

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**LÍQUIDO CEREBROESPINHAL DE CÃES COM
DOENÇAS DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Dakir Polidoro

**Santa Maria, RS, Brasil
2016**

LÍQUIDO CEREBROESPINHAL DE CÃES COM DOENÇAS DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL

Dakir Polidoro

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração em Cirurgia e Clínica Médica, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do Grau de **Mestre** em Medicina Veterinária

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Mazzanti

Santa Maria, RS, Brasil
2016

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Rurais
Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária
Departamento de Clínica de Pequenos Animais**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação de Mestrado

**LÍQUIDO CEREBROESPINHAL DE CÃES COM DOENÇAS DO
SISTEMA NERVOSO CENTRAL**

elaborada por
Dakir Polidoro

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Medicina Veterinária

Comissão examinadora:

**Alexandre Mazzanti, Prof. Dr. (UFSM)
(Presidente/Orientador)**

Rafael Almeida Fighera, Prof. Dr. (UFSM)

Lucas Marques Colomé, Dr.

Santa Maria, 03 de Março de 2016.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, ao meu irmão e à minha família pelo carinho e pela compreensão da minha ausência durante todos estes anos e ao apoio incondicional mesmo nestas circunstâncias.

Ao meu orientador Professor Alexandre Mazzanti pela oportunidade, por toda a experiência e ensinamentos compartilhados, pelo incentivo, pela amizade e por acreditar naquilo que sonho ser um dia.

Ao Laboratório de Cirurgia Experimental da Universidade Federal de Santa Maria e em especial à equipe do Serviço de Neurologia do Hospital Veterinário da UFSM que contribuiu muito para a realização deste trabalho.

Agradeço todos os colegas que tive durante os sete anos de UFSM, aos estagiários e aos professores que contribuíram para a minha formação acadêmica, em especial, Diego Beckmann, Rosmarini Passos dos Santos e Raquel Baumhardt.

À Bruna Maciel e família pelo apoio e carinho durante estes anos, vocês foram imprescindíveis para esta conquista.

Ao CNPq pela disponibilização da bolsa de estudos.

À Universidade Federal de Santa Maria pelo acolhimento durante todos estes anos.

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária
Universidade Federal de Santa Maria

LÍQUIDO CEREBROESPINHAL DE CÃES COM DOENÇAS DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL

AUTOR: DAKIR POLIDORO
ORIENTADOR: ALEXANDRE MAZZANTI
Santa Maria, 03 de MARÇO de 2016.

Foi realizado um estudo retrospectivo dos resultados do líquido cerebroespinal (LCE) de cães, atendidos pelo Serviço de Neurologia (SN) do Hospital Veterinário Universitário (HVU) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), de 2004 a 2015, com o objetivo de analisar os resultados obtidos do LCE de cães com sinais neurológicos, e comparar as alterações encontradas no LCE em dois locais de colheita no mesmo paciente e verificar se esse exame auxiliou o clínico em reforçar a suspeita clínica das principais doenças do sistema nervoso central. Dos 507 pacientes que foram submetidos à análise do LCE, apenas as análises de 144 (26,5%) cães se adequaram aos critérios de inclusão. Dentre estes, cães com cinomose representaram 21,6% (n=31), doença do disco intervertebral (DDIV) 52,7% (n=76), tumores intracranianos (IC) 13,2% (n=19) e tumores envolvendo a medula espinal (ME) 8,3% (n=12). A pleocitose linfocítica esteve presente em 78,3% (29/37) das amostras de cães com cinomose e em 23,2% (10/43) das amostras de cães com DDIV. Já a dissociação albuminocitológica foi encontrada em 73% (19/26) das amostras de cães com tumores IC e em 64,3% (9/14) das amostras de cães com tumores envolvendo a ME. Para os cães acometidos pela DDIV, houve significância estatística ($p < 0,05$) entre o grau de disfunção neurológica e o total de células nucleadas e total de proteínas encontrados no LCE destes cães. Em 29 cães, houve a colheita do LCE tanto na cisterna magna (CM) quanto na cisterna lombar (CL) e em 12 (41,4%) os resultados foram diferentes entre as duas amostras colhidas do mesmo cão, onde dois (6,9%) apresentaram alteração na amostra colhida cranial à lesão. Pode-se concluir que a pleocitose linfocítica foi a principal alteração encontrada no LCE de cães com cinomose e DDIV e dissociação albuminocitológica nas neoplasias, intracranianas e medulares, cães acometidos pela DDIV apresentaram sinais neurológicos mais severos conforme o TCN e o TP aumentaram e o LCE sofreu alteração, mesmo colhido cranial ao local da lesão e auxiliou o clínico em reforçar a suspeita clínica, mas não confirmou, as principais doenças neurológicas em cães.

Palavras-chave: Líquor, inflamação, pleocitose, dissociação albuminocitológica

ABSTRACT

MSc Dissertation
Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária
Universidade Federal de Santa Maria

CEREBRAL SPINAL FLUID OF DOGS WITH CENTRAL NERVOUS SYSTEM DISEASES

AUTHOR: DAKIR POLIDORO
ADVISER: ALEXANDRE MAZZANTI
Santa Maria, MARCH 6th, 2016.

A retrospective study including the analysis of the cerebrospinal fluid (CSF) of dogs neurologically affected was conducted by the Neurology Service (NS) of the Veterinary Teaching Hospital (VTH) at the Federal University of Santa Maria (FUSM), between 2004 and 2015. The aim of this study was to analyze the results of the CSF of dogs with neurological signs, and compare the changes found in the CSF in two sampling sites in the same patient and see if this test helped the clinician to strengthen clinical suspicion of the major diseases of the central nervous system. Of the 507 patients that underwent CSF analysis, only the analysis of 144 (26.5%) dogs were suited to inclusion criteria. The main diagnosed neurological diseases were distemper (21.6% [n=31]), intervertebral disc disease (IVDD) (52.7% [n=76]), intracranial (IC) tumors (13.2% [n=19]) and tumors which affected the spinal cord (SC) (8.3% [n=12]). Lymphocytic pleocytosis was present in 78.3% (29/37) of samples from dogs with canine distemper and in 23.2% (10/43) of samples from dogs with IVDD. The albuminocytologic dissociation was found in 73% (19/26) of samples from dogs with IC tumors and in 64.3% (9/14) of the samples from dogs with tumors involving the SC. For dogs affected by IVDD, there was statistical significance ($p < 0.05$) between the degree of neurological dysfunction and the total nucleated cells (TNC) and total protein (TP). In 29 dogs, CSF was collected from both the cistern magna (CM) and the lumbar cistern (CL) and in 12 (41.4%) the results were different between the samples of the same dog, where two cases (6, 9%) showed alterations in the sample collected cranial to the injury. It can be concluded that the lymphocytic pleocytosis was the main alteration found in the CSF of dogs with distemper and IVDD and albuminocytologic dissociation in tumors, intracranial and affecting the spinal cord. Dogs affected by IVDD had more severe neurological signs as TNC and TP increased and the CSF was altered even collected cranial to the lesion site and helped the clinician to strengthen the clinical suspicion., but not confirm, the major neurological diseases in dogs.

Key words: Liquor, inflammation, pleocytosis, albuminocytologic dissociation

LISTA DE QUADROS

ARTIGO 1

- Quadro 1 – Resultado das amostras e média do total de células nucleadas (TCN) e do total de proteínas (TP) do líquido cerebrospinal (LCE) colhidos de cães com cinomose.....21
- Quadro 2 – Resultado das amostras do líquido cerebrospinal (LCE) de cães acometidos pela doença do disco intervertebral (DDIV).....22
- Quadro 3 – Estimativa dos coeficientes da regressão binomial negativa, erro padrão e p-valores para o efeito do grau de disfunção neurológica sobre o total de células nucleadas (TCN) e o total de proteínas (TP) para as 80 amostras de líquido cerebrospinal (LCE) colhidas de cães acometidos pela doença do disco intervertebral (DDIV).....23
- Quadro 4 – Resultado das amostras e grau de severidade das pleocitoses do líquido cerebrospinal (LCE) de cães acometidos por tumores intracranianos (IC) e da medula espinal (ME).....24
- Quadro 5 – Resultado das amostras do líquido cerebrospinal (LCE) de cães submetidos à colheita em dois locais diferentes (CM e CL) em que os resultados das amostras foram diferentes.....25

LISTA DE FIGURAS

ARTIGO 1

- Figura 1 – Representação gráfica em diagrama de caixa da análise de 80 amostras de líquido cerebrospinal (LCE) de cães acometidos pela doença do disco intervertebral (DDIV) em relação aos graus de disfunção neurológica e o total de células nucleadas (TCN) para $p < 0,05$26
- Figura 2 – Representação gráfica em diagrama de caixa da análise de 80 amostras de líquido cerebrospinal (LCE) de cães acometidos pela doença do disco intervertebral (DDIV) em relação aos graus de disfunção neurológica e o total de proteínas (TP) para $p < 0,05$27

LISTA DE ABREVIATURAS

CM – cisterna magna
CL – cisterna lombar
DAC – dissociação albuminocitológica
DDIV – doença do disco intervertebral
dl - decilitro
HUSM – Hospital Universitário de Santa Maria
HVU – Hospital Veterinário Universitário
IC – intracraniano
kg – quilograma
LAC – Laboratório de Análises Clínicas
LCE – líquido cérebro espinhal
ME – medula espinhal
mg - miligrama
ml – mililitro
PIC – pressão intracraniana
SN – Serviço de Neurologia
SNC – sistema nervoso central
TCN – total de células nucleadas
TL - toracolombar
TP – total de proteínas
UFSM – Universidade Federa de Santa Maria
 μ l - microlitro

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| 1. INTRODUÇÃO | 10 |
| 2. ARTIGO 1 – Líquido cerebrospinal de cães com doenças neurológicas..... | 12 |
| Abstract | 13 |
| Resumo | 13 |
| Introdução | 14 |
| Material e Métodos | 14 |
| Resultados | 15 |
| Discussão | 16 |
| Conclusões | 18 |
| Referências | 18 |
| 3. CONCLUSÕES | 27 |
| 4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 28 |

1. INTRODUÇÃO

O líquido cerebrospinal (LCE), também chamado líquido cefalorraquidiano ou líquor, é um fluido claro e incolor que banha e permeia todo o sistema nervoso central (SNC) e, desta forma, o protege e o nutre uniformemente (Platt & Garosi, 2012). Ele se origina do plexo coroide dos ventrículos laterais, terceiro e quarto ventrículos do encéfalo e é posteriormente absorvido pelas vilosidades aracnoides presentes nos seios venosos e veias cerebrais (De Lahunta & Glass, 2009).

O LCE é considerado o resultado da ultrafiltração do plasma e seu fluxo é predominantemente rostrocaudal, fluindo através do sistema ventricular até o canal central da medula, onde posteriormente chega à região da cauda equina (Platt & Olby, 2013), embora o fluxo possa também ocorrer no sentido cranial devido a influência direta da pulsação do sangue no plexo coroide e do ciclo cardíaco (De Lahunta & Glass, 2009).

A composição do LCE é controlada por interfaces ou barreiras semipermeáveis formadas por células que o separa do tecido nervoso (encéfalo e medula espinal) da circulação sistêmica. A barreira hematoencefálica, hematolíquórica e líquor-encefálica controlam a produção e a absorção do LCE e são necessárias para sobrevivência das células do tecido neural, pois quando há a quebra destas barreiras, as células inflamatórias, proteínas e substâncias tóxicas invadem o SNC através da circulação sanguínea (Di Terlizzi & Platt, 2009).

O exame do LCE é considerado um importante indicador de doenças que acometem do SNC (Vernau et al., 2008). Anormalidades na cor, na celularidade e na concentração de proteínas do LCE contribuem para um diagnóstico presuntivo, (Dewey & Da Costa, 2016) e permitem com que as doenças possam ser individualmente classificadas, ou seja, inflamatórias, infecciosas, neoplásicas, entre outras (Tipold, 1995). A análise do LCE pode fornecer ainda, com menor frequência, um diagnóstico mais específico quando há a presença de agentes infecciosos como bactérias e fungos ou até mesmo células neoplásicas (Di Terlizzi & Platt, 2009).

Os resultados obtidos no LCE devem ser avaliados com cautela, pois não é incomum que os achados não reflitam as lesões que realmente estão afetando o SNC (De Lahunta & Glass, 2009). Desta forma, mesmo que a análise do fluido possa fornecer rapidamente ao clínico informações úteis como a escolha do tratamento e futuros exames adicionais, os

resultados do LCE devem ser interpretados juntamente com o histórico, sinais clínicos e outros testes diagnósticos (Platt & Olby, 2013).

A colheita do LCE é indicada quando se suspeita de doenças que afetam o SNC (Di Terlizzi & Platt, 2009), mas se torna contraindicada em casos aonde o paciente não pode ser submetido à anestesia geral, apresenta instabilidade vertebral ou suspeita de aumento da pressão intracraniana (Platt & Garosi, 2012).

O LCE pode ser colhido da cisterna magna (CM) entre o osso occipital e primeira vértebra cervical (atlas) ou da cisterna lombar (CL) entre os espaços vertebrais lombares L5-L6. A análise pode ser feita por meio da determinação do número de células nucleadas, da concentração de proteínas, características físicas e macroscópicas, avaliação de componentes químicos, de anticorpos e presença de agentes infecciosos (De Lahunta & Glass, 2009; Roerig et al., 2013; Sruogo et al., 2011; Vernau et al., 2008). A amostra é geralmente colhida caudal ao local da lesão devido o sentido do fluxo (rostrocaudal), mas se recomenda a colheita nos dois locais (CM e CL) quando houver a suspeita de uma doença multifocal (Dewey & Da Costa 2016). A quantidade mínima de LCE para análise é de 0,5 ml, mas pode se colher seguramente 0,2 ml/kg na maioria dos animais sem causar danos ao tecido nervoso (Platt & Olby, 2013).

Atualmente, com o aumento da disponibilidade e acessibilidade de exames de imagem mais específicos como a ressonância magnética (RM), a necessidade da análise do LCE passou a ser questionada e, por muitas vezes, só é realizada quando há suspeita de alguma doença inflamatória do SNC (Bohn et al., 2006).

Considerando países como o Brasil, em que a RM é ainda restrita e dispendiosa, a análise do LCE continua a ser o exame mais importante quando se suspeita de doença do SNC. Diante disso, o objetivo deste estudo é analisar os resultados obtidos do LCE de cães com sinais neurológicos e verificar diferenças nas análises do LCE colhido em dois locais distintos em um mesmo cão.

2. ARTIGO 1

LÍQUIDO CEREBROESPINHAL DE CÃES COM DOENÇAS DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL

Dakir Polidoro e Alexandre Mazzanti

(Artigo será submetido para publicação – Pesquisa Veterinária Brasileira)

Líquido cerebrospinal de cães com doenças do sistema nervoso central¹

Dakir Polidoro^{2*}; Alexandre Mazzanti²

ABSTRACT.- Polidoro, D., Mazzanti, A. 2016. [cerebral spinal fluid of dogs with central nervous system diseases] Líquido cerebrospinal de cães com doenças do sistema nervoso central. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 00(0):00-00. Departamento de Clínica de Pequenos Animais, Centro de Ciências Rurais, UFSM, Av. Roraima 1000, Camobi, Santa Maria, RS 97105-900, Brazil. E-mail: dakirp@hotmail.com

A retrospective study including the analysis of the cerebrospinal fluid (CSF) of dogs neurologically affected was conducted by the Neurology Service (NS) of the Veterinary Teaching Hospital (VTH) at the Federal University of Santa Maria (FUSM), between 2004 and 2015. The aim of this study was to analyze the results of the CSF of dogs with neurological signs, and compare the changes in the CSF in two sampling sites in the same patient and see if this test helped the clinician to strengthen clinical suspicion of the major diseases of the central nervous system. Of the 507 patients that underwent CSF analysis, only 144 (26.5%) dogs were suited to inclusion criteria. The main diagnosed diseases were distemper (21.6% [n=31]), intervertebral disc disease (IVDD) (52.7% [n=76]), intracranial (IC) tumors (13.2% [n=19]) and tumors affecting the spinal cord (SC) (8.3% [n=12]). Lymphocytic pleocytosis was present in 78.3% (29/37) of samples from dogs with distemper and in 23.2% (10/43) of samples from dogs with IVDD. The albuminocytologic dissociation was found in 73% (19/26) of samples from dogs with IC tumors and in 64.3% (9/14) from dogs with tumors involving the SC. For dogs with IVDD, there was statistical significance ($p < 0.05$) between the degree of neurological dysfunction and the total nucleated cells and total protein. In 29 dogs, CSF was collected from the cistern magna and the lumbar and in 12 (41.4%) the results were different between the samples of the same dog, where two cases (6, 9%) showed alterations in the sample collected cranial to the injury. It can be concluded that the lymphocytic pleocytosis was the main alteration found in the CSF of dogs with distemper and IVDD and albuminocytologic dissociation in tumors, intracranial and affecting the spinal cord. Dogs affected by IVDD had more severe neurological signs as TNC and TP increased and the CSF was altered even collected cranial to the lesion site and helped the clinician to strengthen the clinical suspicion, but not confirm, the major neurological diseases in dogs.

INDEX TERMS: Liquor, inflammation, pleocytosis, albuminocytologic dissociation.

RESUMO.- Foi realizado um estudo retrospectivo dos resultados do líquido cerebrospinal (LCE) de cães, atendidos pelo Serviço de Neurologia (SN) do Hospital Veterinário Universitário (HVU) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), de 2004 a 2015, com o objetivo de analisar os resultados obtidos do LCE de cães com sinais neurológicos, e comparar as alterações encontradas no LCE em dois locais de colheita no mesmo paciente e verificar se esse exame auxiliou o clínico em reforçar a suspeita clínica das principais doenças do sistema nervoso central. Dos 507 pacientes submetidos à análise do LCE, apenas 144 (26,5%) cães se adequaram aos critérios de inclusão. Dentre estes, cães com cinomose representaram 21,6% (n=31), doença do disco intervertebral (DDIV) 52,7% (n=76), tumores intracranianos (IC) 13,2% (n=19) e tumores envolvendo a medula espinhal (ME) 8,3% (n=12). A pleocitose linfocítica esteve presente em 78,3% (29/37) das amostras de cães com cinomose e em 23,2% (10/43) de cães com DDIV. Houve dissociação albuminocitológica em 73% (19/26) das amostras de cães com tumores IC e em 64,3% (9/14) de cães com tumores envolvendo a ME. Em cães com DDIV, houve significância estatística ($p < 0,05$) entre o grau de disfunção neurológica e o total de células nucleadas e total de proteínas. Em 29 cães, houve a colheita do LCE da cisterna magna e da cisterna lombar e em 12 (41,4%) os resultados foram diferentes entre as duas amostras colhidas do mesmo cão, onde dois (6,9%) apresentaram alteração na amostra colhida cranial à lesão. Pode-se concluir que a pleocitose linfocítica foi a principal alteração encontrada no LCE de cães com cinomose e DDIV e dissociação albuminocitológica nas neoplasias, intracranianas e medulares, cães acometidos pela DDIV apresentaram sinais neurológicos mais severos conforme o TCN e o TP aumentaram e o LCE sofreu alteração, mesmo colhido cranial ao local da lesão e auxiliou o clínico em reforçar a suspeita clínica, mas não confirmou, as principais doenças neurológicas em cães.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Líquor, inflamação, pleocitose, dissociação albuminocitológica.

¹ Recebido em

Aceito para publicação em

² Departamento de Clínica de Pequenos Animais (DCPA), Centro de Ciências Rurais (CCR), Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Av. Roraima 1000, Camobi, Santa Maria, RS 97105-900, Brasil. *Autor para correspondência: dakirp@hotmail.com

INTRODUÇÃO

O líquido cerebrospinal (LCE) é um fluido claro e incolor cuja função é proteger e nutrir o sistema nervoso central (SNC) (Platt & Garosi 2012). Esse ultrafiltrado do plasma se origina a partir do plexo coroide dos ventrículos laterais, terceiro e quarto ventrículos, fluindo através do sistema ventricular até o canal central da medula e, posteriormente, à região da cauda equina (De Lahunta e Glass 2009).

Seu fluxo é predominantemente rostrocaudal, sendo absorvido pelas vilosidades aracnoides presentes nos seios venosos e veias cerebrais (Platt & Olby 2013). Acredita-se que devido à influência direta da pulsação do sangue no plexo coroide e do ciclo cardíaco, o fluxo do LCE possa ser também no sentido cranial (De Lahunta & Glass 2009).

A colheita do LCE é indicada quando se suspeita de doença inflamatória, infecciosa, traumática, neoplásica ou degenerativa do SNC (Di Terlizzi & Platt 2009). Pode ser colhido da cisterna magna (CM), ou seja, entre os espaços atlanto-occipital ou da cisterna lombar (CL) entre L5-L6. Basicamente, a análise do LCE pode ser feita por meio de contagem celular, determinação da concentração de proteínas e avaliação das características físicas e macroscópicas da amostra (Vernau et al. 2008).

Poucos artigos utilizaram as alterações encontradas através da análise do LCE para se tentar fazer uma relação com o diagnóstico definitivo de uma determinada doença neurológica e, na sua maioria, empregaram outros métodos de auxílio ao diagnóstico como, por exemplo, a ressonância magnética (RM) (Thomson et al. 1990, Bohn et al. 2006, Windsor et al. 2009, Srugo et al. 2011). No Brasil e em diversos países são raros os estudos que tentaram demonstrar se a análise do LCE juntamente com o histórico e o exame neurológico auxiliaram o clínico no diagnóstico definitivo de uma determinada enfermidade neurológica (Gama et al. 2005, Amude et al. 2006). Além disso, não há evidências de estudos demonstrando alterações encontradas no LCE nas principais doenças neurológicas de cães e, se os achados podem auxiliar o clínico em reforçar ou confirmar a suspeita clínica.

Diante disso, o objetivo deste estudo foi analisar os resultados obtidos do LCE de cães com sinais neurológicos e comparar as alterações encontradas no LCE em dois locais de colheita no mesmo paciente.

MATERIAL E MÉTODOS

O LCE obtido pelo Serviço de Neurologia (SN) do Hospital Veterinário Universitário (HVU) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) foi analisado pelo Laboratório de Análises Clínicas (LAC) do Hospital Universitário de Santa Maria (HUSM) por meio de contagem de células nucleadas utilizando-se a câmara de Fuchs-Rosenthal e da quantificação direta das proteínas pelo método colorimétrico do vermelho de pirogalol-molibdato (Behr et al. 2003).

Foram selecionados os registros dos exames processados no LAC entre novembro de 2004 e agosto de 2015. O LCE foi colhido de forma asséptica com o auxílio de agulhas espinhais calibre 22 (Gauge), armazenados em tubos estéreis do tipo *Eppendorf* e analisados em um intervalo de tempo inferior a 30 minutos (Dewey 2003). Foram incluídos LCE de cães que continham dados completos de histórico clínico, anamnese, exame neurológico e com diagnóstico definitivo das principais doenças neurológicas envolvendo o SNC e confirmadas por meio de cirurgia ou necropsia. Foram excluídos do estudo, aquelas amostras que apresentavam contaminação iatrogênica por sangue, volume insuficiente para análise, que eram oriundas de cães que estavam sob tratamento com corticosteroides ou de cães que tinham apenas diagnóstico presuntivo.

O número de amostras incluídas no estudo foi maior do que o número de cães, já que em um mesmo paciente, ocorreu a colheita em dois locais distintos, ou seja, na CM e/ou CL. Os resultados da análise do LCE utilizados na avaliação incluíram o total de células nucleadas (TCN) e o total de proteína (TP). Com base nos valores de referência utilizados, foi considerado como alterado, o LCE que continha um TCN >5 células/ μ l e um TP >25mg/dl e >45mg/dl quando colhidas na CM e CL, respectivamente (Dewey & Da Costa 2016). Amostras com TCN aumentado foram referidas como pleocitose e amostras que continham um TP elevado sem alteração no TCN, foram denominadas de dissociação albuminocitológica (DAC) (Dewey & Da Costa 2016). De acordo com a magnitude, as pleocitoses foram denominadas leve (6-50 células/ μ l), moderada (51-100 células/ μ l) e severa (>100 células/ μ l) (Amude et al. 2006).

Nos casos em que havia pleocitose, foi realizado diferencial leucocitário a fim de estabelecer o predomínio celular (linfócito, monócito, eosinófilo ou neutrófilo). Quando não houve predomínio de nenhuma célula (<50%), a pleocitose foi denominada mista (Di Terlizzi & Platt 2009). Por normas estabelecidas no LAC-HUSM, a diferenciação celular foi realizada somente quando havia mais de 10 células/ μ l.

Os cães que foram acometidos pela doença do disco intervertebral (DDIV) foram classificados de acordo com a gravidade de disfunção neurológica em graus, sendo: Grau I, somente hiperestesia espinal,

sem deficiências neurológicas; Grau II, tetraparesia/paraparesia ambulatória; Grau III, tetraparesia/paraparesia não ambulatória; Grau IV, tetraplegia/paraplegia com presença de nocicepção; e Grau V, tetraplegia/paraplegia com ausência de nocicepção caudal a lesão (Kranenburg et al. 2013).

Os dados obtidos da correlação entre o grau de disfunção neurológica dos cães acometidos por DDIV e o TCN e TP presente no LCE destes, foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk, ao nível de significância de 5% e também foi empregado a regressão binomial negativa para os dados usando a função de ligação logarítmica, indicando significância estatística para $p < 0,05$. As análises foram executadas por meio do software livre R (R Core Team 2015). Já para os cães acometidos por cinomose, os resultados obtidos foram analisados mediante estatísticas descritivas, incluindo as médias e valores (mínimo e máximo) calculados para as variáveis ordinais e contínuas (TCN e o TP).

RESULTADOS

No período compreendido pelo estudo (2004-2015), foram enviados ao LAC-HUSM amostras de LCE de 507 cães atendidos pelo SN do HVU da UFSM. Desse total, foram excluídas as amostras de 204 cães que continham apenas diagnóstico presuntivo. Dos 303 cães com diagnóstico definitivo, 86 (28,4%) foram excluídos devido às amostras estarem contaminadas por sangue, 43 (14,2%) por falta de dados ou informações incompletas, 18 (5,9%) por amostra insuficiente para análise e 12 (4%) por estarem sob corticoterapia durante a colheita.

Das 144 amostras incluídas no estudo, quatro afecções neurológicas se destacaram por representar 95,8% do total (138/144): DDIV (76/144 [52,8%]), cinomose (31/144 [21,5%]), tumores intracranianos (IC) (19/144 [13,2%]) e tumores envolvendo a medula espinhal (ME) (12/144 [8,3%]). Os demais cães incluídos neste estudo foram diagnosticados com: meningoencefalite bacteriana ($n=1$), acidente vascular encefálico ($n=1$), meningite arterite responsiva ao corticosteroide ($n=1$), cisto aracnoide ($n=1$), meningoencefalite por *Toxoplasma gondii* ($n=1$) e meningoencefalite necrotizante do Pug ($n=1$), cada um representando 0,7% do total. Vinte e nove cães incluídos neste estudo foram submetidos à colheita do LCE em dois locais distintos (CM e CL), por isto, o número total de alíquotas analisadas foi de 173.

Dos 31 casos de cinomose, 15 pacientes foram submetidos à colheita em dois locais diferentes, resultando em 46 amostras analisadas. Destas, 37 (80,4%) apresentaram pleocitose, sete (15,2%) DAC e duas (4,3%) estavam dentro dos parâmetros normais. Das amostras com pleocitose, a linfocítica foi predominante (78,4% [29/37]) e, em oito (21,7%), a diferenciação celular não foi realizada. A pleocitose foi classificada como leve em 19 (51,3%), moderada em 13 (35,1%) e severa em cinco (13,5%). A média do TCN foi de 57 (1-420) e 55 (1-285) células/ μ l na CM e CL, respectivamente. Já a média do TP foi de 77 (21-250) e 107 (21-191) mg/dl na CM e CL, respectivamente (Quadro 1).

A DDIV representou um total de 76 casos e, em quatro deles, a punção do LCE foi feita em mais de um local, totalizando 80 amostras analisadas. Em 25% (20/80) das alíquotas havia DAC, 53,8% (43/80) pleocitose e 21,2% (17/80) estavam dentro dos valores de referência. A pleocitose linfocítica foi a mais frequente (23,2% [10/43]), seguida da neutrofílica (7% [3/43]) e da mista (2,3% [1/43]). Não foi possível realizar a diferenciação celular em 67,4% (29/43) das amostras. A relação entre o grau de disfunção neurológica para os 43 pacientes acometidos por DDIV e a severidade da pleocitose encontrada no LCE destes cães, foi representada no Quadro 2.

Os dados obtidos da correlação entre o grau de disfunção neurológica e o TCN e TP de cães acometidos pela DDIV não apresentaram normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk, ao nível de 5% de significância ($p < 0,01$ para o TCN e $p < 0,01$ para o TP). Quando empregado a regressão binomial negativa para o TCN destes cães, a estimativa do coeficiente para o grau de disfunção neurológica foi significativa com valor positivo de 0,358 ($p < 0,01$) (Quadro 3), e para o TP, a estimativa do coeficiente para grau de disfunção neurológica foi significativa com valor positivo de 0,223 ($p < 0,01$) (Quadro 3).

Na Fig. 1 são apresentados os diagramas de caixa para o TCN em função do grau de disfunção neurológica. O valor mediano de TCN para o grau I e grau II foi de 4, para o grau III foi de 4,5, para o grau IV foi de 8,0 e para o grau V foi de 10. Na Fig. 2 são apresentados os diagramas de caixa para o TP em função grau de disfunção neurológica. Os valores medianos de TP para os graus I, II, III, IV e V foram de 26,2, 22,1, 32,4, 55,6 e 40,8, respectivamente.

Em sete dos 19 cães diagnosticados com tumor intracraniano houve colheita do LCE na CM e na CL totalizando 26 alíquotas analisadas. Destas, 19 (73,1%) apresentaram DAC, cinco (19,2%) pleocitose e duas (7,7%) estavam dentro dos padrões de referência. Das cinco amostras que apresentaram pleocitose, apenas uma teve diferenciação celular realizada e foi classificada como pleocitose neutrofílica severa. Todas as demais ($n=4$) foram classificadas com pleocitose leve sem possibilidade de diferenciação celular.

Nos 12 casos diagnosticados com tumores que afetaram a medula espinhal, apenas dois foram submetidos à punção na CM e na CL, totalizando 14 amostras. Em 64,3% (9/14) delas ocorreu DAC. Em quatro (28,6%) houve pleocitose, sendo duas pleocitose linfocítica e duas pleocitose neutrofílica. Apenas uma amostra (7,1%) estava dentro dos valores de referências. As quatro amostras com pleocitose foram classificadas em leve (n=1), moderada (n=1) e severa (n=2) (Quadro 4).

O paciente diagnosticado com encefalite por *Toxoplasma gondii* foi submetido à colheita em dois locais diferentes, que resultaram ambas em DAC. O cão acometido por acidente vascular encefálico também apresentou DAC. Os pacientes com meningoencefalite bacteriana e meningite arterite responsiva ao corticosteroide apresentaram pleocitose neutrofílica severa e pleocitose linfocítica moderada, respectivamente. A amostra do cão com cisto aracnoide estava dentro do padrão normal. No cão com meningoencefalite necrotizante do Pug, houve pleocitose linfocítica moderada.

Independentemente do diagnóstico, em 29 cães (20,1%) a colheita do LCE ocorreu em dois locais (CM e CL) e, em 12 deles, houve resultados distintos. Todas as amostras que foram colhidas próximo à lesão estavam alteradas. Quando ocorreu pleocitose em uma amostra, mas não em outra (amostra normal ou apenas com DAC), a alíquota que continha aumento na celularidade foi colhida próxima à lesão (Quadro 5).

DISCUSSÃO

Com o avanço das técnicas de diagnóstico por imagem, os estudos envolvendo o LCE passaram a ser descritos em associação a outras técnicas de exames complementares, como a ressonância magnética, por exemplo, e não mais como um teste chave no auxílio ao diagnóstico (Bohn et al. 2006).

Entre 2004 e 2015, o SN do HVU da UFSM realizou a colheita do LCE em 507 cães, e destes, 204 foram excluídos do estudo devido à falta de um diagnóstico definitivo. Dos 303 cães com diagnóstico definitivo, 159 foram excluídos. Chama a atenção a alta frequência de cães (28,4%) excluídos por contaminação sanguínea iatrogênica no momento da colheita, o que pode acarretar no falso aumento do TP e do TCN na amostra (Platt & Olby 2013). Das amostras excluídas pela contaminação iatrogênica por sangue, 88,4% delas foram colhidas da CL. É comum que isto ocorra com maior frequência nas amostras colhidas da CL devido ao grau de dificuldade na punção deste local e, por isso, colher o LCE da CM diminui os riscos de contaminação (De Lahunta & Glass 2009). Uma menor causa de exclusão (5,9%) foi o volume insuficiente para análise, já que são necessários pelo menos 0,5 ml de LCE para uma análise completa (Platt & Olby 2013). Recomenda-se comprimir as veias jugulares externas, para aumentar o fluxo devido à relação entre a pressão sanguínea e a produção de LCE, manobra esta que pode auxiliar em casos de doenças compressivas da medula espinhal ou que acarretam no aumento exacerbado do TP liquorico tornando-o mais viscoso, dificultando seu fluxo e, conseqüentemente, sua colheita (De Lahunta & Glass 2009). Finalmente, foi baixa (4%) a frequência de exclusão de alíquotas de cães que estavam sob corticoterapia no momento da colheita. Isso se fez necessário devido à capacidade que estes anti-inflamatórios têm de diminuir o TCN presente no LCE (Platt & Garosi 2012).

Dos cães submetidos a colheita de LCE, quase a totalidade (95,8%) apresentavam quatro doenças neurológicas (cinomose, DDIV e tumores IC e ME). Em um estudo recente, realizado por esse mesmo grupo de estudo, a prevalência das doenças neurológicas degenerativas, inflamatórias/infecciosas e traumáticas de cães, foi alta (Chaves et al. 2014), o que justifica o maior número de amostras obtidas de cães com DDIV e cinomose. Os mesmos achados foram obtidos por Bohn et al. (2006) ao compararem o LCE com os achados de imagem por meio da ressonância magnética.

O vírus da cinomose infecta o SNC através de células mononucleares que atravessam a barreira hematoencefálica circulando juntamente com o LCE (Vandeveldt & Zubriggen 2005). Além da quebra desta barreira, a marcada desmielinização em torno dos ventrículos, faz com que haja aumento no TCN e no TP do LCE (Pan et al. 2013). Pleocitose linfocítica é a alteração mais comum em cães com cinomose (Amude et al. 2007), à semelhança do que observamos neste estudo. De qualquer forma, a presença da pleocitose linfocítica é apenas um indicativo e não uma confirmação, pois outras doenças inflamatórias podem apresentar este tipo de alteração como as meningoencefalites necrotizantes (Platt & Olby 2013). A DAC também foi encontrada nesse estudo e pode também ocorrer em cães com cinomose, conforme mencionaram Platt e Garosi (2012), já que nesta doença há marcada produção intratecal de globulina induzida pelo vírus. A pleocitose neutrofílica é uma alteração pouco comum em casos de cinomose, mas pode aparecer quando os sinais neurológicos forem agudos (Dewey 2003), situação não verificada em nenhuma das amostras. Em duas alíquotas (4,4%), não houve alteração do LCE. A análise do LCE é o teste de diagnóstico individual mais importante em pacientes com suspeita de doença inflamatória do SNC (Thomas 1998), mas nem todos os cães com cinomose terão alterações no LCE (Shell 1990), pois durante o estágio agudo da desmielinização dos ventrículos, não há reação inflamatória e o TCN pode estar normal

(Tipold et al. 1992). Quanto à gravidade da pleocitose, quase a totalidade dos casos graves ocorreram em cães com cinomose, provavelmente pelo vírus induzir maior resposta inflamatória quando comparada as demais doenças listadas neste estudo (Thomas 1998). Entretanto, quase metade dos cães com cinomose avaliados desenvolveram pleocitose leve, achado este já relatado por Platt e Garosi (2013), no qual o TCN não costuma ultrapassar 50 células/ μ l.

As doenças degenerativas do SNC estão entre as mais diagnosticadas na neurologia canina e, dentre elas, a mais prevalente é a DDIV (Chaves et al. 2014). Acredita-se que sua alta prevalência está relacionada com a dominância de cães de raças pequenas e condrodistróficas (Pellegrino et al. 2010). Apesar da presença ou não de dor profunda ser o critério prognóstico mais confiável para cães acometidos por DDIV (Platt & Garosi 2012), a associação entre a severidade da disfunção neurológica e o TCN no LCE de cães com DDIV pode também ser útil (Sruogo et al. 2011). Neste estudo, 80% das amostras colhidas de cães com DDIV tinham alterações liquóricas. Apesar de a DDIV ser capaz de cursar com pleocitose, isso depende da cronicidade da lesão, em que aquelas mais agudas têm maior chance de cursarem com essa alteração (Platt & Garosi 2013). O LCE de cães com DDIV apresenta diferentes tipos de pleocitose, que variaram conforme o estudo realizado, predominando pleocitose neutrofílica (Sruogo et al. 2011, Levine et al. 2014). Neste estudo, a pleocitose linfocítica foi mais frequente. Para Windsor et al. (2008), a inflamação neutrofílica observada em cães com DDIV tendem a se tornar linfocítica com a evolução da doença.

Em 67,4% dos cães com DDIV com pleocitose não foi possível realizar a identificação celular, visto que apresentavam celularidade inferior a 10 células/ μ l. Mesmo assim, recomendamos a diferenciação celular das amostras que apresentam menos de 5 células/ μ l, pois a predominância de um tipo de celular pouco observada pode auxiliar no diagnóstico de uma determinada doença. Em 21,2% das amostras de cães com DDIV não se verificaram alterações no TCN e tampouco no TP. A razão para esta variação quantitativa pode estar ligada ao local da coleta, à cronicidade da lesão, ao grau de deficiências neurológicas e até mesmo pela própria divergência no sistema de classificação dos resultados da análise do LCE (Levine et al. 2014). Por outro lado, estudos que avaliaram o LCE de cães com DDIV toracolombar, pleocitose foi uma alteração comum (20%-61% das amostras), independentemente do local da coleta (Thomson et al. 1990, Windsor et al. 2008, Sruogo et al. 2011). À semelhança de nossos achados Chamisha et al. (2015) observaram pleocitose em 80% dos cães acometidos por DDIV em grau V, o que reflete provavelmente quebra da barreira hematoencefálica. Uma possível explicação para esse achado está na compressão das meninges e da medula espinhal pelo material discal que acarreta em inflamação secundária e, conseqüentemente, aumento das células inflamatórias no LCE (Sruogo et al. 2011).

Houve diferença estatística entre o grau de disfunção neurológica de cães acometidos por DDIV e o TCN, ou seja, quanto maior foi o grau de disfunção neurológica, mais células nucleadas foram encontradas na amostra. O mesmo resultado foi obtido para o TP, porém, com menor intensidade quando comparado ao TCN. De acordo com estudos anteriores (Windsor et al. 2008, Sruogo et al. 2011, Levine et al. 2014, Chamisha 2015), os resultados aqui descritos reforçam a hipótese de que o aumento do TCN e do TP em cães acometidos pela DDIV está diretamente relacionado com o aumento no grau de disfunção neurológica. Acredita-se que isto ocorra devido à resposta inflamatória e à quebra da barreira entre o sangue e a medula espinhal (Levine et al. 2014).

A semelhança do que é descrito na literatura (Dickinson et al. 2006), DAC foi o achado liquórico mais comumente observado (73%) em cães com tumores intracranianos. Pleocitose foi menos frequente (19,2%) e, quando ocorreu, foi leve. A punção na CM ou CL para coleta de LCE é contraindicada quando há suspeita de tumor IC, pois o efeito massa predispõe o aumento da pressão intracraniana (PIC) e, conseqüentemente, a herniação encefálica (Platt & Garosi 2012). Neste estudo, por não haver a disponibilidade de tomografia computadorizada e ressonância magnética para a verificação do efeito massa (Da Costa 2009), o critério para a colheita foi a ausência de sinais neurológicos de aumento da PIC, como alteração do nível de consciência (estupor e coma), postura (rigidez por decerebração ou decerebração), reflexo de Cushing (hipertensão arterial e bradicardia), diminuição ou ausência do reflexo oculocefálico e fotomotorpupilar e anisocoria (Platt & Olby 2013). Mesmo sendo um procedimento de risco, não foi verificada nenhuma intercorrência durante e após a colheita e comprovada na necropsia por não haver herniação encefálica em nenhum desses casos.

A análise do LCE nos casos de tumor da ME pode se apresentar sem alteração, ou, às vezes, é possível observar um aumento moderado no TP, com ou sem pleocitose (López et al. 2013). Neste estudo, 64,2% apresentaram DAC. Um estudo em cães com meningioma medular, 50% apresentaram DAC (López et al. 2013). Foi observado em 14 cães aumento do TCN sem a elevação de proteínas do LCE, sendo 85,7% de cães com DDIV e 14,3% de cães com cinomose. Embora seja um achado incomum, Chrismann (1992) também observou estas alterações em algumas doenças do SNC, como as infecciosas, as traumáticas e as compressivas da medula espinhal. Na tentativa de encontrar uma explicação para este achado, foram mensurados os níveis séricos e plasmáticos de proteína, bem como da albumina sérica e verificar se a

hipoproteinemia ou a hipoalbuminemia poderiam ter algum envolvimento neste achado, o que não aconteceu já que todos apresentavam níveis dentro dos padrões de referência. Outra hipótese seria a intensidade da pleocitose, classificada como leve em todos os casos, haja vista que a média do TCN ficou em torno de sete células/ μl , considerado próximo ao valor de referência estabelecida neste estudo (<5 células/ μl). Embora outros estudos necessitassem ser realizados, principalmente em aumentar o número de alíquotas com esse tipo de alteração, sugere-se que uma inflamação mínima do SNC possa causar um leve aumento do TCN sem alterar o TP.

Com base nos resultados aqui descritos, o LCE não foi capaz de confirmar o diagnóstico definitivo das doenças, conforme relataram Vernau et al. (2008), visto que, diferentes tipos celulares foram encontrados em uma mesma doença, sendo as pleocitoses linfocíticas e neutrofilicas e a DAC como as principais alterações observadas. Por outro lado, o LCE pôde caracterizar se a doença tinha característica inflamatória, reforçou a suspeita principal e serviu como critério no tratamento, principalmente quanto à utilização de corticosteroides com base na severidade das pleocitoses. Por este motivo, a análise do LCE deve ser cautelosa, pois de acordo com De Lahunta e Glass (2009), os resultados obtidos podem não refletir as lesões encontradas no SNC. Portanto, mesmo que o LCE possa fornecer ao clínico informações úteis, o mesmo deve ser interpretado juntamente com o histórico, os sinais clínicos e outros exames complementares de auxílio ao diagnóstico (Platt & Olby 2013).

Neste estudo, 12 cães que tiveram amostras de LCE colhidos em dois pontos distintos (CM e CL), obtiveram resultados diferentes. A análise do LCE de um cão com DDIV toracolombar e um cão com tumor na ME toracolombar colhidos na CM, ou seja, cranial ao local da lesão, apresentaram alteração (pleocitose e DAC respectivamente), reforçando a hipótese de haver também um fluxo caudo-rostral do LCE. A colheita nesse ponto, às vezes se torna necessária, haja vista que nas doenças compressivas da ME, como DDIV e tumores, a punção realizada caudal à lesão possa ser prejudicada devido a interferência no fluxo do LCE (De Lahunta & Glass 2009). Com base nisso, sugerimos que, quando possível, a colheita de LCE deverá ser realizada em dois locais em todos os cães com suspeita de doenças no SNC.

CONCLUSÕES

Pode-se concluir que a pleocitose linfocítica foi a principal alteração encontrada no LCE de cães com cinomose e DDIV e dissociação albuminocitológica nas neoplasias intracranianas e naquelas que afetaram a medula espinhal; cães acometidos pela DDIV apresentaram sinais neurológicos mais severos conforme o TCN e o TP aumentaram; o LCE sofreu alteração, mesmo colhido cranial ao local da lesão e auxiliou o clínico em reforçar a suspeita clínica, mas não confirmou, a doenças neurológicas em cães.

REFERÊNCIAS

- Amude A.M., Alfieri, A.A., & Alfieri, A.F. 2007. Clinicopathological findings in dogs with distemper encephalomyelitis presented without characteristic signs of the disease. *Res Vet Sci.* 82(3):416-422.
- Amude A.M., Alfieri, A.A., Balarin M.R.S., Reis A.C.F. & Alfieri, A.F. 2006. Cerebrospinal fluid from a 7-month-old dog with seizure-like episodes. *Vet. Clin. Patho.* 35(1):119-122.
- Behr S., Trumel C., Palanche F. & Braun J.P. 2003. Assessment of a pyrogallol red technique for total protein measurement in the cerebrospinal fluid of dogs. *J Small Anim Pract.* 44:530-533.
- Bohn A.A., Wills T.B., West C.L., Tucker R.L. & Bagley R.S. 2006. Cerebrospinal fluid analysis and magnetic resonance imaging in the diagnosis of neurologic disease in dogs: a retrospective study. *Vet. Clin. Patho.* 35(3):315-320.
- Chaves R.O., Beckmann D.V., Santos R.P., Aiello G., Andrades A.O., Baumhardt R., Silveira L.B. & Mazzanti A. 2014. Doenças neurológicas em cães atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Santa Maria, RS: 1.184 casos (2006-2013). *Pesq. Vet. Bras.* 34(10):996-1001.
- Chamisha Y., Aroch I., Kuzi S., Srugo I., Bdolah-Abram T., Chai O., Christopher M.M., Merbl Y., Rothwell K. & Shamir M.H. 2015. The prognostic value of cerebrospinal fluid characteristics in dogs without deep pain perception due to thoracolumbar disc herniation. *Research in Veterinary Science.* 100:189-196.
- Chrismann C.L. 1992. Cerebrospinal fluid analysis. *Vet Clin North Am: Small Anim Pract.* 22:781-807.
- Da Costa R.C. 2009. Neoplasias do sistema nervoso. In: DALECK, R.C.; DE NARDI, A.B.; RODASKI S. *Oncologia em Cães e Gatos.* 1ªed. ROCA. São Paulo. p. 431-455.
- Dewey C.W. 2003. *A Practical Guide to Canine and Feline Neurology.* 1st ed. WILEY. EUA.
- Dewey C.W. & Da Costa R.C. 2016. *A Practical Guide to Canine and Feline Neurology.* 3rd ed. WILEY. EUA.

- De Lahunta A. & Glass E. 2009. *Veterinary Neuroanatomy and Clinical Neurology*. 3rd ed. ELSEVIER. EUA.
- Di Terlizzi R. & Platt S. 2009. The function, composition and analysis of cerebrospinal fluid in companion animals: part II - analysis. *Vet J*. 180:15-32.
- Dickinson P.J., Sturges B.K., Kass P.H. & LeCouteur A. 2006. Characteristics of cisternal cerebrospinal fluid associated with intracranial meningiomas in dogs: 56 cases (1985–2004). *J Am Vet Med Assoc*; 228(4):564–567.
- Gama F.G.V., Nishimori C.T., Sobreira M.R. & Santana A.R. 2005. Características físico-químicas e citológicas do líquido de cães em diferentes fases da cinomose. *Revista Ciência Rural*, 35(3):596-601.
- Kranenburg H.J., Grinwis G.C., Bergknut N., Gahrman N., Voorhout G., Hazewinkel H.A. & Meij B.P. 2013. Intervertebral disc disease in dogs - part 2: comparison of clinical, magnetic resonance imaging, and histological findings in 74 surgically treated dogs. *Vet. Journal* 195:164-171.
- Levine G.J., Cook J.R., Kerwin S.C., Mankin J., Griffin J.F., Fosgate G.T. & Levine J.M. 2014. Relationships between cerebrospinal fluid characteristics, injury severity, and functional outcome in dogs with and without intervertebral disk herniation. *Vet Clin Pathol*. 43(3):437-446.
- López R.J., Fuente C., Pumarola M., Añor S. 2013. Spinal meningiomas in dogs: Description of 8 cases including a novel radiological and histopathological presentation. *Can. Vet. J*. 54:948–954.
- Pan Y., Liu X., Meng L., Zhu G., Xia Y., Chen J. & Takashi Y. 2013. Pathogenesis of demyelinating encephalopathy in dogs with spontaneous acute canine distemper. *J Int Agric*. 12(2):334-43.
- Platt S. & Garosi L. 2012. *Small Animal Neurological Emergencies*. 1st ed. MANSON PUBLISHING. EUA.
- Platt S. & Olby N. 2013. *BSAVA Manual of Canine and Feline Neurology*. 2nd ed. BSAVA. EUA.
- Pellegrino F.C., Pacheco E.L. & Vazzoler M.L. 2011. Caracterización de los trastornos neurológicos en los perros: 1652 casos (marzo 2008 - junio 2010). Parte I. *Revista Argentina de Neurología Veterinaria*. 2(1):78 - 96.
- R Core Team 2015. R: A language and environment for statistical computing. Disponível em <<https://www.R-project.org/>> Acesso em 10 jan. 2016.
- Shell L.G. 1990. Canine distemper. *Comp. Small Anim*. 12:173-179.
- Srugo I., Aroch I., Christofer M.M., Chai O., Goralnik L., Bdolah-Abram T. & Shamir M.H. 2011. Association of cerebrospinal fluid analysis findings with clinical signs and outcome in acute nonambulatory thoracolumbar disc disease in dogs. *Vet. Intern. Med*. 25:846–855.
- Tipold A., Vandeveld M. & Jaggy A. 1992. Neurological manifestations of canine distemper virus infection. *J Small Anim Pract*. 33(10):466-470.
- 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). *J Am Vet Med Assoc*. 196:1841–1844.
- Thomas W.B. 1998. Inflammatory diseases of the central nervous system in dogs. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*. 3(13):167-178.
- Vandeveld M. & Zubriggen A. 2005. Demyelination in canine distemper virus infection: a review. *Acta Neuropathol*. 109:56–68.
- Vernau W., Vernau K.A. & Bailey C.S. 2008. Cerebrospinal Fluid. In: KANEKO, J.J. (6). *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. EUA. ACADEMIC PRESS, p. 769-819.
- Windsor R.C., Vernau K.M., Sturges B.K., Kass P.H. & Vernau w. 2008. Lumbar cerebrospinal fluid in dogs with type I intervertebral disc herniation. *J Vet Intern Med*. 22:954–960.

Quadro 1. Resultado das amostras e média do total de células nucleadas (TCN) e do total de proteínas (TP) do líquido cerebrospinal (LCE) colhidos de cães com cinomose.

| RESULTADOS DAS AMOSTRAS E MÉDIA DO TCN E TP DE CÃES COM CINOMOSE | | | | | | | |
|---|-------------------------------------|-------------------|---------------|---------------|---------------|----------------|-------------------|
| | TCN (cél/s/μ) | TP (mg/dl) | PL (n) | PM (n) | PS (n) | DAC (n) | Normal (n) |
| CM (n) | | | 13 | 8 | 3 | 4 | - |
| Média | 57 | 77 | | | | | |
| Mín-máx | 1-420 | 21-250 | | | | | |
| CL (n) | | | 6 | 5 | 2 | 3 | 2 |
| Média | 55 | 107 | | | | | |
| Mín-máx | 1-285 | 21-191 | | | | | |
| Total (n) | | | 19 | 13 | 5 | 7 | 2 |

LCE=líquido cerebrospinal; n=número de amostras; TCN=total de células nucleadas; TP=total de proteínas; CM=cisterna magna; CL=cisterna lombar; Máx=máximo; mín=mínimo; PL=pleocitose leve; PM=pleocitose moderada; PS=pleocitose severa; DAC=dissociação albuminocitológica

Quadro 2. Resultado das amostras do líquido cerebrospinal (LCE) de cães acometidos pela doença do disco intervertebral (DDIV).

| AMOSTRAS DE LCE COLHIDAS DE CÃES DIAGNOSTICADOS COM DDIV | | | | | |
|---|---------------------|------------------------------|----------------------------------|--------------------------------|------------------|
| Grau de disfunção neurológica | Normal n | Pleocitose leve n | Pleocitose moderada n | Pleocitose severa n | DAC n |
| Grau I | - | 1 | - | - | 2 |
| CM | - | 1 | - | - | 2 |
| CL | - | - | - | - | - |
| Grau II | 9 | 8 | - | - | 4 |
| CM | 7 | 5 | - | - | 3 |
| CL | 2 | 3 | - | - | 1 |
| Grau III | 5 | 7 | 2 | - | 6 |
| CM | 4 | 5 | 1 | - | 3 |
| CL | 1 | 2 | 1 | - | 3 |
| Grau IV | - | 8 | 3 | - | 6 |
| CM | - | 2 | - | - | 2 |
| CL | - | 6 | 3 | - | 4 |
| Grau V | 3 | 11 | 3 | - | 2 |
| CM | 3 | 1 | - | - | 1 |
| CL | - | 10 | 3 | - | 1 |
| Total de amostras | 17 | 35 | 8 | 0 | 20 |

DDIV=doença do disco intervertebral; n=número de cães;
LCE=líquido cérebro espinhal; CM=cisterna magna;
CL=cisterna lombar; DAC=dissociação albuminocitológica

Quadro 3. Estimativa dos coeficientes da regressão binomial negativa, erro padrão e p-valores para o efeito do grau de disfunção neurológica sobre o total de células nucleadas (TCN) e o total de proteínas (TP) para as 80 amostras de líquido cerebrospinal (LCE) colhidas de cães acometidos pela doença do disco intervertebral (DDIV).

| Estimativa dos coeficientes da regressão binomial negativa, erro padrão e p-valores | | | |
|--|-------------------|--------------------|----------------|
| | Estimativa | Erro padrão | p-valor |
| TCN | | | |
| Intercepto | 1,309 | 0,335 | < 0,01 |
| Grau de disfunção | 0,358 | 0,094 | < 0,01 |
| TP | | | |
| Intercepto | 3,302 | 0,233 | < 0,01 |
| Grau de disfunção | 0,223 | 0,065 | < 0,01 |

TCN=total de células nucleadas; TP=total de proteínas; LCE=líquido cerebrospinal; DDIV=doença do disco intervertebral

Quadro 4. Resultado das amostras e grau de severidade das pleocitoses do líquido cerebrospinal (LCE) de cães acometidos por tumores intracranianos (IC) e da medula espinhal (ME).

| RESULTADO DO LCE DE CÃES ACOMETIDOS POR TUMORES | | | | | |
|--|---------------|---------------|---------------|----------------|-------------------|
| Punção | PL (n) | PM (n) | PS (n) | DAC (n) | Normal (n) |
| Tumor IC | | | | | |
| CM | 3 | - | 1 | 8 | 1 |
| CL | 1 | - | - | 11 | 1 |
| Total | 4 | - | 1 | 19 | 2 |
| Tumor ME | | | | | |
| CM | - | 1 | - | 3 | 1 |
| CL | 1 | - | 2 | 6 | - |
| Total | 1 | 1 | 2 | 9 | 1 |

n=número de amostras; IC=intracraniano; ME=medula espinhal; CM=cisterna magna; CL=cisterna lombar; PL=pleocitose leve; PM=pleocitose moderada; OS=pleocitose severa; DAC=dissociação albuminocitológica

Quadro 5. Resultado das amostras do líquido cerebrospinal (LCE) de cães submetidos à colheita em dois locais diferentes (CM e CL) em que os resultados das amostras foram diferentes.

| RESULTADOS DAS AMOSTRAS DE LCE DE CÃES COM DUAS COLHEITAS (CM E CL) | | | | |
|--|--------------------|-----------------------|------------|-----------|
| Cão | Diagnóstico | Local da lesão | CM | CL |
| 1 | Cinomose | Encéfalo | DAC | Normal |
| 2 | Cinomose | Encéfalo | Pleocitose | DAC |
| 3 | Cinomose | Encéfalo | Pleocitose | Normal |
| 4 | Cinomose | Encéfalo | Pleocitose | DAC |
| 5 | DDIV | T12-T13 | Normal | DAC |
| 6 | DDIV | L1-L2 | Pleocitose | Normal |
| 7 | DDIV | T13-L1 | Normal | DAC |
| 8 | Tumor | Encéfalo | Pleocitose | DAC |
| 9 | Tumor | Encéfalo | Pleocitose | DAC |
| 10 | Tumor | Encéfalo | Pleocitose | DAC |
| 11 | Tumor | T4-T5 | DAC | Normal |
| 12 | Tumor | C1-C2 | Pleocitose | DAC |

LCE=líquido cerebrospinal; DAC=dissociação albuminocitológica; CM=cisterna magna; CL=cisterna lombar; DDIV=doença do disco intervertebral; TL=toracolombar; IC=intracraniano; ME=medula espinhal

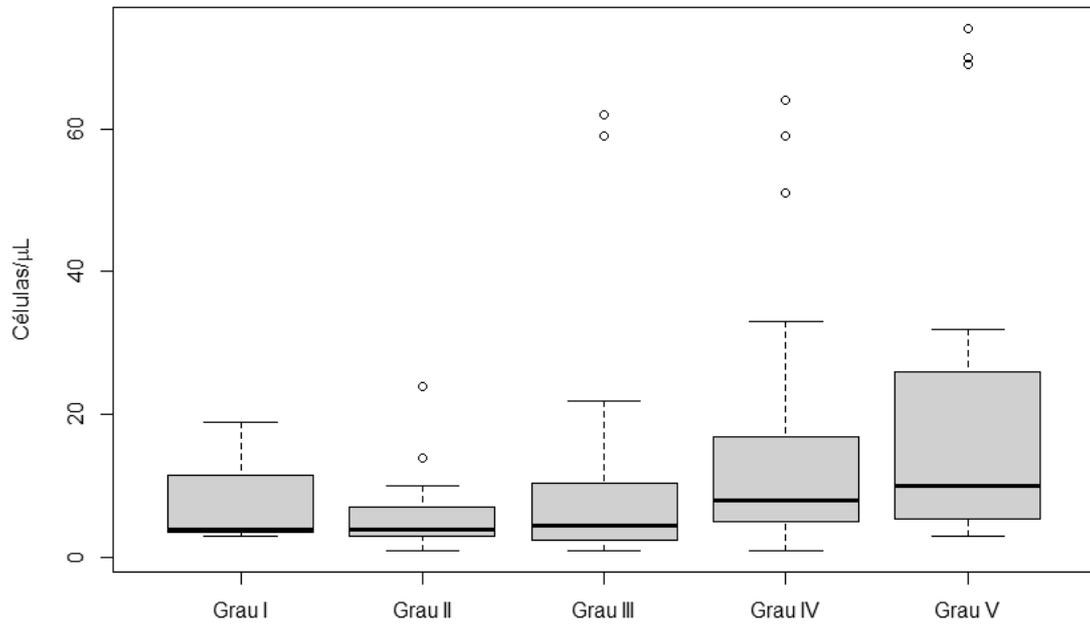


Fig. 1. Representação gráfica em diagrama de caixa da análise de 80 amostras de líquido cerebrospinal (LCE) de cães acometidos pela doença do disco intervertebral (DDIV) em relação aos graus de disfunção neurológica e o total de células nucleadas (TCN) para $p < 0,05$.

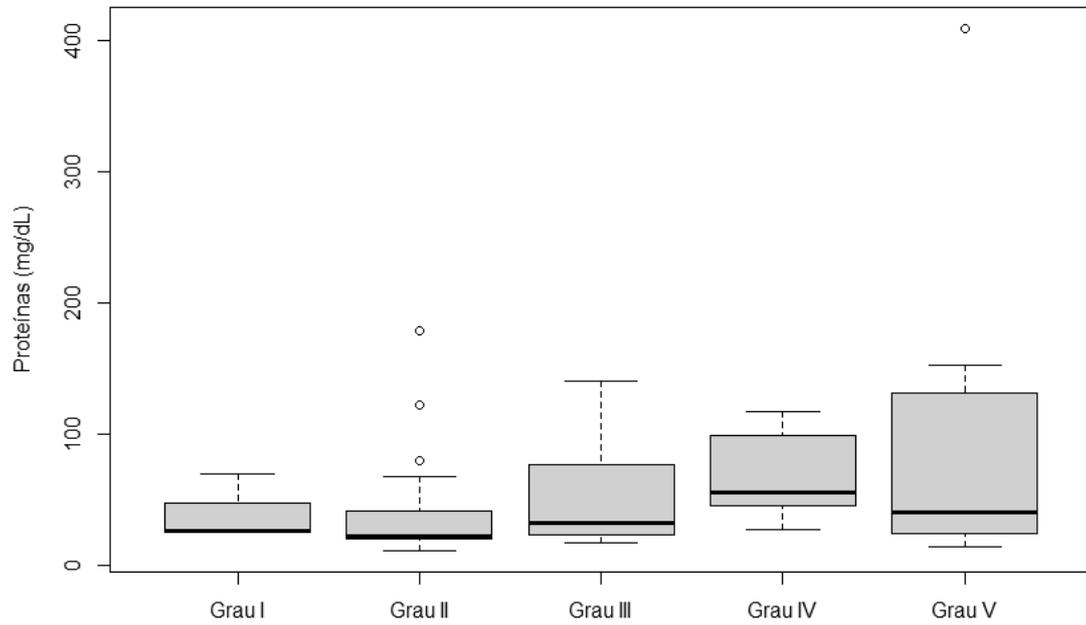


Fig. 2. Representação gráfica em diagrama de caixa da análise de 80 amostras de líquido cerebrospinal (LCE) de cães acometidos pela doença do disco intervertebral (DDIV) em relação aos graus de disfunção neurológica e o total de proteínas (TP) para $p < 0,05$.

3. CONCLUSÕES

- A pleocitose linfocítica foi a principal alteração encontrada no LCE de cães com cinomose e DDIV e a DAC nas neoplasias, intracranianas e naquelas que afetaram a medula espinhal;
- Cães acometidos pela DDIV apresentaram sinais neurológicos mais graves conforme o TCN e o TP aumentaram;
- O LCE sofreu alteração, mesmo colhido cranial ao local da lesão, e auxiliou o clínico em reforçar a suspeita clínica, mas não confirmou, as principais doenças neurológicas em cães.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BOHN, A.A.; WILLS, T.B.; WEST, C.L.; TUCKER, R.L.; BAGLEY, R.S. Cerebrospinal fluid analysis and magnetic resonance imaging in the diagnosis of neurologic disease in dogs: a retrospective study. **Vet. Clin. Patho.** v.3, n.35, p.315-320, 2006.

DEWEY, C.W.; DA COSTA, R.C. **Practical Guide to Canine and Feline Neurology.** EUA. WILEY, p.687, 2016.

DE LAHUNTA, A.; GLASS, E. **Veterinary Neuroanatomy and Clinical Neurology.** EUA. ELSEVIER, p.540, 2009.

DI TERLIZZI, R.; PLATT, S. The function, composition and analysis of cerebrospinal fluid in companion animals: part II - analysis. **Vet J.** n.180, p.15-32, 2009.

PLATT, S.; GAROSI, L. **Small Animal Neurological Emergencies.** EUA. MANSON PUBLISHING. p.651, 2012.

PLATT, S.; OLBY, N.; BSAVA. **Manual of Canine and Feline Neurology.** EUA. BSAVA. p.552, 2013.

ROERIG, A.; CARLSON, R.; TIPOLD, A.; STEIN, V.M. Cerebrospinal fluid tau protein as a biomarker for severity of spinal cord injury in dogs with intervertebral disc herniation. **Vet J.** v.2, n.197, p.253-258, 2013.

SRUGO, I.; AROCH, I.; CHRISTOFER, M.M.; CHAI, O.; GORALNIK, L.; BDOLAH-ABRAM, T.; SHAMIR, M.H. Association of cerebrospinal fluid analysis findings with clinical signs and outcome in acute nonambulatory thoracolumbar disc disease in dogs. **J Vet. Intern. Med.** v.25, p.846-855, 2011.

TIPOLD, A. Diagnosis of Inflammatory and Infectious Diseases of the Central Nervous System in Dogs: A Retrospective Study. **J Vet. Intern. Med.** v.9, n.5, p.304-314, 1995.

VERNAU, W.; VERNAU, K.A.; BAILEY, C.S. Cerebrospinal Fluid. In: KANEKO, J.J. (6). **Clinical Biochemistry of Domestic Animals.** EUA. ACADEMIC PRESS. p.769-819, 2008.