, 1994).

• **Doenças Fúngicas.** O *Cryptococcus neoformans* tem predileção pelo SNC. O LCR pode variar desde o CCNT normal até marcadamente aumentado. A pleocitose pode ser mista com o

predomínio de neutrófilos, células mononucleares e eosinófilos (De Lahunta, 2010). O número de proteínas pode estar dentro do limite superior ou aumentado. O quociente e o índice de IgG apresentam-se leve ou marcadamente aumentados e os microrganismos podem ser vistos e isolados no LCR (Berthelin et al., 1994). A técnica de aglutinação por látex para o antígeno da criptococose no LCR pode apresentar positividade (Jacobs e Medleau, 1998). Há poucos relatos de aspergilose, blastomicose, coccidiomicose e histoplasmose atingindo o SNC, sendo variáveis as alterações no LCR, entretanto apresentam predomínio de pleocitose mista e proteinorraquia (Coates, 1995).

Doenças Isquêmicas

De forma geral, a isquemia pode levar a quebra da BHE, com aumento das proteínas no LCR e posterior destruição do tecido, podendo levar a uma pleocitose. Em infartos mais extensos a pleocitose pode ser particularmente neutrofílica (Fishman, 1992). Na **Embolia fibrocartilaginosa**, em torno de 1/3 dos casos relatados possuem um LCR normal e 1/3 podem apresentar-se com pleocitose mononuclear e aumento das proteínas. O restante possui uma dissociação albuminocitológica. Contudo, o tipo de pleocitose (neutrofílica ou monocítica) depende do tamanho, da localização e do tempo do infarto. A albumina no LCR é normal e o índice de IgG pode estar levemente aumentado (Grunenfelder et al., 2005; Cauzinille e Krnegay, 1996). No **Infarto/isquemia cerebral** dentro da primeira semana após o infarto, o CCNT apresenta-se normal ou levemente aumentado, com pleocitose mista mononuclear e conteúdo de proteínas levemente a marcadamente elevado (de Lahunta et al., 2010; Rand et al., 1994). Em alguns casos, a pleocitose neutrofílica pode sugerir encefalomalácia aguda (Vandeveld e Spano, 1977).

Malformações de Estruturas Neurais

Em animais este tipo de doenças não alteram o LCR (de Lahunta et al., 2010; Vandeveld e Spano, 1977), porém se elas interferem o fluxo do LCR pode gerar anormalidades.

Cisto Aracnóide Intracraniano. Devido a apresentação da doenças em raças concomitantes do cisto quadrigeminal e de doenças inflamatórias (MUE) os achados na análise do LCR podem ser incidentais em alguns animais (Duque et al., 2005; Kitagawa *et al.*, 2003). Vernau, *et al.* (2002) relatou dois casos com o cisto quadrigeminal com hemorragia intracística. Um dos animais demonstrava um LCR normal, contudo com um leve incremento das proteínas. O outro, uma leve pleocitose mononuclear e um leve aumento do número das proteínas, com evidencia de eritrofagia.

Alterações Metabólicas/Nutricionais

O LCR não é comumente analisado em animais com suspeita destas alterações. Se os testes bioquímicos e hematológicos não contribuírem na pesquisa diagnóstica, o LCR pode ser uma ferramenta útil para descartar outras causas de manifestações neurológicas. Na maioria dos casos, o LCR não apresenta alterações nas doenças metabólicas e nutricionais (Scott, 1995; Vandeveld e Spano, 1977). Embora o edema cerebral seja comum em certas doenças (P. ex, hipóxia, hiponatremia, desequilíbrio osmótico ou cetoacidose diabética), o edema é usualmente citotóxico ao invés de vasogênico. Portanto, a BHE continua intacta e o conteúdo de proteínas não tem alterações. Este edema pode levar a isquemia cerebral, infartação ou herniação, assim a BHE pode tornar-se disfuncional, edema vasogênico ocorre e o índice das proteínas no LCR aumentam. OS animais com encefalopatia urêmica, hepática ou hipotireoidismo, podem ter um aumento nas proteínas totais e no índice de



IgG (Fishman, 1992). Nos seres humanos com neuropatia diabética também podem apresentar incremento nas proteínas (Fishman, 1992).

Diversas Condições

Alterações no LCR Após Mielografia. Muitos agentes de contraste podem ser irritantes para as leptomeninges, resultando em inflamação meníngea. A pleocitose pode ser mista (mononuclear/linfocítica), podendo se manter em até 10-15 dias após a injeção do meio de contraste (Fishman, 1992; Johnson *et al.*, 1985). Contrário a isto, em outro estudo com iohexol e oitrolan não foram encontradas mudanças no CCNT após a mielografia (Van Bree *et al.*, 1991). O incremento nos níveis de albumina e imunoglobulinas podem indicar quebra da BHE, voltando aos níveis normais dentro de 5 dias (Johnson *et al.*, 1985).

Características no Líquor Após Crises Convulsivas: Interictal e Pós-ictal. Os animais com alterações intracranianas não progressivas no período interictal podem apresentar normalidade no LCR. Contrário a este argumento, a pleocitose tem sido documentada em humanos nos pos-ictus (Barry e Hauser, 1994; Rider *et al.*, 1995). A CCNT pode estar acima de 80 cel/ μ L, com um componente neutrofílico de 5 a 92%. A contagem pode estar alta em até 24 horas após a crise. O mecanismo parece estar relacionado ao aumento da BHE no momento da crise com aumento das proteínas. Além disso, há aumento do metabolismo cerebral com produção de lactato, diminuição do pH, hipertensão e hipóxia. Assim sendo, a interpretação das alterações no LCR no pós-ictus deve ser cautelosa pelo possível conflito entre epilepsia idiopática com uma doença cerebral progressiva que altere as características do LCR. Em crianças com crises convulsivas, valores de > 20 células/ μ L ou 10 células polimorfonucleares/ μ L pode não ser atribuído às crises (Rider *et al.*, 1995).

Neoplasias

O LCR em condições neoplásicas no SNC é bastante variável. Pode ser claro ou incolor, embora a xantocromia possa estar presente. A pleocitose pode acontecer em meningiomas ou tumores do plexo coróide (De Lahunta, 2010), podendo ser mononuclear, embora nos meningiomas pode observar $>50\%$ de neutrófilos. Pode existir uma associação da localização dos tumores com o LCR. Por exemplo, em um estudo, meningiomas da fossa posterior mostraram um aumento no CCNT, predominantemente de neutrófilos (Dickinson *et al.*, 2006). O linfoma do sistema nervoso pode exibir uma pleocitose linfocítica ou linfoblástica (Lane *et al.*, 1994). A alteração mais comum no LCR decorrente de neoplasias é o incremento nas proteínas, principalmente os tumores de plexo coróide. Esta alteração está associada ao aumento na permeabilidade da BHE e ao subsequente aumento da albumina (Heidner *et al.*, 1991; Moore *et al.*, 1994). O índice de IgG pode estar aumentado, refletindo a presença de infiltrados inflamatórios ao redor da lesão (Tipold *et al.*, 1993). A presença de células neoplásicas podem contribuir no diagnóstico definitivo. O linfoma tem sido diagnosticado com base no LCR (Lane *et al.*, 1994; Pusterla *et al.*, 2006). Uma boa técnica de centrifugação (citocentrífuga) contribui na observação de outras células neoplásicas, como por exemplo, oligodendrogliomas, sarcomas histiocíticos e carcinomas de plexo coróide (Dickinson *et al.*, 2006; Zimmerman *et al.*, 2006; Bailey, C, 2008; Terlizzi e Platt, 2006; Dickinson *et al.*, 2000).

Dickinson *et al.* (2006) descreveu que 27% (20/77) de cães com meningioma apresentaram pleocitose com predomínio de neutrófilos em 19% (15/77) em sua pesquisa.

Nas neoplasias cerebrais, o linfoma é o mais facilmente diagnosticado, entretanto, a observação de outras células neoplásicas é pouco comum em cães. Podem-se encontrar

células tumorais no LCR dos gliomas (oligodendrogliomas), do sarcoma histiocítico e do papiloma do plexo coróide. A citologia negativa não exclui a presença de tumor intracerebral, principalmente massas profunda no parênquima (Bailey, C, 2008; Terlizzi; Platt, 2006; Dickinson *et al.*, 2000).

Doenças Parasitárias

Toxoplasmose e Neosporose. O LCR associado com infecções protozoárias geralmente apresenta de um leve a moderado aumento na contagem de leucócitos e proteínas totais. Tipicamente, o CCNT mostra uma pleocitose mista com monócitos, linfócitos, neutrófilos e eosinófilos (Cuddon *et al.*, 1992; Rand *et al.*, 1994), porém ocasionalmente a contagem de leucócitos e proteínas pode estar normal (Tipold, 1995). A IgG no LCR pode estar aumentada (Tipold *et al.*, 1994). Diversos métodos podem identificar anticorpos antiprotozoários no LCR, entretanto a sua presença não indica doença clínica (Munana *et al.*, 1995). Ocasionalmente organismos podem ser vistos nas células do LCR (Gaitero *et al.*, 2006). Pelo fato de a toxoplasmose não ser um patógeno primário, a toxoplasmose clínica é rara e pode se manifestar em associação com doenças secundárias como a cinomose, enfermidade que pode causar alterações no LCR (Dubey *et al.*, 1989).

Toxicidade

Alterações no LCR em casos de intoxicações usualmente é comum. As toxinas produzem quebra da BHE, necrose ou degeneração neural. A intoxicação por chumbo pode aumentar levemente o CCNT e o índice protéico no LCR (Dorman *et al.*, 199; George, 1996). Se a necrose for severa, a contagem de CCNT e de proteínas pode estar marcadamente aumentada com predomínio de neutrófilos. Além disso, na

intoxicação por chumbo, os níveis de glicose, uréia, creatinina e creatina fosfoquinase podem estar aumentados (Swarup e Maiti, 1991).

Trauma

As alterações no LCR no trauma dependem da compressão, do grau de dano neuronal, da localização, da manutenção e da progressão do trauma. No trauma agudo, o LCR pode apresentar-se rosa, turvo ensanguentado. Após a centrifugação do sobrenadante, o LCR pode estar claro, porém pode estar amarelo após 48 horas de um processo hemorrágico pela concentração de bilirrubinas. A contagem total de eritrócitos pode estar marcadamente elevada. O CCNT aumentado neste caso, pode refletir hemorragia no interior do espaço subaracnóide ou inflamação decorrente do trauma. A eritrofagocitose pode estar presente. A pleocitose pode ser mista com predomínio de neutrófilos (40-50%) (Thomson *et al.*, 1989). Em um estudo de DDIV, foi observada pleocitose mista com alto conteúdo de células (426 cels/uL) (Windsor *et al.*, 2007). As proteínas totais podem ser de moderada a marcadamente aumentadas em decorrência da alteração dos vasos sanguíneos e da interrupção do fluxo do LCR e consequente necrose. Com o trauma da medula espinhal, o LCR lombar pode ser mais anormal do que o LCR cerebelomedular (Thomson *et al.*, 1990). Windsor *et al.* (2007), observou que em cães com doença do disco intervertebral tipo I apresentam pleocitose, sendo mais comumente encontrada a linfocítica do que a neutrofílica. O CCNT nesse caso pode estar elevado (180 céls/uL). O quociente de albumina em animais que sofreram trauma pode ser normal ou incrementado, refletindo alteração vascular e edema (Sorjonen *et al.*, 1991). O índice de gama globulinas e IgG é usualmente normal. O aumento ocasional das imunoglobulinas pode evidenciar a presença de células inflamatórias no local da lesão (Andrews e Provenza, 1995).



Imagens especializadas de TC e RM têm facilitado o diagnóstico de doenças neurológicas na medicina veterinária, todavia devido a dificuldade na obtenção de material para análise patológica poucas ferramentas clínicas podem auxiliar no diagnóstico. Os biomarcadores estão associados com o processo do gene até a síntese proteínas ou metabólitos, podendo indicar objetivamente um processo fisiológico ou patológico. Recentemente, com o ingresso da genômica, proteômica e metabolômica, os recentes trabalhos vêm desenvolvendo biomarcadores com fins diagnósticos e prognósticos nas diversas patologias neurológicas, principalmente na medicina humana, porém aplicáveis na medicina veterinária. Por exemplo, a enzima metabólica enolase neurônio-específica é encontrada em altos níveis no tecido neural. Pode ser liberada por neurônios lesados por isquemia, esclerose múltipla, trauma medular agudo e trauma crânio encefálico em modelos de roedores e em humanos. Por exemplo em cães, os níveis estiveram aumentados na doença neurodegenerativa gangliosidose GM1 e na meningoencefalite (Herrmann *et al.*, 2003; Satoh *et al.*, 2007; Nakamura *et al.*, 2012). A proteína básica da mielina (PBM) contribui na mielinização do SNC e SNP, sendo produzida pelos oligodendrócitos. Tem sido detectada no LCR em humanos com esclerose múltipla, trauma medular e trauma crânio encefálico (Yokobori *et al.*, 2013). A PBM mostrou-se aumentada em cães que não tiveram recuperação a longo prazo, comparado-se com aqueles que tiveram recuperação com 78% de sensibilidade e 76% de especificidade para prever o sucesso na recuperação, após a doença do disco intervertebral toracolombar (Ito e Jeffrey, 2003). Witsberger *et al.* (2012), também avaliou relações entre biomarcadores (creatina kinase [CK] e PBM) em 54 cães com DDIV toracolombar. Dentre os resultados obtidos, animais com o valor de CK ≤ 38 U/L, obtiveram 35 vezes maior probabilidade de deambulação a longo prazo. Além disto, a recuperação funcional foi $> 98\%$ para animais afetados,

quando a atividade foi ≤ 38 U/L tanto para a CK como ≤ 3 ng/mL para a PBM. Portanto, as duas aumentam o valor preditivo da recuperação do trauma e acrescentaram informação importante à avaliação clínica (avaliação da sensibilidade profunda como fator prognóstico).

A proteína ácida fibrilar glial (GFAP) faz parte dos filamentos intermediários que conformam o citoesqueleto dos astrócitos e da BHE. Em humanos, os níveis no LCR aumentam na doença de Alzheimer, na esclerose múltipla, no trauma medular, no acidente cérebro vascular e no trauma cranioencefálico (Sato *et al.*, 2013).

A proteína Tau (c-Tau) e os neurofilamentos (NF, cadeia leve, mediana e pesada), fazem parte do citoesqueleto, podendo ser detectados no soro e no LCR após lesão neuronal. Em humanos, há uma correlação com doenças neurodegenerativas, como o Alzheimer, a esclerose múltipla, os traumas medular e cranioencefálico (Blennow *et al.*, 1995; Kapaki *et al.*, 2000). Em cães com DDIV, observouse que a a proteína c-Tau foi observou-se uma alta concentração em pacientes paraplégicos ou tetraplégicos do que pacientes parésicos ou normais. Os níveis de 41.3 pg/m de c-Tau nestes animais mostraram um 86% de sensibilidade e 83% de especificidade. Nishida *et al.* (2014), relatou níveis aumentados de NF em cães paraplégicos com ausência de dor profunda. Usando o ponto de corte de 1.590 pg/mL, o valor no soro de NF foi de 34,8% de sensibilidade e 100% de especificidade para prever a recuperação na mobilidade.

As metaloproteinases de matriz MMPs são endopeptidases e compõem a matriz extracelular. Estão relacionadas ao remodelamento do tecido, ao desenvolvimento, a regulação do processo fisiológico do SNC adulto sadio e a migração tumoral (Rivera *et al.*, 2010). O aumento da atividade da MMP-9 foi detectada em 6 de 35 cães com DDIV. Os animais com maior grau de compressão apresentaram maior probabilidade

de expressar a MMP-9 no LCR ao comparar-se com aqueles que possuíam atividade motora. Além disso, essa endopeptidase pode haver maior atividade em processos neoplásicos intracranianos (meningioma, glioma, tumor da pituitária, tumor do plexo coróide e linfoma). Em humanos, a atividade da MMP-2 e da MMP-9 foi correlacionada com meningiomas de alto grau (Mariani et al., 2013; Von Randow et al., 2006).

Os biomarcadores no LCR podem contribuir no diagnóstico e prognóstico das doenças neurológicas, porém muitos trabalhos são importantes para definir os valores e eficácia de cada marcador em pequenos animais. A interpretação e o conhecimento dos mecanismos fisiopatológicos nos quais os biomarcadores estão alterados podem auxiliar o desenvolvimento de novas terapêuticas nas patologias que acometem o sistema nervoso.

■ Referências

- Abbott, N.J.; Ronnback, L.; Hansson, E. (2006) Astrocyte-endothelial interactions at the blood-brain barrier. *Nat Rev Neurosci*; 7: 41–53
- Amude, A. M., Alfieri, A. A., and Alfieri, A. F. (2006a). Antemortem diagnosis of CDV infection by RT-PCR in distemper dogs with neurological deficits without the typical clinical presentation. *Vet. Res. Commun.* 30, 679–687.
- Andrews, F. M., and Provenza, M. (1995). Differentiating neurologic disease in the horse using albumin quotient and IgG index determination. *In* "Thirteenth Annual ACVIM Medical Forum," vol. 13, p. 600–603. Lake Buena Vista, FL.
- Bailey, C.; Higgins, R. (1986) Characteristics of cerebrospinal fluid associated with canine granulomatous meningoencephalomyelitis: a retrospective study. *J AM Vet Med Assoc*;188: 418-42.
- Berthelin, C. F., Bailey, C. S., Kass, P. H., Legendre, A. M., and Wolf, A. M. (1994a). Cryptococcosis of the nervous system in dogs. Part 1. Epidemiologic, clinical, and neuropathological features. *Prog. Vet. Neurol.* 5, 88–97.
- Blennow K, Wallin A, Agren H, et al. Tau protein in cerebrospinal fluid: a biochemical marker for axonal degeneration in Alzheimer disease? *Mol Chem Neuropathol* 1995; 26:231–45.
- Bohn, A.A.; Wills, T.B.; West, C. L, et al. (2006) Cerebrospinal fluid analysis and magnetic resonance imaging in the diagnosis of neurologic disease in dogs: a retrospective study. *Vet Clin Pathol*; 35: 315-20.
- Braund, K. G. (1994). *Clinical Syndromes in Veterinary Neurology*. Mosby, St. Louis, MO.
- Breitschwerdt, E. B., Levy, M. G., Davidson, M. G., Walker, D. H., Burgdorfer, W., Curtis, B. C., and Babineau, C. A. (1990). Kinetics of IgM and IgG responses to experimental and naturally acquired *Rickettsia rickettsii* infection in dogs. *Am. J. Vet. Res.* 51, 1312–1316.
- Catala, M. (1998) Embryonic and fetal development of structures associated with the cerebrospinal fluid in man and other species. *Arch Anat Cytol Path*; 46:153–169.
- Cauzinille, L., and Kornegay, J. N. (1996). Fibrocartilaginous embolism of the spinal cord in dogs: review of 36 histologically confirmed cases and retrospective study of 26 suspected cases. *J. Vet. Intern. Med.* 10, 241–245.
- Chrisman, C.L., 1992. Cerebrospinal fluid analysis. *Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice* 22, 781–810.
- Coates, J. R. (1995). What is your neurologic diagnosis? An atypical case of diskospondylitis caused by *Aspergillus* spp. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 206, 1333–1335.



- Cook, J.R y DeNicola, D.B. (1988) Cerebrospinal fluid. *Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice*; 18; 18: 475–499
- Coplin, W.M.; Longstreth, W.T.; Lam A.M. et al.(1999) Cerebrospinal fluid creatine kinase-BB isoenzyme activity and outcome after subarachnoid hemorrhage. *Arch Neurol*; 56: 1348–1352.
- Cristofori, L. et al. (2005) Biochemical analysis of the cerebrospinal fluid: evidence for catastrophic energy failure and oxidative damage preceding brain death in severe head injury: Case report, *Clinica Biochemistry*; 38: 29-100
- Cuddon, P. A. (1990). Electrophysiological and immunological evaluation in coonhound paralysis. In "8th Annual ACVIM Forum," p. 1009 – 1012, Washington, DC.
- Cuddon, P., Lin, D. S., Bowman, D. D., Lindsay, D. S., Miller, T. K., Duncan, I. D., deLahunta, A., Cummings, J., Suter, M., Cooper, B., et al. (1992). Neospora caninum infection in English Springer Spaniel littermates. Diagnostic evaluation and organism isolation. *J. Vet. Intern. Med.* 6, 325–332.
- De Lahunta, A.(1983) Cerebrospinal fluid and hydrocephalus. En: DeLahunta, A. (Ed.), *Veterinary Neuroanatomy and Clinical Neurology*. Saunders, Philadelphia, PA. p. 30–52.
- Dickinson , P. J.; Keel , M. K.;Higgins , R. J. (2000) Clinical and pathologic features of oligodendrogliomas in two cats . *Vet. Pathol.*, v. 37 , p. 160 – 167, 2000.
- Dickinson, P.J., Sturges, B.K., Kass, P.H., LeCouteur, R.A., 2006. Characteristics of cisternal cerebrospinal fluid associated with intracranial meningiomas in dogs: 56 cases (1985–2004). *Journal of the American Veterinary Medical Association* 228, 564–567.
- Dorman, D. C., Parker, A. J., and Buck, W. B. (1990). Bromethalin toxicosis in the dog. part I: clinical effects. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 26, 589–594.
- Dubey, J. P., Carpenter, J. L., Topper, M. J., and Uggla, A. (1989). Fatal toxoplasmosis in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 25, 659–664.
- Duque, C., Parent, J., Brisson, B., Da Costa, R., and Poma, R. (2005). Intracranial arachnoid cysts: are they clinically significant? *J. Vet. Intern. Med.* 19, 772–774.
- Fenner, W.R., 1998. Central nervous system infections. In: Greene, C.E. (Ed.), *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. Saunders, Philadelphia, PA, pp. 647–657.
- Fishman, R.A. (Ed.), *Cerebrospinal Fluid in Diseases of the Nervous System*, second ed. Saunders, Philadelphia, PA, 1992.
- Freeman, R.A., Raskin, R.E., 2001. Cytology of the central nervous system. In: Raskin, R.E., Meyer, D.J. (Eds.), *Atlas of Canine and Feline Cytology*. Saunders, Philadelphia, PA, pp. 325–365.
- George, L. W. (1996). In "Large Animal Internal Medicine" (B. P. Smith, Ed.), pp. 1001–1175. Mosby, St. Louis, MO.
- Grevel, V., Machus, B., Steeb, C., 1992. Cytology of the cerebrospinal fluid in dogs with brain tumors and spinal cord compression. Part 4. *Tiera ¨rztliche Praxis* 20, 419–428.
- Grunenfelder, F. I., Weishaupt, D., Green, R., and Steffen, F. (2005). Magnetic resonance imaging findings in spinal cord infarction in three small breed dogs. *Vet. Radiol. Ultrasound* 46, 91–96.
- Guyton, A.C.; Hall, J.E. Cerebral blood flow, the cerebrospinal fluid, and brain metabolism.



In: Guyton, A.C., Hall, J.E. (Eds.), Textbook of Medical Physiology. Saunders, Philadelphia, PA, pp. 679–685, 2000.

Heidner, G. L., Kornegay, J. N., Page, R. L., Dodge, R. K., and Thrall, D. E. (1991). Analysis of survival in a retrospective study of 86 dogs with brain tumors. *J. Vet. Intern. Med.* 5, 219–226.

Herrmann M, Ehrenreich H. Brain derived proteins as markers of acute stroke: their relation to pathophysiology, outcome prediction and neuroprotective drug monitoring. *Restor Neurol Neurosci* 2003;21:177–90.

Hiyama, T.Y.; Watanabe, E.; Okado, H.; Noda, M. (2004) The subfornical organ is the primary locus of sodium-level sensing by Na(x) sodium channels for the control of salt-intake behavior. *J Neurosci*; 249: 276–9281.

Hurt, A.E., Smith, M.O., 1997. Effects of iatrogenic blood contamination on results of cerebrospinal fluid analysis in clinically normal dogs and dogs with neurologic disease. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 211, 866–867.

Ito D, Matsunaga S, Jeffrey ND, et al. Prognostic value of magnetic resonance imaging in dogs with paraplegia caused by thoracolumbar intervertebral disk extrusion: 77 cases (2000–2003). *J Am Vet Med Assoc* 2005;227:1454–60.

Jacobs, G. J., and Medleau, L. (1998). Cryptococcosis. In "Infectious Diseases of the Dog and Cat" (C. E. Green, Ed.), pp. 383–390. Saunders, Philadelphia.

Johnson, G. C., Fuciu, D. M., Fenner, W. R., and Krakowka, S. (1985). Transient leakage across the blood-cerebrospinal fluid barrier after intrathecal metrizamide administration to dogs. *Am. J. Vet. Res.* 46, 1303–1308.

Kapaki E, Paraskevas GP, Michalopoulou M, et al. Increased cerebrospinal fluid tau protein in multiple sclerosis. *Eur Neurol* 2000; 43:228–32.

Kitagawa, M., Kanayama, K., and Sakai, T. (2003). Quadrigeminal cisterna arachnoid cyst diagnosed by MRI in five dogs. *Aust. Vet. J.* 81, 340–343.

Lane, S. B., Kornegay, J. N., Duncan, J. R., and Oliver, J. E., Jr. (1994). Feline spinal lymphosarcoma: a retrospective evaluation of 23 cats. *J. Vet. Intern. Med.* 8, 99–104.

Levine, J.E.; Povlishok, J.T y Becker, D.D. (1982) The morphological correlates of primate cerebrospinal fluid absorption. *Brain Res*; 241: 31–41.

Mariani CL, BoozerLB, BraxtonAM, et al. Evaluation of matrix metalloproteinase-2 and -9 in the cerebrospinal fluid of dogs with intracranial tumors. *Am J Vet Res* 2013;74:122–9.

Matsuki, N., Fujiwara, K., Tamahara, S., Uchida, K., Matsunaga, S., Nakayama, H., Doi, K., Ogawa, H., Ono, K., 2004. Prevalence of autoantibody in cerebrospinal fluids from dogs with various CNS diseases. *Journal of Veterinary Medical Science* 66, 295–297.

Molina, J. A.; Gomez, P.; Vargas, C. et al (2005). Neurotransmitter amino acid in cerebrospinal fluid of patients with dementia with Lewy bodies. *J Neural Transm*, v.112, p. 557–563, 2005.

Moore, M. P., Gavin, P. R., Bagley, R. S., and Harrington, M. L. (1994). Cerebrospinal fluid analysis in dog with intracranial tumors. In "12th Annual ACVIM Forum," p. 917, San Francisco, CA.

Munana, K., and Sharp, N. J. (2003). Use of a multiplex polymerase chain reaction assay in the antemortem diagnosis of toxoplasmosis and



neoplasia in the central nervous system of cats and dogs. *Am. J. Vet. Res.* 64, 1507–1513.

Munana, K. R., Lappin, M. R., Powell, C. C., Cooper, C. M., and Chavkin, M. J. (1995). Sequential measurement of *toxoplasma gondii*-specific antibodies in the cerebrospinal fluid of cats with experimentally induced toxoplasmosis. *Prog. Vet. Neurol.* 6, 27–31.

Nakamura K, Miyasho T, Nomura S, et al. Proteome analysis of cerebrospinal fluid in healthy beagles and canine encephalitis. *J Vet Med Sci* 2012;74:751–6.

Negrini, B. Kelleher, K.J, Wald, E.R. (2000) Cerebrospinal fluid findings in aseptic versus bacterial meningitis. *Pediatrics*;105:316–319

Nilsson, C.; Lindvall-Axelsson, M.; Owman, C. (1992) Neuroendocrine regulatory mechanisms in the choroid plexus-cerebrospinal fluid system. *Brain Res Rev*; 17:109–138

Nussinovitch, M.; Prais, D.; Volovitz, B. et al.() Reference values for lactate dehydrogenase activity and isoenzyme distribution in cerebrospinal fluid in neonates with fever but no evidence of cerebral disease. *Am J Perinatol*;19:109–114.

Oshio, K.; Watanabe, H.; Song Y. et al. (2005) Reduced cerebrospinal fluid production and intracranial pressure in mice lacking choroid plexus water channel Aquaporin-1. *Faseb J*; 19: 76–78

Podell, M y Hadjiconstantinou, M. (1997) Cerebrospinal fluid gammaaminobutyric acid and glutamate values in dogs with epilepsy. *American Journal of Veterinary Researc*; 58: 451- 456.

Posner, J.B y Plum, F (1967) Independence of blood and cerebrospinal fluid lactate. *Arch Neurol* ; 16, p. 492–496.

Pusterla, N., Colegrove, K. M., Moore, P. F., Magdesian, K. G., and Vernau, W. (2006a). Multicentric T-cell lymphosarcoma in an alpaca. *Vet. J.* 171, 181–185.

Rand, J. S., Parent, J., Percy, D., and Jacobs, R. (1994a). Clinical, cerebrospinal fluid, and histological data from thirty-four cats with primary noninflammatory disease of the central nervous system. *Can. Vet. J.* 35, 174–181.

Ransahoff, R.M.; Kivisakk, P; Kidd, G (2003) Three or more routes for leukocyte migration into the central nervous system. *Nat Rev Immunol*; 3: 569–581

Rider, L. G., Thapa, P. B., Del Beccaro, M. A., Gale, J. L., Foy, H. M., Farwell, J. R., and Mendelman, P. M. (1995). Cerebrospinal fluid analysis in children with seizures. *Pediatr. Emerg. Care* 11, 226–229.

Rivera S, Khrestchatsky M, Kaczmarek L, et al. Metzincin proteases and their inhibitors: foes or friends in nervous system physiology. *J Neurosci* 2010;30: 15337–57.

Rodriguez-Nunez, A. et al. (2003) Neuron-specific enolase, nucleotides, nucleosides, purine bases, oxypurines and uric acid concentrations in cerebrospinal fluid of children with meningitis. *Brain Dev*; 25: 102–106

Rosenberg, G.A. (1990). *Brain Fluids and Metabolism*. Oxford University Press, Oxford.

Rumbaugh, J y Avindra, N. (2009) Approach to the Patient with a Cerebrospinal Fluid Pleocytose. In: Irani, D. *Cerebrospinal Fluid in Clinical Practice*. Philadelphia; Saunders Elsevier: xx; 33p

Sakushima, K. et al. (2011) Diagnostic accuracy of cerebrospinal fluid lactate for differentiating bacterial meningitis from aseptic meningitis: A meta-analysis, *Journal Infectology*; 62: 255-262.

- Sato Y, Shimamura S, Mashita T, et al. Serum glial fibrillary acidic protein as a diagnostic biomarker in dogs with progressive myelomalacia. *J Vet Med Sci* 2013; 75:949–53.
- Satoh H, Yamato O, Asano T, et al. Cerebrospinal fluid biomarkers showing neurodegeneration in dogs with GM1 gangliosidosis: possible use for assessment of a therapeutic regimen. *Brain Res* 2007;1133:200–8.
- Sorjonen, D. C., Golden, D. L., Levesque, D. C., Shores, A., and Moore, M. P. (1991). Cerebrospinal fluid protein electrophoresis: a clinical evaluation of a previously reported diagnostic technique. *Prog. Vet. Neurol.* 2, 261–268.
- Sorjonen, D.C.(1987) Total protein, albumin quota, and electrophoretic patterns in cerebrospinal fluid of dogs with central nervous system disorders. *Am J Vet Res*; 48: 301-5.
- Stover, J.F.; Lowitzsch, K y Kempinski, O.S. (1997) Cerebrospinal fluid hypoxanthine, xanthine and uric acid levels may reflect glutamate-mediated excitotoxicity in different neurological diseases. *Neurosci Lett*; 238: 25–28
- Sturges, B. K., Dickinson, P. J., Kortz, G. D., Berry, W. L., Vernau, K. M., Wisner, E. R., and LeCouteur, R. A. (2006). Clinical signs, magnetic resonance imaging features, and outcome after surgical and medical treatment of otogenic intracranial infection in 11 cats and 4 dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 20, 648–656.
- Swarup, D., and Maiti, S. K. (1991). Changes in some biochemical constituents in blood and cerebrospinal fluid of lead intoxicated calves. *Indian J. Anim. Sci.* 61, 942–945.
- Taylor A.W y Streilein, J.W. (1996) Inhibition of antigen-stimulated effector T cells by human cerebrospinal fluid. *Neuroimmunomodulation*; 3: 112–118
- Terlizzi, R,D y Platt, S.(2006) The function, composition and analysis of cerebrospinal fluid in companion animals: Part I – Function and composition. *The Veterinary Journal*; 172: 422-431
- Thomas, W. (1998) *Inflammatory Disease of the Central Nervous System in Dogs. Clinical Techniques in Small Animal Practice*;13: 167-178
- Thompson, E. J. (2005) *Proteins of the Cerebrospinal Fluid. Analysis and Interpretation in the Diagnosis and Treatment of Neurological Disease*, second edition. Amsterdam: Elsevier Academic Press; 2005.
- Thomson, C. E., Kornegay, J. N., and Stevens, J. B. (1989). Canine inter-vertebral disc disease: changes in the cerebrospinal fluid. *J. Small Anim. Pract.* 30, 685–688.
- Tipold, A., (1995a) Diagnosis of inflammatory and infectious diseases of the central nervous system in dogs: a retrospective study. *Journal of Veterinary Internal Medicine*; 9: 304–314.
- Tipold, A., Pfister, H., Zurbriggen, A., and Vandeveld, M. (1994). Intrathecal synthesis of major immunoglobulin classes in inflammatory diseases of the canine CNS. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 42, 149–159.
- Tripathi, B.J y Tripathi, R.C. (1974) Vacuolar transcellular channels as a drainage pathway for cerebrospinal fluid. *J Physiol*; 239: 195–206.
- Van Bree, H., Van Rijssen, B., and Van Ham, L. (1991). Comparison of nonionic contrast agents iohexol and iotrolan for cisternal myelography in dogs. *Am. J. Vet. Res.* 52, 926–933.
- Vandeveld, M., and Spano, J. S. (1977). Cerebrospinal fluid cytology in canine neurologic disease. *Am. J. Vet. Res.* 38, 1827–1832.



- Vieira, D.S.S. et al. (2006) Cerebrospinal fluid GABA levels in chronic migraine with and without depression. *Brain Res*: 1090; 197–2012
- Vilanova, J.M. et al. (1998) Arachadonic acid metabolites in CSF in hypoxic-ischemic encephalopathy of newborn infants; 87: 588–592.
- Von Randow AJ, Schindler S, Tews DS. Expression of extracellular matrix- metalloproteinase protein in classic, atypical, and anaplastic meningiomas. *Pathol Res Pract* 2006; 202:365–72.
- Waxman, F. J., Clemmons, R. M., and Hinrichs, D. J. (1980). Progressive myelopathy in older German shepherd dogs II. Presence of circulating suppressor cells. *J. Immunol.* 124, 1216–1222.
- Windsor, R. C., Vernau, K. M., Sturges, B. K., Dickinson, P. J., Knipe, M. F., LeCouteur, R. A., Kass, P. H., and Vernau, W. (2007). Characterization of inflammatory cerebrospinal fluid in dogs with type 1 intervertebral disc disease: 213 cases. *In* "25th ACVIM Forum," pp. 641, abstract 25. Seattle, WA.
- Witsberger TH, Levine JM, Fosgate GT, et al. Associations between cerebrospinal fluid biomarkers and long-term neurologic outcome in dogs with acute intervertebral disk herniation. *J Am Vet Med Assoc* 2012;240:555–62.
- Yokobori S, Zhang Z, Moghieb A, et al. Acute diagnostic biomarkers for spinal cord injury: review of the literature and preliminary research report. *World Neurosurg* 2013;19. pii: S1878-8750 (13) 00459-2.
- Zimmerman, K., Almy, F., Carter, L., Higgins, M., Rossmesl, J., Inzana, K., and Duncan, R. (2006). Cerebrospinal fluid from a 10-year-old dog with a single seizure episode. *Vet. Clin. Pathol.* 35, 127–131.