

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE VETERINARIA
Departamento de Medicina y Cirugía Animal



TESIS DOCTORAL

Biomarcadores en líquido cefalorraquídeo en perros con meningoencefalitis de origen desconocido. Valor pronóstico

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Miriam Portero Fuentes

Directoras

Cristina Frago Arnold
Elena Martínez de Merlo
Carmen Pérez Díaz

Madrid, 2018



Universidad Complutense de Madrid

Facultad de Veterinaria

Departamento de Medicina y Cirugía animal

**BIOMARCADORES EN LÍQUIDO CEFALORRAQUIDEO EN
PERROS CON MENINGOENCEFALITIS DE ORIGEN
DESCONOCIDO. VALOR PRONÓSTICO.**



MIRIAM PORTERO FUENTES
Madrid, 2017

Directores
Cristina Fragio Arnold
Elena Martínez de Merlo
Carmen Pérez Díaz

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE VETERINARIA
Departamento de Medicina y Cirugía Animal



UNIVERSIDAD
COMPLUTENSE
MADRID

BIOMARCADORES EN LÍQUIDO
CEFALORRAQUIDEO EN PERROS CON
MENINGOENCEFALITIS DE ORIGEN
DESCONOCIDO.
VALOR PRONÓSTICO

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR

Miriam Portero Fuentes

Bajo la dirección de los doctores
Cristina Fragó Arnold
Elena Martínez de Merlo
Carmen Perez Díaz

Madrid, 2017

D^a CRISTINA FRAGIO ARNOLD, Doctora Veterinaria y Profesora Titular del Departamento de Medicina y Cirugía de la Facultad de Veterinaria de Madrid,

D^a ELENA MARTÍNEZ DE MERLO, Doctora Veterinaria y Profesora Titular del Departamento de Medicina y Cirugía de la Facultad de Veterinaria de Madrid, y

D^a CARMEN PEREZ DÍAZ, Doctora Veterinaria y Profesora Titular del Departamento de Medicina y Cirugía de la Facultad de Veterinaria de Madrid.

CERTIFICAN:

Que la tesis doctoral realizada por **D^a MIRIAM PORTERO FUENTES** y titulada **“Biomarcadores en líquido cefalorraquídeo en perros con meningoencefalitis de origen desconocido. Valor pronóstico”**, ha sido realizada en las dependencias del Hospital Clínico Veterinario Complutense y de los Departamentos de Medicina y Cirugía Animal de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Complutense de Madrid, y cumple todas las condiciones exigidas para optar al grado de Doctor en Veterinaria.

Firmado en Madrid, a x de Octubre de 2017

Fdo. Cristina Fragó Arnold

Fdo. Elena Martínez de Merlo

Fdo. Carmen Pérez Díaz

AGRADECIMIENTOS

Después de escribir la tesis y ver la hoja en blanco de agradecimientos te das cuenta de lo difícil que es concentrar en poco espacio todos los agradecimientos que quieres dar. Ahora entiendo perfectamente por qué en la gala de los Oscar te bajan el micrófono a los 2 minutos y en los Globos de Oro ponen música de ambiente para que dejes de hablar.... 2 minutos o dos folios es poquísimo !!!..... O te paran o no acabarías nunca !!!.

Como en el cine voy a empezar por las *directoras*. A nivel profesional sois todas referentes para mí desde que me distéis clase allá por el cambio del milenio. Tengo la gran oportunidad de trabajar con vosotras en el hospital y esto ha hecho que os haya podido conocer también a nivel personal y a parte de ser jefas o colegas de profesión ahora os considero mis amigas.

Carmen, somos el matrimonio neurológico perfecto, una completa las frases de la otra y a la hora de repartir las tareas de casa siempre es fácil: tú cirugía y yo epilepsia. Muchas gracias por estar siempre ahí a nivel personal, sobre todo en mis peores momentos familiares.

Cristina, matriarca de hospitalización, has creado una mini familia en el Servicio de Hospitalización y es un placer formar parte de ella. Muchas gracias por confiar en mí al concederme la beca Hill's e introducirme en el mundo de las urgencias de tu mano; la mitad de mi experiencia profesional y mi curriculum lo he conseguido gracias a ti. Gracias también por todo el apoyo incondicional estos años con mi familia.

Elena, si lo sé, he puesto muchas veces gracias..... estas deseando meter el boli rojo a los agradecimientos (...pero no puedes!). Has sido mi gurú de asesoramiento profesional (y personal) desde que te elegí como tutora de las estancias de 4º de carrera. Recuerdo cuando vi la última nota de la carrera y sentí un vértigo horrible. Fui a tu despacho porque no sabía qué hacer con mi vida y me recomendaste "ver el mundo" fuera del hospital.... cuánta razón tenías (y tienes!). No se cómo darte las gracias por todos tus consejos y por esos 15 minutitos de charleta todos los martes de 15:45 a 16:00 que me hacen recargar pilas para el resto de la semana.

Otra parte importante de esta tesis son los *efectos especiales*. Esta tesis no hubiese sido posible sin la participación de la mayoría de los servicios del Hospital Clínico Veterinario Complutense como son:

El Servicio de Biopatología, aparte de darles gracias infinitas, les tengo que pedir perdón por todos los LCR de las 13:55... . Gracias Marisa por estar pendiente del "buen recaudo" de mis LCR y por facilitarme siempre el trabajo. Agradecer también a todos los técnicos del servicio su paciencia con todos los tubitos que les llevaba para congelar pero en especial a Ana, sin la cual esta tesis no hubiese sido posible.

El Servicio de Diagnóstico por Imagen, Isabel y Gabriel junto con los técnicos son los responsables de una parte muy importante de este trabajo. Gracias por vuestra paciencia con las resonancias de cabeza que se acaban convirtiendo en cuello, toracolumbar y

El Servicio de Anestesiología y todos los residentes que han rotado por él y me han ayudado en las extracciones de LCR.

El Servicio de Diagnóstico de Ehrlichiosis y Leishmaniosis Canina, Angel y Tino mil gracias por vuestra ayuda incondicional.

El Laboratorio del Grupo de Investigación de la UCM "Epicontrol- Carnívoros" en especial Lupe y Rocío por todo el trabajo realizado con las PCR de los LCR.

El Servicio de Anatomía patológica, es difícil agradecer a una sola persona pero tengo que hacer una mención especial a Rosa por facilitarme siempre todos los trámites.

También son responsables de estos *efectos especiales* Elena y Lola del CAI de RMN de la UCM. Muchas gracias por enseñarme e iniciarme en el campo de la espectrofotometría.

Y el último y uno de los más importantes es Ricardo del Departamento de Apoyo a la investigación del Área de Informática y Comunicaciones de la UCM. Ricardo es el responsable del análisis estadístico de todos los datos obtenidos. Gracias por hacer la estadística fácil, tu rapidez y sobre todo tu paciencia.

Nunca podré olvidarme de cada uno de los *actores principales/pacientes* ni de sus propietarios. Han sido y son muchos años de tratamiento y cada vez que perdíamos a alguno se iba un poquito de mí.

Y qué sería de una película sin los *actores secundarios...* . En esta tesis hay tres actores secundarios. El "grupo de neurología Pin & Pon" más que un actor secundario es el actor principal. Muchas gracias pinypones por ser como sois, apoyarme y ayudarme siempre. La principal actriz secundaria es Irene; gracias por implicarte con la interminable tabla Excel de los pacientes y sobre todo por estar ahí a nivel personal. Miguel es el actor secundario que se

merecería un oscar pero como actor principal!. Siempre te decía que era muy difícil que hubiese conjunción de astros para conseguir todas las muestras pero tú has hecho que esta conjunción fuese muchísimo más sencilla. Gracias por acudir de manera completamente desinteresada a cualquier hora siempre que te he llamado y ayudarme con esta tesis a nivel profesional y personal.

En la *producción* tengo que dar las gracias a Hill's , en especial a Juan Carlos, por apoyarme con su proyecto de investigación 5VA en los análisis realizados en el CAI.

He contado con la increíble ayuda en la *fotografía* de Miki con su impresionante foto de portada y con Javi en el fotomontaje y video de la barrera hematoencefálica.

A nivel personal antes de mencionar a mi familia tengo que hacer referencia a tres grandes veterinarias que han hecho que me convierta en la profesional que soy. Paloma, esta tesis nunca la hubiese escrito si no fuera por ti. Fuiste tú la que me transmitió la pasión por la neurología en una consulta de medicina general cuando era interna. Me pareció magia ver como con la historia clínica, un simple martillo de exploración y un mosquito prácticamente diagnosticabas a un paciente. Nunca podré agradecerte todo lo que me has enseñado y me sigues enseñando día a día, eres la MEJOR. Gracias por confiar en mí y dejarme ser parte del servicio de neurología y de tu vida. Y no... no quiero que te jubiles nunca, no puedo imaginar la consulta de neurología sin ti. No cambies, la Toni es mucha Toni y nunca habrá a alguien la mitad de genuina y buena persona que tú.

El primer contacto que tuve con la veterinaria fue en el consultorio de mi barrio que todavía sigue ahí. Lleve a mi Piolo porque le había atacado una urraca y salió esa pequeña gran veterinaria, Elena. Se convirtió en mi primer referente sobre todo cuando llamaba cada día a casa para preguntar cómo estaba mi pájaro. De ti, he aprendido honestidad y todo lo relacionado con el trato al cliente. No trataría a los pacientes ni a los propietarios como lo hago si no me hubieras enseñado tú.

Mi corazón está dividido entre la neurología y la medicina interna; y la responsable de esto fuiste tú Miriam. No sabes lo que me enseñaste primero como residente y luego como compañera. Recuerdo cada segundo que pasé contigo en el hospital y fuera de él. Fuimos las precursoras de House M.D!. Me encantaba estudiar contigo los casos complicados con nuestra pizarrita con todos los signos y los diagnósticos diferenciales. Pero cuando más me acuerdo de ti es en las eutanasias, qué bonito es el cielo de los perros verdad?.

Siempre pensaba al ver los Oscar lo cansinos que eran todos al agradecer hasta al primo lejano... ahora los veré de otra forma porque al escribir estas líneas, de repente, te viene a la mente mucha gente que ha influido de manera aplastante en tu vida y trayectoria profesional.

A todos mis amigos, en especial a Delia y Pleite, agradecerles su apoyo y comprensión por todo el tiempo que he empleado en escribir esta tesis en detrimento de estar con ellos.

Papá, sin tu pasión por los animales, la naturaleza y la ciencia no hubiera estudiado nunca veterinaria. Gracias por sembrar la semillita de la ciencia con el primer microscopio y las aventuras en la Casa de Campo los domingos rescatando pájaros y entablillando alas y patas. Ojala, algún día, llegue a tener tan solo la mitad de tu increíble mente y tu afán de superación continuo.

Mama, la personalidad y la forma de ser que tengo es por ti. Aunque nunca me pusiste límites siempre estabas y estas allí cuando los pasaba tanto para lo bueno como para lo malo. Eres la mejor profesora en perseverancia y fortaleza; me has enseñado muchísimo todos estos años pero realmente es ahora, cuando me estás dando las mayores lecciones de vida.

Yaya, contigo si que no hay folios suficientes para escribir todo lo que pienso. Creo que todo se puede resumir en que te quiero.

Espero no haberme olvidado de nadie, mucha gente ha estado implicada en este trabajo, por tanto, gracias a todos los que habeis puesto algún granito de arena en él.

ÍNDICE

1. RESUMEN /SUMMARY	1
2. INTRODUCCIÓN	9
3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	14
3.1 FISIOPATOLOGIA DE LA NEUROINFLAMACIÓN	16
3.1.1 LA BARRERA HEMATOENCEFÁLICA	16
3.1.2 COMPONENTES DEL SISTEMA INMUNE	24
3.1.3 BARRERA HEMATOENCEFÁLICA Y NEUROINFLAMACIÓN	27
3.2 LÍQUIDO CEFALORRAQUIDEO (LCR)	33
3.2.1 FUNCIONES DEL LCR	34
3.2.2 ANÁLISIS Y COMPOSICIÓN DEL LCR	36
3.3 ENFERMEDADES INFLAMATORIAS DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL (SNC).....	47
3.3.1 ENFERMEDADES INFLAMATORIAS INFECCIOSAS DEL SNC	47
3.3.1.1 Meningoencefalitis bacteriana	47
3.3.1.2 Meningoencefalitis fúngicas	48
3.3.1.3 Meningoencefalitis víricas	49
3.3.1.4 Meningoencefalitis protozoarias	52
3.3.1.5 Meningoencefalitis por Rickettsias	53
3.3.2 ENFERMEDADES INFLAMATORIAS NO INFECCIOSAS DEL SNC	54
3.3.2.1 Meningitis arteritis que responde a esteroides.....	55
3.3.2.2 Meningoencefalitis eosinofílica	57
3.3.2.3 Síndrome del temblador idiopático	58
3.3.2.4 Meningoencefalitis del Greyhound.....	59
3.3.2.5 Meningoencefalitis de origen desconocido.....	59
3.3.2.5.1 Etiopatogénesis	59
3.3.2.5.2 Localización y signos clínicos	64
3.3.2.5.3 Histopatología.....	68
3.3.2.5.4 Diagnóstico por imagen	75
3.3.2.5.5 Análisis del LCR	80
3.3.2.5.6 Diagnóstico	81
3.3.2.5.7 Tratamiento	85
3.3.2.5.8 Pronóstico	92

3.4 BIOMARCADORES.....	101
3.4.1 DEFINICIÓN Y CARACTERÍSTICAS DEL BIOMARCADOR IDEAL.....	101
3.4.2 BIOMARCADORES EN ENFERMEDADES NEUROLÓGICAS	104
3.4.3 BIOMARCADORES EN LCR	105
3.4.3.1 Lactato.....	105
3.4.3.2 Biomarcadores obtenidos mediante ¹ HNMNMR	115
3.4.3.2.1 Lactato	117
3.4.3.2.2 N- Acetil Aspartato	117
3.4.3.2.3 Creatina.....	119
3.4.3.2.4 Colina.....	120
3.4.3.2.5 Mioinositol.....	122
3.4.3.2.6 Lípidos	122
3.4.3.2.7 Alanina	123
3.4.3.2.8 Glutamato y Glutamina	124
3.4.3.2.9 Taurina.....	125
3.4.3.2.10 Glucosa.....	125
4. OBJETIVOS	135
5. MATERIAL Y MÉTODOS	133
5.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN.....	135
5.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN	136
5.3 PROTOCOLO DE TRABAJO	137
5.3.1 ANALÍTICA SANGUINEA	137
5.3.2 INMUNOFUORESCENCIA INDIRECTA L. infantum Y E. canis	138
5.3.3 PROCEDIMIENTO ANESTÉSICO	138
5.3.4 PROTOCOLO DE RESONANCIA MAGNÉTICA	139
5.3.5 TOMA DE MUESTRA DE LCR	139
5.3.6 ANÁLISIS DE LCR	140
5.3.6.1 Análisis básico de LCR.....	184
5.3.6.2 Enfermedades infecciosas en LCR.....	141
5.3.6.3 Determinación de biomarcadores	185
5.4 TRATAMIENTO.....	144

5.5 SEGUIMIENTO	144
5.6 EUTANASIA	146
5.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	146
6. RESULTADOS	149
6.1 ANÁLISIS DESCRIPTIVO	151
6.1.1 GRUPO EPILEPSIA IDIOPÁTICA (EI)	151
6.1.1.1 Reseña de los pacientes.....	151
6.1.1.2 Signos clínicos.....	151
6.1.1.3 Hallazgos de resonancia magnética	151
6.1.1.4 Análisis sanguíneo.....	151
6.1.1.5 Análisis LCR	151
6.1.1.5.1 Análisis básico.	151
6.1.1.5.2 ¹ HNMR metabolitos	151
6.1.1.6 Supervivencia	152
6.1.2 GRUPO MENINGOENCEFALITIS DE ORIGEN DESCONOCIDO (MOD)	156
6.1.2.1 Reseña de los pacientes	156
6.1.2.2 Signos clínicos.....	157
6.1.2.3 Hallazgos de resonancia magnética.....	160
6.1.2.4 Análisis sanguíneo.....	168
6.1.2.5 Análisis LCR:.....	169
6.1.2.5.1 Análisis básico.	169
6.1.2.5. ¹ HNMR metabolitos	171
6.1.2.6 Tratamientos	176
6.1.2.7 Resonancia magnética y análisis de LCR de control.	177
6.1.2.8 Evolución de la enfermedad	1811
6.1.2.9 Supervivencia.....	181
6.2 COMPARACIÓN DE GRUPOS MOD – EI	184
6.2.1 RESEÑA.....	184
6.2.2 ANALÍTICA SANGUÍNEA.....	1844

6.2.3 ANÁLISIS DE LCR.....	184
6.2.3.1 Análisis básico LCR.....	184
6.2.3.2 ¹ HNMR metabolitos.....	185
6.3 CORRELACIONES Y COMPARATIVAS GRUPO MOD.....	186
6.3.1 CORRELACIONES ENTRE LAS VARIABLES PARAMÉTRICAS.....	186
6.3.1.1 Reseña.....	186
6.3.1.2 Analítica sanguínea.....	186
6.3.1.3 Análisis de LCR.....	186
6.3.1.4 Tiempo de supervivencia.....	186
6.3.2 COMPARATIVAS DE VARIABLES NO PARAMÉTRICAS.....	187
6.4 ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA GRUPO MOD.....	188
6.4.1 RESEÑA PACIENTE.....	188
6.4.2 SIGNOS CLÍNICOS.....	188
6.4.3 HALLAZGOS DE RESONANCIA MAGNÉTICA.....	193
6.4.4 ANALÍTICA SANGUÍNEA.....	196
6.4.5 ANÁLISIS LCR:.....	196
6.4.6 TRATAMIENTO.....	199
6.4.6.1 Tratamiento previo al diagnóstico.....	199
6.4.6.2 Tratamiento instaurado después del diagnóstico.....	201
6.4.6.3 Respuesta favorable al tratamiento en 7 días.....	203
6.5 ANÁLISIS METABOLITOS MEDIANTE ¹ HNMR.....	204
6.5.1 LOLA.....	206
6.5.2 BOCA.....	210
6.5.3 MUSA.....	214
6.6 NECROPSIAS.....	219
7. DISCUSIÓN.....	221
7.1 RAZA.....	223
7.2 SEXO.....	223
7.3 EDAD.....	224
7.4 PESO.....	224
7.5 SIGNOS CLÍNICOS.....	225

7.6 HALLAZGOS DE RESONANCIA MAGNÉTICA	228
7.7 ANÁLISIS SANGUÍNEO.....	233
7.8 ANÁLISIS BÁSICO DE LCR	234
7.8.1 RECUENTO TOTAL DE CÉLULAS NUCLEADAS Y PROTEÍNAS TOTALES.	234
7.8.2 LACTATO EN LCR (L-LCR)	236
7.8.2.1 L-LCR en grupo MOD y EI.....	236
7.8.2.2 L-LCR y edad.....	237
7.8.2.3 L-LCR y peso	237
7.8.2.4 L-LCR y hematocrito sanguíneo.....	238
7.8.2.5 L-LCR y proteínas totales	238
7.9 TRATAMIENTOS, EVOLUCIÓN Y TIEMPO DE SUPERVIVENCIA	239
7.10 ANÁLISIS DE LCR MEDIANTE ¹ HNMN	243
7.10.1 LACTATO	245
7.10.2 N-ACETIL ASPARTATO	245
7.10.3 CREATINA.....	246
7.10.4 MIOINOSITOL.....	247
7.10.5 GLUTAMATO Y GLUTAMIMNA.....	248
7.10.6 GLUCOSA.....	249
7.10.7 ALANINA	249
7.10.8 COLINA	249
7.10.9 LÍPIDOS Y TAURINA	250
7.11 LIMITACIONES DEL ESTUDIO	251
8. CONCLUSIONES	254
9. BIBLIOGRAFIA	259
10. ABREVIATURAS	291

TABLAS

Tabla 1. Etiopatogénesis MOD. 63

Tabla 2. Localización y signos clínicos MOD. 67

Tabla 3. Histopatología MOD. 74-75

Tabla 4. Hallazgos en diagnóstico por imagen en MOD. 79

Tabla 5. Fármacos empleados en el tratamiento de la MOD. Posología, efectos secundarios y tiempo medio de supervivencia. 90-91

Tabla 6. Resumen de los principales estudios relacionados con factores pronósticos. 98

Tabla 7. Clasificación de la hiperlactatemia. 109

Tabla 8. Causas de acidosis láctica. 110

Tabla 9. Valores de referencia análisis metabólico LCR perros sanos.116

Tabla 10. Metabolitos, frecuencias de resonancia, propiedades, significación del aumento y disminución de su concentración. 126

Tabla 11. Resultados análisis sanguíneos grupo EI. 152

Tabla 12. Resultados análisis básico LCR grupo EI. 152

Tabla 13. Resultados análisis sanguíneos grupo MOD. 168

Tabla 14. Resultados análisis básico LCR grupo MOD. 169

Tabla 15. Concentraciones de L-SANG y L-LCR (mmol/L) en función del grupo del tratamiento. 176

Tabla 16. Resultados análisis sanguíneos en el momento del diagnóstico y en el control posttratamiento.177

Tabla 17. Resultados análisis básico LCR en el momento del diagnóstico y en el control posttratamiento. 178

Tabla 18. Signos clínicos y hallazgos de RM en el momento del diagnóstico y en el control posttratamiento. 178

Tabla 19. Análisis sanguíneos en pacientes con supervivencia < y > a 7 días. 182

Tabla 20. Análisis básico de LCR en pacientes con supervivencia < y > a 7 días. 183

Tabla 21. Diferencias significativas encontradas entre L-LCR, L-SANG y variables relacionadas con el tratamiento. 184

Tabla 22. Resumen de los metabolitos en LCR y propiedades y sus modificaciones en los LCR de control. 187

Tabla 23. Resumen de los metabolitos en LCR, frecuencias de resonancia (ppm) y propiedades. Modificaciones de los metabolitos en los LCR del control posttratamiento.218

FIGURAS

- Fig. 1.* Enfermedades inflamatorias infecciosas del SNC. 54
- Fig. 2.* Enfermedades inflamatorias no infecciosas del SNC. 55
- Fig. 3ª.* Glucólisis aeróbica en el interior de la mitocondria. 106
- Fig. 3b.* Glucólisis anaeróbica. 106.
- Fig. 4.* Localización del lactato en LCR en la BHE. 111
- Fig. 5.* Espectrogramas de los principales metabolitos en LCR y sus frecuencias de resonancia. 127
- Fig. 6ª-6c.* Referencias anatómicas para la extracción de LCR; recolección LCR. 140
- Fig. 7.* Fig 7. Accutrend Analyzer Roche ®. Determinación de L-LCR y L-SANG. 142
- Fig. 8.* Espectrograma de muestra de un paciente del grupo EI. 153
- Fig. 9.* Espectrograma del etanol. 153
- Fig. 10.* Espectrogramas de pacientes grupo EI (parte 1) 154
- Fig. 11.* Espectrogramas de pacientes grupo EI (parte 2) 155
- Fig. 12.* Razas incluidas en el grupo MOD y sus porcentajes. 156
- Fig. 13.* Tipo y frecuencia de signos clínicos en el grupo MOD. 157
- Fig. 14.* Síndrome vestibular central severo. 157
- Fig. 15.* Estrabismo vestibular ventro- lateral. 157
- Fig. 16.* Video síndrome vestibular central severo paciente Fig. 14. 158
- Fig. 17.* Video nistagmo vestibular vertical. 158
- Fig. 18.* Video marcha en círculos y pressing. 158
- Fig. 19.* Video dolor cervical. 158
- Fig. 20.* Video alteración del estado mental (estupor). 158
- Fig. 21.* Video convulsiones parciales. 158
- Fig. 22.* Video convulsiones tónico- clónicas generalizadas. 158
- Fig. 23.* Video ceguera bilateral y midriasis con pupilas arreactivas. 158
- Fig. 24.* Otros pares (parálisis bilateral del trigémino). 159
- Fig. 25.* Otros pares (anisocoria). 159
- Fig. 26.* Video paparesia no ambulatoria. Silla ruedas. 159
- Fig. 27.* Video alteración cerebelar (hipermetría). 159

- Fig. 28.* Video alteración cerebelar (temblor de intención).159
- Fig. 29.* Video tetraparesia ambulatoria.159
- Fig. 30.* Video alteración del comportamiento.159
- Fig. 31.* Video hemiparesia izquierda.159
- Fig. 32.* RM: Distribución de las lesiones. 160
- Fig. 33.* RM: Afectación de sustancia.160
- Fig. 34.* RM: Localización. 160
- Fig. 35.* RM: Afectación de fosa. 160
- Fig. 36.* RM: Características y frecuencias de las lesiones. 161
- Fig. 37.* Imágenes de RM post contraste en secuencia Spin-Echo (SE) potenciadas en T1 (a) en plano sagital y (b) en plano transversal. Lesiones multifocales en cerebro, cerebelo, tronco encefálico y médula espinal. 162
- Fig. 38.* Imagen de RM postcontraste en secuencia Turbo Spin-Echo (TSE) potenciada en T1 en plano sagital. Lesión focal en encéfalo. 162
- Fig. 39.* Imagen de RM FLAIR en plano transversal. Lesión difusa. 162
- Fig. 40.* Imagen de RM TSE potenciada en T2 en plano transversal. Afectación sustancia blanca. 163
- Fig. 41.* Imagen de RM T2 TSE potenciada en T2 en plano transversal. Afectación sustancia gris. 163
- Fig. 42.* Imagen de RM FLAIR en plano transversal. Lesión cerebelo. 163
- Fig. 43.* Imágenes de RM (a) TSE potenciada en T2 en plano sagital; (b) FLAIR en plano transversal. Lesión extensa en tronco encefálico con siringomielia obstructiva. 163
- Fig. 44.* Imagen de RM post contraste TSE potenciada en T1 en plano sagital. Lesión medular leve.164
- Fig. 45.* Imagen de RM (a) TSE potenciada en T2 en plano sagital; (b) postcontraste TSE potenciada en T1 en plano sagital. Lesión medular extensa.
- Fig. 46.* Imágenes de RM TSE potenciadas en T2 en secuencia transversal. (a) Sistema ventricular normal y surcos cerebrales normales; (b) Pérdida de surcos cerebrales y dilatación ventricular.
- Fig. 47.* Imágenes de RM SE potenciada en T1 en secuencia transversal (a) precontraste; (b) postcontraste. Captación de contraste perilesional.165
- Fig. 48.* Imágenes de RM SE potenciadas en T1 en secuencia transversal (a) precontraste; (b) postcontraste. Contraste meníngeo.
- Fig. 49.* Imágenes de RM (a) postcontraste TSE potenciada en T1 en secuencia transversal. Lesión focal con captación de contraste; (b) TSE potenciada en T2 en secuencia transversal. Edema perilesional
- Fig. 50.* Imágenes de RM TSE potenciadas en T2 en (a) secuencia sagital y transversal (b). Efecto masa, herniación cerebelar y siringomielia obstructiva asociada. 166

Fig. 51. Imágenes de RM TSE potenciadas en T2 en plano sagital. (a) Herniación cerebral, transtentorial y cerebelar; (b) Herniación cerebelar.

Fig. 52. Imagen de RM en secuencia Fast Field- Echo 3D (FFE3D) potenciada en T2 en plano sagital. Desplazamiento línea media.

Fig. 53. Imágenes de RM TSE potenciadas en T2 en plano sagital. (a) Siringomielia obstructiva leve y severa (b).167

Fig. 54. Imagen de RM FFE3D potenciada en T2 en plano sagital. Componente quístico.

Fig. 55. Imagen de RM SE potenciada en T1 en secuencia transversal. Componente hemorrágico.

Fig. 56. Imagen de RM TSE potenciada en T2 en plano sagital. Síndrome de Chiari y siringomielia.

Fig. 57. LCR sin alteraciones. Presencia de escasas células mononucleares sin activación.

Fig. 58. Pleocitosis linfocítica.

Fig. 59. Pleocitosis monocítica.

Fig. 60. Pleocitosis mixta.

Fig. 61. Espectrograma del Dolethal. 171

Fig. 62. Espectrogramas de pacientes grupo MOD (parte 1).172

Fig. 64. Espectrogramas de pacientes grupo MOD (parte 2).173

Fig. 65. Espectrogramas de pacientes grupo MOD (parte 3).174

Fig. 66. Espectrogramas de pacientes grupo MOD (parte 4).175

Fig. 67. Esquema de las concentraciones medias de L-SANG y L-LCR (mmol/L) según el tipo de tratamiento. 177

Fig. 68. BOCA. Imágenes de RM SE potenciada en T1 en plano sagital postcontraste (a) Diagnóstico: Neuritis óptica bilateral; (b) Control posttratamiento: normal. 179

Fig. 69. LOLA. Imágenes de RM TSE potenciadas en T2 en plano transversal. (a) Diagnóstico: Cambios multifocales con afección principalmente de la materia blanca y pérdida de surcos cerebrales. (b) Control posttratamiento: la extensión de los cambios de señal es menor, mejor diferenciación entre materia gris y blanca y aumento de grosor de los surcos cerebrales. 179

Fig. 70. MUSA. Imágenes de RM TSE potenciadas en T2 en plano transversal (a) Diagnóstico: dilatación ventricular. (b) Control posttratamiento: sistema ventricular normal. 179

Fig. 71. BOCA. Espectros superpuestos diagnóstico y control posttratamiento (8 meses). 180

Fig. 72. LOLA. Espectros superpuestos diagnóstico y control posttratamiento (8 meses).180

Fig. 73. MUSA. Espectros superpuestos diagnóstico y control posttratamiento. 180

Fig. 74. Evolución de la enfermedad. 181

Fig. 75. Diagrama de puntos para espectros ¹HNMNR: Pacientes grupo EI y grupo MOD. 185

Fig. 76. Curva supervivencia en función de la presencia de alteración del estado mental. 188

Fig. 77. Curva supervivencia en función de la presencia de signos multifocales. 189

Fig. 78. Curva supervivencia en función de la presencia de déficits visuales.190

Fig. 79. Curva supervivencia en función de la presencia de marcha en círculos.191

Fig. 80. Curva supervivencia en función de la presencia de alteración del comportamiento. 192

Fig. 81. Curva supervivencia en función de la presencia de siringomielia. 193

Fig. 82. Curva supervivencia en función de la afectación de sustancia gris. 194

Fig. 83. Curva supervivencia en función de la presencia de componente hemorrágico. 195

Fig.84. Curva supervivencia para L-SANG ≤ 4 o > 4 mmol/L. 197

Fig. 85. Curva supervivencia para L-LCR ≤ 4 o > 4 mmol/L. 198

Fig. 86. Curva supervivencia en función de haber recibido tratamiento previo. 199

Fig. 87. Curva supervivencia en función de haber recibido tratamiento previo con glucocorticoides. 200

Fig. 88. Curva supervivencia en función de los tres grupos tratamiento (A: prednisona + arabinósido de citosina; B prednisona+/- ciclosporina; C: sin tratamiento). 201

Fig. 89. Curva supervivencia en función de los dos protocolos de tratamiento (A: prednisona + arabinósido de citosina; B: prednisona+/- ciclosporina).202

Fig. 90. Curva supervivencia en función de la respuesta al tratamiento en 7 días. 203

Fig. 91. Diagrama de puntos. Pacientes grupo E1 y grupo MOD con supervivencia menor de 1 mes. 204

Fig. 92. Diagrama de puntos. Pacientes grupo MOD y grupo MOD con supervivencia menor de 1 mes. 205

Fig. 93. Diagrama de puntos. Pacientes grupo MOD en el momento del diagnóstico y en el control. 205

Fig. 94. Lola 1. 206

Fig. 96. Lola 2. 207

Fig. 95. Lola 3.207

Fig. 97. Lola 4. 208

Fig. 98. Lola 5. 208

Fig. 99. Lola 6.209

Fig. 100. Lola 7. 209

Fig. 101. Boca 1.210

Fig. 102. Boca 2.211

Fig. 103. Boca 3. 211

Fig. 104. Boca 4. 212

Fig. 105. Boca 5. 212

Fig. 106. Boca 6. 213

Fig. 107. Boca 7. 213

Fig. 108. Musa 1. 214

Fig. 109. Musa 2. 215

Fig. 110. Musa 3. 215

Fig. 111. Musa 4. 216

Fig. 112. Musa 5. 216

Fig. 113. Musa 6. 217

Fig. 114. Musa 7. 217

Fig. 115. Distribución de los pacientes en función del peso. 224

1 RESUMEN

Las meningoencefalitis de origen desconocido son unas de las enfermedades inflamatorias del sistema nervioso central más frecuentes en perros. Los objetivos de este trabajo han consistido en identificar los factores que puedan tener alguna influencia en el pronóstico y supervivencia de perros con esta enfermedad, así como intentar establecer qué concentraciones de lactato, tanto sanguíneo como en líquido cefalorraquídeo, pueden ser determinantes en el pronóstico. Para ello, se ha realizado un estudio clínico prospectivo en 45 perros con esta patología y, como grupo control, 11 perros con epilepsia idiopática. Se ha determinado si existe relación entre la evolución de la enfermedad y la supervivencia con diferentes factores: raza, peso, sexo, edad, signos clínicos, hallazgos de resonancia magnética, análisis sanguíneo, análisis de líquido cefalorraquídeo y tratamientos recibidos previos y posteriores al diagnóstico. También se han estudiado los principales biomarcadores en líquido cefalorraquídeo: lactato y otros metabolitos analizados mediante espectroscopia por resonancia magnética nuclear realizada a través de la determinación del hidrógeno.

Los resultados muestran que pueden considerarse factores pronósticos negativos la presencia de signos clínicos multifocales, déficit visual, alteración del estado mental, alteración del comportamiento y marcha en círculos. Los hallazgos de resonancia magnética asociados a menor supervivencia son la afectación de sustancia gris, siringomielia y presencia de componente hemorrágico. La alteración del estado mental y el componente hemorrágico en resonancia son indicadores de mal pronóstico a corto plazo (inferior a 7 días). Los pacientes que responden favorablemente a los 7 días de haber iniciado el tratamiento adecuado tienen una supervivencia mayor; sin embargo, el empleo de tratamiento empírico previo al diagnóstico (especialmente glucocorticoides a dosis no inmunosupresoras) está asociado a mal pronóstico.

Aunque son necesarios más estudios, nuestros resultados indican que el análisis del líquido cefalorraquídeo mediante espectroscopia podría emplearse para valorar la evolución de los pacientes en tratamiento y la necesidad de continuar o no la terapia.

La evaluación conjunta del lactato en sangre y líquido cefalorraquídeo pueden considerarse indicadores de pronóstico favorable (inferior a 2,5 mmol/L) o desfavorable (mayor de 2,5 mmol/L); además, concentraciones de lactato superiores a 4 mmol/L, tanto en líquido cefalorraquídeo como en sangre, se asocian a una menor supervivencia. Por tanto, la determinación de lactato constituye una herramienta esencial en esta patología, y debería valorarse en todos los pacientes para, junto al resto de parámetros clínicos, definir el pronóstico del paciente.

1 SUMMARY

Meningoencephalitis of unknown origin (MUO) are one of the most common inflammatory diseases of the central nervous system in dogs. The aim of this study is to find factors related with prognosis and outcome in dogs with this disease, as well as to establish which lactate concentrations, both in blood and cerebrospinal fluid (CSF), can be determinant for prognosis. A prospective clinical study was carried out on 45 dogs with MUO. Eleven dogs with idiopathic epilepsy were included as control group. It has been determined whether there is a relationship between disease progression and outcome with different factors as breed, bodyweight, gender, age, clinical signs, magnetic resonance imaging findings, blood tests, cerebrospinal fluid analysis and treatments received before and after diagnosis. Main biomarkers in cerebrospinal fluid have also been studied, such as lactate and other metabolites determined by nuclear magnetic resonance spectroscopy with respect to hydrogen.

Multifocal clinical signs, visual deficits, decreased mentation, changes in behavior and circling can be considered as negative prognostic factors. Magnetic resonance findings associated with poor outcome are gray matter involvement, syringomyelia and hemorrhage. Decreased mentation and hemorrhage are also short-term poor prognosis indicators (less than 7 days). Patients with good response within the first 7 days to an appropriate treatment have a longer survival; however, the use of empiric treatment prior to diagnosis (especially non-immunosuppressive doses of glucocorticoids) is associated with a poor prognosis.

Although more studies are needed to come to definitive conclusions, CSF analysis spectroscopy could be used in the follow up of patients under treatment helping in decision taking about the need to continue therapy or not.

Blood and CSF lactate are markers of good (less than 2.5 mmol/ L) or poor prognosis (higher than 2.5 mmol/ L). In addition, lactate concentrations higher than 4 mmol/ L both in blood and CSF, are associated with poor outcome. In conclusion, blood and CSF lactate are useful tools in management of dogs with MUO and should be evaluated in all patients in conjunction with the clinical parameters previously mentioned in order to define a prognosis.

2 INTRODUCCIÓN

Las enfermedades inflamatorias del sistema nervioso central son unas de las patologías neurológicas más frecuentes en perros. De ellas, las meningoencefalitis de origen desconocido (MOD) tienen una especial relevancia por su amplia distribución, variabilidad de signos clínicos y, sobre todo, por la dificultad para poder realizar un diagnóstico definitivo correcto. La incidencia de los procesos inmunomediados en medicina veterinaria, igual que en humanos, está en alza. Este hecho, junto con el avance de los métodos de diagnóstico por imagen, ha promovido que las MOD sean objeto de numerosos estudios con el fin de conseguir comprender su fisiopatología, diagnosticarlas adecuadamente y, sobre todo, poder instaurar el tratamiento adecuado lo antes posible.

La gran variabilidad en la edad de presentación, razas y signos clínicos hace que las MOD deban ser incluidas como diagnóstico diferencial en prácticamente cualquier paciente con alteración del sistema nervioso central. Es importante realizar un diagnóstico adecuado, principalmente en animales jóvenes, puesto que otro de los posibles diagnósticos diferenciales es una enfermedad inflamatoria infecciosa en la que administrar un tratamiento inmunosupresor podría ocasionar la muerte del paciente. Por otro lado, el diagnóstico precoz es esencial para poder instaurar el tratamiento adecuado lo antes posible y así evitar la cronificación y el desenlace fatal de la enfermedad. En las clínicas veterinarias suele ser una práctica habitual administrar glucocorticoides a pacientes que acuden con signos neurológicos sin tener un diagnóstico definitivo. Este acto supone una interferencia notable en el diagnóstico de esta patología ya que los signos suelen desaparecer inicialmente, lo que hace pensar que el proceso está resuelto. Además, este tratamiento empírico puede interferir con las pruebas diagnósticas hasta meses después de su interrupción, lo que provoca falsos negativos en los estudios de resonancia magnética y en el análisis de LCR con la consecuente demora en el diagnóstico y en la instauración del tratamiento adecuado.

Uno de los inconvenientes de esta patología es el coste económico de las pruebas diagnósticas. Además, en la actualidad, no existe un consenso en la definición de los factores pronóstico, con lo que es complicado emitir un pronóstico fiable; ambos hechos conducen a que muchos propietarios no acepten completar el protocolo diagnóstico y, por tanto, que muchos pacientes sean eutanasiados antes de conocer si podrían beneficiarse del tratamiento. De ahí la importancia de intentar encontrar parámetros que realmente tengan un valor pronóstico objetivo en pacientes con esta enfermedad.

Esta tesis doctoral trata de establecer unas bases objetivas para poder emitir un pronóstico certero en pacientes con MOD y, con ello, facilitar un correcto asesoramiento a los propietarios, lo que permitirá mejorar la atención veterinaria de los pacientes afectados por esta compleja enfermedad.

3 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Las enfermedades inflamatorias del sistema nervioso central (SNC) son unas de las patologías neurológicas más frecuentes en perros. Para poder comprenderlas es necesario conocer la fisiopatología de la neuroinflamación y las características especiales de la barrera hematoencefálica (BHE) y del líquido cefalorraquídeo (LCR).

3.1 FISIOPATOLOGIA DE LA NEUROINFLAMACIÓN

Aunque la mayor parte de los hallazgos encontrados en los procesos inflamatorios del SNC son similares a los que afectan al resto de los sistemas, su particular "aislamiento" del resto del sistema inmune hace que tengan especial relevancia la patogénesis, los criterios diagnósticos y el tratamiento de estos procesos. La principal responsable de este aislamiento es la barrera BHE¹.

3.1.1 La barrera hematoencefálica

La BHE es una interfaz compleja y dinámica entre la sangre y el SNC. Es la encargada de realizar los intercambios entre la sangre y los compartimentos cerebrales y juega un papel esencial en la homeostasis cerebral y en la respuesta frente a agentes patógenos y tóxicos. Los experimentos de Paul Ehrlich en 1885 demostraron que en los mamíferos en los que se inyectaba por vía intravascular tinciones vitales, como azul tripano, mostraban tinción de todos los tejidos del cuerpo excepto el encéfalo y la medula espinal. 30 años más tarde, un discípulo de Erlich realizó el experimento opuesto inyectando azul tripano directamente en LCR. El azul tripano difundió por todo el SNC sin hacerlo a ningún órgano periférico confirmando la presencia de una barrera entre el SNC y la circulación². La BHE está presente en todas las regiones cerebrales excepto en aquellas reguladas por el sistema nervioso autónomo (SNA) y las glándulas endocrinas, donde los vasos sanguíneos permiten la difusión de ciertas moléculas³.

Las principales funciones de la BHE son⁴:

- (1) Mantener la homeostasis del SNC.
- (2) Proteger al cerebro del ambiente extracelular.

(3) Proporcionar un aporte constante de nutrientes mediante sistemas específicos de transporte.

(4) Dirigir las células inflamatorias en respuesta a cambios locales ambientales.

El mantenimiento de la homeostasis se realiza gracias a la regulación del balance iónico y al flujo de entrada y salida de componentes. Esto es esencial para la protección frente a sustancias nocivas, variaciones en la composición sanguínea y la disrupción de la concentración de gradientes⁵. Las propiedades bioquímicas y estructurales específicas de las BHE se deben a la relación de las capas existentes entre la sangre y el cerebro, así como a la interacción entre una amplia variedad de tipos celulares¹.

3.1.1.1 Componentes de la BHE

En el desarrollo del cerebro, los capilares se diferencian y maduran dentro de la BHE. Aunque la permeabilidad de la BHE es controlada por las propias características bioquímicas de las células del endotelio microvascular del cerebro (BMVEC), la biología microvascular del cerebro se basa en las interacciones de la *membrana basal* con las células gliales vecinas como la *microglía*, *astrocitos*, *neuronas* y *pericitos vasculares*. Todas estas células constituyen la *Unidad Neurovascular (UNV)*, esencial para la integridad y funcionalidad del SNC. Otros componentes determinantes en la funcionalidad de la BHE son las uniones intercelulares^{6,3}.

3.1.1.1.1 La unión neurovascular

- I. **Membrana basal.** La membrana basal es una parte esencial de la BHE. Rodea toda las BMVEC y engloba los pericitos, ancla las células y establece las conexiones con las células cerebrales circundantes. La membrana basal está constituida por tres láminas compuestas por distintas clases de matriz extracelular: (1) proteínas estructurales (colágeno y elastina), (2) proteínas especializadas (fibronectina y laminina) y (3) proteoglicanos. Dentro de esta matriz extracelular también se encuentran los receptores de adhesión a la matriz (moléculas celulares de adhesión). Las moléculas de adhesión se expresan en las células vasculares, neuronas y células gliales de soporte y son la base del soporte de la BHE⁷.

La disrupción de la membrana basal puede derivar en la alteración del citoesqueleto de la BMVEC, afectando a las proteínas de las tight unions o uniones estrechas y la integridad de la BHE. Cualquier alteración de la matriz extracelular está asociada a un incremento en la permeabilidad de la BHE, lo que ocurre en numerosas patologías del SNC (entre las que se incluyen las enfermedades inflamatorias)⁸.

- II. **Neuronas.** El papel de las neuronas en el fenotipo de la BHE no es claro; sin embargo, hay evidencias de que las neuronas pueden regular la función de los vasos sanguíneos en respuesta a los requerimientos metabólicos e inducir la expresión de enzimas únicas para el BMVEC. Los astrocitos y BMVEC parecen estar inervados directamente por neuronas noradrenérgicas, serotoninérgicas, colinérgicas y GABAérgicas entre otras. El endotelio maduro tiene una función recíproca y origina un microambiente cerebral que facilita una adecuada actividad neuronal⁶.

- III. **Microglia.** La microglía son células del sistema mononuclear fagocítico⁹. Desempeñan un papel muy importante en la respuesta inmunitaria y en las alteraciones de la homeostasis del SNC. Las células de microglía pueden encontrarse en fase de reposo o activadas. Cuando están en fase de reposo sus cuerpos son pequeños; sin embargo, en la fase activa adquieren una morfología fagocítica alargada. Como la microglía se encuentra en el espacio perivascular, se piensa que su interacción con las BMVEC puede contribuir a las propiedades de la BHE. No obstante, el mecanismo exacto de este acontecimiento no está claro¹⁰.

- IV. **Pericitos.** Los pericitos (también conocidos como células murales o miofibroblastos) son los principales integrantes celulares de los capilares y las vénulas post-capilares. Comparten la misma membrana basal que las células endoteliales y cubren el 22-32% de los capilares. Los pericitos sintetizan la mayoría de los elementos de la membrana basal, incluyendo los proteoglicanos. Se cree que la síntesis y liberación de proteínas laminares por parte de los pericitos es un paso crítico en la diferenciación de la BHE¹¹. La asociación entre los pericitos y el endotelio microvascular es vital para mantener el soporte estructural y la integridad de las uniones. Del mismo modo, su asociación con los vasos sanguíneos parece regular la proliferación, migración y diferenciación de las células endoteliales, así como incrementar los niveles de glicoproteína P. La interacción de los pericitos con las BMVEC determina la remodelación del sistema

vascular mediante la secreción de factores de crecimiento y la modulación de la matriz extracelular¹².

Los pericitos son capaces de reajustarse en respuesta a situaciones de estrés, como por ejemplo, hipoxia severa. Presentan gran cantidad de fibras ricas en actina, lo que permite controlar el flujo sanguíneo y regular la permeabilidad de las uniones. Los pericitos, además, son capaces de migrar rápidamente desde su ubicación habitual a zonas de hipoxia o de traumatismo cerebral. Todas estas condiciones están asociadas con un aumento de la permeabilidad de la BHE¹.

- V. Astrocitos.** Los astrocitos son células gliales cuya función principal es promover la síntesis de proteoglicanos e incrementar la selectividad de la carga de las BMVEC. Los astrocitos también proporcionan una adecuada función neuronal y aseguran la correcta interacción entre los cuerpos neuronales y los capilares cerebrales para mantener la funcionalidad de la UNV¹².
- VI. Células endoteliales.** Las BMVEC interactúan íntimamente con otras células cerebrales de la UNV. El endotelio cerebral forma la base anatómica de la BHE en los mamíferos. La barrera de las BMVEC es crítica para evitar la entrada de sustancias tóxicas al cerebro¹⁰. El endotelio capilar en el cerebro es de 50 a 100 veces más fino que en la microvascularización y posee un gran número y volumen de mitocondrias en comparación con el endotelio de otros órganos. Estas características favorecen los sistemas de transporte selectivos y el metabolismo de las sustancias dentro y fuera del cerebro⁶.

3.1.1.1.2 Uniones intercelulares

Las células endoteliales se unen a la membrana basal por medio de adhesiones focales formadas, principalmente, por proteínas transmembrana que también participan en la adhesión intracelular. Estas proteínas transmembrana se clasifican en tres familias según su estructura: selectinas, superfamilia de las inmunoglobulinas e integrinas. Estas últimas desempeñan un papel importante durante la angiogénesis y en el mantenimiento de la integridad vascular¹³.

Las uniones intercelulares son las encargadas de la estabilización de las células endoteliales en la BHE gracias a sus dos principales componentes moleculares y las vías de regulación de las uniones intercelulares.

3.1.1.1.2.1 Componentes moleculares

- I. **Uniones estrechas (TJ).** Son las principales estructuras responsables de las propiedades de la barrera. No deben considerarse como moléculas aisladas en la barrera, sino como estructuras extremadamente dinámicas que están bajo la estricta regulación del microambiente cerebral. Más de 40 proteínas están asociadas con las TJ¹³. Destacan:
 - a. **Claudinas:** incluyen al menos 24 familias. Su función es establecer las propiedades de la barrera y restringir su permeabilidad^{14, 13}.
 - b. **Ocludinas:** tienen una acción activa en la funcionalidad de la BHE y en la transducción de señales¹².
 - c. **Moléculas de adhesión de unión:** aunque todavía se desconocen muchas de sus funciones en la BHE madura, sí está claro su papel en la regulación de la migración transendotelial de los leucocitos. Su falta de expresión de tiene repercusiones notables en el estado inmunitario del organismo en distintas patologías del SNC⁸.
 - d. **Proteínas citoplasmáticas:** su pérdida o disociación está asociada con un incremento en la permeabilidad de la BHE¹⁵.

- II. **Uniones adherentes de anclaje (AJ).** Sus principales funciones son: adhesión de las BMVEC, inhibición del contacto durante el desarrollo vascular y la remodelación, inicio de la polarización celular y regulación de la permeabilidad paracelular. Dentro de las AJ destacan las cadherinas y las cateninas¹.

3.1.1.1.2.2 Vías de regulación de las uniones intercelulares

Numerosos estímulos como el estrés oxidativo (p.ej radicales libres como el óxido nítrico [NO]), agentes vasogénicos, mediadores de la inflamación y lipídicos (Factor Necrosis Tumoral- α [TNF- α], prostaglandina E₂ [PGE₂]) y agentes infecciosos modifican las uniones intercelulares al originar un estado de fosforilación- desfosforilación. En estos procesos intervienen distintas rutas de señales reguladas, principalmente, por proteínas quinasas, proteínas quinasas activadas por mitógenos, óxido nítrico sintasa, calcio y Wnt/ β - catenina¹⁶.

Las proteínas quinasas se clasifican en función de su especificidad de sustrato en:

- I. **Serina/ treonina quinasas^{17,18}:**
 - a. **Proteína quinasa C:** presenta 11 isoenzimas clasificados en función de sus métodos de activación. Participa en la regulación de la permeabilidad de las TJ. También está implicada en el deterioro endotelial inducido por hipoxia y en el daño neuronal secundario a isquemia cerebral.
 - b. **Proteína quinasa A y G:** la primera parece estar implicada en la integridad de la barrera endotelial y en las funciones de la barrera de las TJ mediante la activación del AMP cíclico. El aumento intracelular del AMP cíclico origina el incremento transcelular de la resistencia eléctrica transendotelial y disminuye la permeabilidad paracelular facilitando la expresión de claudina-5. La proteína quinasa G, sin embargo, se activa por el GMP cíclico, cuya producción se asocia a incrementos en los niveles de NO.
 - c. **Proteína quinasa B:** se expresa en la mayoría de las células. La fosforilación de sus numerosos objetivos en respuesta a diversos estímulos origina factores de crecimiento o citoquinas, promotores de supervivencia celular e inhibidores de apoptosis, por lo que está implicada en la progresión tumoral.

II. **Tirosin quinasas**^{17, 12, 18}:

- a. **Proteína tirosina quinasa:** participa en la transducción de señales que median en los cambios en la estructura y las funciones de la barrera endotelial, regulando la permeabilidad de la BHE. Numerosas patologías del SNC que cursan con aumento de la permeabilidad de la BHE se asocian a incremento en la actividad de esta proteína.
- b. **Proteínas quinasas activadas por mitógenos:** están implicadas en múltiples cascadas de reacciones de fosforilación de serina/treonina y tirosina que median en las respuestas celulares de mediadores de inflamación, agentes oxidantes y factores de crecimiento.
- c. **Proteínas G:** modulan y forman las TJ, manteniendo la integridad de la BHE.

III. **Óxido nítrico sintasa:** enzima que cataliza la producción de NO en las células endoteliales. El NO actúa como mensajero en el sistema nervioso, cardiovascular y el sistema inmune. Las células endoteliales producen pequeñas cantidades de NO que es liberado para el control local del flujo sanguíneo originando vasodilatación y ejerciendo cierto grado de efecto protector. Las funciones exactas del NO en la permeabilidad de la BHE son controvertidas. Hay estudios que demuestran que disminuye la permeabilidad de la BHE en humanos¹⁹, mientras que otros muestran que la incrementa dándole un papel primordial en la disrupción de las uniones de la BHE inducida por hipoxia²⁰.

El NO unido a la matriz metaloproteínasa forma parte también de otro posible mecanismo que implica la disrupción de la BHE. La matriz metaloproteínasa es una reconocida mediadora de las alteraciones de la BHE, desempeñando un importante papel en la degradación de la matriz vascular extracelular y la microvasculatura sanguínea cerebral, facilitando la infiltración leucocitaria y la activación de la microglía. Estos hechos forman parte de la neuroinflamación en respuesta a fenómenos como isquemia, esclerosis múltiple e infección¹.

- IV. Calcio:** es un potente segundo mensajero. Las concentraciones de calcio intracelular están estrictamente reguladas por los canales de calcio de las membranas, que transportan el calcio desde el citoplasma al espacio extracelular o lo almacenan en el espacio intracelular. Tanto la elevación como la depleción del calcio intracelular pueden derivar en la alteración de las uniones intercelulares, lo que demuestra la importancia del calcio en la regulación de la apertura de la BHE. La activación de las vías de señales de calcio se produce siempre después de un incremento en los niveles intracelulares del ion. La elevación del calcio intracelular puede desencadenarse por la unión de un agonista a su respectivo receptor en la superficie endotelial, por influjo a través de los canales de calcio, o como resultado de la liberación de calcio de su almacenamiento intracelular. La acumulación de calcio interfiere en las estructuras de las uniones que influyen en las propiedades de la permeabilidad. En consecuencia, niveles elevados de calcio afectarán la permeabilidad de la BHE bien al romper las TJ y la formación de las AJ o al alterar la expresión de sus proteínas¹².
- V. Wnt/ β -catenin:** son glicoproteínas que se acumulan en la matriz extracelular. Sus señales son fundamentales en el desarrollo de la BHE ya que regulan la expresión de proteínas esenciales en los constituyentes de las TJ. Las β -cateninas intervienen en la adhesión intercelular a través de su interacción con las caderinas en las AJ, mediando en la transcripción de las Wnt. Debido a esto, cualquier alteración del complejo AJ podría influir en las TJ. Consecuentemente, la ablación de las β -cateninas endoteliales conlleva un déficit en el contacto célula-célula y un incremento en la permeabilidad paracelular. La vía de las Wnt/ β -cateninas es una conocida cascada de señales de transcripción que actúa como la principal reguladora del desarrollo cerebral. La activación de las Wnts en el cerebro podría emplearse como arma terapéutica para reforzar la barrera de las TJ y prevenir o retrasar el avance de los leucocitos y componentes plasmáticos solubles en agua en el cerebro, como sucede en enfermedades degenerativas o inflamatorias del SNC²¹.

Esta composición y estructura única de la BHE hace que las reacciones inmunológicas en el SNC difieran del resto de los sistemas.

3.1.2 Componentes del sistema inmune

El sistema inmune se divide funcionalmente en *sistema inmune innato* y *adaptativo*.

3.1.2.1 Sistema inmune innato

Sus principales componentes son^{22, 23} :

- I. **Piel:** es la primera barrera de defensa frente a agentes patógenos externos. En la epidermis se localizan numerosas células inflamatorias y células presentadoras de antígenos (APCs).
- II. **Fagocitos:** incluyen células polimorfonucleadas, monocitos y macrófagos. Los monocitos y macrófagos constituyen aproximadamente el 4% de todos los leucocitos sanguíneos circulantes. Su citoplasma contiene enzimas importantes para la destrucción de microorganismos y el procesamiento de antígenos. Los monocitos se diferenciarán a macrófagos específicos de cada tejido (p.ej: células de Kupffer en el hígado y microglía en el cerebro).
- III. **Células Natural Killers (NK):** constituyen el 2,5% de los linfocitos sanguíneos circulantes. Aunque sus funciones exactas se desconocen, las NK no poseen memoria inmunológica, por lo que tienen la capacidad de reconocer y potencialmente destruir una gran variedad de células tumorales e infectadas por virus sin necesidad de contar con el complejo mayor de histocompatibilidad (MHC). Las NK tienen importancia en la lisis e inmunidad tumoral.
- IV. **Proteínas de fase aguda:** destaca la proteína C-reactiva que aumenta en respuesta a procesos inflamatorios o infecciosos e incrementa la capacidad de las células fagocíticas para reconocer patógenos.
- V. **Sistema de complemento:** es una cascada de proteínas séricas cuya función es mejorar y mediar en la inflamación y facilitar la fagocitosis.

3.1.2.2 Sistema inmune adaptativo

El sistema inmune adaptativo está formado por^{22, 23}:

- I. **Anticuerpos o inmunoglobulinas (Ig):** son producidos por las células B y son capaces de identificar distintos antígenos. Las Ig son glicoproteínas formadas por dos cadenas ligeras idénticas de polipéptidos (kappa o lambda) unidas por dos cadenas pesadas idénticas. Según la naturaleza bioquímica de la cadena pesada, las Ig se dividen en 5 clases principales: Ig M, Ig D, Ig G, Ig A e Ig E. La parte terminal del grupo carboxi de la cadena pesada (porción Fc) es la responsable de la unión a los tejidos del hospedador y de la fijación del complemento. Esta parte de la molécula es importante en la citotoxicidad mediada por células del sistema reticuloendotelial y en la lisis celular mediada por el complemento.
- II. **Células B:** su función principal es producir anticuerpos. La mayoría de las células B expresan el MHC tipo II y tienen la capacidad de actuar como APCs. Las células B, normalmente, producen Ig M en su superficie celular, pero pueden alternar otros isotipos por la influencia de las células T mientras mantengan la especificidad antigénica.
- III. **Células T (o células derivadas del timo):** tienen la capacidad de reconocer de manera específica los antígenos gracias a sus receptores de células. Se dividen en dos grupos:
 - a. **Células T-helper (Th):** expresan marcadores CD4+ en su superficie celular. Reconocen el antígeno presentado en asociación con el MHC tipo II en la superficie de las APCs. Las células CD4+ favorecen la maduración de las células B y la producción de anticuerpos y originan citoquinas para mejorar la respuesta inmune innata no específica.
 - b. **Células T citotóxicas (Tc):** expresan marcadores CD8+ en su superficie. Reconocen el antígeno en asociación con el MCH tipo I de manera específica. Son importantes por ejemplo en las infecciones víricas. La respuesta de las células T es determinante en la inmunidad mediada por células.

- IV. **APCs:** son necesarias para la presentación del antígeno a las células T. Se encuentran principalmente en la piel, linfonódulos, bazo y timo. Las principales APCs son macrófagos, monocitos, células dendríticas y células de Langerhans.

Las condiciones inmunológicas del SNC son únicas y determinan la fisiopatología de los procesos inmunomediados, infecciosos y tumorales del SNC, así como el tratamiento y la supervivencia. Los principales factores que afectan a la respuesta inmune en el SNC son^{22, 24}:

- Ausencia de drenaje linfático, lo que limita la circulación de las células inmunes.
- Presencia de la BHE que restringe el paso de las células inmunes y diversos factores.
- Bajo nivel de expresión de los factores MHC en el SNC, particularmente el MHCII.
- Falta de potencia de APCs en las dendritas.
- Presencia de factores de inmunosupresión.

Debido a la falta de sistema linfático, los antígenos drenan a lo largo de los espacios perivasculares. Los monocitos derivados de las células residentes del SNC juegan un papel importante en la vigilancia inmunológica de estas zonas²².

El sistema inmune va a condicionar la evolución de numerosas patologías. En medicina humana, numerosas patologías del SNC presentan un componente inmunomediado (esclerosis múltiple, encefalitis víricas). En medicina veterinaria el sistema inmune determina la evolución de enfermedades que cursan con inflamación del SNC (meningoencefalitis o meningoencefalomielitis inmunomediadas, infecciones bacterianas, víricas, fúngicas, neoplasias, traumatismos craneoencefálicos, traumatismos medulares agudos, procesos isquémicos...). Durante la inflamación, el endotelio de la BHE es capaz de producir o desencadenar la síntesis de sustancias que contribuyen al proceso inflamatorio. Es necesario comprender el papel de la BHE en el proceso de la inflamación para poder desarrollar estrategias terapéuticas efectivas⁹.

3.1.3 Barrera hematoencefálica y neuroinflamación

Las células endoteliales de la BHE producen mediadores como citoquinas y NO. Las citoquinas son un grupo de polipéptidos implicados en la activación del sistema inmune y la respuesta inflamatoria. En este grupo se incluyen: IL, TNF, interferones (IFN), factor estimulante de colonias, factores de crecimiento, neurotrofinas y neuropoietinas. Pueden actuar tanto como pro-inflamatorias o como antiinflamatorias. Se producen en las células de microglía, astrocitos, células T, macrófagos y células del endotelio vascular. En procesos inflamatorios agudos son las que primero se liberan (destacan $\text{TNF}\alpha$, $\text{IL-1}\alpha$ y β e IL6) y aumentan la permeabilidad de la BHE. El $\text{TNF}\alpha$ es uno de los principales responsables del daño de la BHE en el curso de las meningitis bacterianas. La administración intratecal de $\text{TNF}\alpha$ genera un incremento de las células inflamatorias y de la circulación de albúmina en el LCR que demuestra la pérdida de la integridad de la BHE⁹.

Debida a la naturaleza bipolar de la BHE, estos mediadores pueden ser secretados tanto en el SNC como en la sangre¹.

3.1.3.1 Rutas de los mediadores de la inflamación en la BHE

- I. **Liberación de mediadores desde la periferia al cerebro.** En procesos inflamatorios sistémicos, la activación de las vías dependientes de la BHE es crítica para el control de la respuesta inmune del SNC. Se han descrito sistemas de transporte específicos en la BHE para las citoquinas⁹. Las células endoteliales presentan sitios específicos de unión, los cuales alteran la función celular (receptores) o transmiten las citoquinas a través de la BHE (transportadores). En algunas ocasiones, receptores y transportadores son los mismos, mientras que en otros casos, como por ejemplo, en la IL-1, el transportador es distinto del receptor. La producción de citoquinas, a su vez, puede estar estimulada desde un lado de la BHE y liberarse en el otro lado¹⁴. La posición estratégica de las células endoteliales permite la transferencia de información desde la sangre al SNC. Por eso, el sistema vascular tiene un importante papel en la comunicación del sistema inmune del SNC, ya que es el responsable de la activación de los circuitos cerebrales y de las funciones vitales autonómicas durante los cambios en el sistema inmune.

Aunque no están claras las funciones de estas vías de mediadores, sí se ha demostrado que el tratamiento sistémico con IL-1 β estimula a las células vasculares cerebrales para producir PGE₂. La PGE₂ actúa como el principal ligando endógeno y desencadena los mecanismos de la fiebre, además de participar en la activación del eje hipotálamo-hipofisario-adrenal que induce los efectos mediados por el SNC²⁵.

II. Liberación de mediadores desde el cerebro a periferia

La extravasación de los leucocitos sanguíneos al cerebro es la base de su protección. Este proceso es inducido por los mediadores proinflamatorios que se activan en las células endoteliales de las vénulas postcapilares e incrementan la expresión de las selectinas. Las selectinas se unen a las integrinas de los monocitos y hacen que disminuya su velocidad para que se adhieran más fácilmente a la superficie luminal del vaso y favorecer así su migración¹.

III. Liberación de mediadores a través de la BHE

El paso de las moléculas a través de las células endoteliales de la BHE se realiza entre las células adyacentes (vía o ruta paracelular) o a través de las células (vía o ruta transcelular). En el endotelio, la relación entre la permeabilidad paracelular y transcelular es muy importante para la regulación de la permeabilidad global²⁶. Cuando se activa la vía paracelular, los iones y solutos difunden a través de las células adyacentes según el gradiente contra-corriente. En la vía transcelular, intervienen diferentes mecanismos como difusión pasiva de componentes lipídicos y transcitosis. Las moléculas pequeñas lipofílicas (oxígeno, etanol, y CO₂) atraviesan libremente por difusión la BHE, mientras que las moléculas hidrofílicas (péptidos y proteínas) penetran en el cerebro mediante sistemas específicos de transporte. Las moléculas polares y liposolubles no atraviesan la BHE^{6,3}.

Los mecanismos de interacción entre el sistema inmune y el SNC son numerosos, pero destacan los mecanismos de transmisión nerviosa y humoral. Los nervios aferentes y eferentes (ejemplificados por el nervio vago) forman la unión neuro-inmunológica desde el SNC a los tejidos periféricos (sistema gastrointestinal, bazo...). Las células que exponen o presentan los antígenos a los linfocitos T son las células endoteliales cerebrales y la microglía.

Durante la inflamación, ambos tipos celulares expresan moléculas del MHC clase I y II. Tanto las células endoteliales como la microglía son capaces de activar las células T estimulando el componente aferente del sistema inmune contra los antígenos del SNC. Las proteínas antigénicas también pueden drenar desde el SNC a los linfonódulos cervicales profundos. Estos antígenos pueden entrar al espacio subaracnoideo y, a través de la lámina cribiforme, drenar en los ganglios linfáticos nasales o presentarse en los ganglios regionales gracias a las células dendríticas. Estas células provienen de la médula ósea y desempeñan un papel importante en la presentación antigénica a los linfocitos T. Las células dendríticas no se encuentran en el parénquima del SNC, sino en el plexo coroideo y las meninges. Los mediadores de la inflamación estimulan las células dendríticas inmaduras a migrar a los tejidos no linfoides donde la fagocitosis antigénica es efectiva. Sin embargo, la inmadurez de estas células dendríticas puede hacer que la presentación del antígeno no sea efectiva, requiriendo una maduración posterior (pérdida de actividad fagocítica y consecuente migración a los linfonódulos regionales). El siguiente paso, una vez activado el componente aferente, sería el paso de los linfocitos inmunocompetentes dentro del parénquima cerebral. Las células T y B cruzan la BHE a través del endotelio cerebral que expresa moléculas de adhesión específicas para ligandos en las células inflamatorias⁹.

Durante la inflamación, las células inflamatorias migran dentro del parénquima del SNC y LCR. Las concentraciones de glucosa y proteínas en el LCR se alteran y fármacos que normalmente no atraviesan la BHE son capaces de penetrar. El endotelio vascular cerebral y la BHE median en la respuesta inflamatoria en el SNC, ya que, a diferencia de otros tejidos periféricos, el lecho capilar cerebral no produce un ultrafiltrado^{3,9}.

3.1.3.2 Funciones de la BHE en la neuroinflamación

El papel de la BHE tanto en el aislamiento como en la relación del sistema inmune con el SNC se basa en 4 aspectos fundamentales: disrupción de la BHE, transporte de citoquinas a través de la BHE, transporte de células inmunológicas y los efectos de los lipopolisacáridos (LPS) en la BHE.

- I. **Disrupción de la BHE.** Aunque el TNF α parece ser el principal responsable de la pérdida de la integridad de la BHE⁹ se postulan otras teorías no excluyentes entre ellas^{14,27,28}:
- a. La primera de ellas se centra en el hecho de que aparentemente sería difícil que la BHE pierda su integridad solamente actuando los LPS y el TNF. Podría ser que la disrupción de la BHE sea la última consecuencia del proceso de reparación de una BHE exhausta en situaciones límites como, por ejemplo, una septicemia. Se han encontrado niveles elevados de LPS en numerosas enfermedades y condiciones en medicina humana (hepatitis, SIDA, periodontitis, depresión, diálisis peritoneal, esclerosis lateral amiotrófica, Alzheimer, quemaduras...).
 - b. La segunda postula la diapédesis como causante que permite el paso de proteínas circulantes cuando se activa el sistema inmune.
 - c. Por último, la tercera teoría recalca la relevancia de diversas patologías y situaciones que están asociadas con la activación del sistema neuroinmune (p.ej diabetes mellitus, dolor crónico) y alteran la BHE.

Otros componentes a tener en cuenta en la disrupción de la BHE son las metaloproteinasas y serinas proteasas que son liberadas durante procesos inflamatorios en respuesta a las citoquinas y endotoxinas (p.ej en el curso de meningitis bacteriana, reperusión cerebral capilar e infartos) y facilitan la migración de las células inflamatorias al SNC⁹.

La peroxidación lipídica de la BHE también origina un incremento de su permeabilidad. Tiene lugar en presencia de iones superóxido, derivados del metabolismo del ácido araquidónico que es producido por las células endoteliales mediante la acción de la enzima fosfolipasa A₂; su catabolismo origina la producción de PG, leucotrienos e iones superóxido. Tanto las PG como los leucotrienos mejoran la permeabilidad de los vasos sanguíneos, activan los leucocitos, favorecen la contracción del músculo liso y actúan en la secreción endotelial de las citoquinas. Los iones superóxido generan daño en los lípidos de la membrana celular mediante la

peroxidación lipídica y pueden activar las metaloproteinasas y, por tanto, alterar la permeabilidad de la BHE^{9,14}.

II. Transporte de citoquinas a través de la BHE

La circulación de citoquinas a través de la BHE que supone un incremento en sus niveles en el SNC se produce por 5 mecanismos: estimulación vagal o por otra vía nerviosa aferente; liberación desde los transportadores celulares; estimulación a través de los órganos circumventriculares (partes del cerebro carentes de BHE); y autoestimulación desde sus almacenamientos en el SNC¹⁴.

III. Transporte de células inmunes

La mayoría de los estudios no se han realizado en modelos animales convencionales, sino en modelos de esclerosis múltiple. Los modelos animales más usados en estos estudios son los modelos experimentales de encefalomielitis autoinmune, que se inducen generando una respuesta mediada por linfocitos T contra antígenos del sistema inmune²⁹.

La diapédesis en las células T está perfectamente estudiada en el curso de las encefalopatías autoinmunes. Inicialmente se origina una interacción débil entre las células T y el endotelio a través de dos mecanismos: la expresión de selectinas en la superficie vascular que hace que se unan a los linfocitos y la activación de las integrinas de la superficie de los leucocitos y originan un aumento de la señal en su proteína-G. El resultado es un incremento en la afinidad de las integrinas por su adhesión celular a los receptores moleculares de la superficie endotelial. El paso final del reclutamiento de los leucocitos al cerebro es la diapédesis a través de la BHE. Aunque existen numerosos estudios *in vitro* sobre las funciones de las moléculas de adhesión en la integridad de la BHE su papel exacto *in vivo* todavía no está demostrado³⁰.

Otros componentes celulares como monocitos, neutrófilos, células dendríticas y linfocitos B pueden contribuir a la futura progresión de la enfermedad interactuando con el endotelio inflamado de la BHE²⁹.

IV. Efectos de los LPS en la BHE

Sus principales efectos son:

- a. Actuar directamente en las células del endotelio cerebral y estimular la liberación de citoquinas¹⁴.
- b. Su incremento disminuye la endocitosis. Gracias a este mecanismo, por ejemplo, el virus de la inmunodeficiencia humana es capaz de penetrar en el cerebro³¹.
- c. Favorecer la adhesión de las células inmunes y su transporte. En enfermedades como el Alzheimer incrementan el transporte de la proteína beta amiloide desde la sangre al cerebro favoreciendo su acumulación y, por tanto, contribuyen a la posible inflamación en el desarrollo y progresión del Alzheimer¹⁴.
- d. Inhibir la glicoproteína-P tanto en estudios in vitro como in vivo y activar el TNF α . La glicoproteína-P es dependiente del ATP y transporta sustancias desde el SNC a la circulación sistémica. La glicoproteína-P evita la penetración de numerosos fármacos en el SNC³².

3.2 LÍQUIDO CEFALORRAQUIDEO

El LCR es el vehículo para el transporte intracerebral de sustancias biológicamente activas (hormonas liberadoras de factores), neurotransmisores y neuropéptidos. Los fluidos que rodean las células cerebrales poseen una composición química perfectamente regulada porque las neuronas requieren una composición iónica estable en el espacio extracelular y son mucho menos tolerantes a cambios que otros tipos celulares³³.

El análisis del LCR proporciona una gran información acerca del estado neurológico de los pacientes, ya que tiene un papel esencial en la excreción de tóxicos derivados de productos del metabolismo cerebral. Su composición se encuentra alterada en numerosas patologías del SNC, sobre todo, en las de origen inflamatorio.

El SNC está aislado del sistema circulatorio y del resto del cuerpo por distintas estructuras. Hay distintas interfases semi-permeables entre el tejido cerebral y los fluidos sistémicos: BHE, barrera sangre-LCR y barrera LCR-cerebro. Las distintas interfases controlan la producción y absorción del LCR y crean un medio líquido local que es relativamente estable a pesar de los cambios en la composición sanguínea. Estas barreras son indispensables porque la supervivencia de las células cerebrales depende de la regulación de este medio³⁴.

El LCR es un ultrafiltrado del plasma producido en los plexos coroideos del sistema ventricular a una velocidad de 0,35 ml/min en humanos y 0,047mL/min en perro. El volumen total del LCR es producido y absorbido unas 3-5 veces por día²⁴. En perros, el 42% deriva del espacio subaracnoideo, el 35% de ventrículos laterales y el tercer ventrículo y el 23% del cuarto ventrículo³³. El contenido químico del LCR es diferente al del suero. El 50- 80% del LCR es producido por el plexo coroideo y depende de la actividad de la anhidrasa carbónica; el resto (LCR extracoroideo) es parte del líquido extracelular del cerebro y médula espinal³⁵.

El LCR fluye caudalmente a través del sistema ventricular hacia el canal central de la médula espinal en dirección a la cauda equina. Pasa desde el sistema ventricular a través del parénquima del SNC hasta el espacio subaracnoideo, donde es reabsorbido por el sistema ventricular mediante las vellosidades aracnoideas, aunque una pequeña cantidad sale junto a las raíces espinales³⁶. Las vellosidades aracnoideas son invaginaciones del aracnoides en los senos venosos duros, particularmente en el seno sagital. Estas vellosidades permiten el flujo de LCR hacia el seno impidiendo el flujo retrógrado. El proceso es pasivo y no requiere energía. Este sistema valvular natural tiene una presión de apertura de 5 a 7 mmHg (60- 100

mmH₂O). Otros mecanismos implicados en la reabsorción del LCR incluyen el sistema linfático dural, las órbitas, la esclera y la endolinfa del oído. Su contribución es inapreciable en situaciones normales³⁴.

3.2.1 Funciones del LCR

Las principales funciones del LCR son proteger al SNC y transportar sustancias. Destacan:

- I. **Regulación de la presión intracraneal (PIC):** la PIC es la presión media del interior de la cavidad craneal. Se consideran normales valores entre 5-15 mm Hg en humanos y 5-12 mm Hg en perros anestesiados³⁷. El LCR protege al cerebro de cambios en la presión arterial y de las fluctuaciones de la presión venosa central asociadas a la postura, respiración y al esfuerzo. El LCR ayuda a modular las variaciones fisiológicas de la PIC y, junto con el flujo sanguíneo cerebral, en condiciones no patológicas, son capaces de autorregular la PIC independientemente de la presión arterial²⁴.

Los huesos del cráneo son una estructura dura prácticamente cerrada sin capacidad de distensión; esto hace que tenga un volumen fijo para contener tres componentes: el tejido cerebral (células y espacio intersticial), el volumen vascular intracraneal (vasos, sangre, BHE) y el LCR y las estructuras que lo rodean (meninges). Solamente el LCR y la sangre pueden desplazarse para mantener un volumen y una PIC constante y evitar daños en el SNC. Con la función cardíaca y la actividad respiratoria se originan fluctuaciones fisiológicas espontáneas en la presión del LCR³³. Las arteriolas cerebrales tienen capacidad de autorregular el flujo sanguíneo cerebral, mediante su vasodilatación o vasoconstricción, para mantener éste constante a pesar de que se produzcan cambios en la presión arterial media (PAM) y en la PIC. Existen también factores metabólicos como la hipercapnia, que produce vasodilatación y por tanto aumentan el flujo sanguíneo cerebral. En condiciones normales el aumento del flujo cerebral es compensado con una salida mayor de LCR hacia el espacio subaracnoideo para su reabsorción. La fórmula que refleja este equilibrio es³⁷:

$$\text{Presión perfusión cerebral (PPC)} = \text{PAM} - \text{PIC}$$

Los valores de referencia de la PPC son 60-150 mmHg. Mientras la PIC sea inferior a la PAM, se consigue mantener una adecuada PPC y los mecanismos de regulación son capaces de compensar pequeños aumentos de volumen cerebral, que se han estimado en unos 6 ml, sin que se produzca ningún cambio en la PIC. Sin embargo, una vez agotados estos mecanismos, el aumento de volumen produce un aumento exponencial de la PIC que supone una disminución de la PPC y la aparición de signos clínicos asociados³⁴.

La obstrucción al flujo de LCR, o a su reabsorción, hacen que se acumule en el interior de alguno de los ventrículos cerebrales produciendo un aumento importante de su volumen (hidrocefalia) que puede incrementar de forma brusca la PIC. Existen además otros factores propios del cerebro enfermo que pueden modificar esta curva. En cerebros edematosos o con algún factor añadido de dificultad para la evacuación del LCR (trombosis venosas, enfermedades inflamatorias del SNC....) aumenta la resistencia, y disminuye la capacidad de autorregulación cerebral. Sin embargo, en otras circunstancias, como los cerebros atróficos, habrá mayor capacidad para adaptarse a situaciones de aumento de volumen cerebral sin que aparezcan síntomas^{24,34}.

Las alteraciones en la PIC no solo lesionan el tejido encefálico directamente, sino que afectan a la circulación sanguínea cerebral. El flujo sanguíneo cerebral debe ser de 45 a 55 ml/100 gr de cerebro/minuto para asegurar una buena circulación cerebral, y es el resultado del coeficiente entre la PPC y la resistencia vascular cerebral. El aumento de la PIC implica una disminución del flujo sanguíneo cerebral. El cerebro tiene cierta capacidad para autorregular su flujo sanguíneo modificando la resistencia vascular, pero estos mecanismos tienen una efectividad limitada, y ante caídas de la PPC por debajo de 60 mmHg se producirá hipoxia e isquemia, y ante aumentos por encima de 150 mmHg se producirá congestión vascular, alteración de la BHE y edema cerebral^{38,39}.

- II. Regulación de las sustancias químicas en el SNC:** el LCR es el principal encargado de la excreción de los productos potencialmente tóxicos del metabolismo cerebral. Las neuronas son menos tolerantes que otros tipos celulares a cambios en el contenido electrolítico extracelular por lo que su composición debe estar muy bien regulada. El cerebro carece de sistema linfático; esto hace que diversos componentes, como las

proteínas, abandonen el cerebro inicialmente a través del espacio perivascular y también difundiendo por la piamadre al espacio subaracnoideo. Una vez que alcanzan el espacio subaracnoideo, las proteínas fluyen en el LCR para ser absorbidas por las vellosidades aracnoideas a la venas cerebrales²⁴. El espacio perivascular actúa, por tanto, como un sistema de transporte modificado de sistema linfático. El LCR también tiene una función de filtración permitiendo movimiento de sustancias hidrosolubles desde el parénquima cerebral. Los solutos entran en el cerebro a través de la BHE, de la misma manera que los solutos sintetizados por el cerebro difunden libremente del intersticio cerebral al LCR³³.

- III. Transporte intracerebral:** el LCR es el vehículo de transporte intracerebral de sustancias biológicamente activas fundamentalmente neurotransmisores y neuropéptidos. También transporta hormonas hipotálamicas y sustancias neuroactivas desde la circulación sistémica^{24,33,24}.

3.2.2 Análisis y composición del LCR

La extracción de LCR se puede realizar mediante punción en la cisterna cerebelomedular (cisterna magna) o en la región lumbar. Lo ideal es realizar la extracción de la región caudal a la zona de sospecha de lesiones debido a la dirección rostro-caudal del flujo de LCR en el SNC. En las lesiones intracraneales y cervicales se debería extraer LCR de cisterna magna y en lesiones medulares más caudales de cisterna lumbar. El procedimiento ha de realizarse siempre bajo anestesia general y en condiciones estrictamente asépticas. En medicina veterinaria se suele recomendar no extraer más de 1 ml de LCR por cada 5 kg de paciente^{37,40}.

En la punción en la cisterna magna, una vez preparada asépticamente la región atlanto-occipital (rasurada y desinfectada con clorhexidina y alcohol), el paciente se coloca en decúbito lateral, se eleva la nariz hasta situar el plano sagital del morro paralelo a la mesa y se flexiona completamente el cuello (con una angulación de 90°) estirando los pabellones auriculares rostralmente. La inserción de la aguja se efectúa en el centro del triángulo delimitado por la protuberancia occipital y los puntos más prominentes de las alas del atlas (cisterna cerebelomedular) con una aguja espinal con diámetro y longitud variable en función del tamaño del paciente y la conformación del cuello. Una vez que se ha traspasado la piel se

quita el fiador y se hace que avance lentamente, notando distintos puntos de resistencia al atravesar los planos musculares y fasciales. Cuando la aguja atraviesa el espacio subaracnoideo se aprecia una pequeña resistencia seguida de un sonido o una vibración característica en la aguja antes de que el LCR empiece a fluir^{24,41}.

La extracción de LCR en la cisterna lumbar es técnicamente más complicada que en cisterna magna (sobre todo en razas pequeñas), entraña más riesgo de producir lesiones iatrogénicas y en algunos casos no se obtiene suficiente cantidad de muestra. El animal debe colocarse en decúbito lateral, algunos autores recomiendan flexionar las extremidades posteriores hacia el abdomen. Las referencias anatómicas son el proceso espinoso de la vértebra lumbar 5 y la lumbar 6. La aguja se inserta a nivel de la lumbar 6 en el espacio intervertebral lumbar 5-6 a nivel de línea media. La aguja debe ir avanzando craneal al borde de la lumbar 6 hasta que se atraviese el ligamento interarcuato, lo que suele provocar una mayor resistencia. El fiador de la aguja debe permanecer hasta que esté completamente insertada en el espacio subaracnoideo ventral^{24,35,41}.

Nunca debe aspirarse el LCR con una jeringa porque provoca daños severos en las estructuras nerviosas.

La extracción de LCR está contraindicada en⁴¹:

- Inestabilidad cervical. Especial mención ofrece la subluxación atlanto-axial típica de razas toy que también son raza de predilección en las MOD.
- Aumento de PIC: es habitual encontrar signos de aumento de PIC en pacientes con enfermedades inflamatorias del SNC entre otras. Normalmente, siempre se realiza bien resonancia magnética (RM) o tomografía axial computerizada (TC) previas a la extracción de LCR para determinar si hay indicios de aumento de PIC y, por tanto, si la extracción de LCR está contraindicada. Los signos clínicos que sugieren aumento de PIC son: alteración del estado mental (depresión, estupor o coma), ausencia de nistagmo fisiológico, anisocoria, déficit propioceptivos severos, herniación foramen magno y herniación transtentorial.
- Dermatitis: el LCR no debería ser recolectado de una región donde haya signos de infección de piel por el riesgo de diseminación de la misma.

El procesado de la muestra de LCR debe realizarse lo más rápidamente posible; como su concentración de proteínas normalmente es baja, la degeneración celular se favorece si la técnica se demora. Estas alteraciones celulares afectan a los resultados e influyen negativamente la forma de tomar decisiones en el manejo del paciente. Se ha definido un margen de 30 minutos para limitar este proceso degenerativo³⁶. Una alternativa para mantener la integridad celular es añadir 10% de suero autólogo a un alícuota de 250 µl de la muestra de LCR y conservarla a 4°C durante el transporte al laboratorio⁴². Otros autores describen el uso de Hetastarch (dilución 1:1) y suero fetal bovino (alícuota al 20%) como aditivos conservantes de la muestra⁴³. Estas mezclas son estables hasta 48 horas para determinar el recuento celular total en cámara hemocitométrica, pero no son válidas para el recuento celular diferencial. La forma ideal de procesar la muestra para su posterior evaluación citológica es la citocentrifugación y no todos los centros veterinarios disponen de este medio. Se han ideado formas "caseras" de sedimentar la muestra de LCR, pero la integridad celular no es la idónea³⁶.

El LCR normal es un fluido claro y transparente, prácticamente acelular²⁴. Cualquier cambio de coloración es anormal. Normalmente, en recuentos celulares superiores a 500 células/µl se observa turbidez. Una concentración elevada de proteínas también contribuye a la turbidez y a una mayor viscosidad. Coloraciones rojizas son indicativas de hemorragia, en la mayoría de los casos por la punción accidental de vasos radicales. Si la coloración del sobrenadante tras la centrifugación es clara, confirma una hemorragia traumática iatrogénica; sin embargo, si persiste la coloración rojiza o amarillenta tras la centrifugación es indicativo de hemorragia patológica. En ausencia de hiperbilirrubinemia, la coloración amarillenta (xantocromía) es típica de la presencia de hemorragia subaracnoidea³⁷. La xantocromía es el resultado de la acumulación de oxihemoglobina y metahemoglobina derivada de la degeneración de los eritrocitos y se produce 24 horas después del evento hemorrágico (sangrado post traumatismo, alteraciones vasculares y de la coagulación, casos severos de arteritis inflamatoria del SNC) y suele desaparecer en 4- 8 días. La xantocromía también puede observarse en LCR ricos en proteínas, hiperbilirrubinemia y tumores intracraneales⁴⁰.

Los principales componentes del LCR en perros son:

- **Glucosa:** deriva fundamentalmente del plasma. Su concentración depende de los niveles sanguíneos, la tasa de transporte al LCR y la tasa metabólica del SNC. El tiempo para alcanzar un equilibrio entre los valores de glucosa en el LCR y sanguíneos

varía de 2-4 horas. Se consideran valores normales el 60-80% de la concentración sanguínea. Su incremento no tiene valor diagnóstico ya que tan solo refleja la hiperglucemia de las 4 horas previas a la punción. La disminución de los valores en ausencia de hipoglucemia está relacionado con meningitis bacteriana y fúngica ya que es consumida por los microorganismos y los neutrófilos. También pueden encontrarse valores bajos de glucosa en neoplasias difusas meníngeas. En medicina veterinaria no se determina habitualmente, ya que es un parámetro inespecífico; además las meningitis bacterianas y fúngicas, patologías en que su valoración podría ser útil, son infrecuentes³⁷.

- **Proteínas:** la concentración de proteínas en LCR es muy baja y deriva del plasma. La principal proteína del LCR es la albúmina (50-70%). En menor concentración se encuentran la transtiretina o prealbúmina, la proteína de unión al retinol y la transferrina, que son sintetizadas en el plexo coroideo. El resto de fracciones electroforéticas corresponden al 24,8% β -globulinas, 16,5% α -globulinas, y 3% γ -globulinas⁴⁴. También hay trazas de proteína tau (una fracción modificada de la transferrina), proteína ácida fibrilar glial y proteína básica de mielina, las cuales parecen ser secretadas a nivel intratecal. Los valores normales de proteínas en LCR son de 15-30 mg/dl en muestras obtenidas de cisterna cerebelomedular y hasta 40 mg/dl en punciones lumbares. Concentraciones superiores a 50 mg/dl confieren cierta turbidez al LCR⁴⁰.

La contaminación sanguínea iatrogénica durante la extracción del LCR puede incrementar la concentración de proteínas; no está descrito ningún método fiable que permita diferenciar este incremento de proteínas^{37,45}.

A diferencia de lo que sucede con la glucosa, un aumento en las proteínas es un indicador inespecífico de alteración en el SNC. Implica que existe un daño en la BHE o que se ha producido un incremento local en la producción de Ig G en el SNC (enfermedad inflamatoria/infecciosa, tóxica/metabólica, vascular o neoplásica)³⁷.

En el LCR se encuentran tres Ig: IgG, IgM, e IgA. La principal Ig en perros y gatos sanos es la IgG. Las concentraciones de IgG plasmáticas son 1000 veces mayores que las encontradas en el LCR, pero hay una fuerte asociación entre ambos valores⁴⁶. Los niveles de IgG se incrementan en numerosos procesos inflamatorios del SNC. En esta

situación, las Ig pueden penetrar en el LCR a través de la BHE alterada o ser producidas intratecalmente por el propio proceso inflamatorio⁴⁷. La síntesis de IgG intratecal puede determinarse comparando la cantidad de IgG en el LCR y el suero, usando la albúmina como proteína de referencia ya que a diferencia de la IgG, no puede cruzar la BHE y no es producida en el SNC:

$$\text{Índice IgG} = \text{IgG}_{(\text{LCR})} \times \text{albúmina}_{(\text{sérica})} / \text{IgG}_{(\text{sérica})} \times \text{albúmina}_{(\text{LCR})}$$

El índice ayuda a diferenciar los procesos infecciosos/ inflamatorios (con la excepción de la forma aguda del moquillo canino) del resto. Estos pacientes tendrán el índice IgG elevado en comparación, por ejemplo, con pacientes que padezcan tumores (a excepción del linfoma y meningiomas con infiltración celular secundaria)⁴⁶.

La IgA puede ser determinada mediante ELISA. Una elevación de la concentración de IgA, tanto en suero como en LCR, es altamente indicativa de meningitis arteritis que responde a esteroides (SRMA). La elevación de IgA solo en LCR, es un indicador inespecífico de una reacción inmune primaria (enfermedad inflamatoria/ infecciosa) o secundaria (p.ej: neoplasia)³⁷. Pueden encontrarse niveles elevados de IgA en LCR en MOD y meningoencefalitis por moquillo canino⁴⁰.

La presencia de IgM en LCR es patológica. Puede detectarse en los estadios iniciales de la respuesta humoral y es la primera que vuelve a valores normales una vez que la estimulación antigénica desaparece. La presencia de IgM en suero o en LCR se considera más específica que la IgG o que los niveles totales de Ig en la detección de procesos infecciosos activos⁴⁸.

Aunque la concentración de albúmina en LCR es mucho menor que la sérica, su índice se mantiene constante en pacientes sanos. Por este motivo, puede resultar de ayuda calcular el índice entre la albúmina del LCR y la sérica, denominado cociente albúmina (AQ) para evaluar la alteración de la BHE⁴⁹. Se consideran valores normales de AQ= 0,15- 0,38⁴⁴.

Otras proteínas que pueden ser medidas en el LCR son la proteína C reactiva (ayuda a distinguir procesos desmielinizantes o a diferenciar las meningoencefalitis víricas de bacterianas), proteína S-100 (alterada, sobre todo, en las fases agudas de inflamación)³⁷ y la proteína básica de mielina (incrementada en casos de mielopatía degenerativa)⁵⁰.

Las proteínas pueden estar incrementadas con y sin aumento del recuento de células totales nucleadas (RTCN). Se denomina disociación albúmino-citológica al incremento de las proteínas sin una pleocitosis concurrente. Esto puede deberse a ⁴¹:

- Incremento en la producción de proteínas en el SNC (sobre todo globulinas en el caso de SRMA, moquillo canino y mieloma múltiple).
 - Incremento de la permeabilidad de la BHE. Cuando la BHE está alterada las proteínas (sobre todo albúmina plasmática) atraviesan por gradiente osmótico del plasma al LCR. Suele observarse en enfermedades inflamatorias que cursan con vasculitis, aunque generalmente también se acompaña de pleocitosis.
 - Destrucción de las estructuras nerviosas. Las enfermedades degenerativas (p.ej. mielopatía degenerativa), traumatismos, necrosis isquémicas (p.ej. embolismo fibrocartilaginoso) y neoplasias originan una disrupción del parénquima del SNC.
 - Obstrucción de las vías de salida del LCR. Frecuente en malformaciones congénitas (hidrocefalia, Síndrome de Chiari) o lesiones extradurales que comprimen las estructuras SNC (hernias de disco, lesiones quísticas intracraneales).
- **Células:** los LCR normales no deben contener eritrocitos. Su presencia (> 4500 glóbulos rojos/ml) indica contaminación iatrogénica de la muestra⁴⁵ o la existencia de una patología. Las principales patologías que originan un incremento en el número de glóbulos rojos son hemorragia o aumento de la permeabilidad vascular secundaria a una respuesta inflamatoria (p.ej: meningoencefalitis). La presencia de eritrofagocitosis es habitual en patologías que cursan con aumento de hematíes en LCR⁵¹. Se considera normal un RTCN de 0-5/ μ l. El LCR normal está constituido básicamente por células mononucleares no activadas⁵¹:
 - *Linfocitos:* son las células predominantes en el LCR normal. Suelen ser linfocitos maduros pequeños, similares a los observados en sangre periférica. Pueden observarse, ocasionalmente, linfocitos reactivos en individuos normales⁵¹. Los linfocitos medianos y grandes no son habituales en condiciones de normalidad; su presencia sugiere patología, (incluso sin estar

incrementado el RTCN) y puede ser el reflejo de una estimulación antigénica en el espacio subaracnoideo⁴⁸. Su origen es incierto, no se descarta que deriven de las células madre leptomeníngicas sanguíneas que migran de la sangre al LCR⁴⁰.

- *Monocitos*: son menos abundantes que los linfocitos. Proviene de los monocitos sanguíneos por lo que su morfología es similar. Ocasionalmente, pueden detectarse activados en condiciones normales. En condiciones patológicas, se transforman en macrófagos que contienen cantidad variable de vacuolas y pueden fagocitar eritrocitos (eritrofagocitosis), microorganismos, gotas lipídicas y desechos celulares en distintos estados de digestión. Las células mononucleares activadas y los macrófagos pueden aparecer en agrupaciones similares a las células epiteliales^{40,51}.
- *Neutrófilos*: en ausencia de contaminación sanguínea, se consideran habitualmente anormales, aunque algunos autores han descrito hasta un 25% de neutrófilos en animales con RTCN normales⁵². Un incremento en el porcentaje de neutrófilos sin acompañarse de un aumento del RTCN puede indicar una inflamación leve o incipiente del SNC, lesiones que no contacten con las meninges o células ependimales, o ser el resultado de algún tipo de tratamiento farmacológico (p.ej glucocorticoide en SRMA o antibióticos en meningitis bacteriana porque disminuyen la respuesta inflamatoria)⁵¹. Este fenómeno también se observa en enfermedad discal aguda^{53,54}, accidentes cerebrovasculares (isquémicos/ hemorrágicos) y en embolismos fibrocartilaginosos⁵⁵. La evaluación citológica de los neutrófilos debe incluir la valoración de su nivel de degeneración. La presencia de cambios degenerativos suele implicar infección bacteriana, pero no todos los microorganismos lo producen, por lo que su ausencia no la descarta⁵¹.
- *Eosinófilos*: su presencia es patológica en ausencia de contaminación sanguínea. Su incremento sin aumento del RTCN puede ser compatible tanto con una migración parasitaria como con una enfermedad protozoaria (*Neospora spp*)⁴⁸.

- *Linfoblastos*: su presencia es altamente sugerente de inflamación severa y, más frecuentemente, de linfoma⁵¹.
- *Células leptomeningeadas*: es un hallazgo no patológico poco frecuente⁵¹.
- *Células tumorales*: a excepción de los casos de linfoma no es habitual encontrar células neoplásicas en el LCR^{56,57}.

Se denomina pleocitosis al incremento del RTCN. La pleocitosis puede ser leve (5-25 células/ μ l), moderada (25-100 células/ μ l) o severa (>100 células/ μ l)⁴⁰. En función del valor de la pleocitosis y del tipo celular predominante se puede orientar el diagnóstico diferencial:

- *Pleocitosis mononuclear (linfocítica)*: una pleocitosis mononuclear pura se compone de linfocitos maduros pequeños (> 70%) y linfocitos reactivos, pero puede incluir también un número variable de células monocíticas⁵¹. Es indicativo de:
 - Infecciones víricas: moquillo canino (pleocitosis leve a moderada)⁵⁸.
 - Fase aguda de la meningoencefalitis granulomatosa (MEG) (infrecuente)⁵⁹.
 - Meningoencefalitis necrotizante (MEN): pleocitosis moderada-marcada con un porcentaje de linfocitos >80% habitualmente⁶⁰.
 - Fase crónica de la SRMA⁶¹.
 - Infecciones por *Ehrlichia canis*, *Toxoplasma gondii* y *Neospora caninum*⁵¹.
 - Meningitis bacterianas en tratamiento antibiótico⁶².
 - Linfoma: habitualmente, pleocitosis marcada con predominio de linfoblastos, aunque también pueden ser pleocitosis leves-moderadas⁵⁷.
- *Pleocitosis neutrofílica*: muchas enfermedades inflamatorias agudas pueden cursar con una pleocitosis neutrofílica moderada-severa con un porcentaje de neutrófilos >70%. Destacan:

- SRMA (en su forma aguda): pleocitosis muy marcada (RTCN >500-1000 cel/ μ l) con neutrófilos no degenerados en porcentajes del 75-100%^{40,61}.
 - Meningitis bacteriana: pleocitosis muy marcada con la presencia de neutrófilos degenerados. Es infrecuente observar bacterias⁶².
 - Neoplasias con necrosis secundaria: pleocitosis leve poco frecuente⁶³.
 - Traumatismos, alteraciones hemorrágicas, reacciones inflamatorias post-mielografía: poco frecuentes^{48,52}.
- *Pleocitosis eosinofílica*: la pleocitosis eosinofílica no está relacionada con las eosinofalias sanguíneas. Es la respuesta, entre otras, a:
 - Enfermedades infecciosas protozoarias (*Toxoplasma gondii* o *Neospora caninum*) o micóticas(*Cryptococcus neoformas*)^{48,52,64}.
 - Meningoencefalitis idiopática eosinofílica⁶⁵.
 - Inducida por una reacción de hipersensibilidad⁴⁰.
 - *Pleocitosis mixta*: está compuesta por una población de linfocitos, monocitos, neutrófilos e incluso eosinófilos y macrófagos, sin que ninguna de las poblaciones supere el 70% del total⁵¹. Se observa en:
 - MEG: este patrón es el más frecuente en este tipo de MOD⁵⁹.
 - SRMA (fase crónica)⁶¹.
 - Infecciones fúngicas (cryptococcosis, histoplasmosis, blastomicosis and aspergillosis), ehrlichiosis, toxoplasmosis, neosporosis y prototecosis⁴⁸.
 - Necrosis o inflamación secundaria en neoplasias, enfermedad discal, mielomalacia hemorrágica, isquemias e infartos⁴⁸.
- **Iones³³:**
 - Sodio: es el ion más abundante en el LCR, y tiene una gran importancia en el transporte y osmorregulación.
 - Potasio: sus concentraciones son críticas para el funcionamiento neuronal y la liberación de neurotransmisores. Su concentración es menor que la

plasmática (3 mmol/L). Los cambios en las concentraciones plasmáticas de potasio tienen muy poco efecto en las concentraciones en LCR, ya que su transporte a través de la BHE es limitado. El epitelio del plexo coroideo tiene menor permeabilidad para el potasio que para el sodio, de manera que cuando los niveles de potasio aumentan en el LCR, el sodio es excretado junto con el potasio en un mecanismo de transporte activo.

- Calcio: el calcio total en el LCR oscila entre 1-1,5 mmol/L (levemente inferior al plasmático) El calcio es secretado por el plexo coroideo y la cantidad de calcio que penetra en el LCR depende de las concentraciones plasmáticas. En este sistema de transporte activo participan el endotelio cerebrovascular y el plexo coroideo. Los cambios agudos y crónicos en las concentraciones plasmáticas de calcio tendrán poco efecto en los niveles cerebrales
- Cloro y magnesio: se encuentran en menor concentración que los niveles plasmáticos e intervienen en la conducción nerviosa.
- **Enzimas:** se han descrito numerosas enzimas en el LCR que provienen de la sangre, tejido nervioso o tumores intracraneales y de las propias células del LCR²⁴. Destacan:
 - Creatin kinasa (CK): las concentraciones en LCR son, normalmente, independientes de las plasmáticas. Su elevación sólo indica enfermedad del SNC con pronóstico reservado⁶⁶.
 - Lactato deshidrogenasa (LDH): se encuentra incrementada en linfomas y, a veces, en enfermedades inflamatorias²⁴.
 - Aspartato amino transferasa (AST): se encuentra aumentada de manera conjunta con la CK en casos de degeneración mielínica severa²⁴.
- **Neurotransmisores:** son producidos por las neuronas. Su concentración y sus metabolitos en LCR se han estudiado en distintas patologías. Se han identificado:

- Ácido gamma aminobutírico (GABA): principal neurotransmisor inhibitorio del cerebro y la médula espinal. Se encuentra disminuido en perros con epilepsia⁶⁷.
- Glutamato: principal neurotransmisor excitatorio del SNC. Junto con el GABA, está implicado en la actividad epiléptica. El glutamato también es considerado un mediador del daño tisular secundario y su concentración se incrementa en distintas enfermedades como, por ejemplo, lesiones agudas compresivas de la médula espinal²⁴.
- **Otros metabolitos:** numerosos metabolitos han sido medidos en el LCR, la mayoría para intentar dar un valor pronóstico, sobre todo, en enfermedades inflamatorias/infecciosas del SNC. Destacan el lactato y distintas citoquinas (IFN- γ , IL-8, IL-10). Los cambios en los niveles de lactato y piruvato son indicativos de alteraciones mitocondriales. Las alteraciones en las concentraciones de serotonina, dopamina y norepinefrina son frecuentes en perros agresivos o con trastornos compulsivos. Niveles bajos de neuropéptidos como la orexina o la hipocretina son típicos de perros con narcolepsia^{37,40}. Los metabolitos en el LCR se analizan detalladamente en el apartado 3.4.3 (Biomarcadores en LCR).

3.3 ENFERMEDADES INFLAMATORIAS DEL SNC

Las enfermedades inflamatorias del SNC son unas de las patologías neurológicas más frecuentes en perros. Se dividen en dos grandes grupos: **enfermedades inflamatorias infecciosas** (en las que se aísla un agente infeccioso como causante de la enfermedad) **y no infecciosas**⁴⁷.

3.3.1 Enfermedades inflamatorias infecciosas del SNC

3.3.1.1 Meningoencefalitis bacteriana

La patogénesis de la meningitis bacteriana varía con la especie animal. En perros y gatos suele ser el resultado de la comunicación directa de un proceso infeccioso no originado en el SNC (p.ej: otitis interna, sinusitis, migración de cuerpos extraños perioculares, intranasales u orofaríngeos, discoespondilitis...) ^{68,69} o de un daño directo en el SNC (mordiscos o traumatismos craneoencefálicos); ocasionalmente puede ser la consecuencia de una diseminación sanguínea⁶².

Los signos clínicos son muy variables. En un estudio realizado en 23 perros todos presentaron signos neurológicos intracraneales como alteraciones en los pares craneales (56%), alteración del estado mental (52%), paresia (52%), convulsiones (30%), déficit propioceptivo (30%), dolor cervical (21%) y ataxia (13%). Se observó pirexia en el 47% de los casos. Pueden observarse signos sistémicos asociados⁶².

El análisis y cultivo del LCR es la principal forma de diagnosticar las meningitis bacterianas. El primero refleja la alteración de la BHE y se caracteriza una pleocitosis neutrofílica severa con neutrófilos degenerados, aumento marcado de proteínas y de los niveles de lactato. Las bacterias inducen la producción local de citoquinas inflamatorias como IL-1, IL-6 y TNF que inducen la expresión de las moléculas de adhesión celular en el endotelio lo que facilita la entrada de leucocitos en el SNC. Los leucocitos, posteriormente, liberan especies reactivas de oxígeno y NO. El resultado final de esta cascada de eventos es el edema cerebral y/o medular. El edema cerebral origina un aumento en la PIC y altera la perfusión sanguínea en el SNC⁹. A diferencia de medicina humana, en veterinaria las bacterias generalmente se acantonan en el

interior de abscesos intracraneales, dificultando su identificación en el frotis del LCR. Si, por el contrario, están dispersas, lo están en muy bajas concentraciones y los signos de meningoencefalomielitis observados son secundarios a la presencia de metabolitos bacterianos. En medicina humana en el 70-90% de los casos se observan cultivos positivos en LCR, pero sólo un 40-60% presentan hemocultivos positivos. En el estudio de *Radaelli & Platt* sólo uno de los ocho LCR cultivados resultó positivo⁶².

Las principales bacterias aisladas en los cultivos de LCR son *Staphylococcus spp*, *Pasteurella spp*, *Actinomyces*, *Nocardia spp* y varias bacterias anaerobias como *Peptostreptococcus*, *Eubacterium* y *Bacteroides spp*.^{68,70-72}. En el estudio de *Radaelli & Platt*, las bacterias aisladas fueron *Escherichia coli*, *Streptococcus spp* y *Klebsiella spp*⁶².

En RM, las meningoencefalitis bacterianas suelen presentarse como lesiones hipointensas principalmente en secuencias T1 (pero con una mayor intensidad que el LCR) e hiperintensas en T2 por la presencia de líquido en los abscesos. En caso de edema vasogénico asociado, la periferia de la lesión será hipointensa en T1 e hiperintensa en T2. En el caso de presentarse como absceso, el contenido es hiperintenso en secuencias de atenuación de fluido o FLAIR. Las meninges afectadas, generalmente, captan contraste de manera intensa; sin embargo, la captación de contraste en el parénquima cerebral puede ser variable y sutil⁷³.

El tratamiento de las meningitis bacterianas es antibioterapia sistémica acorde a los resultados del cultivo del LCR. El pronóstico es grave y son habituales las secuelas^{62,74}.

3.3.1.2 Meningoencefalitis fúngicas

Las meningitis fúngicas del SNC son muy poco frecuentes comparadas con las infecciones fúngicas de otros órganos. De todas las infecciones fúngicas, *Cryptococcus neoformans* es el que tiene mayor predisposición por el SNC (sobre todo en gatos). En general, la enfermedad del SNC es solo parte de una infección diseminada o extensión de infecciones fúngicas nasales a través de la lámina cribosa. Los signos clínicos son muy variables, acompañándose habitualmente de signos sistémicos y locales (secreción nasal, anormalidades faciales...)⁷⁵. El diagnóstico se realiza por la naturaleza de los síntomas clínicos y la identificación de los organismos fúngicos mediante reconocimiento morfológico y cultivo del LCR⁵¹ o PCR en tiempo real⁷⁶.

En LCR se caracteriza por una pleocitosis predominantemente neutrofílica (> 60%), aunque también se ha descrito como marcadamente eosinofílica (>80%)⁵¹. La identificación de los organismos en el LCR es rara, con la excepción de *Cryptococcus spp*, que aparece, aproximadamente, en el 66% de los casos descritos⁷⁵. También se han aislado *Cryptococcus gattii*⁷⁷, *Aspergillus spp*⁷⁸, *Blastomyces spp*⁷⁹, *Histoplasma spp*, *Coccidioides spp*, *Cladosporium trichoides*, *Paecilomyces variotti*, *Fluvobacterium meningosepticum*, y *Geotrichum candidu*⁷⁵.

Los hallazgos desde el punto de vista de RM y TC son similares a las meningitis bacterianas, aunque la captación de contraste es más heterogéneo y evidente si están formando granulomas. La captación de contraste en lesiones infiltrativas suele ser difuso y mal definido⁷³.

El tratamiento de las meningitis fúngicas son antifúngicos sistémicos (Anfotericina B, ketoconazol e itraconazol) acorde a los resultados del cultivo micótico del LCR. El pronóstico es muy grave y son habituales las secuelas⁷⁵.

3.3.1.3 Meningoencefalitis víricas

La meningoencefalitis vírica más frecuente en perros es la originada por el virus del moquillo canino. Normalmente se observa un cuadro multisistémico (digestivo, respiratorio, dermatológico y nervioso), aunque pueden no desarrollarse todas las fases y presentarse únicamente cuadro neurológico, resultado de la replicación viral en las neuronas y las células gliales que originan lesiones en la sustancia gris y desmielinización. La inflamación conllevará una destrucción tisular posterior⁵⁸.

Los signos neurológicos normalmente comienzan a las 1-3 semanas después de la recuperación de la enfermedad sistémica. Los más frecuentes en animales jóvenes son fiebre, hiperestesia y rigidez cervical, convulsiones, alteración del estado mental, signos vestibulares y cerebelares, tetraparesis, ataxia y mioclonias. Las mioclonias, presentes en el 40% de los pacientes con moquillo canino, son el signo patognomónico de esta enfermedad. Los animales mayores suelen mostrar un cuadro más insidioso de tetraparesis crónica y progresiva en ausencia de signos sistémicos, aunque también estas descritas formas agudas con fiebre, hiperestesia y dolor cervical en ausencia de otros signos. Es frecuente encontrar coriorretinitis en el examen de fondo de ojo^{58,75}.

El diagnóstico antemortem final se realiza mediante la evidencia del antígeno viral en fluidos corporales (LCR, lavados traqueales, sedimento urinario) o raspados (conjuntivales, amígdalas).^{58,80}. La comparación de títulos de anticuerpos séricos (IgG) y en LCR (producidos intratecalmente) pueden ser de ayuda; sin embargo, en animales muy inmunocomprometidos puede que no sean detectados.⁵⁸ Otros estudios demuestran, además, que la detección aislada de anticuerpos frente a moquillo canino es insuficiente como método diagnóstico y recomiendan combinarlo con la determinación de anticuerpos frente a otros virus como parvovirus y adenovirus canino^{81,82}.

Es poco frecuente encontrar cuerpos de inclusión en las células en el análisis del LCR. En la fase aguda de la enfermedad no hay una reacción inflamatoria celular, por lo que el RTCN y la concentración de proteínas pueden ser normales⁵⁸. En el curso posterior de la enfermedad se observa una pleocitosis leve (< 25 cels/ μ l) normalmente linfocítica, aunque también puede ser neutrofílica o mixta asociada a encefalomalacia. Las proteínas están levemente aumentadas (<50 mg/dl)^{47,51}.

En la forma más aguda de la enfermedad se observa en RM lesiones focales en encéfalo, hipointensas en T1 e hiperintensas en T2. El lóbulo temporal es una de las regiones más afectadas junto con el tronco encefálico y el cerebelo. La captación de contraste es mínima. En la forma crónica las lesiones se caracterizan por ser hiperintensas en T2 y por la pérdida de definición de la interfase sustancia gris-blanca entre el cerebro y el cerebelo (como consecuencia de la desmielinización). La captación de contraste en las paquimeninges a nivel del lóbulo frontal y parietal es evidente (en contraposición con la forma aguda)⁷³.

A nivel histopatológico, las lesiones se caracterizan por una desmielinización en sitios de predilección como el cerebelo, tractos ópticos y médula espinal. En la forma crónica de la enfermedad, esta desmielinización conlleva a un daño futuro en la sustancia blanca⁵⁸. La distribución de los cuerpos de inclusión característicos de la encefalitis por el virus del moquillo canino es errática y su presencia no es indicador de la severidad de la enfermedad⁸³.

No existe tratamiento específico contra las meningoencefalitis por moquillo, tan sólo se puede realizar un tratamiento de soporte y de los signos asociados: antiepilépticos, corticoides a dosis antiinflamatoria... Puede realizarse inmunización pasiva mediante suero hiperinmune canino para combatir la viremia y la posible replicación en los tejidos extraneurales, pero su uso no está bien definido. La progresión neurológica de la enfermedad hace que la eutanasia sea el desenlace final de la mayoría de los pacientes⁵⁸. La prevención de

la enfermedad es posible en un porcentaje relativamente alto mediante la inmunización activa.

Otras enfermedades víricas son poco frecuentes en medicina veterinaria. Se han descrito casos de vasculitis necrotizante en cerebro, meninges y arteriolas cerebrocorticales asociadas a parvovirus canino⁸⁴⁻⁸⁶.

Actualmente esta en auge una enfermedad vírica descrita hace años en centro Europa, la meningoencefalitis por *Flavivirus* o el *Virus de la Encefalomiелitis Centro Europea por garrapata*. El flavivirus es transmitido por la mordedura de la garrapata *Ixodes ricinus*. Los perros son muy susceptibles a padecer este tipo de encefalomiелitis, pero raramente se observan signos clínicos. Las lesiones afectan prioritariamente a la sustancia gris del SNC y pueden encontrarse en tronco encefálico, cerebelo y asta ventral de la médula espinal. La presentación puede ser asintomática, hiperaguda, aguda o crónica. Los signos clínicos incluyen fiebre, anorexia, cambios de comportamiento, alteraciones en los pares craneales y paresia⁸⁷.

El diagnóstico es complicado ya que durante la primera fase virémica el virus sólo puede ser aislado en sangre y LCR mediante PCR con transcriptasa inversa. Durante la segunda fase, cuando se observan los signos clínicos, ya no se puede detectar el virus en sangre ni en LCR^{47,87,88}. El análisis de LCR muestra una pleocitosis mononuclear leve-moderada con aumento de proteínas⁴⁷.

Los hallazgos de RM son bastante específicos y de gran ayuda en el diagnóstico antemortem. Destacan lesiones bilaterales simétricas afectando predominantemente al tálamo y la sustancia gris del asta ventral de la medula espinal⁸⁷.

El tratamiento es sintomático y de soporte. Se emplean antiepilépticos en caso de convulsiones y fisioterapia en casos de paresia. Se ha observado una respuesta favorable a dosis antiinflamatorias de prednisona. El pronóstico es muy variable, desde una recuperación completa hasta la eutanasia o muerte del paciente⁸⁷.

3.3.1.4 Meningoencefalitis protozoarias

Toxoplasma gondii y *Neospora caninum* son los protozoos que se describen más frecuentemente como causa primaria de enfermedad del SNC en veterinaria⁵¹.

En la toxoplasmosis, los signos pueden ser intermitentes, pero en la mayoría de los casos, el cuadro clínico es agudo y progresa rápidamente. Los perros habitualmente se ven afectados por la forma neuromuscular generalizada, que se puede acompañar de signos respiratorios y gastrointestinales. La localización de las lesiones es variable (cerebro, cerebelo, tronco encefálico, médula espinal o músculos). En animales adultos, los signos más frecuentes son hiperexcitabilidad, depresión, temblor, paresia, parálisis y convulsiones. En cachorros se ha descrito un síndrome de hiperextensión progresiva de miembro posterior originado por la atrofia neurogénica por un polirradiculitis severa de la intumescencia lumbar. La meningoencefalitis por *Toxoplasma gondii*, normalmente, es secundaria a la mielitis o encefalitis y suele cursar con signos neurológicos severos, fiebre y dolor y rigidez cervical^{75,89}.

En el caso de la neosporosis, los cachorros (< 6 meses) se ven afectados más severamente. Es frecuente encontrar inflamación de los músculos y las raíces nerviosas del tercio posterior que produce una paraparesia progresiva, atrofia muscular y pérdida del reflejo patelar que puede evolucionar a parálisis. Es bastante característica la rigidez e hiperextensión de los miembros posteriores como consecuencia de la radiculitis y miositis que, posteriormente, acaba en una contractura fibrosa de los músculos cuádriceps y gracilis. También puede observarse ataxia, ladeo de cabeza y convulsiones. Los cachorros también pueden desarrollar neumonía, hepatitis, mionecrosis, encefalitis y miocarditis (que frecuentemente llevan a la muerte repentina)⁶⁴. Se han descrito casos de afectación cerebelar (cerebelitis, hipoplasia o atrofia cerebelar)^{90,91}.

El análisis de LCR es similar en ambos casos. Es muy infrecuente encontrar los organismos en la citología. El LCR muestra una pleocitosis moderada, generalmente mononuclear (con predominio de linfocitos) con un 10-20% de neutrófilos⁵¹. Puede observarse un 5-10% de eosinófilos, aunque están descritos casos con mayor porcentaje⁹². El diagnóstico antemortem se realiza mediante la serología sanguínea (con seroconversión) y la detección de antígeno en LCR^{76,93}.

La descripción de los hallazgos de RM y TC en las meningoencefalitis protozoarias no está bien documentada, ya que proceden de casos aislados. Se observan las mismas lesiones que

en otros procesos inflamatorios del SNC e incluyen lesiones focales, multifocales o difusas de distribución asimétrica en sustancia blanca y gris, edema asociado, afectación meníngea variable y captación de contraste variable. En casos de neosporosis pueden observarse signos compatibles con cerebelitis y atrofia cerebelar⁷³.

El tratamiento de elección son las sulfamidas y la clindamicina. El pronóstico es reservado y suelen quedar secuelas a nivel muscular⁷⁵.

Otra meningoencefalitis protozoarias a tener en cuenta es la *meningoencefalitis por Leishmania infantum*. Sólo hay tres artículos que demuestran la existencia de partículas antigénicas de leishmania en LCR en animales con infección natural⁹⁴⁻⁹⁶. Se han descrito hallazgos de RM compatibles con presuntos múltiples infartos no hemorrágicos en dos pacientes con leishmania sistémica, no aislada en LCR. El tratamiento es el convencional para la leishmaniosis sistémica⁹⁷.

3.3.1.5 Meningoencefalitis por Rickettsias

Hasta un tercio de los animales infectados por *Ehrlichia canis* o *Rickettsia rickettsii* (también conocida como Fiebre de las Montañas Rocosas) pueden presentar signos de afectación neurológica. La incidencia de uno u otra depende de la presencia del vector; en nuestro país es frecuente *E.canis*. Los signos neurológicos son más severos en el caso de la Fiebre de las Montañas Rocosas, e incluyen hiperestesia y rigidez cervical, alteración del estado mental, signos vestibulares y convulsiones casi siempre asociados a signos sistémicos⁷⁵. Hay descrito un caso de *E. canis* sin signos sistémicos⁹⁸.

Las lesiones son el resultado de una vasculitis generalizada y las alteraciones del LCR varían dependiendo del grado de afectación del SNC. En la infección por *E. canis* se observa una pleocitosis mononuclear (> 80%) moderada, similar a la de las infecciones víricas, e incremento de proteínas. En el caso de la Fiebre de las Montañas Rocosas la pleocitosis es leve y tiende a ser neutrofílica. No es habitual identificar mórulas de *E. canis* en LCR⁵¹. El diagnóstico definitivo antemortem se realiza mediante la detección del antígeno en LCR^{76,99}.

Otros agentes transmitidos por vectores como *Anaplasma*, *Bartonella*, y *Borrelia* también se han aislado en LCR^{76,99}.

Las enfermedades inflamatorias infecciosas del SNC se resumen en la Fig. 1.

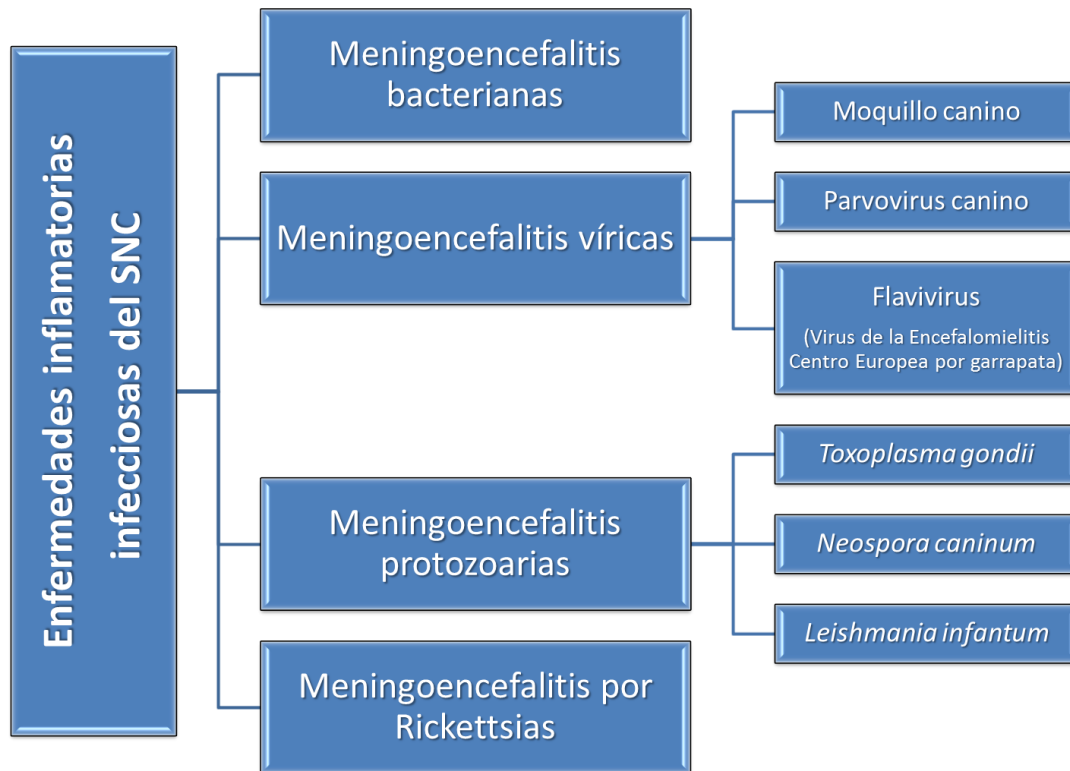


Fig. 1. Enfermedades inflamatorias infecciosas del SNC.

3.3.2 Enfermedades inflamatorias no infecciosas del SNC

Las enfermedades inflamatorias no infecciosas del SNC pueden clasificarse en distintos subtipos basándose, principalmente, en las regiones afectadas del SNC y las lesiones histopatológicas específicas en: *SRMA*, *meningoencefalitis eosinofílica*, *síndrome del temblador blanco*, *meningoencefalitis de Greyhound*, *leucoencefalitis necrotizante (LEN)*, *MEG* y *MEN*. Las tres primeras enfermedades tienen unas características clínicas típicas y, sobre todo, unos hallazgos en LCR muy significativos. La meningoencefalitis del Greyhound cursa con lesiones en RM muy específicas. Sin embargo, las tres restantes sólo se pueden confirmar mediante diagnóstico histopatológico¹⁰⁰.

En el ámbito clínico es muy poco frecuente obtener la confirmación histopatológica antemortem de estas tres últimas patologías; por este motivo, se ha creado el término **MOD** para agrupar los signos clínicos, hallazgos de RM, TC y/o de LCR compatibles con enfermedad

inflamatoria no infecciosa del SNC, pero en los cuales no hay confirmación histopatológica¹⁰¹. Las enfermedades inflamatorias infecciosas del SNC se resumen en la Fig. 2.

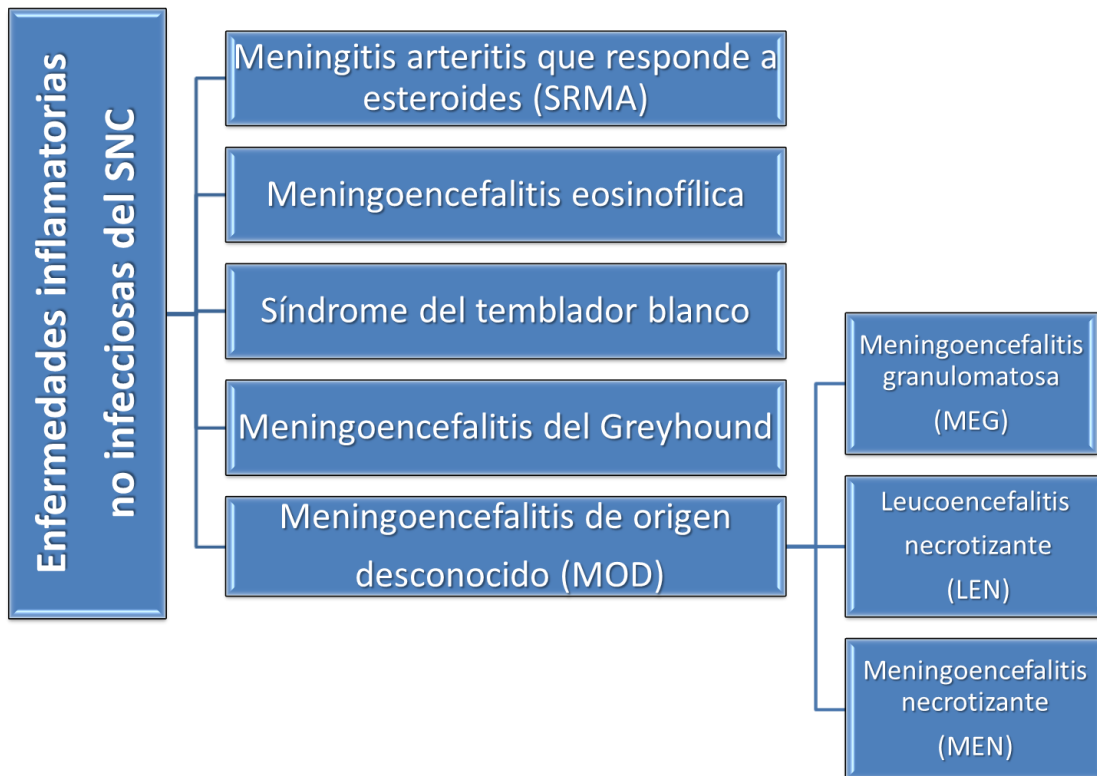


Fig 2. Enfermedades inflamatorias no infecciosas del SNC.

3.3.2.1 Meningitis arteritis que responde a esteroides

La SRMA es una de las enfermedades inflamatorias no infecciosas del SNC más frecuente en perros jóvenes. Se ha descrito en numerosas razas, destacan Beagle, Boyero de Berna, Boxer, Pastor alemán, Pointer, Weimaraner y Retriever de Nueva Escocia. En los Beagles también recibe el nombre Síndrome del Dolor de Beagle, vasculitis necrotizante, poliarteritis, síndrome de poliarteritis juvenil y periarteritis primaria. En otras razas también se han empleado los términos periarteritis, vasculitis necrotizante, meningitis que responde a esteroides, meningitis aséptica supurativa y meningomielitis que responde a esteroides. Todos estos términos empleados definen el signo clínico típico (dolor cervical), la afectación del SNC (leptomeninges y arterias) y su tratamiento (glucocorticoides)^{83,102}.

Los animales afectados son, habitualmente, adultos jóvenes entre 8-18 meses de edad, aunque el rango de edad incluye desde 4 meses a 7 años. La etiología es desconocida, aunque la teoría de un proceso inmunomediado es la más probable. No se han identificado bacterias, ni virus ni otros agentes infecciosos como agentes etiológicos de la SRMA. Sin embargo, algunos perros presentan activación de las células T, lo que puede indicar contacto con algún tipo de antígeno no identificado¹⁰³.

La SRMA puede presentarse de forma aguda o crónica. La primera se caracteriza por fiebre, hiperestesia y dolor cervical severo, rigidez cervical y anorexia. La forma crónica es el resultado de tratamientos inadecuados de la aguda o recaídas o una demora en el diagnóstico. Los signos clínicos más frecuentes de esta forma son ataxia, paresia, tetraparesia o paraplejia y alteraciones de los pares craneales (anisocoria, déficit en la reacción de amenaza, estrabismo)⁶¹. Los análisis sanguíneos suelen mostrar leucocitosis con neutrofilia e hiperproteinemia con aumento de la fracción α_2 globulinas, sobre todo en la forma aguda⁸³.

Los hallazgos del LCR son muy característicos, lo que unido a la reseña del animal y los signos clínicos permiten establecer fácilmente el diagnóstico. El análisis del LCR en la forma aguda muestra un pleocitosis neutrofílica (> 80%) severa con ligero aumento de las proteínas. Los neutrófilos no están degenerados (lo que permite diferenciarla, junto con el cultivo y antibiograma, de las meningitis bacterianas). Pueden observarse cambios en los neutrófilos derivados del paso del tiempo (hipersegmentación y/o picnosis)⁵¹. En la forma crónica, el análisis del LCR muestra una pleocitosis mixta media-moderada con un incremento leve de las proteínas⁶¹. Tanto en la forma aguda como en la crónica, hay una elevación en las concentraciones de IgA en LCR y en suero atribuible a la alteración del sistema inmune¹⁰³. También pueden encontrarse aumentos en IgG y/o IgM, así como en otras proteínas de fase aguda en LCR (proteína C reactiva, albúmina y α_2 -macroglobulina). La proteína C reactiva sérica parece correlacionarse con sus niveles en LCR, siendo un buen indicador de inflamación activa¹⁰⁴.

Para diagnosticar esta patología no es estrictamente necesario realizar RM o TC. El hallazgo más habitual observado en RM (aunque no siempre presente) es captación de contraste meníngeo. También puede observarse afectación del plexo coroideo, aunque no es habitual⁶¹.

Las lesiones histopatológicas se caracterizan por una inflamación leptomeníngea (con predominio de neutrófilos, linfocitos, células plasmáticas y macrófagos) y una arteritis

fibrinoide. En la forma crónica puede existir degeneración de las raíces nerviosas secundaria a la rotura o hemorragia de los vasos sanguíneos debilitados estructuralmente⁷⁵.

El tratamiento de elección son glucocorticoides en protocolo de inmunosupresión con reducción progresiva hasta intentar suspenderlos completamente¹⁰⁵. El pronóstico suele ser de reservado a favorable en la forma crónica y bueno en la forma aguda, siendo más favorable en los pacientes en los que el diagnóstico se realiza precozmente y se instaura el tratamiento inmunosupresor adecuado¹⁰⁶. En pacientes con recidivas o en la forma crónica es posible que se necesite emplear otros fármacos inmunosupresores coadyuvantes⁸³.

3.3.2.2 Meningoencefalitis eosinofílica

La etiología de esta enfermedad es desconocida. Sin embargo, la presencia de un aumento de eosinófilos tanto en sangre circulante de algunos de los pacientes como en el LCR, así como su respuesta al tratamiento con corticoides sugiere una patogénesis inmunomediada⁸³. La edad de presentación oscila entre los 4 meses y los 5,5 años. Se han descrito casos en Rottweiler, Labrador retriever, Pastor belga Tervueren y Pastor de maremma (o mastín italiano), entre otros^{65,92,107,108}.

Los signos clínicos incluyen colapso y postración en decúbito esternal y lateral sin pérdida de consciencia, depresión, somnolencia, cambios de comportamiento, pérdida de las órdenes aprendidas, marcha en círculos, *pressing*, ceguera, parálisis facial, reacción de amenaza y reflejos pupilares disminuidos, incoordinación, dolor cervical y crisis epilépticas parciales o generalizadas^{83,108}.

La eosinofilia circulante es un hallazgo común, aunque su ausencia no descarta la enfermedad. El análisis de LCR es muy característico, siendo casi patognomónico en ausencia de agentes infecciosos. Se observa una pleocitosis eosinofílica media-severa con un porcentaje de eosinófilos variable entre 50-98% y un aumento de proteínas leve⁹².

En RM es frecuente encontrar lesiones difusas hipointensas que afectan a la sustancia gris encefálica contrastando los surcos cerebrales en secuencias T1W y necrosis difusa o atrofia cortical de sustancia gris en secuencias FLAIR¹⁰⁸.

Histopatológicamente, se caracteriza por una meningitis severa granulomatosa eosinofílica, que afecta, sobre todo, a los hemisferios cerebrales con vacuolización del parénquima adyacente⁸³.

El tratamiento de elección es glucocorticoides a dosis inmunosupresoras; el pronóstico es reservado⁹².

3.3.2.3 Síndrome del temblador blanco o síndrome del temblador idiopático

La etiología y patogénesis de este tipo de patología se desconoce. Parece que podría ser el resultado de un desorden autoinmune que afectan la síntesis de neurotransmisores (dopamina, epinefrina y norepinefrina). Las principales razas afectadas son Bichón maltés y West highland white terrier (de ahí el nombre de temblador blanco), aunque también se ha descrito en Bichón frise, Spitz, Samoyedo, Beagles, Dachshund y Yorkshire terrier^{109,110}.

La presentación más habitual es en animales jóvenes y geriátricos, sin predisposición sexual. Los signos suelen aparecer de manera aguda, progresan en 1-3 días y, luego permanecen estáticos. El signo clínico típico son los temblores de intención que empeoran con el ejercicio, estrés y excitación y desaparecen durante el sueño. La exploración neurológica suele ser normal. No obstante, puede observarse ausencia de reacción de amenaza, nistagmo o movimientos oculares desconjugados, ataxia, ladeo de cabeza, hipermetría leve-moderada, tetraparesis y paraparesia en temblores severos generalizados. La presencia de convulsiones es inusual¹¹¹.

El análisis de LCR puede ser normal o revelar una pleocitosis media-moderada con proteínas normales o aumentadas⁸³.

En algunos casos, en el estudio de RM puede observarse un aumento ventricular simétrico. Histopatológicamente, se observa una moderada meningoencefalitis no supurativa difusa con manguitos perivasculares con células mononucleares linfoplasmocíticas^{83,110,111}.

El tratamiento de elección son glucocorticoides a dosis inmunosupresoras. Si la respuesta no es favorable pueden combinarse con benzodiazepinas como el diazepam. El pronóstico es bueno, llegando incluso a producirse una remisión espontánea de la enfermedad en algunos casos⁸³.

3.3.2.4 Meningoencefalitis del Greyhound

Como su nombre indica, este tipo de meningoencefalitis afecta a galgos y fue descrita por primera vez en Irlanda. Afecta a galgos jóvenes entre 4 y 18 meses sin predisposición sexual¹¹². Se sospecha de un factor de riesgo genético asociado a la presencia del antígeno leucocitario canino tipo II¹¹³. No se han aislado agentes infecciosos en los pacientes examinados¹¹⁴.

Los signos neurológicos observados son agudos o de inicio insidioso e incluyen ladeo de cabeza, ataxia, postración, marcha en círculos, depresión y ceguera⁸³.

La topografía específica de las lesiones inflamatorias hace que se pueda emitir un diagnóstico presuntivo bastante certero gracias a la RM. Las lesiones afectan predominantemente a los lóbulos y bulbos olfatorios, sustancia gris cortical frontal y frontotemporal y a los núcleos caudados bilateralmente. Las lesiones son hiperintensas en secuencias T2 e isointensas en T1 con ausencia o mínima captación de contraste¹¹⁵.

El diagnóstico definitivo se realiza mediante confirmación histopatológica. Las lesiones se caracterizan por una gliosis severa focal y difusa, gemistocitosis acompañada de manguitos perivasculares con células mononucleares en los núcleos caudados, sustancia gris cortical cerebral y periventricular del tronco encefálico anterior¹¹⁶. El pronóstico es malo¹¹².

3.3.2.5 Meningoencefalitis de origen desconocido

3.3.2.5.1 *Etiopatogénesis:*

- **MEG:** Es una enfermedad inflamatoria no supurativa del SNC. El primer nombre que recibió fue "reticulosis" en el año 1962 porque era similar a esta enfermedad en humanos¹¹⁷. En el sentido estricto de la palabra, reticulosis implica proliferación de las células del sistema fagocítico mononuclear (monocitos, macrófagos, histiocitos) originadas en cualquier tejido. En el año 1972 la reticulosis se clasificó en tres categorías: reticulosis inflamatoria (granulomatosa), reticulosis neoplásica y microgliomatosis. Desde el punto de vista histopatológico, la forma inflamatoria de la reticulosis se caracteriza por la presencia de células histiocíticas junto a linfocitos, células plasmáticas y otros leucocitos, mientras que la forma neoplásica tiene

predominio de leucocitos monomórficos. El término MEG se propuso en el año 1978¹¹⁸. Dado que las lesiones encontradas en las MEG presentan histiocitos, por definición, representa una forma de reticulosis. No obstante, la clasificación de la reticulosis del año 1972 no se emplea actualmente. La forma inflamatoria ha sido denominada MEG mientras que la reticulosis neoplásica se reclasificó como linfoma histiocítico primario cerebral¹¹⁹.

La MEG se presenta, sobre todo, en razas pequeñas, especialmente razas toys, caniche y terriers. Es menos frecuente su aparición en razas grandes como Golden y Samoyedo. La edad media de presentación son adultos jóvenes de 5 años, aunque el rango de edad incluye desde los 6 meses a los 12 años. En función de la bibliografía consultada puede observarse una mayor incidencia en hembras⁸⁹ o en machos¹²⁰.

La MEG constituye el 5-25% de todas las alteraciones del SNC en perros¹²¹. Aunque la causa exacta es desconocida, se han postulado varias hipótesis fisiopatológicas basadas en causas genéticas, autoinmunes, infecciosas, neoplásicas y tóxicas. Los últimos estudios parecen indicar que la lesión inflamatoria es una reacción de hipersensibilidad retardada mediada por linfocitos T. Esta hipótesis se sustenta en el hallazgo de autoanticuerpos contra astrocitos en el LCR de perros con MEG focal confirmadas por medio de histopatología. Sin embargo, es complejo determinar si los anticuerpos son la causa o la consecuencia de la inflamación^{122,123}. También se ha sugerido la posibilidad de una encefalitis autoinmune inducida por anticuerpos anti-proteína ácida fibrilar glial en el LCR¹²⁴.

Se consideraron, no obstante, la existencia de potenciales inductores infecciosos para la MEG. Su presencia se ha relacionado con el virus de Borna, y con inmunohistoquímica positiva para virus del Nilo occidental, parainfluenza canina y encefalomiocarditis. Estos hallazgos son poco claros e inespecíficos debidos a potenciales reacciones cruzadas con proteínas endógenas. También se han identificado especies de *Bartonella* y *Mycoplasma* en casos confirmados de MEG. Todos estos datos refuerzan la teoría de que la MEG es una respuesta inflamatoria inmunológica inespecífica a diversos factores ambientales (agentes patógenos, vacunaciones) y factores genéticos¹²⁵. No obstante, a día de hoy, se ha descartado la presencia de agentes infecciosos en los casos de MEG y el resto de subtipos confirmados histopatológicamente^{88,120}.

- **MEN:** Durante muchos años se la denominó encefalitis del Pug porque se pensaba que era estrictamente específica de esa raza. Desde 1989, y a partir de los patrones morfológicos de las lesiones macro y microscópicas, la enfermedad se ha descrito en otras razas (sobre todo toy) como Bichón maltés¹²⁶, Chihuahua¹²⁷, Pekinés¹²⁸, Bulldog frances, Boston terrier, Pinscher miniatura, Shih tzu, Coton de Tulear, Papillon y Grifón de Bruselas^{101,129}. Por ese motivo, en la actualidad se prefiere utilizar el término de MEN.

Salvo un caso clínico publicado en una hembra mestiza de American staffordshire¹³⁰, la enfermedad sólo se ha descrito en perros de razas pequeñas y no tiene una predilección sexual.

El inicio de los signos clínicos es variable y puede ocurrir entre los 6 meses y los 7 años de edad, aunque el promedio es de 2,5 años^{131,132}.

La etiología y la patogénesis no están claras. En el año 2011, se identificaron en perros de raza Pug dos loci ligados a la enfermedad en el cromosoma 12 con una fuerte asociación al antígeno canino leucocitario clase II, similar al loci del MHC identificado en la esclerosis múltiple y otros procesos inmunomediados¹³³. Aunque el reconocimiento de este autoantígeno no puede considerarse el mecanismo definitivo de la etiopatogénesis de la MEN, este hallazgo, junto con la identificación de anticuerpos dirigidos contra los astrocitos y la proteína gliofibrilar ácida en el LCR y el suero de perros con MEN, refuerzan la teoría de un origen inmunomediado. Aunque no está establecido el papel de estos anticuerpos, la MEN podría ser una enfermedad autoinmune primaria dirigida contra los astrocitos y células gliales^{124,134}.

En enfermedades autoinmunes como la esclerosis múltiple y síndrome de Guillain-Barré se han identificado autoanticuerpos dirigidos contra antígenos propios del sistema nervioso. Como alternativa, los anticuerpos podrían desarrollarse de forma secundaria al daño inducido por una lesión primaria independiente. En este escenario, los autoanticuerpos desempeñarían un papel menor, si es que lo tuvieran, en la fisiopatología total. Aunque se pensaba que este tipo de anticuerpos era específico de los casos de MEN en perros Pug, un estudio posterior describió la presencia de los mismos anticuerpos en el LCR de perros de otras razas con MEN confirmada por medio de examen histopatológico y con MEG focal. Los perros Pug examinados (9 animales) tuvieron los títulos más elevados (>1:100), pero 13 perros de otras razas

diagnosticados de MEN tenían títulos en un rango de 1:1 a más de 1:100, y 3 perros con MEG focal presentaron títulos variables. Cabe destacar que también se han detectado estos anticuerpos en perros con tumores cerebrales y animales clínicamente sanos¹²³.

El fuerte patrón hereditario familiar de los Pug no es un patrón simple de herencia mendeliana, por lo que se ha sugerido que la MEN es un trastorno multifactorial. Este tipo de multicausalidad ha sido confirmado en la encefalopatía aguda necrotizante en los niños, que ocurre en asociación con infecciones virales comunes como influenza y parainfluenza. En un número significativo de niños con enfermedad familiar recurrente se han encontrado mutaciones en heterocigosis de un gen que codifica una proteína componente del poro nuclear (Ran Binding Protein 2). La presencia de esta mutación genética haría más susceptibles a los portadores de padecer esta forma de la enfermedad. Una combinación similar de factores genéticos y posibles inductores infecciosos podría ser responsable de la MEN. Esta hipótesis está siendo investigada en la actualidad a partir de estudios moleculares¹³⁵.

En el año 2014, se identificaron, también, factores de riesgo genético en el desarrollo de MEN en perros de raza Bichón maltés ligados al cromosoma 4 y 15, lo que evidencia un riesgo genético compartido entre razas que asocien el cromosoma 15 y el antígeno canino leucocitario clase II (DLA II), similar a enfermedades inmunomediadas del SNC en humanos como la esclerosis múltiple¹³⁶.

La encefalitis por α -herpesvirus que afecta a humanos y animales tiene una fuerte predilección por los hemisferios cerebrales y provoca una necrosis extensa. Por este motivo se sugirió, en un inicio, que los casos de MEN eran, en realidad, una recurrencia de infección neonatal por herpesvirus canino de tipo 1, aunque nunca se pudo aislar el virus a partir de animales afectados¹³⁷. Otra hipótesis postulada fue la presencia de un agente patógeno en niveles no detectables que provocaba una respuesta inmune autopercuante, fenómeno descrito para la infección por flavivirus. En la actualidad se descarta una causa viral subyacente como etiología de la MEN⁹³.

- **LEN:** La leucoencefalitis necrotizante es una encefalitis no supurativa, necrotizante y multifocal con grado variable de compromiso leptomeníngeo. Fue descrita por primera vez en 1993 en perros Yorkshire terrier¹³⁸. En la bibliografía, tradicionalmente se la denominó encefalitis necrotizante del Yorkshire terrier pero, actualmente, este

término está en desuso puesto que otras razas como Chihuahuas^{139,140} y Bulldog francés¹⁴¹ pueden presentarla.

El rango de edad de los perros afectados es de 4 meses a 10 años, con una media de aproximadamente 4,5 años. No existe predisposición sexual¹³⁸.

Tipold et al. especularon con una posible etiología infecciosa de la enfermedad puesto que no había referencias previas a 1986¹³⁸. Actualmente, al igual que en los otros dos subtipos de MOD, no se ha aislado ningún agente infecciosos en los casos estudiados y se sospecha de un posible origen autoinmune mediado por células T, al igual que en la MEG y MEN¹⁴².

La etiopatogénesis de los tres subtipos se resume en la Tabla 1.

Tabla 1. Etiopatogénesis MOD

	MEG	MEN	LEN
Razas	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Razas toys, caniche y terriers ▪ Golden y Samoyedo 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Pug, Bichón maltés, Pekines, Chihuahua, ShihTzu, Bulldog frances, Boston terrier, Papillon, Pinscher miniatura, Coton de Tulear y Grifón de Bruselas ▪ American Staffordshire 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Yorkshire terrier, Chihuahuas y Bulldog francés
Edad	5 años (6 meses- 12 años)	2,5 años (6 meses-7 años)	4,5 años (4 meses- 10 años)
Etiología	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Reacción hipersensibilidad retardada mediada por linfocitos T. ▪ Encefalitis autoinmune inducida por anticuerpos anti proteína ácida fibrilar glial. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Pug: locis cromosoma 12 asociados al DLA II + anticuerpos anti- astrocitos y proteína gliofibrilar ácida. ▪ Bichón maltes: locis cromosoma 4 y 15 asociados al DLA II. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Reacción hipersensibilidad retardada mediada por linfocitos T.

MOD: meningoencefalitis de origen desconocido; MEG: meningoencefalitis granulomatosa; MEN: meningoencefalitis necrotizante; LEN: leucoencefalitis necrotizante; DLA II: antígeno canino leucocitario clase II.

3.3.2.5.2 Localización y signos clínicos

- **MEG:** Aunque la MEG es altamente variable, existen 3 formas básicas de la enfermedad, cuya clasificación se basa en los patrones de distribución de las lesiones en el cerebro y la médula espinal: focal, ocular u oftálmica y multifocal o diseminada.

➤ **MEG focal:** se desarrolla como una lesión única localizada en la médula espinal, tronco encefálico, mesencéfalo, tálamo, nervios ópticos, hemisferios cerebrales o, más raramente, el cerebelo. Generalmente cursa con signos cerebelotalámicos. Los signos clínicos sugieren la presencia de una lesión única, con un síndrome bien diferenciado que refleja la localización neuroanatómica del granuloma^{121,143}:

- Prosencéfalo: ataques, alteración del estado mental, cambios de comportamiento, ataxia, marcha en círculos, *pressing* y alteraciones en la visión con reflejos pupilares normales.

- Mesencéfalo: depresión, visión normal con midriasis y pupilas arreactivas.

- Tronco encefálico y médula oblongada: hemiparesia, tetraplejia, déficits de distintos pares craneales (alteración reflejo palpebral, corneal, deglución, parálisis del nervio facial y del trigémino y síndrome vestibular central).

- Cerebelo: espasticidad, marcha hipermétrica y temblor de intención.

- Médula espinal: hemi, para o tetraparesia/plejia con signos medulares variables en función de la localización.

Es frecuente encontrar dolor cervical o en columna en estos pacientes

La MEG focal tiene a menudo un curso más crónico y progresivo que las otras formas de la enfermedad. El diagnóstico diferencial incluye el sarcoma histiocítico y el linfoma neurológico.

➤ **MEG ocular:** La forma ocular es la más rara. La inflamación se encuentra inicialmente restringida a las porciones retinianas y posretinianas del nervio óptico. Acorde a esto, la forma ocular podría considerarse una presentación particular de la forma focal. Los signos clínicos reflejan habitualmente la

localización aislada e incluyen ceguera aguda (generalmente unilateral), midriasis uni o bilateral, pupilas arreactivas, papiledema, hemorragias retinianas y, en ocasiones, coriorretinitis (en especial, en la región no tapetal)^{143,144}. Los perros con MEG ocular pueden desarrollar la forma focal o diseminada de la enfermedad¹¹⁸.

- **MEG multifocal:** Es la forma más frecuente de la MEG. Las lesiones son más intensas en las meninges, la médula espinal cervical craneal, el tronco encefálico, el mesencéfalo y el cerebelo y, a menudo, tienen una extensión rostral menos intensa hacia la sustancia blanca de los hemisferios cerebrales. Los signos clínicos más habituales son vestibulocerebelosos y medulares como convulsiones, ladeo de cabeza, marcha hiperométrica déficits visuales y tetraparesia. También puede cursar con hiperestesia cervical. En estos casos el inicio es agudo y la progresión, rápidamente fatal. Las lesiones pueden localizarse también en la sustancia gris, las leptomeninges y los plexos coroideos. Ocasionalmente, los signos neurológicos se acompañan de fiebre^{118,145,146}. Se ha descrito un caso de MEG multifocal con afectación de sistema nervioso periférico¹⁴⁷.

La MEG diseminada con expansión angiocéntrica comprende lesiones múltiples de masas coalescentes de distribución similar que pueden formar una gran masa ocupante de espacio, por lo que la presentación se asemeja a una distribución focal¹²¹.

- **MEN:** Los signos clínicos predominantes son alteración del estado mental y convulsiones, los cuales pueden ser explicados por la predilección que presenta esta enfermedad por los hemisferios cerebrales. Otros signos clínicos que reflejan el casi exclusivo compromiso supratentorial (cerebro y/o tálamo) son letargia, anorexia, ceguera central, marcha en círculos, *pressing* y déficits visuales. A diferencia de lo que sucede con otras encefalitis no supurativas, es raro que se vea afectado el cerebelo, tronco encefálico y medula espinal. Si se presentan lesiones, son muy leves y consisten en hemorragias petequiales. El cuadro clínico puede acompañarse de dolor y rigidez cervical, dependiendo del grado de compromiso leptomeníngeo^{131,132}.

Se han observado dos formas de presentación de la enfermedad, aguda y crónica. Algunos perros afectados muestran lesiones unos pocos días después de manifestar signos clínicos, mientras que otros lo hacen en grado variable varias semanas o meses después.

Se han descrito dos casos de necrosis miocárdica concurrente en Pug con MEN. La correlación entre lesión aguda del SNC y necrosis de miocardio ha sido bien establecida en los humanos, y se ha podido inducir experimentalmente en modelos animales, en los que se piensa que ocurre por la liberación de catecolaminas por parte del sistema simpático. Este hallazgo ha sido descrito en perros con trauma agudo y con enfermedades inflamatorias¹⁴⁸.

- **LEN:** Los perros afectados presentan habitualmente una combinación de signos supratentoriales (cerebrales o talámicos) y alteraciones del tronco encefálico que dependen de la localización de las lesiones. Los signos clínicos incluyen alteración de la consciencia, marcha compulsiva, marcha en círculos, déficit visual, trastornos vestibulares centrales, alteraciones en las reacciones posturales y convulsiones. El curso de la enfermedad es variable, pero normalmente es crónica (desde meses a 1-2 años de evolución) y progresiva; la aparición aguda es muy poco frecuente. Este curso largo e insidioso hace que los propietarios de las mascotas sean incapaces de notar los cambios iniciales sutiles en sus mascotas (signos vestibulares leves, pérdida sutil de visión...), por lo que el diagnóstico suele producirse de forma tardía y, en consecuencia, la esperanza de vida es reducida^{138,139,149,150}.

La localización y los signos clínicos se resumen en la Tabla 2.

Tabla 2. Localización y signos clínicos MOD

	MEG	MEN	LEN
Localización y signos clínicos	Forma focal:		
	<ul style="list-style-type: none"> ▪ <i>Hemisferios cerebrales, nervios ópticos, tronco encefálico, mesencéfalo, tálamo:</i> ataques, alteración del estado mental, ataxia, <i>pressing</i>, cambios de comportamiento, marcha en círculos, alteraciones en la visión con reflejos pupilares normales o alterados. ▪ <i>Tronco encefálico y médula oblongada:</i> hemiparesia, tetraplejia, alteración pares craneales. ▪ <i>Médula espinal:</i> hemi, para o tetraparesia/plejia. ▪ <i>Cerebelo:</i> espasticidad, marcha hipermétrica y temblor de intención 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ <i>Hemisferios cerebrales:</i> convulsiones, alteración del estado mental. ▪ <i>Cerebro y/o tálamo:</i> letargia, anorexia, ceguera central, marcha en círculos, <i>pressing</i> y déficit visual. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ <i>Hemisferios cerebrales, tálamo y tronco encefálico:</i> alteración de la consciencia, marcha compulsiva, marcha en círculos, déficit visual, trastornos vestibulares centrales, convulsiones y alteraciones en las reacciones posturales.
	Forma ocular: <i>porciones retinianas y posretinianas del nervio óptico:</i> ceguera aguda uni o bilateral, midriasis uni o bilateral, pupilas arreactivas, hemorragias retinianas, coriorretinitis y papiledema.		
	Forma multifocal: <i>Meninges, médula espinal cervical craneal, tronco encefálico, mesencéfalo y cerebelo:</i> convulsiones, ladeo de cabeza, déficit visual, marcha hipermétrica, tetraparesia e hiperestesia cervical		
Curso	<p><i>Forma focal:</i> crónico</p> <p><i>Forma ocular:</i> agudo</p> <p><i>Forma diseminada:</i> crónico >>agudo</p>	Agudo y crónico	Crónico >> agudo

MOD: meningoencefalitis de origen desconocido; MEG: meningoencefalitis granulomatosa; MEN: meningoencefalitis necrotizante; LEN: leucoencefalitis necrotizante

3.3.2.5.3 Histopatología

- **MEG:** Los hallazgos histopatológicos normalmente permiten diferenciar la MEG de la MEN y la LEN. La relación entre el curso clínico de la enfermedad y la severidad de los hallazgos histopatológicos es controvertido. Macroscópicamente, en lesiones granulomatosas severas pueden observarse cambios en la simetría normal del cerebro (como desviación de la línea media o compresión de estructuras adyacentes). Puede apreciarse engrosamiento y decoloración amarilla-grisácea localizada, principalmente, en la sustancia blanca cerebral; no obstante, la sustancia gris y las leptomeninges pueden estar también afectadas. En algunos casos, los nervios ópticos pueden aparecer engrosados. Una de las características que la distingue de la MEN y LEN es que no existe tejido necrótico ni cavitación secundaria¹²¹.

Microscópicamente, las lesiones se caracterizan por una encefalitis granulomatosa angiocéntrica. Destaca la presencia de manguitos perivasculares o linfocitos, macrófagos en número variable, células plasmáticas en parénquima cerebral, meninges y médula espinal con hemorragias petequiales en mayor o menor grado. La malacia secundaria no es un hallazgo frecuente^{118,119}. En lesiones severas puede observarse adelgazamiento de los manguitos, edema y necrosis en el parénquima. Con el tiempo las lesiones peri e intervacuares se vuelven fibróticas¹⁵¹.

En algunas áreas (como los manguitos perivasculares, leptomeninges y el parénquima de los granulomas), las células predominantes son linfocitos (con predominio de CD3⁺) y en otras regiones macrófagos; ambos tipos celulares expresan MHC tipo II¹²². Los macrófagos deben diferenciarse en células epitelioides y forman nidos en el interior de los manguitos en las lesiones granulomatosas. La infiltración de todos estos tipos celulares en el parénquima nervioso es mínima; sin embargo, como la población perivascular involucra numerosos vasos, se expande y converge hasta comprimir el tejido nervioso y provocar una lesión ocupante de espacio, haciendo que en muchos casos se evidencien lesiones macroscópicas. El neurópilo que rodea las lesiones granulomatosas muestra una moderada reacción glial y edema. En los casos crónicos hay confluencia de lesiones, proliferación vascular y cambios reparativos^{118,122,151}.

En los estudios histopatológicos iniciales de *Cordy et al.* en 1979, que contaban con un mayor número de casos (27), las lesiones más severas se encontraron en la sustancia

blanca cerebral, cerebelar y en médula espinal cervical; sin embargo, en los 6 casos descritos por *Braund* en 1978, el tronco encefálico y cerebelo fueron las regiones más afectadas. Este patrón de variabilidad topográfica refleja la complejidad de esta patología^{118,151}.

En función de la forma de presentación varía la localización y los hallazgos histopatológicos e inmunohistoquímicos.

En la *forma focal* las lesiones se localizan en tronco encefálico y, especialmente, en sustancia blanca cerebral. Algunos autores han sugerido que las lesiones de la MEG focal muestran similitudes con ciertas neoplasias, como el linfoma de células B. Aunque las mitosis y células gigantes no son frecuentes, el estudio de los linfocitos que se encuentran en el interior de los manguitos perivasculares ha evidenciado grados variables de pleomorfismo e índice mitótico, lo que sugiere una conducta neoplásica. Por otra parte, ocasionalmente, se observan linfoblastos en el LCR de los animales afectados^{119,152}. No está claro si estos linfocitos anormales son células inflamatorias reactivas o representan una verdadera población tumoral. Al estudiar los patrones fenotípicos de las distintas formas de MEG con Ki-67/MIB-1 se ha observado que la forma focal (a diferencia de las otras dos) parece tener un fenotipo neoplásico de células dendríticas histiocitarias¹⁵³.

En la *forma ocular* se verán afectadas las porciones retinianas y postretinianas del nervio óptico¹¹⁸.

Por último, en la *variante multifocal* se afectan, primariamente, la sustancia blanca cerebral, tronco encefálico caudal, cerebelo y medula cervical; sin embargo, pueden encontrarse lesiones vasculares en sustancia gris, leptomeninges y plexos coroideos en la forma aguda. Si convergen múltiples manguitos perivasculares, puede formarse un único granuloma y asemejarse a la forma focal^{121,154}. La médula espinal puede verse afectada en cualquier segmento, pero los cambios más severos suelen observarse a nivel cervical. La sustancia blanca medular se afecta más que la gris, y la columna ventral y lateral más que la dorsal¹⁵¹.

Los tipos celulares predominantes en la *forma multifocal* incluyen linfocitos T CD3⁺ y macrófagos que expresan el MHC tipo II. Por este motivo se ha sugerido que en la patogénesis de la MEG podría estar implicada una reacción de hipersensibilidad tardía

con una base autoinmune. Otros investigadores han confirmado el predominio de linfocitos T CD3⁺ en las lesiones, pero no han podido demostrar diferencias significativas en cuanto al número de linfocitos CD3⁺ entre la MEG y la MEN o entre la MEG y el sarcoma histiocítico del SNC^{139,155,156}. En el caso de la MEG, los macrófagos CD163⁺ se acumulan en torno a los vasos sanguíneos de la sustancia blanca cerebral, a diferencia de la MEN y la LEN, en las que infiltran difusamente la corteza cerebral y la sustancia blanca, respectivamente¹³⁹.

Mediante técnicas inmunohistoquímicas usando anticuerpos anti lisozima se ha podido observar la diferente naturaleza de los macrófagos en la MEG y la MEN. En la MEG se encuentran células predominantemente positivas a lisozima en comparación con las células de MEN que, aunque las presentan, es en menor proporción¹³⁹.

Se ha detectado la presencia de antígenos clonales inmunoreactivos MAC-387⁺ en granulocitos, monocitos y un número limitado de macrófagos tanto en la MEG como en la MEN. En la MEN se distribuyen en las meninges y alrededor de los vasos sanguíneos, mientras que en la MEG se dispersan por todo el parénquima cerebral y en las lesiones perivasculares. Esta diferencia de distribución entre ambos tipos de meningitis avalan la hipótesis de una reacción de hipersensibilidad tardía con una base autoinmune en la etiopatogenia de la MEG, ya que MAC-387⁺ es un marcador de macrófagos, monocitos y granulocitos, todos ellos componentes esenciales en la inmunidad mediada por células con un papel importante en la síntesis de lisozima¹⁵⁷.

Los estudios basados en diversos marcadores antigénicos y oncogénicos (MIB-1) sugieren que la forma generalizada y la generalizada con expansión angiocéntrica tiene patrones fenotípicos similares. Sin embargo, la forma focal parece tener un fenotipo neoplásico de células dendríticas histiocitarias^{139,140}.

Desde el punto de vista de respuesta de citoquinas, la IL-4 y la IL-17 son significativamente más altas en la MEG que en la MEN y la LEN¹⁴⁰.

- **MEN:** La MEN tiene un patrón de distribución anatómico y lesiones histológicas que son característicos. Las lesiones macroscópicas son áreas bilaterales multifocales asimétricas de encefalitis aguda o focos crónicos de malacia, con coloración oscura del parénquima, necrosis y colapso de las sustancias blanca y gris de los hemisferios cerebrales. Los límites de las lesiones son imposibles de distinguir. Es frecuente

observar hidrocefalia con dilatación asimétrica de los ventrículos laterales. La intensidad de las lesiones disminuye en sentido rostrocaudal.

Las alteraciones se encuentran casi exclusivamente en el parénquima cerebral, aunque pueden encontrarse lesiones mínimamente inflamatorias en el cerebelo, el tronco encefálico y la médula espinal. Las regiones cerebrales más comprometidas y los surcos y fisuras cerebrales suelen contener los infiltrados más intensos. El infiltrado inflamatorio se extiende desde las leptomeninges hacia la corteza cerebral adyacente, donde ocupa la sustancia gris y se introduce en la sustancia blanca subyacente. Las lesiones más severas se observan en tálamo e hipocampo¹³⁷.

Desde el punto de vista histopatológico, la MEN se caracteriza por una meningoencefalitis necrotizante no supurativa. La visualización de algunas áreas necróticas sin inflamación podría sugerir que la necrosis es la lesión primaria, que, en algunas regiones, puede combinarse con licuefacción y cavitación similares a las observadas en la LEN. Las zonas de necrosis y malacia a veces se asocian con células de Gitter y lesiones cribiformes o quísticas. Las lesiones pueden observarse tanto en la sustancia gris como en la sustancia blanca. También puede existir, en grado variable, meningitis diseminada, coroiditis y encefalitis¹⁵⁸.

Las lesiones principales se localizan en el interior de la corteza adyacentes a la sustancia blanca. Destacan infiltrados perivasculares y parenquimatosos de linfocitos y macrófagos con áreas extensas de necrosis focales. También son evidentes la proliferación y la reactivación de la microglía con astrogliosis media alrededor de estas áreas de necrosis¹⁵⁷.

Las reacciones inflamatorias en los pacientes con MEN aguda y crónica difieren en su grado. Es leve a moderada en la forma aguda y severa en la crónica. En la forma aguda puede haber una encefalitis aguda no supurativa coexistente con lesiones crónicas en hipocampo, núcleos septales y tálamo¹⁵⁷. Las lesiones crónicas son muy evidentes con presencia de infiltrados histiocíticos en el parénquima cerebral y la microglía, manguitos perivasculares con linfocitos y células plasmáticas. En esta forma, la necrosis extensiva (malacia) se observa en la corteza cerebral, así como, en los núcleos del tálamo, mesencéfalo y menos frecuentemente en cerebelo¹³⁹. En los casos en los que la enfermedad tiene un curso más prolongado pueden observarse sólo astrogliosis e infiltración de gemistocitos¹⁵⁷.

Desde el punto de vista inmunohistoquímico los infiltrados inflamatorios en el área perivascular y el parénquima cerebral son una población mixta de linfocitos T CD3⁺, CD20⁻, CD79a⁻ y/o células Ig G⁺ (linfocitos B y/o células plasmáticas) y células CD163⁺ en casi el mismo índice. Los linfocitos CD3⁺ se diseminan por las meninges, manguitos perivasculares y las lesiones cerebrales, pero en menor proporción que en la MEG¹⁵⁸. Los macrófagos CD163⁺ se localizan en las lesiones inflamatorias activas, manguitos perivasculares y parénquima cerebral^{100,139}.

Las células MAC-387⁺ en la MEN son limitadas, a diferencia de la MEG y se distribuyen en las meninges y alrededor de los manguitos perivasculares¹⁵⁷.

La síntesis de lisozima por parte de los macrófagos es mucho menor en comparación con la observada en la MEG¹⁰⁰.

La proteína ácida fibrilar glial como se ha indicado previamente se encuentra ampliamente distribuida por todo el cerebro en los casos de MEN¹²⁴.

La expresión de IFN- γ es mayor en comparación con la MEG y la LEN. La expresión de la IL-4 y la IL-17 es mucho menor en comparación con la MEG¹⁵⁸.

- **LEN:** Las lesiones tienen un patrón de distribución y un tipo histopatológico diferentes a los de la MEN. En los escasos pacientes en que se diagnostica la forma aguda, los hallazgos de necropsia incluyen una coloración grisácea de la sustancia blanca afectada, con ausencia de formaciones quísticas. En los casos crónicos, generalmente, se observan lesiones multifocales necróticas y quísticas en la sustancia blanca más profunda del cerebro y en tálamo. Pueden observarse lesiones mínimas en mesencéfalo, cerebelo y tronco encefálico. En ambas formas de presentación, existe dilatación leve a moderada de los ventrículos laterales; las lesiones que ocupan el tronco encefálico no suelen involucrar el cerebelo. Las lesiones, a menudo, se localizan en un solo compartimiento (cerebro o tronco encefálico) y, desde el punto de vista macroscópico, se consideran unilaterales, aunque sean multifocales.

Los hallazgos histopatológicos se caracterizan por una leucoencefalitis no supurativa con múltiples focos de necrosis que afectan a la sustancia blanca del encéfalo, tálamo y tronco encefálico, con la consecuente necrosis cavitaria y un marcada astrogliosis. La implicación meníngea es mínima, a diferencia de lo que acontece en la MEN. La sustancia gris no suele estar afectada. La sustancia blanca afectada incluye el centro

semioval, la corona radiada, la cápsula interna, el tálamo, el mesencéfalo, el puente y la médula oblonga. La presencia de LEN en estas regiones es una característica importante para distinguirla de otros tipos de MOD¹⁰⁰.

En los casos agudos, la sustancia blanca afectada presenta una estructura característica con un centro claro rodeado por un anillo denso. El centro está conformado por células linfohistiocíticas células de Gitter e incluye proliferación de astrocitos fibrilares y gemistocitos. El anillo denso que lo rodea es la suma de una proliferación vascular, manguitos perivasculares mononucleares, intensa proliferación microglial y cantidades variables de tejido fibroso¹⁴⁹.

Los casos crónicos se caracterizan por presentar necrosis cavitaria extensiva multifocal, a menudo asociada a una fuerte reacción inflamatoria no supurativa, compuesta por manguitos perivasculares linfocitarios, células plasmáticas y macrófagos. Las zonas de necrosis a menudo convergen para formar áreas cavitarias, cuyo tamaño depende de la severidad y la duración de la enfermedad. En el interior de la sustancia blanca se visualizan numerosos axones hinchados y necróticos, gemistocitos, células microgliales fagocitarias, microglía reactiva y ocasionales infiltrados perivasculares. Es característico que la corteza y las meninges no estén afectadas. El compromiso leptomeníngeo, cuando existe, es mínimo; sin embargo, puede observarse infiltración por parte de un pequeño número de linfocitos y células plasmáticas. Las neuronas en el interior de la sustancia gris no aparecen afectadas, a pesar de la inflamación circundante^{138,139,149}.

Las áreas de necrosis y cavitación en el caso de la LEN son mucho más extensas en comparación con la MEN, aunque la cavitación es menos evidente en tronco encefálico y cerebelo¹⁰⁰.

Ocasionalmente se han observado cambios inflamatorios en nervio óptico¹⁴² y médula espinal¹⁵⁰.

Aunque pueden observarse ciertas similitudes con la MEG descrita en los Pug, además de las diferencias topográficas, el curso crónico y progresivo, la intensa proliferación de la microglía en las lesiones activas y la presencia de lesiones quísticas en la sustancia blanca es bastante característica de LEN. Además, la LEN siempre se

Tabla 3. Cont. Hallazgos histopatológicos en MOD.

presenta con una reacción inflamatoria no supurativa, incluso en los casos agudos. Esta característica la distingue de otras formas de MOD^{157,158}.

La población celular es similar inmunohistoquímicamente a la observada en la MEN¹⁵⁸. Los macrófagos CD163⁺ infiltran difusamente el tejido en la sustancia blanca¹³⁹. Se han detectado células histiocíticas MAC-387⁺ en mayor proporción en raza Yorkshire terrier en comparación con Bulldog francés¹⁰⁰.

La proteína ácida fibrilar glial también se expresa¹²⁴. La presencia de IFN- γ , es significativamente menor que en la MEN¹⁴⁰.

Los hallazgos histopatológicos se resumen en la Tabla 3

Tabla 3. Hallazgos histopatológicos en MOD.

	MEG	MEN	LEN
	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Forma focal: Desviación de la línea media, compresión de estructuras adyacentes, engrosamiento y decoloración amarilla- grisácea. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Áreas bilaterales multifocales asimétricas, necrosis y colapso sustancias blanca y gris de los hemisferios cerebrales con límites imposibles de distinguir, hidrocefalia. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Coloración grisácea con ausencia de formaciones quísticas en la forma aguda y lesiones multifocales necróticas y quísticas en la crónica. Hidrocefalia leve-moderada.
Macroscópico	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Lesiones crónicas: <ul style="list-style-type: none"> - Sustancia blanca cerebral >> gris y leptomeninges. - Sustancia blanca medular >> gris; columna ventral y lateral >> dorsal ▪ Lesiones agudas: lesiones vasculares en sustancia gris, leptomeninges y plexos coroideos. ▪ Tejido necrótico y cavitación: no 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Sustancia cerebral gris y blanca ▪ Tejido necrótico y cavitación: moderado 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Sustancia blanca ▪ Tejido necrótico y cavitación: extensas. Forma crónica

MOD: meningoencefalitis de origen desconocido; MEG: meningoencefalitis granulomatosa; MEN: meningoencefalitis necrotizante; LEN: leucoencefalitis necrotizante IL: interleuquina; IFN: interferón; PGFA: proteína ácida fibrilar glial.

	MEG	MEN	LEN
Microscópico	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Encefalitis granulomatosa angiocéntrica: manguitos perivasculares o linfocitos, macrófagos células plasmáticas en parénquima con hemorragias petequiales. ▪ Malacia: infrecuente. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Meningoencefalitis necrotizante no supurativa: infiltrados perivasculares y en parénquima de linfocitos y macrófagos con áreas extensas de necrosis focales ▪ Malacia: si 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Leucoencefalitis no supurativa: con múltiples focos de necrosis, cavitaciones una marcada astrogliosis. ▪ Malacia: si
Inmuno-histoquímica	<ul style="list-style-type: none"> ▪ IL-4 y IL-17: abundante ▪ IFN-γ: leve ▪ Lisozima: abundante ▪ PGFA: no ▪ CD3⁺: abundantes y asociados a MCH II. ▪ CD163⁺: vasos sanguíneos sustancia blanca cerebral. ▪ Antígenos clonales inmunoreactivos MAC-387⁺: abundantes; parénquima cerebral. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ IL-4 y IL-17: leve ▪ IFN-γ: abundante ▪ Lisozima: leve ▪ PGFA glial: abundante ▪ CD3⁺: moderados ▪ CD163⁺: infiltración difusa corteza cerebral. ▪ Antígenos clonales inmunoreactivos MAC-387⁺: moderados; meninges y vasos sanguíneos. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ IL-4 y IL-17: leve ▪ IFN-γ: leve ▪ Lisozima: leve ▪ PGFA glial: moderada ▪ CD3⁺: moderados ▪ CD163⁺: infiltración difusa sustancia blanca. ▪ Antígenos clonales inmunoreactivos MAC-387⁺: moderados; intralesionales

MOD: meningoencefalitis de origen desconocido; MEG: meningoencefalitis granulomatosa; MEN: meningoencefalitis necrotizante; LEN: leucoencefalitis necrotizante IL: interleuquina; IFN: interferón; PGFA: proteína ácida fibrilar glial.

3.3.2.5.4 Diagnóstico por imagen

- **MEG:** En las imágenes obtenidas por RM las lesiones aparecen iso o hipointensas en la secuencia T1 e hiperintensas en la secuencia T2, y pueden mostrar realce meníngeo o no. Generalmente, se observan lesiones multifocales, que, a menudo, incluyen el tronco encefálico. También puede observarse una lesión única claramente definida. Aunque histopatológicamente la MEG tiene predilección por la sustancia blanca, las

lesiones se pueden observar tanto en sustancia blanca como gris¹⁵⁹ y no está asociada a una topografía que la distinga, como sucede con la MEN o la LEN²⁴.

La afectación meníngea está documentada en la mayoría de los pacientes con MEG, y en ocasiones, es el único hallazgo en RM. No obstante, en un minoría de los pacientes, las lesiones pueden no captar contraste e, incluso, no evidenciar ningún tipo de lesión⁷³. En la forma ocular puede verse afectación de los nervios ópticos (isointensos en T1W) o del quiasma óptico¹⁴⁴.

En un estudio realizado en 11 pacientes caninos con MEG confirmados histopatológicamente sobre hallazgos observados en RM, las lesiones se localizaron en cerebro (8), cerebro y médula espinal (2) y médula espinal (1). Cuatro de ellos presentaron lesión focal y 6 multifocales. Sólo en uno de ellos no se observaron lesiones. Sin embargo, no se detectó realce meníngeo en T1W post contraste a pesar de que en 9 casos se confirmó la presencia histológica de alteración meníngea. Las lesiones en T2W y FLAIR en todos los casos fueron hiperintensas (coincidiendo con los estudios de *de Lahunta*), mientras que la intensidad de señal en T1W fue variable. Después de la administración de contraste paramagnético, algunas de las lesiones no captaron contraste, pero otras mostraron un marcado patrón de captación. En 10 de los 11 perros las lesiones fueron fácilmente identificables por RM, pero no pudieron considerarse específicas de esta enfermedad¹⁵⁹.

Aunque la técnica de diagnóstico por imagen de elección es la RM, el TC también puede contribuir al diagnóstico de la MEG. Las lesiones se observan hipodensas, con realce variable tras la aplicación de la sustancia de contraste⁷³.

En un estudio realizado en 5 perros con MOD sometidos a tomografía por emisión de positrones (PET-TC) se observó que, en los 2 perros que presentaban MEG, las lesiones inflamatorias granulomatosas estaban asociadas con un hipermetabolismo de glucosa. En los otros 3 perros, que presentaban MEN, las lesiones estaban asociadas a un estado hipometabólico, posiblemente derivado de las lesiones necróticas¹⁶⁰.

- **MEN:** Las lesiones suelen ser focales o multifocales asimétricas, engloban tanto sustancia gris como blanca de ambos hemisferios cerebrales y se superponen con las meninges. En la forma crónica, las lesiones primarias se caracterizan por necrosis con

edema cerebral severo secundario a la inflamación. La presencia de lesiones quísticas es infrecuente. Solo ocasionalmente se observa implicación del cerebelo y tronco encefálico es infrecuente, aunque hay casos descritos¹⁶¹.

Las lesiones en RM son iso o hipointensas en T₁, hiperintensas en T₂ y FLAIR; estas dos últimas secuencias son las más indicadas para identificar las lesiones. La MEN tiene hallazgos similares a la MEG, incluyendo desviación de la línea media, efecto masa y captación de contraste. La desviación de la línea media es un hallazgo frecuente en los tres tipos de MOD, por lo que se ha propuesto que este hallazgo podría ser la consecuencia de la combinación de una atrofia del hemisferio más pequeño y la presencia de edema dentro del hemisferio más grande¹⁶².

Otro hallazgo frecuentemente descrito en RM en pacientes con MEN es la dilatación del ventrículo lateral como consecuencia de un hidrocéfalo *ex vacuo* secundario a la pérdida de sustancia blanca. Este hallazgo debe valorarse con precaución en ciertas razas como el Pug en los que no hay estudios sobre el volumen ventricular normal y en los que se han encontrado asimetrías ventriculares como variantes anatómicas normales¹⁶³.

En aproximadamente la mitad o dos tercios de los pacientes las lesiones captan contraste, pero el realce es de mínimo a moderado y no uniforme. En el 50% de los pacientes se observa tampoco realce meníngeo evidente¹⁶¹.

Muchos de los hallazgos observados son comunes a la MEG (distribución multifocal en sustancia gris y blanca con predominio de sustancia blanca; captación de contraste variable, predilección prosencéfalica, edema perilesional y márgenes lesionales irregulares)¹⁵⁹; sólo el realce meníngeo, efecto masa y dilatación ventricular son más característicos de la MEN y muy poco frecuentes en la MEG¹⁶¹.

Aunque algunos estudios indican que la RM es sensible y específica para identificar lesiones intracraneales y clasificar la enfermedad en inflamatoria o neoplásica¹⁶⁴, publicaciones recientes han evidenciado que las lesiones hipointensas en T₁ e hiperintensas en T₂ asociadas a MEN son sólo características de alteraciones intracraneales, pero no permiten diferenciar lesiones neoplásicas de no neoplásicas¹⁶⁵.

El TC también puede contribuir al diagnóstico de la MEN. Pueden apreciarse lesiones hipodensas, con o sin realce tras la administración de contraste⁷³. En PET-TC se observa un hipometabolismo glúcido en las áreas de las lesiones¹⁶⁰.

- **LEN:** Entre sus hallazgos se han descrito lesiones múltiples, bilaterales y asimétricas, que afectan principalmente la sustancia blanca de los hemisferios cerebrales. Las lesiones pueden observarse en secuencias T1, T1 post-contraste y T2. Las regiones afectadas aparecen hipointensas o isointensas en T1, hiperintensas en T2, y con realce, normalmente periférico, no uniforme variable post-contraste (mínimo-medio). Las lesiones proporcionan imágenes características en las secuencias T1 y T2 con intensidad similar a la del LCR. Sin embargo, en las secuencias FLAIR permanecen hiperintensas, lo cual refleja que en su interior tienen un alto contenido proteico, si se lo compara con el nivel en LCR. También se han observado grados variables de ventriculomegalia^{73,166}.

Von Praun et al. encontraron una correlación entre el grado de captación de contraste y el grado de inflamación linfohistiocítica en el examen histopatológico de dos Yorkshire terrier con LEN¹⁶⁷. Pero, un artículo posterior demostró que las zonas necróticas (independientemente de la etiología) no pueden ser diferenciadas claramente del tejido viable basándose en las secuencias postcontraste¹⁶⁸.

En TC, las lesiones se observan iso o hipoatenuadas. Estas áreas hipoatenuadas representan las cavitaciones necróticas de la sustancia blanca. La captación de contraste suele ser de nula a moderada de manera no uniforme^{73,169}.

En un estudio realizado en un Yorkshire terrier sometido a PET-TC, las lesiones observadas mostraban un hipometabolismo multifocal o difuso. Las regiones de hipometabolismo glúcido correspondían con las áreas de necrosis y cavitación típicas de la LEN¹⁷⁰. Los hallazgos encontrados son similares a los descritos por Kang et al. en perros con MEN¹⁶⁰.

Los hallazgos de diagnóstico por imagen se resumen en la Tabla 4.

Tabla 4. Hallazgos de diagnóstico por imagen en MOD

	MEG	MEN	LEN
	<ul style="list-style-type: none"> ▪ T1: iso o hipointensas ▪ T2: hiperintensas ▪ FLAIR: hiperintensas ▪ Lesiones multifocales** y focal bien definida 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ T1: iso o hipointensas ▪ T2: hiperintensas ▪ FLAIR: hiperintensas ▪ Lesiones focales o multifocales simétricas 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ T1: iso o hipointensas ▪ T2: hiperintensas ▪ FLAIR: hiperintensas ▪ Lesiones multifocales bilaterales y simétricas
RM	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Efecto masa: infrecuente ▪ Sustancia gris y blanca ▪ Captación contraste: variable no uniforme ▪ Realce meníngeo: variable ▪ Lesiones quísticas: infrecuentes ▪ Diltación ventricular: infrecuente 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Efecto masa: frecuente ▪ Sustancia gris y blanca ▪ Captación contraste: 66% y no uniforme ▪ Realce meníngeo: 50% ▪ Lesiones quísticas: infrecuentes ▪ Diltación ventricular: frecuente 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Efecto masa: frecuente ▪ Sustancia blanca ▪ Captación contraste: periférico no uniforme ▪ Realce meníngeo: variable ▪ Lesiones quísticas: frecuentes ▪ Diltación ventrículo: variable
TC	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Lesiones hipodensas ▪ Captación contraste: variable 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Lesiones hipodensas ▪ Captación contraste: variable 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Lesiones hipodensas ▪ Captación contraste: variable
PET-TC	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hipermetabolismo glucosa 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hipometabolismo glucosa 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hipometabolismo glucosa

RM: resonancia magnética; TC: tomografía axial computerizada; PET-TC: tomografía emisión positrones; MOD: meningoencefalitis de origen desconocido; MEG: meningoencefalitis granulomatosa; MEN: meningoencefalitis necrotizante; LEN: leucoencefalitis necrotizante

3.3.2.5.5 Análisis de LCR en MOD

El análisis de LCR en pacientes con sospecha de MOD es una parte esencial del diagnóstico de estas patologías. Aunque la obtención de un diagnóstico definitivo basado exclusivamente en el LCR es infrecuente, su análisis, combinado con la información obtenida de la historia clínica, examen neurológico y otras pruebas diagnósticas, puede confirmar o rechazar un diagnóstico presuntivo.

Los cambios en el LCR son muy variables y no permiten diferenciar el subtipo específico de MOD. Además, hay que tener en cuenta que el recuento celular puede ser normal. En el estudio de *Granger et al.* se describieron LCR normales en el 16% de los casos con MEG, 12,5% en MEN y LEN y, en general, en el 22% de las MOD⁶⁰.

La concentración en proteínas puede ser muy variable, aunque, en la mayoría de los casos, se encuentra incrementada¹⁰¹. Según *Granger et al.*, la concentración media de proteínas (PT) suele ser de 70 mg/dl en los casos de la MEG, de 54 mg/dl en MEN y LEN y, en el conjunto de las MOD se encuentra en 68 mg/dl⁶⁰.

Los recuentos celulares, igual que las proteínas totales, tienen amplios rangos. Habitualmente, la pleocitosis es leve-moderada (RTCN < 100 cel/ μ l)¹⁴³ aunque en las LEN es frecuente encontrar pleocitosis moderadas-marcadas (RTCN 70-600 cel/ μ l)^{51,101,126}. El tipo de pleocitosis típica de las MOD es una pleocitosis linfocítica (71% de los casos, *Granger et al.*), aunque es frecuente encontrar pleocitosis mixtas, sobre todo en los casos de MEG¹⁰¹. En el meta-análisis de *Granger et al.*, los linfocitos eran la población predominante en el 42% de los casos de MEG, mientras que en las MEN y las LEN el porcentaje de monocitos y linfocitos era similar. Los neutrófilos fueron la población predominante en < 10% de los casos de cada grupo⁶⁰. En las pleocitosis mixtas es raro que los neutrófilos superen el 50% de la población⁵¹.

Se han evaluado otros tipos de análisis (no rutinarios) para el diagnóstico de las enfermedades inflamatorias del SNC, pero siguen sin ser específicos de enfermedad. La composición proteica ha sido analizada mediante técnicas de electroforesis semicuantitativas y puede ser de ayuda en la identificación de patologías inflamatorias, neoplásicas o degenerativas. En perros con MEG la electroforesis del LCR muestra un incremento en las β y γ globulinas^{46,49}. La detección de anticuerpos antiastrocitos en LCR es indicativa, normalmente, de un proceso inmunomediado y se han sugerido como posibles anticuerpos específicos en las MEG y LEN^{158,171}; sin embargo, también se han detectado en pacientes con tumores intracraneales y

en perros normales¹²³. Se han empleado la citometría de flujo y la inmunofenotipificación para identificar las células mononucleares en procesos inflamatorios del SNC¹⁷², pero estas técnicas requieren, al menos, 4 ml de muestra de LCR (salvo que sean muestras con pleocitosis muy marcada), por lo que no pueden establecerse como técnicas rutinarias¹⁰⁰.

3.3.2.5.6 Diagnóstico de MOD

El diagnóstico definitivo *antemortem* del tipo específico de MOD debe realizarse mediante biopsia cerebral y estudio histopatológico. Se han descrito técnicas mínimamente invasivas como la biopsia estereotáctica guiada por TC¹⁷³⁻¹⁷⁶ o RM¹⁷⁷, biopsia guiada por ecografía, TC¹⁷⁸ o RM¹⁷⁹ y biopsia guiada por endoscopia¹⁸⁰.

Un estudio realizado en 17 perros con encefalitis estimó que el diagnóstico definitivo *antemortem* de MEG, MEN o LEN por biopsia cerebral se alcanza en el 82% de los casos. En un 12% adicional se diagnosticaron encefalitis, pero sin poder confirmar la enfermedad específica. Las dificultades en el diagnóstico son consecuencia del tamaño de la muestra obtenida y el problema para poder distinguir entre los cambios de las lesiones primarias y secundarias como pueden ser edema y necrosis¹⁰⁰. Algunos artículos recomiendan realizar citologías intraoperatorias del fragmento que se pretende biopsiar con el fin de identificar esas áreas de necrosis y poder tomar la biopsia de la región más adecuada para proporcionar un diagnóstico más certero¹⁸¹.

Las complicaciones intraoperatorias fatales (muerte del paciente) son infrecuentes, pero la tasa de mortalidad postquirúrgica estimada fue del 6%. Se observó una morbilidad del 29%, incluyendo estupor, convulsiones, tetraparesia, hemiparesia, ataxia y pérdida de la propiocepción consciente. Estas complicaciones postquirúrgicas son la consecuencia de la propia hemorragia y edema posterior inducidos por la biopsia (igual que sucede en medicina humana). Los signos suelen aparecer de manera aguda y habitualmente pueden resolverse en 3-14 días¹⁷⁹.

Aunque el diagnóstico definitivo *antemortem* del tipo de encefalitis es importante para poder descartar otras patologías e intentar emitir un pronóstico, no se realiza de rutina. Los principales motivos son⁶⁰:

- Es una prueba invasiva con complicaciones intra y postoperatorias.
- Muchas lesiones no son accesibles para toma de biopsias.
- Las biopsias pueden no ser reflejo exacto de la enfermedad en todas las regiones de la misma lesión.
- Los medios y material necesarios para realizar estas biopsias mínimamente invasivas no están a disposición de la mayoría de los centros veterinarios.
- El desembolso económico por parte del propietario es muy elevado.

Como es muy complicado establecer con certeza el diagnóstico *in vivo* de cada una de las MOD y, teniendo en cuenta que su naturaleza es extremadamente heterogénea y que es muy difícil establecer criterios comunes para clasificarlas, se considera que la terminología correcta debe ser el genérico MOD, salvo que haya confirmación histopatológica que permita diagnosticar el subtipo específico. El diagnóstico presuntivo de MOD se realiza en base a las características del paciente, los hallazgos de la exploración neurológica, RM o TC y el análisis de LCR, siendo premisa haber descartado previamente los agentes infecciosos endémicos de la zona que pueden originar encefalitis infecciosas¹⁰⁰.

Sin embargo, ninguna de las características de los pacientes ni los resultados de las pruebas realizadas permiten establecer un diagnóstico definitivo de cada una de los tipos de MOD.

Granger et al. en el año 2010 realizaron un meta-análisis para elaborar una guía de diagnóstico presuntivo de MOD en ausencia de diagnóstico histopatológico. Este meta-análisis incluye una revisión sistemática de 457 casos publicados entre 1982 y 2008 con diagnóstico definitivo de MEG en 244 casos, de MEN + LEN en 138 casos y diagnóstico presuntivo de MOD en 59 perros. El objetivo fue separar subpoblaciones de perros con meningoencefalitis no infecciosa en función de las características clínicas solamente (con y sin diagnóstico histopatológico) para tratar de definir categorías homogéneas.

Los criterios de inclusión fueron:

- 1) Si no existe confirmación histopatológica deben poseer un registro de signos clínicos, neurolocalización mediante examen neurológico, análisis de LCR y hallazgos de RM o TC y poseer test negativos para enfermedades infecciosas.
- 2) Si existe confirmación histopatológica, tener, al menos, una de las categorías previamente descritas (signos clínicos, neurolocalización mediante examen neurológico, análisis de LCR y hallazgos de RM o TC).

Las principales conclusiones fueron⁶⁰ :

- *Razas*: en general, las MOD afectan con más frecuencia a las razas pequeñas.
 - Las MOD se describieron en: Chihuahua, West highland white terrier y Dachshund. Sin embargo, existen casos aislados en razas de gran tamaño como Labrador retriever, Boxer y Basset hound.
 - La MEG afectó, en orden de mayor a menor frecuencia, a Caniche miniatura, Maltés, Dachshund, West highland white terrier y Chihuahua.
 - Las MEN y LEN se identificaron en Pug, Yorkshire terrier, Maltés, Chihuahua y Shih tzu.

- *Edad*: aunque afectan a animales de mediana edad, se hallaron diferencias significativas en la distribución por edad de los perros enfermos. Las MEN y LEN afectaron predominantemente a animales menores de 4 años (edad media: 18 meses), mientras que las MEG se diagnostican en pacientes con edades superiores, entre los 4 y 8 años de edad.

- *Sexo*: no se observaron diferencias estadísticamente significativas en el índice macho:hembra.

- *Neurolocalización*: los casos de MEG presentan por igual signos supratentoriales, troncales o multifocales; solo el 8% de los pacientes manifiestan signos sugerentes de mielopatía. En las MEN y LEN predominan los signos supratentoriales (77%), mientras que los signos multifocales y de tronco encefálico son infrecuentes (14 y 8%, respectivamente). Los perros sin confirmación histopatológica presentan un mayor porcentaje de signos multifocales (40%) y, menos comúnmente, sólo signos supratentoriales (18%).

- *Análisis de LCR*: los resultados del análisis del LCR son extremadamente variables y señalan muy pocas diferencias entre los 3 subtipos. Como se ha indicado previamente, la probabilidad de que el análisis del LCR sea normal en las MOD es del 22%. Los valores promedios de concentración de proteínas son semejantes, con un rango de 54 a 70 mg/dl.

- *Diagnóstico por imagen:* las secuencias de RM más útiles para tratar de diferenciar los subtipos son las T2. La RM tiene una sensibilidad menor 60% en las MEG y en MOD, debido a que no es capaz de identificar todas las lesiones. Los hallazgos más frecuentes encontrados son lesiones hiperintensas en secuencia T2 (93%) y realce variable en T1 post-contraste (69%). La sensibilidad resulta mucho más alta para las MEN y las LEN en las que los hallazgos más usuales son lesiones corticales quísticas multifocales y asimétricas, hipointensas en secuencia T1 e hiperintensas en T2.
- *Indicadores pronóstico:* son muy variables entre los artículos incluidos en el meta-análisis. Algunos autores sugieren que los pacientes que presentan signos focales sobreviven más que los que tienen signos multifocales o focales de tronco encefálico, pero no todos coinciden en esta afirmación. El indicador pronóstico negativo común en la mayoría de los artículos consultados en este meta-análisis es la presencia de convulsiones y, sobre todo, estatus epiléptico.
- *Causas de muerte:* en el caso de la MEG, el 15% de los pacientes fallecen antes de iniciar el tratamiento. Se observa un marcado cambio en el patrón de mortalidad a partir del año 1992. Previo a este año, el 88% de los perros eran eutanasiados y el resto fallecía espontáneamente. A partir del año 1992, el porcentaje de eutanasia descendió al 70%, posiblemente derivado del mayor conocimiento de las MOD y de que se instauran tratamientos más agresivos y eficaces.

Las conclusiones derivadas de este estudio constituyen una guía para el estudio de MOD en ausencia de confirmación histopatológica, que describe⁶⁰:

1. Los casos de MOD deberían diagnosticarse en pacientes mayores de 6 meses con evidencia de enfermedad de SNC demostrada por:
 - a. Sospecha de lesiones multifocales o difusas en la exploración neurológica y lesiones hiperintensas aisladas o difusas intra-axiales en secuencias T2 en RM.
 - b. O por la sospecha de una lesión focal en la exploración neurológica y lesiones múltiples o difusas intra-axiales en secuencias T2 en RM.
2. El LCR debe ser hipercelular con un porcentaje de mononucleares > 50% (monocitos y linfocitos).
3. Las enfermedades infecciosas tienen que haber sido descartadas.

4. Los perros con LCR con predominio de neutrófilos o eosinófilos deberían ser excluidos.
5. Los perros con sospecha de MOD solo con afectación medular deberían ser excluidos. En el momento de publicación de este meta-análisis, no existían los datos suficientes para poder atribuir signos exclusivos medulares a una MOD en vez de a otras causas de mielopatías.
6. Los perros de razas Pugs, Yorkshire terrier, Bichón maltés, Shih-tzu y Chihuahuas con RM con lesiones quísticas multifocales asimétricas, hipointensas en T1 deberían ser excluidos (forma crónica de MEN).
7. Pugs con convulsiones y RM que mostraron regiones de hiperintensidad en T2 y pérdida de la demarcación entre sustancia gris y blanca compatibles con edema en ambas sustancia deberían ser excluidos (casos agudos de MEN).
8. Casos de neuritis óptica sin ningún otro tipo de déficit neurológico y análisis de LCR y RM normal también deberían ser excluidos.

3.3.2.5.7 Tratamiento de las MOD

No se han realizado hasta el momento estudios con la extensión temporal y la cantidad de animales suficientes como para recomendar un tratamiento *gold-standar* para las MOD.

Antes de instaurar un tratamiento específico, debe estabilizarse al paciente, si procede, mediante administración de oxígeno, fluidos cristaloides o coloides para mantener la presión de perfusión cerebral y controlar la hipotensión, así como emplear terapia osmótica (manitol, suero hipertónico salino) en casos de aumento de PIC. Si el paciente presenta convulsiones deben ser tratadas¹⁸².

La inmunosupresión es la base del tratamiento de las MOD, a pesar de no estar claros los mecanismos fisiopatológicos ni las causas desencadenantes. El objetivo de la inmunosupresión en enfermedades autoinmunes es inducir la remisión del proceso, al inhibir la inflamación o modular la función de los linfocitos, con los mínimos efectos secundarios posibles¹⁸³.

Tradicionalmente, el tratamiento de las MOD se ha basado en la utilización de glucocorticoides (prednisona/prednisolona, fundamentalmente) en el rango comprendido entre dosis antiinflamatorias (prednisona, 0,5-1 mg/kg/día) y dosis inmunosupresoras

(prednisona, 2-4 mg/kg/día)¹⁰¹. La dosificación (extrapolada del tratamiento de cualquier enfermedad autoinmune) es similar en todos los artículos, pero la duración del tratamiento varía de unos a otros (su posología, efectos secundarios y tiempo medio de supervivencia se resumen en la Tabla 5).

El éxito y los tiempos de supervivencia descritos son muy variables y dependen mucho de la gravedad del cuadro clínico en el momento de inicio del tratamiento. El tiempo de supervivencia media en los perros tratados solamente con prednisona varía notablemente en función del estudio, con un rango de 28 a 357 días. En general la supervivencia media descrita en la mayoría de los estudios que combinan corticoides con otro protocolo inmunosupresor es notablemente mayor, alcanzando los 240-590 días. Esta esperanza de vida es similar, independientemente del protocolo combinado usado⁶⁰.

En protocolos combinados, los glucocorticoides se pueden asociar a los siguientes fármacos: (sus posologías, efectos secundarios y tiempo medio de supervivencia se resumen en la Tabla 5)

- **Ciclosporina:** es un polipéptido lipofílico, usado primariamente para inhibir el rechazo de órganos post-trasplante¹⁸⁴. La esperanza de vida media en este protocolo combinado oscila entre 240-930 días en función del artículo. En un estudio en 3 perros, los signos clínicos en dos de ellos, con diagnóstico presuntivo de MEG diseminada, fueron controlados durante más de 360 días¹⁸⁵. Otro estudio que combinó prednisona, ciclosporina y ketoconazol se asoció a un tiempo medio de supervivencia de 930 días. El ketoconazol, en esos casos, se utilizó para disminuir la depuración renal de ciclosporina por su efecto en la inhibición del sistema hepático microsomal citocromo P450¹⁸⁶.
- **Arabinósido de citosina:** agente antineoplásico que atraviesa la BHE e impide la síntesis de ADN por inhibición de la ADN polimerasa durante la fase S del ciclo celular. Sus mayores ventajas respecto a otros fármacos inmunosupresores son su escasa toxicidad, su bajo coste y que no requiere una administración diaria (inicialmente cada 3 semanas)¹⁸⁷. El arabinósido de citosina se puede administrar vía intravenosa o subcutánea. El beneficio del uso de una u otra vía depende del artículo consultado. El uso subcutáneo está más extendido por su comodidad y avalado por estudios que demuestran que esta vía produce una absorción lenta y prolongada del fármaco, la

cual es necesaria para maximizar sus efectos en la rápida división celular. Sin embargo, los datos farmacocinéticos revelan una rápida absorción y descenso en su concentración plasmática vía subcutánea, mientras que su empleo intravenoso mantiene las concentraciones plasmáticas citotóxicas estables más tiempo^{188,189}. Sólo se ha descrito un caso de efectos secundarios severos en un Yorkshire terrier que sufrió una insuficiencia respiratoria aguda durante la administración del cuarto ciclo de administración de citarabina intravenosa resultando en la eutanasia humanitaria del paciente¹⁹⁰. La esperanza media de vida con este protocolo varía de 335-531 días.

- **Procarbacin:** potente agente alquilante liposoluble antineoplásico que atraviesa la BHE. Se desconoce el mecanismo exacto de su citotoxicidad, pero se supone que altera principalmente la síntesis de proteínas, ADN y ARN. Sus efectos adversos son frecuentes y pueden ser severos, por lo que no se considera que este protocolo sea beneficioso, ya que no prolonga significativamente el tiempo de supervivencia (425 días)¹⁹¹.

- **Leflunomida:** fármaco inmunomodulador que inhibe la proliferación autoinmune de los linfocitos T así como la producción de anticuerpos de los linfocitos B. Los efectos secundarios son poco frecuentes¹⁹². Ha sido utilizada en 3 perros con lesiones cerebrales inflamatorias o malácicas, después de obtener la resolución parcial o completa de signos clínicos utilizando glucocorticoides. Los 3 pacientes sobrevivieron más de 12 meses después de haber comenzado el tratamiento combinado¹⁹³.

- **Micofenolato de mofetilo:** profármaco que inhibe de manera no competitiva, pero reversible, la inosina monofosfato dehidrogenasa, que limita la velocidad de la síntesis *de novo* del nucleótido guanósina. Los efectos adversos gastrointestinales son frecuentes¹⁸³. El tiempo de supervivencia medio varía de 118-250 días. Su presentación intravenosa es una muy buena opción en casos de alteraciones neurológicas severas y del estado mental en las que la vía oral no es una opción viable^{194,195}.

- **Azatioprina:** antagoniza el metabolismo de las purinas al inhibir la síntesis de ARN, ADN y la mitosis. La respuesta clínica requiere hasta 6 semanas, por lo que no es una opción inicial en perros con grave compromiso neurológico. Se ha asociado a un tiempo medio de supervivencia de 1834 días¹⁹⁶.
- **Lomustina (CCNU):** es un fármaco antineoplásico con potentes propiedades inmunosupresoras que atraviesa fácilmente la BHE y alquila tanto el ADN como el ARN. Los efectos secundarios son frecuentes¹⁰¹. Dos referencias han mostrado una mayor tasa de supervivencia cuando se combina con prednisona (287 días)^{197,198}. Sin embargo, en un artículo reciente, tanto la eficacia de la prednisona en monoterapia como en combinación con la CCNU era similar¹⁹⁹. Son necesarios más estudios para evaluar adecuadamente su uso.
- **Ciclofosfamida + Vincristina:** combinados con la prednisona constituyen el protocolo COP (usado en oncología). Hay escasas referencias sobre su empleo en MOD, sin que se haya demostrado que su empleo mejore los resultados de la prednisona en monoterapia (198 días); además, no es concluyente si con este protocolo la esperanza de vida es mayor que sólo con prednisona. No obstante, son necesarios más estudios²⁰⁰.
- **Radioterapia:** su empleo se basa en las cualidades aparentemente neoplásicas de los tipos celulares encontrados en las lesiones de las MOD^{59,119}. Inicialmente se usó como terapia adyuvante en casos de MEG focal²⁰¹. Recientemente se ha descrito su uso también en formas multifocales²⁰². En este último estudio se irradiaron 3 perros con lesiones focales y 3 con la forma multifocal; todos los pacientes se trataron conjuntamente con prednisona. No se observaron efectos adversos destacables. La esperanza media de vida fue de 476 días. Las principales limitaciones de esta técnica son el elevado coste económico y la necesidad de anestesia general para poder irradiar al pacientes (en este estudio 14 sesiones). Son necesarios más estudios (a largo plazo y con mayor cantidad de animales) acerca del uso de la radioterapia y su combinación con otros fármacos a fin de determinar el protocolo óptimo de tratamiento.

- **Células madre:** son conocidos sus efectos inmunomoduladores y antiinflamatorios. En un estudio reciente emplearon células madre mesenquimales autólogas en 8 perros con MOD con lesiones multifocales en los cuales los tratamientos previos no habían sido eficaces o mostraron efectos adversos severos. En tres de ellos se administraron células madre conjuntamente intratecales e intraarteriales (arteria carótida derecha), en otros 4 se administraron intratecales e intravenosas, el último perro se trató dos veces con un intervalo de 13 meses (primero intratecal+intravenoso y después intratecal+intraarterial). En todos los perros se mantuvo el corticoide. En el grupo intratecal+intraarterial, la mejoría de los signos clínicos (especialmente la hiperestesia cervical) se observó a los 5 días, mientras que en el otro grupo se detectó a los 15. Sólo un perro mostro hipertermia sin relevancia clínica a las 24 h de la administración. La esperanza media de vida fue de 705 días. Aunque los resultados de este estudio preliminar son esperanzadores, son necesarias más investigaciones²⁰³.

La elección de uno u otro protocolo depende de numerosos factores (alguno de ellos no puramente clínicos):

- Centro de trabajo: cada equipo de trabajo en cada centro suele tener unos protocolos establecidos de tratamiento con los que está adaptado a trabajar.
- Disponibilidad de los fármacos.
- Factores económicos: aunque la mayoría de las razas afectadas son de raza pequeña/media, algunos de los fármacos empleados suponen un gran desembolso económico que limita su uso.
- Efectos secundarios esperados.
- Presencia de patologías concomitantes.
- Gravedad de los signos clínicos: p.ej, en un paciente en coma los protocolos vía oral no son viables; la azatioprina tarda en ser efectiva 7-14 días demorando una respuesta precoz si es necesaria.

En general, las combinaciones más frecuentemente empleadas en el tratamiento de las MOD son prednisona con ciclosporina o arabinósido de citosina o azatioprina, puesto que son fármacos fáciles de conseguir y de administrar, con pocos efectos secundarios, económicos (excepto la ciclosporina) y con buena tasa de supervivencia media.

Tabla 5. Fármacos empleados en el tratamiento de la MOD. Posología, efectos secundarios y tiempo medio de supervivencia.

Fármaco	Dosificación	Efectos secundarios	TMS (d)
Arabinósido de citosina 200,204-209	50 mg/m ² /12h SC 2 días consecutivos SC o 100- 200 mg/m ² en CRI en 8 horas Se realizan 4 ciclos cada 3 semanas y posteriormente se espacian una semana cada ronda de ciclos hasta un máximo de intervalo de 6-8 sem. ▪ Dosis de urgencia: CRI 400-600 mg/m ²	Infrecuentes. Mielosupresión, anafilaxia, hepatotoxicidad, alteraciones gastrointestinales, pérdida de pelo.	335-531
Azatioprina 196	2 mg/kg/24h PO 2 sem, posteriormente 2 mg/kg/48h indefinido	Frecuentes: mielosupresión (anemia, trombocitopenia), pérdida de pelo, signos gastrointestinales, hepatotoxicidad. Infrecuentes: diabetes mellitus, queratoconjuntivitis seca, pancreatitis, carcinogénesis (demostrada en humanos)	1834
Células madre 203		Infrecuentes	705
Ciclofosfamida + vincristina + prednisona (protocolo COP) 200	* Ciclofosfamida (PO): 50 mg/m ² /48h 8 sem; luego semanas alternas * Vincristina (IV): 0,5 mg/m ² /7 días 8 sem; luego cada 14 días * Prednisona (PO): 40 mg/m ² /24h 7 días; 20 mg/m ² /48h 7 sem; 20mg/m ² /48h sem alternas	Frecuentes: signos gastrointestinales, mielosupresión, cistitis hemorrágica	198
Ciclosporina 185,186,196,210,211	3-15 mg/kg/12h PO <i>Uso conjunto con ketoconazol (8mg/kg/24h PO): 5-12 mg/kg/24h PO.</i> Niveles terapéuticos: 200- 400 ng/ml	Poco frecuentes. Signos gastrointestinales leves asociados al momento de ingestión, hiperplasia gingival, infecciones oportunistas, hepatotoxicidad, hiperglucemia, desórdenes linfoproliferativos, complicaciones tromboembólicas	240-930

PO: vía oral; SC: subcutáneo; CRI: infusión ritmo constante; IV: intravenoso; TMS: tiempo medio de supervivencia (días).

Tabla 5 cont. Fármacos empleados en el tratamiento de la MOD. Posología, efectos secundarios y tiempo medio de supervivencia.

Fármaco	Dosificación	Efectos secundarios	TMS (d)
Leflunomida ¹⁹³	2,5-3,5 mg/kg/24h PO de 1- 6 sem Niveles terapéuticos: 20- 40 µg/ml	Poco frecuentes. Anorexia, letargia, anemia moderada, hematemesis y melena.	365
Lomustina ¹⁹⁷⁻¹⁹⁹	60 mg/m ² PO cada 6 sem	Frecuentes: mielosupresión (neutropenia), vómitos, diarrea, hepatotoxicidad.	287
Micofenolato de mofetilo ^{194,195}	10-20 mg/kg/12h PO 1 mes (5 mg/kg/12h PO si efectos adversos). Posteriormente 5-10 mg/kg/12h Posibilidad de administración IV.	Frecuentes: Vómitos, diarrea (frecuentes) letargia, pérdida de peso, linfopenia	118-250
Prednisona ^{101,208}	Inicio: 1-2 mg/kg/12h PO 3-4 sem. Posteriormente reducción: <ul style="list-style-type: none"> ▪ 0,5-1 mg/kg/12h PO 6 sem ▪ 0,25-0,5 mg/kg/12h PO 3-6 sem ▪ 0,25- 0,5 mg/kg/24h PO 3-6 sem ▪ 0,25 mg/kg/48h PO 3-6 sem 0,25mg/kg/ 72h PO indefinidamente o reducir hasta la mínima dosis efectiva o suspender en función de los hallazgos de RMN y LCR en los controles.	Frecuentes. Hiperadrenocorticismo iatrogénico (poliuria, polidipsia, polifagia, incremento de peso y jadeo frecuentes), diabetes mellitus, hepatopatía esteoroidea, atrofia muscular, retraso cicatrización, infecciones oportunistas (orina), cambios de comportamiento, vómitos, diarrea, ulceración gástrica.	28-357
Procarbacia ¹⁹¹	25-50 mg/m ² /24h PO	Frecuentes. Mielosupresión (trombocitopenia y neutropenia), nauseas, vómitos, gastroenteritis hemorrágica, hepatotoxicidad, neurotoxicidad (parestesia, neuropatía, coma)	425
Radioterapia ^{201,202}		No descritos	476

PO: vía oral; SC: subcutáneo; CRI: infusión ritmo constante; IV: intravenoso; TMS: tiempo medio de supervivencia (días).

3.3.2.5.8 Pronóstico en las MOD

En medicina, el pronóstico de una enfermedad es el conjunto de datos que posee la ciencia médica sobre la probabilidad de que ocurran determinadas situaciones en el transcurso del tiempo o historia natural de la enfermedad, basada en el conocimiento de las regularidades del curso de los procesos patológicos²¹².

Es importante diferenciar entre factores pronóstico y factores predictivos puesto que muchas veces se confunden. Los factores pronósticos se pueden definir como una característica clínica o biológica de la enfermedad que correlaciona la supervivencia global o el tiempo libre de enfermedad, e informan de la evolución, idealmente, en ausencia de tratamiento. Los factores pronósticos no proporcionan información del posible beneficio terapéutico de un paciente ante un tratamiento determinado.

Los factores predictivos se definen como una característica clínica o biológica de las células afectadas que se correlaciona con la respuesta a un determinado tratamiento y proporciona información acerca de la eficacia del mismo, sin importar la evolución clínica de la enfermedad.

Un factor pronóstico adecuado es aquel que permite seleccionar qué pacientes no precisan tratamiento debido a un pronóstico favorable, mientras que un factor predictivo adecuado es aquel que identifica, entre los pacientes que precisan tratamiento, cuáles responderán mejor al mismo²¹³.

En el caso de las MOD los escasos estudios que incluyen factores pronóstico aportan información contradictoria. Posiblemente esto sea debido a:

- ✓ Heterogenicidad de la enfermedad.
- ✓ Tamaño muestral habitualmente pequeño.
- ✓ Ausencia de un diagnóstico exacto en la mayoría de los casos por la limitación que supone la confirmación histopatológica de los distintos subtipos. Muchos trabajos presentan resultados sesgados hacia mal pronóstico, ya que el diagnóstico exacto *antemortem* es infrecuente y la confirmación solo se consigue en los pacientes que fallecen y en los que se consigue un diagnóstico definitivo *post mortem*. Por otro lado, no se puede descartar que si un paciente fallece y no hay confirmación histopatológica de la enfermedad no esté incluido en los estudios. También hay que

tener en cuenta el sesgo contrario: al haber sólo confirmación histopatológica de la enfermedad en los fallecidos, es posible que algunos de los pacientes incluidos en los estudios como posible MOD sin confirmación histopatológica, realmente no lo sean.

- ✓ Variabilidad de los tratamientos.
- ✓ Falta de grupo control sin tratamiento en los estudios: el hecho de no administrar tratamiento a los pacientes con sospecha de MOD no es posible desde el punto de vista ético, ya que no tratarlos supone riesgo de muerte evidente.

Por todo lo expuesto, los indicadores pronóstico y los efectos del tratamiento en las MOD no están bien caracterizados. Se exponen, por orden cronológico hasta la fecha, los artículos publicados que reflejan, de alguna forma, factores pronóstico y/o predictivos en perros con MOD:

- 1998. *Muñana & Luttgen*. Fue el primer estudio sobre factores pronósticos. Se analizaron 42 casos diagnosticados y tratados de MEG entre los años 1982-1996. Los tiempos de supervivencia oscilaban de 1 a >1215 días. Los pacientes con la forma multifocal presentaron una supervivencia muy baja (media de 8 días). Los pacientes que sobrevivieron más tiempo (114 días de media) presentaban signos clínicos focales, neurolocalización focal y en tratamiento con radioterapia, por lo que concluyeron que estos tres hallazgos eran los únicos a considerar como factores pronósticos positivos⁵⁹.
- 1999. *Bateman & Parent*. Publicaron un artículo que analizaba los hallazgos clínicos, tratamiento y el pronóstico en 156 pacientes en estatus epiléptico o crisis en racha, concluyendo que en los pacientes en los que la etiología era MEG el pronóstico era peor²¹⁴.
- 2006. *Von Praud et al.* Describieron los hallazgos clínicos, de análisis de LCR, RM e histopatológicos en dos Yorkshire terrier con LEN y determinaron que la captación de contraste no es indicador pronóstico¹⁶⁷.
- 2007. *Coates et al.* Estudiaron la procarbazona como terapia coadyuvante en 21 perros con sospecha de MEG, y concluyeron que la combinación de procarbazona con prednisona mejora la supervivencia a largo plazo comparándolo con los pacientes

tratados solo con glucocorticoides. Además, observaron que los pacientes con alteración del estado mental y convulsiones tenían peor pronóstico y que los pacientes no tratados fallecían antes (hallazgos similares a los encontrados en el estudio de *Bateman & Parent*); sin embargo, en contraposición al estudio de *Muñana & Luttgen*, no encontraron una mayor supervivencia en lesiones focales prosencefálicas. En este estudio ni la concentración de proteínas ni el RTCN en el LCR constituyeron factores pronóstico que influyeran en el tiempo de supervivencia¹⁹¹.

- 2008. *Levine et al.* Realizaron un estudio epidemiológico en 60 Pugs con MEN. Sólo la administración de medicación antiepiléptica (y no la administración de fármacos inmunosupresores) proporcionó un mayor tiempo de supervivencia. Este hecho posiblemente sea debido a la actividad neuroprotectora de estos fármacos y, sobre todo, al hecho de que los propietarios, al observar una mayor la calidad de vida en los perros tratados (por la disminución en la frecuencia de las crisis), fueron postponiendo la decisión de eutanasia. Los autores exponen que puede existir un “falso mal pronóstico” en perros que presentan convulsiones y los propietarios deciden realizar la eutanasia humanitaria sin iniciar ninguna terapia¹³¹.
- 2008. *Meanut et al.* Estudiaron la combinación de glucocorticoides con arabinósido de citosina en el tratamiento de 11 pacientes con MOD y concluyeron que este protocolo incrementa el tiempo de supervivencia²⁰⁶.
- 2009. *Smith et al.* Compararon dos protocolos de tratamiento en 19 perros con MOD: COP en 10 pacientes y glucocorticoides + arabinósido de citosina en 9. Observaron que los pacientes que superan el primer mes generalmente sobreviven, al menos, un año y que los animales que sobreviven más de un año suelen prolongarlo hasta 2-3 años. Por tanto, concluyeron que los animales que sobreviven el primer mes podrían tener una mayor esperanza de vida a largo plazo²⁰⁰.
- 2009. *Young et al.* Estudiaron los hallazgos característicos de RM en 80 Pugs con MEN. Corroboraron, al igual que el estudio de *Von Praud et al.*, que la captación de contraste no es indicador pronóstico¹⁶¹.

- 2010. *Granger et al.* Este meta-análisis reveló que el 15% de los pacientes fallecen antes de iniciar el tratamiento y que el indicador pronóstico negativo común en la mayoría de los artículos era la presencia de convulsiones y, sobre todo, el estatus epiléptico⁶⁰.
- 2013. *Lowrie et al.* Realizaron un estudio retrospectivo en 39 casos con MOD tratados con glucocorticoides y arabinósido de citosina y analizaron los hallazgos de RM y análisis de LCR como marcadores pronóstico en mortalidad, recaída y resultados a largo plazo. El diagnóstico presuntivo de los pacientes con MOD se realizó siguiendo la guía de *Granger et al.* y se excluyeron animales previamente tratados con glucocorticoides. Se descartaron las enfermedades infecciosas endémicas y Neosporosis mediante serología en todos los pacientes. Las RM y extracción de LCR se efectuaron en el momento del diagnóstico y a los 3 meses post tratamiento; cuando fue posible repitieron estas pruebas diagnósticas a los 12 meses. El análisis de LCR se clasificó en normal o alterado. Los hallazgos de RM a estudio fueron la presencia o no de:
 - captación de contraste
 - pérdida de surcos cerebrales
 - herniación a través de foramen magno
 - herniación transtentorial
 - lesiones focales o multifocales
 - efecto masa
 - compromiso de la fosa rostral
 - compromiso de la fosa caudal

Los resultados obtenidos fueron:

- ✓ El efecto masa estaba asociado con una mayor mortalidad.
- ✓ La pérdida de surcos cerebrales y la herniación a través de foramen magno incrementaban el riesgo relativo de muerte (2.7 y 4.6, respectivamente) en los primeros tres meses del diagnóstico.
- ✓ Los dos hallazgos anteriores se relacionaron con un peor pronóstico en pacientes que, además, presentaban aumento de PIC.

- ✓ No encontraron un peor pronóstico asociado a captación de contraste (igual que *Von Praud et al.*, y *Young et al.*).
 - ✓ Los resultados respecto a la presencia de lesiones focales vs multifocales no fueron significativos.
 - ✓ No encontraron mejor pronóstico en pacientes con ausencia de convulsiones (a diferencia de los estudios de *Bateman & Parent* y *Coates et al.*) ni con signos focales (en contraposición a *Muñana & Luttgen*).
 - ✓ Los pacientes que sobrevivieron los tres primeros meses presentaron mejor pronóstico y mayor esperanza de vida (aunque con resultados de variables). Este hallazgo es similar al encontrado por *Smith et al.*
 - ✓ La ausencia de alteraciones en RMN y la presencia de LCR anormal a los tres meses post-tratamiento están asociados a una mayor incidencia de recaída.
 - ✓ La discontinuidad del tratamiento sin estar resueltas las lesiones observadas en RM siempre conduce a una recaída de la enfermedad.
 - ✓ Los pacientes con alteraciones en RM y LCR presentaron un peor pronóstico²⁰⁸.
- 2015. *Zarfoss et al.* Estudiaron la combinación de glucocorticoides y arabinósido de citosina en 10 pacientes con MOD. Sus resultados sugieren que las alteraciones en el LCR no son indicadoras de pronóstico ni reflejan la progresión de la enfermedad²⁰⁵.
 - 2016. *Cornelis^{a)} et al.* Analizaron la presentación, hallazgos diagnósticos y supervivencia a largo plazo en perros de raza grande con MOD y los compararon con los encontrados en razas pequeñas/medianas. Incluyen un total de 111 pacientes (de los cuales solo 6 tenían confirmación histopatológica MOD), 28 de raza grande (> 15 kg) y 83 de raza pequeña/ mediana (< 15 kg), tratados con glucocorticoides ± arabinósido de citosina (80% de los casos en razas pequeñas, 18% en grandes). No se descartó enfermedad infecciosa en el 30% de los pacientes. Las variables a estudio fueron:
 - Reseña: edad, sexo.
 - Duración de los signos clínicos antes del diagnóstico.
 - Signos clínicos: presencia de ataques o estatus epiléptico.

- Neurolocalización: encéfalo, tronco encefálico, vestibular central, alteración estado mental.
- Analítica sanguínea: recuento de glóbulos blancos, neutrófilos, linfocitos.
- Gasometría venosa: lactato
- Análisis de LCR: RTCN, proteínas totales.
- Hallazgos de RM: lesiones focales, lesiones multifocales, lesiones difusas, lesiones en cerebro, lesiones en tronco encefálico, lesiones cerebelares, efecto masa, herniación cerebral, herniación transtentorial caudal, herniación foramen magno, desplazamiento de la línea media, pérdida de surcos y giros cerebrales.

Los resultados obtenidos mostraron que los perros de raza grande tienen más predisposición a padecer alteración del estado mental, aunque no existen diferencias significativas en el tiempo medio de supervivencia entre ambos grupos (281 días en razas pequeñas vs 106 días en grandes) y concluyen que, en ambos casos, el pronóstico es reservado²¹⁵.

- 2016. *Cornelis^{b)} et al.* Este grupo de trabajo volvió a analizar los factores pronósticos en 116 perros con MOD, pero restringidos a una semana de supervivencia después del diagnóstico. Los criterios de inclusión de este estudio difieren de los convencionales puesto que no incluía el descarte de enfermedades infecciosas. Se excluyeron del estudio los pacientes con análisis de LCR y/o hallazgos de RM normales. Los protocolos de tratamiento no estaban estandarizados y algunos pacientes recibieron medicación adicional como manitol o fármacos antiepilépticos; muchos pacientes ya habían recibido tratamiento previo al diagnóstico.

Incluyeron las mismas variables que en el anterior estudio y sumaron en cada una de ellas:

- Reseña: peso corporal.
- Neurolocalización: estupor.
- Analítica sanguínea: linfopenia.
- Gasometría venosa: glucosa.
- Análisis de LCR: no realizado por incremento de PIC, porcentaje de linfocitos, porcentaje de neutrófilos, porcentaje monocitos/macrófagos.
- Hallazgos de RM: realce meníngeo post-contraste, realce en parénquima.

Y analizaron nuevas variables:

- Tratamiento previo con glucocorticoides antes del diagnóstico.
- Tratamiento: dexametasona, prednisolona, arabinósido de citosina (intrevenoso vs subcutáneo) y manitol.
- Mejoría después del tratamiento.
- Tiempo de demora (horas) desde el diagnóstico hasta el inicio del tratamiento con corticoides.

En el análisis univariable se observó que las variables asociadas a un peor pronóstico eran: peso corporal alto, signos clínicos recientes previos al diagnóstico, disminución del estado mental, presencia de convulsiones o estatus epiléptico, incremento de las concentraciones sanguíneas de lactato en gasometría venosa, incremento en el RTCN en el LCR, mayor porcentaje de neutrófilos en LCR, administración de dexametasona intravenosa y no administración de arabinósido de citosina (con peores resultados si se administraba de forma intravenosa).

Sin embargo, en el análisis de multivariadas, solo se identificaron 3 variables significativamente relacionadas con peor pronóstico: disminución del estado mental en el momento del diagnóstico (coincidiendo con *Coates et al.*), presencia de ataques (como *Bateman & Parent* y *Coates et al.*) y aumento en el porcentaje de neutrófilos en el análisis de LCR (opuesto a lo descrito por *Zarfoss et al.* y *Coates et al.*). También concluyeron que, a pesar de iniciar el tratamiento precozmente, alrededor del 25% de los pacientes fallecían en la primera semana después del diagnóstico²¹⁶.

- 2016. *Oliphant et al.* Realizaron un estudio retrospectivo de cohorte en 52 perros con sospecha de MOD valorando la supervivencia en función del desplazamiento de la línea media en la RM. Sus resultados mostraron que desplazamientos de la línea media de 0,04-0,3 cm no están asociados con una menor supervivencia. Encontraron una tendencia a una menor supervivencia en los perros con recuentos celulares elevados en LCR²¹⁷.

Los distintos estudios relacionados con factores pronósticos se resumen en la Tabla 6.

Tabla 6. Resumen de los principales estudios relacionados con factores pronósticos

VARIABLES		Muñana & Luttgen (1998)	Bateman & Parent (1999)	Von Praud et al. (2006)	Coates et al. (2007)	Levine et al. (2008)	Meanut et al. (2008)	Smith et al. (2008)	Young et al. (2009)	Granger et al. (2010)	Lowrie et al. (2013)	Zarfoss et al. (2015)	Cornelis et al. (2016)	Corneliset al. ^b (2016)	Oliphant et al. (2016)
Pronóstico negativo	Convulsiones- estatus epiléptico		✓		✓					✓	x		x	✓	
	Alteración estado mental				✓								✓	✓	
	Signos multifocales	✓			x						x		x	x	
	RM: efecto masa- desviación línea media										✓		x	x	x
	RM: pérdida surcos cerebrales										✓		x	x	
	RM: captación contraste			x					x		x		x	x	
	RM: herniación foramen magno										✓		x	x	
	RM: aumento PIC				x						✓		x	x	
	LCR anormal (aumento de RTCN)				x						x	x	x	✓	✓
	LCR incremento neutrófilos												x	✓	
	LCR: aumento de proteínas					x						x	x	x	
	LCR anormal 3 meses post tratamiento										✓				
No tratamiento	✓				✓					✓					
Pronóstico positivo	Supervivencia > 1-3 meses							✓			✓				
	Tratamiento radioterapia	✓													
	Tratamiento GCC+ CIT						✓	✓			✓	✓	✓	✓	
	Tratamiento anticonvulsivante					✓									

RM: resonancia magnética; PIC: presión intracraneal; LCR: líquido cefalorraquídeo; RTCN: recuento total de células nucleadas; GCC: glucocorticoides; CIT: arabinósido de citosina; ✓: presencia; x: ausencia.

Como se puede observar en la Tabla 6, sólo los estudios de *Cornelis et al.*, engloban la mayoría de los parámetros evaluados en el resto de los artículos. Esta ausencia de criterios uniformes en la evaluación de los pacientes, unido a la falta de estandarización del protocolo de tratamiento, constituye una importante limitación para definir factores pronósticos concluyentes. Los resultados son contradictorios y solo parece haber una cierta uniformidad en considerar que la alteración del estado mental y la ausencia de tratamiento constituyen factores pronósticos negativos. El resto de variables relacionadas con la supervivencia están supeditadas al tipo de tratamiento, observándose que es mayor en los pacientes tratados conjuntamente con glucocorticoides y arabinósido de citosina. No obstante, este hallazgo no puede considerarse un factor pronóstico, sino como factor predictivo.

Es, por tanto, imprescindible, realizar más estudios que clarifiquen los estudios previos. Lo ideal sería estandarizar aún más el protocolo diagnóstico, ampliar el tamaño muestral con estudios multicéntricos, crear una escala común validada de alteraciones neurológicas y unificar los regímenes de tratamiento para conseguir el *gold-standard*. El estudio ideal sería un estudio clínico prospectivo, randomizado, doble ciego con casos placebo-control. Pero, como no es ético plantear un estudio con grupo placebo, ya que la negación de tratamiento sí está relacionada con un mal pronóstico, sería necesario plantear otras alternativas. La realización de estudios basados en biomarcadores característicos de las MOD permitiría emitir un pronóstico más objetivo y certero.

3.4 BIOMARCADORES

3.4.1 Definición y características del biomarcador ideal

El término biomarcador se introdujo en 1989 en el Medical Subject Heading (MeSH) para definir el «parámetro biológico medible y cuantificable que sirve como índice de las variaciones fisiológicas o de salud, tales como el riesgo de una enfermedad, los trastornos psiquiátricos, la exposición ambiental y sus efectos, el diagnóstico de una enfermedad, un proceso metabólico, la drogadicción, el embarazo, el desarrollo de una línea celular, un estudio epidemiológico, etc.» (p. ej., concentración enzimática específica, concentración hormonal específica, distribución fenotípica específica de un gen en una población, presencia de una sustancia biológica)²¹⁸.

En el año 2001, un grupo de trabajo estadounidense estandarizó su definición como «una característica que es medida y evaluada de forma objetiva como un indicador de procesos biológicos normales o patológicos, o respuestas farmacológicas a una intervención terapéutica»²¹⁹.

Asimismo, se entiende por “criterio de valoración” (*endpoint*) a la variable predefinida que permite cuantificar el efecto de una intervención. Un criterio de valoración clínico sería una característica o variable que refleja la vivencia del paciente, su funcionamiento o su supervivencia. Los criterios de valoración clínicos son los más empleados en la determinación de los riesgos y beneficios de las intervenciones terapéuticas en los ensayos clínicos randomizados. Un criterio de valoración clínico indirecto (*surrogate endpoint*) es un subtipo de biomarcador que sustituye (con mayor o menor acierto) a un criterio de valoración clínico y permite predecir un beneficio clínico o un daño (o su falta) sobre la base de datos científicos de carácter epidemiológico, fisiopatológico, terapéutico, o de otro tipo^{220,221}.

Existen diferentes clasificaciones de los biomarcadores; una de ellas se basa en la información que proporcionan^{218,219,222}:

- *De riesgo*: informan sobre la predisposición a padecer una patología. Son importantes para la identificación de los individuos de una población que pueden ser sensibles a cierta dolencia. (p.ej: dimetilarginina simétrica (SDMA) en enfermedad renal crónica en perros y gatos).

- *Diagnósticos*: proporcionan información sobre si un paciente padece una enfermedad o ha estado expuesto a algún tóxico o patógeno. (p.ej: el anticuerpo antitransglutaminasa tisular es un biomarcador diagnóstico de la enfermedad celíaca en humana).
- *Pronósticos*: informan sobre la progresión de la enfermedad, es decir, si la enfermedad mejora o empeora tras el tratamiento correspondiente (p.ej: el receptor de membrana EphB₄ es un biomarcador pronóstico del cáncer de colon en humana).

También pueden clasificarse según su naturaleza^{218,219,222} :

- *Óhmicos*: provienen del estudio de los genes (genómica), de las proteínas (proteoma) y de los metabolitos (metaboloma).
- *Epigenéticos*: provienen de los cambios epigenéticos que se producen en el ADN y que tienen relación con alguna patología.
- *Moléculas de microRNA*: las moléculas de microRNA se expresan en cantidades diferentes ya sea en células normales o cancerosas.

El biomarcador ideal debe proporcionar información diagnóstica, pronóstica y terapéutica y, debe poseer, al menos, las siguientes características químicas, analíticas y clínicas²²¹⁻²²⁴ :

- *Fiable*, con una *alta especificidad y sensibilidad*.
- *Facilidad de muestreo*: se debe evitar, en lo posible, la recogida de muestras invasivas.
- *Representatividad*: los niveles del biomarcador en la muestra recogida deben ser representativos del biomarcador en el organismo.
- *Reproducible y cuantitativo*.
- *Sensible a los cambios de la enfermedad*.
- Se debe conocer la *cinética de formación*.
- *Estabilidad*.
- *Éticamente aceptable*.
- *Económico*.

Los biomarcadores tienen numerosas aplicaciones en la detección de enfermedades y la monitorización del estado de salud ²¹⁹:

- Herramienta diagnóstica para la identificación de pacientes con una enfermedad o con una condición anormal (p.ej: hiperglucemia en el diagnóstico de diabetes mellitus).
- Definición del estadio clínico de la enfermedad (p.ej. medida del antígeno carcinoembrionario-125 en distintas neoplasias, concentración sanguínea del antígeno prostático específico).
- Indicadores de pronóstico de enfermedad.
- Uso para predecir y monitorizar la respuesta clínica a una intervención (p.ej: las concentraciones de colesterol sanguíneo para la determinación del riesgo de enfermedad cardíaca).

Lo más frecuente y sencillo es que el biomarcador sea un cambio medible en la concentración de una sustancia química o la simple presencia o ausencia de esa sustancia. Comúnmente se llama biomarcador a esa sustancia química, aunque existen biomarcadores más complejos, como, por ejemplo, patrones moleculares de diferente índole²¹⁹.

Para la adecuada selección de un biomarcador, primero se debe realizar un estudio en profundidad de la patología para evaluar qué parámetros altera. A continuación, se deben seleccionar los que proporcionen la mayor información posible; y, por último, se procede a su validación. En general, la validación consiste en relacionarle con el estado de salud del paciente y que supere las correspondientes pruebas de calidad, de manera que se concluya que se acerca a las características ideales y que, por tanto, su análisis es viable²²⁵.

Existe una búsqueda continua de nuevos biomarcadores que proporcionen información más completa sobre la enfermedad que los ya conocidos, o que puedan ser detectados más fácilmente. Algunas de las enfermedades con más incidencia en la actualidad, y en las que la búsqueda de biomarcadores ideales tiene un gran interés, son el cáncer, las enfermedades neurodegenerativas, inflamatorias y cardiovasculares.

3.4.2 Biomarcadores en enfermedades neurológicas

En el ámbito de la neurología, la búsqueda de biomarcadores de riesgo y con fines pronóstico tiene una gran importancia, sobre todo en las enfermedades inflamatorias y neurodegenerativas. Los más utilizados son los derivados de los metabolitos.

Los análisis sistemáticos de identificación de metabolitos se basan en la metabolómica que representa los efectos sumatorios de diferentes procesos bioquímicos en el tiempo de muestreo. En metabolómica pueden emplearse numerosos tipos de muestras biológicas, incluyendo fluidos como suero y plasma sanguíneo, orina, LCR o saliva, así como tejidos y células, cada uno de los cuales posee un metaboloma característico²²⁶. La metabolómica tiene un papel importante en las enfermedades neurológicas debido a la particular "restricción" que hay para poder acceder de manera no invasiva al SNC. Además, los estudios *postmortem* neuropatológicos presentan la limitación de no poder conocer las características de la enfermedad en las fases iniciales, solo pudiendo tipificarlas en los pacientes fallecidos²²⁷.

La metabolómica requiere metodologías reproducibles, con una elevada sensibilidad y precisión, y que permitan el análisis integral del metaboloma. Para ello, se han propuesto numerosas plataformas analíticas, entre las que destacan la espectrometría de masas y la resonancia magnética nuclear (RMN)²²⁶. En ambos casos, los datos obtenidos del análisis de los metabolitos son un espectro de picos que permiten establecer una relación entre los niveles de metabolitos y la respuesta celular, lo que supone un poderoso medio para explorar las consecuencias bioquímicas de la enfermedad²²⁷. La principal ventaja de la RMN es su gran capacidad cuantitativa. Cada metabolito tiene un pico en el espectro que posee un valor integrable, el cual es directamente proporcional a la concentración del metabolito, lo que sucede en la espectrometría de masas. Sin embargo, ésta última tiene una mayor sensibilidad en la detección de metabolitos (picomolar comparado con micromolar), por lo que puede detectar y analizar más componentes.

La espectroscopia por RMN realizada a través de la determinación del hidrógeno (¹HNMR) es una técnica no invasiva que permite determinar los protones que se encuentran en el cerebro y LCR en condiciones normales y patológicas. Esto permite obtener un espectro metabólico del cerebro basado en que la diferencia en la composición química de sus metabolitos se refleja en una diferente frecuencia de resonancia. Parte de los resultados se muestran en una gráfica de picos o espectros denominada espectrograma. Presenta dos modalidades²²⁸:

- 1) **Espectroscopia "in vitro"**: tiene como objetivo analizar la composición de líquidos y sólidos.
- 2) **Espectroscopia "in vivo"**: analiza la composición de las lesiones que se detectan en los órganos de un individuo. Todos los espectros aparecen colocados en la gráfica del espectrograma con un número de orden invariable. Como punto cero se toma de referencia, generalmente, el espectro del Tetra-metil-silano que nunca aparece en la espectroscopia "in vivo" porque es una sustancia que no se encuentra en el organismo.

3.4.3 Biomarcadores en LCR

Existen diversas plataformas analíticas encargadas de caracterizar las anomalías metabólicas presentes en LCR, un fluido de gran interés en el estudio de enfermedades neurológicas²²⁶.

3.4.3.1 Lactato

El lactato es uno de los principales biomarcadores pronósticos empleado en numerosas patologías y puede determinarse en tejidos y fluidos biológicos. El cerebro tiene una gran actividad metabólica y depende, en gran medida, del suministro eficiente de nutrientes, sobre todo del aporte constante de glucosa y oxígeno. Las células del sistema nervioso ni almacenan glucógeno ni realizan la gluconeogénesis. A medida que aumenta su actividad se requiere un incremento de la energía metabólica en las neuronas. En esta situación, esta energía se obtiene por medio de la oxidación de la glucosa con la consecuente formación de piruvato y lactato²²⁹. Su producción puede considerarse una respuesta preventiva del organismo que permite que persista la producción de energía intracelular cuando el aporte de oxígeno por parte del metabolismo aeróbico tisular es inadecuado. El aporte energético a la célula se realiza por medio de tres procesos: glucólisis (en el citosol), ciclo del ácido cítrico (Ciclo de Krebs) y la fosforilación oxidativa o cadena de transporte de electrones (estos dos últimos en la mitocondria). El ciclo de Krebs y la fosforilación oxidativa requieren condiciones aeróbicas, mientras que la glucólisis puede producirse tanto en condiciones aeróbicas como anaeróbicas. La glucólisis, además, permite que la producción de energía se produzca en condiciones de relativa o absoluta hipoxia celular²³⁰.

La glucólisis es el primer paso en el metabolismo de la glucosa y tiene como resultado final la producción de piruvato. Todas las células son capaces de realizar la glucólisis, pero tiene una mayor relevancia en órganos como el cerebro, corazón y músculo esquelético. El metabolismo de la glucosa a piruvato origina la reducción de la coenzima nicotinadenindinucleótido (NAD^+) a NADH y la producción de 2 moléculas de adenosina trifosfato (ATP), principal fuente de energía en los procesos celulares²³¹.

En condiciones aeróbicas, el piruvato difunde al interior de la mitocondria y vía Ciclo de Krebs y fosforilación oxidativa se originan 36 moléculas adicionales de ATP y el NADH se transforma en NAD^+ . En las células que no poseen mitocondrias (como los eritrocitos), el piruvato es catalizado por la enzima lactato deshidrogenasa (LDH) a lactato. La conversión de lactato a piruvato permite la oxidación del NADH a NAD^+ y la continuidad de la glucólisis^{232,233} (Fig. 3a y 3b). Existen dos isómeros de la molécula de lactato: D -lactato y L -lactato. El D -lactato es producido por algunas bacterias y el L -lactato es el isómero producido por la enzima lactato deshidrogenasa de los mamíferos y, por lo tanto, el que tiene mayor relevancia clínica²³³.

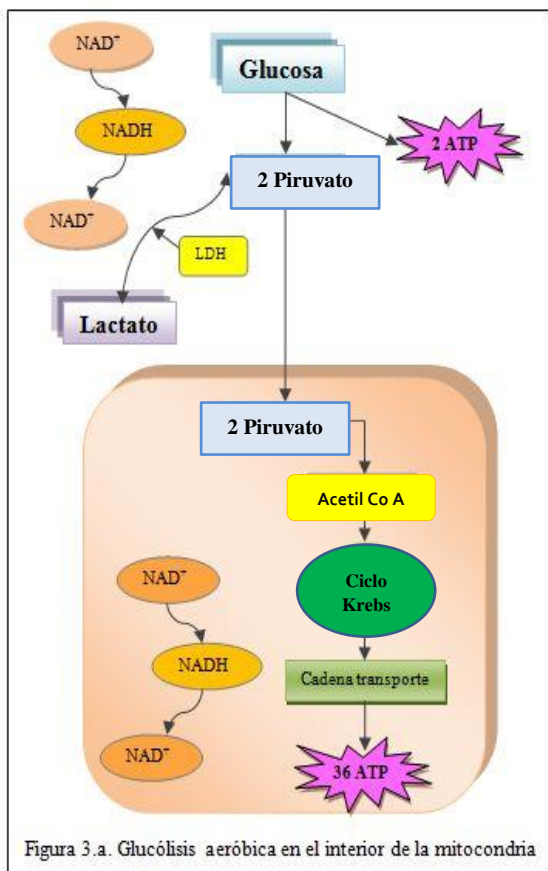


Figura 3.a. Glucólisis aeróbica en el interior de la mitocondria

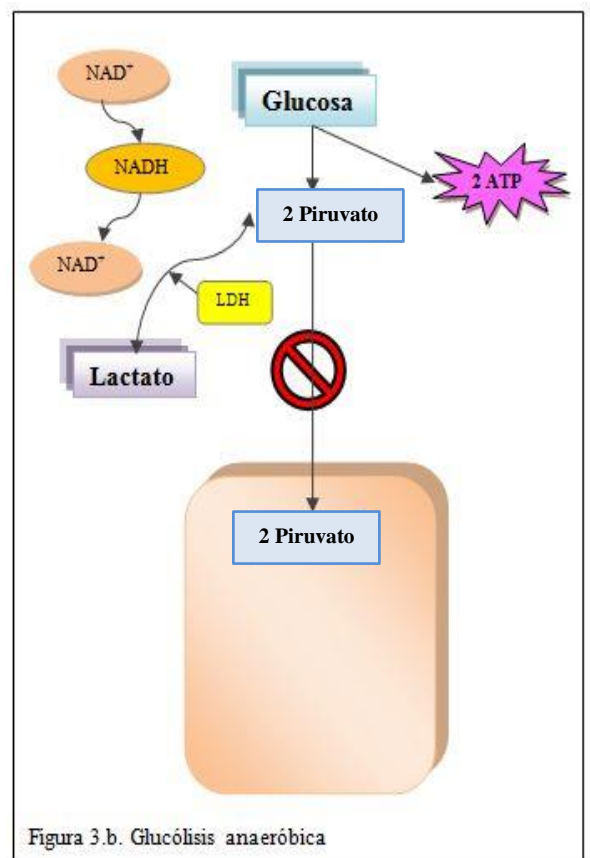


Figura 3.b. Glucólisis anaeróbica

En periodos de hipoxia, los tejidos solo pueden emplear la glucólisis como fuente de producción de energía. Es una vía menos efectiva y el resultado energético es mucho menor, pero se produce a mayor velocidad que el metabolismo aeróbico. Los hidrogeniones son producidos por el uso continuo del ATP y la reducción del NAD^+ a NADH. Estos hidrogeniones, normalmente, se consumen en procesos de fosforilación oxidativa y comienzan a acumularse en exceso durante el metabolismo anaeróbico. Como consecuencia del incremento de las concentraciones de piruvato, NADH e hidrogeniones, los procesos glucolíticos disminuyen. Para que se mantengan y pueda perpetuarse la producción de energía intracelular, interviene la LDH que reacciona con el piruvato y NADH para que se conviertan en lactato; de esta forma se consume el exceso del piruvato y los hidrogeniones y se regenera el NAD^+ . A medida que los niveles intracelulares de lactato se incrementan, éste difunde a través de la membrana celular al torrente sanguíneo y puede llegar a producirse hiperlactatemia²³⁴.

Una vez reestablecidas las condiciones aeróbicas, el lactato y los hidrogeniones son consumidos y bien se metabolizan a glucosa o son oxidados a agua y dióxido de carbono²³².

El valor clínico del lactato se describió por primera vez hace más de 50 años, pero su aplicación en pacientes comenzó a determinarse hace 15-20 años²³⁰. Su medición es útil para valorar la oxigenación tisular; es un buen indicador de hipoperfusión ya que sus niveles aumentan de forma significativa en estados de hipoxia celular. La hipoxia tisular puede estar originada por una hipoxemia severa, perfusión inadecuada, incremento en la demanda de oxígeno, disminución en la concentración de hemoglobina o por combinación de estos factores^{233,235}. La determinación de lactato se ha evaluado en pacientes humanos en estado crítico y es un indicador muy fiable para establecer la severidad de la enfermedad, así como para monitorizar la respuesta al tratamiento²³².

En la bibliografía veterinaria, los estudios iniciales de evaluación de lactato a nivel sanguíneo se realizaron, con fines pronóstico, en caballos con cólico²³⁶. Otros trabajos posteriores siguieron esta línea de investigación para intentar emitir un pronóstico de supervivencia en caballos con cólico²³⁷ y se ampliaron a rumiantes con sepsis²³⁸.

En el año 1996, *Lagutchik et al.* publicaron un estudio en el cual determinaban la concentración de lactato sanguíneo en 109 perros enfermos y en 20 clínicamente sanos. Los perros clínicamente enfermos fueron divididos en dos grupos (supervivientes y no supervivientes). La concentración media de lactato sanguíneo en el grupo de los no supervivientes (incluidos animales eutanasiados) fue mayor que en los grupos supervivientes y

en normales, y encontraron, por tanto, una correlación positiva entre niveles elevados de lactato y la no supervivencia²³⁵. El lactato es reconocido mundialmente como uno de los mejores parámetros de predicción de la severidad de las lesiones y de la mortalidad individual en distintas especies y situaciones que condicionan hipoxia tisular (sepsis, trauma, shock, etc.)^{232,239,240}.

La producción de lactato en condiciones normales es de 15-30 mmol/kg/día con niveles sanguíneos mantenidos entre 0,5-1 mmol/L (equilibrio entre producción y consumo). El cerebro, corazón, piel, eritrocitos, sistema músculo-esquelético y gastrointestinal producen la mayor parte del lactato. El hígado y los riñones son los responsables del aclaramiento del lactato, metabolizando el 50% y el 20-30%, respectivamente²⁴¹.

En el año 1999, *Hughes et al.*, establecieron los valores de referencia de lactato sanguíneo en 60 perros sanos no anestesiados. Se consideran valores normales de lactato sanguíneo los comprendidos entre 0,3 –2,5 mmol/L²⁴².

Con el incremento del uso del lactato como herramienta fundamental en el manejo de pacientes críticos, los dispositivos de medición se han modificado con el fin de mejorar velocidad, precisión y facilidad de la determinación. Los dispositivos iniciales necesitaban mayor cantidad de muestra y solamente estaban disponibles en grandes laboratorios de referencia. El envío de la muestra a dichos centros demoraba el tiempo de obtención de resultados. Actualmente existen numerosos dispositivos portátiles validados que requieren menor cantidad de muestra y el resultado se obtiene con gran precisión en menos de 60 segundos. Los métodos empleados en estos dispositivos son enzimáticos (métodos ampero y espectrofotométricos)²³². La forma isomérica que determinan es L-lactato²³³. El uso del lactatímetro portátil Accutrend Lactate[®] ha sido probado y validado en la especie canina por *Stevenson et al., 2007*, entre otros, y es considerado un método preciso para la determinación de lactato sanguíneo²⁴³.

La *hiperlactatemia* se define como un incremento de la concentración plasmática de lactato por encima de los valores de referencia en presencia de pH sanguíneo normal (los sistemas tampón funcionan adecuadamente)²⁴⁴. Se establecen tres niveles de hiperlactatemia en pequeños animales (Tabla 7):

Tabla 7. Clasificación de la hiperlactatemia

Lactato (mmol/L)	Clasificación
< 2,5	Normal
2,5 - 4,9	Media
5,0 - 7	Moderada
> 7	Severa

Las principales causas de hiperlactatemia son²³⁵:

- Factores que incrementan el flujo glucolítico de glucosa a lactato (alcalosis metabólica, administración de catecolaminas...).
- Factores que incrementan las concentraciones de piruvato (incremento en la transaminación de alanina a piruvato, disminución de la actividad de la enzima piruvato-deshidrogenasa).
- Pacientes con estados hipermetabólicos (septicemia, quemaduras y traumas)

La **acidosis láctica** se define como la elevación de la concentración plasmática de lactato (generalmente > 5 mmol/L) que provoca una disminución del pH sanguíneo arterial a niveles inferiores a 7,35 (los sistemas tampón son inefectivos). Las principales causas de acidosis láctica se describen en la Tabla 8 ^{232,235,244,245}.

Tabla 8. Causas de acidosis láctica

Tipo A (debida a hipoxia)	Tipo B (no debida a hipoxia)														
<p>Hipoperfusión sistémica</p> <ul style="list-style-type: none"> • Hipovolemia/ Shock hipovolémico • Shock distributivo • Síndrome de respuesta inflamatoria sistémico, septicemia, anafilaxis, shock neurogénico • Shock cardiogénico • Fallo miocárdico, enfermedad valvular, arritmias • Shock obstructivo • Taponamiento cardiaco, pneumotórax a tensión 	<p>Tipo B₁ (enfermedad subyacente)</p> <ul style="list-style-type: none"> • Enfermedad hepática severa • Neoplasias • Septicemia • Feocromocitoma • Diabetes mellitus 														
<p>Hipoperfusión local</p> <ul style="list-style-type: none"> • Tromboembolismo pulmonar • Dilatación- torsión gástrica • Torsión mesentérica • Áreas de empleo de torniquete 	<p>Tipo B₂ (fármacos y tóxicos)</p> <table border="0"> <tr> <td>• Acetaminofeno</td> <td>• Insulina</td> </tr> <tr> <td>• Catecolaminas</td> <td>• Metanol</td> </tr> <tr> <td>• Cianidas</td> <td>• Morfina</td> </tr> <tr> <td>• Epinefrina</td> <td>• Nitroprusiato</td> </tr> <tr> <td>• Etanol</td> <td>• Salicilatos</td> </tr> <tr> <td>• Etilenglicol</td> <td>• Terbutalina</td> </tr> <tr> <td>• Glucosa</td> <td></td> </tr> </table>	• Acetaminofeno	• Insulina	• Catecolaminas	• Metanol	• Cianidas	• Morfina	• Epinefrina	• Nitroprusiato	• Etanol	• Salicilatos	• Etilenglicol	• Terbutalina	• Glucosa	
• Acetaminofeno	• Insulina														
• Catecolaminas	• Metanol														
• Cianidas	• Morfina														
• Epinefrina	• Nitroprusiato														
• Etanol	• Salicilatos														
• Etilenglicol	• Terbutalina														
• Glucosa															
<p>Alteración transporte oxihemoglobina</p> <ul style="list-style-type: none"> • Intoxicación por monóxido de carbono • Metahemoglobinemia 	<p>Tipo B₃ (defectos metabólicos congénitos)</p> <ul style="list-style-type: none"> • Miopatía mitocondrial 														
<p>Actividad muscular excesiva</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ejercicio intenso • Temblores • Convulsiones 	<p>Miscelánea</p> <ul style="list-style-type: none"> • Hipoglucemia • Alcalosis severa • Hiperventilación • Acidosis D-Láctica • Deficiencia de tiamina 														
<p>Hipoxemia severa</p>															
<p>Anemia severa</p>															

En el ámbito de medicina de pequeños animales, la valoración de los niveles de lactato sanguíneo se ha evaluado en patologías como dilatación- vólvulo gástrico²⁴⁶, peritonitis séptica²⁴⁷, septicemias²⁴⁸, enfermedades sistémicas²⁴³, anemias hemolíticas inmunomediadas²⁴⁹, babesiosis²⁵⁰ y MOD²¹⁶, tanto para emitir un pronóstico inicial como para intentar monitorizar la evolución de los pacientes.

La determinación de niveles de lactato en otros fluidos orgánicos permite obtener información de gran ayuda en numerosas patologías. En medicina veterinaria destaca su uso en:

- Efusiones abdominales en pacientes con peritonitis séptica: un gradiente > 2 mmol/L entre el lactato del líquido abdominal y el plasmático es 100% específico y sensible en el diagnóstico de peritonitis séptica²⁵¹.
- Derrames pericárdicos: su valor en líquido pericárdico en perros con derrame pericárdico secundario a tumores cardiacos es significativamente mayor que en perros sin tumores²⁵².

Los niveles de lactato en LCR son aparentemente independientes de los niveles sanguíneos. El lactato sanguíneo se encuentra en forma ionizada y, en rangos fisiológicos de pH, su difusión a través de la BHE es prácticamente nula (Fig. 4).

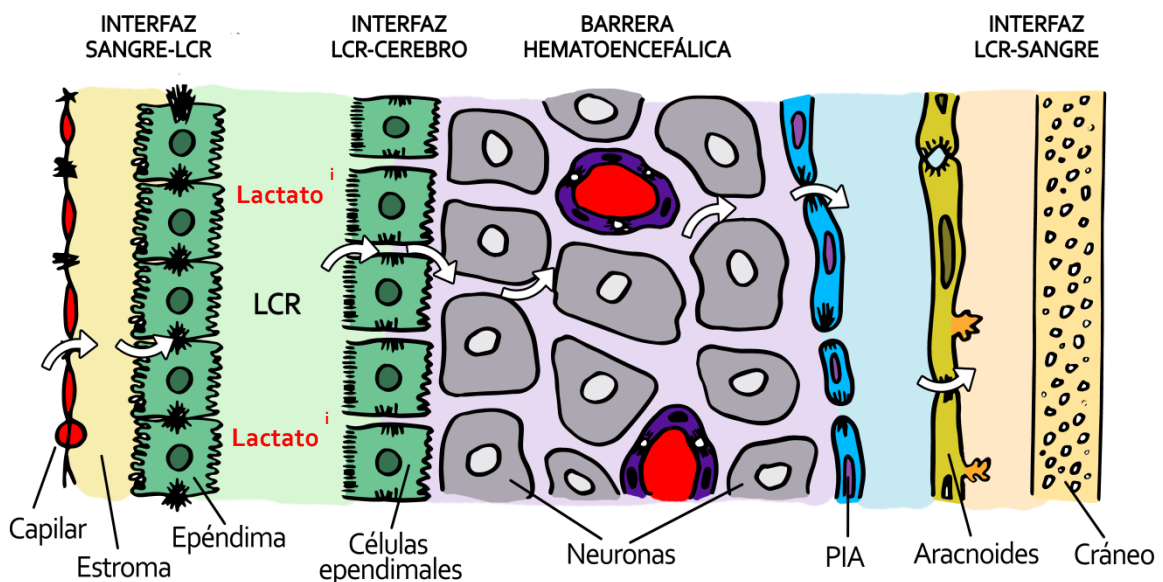


Fig. 4. Localización del lactato en LCR en la BHE. Imagen modificada por Javier Sanz Dueñas de Di Terlizzi y Platt (2006) *Vet. J.*, 172(3): 422-431

Cualquier alteración asociada con una oxigenación escasa del cerebro, incremento de la actividad metabólica o aumento de PIC puede incrementar la concentración de lactato en el LCR²⁵³. Se han descrito incrementos en los niveles de lactato en LCR durante cambios en el metabolismo cerebral, en la actividad inmunológica y en muerte celular²⁵⁴. En individuos sanos, la BHE regula el transporte del lactato entre el LCR y la sangre²⁵⁵. La BHE puede verse alterada en numerosas enfermedades del SNC (hemorragias subaracnoideas, hidrocefalia, hipoxia e isquemia cerebral, estatus epiléptico, procesos inflamatorios y defectos congénitos metabólicos entre otros) y la consecuencia es el incremento del lactato en LCR²⁵⁶.

Los valores normales de lactato en LCR en humanos difieren con la edad, oscilando desde 0,9 mmol/L en neonatos hasta 2,7 mmol/L en geriátricos²⁵⁷. En medicina humana, la determinación de lactato en LCR es una herramienta fundamental en el diagnóstico de numerosas patologías del SNC, sobre todo para diferenciar meningitis bacterianas de las asépticas^{258,259}; también se emplea como factor pronóstico en pacientes con traumatismos craneoencefálicos²⁶⁰. Recientemente se ha publicado su uso en pacientes con esclerosis múltiple como predictor de severidad de la enfermedad. Su concentración en pacientes con esclerosis múltiple recidivante fue mayor que en los individuos controles. Se encontró una correlación negativa entre los niveles de lactato y la duración de la enfermedad y una correlación positiva significativa entre los niveles de lactato en LCR, proteína tau y la proteína de neurofilamento de cadena ligera (estas últimas son biomarcadores convencionales de esclerosis múltiple)²⁶¹.

En veterinaria, la existencia de estudios que evalúen las concentraciones de lactato en LCR en perros sanos y enfermos es limitada:

- *Lober et al., 2003*: midieron los niveles de lactato y piruvato tanto en sangre como LCR en 104 perros con diferentes patologías del SNC, 20 animales neurológicamente sanos y 6 perros con colapso inducido por el ejercicio. Las concentraciones más altas de lactato se observaron en los perros con protusiones discales y enfermedades inflamatorias del SNC. Concentraciones de lactato sanguíneo > 9,5 mmol/L en LCR y > 3,7 mmol/L en sangre fueron sospechosas de mitocondriopatías²⁶².
- *Pugliese et al., 2005*: evaluaron los niveles de lactato, piruvato y potasio (entre otros parámetros) en un grupo control de 11 perros sanos y en 14 perros diagnosticados de disfunción cognitiva leve y grave (modelo animal de demencia senil). Observaron un

incremento significativo paralelo de los niveles de lactato, piruvato y potasio en perros con disfunción cognitiva severa. El grupo control presentaba valores de lactato $1,90 \pm 0,61$ mmol/L, el grupo de demencia senil leve $2,14 \pm 0,42$ mmol/L y el de demencia senil grave $3,05 \pm 0,92$ mmol/L²⁶³.

- *Taggart & Maxwell, 2011*: realizaron un estudio retrospectivo para evaluar los niveles de lactato y glucosa en enfermedad discal aguda con el fin de poder correlacionarlos con los signos clínicos y la recuperación de la funcionalidad. En el estudio se incluyeron 10 perros normales, 7 con enfermedad discal aguda y 11 con signos neurológicos no relacionados con enfermedad discal aguda. Los valores de lactato encontrados fueron de $1,66 \pm 0,22$ mmol/L, $1,78 \pm 0,36$ mmol/L y $1,61 \pm 0,31$ mmol/L, respectivamente, sin que existieran diferencias significativas entre los tres grupos²⁶⁴.
- *Witsberger et al., 2012*: determinaron valores de lactato, calcio, glucosa, proteína básica de la mielina, CK, AST en perros con enfermedad discal toracolumbar aguda. De todos los parámetros anteriores, sólo la CK y la proteína básica de la mielina demostraron valor predictivo a largo plazo²⁶⁵.
- *Galán- Rodríguez et al.^{a)}, 2013*: establecieron posibles valores de referencia de piruvato y lactato en 18 Beagles de experimentación sanos mediante espectrofotometría molecular de absorción. Los valores medios de lactato fueron 1,189 mmol/L (0,416- 1,850 mmol/L) y los de piruvato 0,057 mmol/L (0,01-0,151 mmol/L)²⁶⁶.
- *Galán- Rodríguez et al.^{b)}, 2013*: Apoyados en su investigación previa, realizaron un estudio comparativo para la selección de marcadores bioquímicos en LCR en perros sanos antes y después del tratamiento con nutraceúticos. Observaron un incremento significativo de los niveles de sodio y glucosa y una disminución de los niveles de lactato después del tratamiento²⁶⁷.
- *Caines et al, 2013*: Evaluaron las concentraciones de lactato en sangre y LCR en 60 perros anestesiados con y sin patología intracraneal, relacionándolos con una escala de déficits neurológicos (39 sanos después de la inducción anestésica, 10 perros sanos después de haber realizado RM y 11 perros con enfermedad intracraneal después de

haberles realizado RM). No encontraron diferencias significativas en los niveles de lactato en LCR entre los grupos; sin embargo, sí encontraron diferencias significativas en los valores conjuntos de lactato en sangre y en LCR entre los grupos, siendo significativamente más elevados en el grupo con patología intracraneal (lactato LCR $2,1 \pm 0,8$ mmol/L; lactato sangre $1,7 \pm 1,0$ mmol/L) que en el resto (sanos post RM: lactato LCR $1,6 \pm 0,4$ y sangre $1,5 \pm 0,2$ mmol/L; sanos post inducción anestésica: lactato LCR $1,6 \pm 0,2$ y sangre $1,6 \pm 0,5$ mmol/L). También encontraron diferencias significativas entre déficits neurológicos severos y los niveles de lactato en LCR en el grupo con patologías intracraneales²⁶⁸.

- *Musteata et al., 2013*: realizaron el primer estudio del perfil metabolómico del LCR en 10 perros sanos mediante espectroscopia por ¹HNMR comparándolo con los datos previos disponibles en perros y el perfil obtenido en humanos. En este estudio los valores de lactato encontrados fueron de $2,094 \pm 0,374$ mmol/L²⁶⁹.

Sin embargo, sí existen numerosos estudios que evalúan la concentración de lactato en LCR en perros como modelo animal. Destacan:

- *Nemoto et al., 1974*: estudiaron el metabolismo y consumo del lactato en cerebro en perros mestizos anestesiados con hipoglucemias e hiperlactatemias inducidas. El consumo de lactato en situaciones de hipoglucemia puede reemplazar aproximadamente un cuarto de la glucosa usada por el cerebro²⁷⁰.
- *Sugi et al., 1975*: determinaron las concentraciones de lactato y piruvato así como el balance ácido-básico en perros mestizos con hemorragia subaracnoidea e intracerebral inducida. Demostraron que el incremento de sus niveles conjuntamente con el incremento del índice lactato/ piruvato son unos excelentes indicadores de hipoxia cerebral²⁷¹.
- *Vaagenes et al., 1988*: evaluaron los niveles de lactato, CK, AST y LDH como marcadores de daño tisular y factores pronósticos en perros mestizos con parada cardíaca inducida y posterior reanimación. Estos parámetros se incrementan notablemente a los pocos minutos del inicio de la parada cardiorrespiratoria y comienzan a descender a las 6 horas posteriores a la reanimación cardiopulmonar en

las áreas con peor daño histológico (sustancia gris del neocórtex, núcleo caudado, hipocampo y cerebelo). La cuantificación de estos parámetros a distintos intervalos de tiempo es un método factible de "biopsia química cerebral" con valor pronóstico en paradas cardiorrespiratorias⁶⁶.

- *Bashar et al., 2008*: valoraron los niveles de lactato sanguíneo y en LCR en perros mestizos después de la implantación de *stents* aórticos. Existe una elevación marcada de los niveles de lactato en LCR 60 minutos después de la implantación del *stent*, asociado o no a signos neurológicos²⁷².

3.4.3.2 Principales biomarcadores obtenidos mediante espectroscopia de ¹HNMR

Los diferentes grupos de moléculas que pueden ser observados mediante espectroscopia de ¹HNMR son²²⁸:

- 1) Grupos metil (CH₃-) los cuales están en el rango de 0-3,5 ppm. Entre ellos están los grupos metil terminales de los ácidos grasos (0,9-1,2 ppm), el lactato (1,3 y 4,1 ppm), el grupo metil del N-acetil- aspartato (NAA) (2,0 ppm) y la colina (Cho) (3,2 ppm).
- 2) Grupos metileno (-CH₂-) de los ácidos grasos (1,2-1,4 ppm), glutamato (Glu) y glutamina (Gln) (2,05-2,46 ppm), ácido γ-amino butírico (2,2- 2,4 ppm), creatina (Cr) (3,02 ppm) y glicina (3,55 ppm).
- 3) Grupos metino (H-C-OH) del alcohol encontrados en azúcares como la glucosa (3.4-3.8 ppm) o mioinositol (ml) (3,52- 3,61 ppm).
- 4) El grupo vinil o protones olefinicos de los ácidos grasos insaturados (-C=C-H) (5,0-5,5 ppm).

Sólo existe un artículo que identifique biomarcadores "*in vitro*" en LCR en perros mediante ¹HNMR. *Musteata et al.* en el año 2013 realizaron el análisis metabolómico del LCR en perros sanos mediante ¹HNMR identificando 13 metabolitos, comparándolos con otros estudios previos mediante otras técnicas y con los valores de referencia en humanos. Los valores se resumen en la Tabla 9²⁶⁹.

Tabla 9. Valores de referencia análisis metabólico LCR perros sanos

Metabolito	Frecuencia RMN (ppm)	Valores \pm DS (mmol/L)
Creatina	3,05	0,044 \pm 0,004
α - hidroxibutirato	0,90	0,062 \pm 0,016
Valina	0,99 y 1,05	0,027 \pm 0,006
Lactato	1,33	2,094 \pm 0,374
Alanina	1,48	0,072 \pm 0,010
Ácido acético	1,92	0,036 \pm 0,007
Acetona	2,23	0,029 \pm 0,013
Piruvato	2,38	0,235 \pm 0,037
Glutamina	2,43 - 2,86	0,419 \pm 0,039
Citrato	2,54 y 2,68	0,124 \pm 0,023
Mio-inositol	4,08	0,500 \pm 0,054
Ácidoascórbico	4,52	0,255 \pm 0,041
Glucosa	5,25	3,988 \pm 0,427

RMN: resonancia magnética nuclear; ppm: partes por millón; DS: desviación estándar

No existe ningún estudio en el que se haya determinado estos biomacadores en LCR “*in vitro*” en perros con patologías del SNC. Los datos de biomarcadores en enfermedades del SNC en perros son extrapolados de estudios “*in vivo*” mediante ^1H NMR.

En general, de todos los biomarcadores, los más relevantes son:

3.4.3.2.1 Lactato

Las características de este biomarcador se han desarrollado en el apartado 4.3.1.

Presenta dos picos a 1,32, 4,1 y 4,8 ppm, aunque, generalmente, el segundo está suprimido por su cercanía al agua.²²⁸

Richter et al., en un estudio sobre el uso de radioterapia como tratamiento en MOD, encontraron niveles de lactato elevados en dos pacientes en las áreas afectadas en comparación con las áreas no afectadas²⁷³. El lactato, en este caso, es fruto de la glucólisis anaerobia del cerebro o de la activación de los macrófagos después de la ruptura de las membranas celulares²⁰².

3.4.3.2.2 N- Acetil Aspartato (NAA)

En el espectrograma su pico principal se localiza en 2 ppm aunque pueden aparecer picos menores en 2,6 y 2,7 ppm. Es un marcador bioquímico que se encuentra en las neuronas del SNC, incluyendo también los axones, pero no se detecta en las células gliales²⁷⁴.

En 1954, Tallan evaluó la concentración de aminoácidos en distintos órganos abdominales y cerebro en gatos y observó que el cerebro es el único órgano que presenta niveles elevados de ácido aspártico. En 1956, concluyó que se trataba de un aminoácido libre debido a la unión del aspartato y la acetil coenzima A; al descomponer su estructura lo denominó 'N-acetil-L-aspartato'^{275,276}.

En la mitocondria de la neurona, la enzima L-aspartato-N-acetiltransferasa asocia aspartato con acetil-coenzima A (que procede de la glucosa y de la biosíntesis o degradación de ácidos grasos o de aminoácidos) y produce NAA. Tras su síntesis se desplaza al citoplasma, en donde otra enzima le agrega glutamato, con lo que se produce el N-Acetil-Aspartato–Glutamato. Los aminoácidos mencionados para su síntesis se originan a partir del ciclo de Krebs. El NAA se desdobra en el oligodendrocito, de manera que se produce acetato y aspartato. Otra enzima, la acetil-coenzima A sintetasa se une al acetato y produce acetil-coenzima A, con la cual se elaboran lípidos y esteroides necesarios para la síntesis de la mielina en la etapa neonatal. El aspartato difunde al espacio extracelular y, al regresar a las neuronas, se consume para sintetizar NAA. La fracción de acetato que no se emplea para elaborar mielina también

regresa a las neuronas y se utiliza para producir acetil-coenzima A. El regreso del aspartato y el acetato es vital para la síntesis del NAA y, en particular, para poder obtener ácido cítrico, que permite al ciclo de Krebs reanudar o proseguir su actividad. Por este motivo se considera que su síntesis es una manifestación de normalidad del metabolismo energético cerebral ya que es esencial en la regulación y la síntesis de los lípidos y la mielina; por ello, se emplea como marcador de viabilidad neuronal²⁷⁴.

El NAA es el aminoácido libre/metabolito más abundante del SNC, con una concentración en valores absolutos de 10-16 mmol/kg y un recambio del 100% a las 14-16h. Su alta concentración y rápido recambio la definen como una sustancia metabólicamente muy activa. Su concentración es variable. Fuera de la membrana plasmática neuronal, su proporción en las neuronas es elevada y más estable: es 100-200 veces superior a la del espacio extracelular y constituye el 3-4% de la osmolaridad cerebral y el 7% de la neuronal²⁷⁴. Sus valores oscilan entre 1,8-2,2 ppm. El gradiente descrito es una condición esencial que le permite desarrollar su circuito metabólico. Las células que participan en su metabolismo son las neuronas, los astrocitos fibrilares y los oligodendrocitos, por lo que recibe el nombre de metabolismo tricelular²⁷⁷.

La única patología en la que el pico de NAA aumenta es la enfermedad de Canavan en humanos²⁷⁸.

Las causas de reducción de NAA se pueden dividir en primarias o secundarias. Dentro de las primarias destacan las afecciones genómicas nucleares y mitocondriales, patologías que tienen en común dificultades en producir energía (citopatías mitocondriales)²⁷⁹. Las secundarias se producen, con frecuencia, por exceso de glutamato en el intersticio, que activan receptores en las membranas de las neuronas, lo que provoca la entrada de gran cantidad de calcio. El ejemplo típico de este último grupo es la epilepsia²⁸⁰.

Jacobson, en 1959, señaló que el nivel de NAA es distinto en muestras de cerebros de jóvenes y adultos normales, siendo menor en los últimos. También comparó el nivel en sujetos normales y enfermos mentales y verificó que es menor en los patológicos²⁸¹

Sus valores pueden estar disminuidos inespecíficamente en todas aquellas situaciones patológicas en las que hay destrucción parenquimatosa, difusa o focal como infartos, encefalitis, abscesos, enfermedades degenerativas encefálicas (Alzheimer) y neoplasias primarias o secundarias de cualquier tipo²⁸².

Su disminución en neoplasias pueden indicar daño neuroaxonal, mientras que en casos de MOD puede ser atribuible a una disfunción neuronal como consecuencia de la perturbación de su síntesis, degradación o incremento del volumen de las células inflamatorias en el tejido afectado²⁷³.

Un estudio reciente de espectroscopia ¹HNMR "in vivo" en perros con *shunt* y encefalopatía hepática ha demostrado una disminución de los niveles de NAA (junto con otros metabolitos)²⁸³.

En otro estudio "in vivo" del mismo grupo de trabajo anterior y con la misma técnica, se analizaron distintos biomarcadores en perros con MOD sometidos a radioterapia. Se observaron niveles menores de NAA en áreas cerebrales afectadas por la inflamación en comparación con las no afectadas. Sus valores se normalizaron después del tratamiento efectivo con radioterapia en las áreas afectadas inicialmente, alcanzando valores similares a los de las zonas no afectadas²⁰².

3.4.3.2.3 Creatina (Cr)

Se observa en el pico 3,02 ppm y en menor medida en 3,93 y 4,8 ppm. Está compuesto mayoritariamente por creatina y fosfocreatina, ambos implicados en el metabolismo energético. La Cr es el nombre con el que se conoce al ácido metilguanidinacético. Se encuentra en gran cantidad en las células musculares y nerviosas en forma de ácido creatinfosfórico. Circula en la sangre como transportador de energía. Atraviesa las membranas celulares y reacciona en el citoplasma con grupos fosfatos de alta energía provenientes del ATP mitocondrial, transformándose en fosfocreatina. Por tanto, actúa como los acumuladores eléctricos, almacenando energía en los momentos en que desciende el consumo celular y liberándola cuando aumenta. La señal de Cr muestra variaciones regionales muy marcadas, con niveles más bajos en la sustancia blanca cerebral que en la gris, así como unos niveles muy altos en el cerebelo en comparación con regiones supratentoriales²⁸⁴. Dado que la Cr se sintetiza en el hígado y riñón y se transporta al cerebro, en hepatopatías crónicas puede observarse una menor concentración cerebral²⁸³.

Pero como este biomarcador es sensible a cambios externos por su síntesis hepática y renal, así como por cambios osmóticos, asociar directamente y sin pruebas paralelas una

disminución de su contenido total con un fallo del metabolismo energético no es correcto. De la misma forma, asumir que el pico de la Cr se puede utilizar como referencia interna, al considerar su concentración constante o bien a que es la que menos varía, puede dar lugar a errores. A pesar de todo, en la práctica, una de las maneras más habituales de expresar los cambios en el espectro es mediante los cocientes de los demás respecto a ella (NAA/Cr, Cho/Cr, NAA/ml)²⁸⁵.

La Cr se ha sugerido como sustrato del metabolismo energético y como marcador de los sistemas dependientes de energía de las células del SNC²⁸⁶. Su incremento está relacionado con el aumento de la densidad celular en patologías como hiperosmolaridad, traumatismos y edema vasogénico (sobre todo de origen tumoral). Aumenta de manera fisiológica con la edad; está disminuida en el tejido encefálico en jóvenes y aumentada en adultos. Disminuye en hipoxias, infartos, hiponatremias y encefalopatías^{286,287}. Se cree que los cambios en su concentración en enfermedades inflamatorias del SNC y tumores intracraneales pueden ser debidos a cambios en el volumen celular y la disminución del metabolismo energético²⁸⁸. Las células astrogiales del cerebro son capaces de sintetizar Cr y liberar intermediarios en su síntesis mientras que las células tumorales, aparentemente, sintetizan pequeñas cantidades. Se ha sugerido que esta disminución en su concentración podría ser un indicador importante de malignidad en tumores²⁸⁹.

En un estudio "in vivo" mediante espectroscopia ¹HNMR en perros con tumores intracraneales y MOD se observaron diferencias en su concentración en ambos grupos. Comparando su concentración entre los grupos patológicos y el control, ésta es menor en los pacientes con tumores intracraneales y MOD, aunque esta disminución fue estadísticamente significativa sólo en el primer grupo²⁷³.

3.4.3.2.4 Colina (Cho)

El pico de resonancia que aparece a 3,2 ppm denominada, de manera genérica, derivados de colina, está compuesta por diferentes metabolitos como la colina libre, fosforilcolina, glicerofosforilcolina. La contribución de la fosfatidilcolina es muy discutida, mientras que la de otros metabolitos como la acetilcolina está prácticamente descartada debido a que su concentración está por debajo del límite de detección de la metodología. Su derivado acético, la acetilcolina, es un neurotransmisor de las terminaciones nerviosas del sistema

nervioso parasimpático. La Cho también forma parte de las lipoproteínas (fosfatidilcolina) de las membranas celulares, considerándose un marcador de membrana celular²²⁸. Ésta es la parte que más interesa en espectroscopia del hidrógeno, porque es un indicador indirecto del número de células existentes en los tejidos analizados. El espectro de la Cho refleja la concentración de la acetilcolina y la fosfatidilcolina²⁹⁰.

Aunque se ha asociado con la mielina, su concentración en sustancia blanca es solo ligeramente más alta que en la sustancia gris. Se ha observado que esta señal varía tanto en procesos locales como sistémicos (incluidos los procesos osmóticos). Su incremento es el reflejo de la existencia de productos de degradación de la mielina, remielinización e inflamación²⁸⁴.

Su concentración aumenta en numerosas condiciones y patologías como lesiones desmielinizantes autoinmunes inflamatorias, esclerosis múltiple (por la desmielinización aguda), enfermedades víricas (por la activación glial) y tumores. En tumores malignos su concentración aumenta, pero permanece normal en el edema circundante. Es un indicador de aumento del número de células, pero no indica necesariamente que dicho aumento tenga un carácter tumoral. De hecho, las neoplasias de bajo grado pueden mostrar unos espectros de Cho completamente normales. Los trastornos no neoplásicos como las enfermedades desmielinizantes, las encefalitis agudas infecciosas, algunos focos de gliosis cicatricial en la enfermedad de Alzheimer, la encefalopatía multifocal progresiva, esclerosis múltiple o los estados depresivos también presentan, a veces, unos valores elevados^{227,291}. Las concentraciones altas suelen normalizarse durante la resolución de la fase aguda de pacientes con esclerosis múltiple, pero persisten elevadas durante todo el proceso en pacientes con enfermedades víricas²⁹²⁻²⁹⁴.

En medicina veterinaria, su incremento está descrito en tumores intracraneales y MOD^{273,295}. Puede encontrarse disminución de su concentración en encefalopatías hepáticas crónicas, infartos y disfunción cognitiva²⁸³.

3.4.3.2.5 Mioinositol (ml)

Su pico de espectrograma se encuentra en 3,52- 3,61 ppm. Es un alcohol cíclico muy parecido estructuralmente a las moléculas de glucosa. Forma parte de un tipo de lípidos, los fosfatidilinositoles, pero también forma parte de un grupo de mensajeros intracelulares como son los inositol polifosfatos²⁸⁵. Los compuestos que dan lugar a esta resonancia son el ml y el mioinositol-monofosfato. Está presente en la sangre en concentraciones elevadas y traspasa fácilmente la membrana bicapa de las células del SNC. Se considera un indicador de proliferación de las células gliales (astrocitos, oligodendrocitos y microglia)²⁸⁴. Aunque diversos trabajos lo han propuesto como marcador de degradación de la mielina, no se puede descartar que indique un funcionamiento anormal del metabolismo de los inositol-polifosfatos²⁸⁵.

Aumenta cuando se produce degradación de las vainas de mielina en enfermedades inflamatorias autoinmunes, como la esclerosis múltiple, o en enfermedades neurodegenerativas, como el Alzheimer. También puede estar aumentado en tumores intracraneales, como los gliomas de bajo grado²⁹⁶.

Richter et al. encontraron concentraciones bajas en pacientes con tumores intracraneales y MOD en comparación con el grupo control²⁷³. En este mismo estudio, analizando de manera conjunta el NAA, Cr, Cho y ml, observaron hallazgos similares de espectroscopia in vivo en perros con tumores intracraneales y MOD: reducción de los niveles de NAA, Cr y ml e incremento en Cho; los valores son más extremos en el grupo de los tumores intracraneales. Niveles de Cho > 2,7 mmol/L; NAA < 2,55 mmol/L y Cr < 4 mmol/L son sugerentes de la presencia de neoplasia intracraneal²⁷³.

3.4.3.2.6 Lípidos

Su pico se produce entre los 0,9- 1,2 ppm, 3,8 ppm y 5,0-5,5 ppm. La presencia de lípidos en el espectrograma es anormal, aunque pueden aparecer como artefactos por contaminación externa con tejido adiposo subcutáneo. En ausencia de contaminación externa, su incremento se debe a la ruptura de las membranas celulares que hace que los lípidos y las proteínas se hagan espectroscópicamente visibles. Su incremento patológico es indicador de destrucción de tejido cerebral y necrosis²⁹⁵. En humanos se han encontrado niveles altos en tumores

intracraneales como astrocitomas y meningiomas, así como en patologías inflamatorias que afectan a la sustancia blanca. Los gliomas de bajo grado no suelen presentar cantidades detectables, al contrario de lo que ocurre en los de alto grado y en los oligodendrogliomas. Histopatológicamente, la necrosis es el hallazgo más característico de malignidad en gliomas y oligodendrogliomas, lo que parece estar directamente relacionado con la cantidad de lípidos en el espectrograma²⁹⁷⁻²⁹⁹.

En perros se han descrito niveles altos en neoplasias de alto grado intra-axiales, meningiomas y MOD³⁰⁰. *Richter et al.* detectaron concentraciones altas en 8 perros con neoplasias (oligodendroma, glioblastoma, linfoma y meningioma). En tres pacientes que presentaban astrocitomas de bajo grado no encontraron evidencia de lípidos en la señal. En este mismo estudio, también describieron concentraciones altas en 6 perros con MOD, 2 de ellos con MEN confirmada histopatológicamente. Los 4 perros restantes también eran altamente sospechosos de MEN, pero no se disponía de confirmación histopatológica. Entre las conclusiones de este estudio, destaca que la presencia de lípidos en el espectro de pacientes con MOD podría emplearse como marcador potencial en la diferenciación de MEN de la MEG y que también podría usarse para diferenciar neoplasias de alto grado y de bajo grado²⁷³.

En el estudio de *Beckmann et al.*, tres de los 6 perros diagnosticados de MOD y tratados con radioterapia y corticoides presentaban un pico sustancial de lípidos en el espectrograma que desapareció después del tratamiento²⁰².

3.4.3.2.7 Alanina (Ala)

Tiene dos picos en el espectrograma: 1,47 ppm (solapándose con el lactato) y 3,78 ppm (solapándose con los lípidos). Es un aminoácido no esencial que está presente en el cerebro de los mamíferos a una concentración menor de 0,5 mM. Su función no está clara. Suele incrementarse en ciertas lesiones del SNC como meningiomas, aunque no se ha establecido de manera definitiva su utilidad para el diagnóstico ya que solo aparece en un 30-50% de los casos^{290,299,301}. En medicina veterinaria, en el estudio más extenso, que incluía 10 pacientes con meningioma, no se encontró ningún incremento en su concentración³⁰⁰.

3.4.3.2.8 *Glutamato (Glu) y Glutamina (Gln) - Complejo glutamato-glutamina*

El Glu y la Gln originan una serie de señales que se agrupan en dos regiones: 2,05-2,5 ppm y 3,6-3,8 ppm. Debido a las interacciones que se producen entre los núcleos a intensidades bajas de campo, las dos sustancias son difíciles de separar, por lo que se suelen considerar como el "conjunto glutamina- glutamato". Esto hace que, aunque su concentración en cerebro sea mayor que la del NAA, su resolución no sea buena²⁸⁵.

El glutamato es un aminoácido no esencial con múltiples funciones en el cerebro. Es el principal neurotransmisor excitatorio de los mamíferos. Además, es el precursor del principal neurotransmisor inhibitorio, el ácido gamma aminobutírico (GABA). Además de estas funciones, es un componente importante en la síntesis de otros metabolitos de menor tamaño (p.ej, glutation), así como de grandes péptidos y proteínas¹⁸. Posee una concentración media de 6-12,5 mM con diferencias significativas entre la materia gris y blanca. Está presente en todos los tipos celulares cerebrales, pero con una concentración mayor en las neuronas glutamaninérgicas y menor en las neuronas GABAérgicas y astrogliá.

La Gln también es un aminoácido que está ubicado principalmente en los astrocitos a una concentración de 2,4 mM. El Glu se sintetiza en las neuronas a partir de la Gln que es sintetizada por la astrogliá. Ambos están relacionados con el compartimento neuronal y el glial, siendo la Gln considerada un marcador glial^{299,302-305}. La función principal de Gln es la desintoxicación de amoníaco. Aumenta notablemente durante la hiperamonemia, por lo que su concentración cerebral es un buen indicador de encefalopatía hepática^{283,304}.

En humanos, las patologías que inducen incremento de los niveles de Glu son las encefalitis agudas, las meningitis bacterianas^{306,307} y la epilepsia^{302,308}.

En perros, se observa incremento en epilepsia⁶⁷ y en MEN, generalmente de manera conjunta con la taurina (Tau)³⁰⁹. En algunos estudios no se evidencia este incremento conjunto, puesto que la Tau puede prevenir la despolarización de membrana inducida por el glutamato y, por tanto, reducir el daño celular inducido por el Glu, inhibiendo el aumento del complejo glutamato-glutamina^{273,310}.

3.4.3.2.9 Taurina

A campos magnéticos altos muestra dos tripletes en 3,25 y 3,42 ppm. A campos magnéticos bajos, se superpone con los picos de la Cho y del ml, de tal manera que la detección precisa requiere el uso de métodos de edición³¹⁰ La Tau es un aminoácido implicado en la neurotransmisión, osmoregulación y el crecimiento. Además es antioxidante y regulador del calcio²⁸⁵.

Como ya se ha mencionado previamente, la Tau previene la despolarización de membrana inducida por el glutamato y, por tanto, reduce el daño celular inducido por el Glu, inhibiendo el aumento del complejo glutamato-glutamina y la excitotoxicidad^{1273,310}.

Más allá de su función como inhibidora de la neurotransmisión, ejerce efectos citoprotectores en el SNC. En condiciones patológicas, como edema cerebral, hipoxia e hipoglucemia, es liberada por las neuronas y células gliales, originando un cambio en los iones y el paso del agua intracelular al espacio extracelular previniendo el edema celular^{311,312}. También se han detectado niveles altos en meduloblastomas en niños y en gliomas de alto grado²⁹⁷.

En perros se han descrito aumentos en glioblastomas y MOD^{273,309}. En el estudio de *Ritcher et al.*, encontraron concentraciones elevadas de en 10 de los 15 perros con MOD y solo en 1 de los 14 perros con neoplasia intracraneal (meduloblastoma). La razón de este incremento en pacientes con MOD se desconoce; la hipótesis más reconocida define que actúa como antioxidante para proteger las neuronas del daño celular mediado por los radicales libres. La Tau presenta altas concentraciones en células proinflamatorias y también después del daño celular³¹⁰. Este hipótesis se ha confirmada en humanos con encefalopatías originadas por el virus influenza³¹³.

3.4.3.2.10 Glucosa

Este metabolito ya se ha desarrollado previamente en el apartado 2.2. En el espectrograma presenta dos picos de resonancias identificables in vivo a 3,43 ppm y 3,80 ppm, aunque el gran solapamiento espectral en esa región limita la fiabilidad de la detección.

Los metabolitos descritos, sus frecuencias de resonancia, propiedades, aumento y disminución de su concentración se resumen en la Tabla 10 y en la Fig. 5.

TABLA 10. Metabolitos, frecuencias de resonancia, propiedades y significación del aumento y disminución de su concentración

Metabolito	RMN (ppm)	Propiedades	Aumento	Disminución
Lactato	1,3 4,1 4,8	Producto del metabolismo anaerobio	Cambios en el metabolismo cerebral, en la actividad inmunológica y en muerte celular	Pérdida o disfunción neuronal
			<i>Hemorragias subaracnoideas, hidrocefalia, hipoxia e isquemia cerebral, estatus epiléptico, enfermedades inflamatorias del SNC (sobre todo bacterianas, en estudio en MOD), defectos congénitos metabólicos, hernias de disco, esclerosis múltiple, demencia senil</i>	
NAA	2,0 2,6-2,7	Marcador integridad neuronal	Enfermedad de Canavan, hiperosmolaridad	Destrucción parenquimatosa
			<i>Infartos, traumatismos craneales, enfermedades inflamatorias del SNC (MOD), abscesos, enfermedades degenerativas encefálicas (Alzheimer) y neoplasias intracraneales</i>	
Cr	3,02 3,93 4,8	Sustrato metabolismo energético de neuronas y glía	Aumento densidad neuronal	Hipoxias, infartos, hiponatremias y encefalopatía hepática
			<i>Hiperosmolaridad, traumatismos, enfermedades inflamatorias del SNC (MOD), tumores y edema vasogénico (sobre todo de origen tumoral)</i>	
Cho	3,2	Marcador de membrana celular	Inflamación, desmielinización y remielinización	Encefalopatías hepáticas crónicas, hipoxia y demencias
			<i>Lesiones desmielinizantes autoinmunes inflamatorias, esclerosis múltiple (desmielinización aguda), enfermedades víricas (activación glial), enfermedades inflamatorias del SNC (MOD), Alzheimer (focos de gliosis), tumores</i>	
ml	3,52-3,61	Marcador de glía y de receptores neuronales	Proliferación glial	Perros: MOD y tumores intracraneales
			<i>Esclerosis múltiple, enfermedades neurodegenerativas (Alzheimer), tumores (gliomas de bajo grado)</i>	
Lípidos	0,9- 1,2 3,8 5,0-5,5	Productos destrucción tisular	Ruptura de membranas celulares	
			<i>Tumores intracraneales (astrocitomas, meningiomas), necrosis, enfermedades inflamatorias SNC que afectan a sustancia blanca (MOD)</i>	
Ala	1,47 3,78	No claras	Lesiones SNC	
			<i>Meningiomas en humanos</i>	
Glu	2,05-2,5 3,6-3,8	Neurotransmisor excitatorio	Neurotoxicidad	Alzheimer (ocasionalmente)
			<i>Enfermedades inflamatorias SNC (bacterianas, MOD), epilepsia</i>	
Gln	2,05-2,5 3,6-3,8	Marcador glial	Encefalopatía hepática	
Tau	3,25 3,42	Neurotransmisión, osmoregulación, crecimiento, antioxidante, regulador del calcio	Apoptosis celular y citoprotección	
			<i>Edema cerebral, hipoxia, hipoglucemia, tumores (meduloblastomas, gliomas de alto grado y glioblastomas), enfermedades inflamatorias del SNC (MOD, influenza)</i>	
Glucosa	3,43 3,80	Sustrato energético básico	Hiperglucemias	Meningitis bacterianas y fúngicas en humanos, meningiomas difusos

RMN (ppm): frecuencia de resonancia en partes por millón.

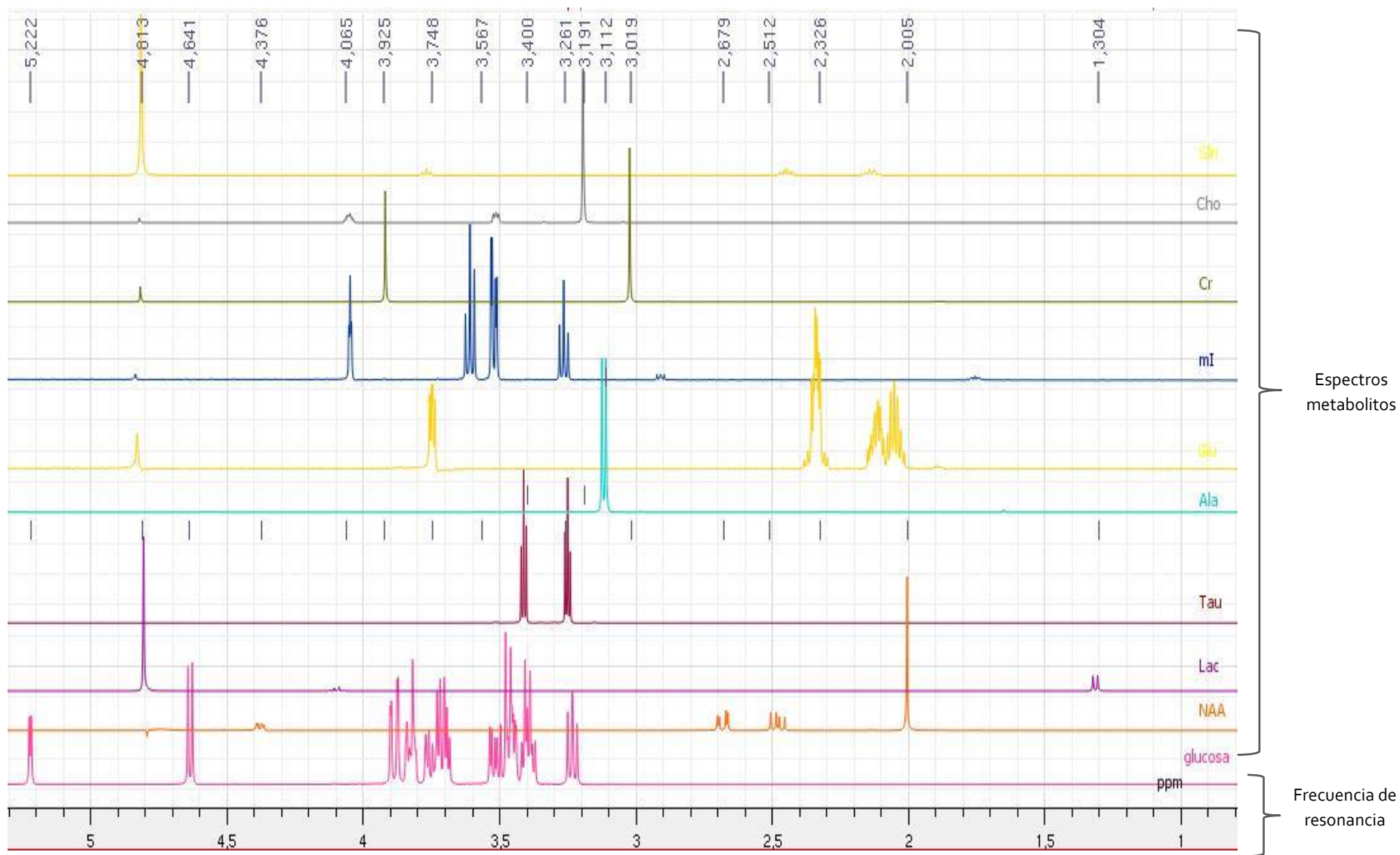


Fig 5. Espectrogramas de los principales metabolitos en LCR y sus frecuencias de resonancia.

4 OBJETIVOS

El objetivo principal de esta tesis doctoral es identificar los factores que puedan tener alguna influencia en el pronóstico y la supervivencia de perros con meningoencefalitis de origen desconocido. Para ello se han planteado los siguientes objetivos específicos:

- Valorar la influencia de la raza, peso, sexo y edad.
- Evaluar los signos clínicos, hallazgos de resonancia magnética, análisis sanguíneo, análisis de líquido cefalorraquídeo y tratamientos recibidos previos y posteriores al diagnóstico, y analizar su posible relación con la evolución de la enfermedad y supervivencia.
- Establecer si las concentraciones de lactato, tanto sanguíneo como en líquido cefalorraquídeo, pueden ser determinantes en el pronóstico.
- Identificar los principales biomarcadores en líquido cefalorraquídeo mediante espectroscopia por resonancia magnética nuclear realizada a través de la determinación del hidrógeno y estudiar su posible valor pronóstico.

5 MATERIAL Y MÉTODOS

Con el fin de alcanzar los objetivos propuestos, se ha diseñado un estudio clínico prospectivo con perros diagnosticados de MOD en la consulta de Neurología del Hospital Clínico Veterinario Complutense (HCVC) entre marzo de 2010 y abril de 2017 (grupo MOD); para comparar los resultados, se estableció un grupo control formado por perros diagnosticados de epilepsia idiopática en el HCVC entre marzo 2014 y mayo de 2016 (grupo EI). Este estudio contó con el consentimiento informado de todos los propietarios de los pacientes implicados.

5.1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Para que un paciente fuera incluido en el grupo MOD era necesario que cumpliera los criterios diagnósticos basados en los datos de estudio aportados en el meta-análisis realizado por *Granger et al.*, en 2010⁶⁰. De esta forma, para que un paciente fuera incluido en el estudio, debía cumplir las siguientes condiciones:

1. Edad superior a 6 meses.
2. Exploración física completa normal.
3. Exploración neurológica completa (estado mental, marcha, propiocepción, pares craneales, reflejos espinales y palpación de raquis) compatible con signos focales o multifocales de alteración del SNC.
4. Parámetros analíticos sanguíneos básicos (hemograma completo, niveles plasmáticos de proteínas totales, urea, creatinina, alanina aminotransferasa y glucosa) dentro de rango de referencia.
5. Ausencia de enfermedades infecciosas endémicas: *Leishmania infantum* y *Ehrlichia canis*.
6. Presencia de alteraciones en el estudio de RM (intracraneal /cervical/ toracolumbar: lesiones hiperintensas potenciadas en T2) y/o el análisis del LCR compatibles con MOD.
7. Ausencia de agentes infecciosos en LCR: moquillo canino, *Leishmania infantum*, *Toxoplasma gondii* y *Neospora caninum*.
8. Poseer determinación de concentración de lactato en LCR.
9. Disponer de información de la evolución del paciente al finalizar el estudio.
10. En los pacientes con confirmación histopatológica de MOD sólo necesitan poseer determinación de lactato en LCR para ser incluidos en el estudio.

Los criterios de inclusión del grupo EI se basaron en el consenso de la International Veterinary Epilepsy Task Force³¹⁴⁻³¹⁷:

1. Perros que hubieran sufrido su primera convulsión entre los 6 meses y los 6 años.
2. Exploración física completa normal.
3. Exploración neurológica completa (estado mental, marcha, propiocepción, pares craneales, reflejos espinales y palpación de raquis) sin alteraciones
4. Parámetros analíticos sanguíneos (hemograma completo, niveles plasmáticos de proteínas totales, urea, creatinina, alanina aminotransferasa, glucosa, colesterol, sodio, cloro, potasio, calcio, ácidos biliares, fosfatasa alcalina, T₄t y TSH) dentro de rango de referencia.
5. Ausencia de enfermedades infecciosas endémicas: *Leishmania infantum* y *Ehrlichia canis*.
6. Ausencia de alteraciones en RM intracraneal y en el análisis de LCR.
7. Ausencia de agentes infecciosos en LCR: moquillo canino, *Leishmania infantum*, *Toxoplasma gondii* y *Neospora caninum*.

5.2. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

Los criterios de exclusión del estudio para el grupo MOD fueron:

1. Ausencia de seguimiento del paciente.
2. Presencia de otras enfermedades concomitantes.

Los criterios de exclusión en el grupo EI fueron:

1. Presencia de convulsiones los 15 días previos a la realización de la RM y análisis de LCR.
2. Padecer cualquier otra patología desde el diagnóstico hasta la finalización del estudio.
3. No permanecer vivos al finalizar el estudio.

5.3. PROTOCOLO DE TRABAJO

En los pacientes atendidos en la consulta de Neurología del HCVC susceptibles de formar parte del grupo MOD (o del grupo control) en base a los hallazgos clínicos y de la exploración neurológica se realizó el siguiente protocolo de trabajo:

5.3.1. Analítica sanguínea

El estudio analítico se realizó en el Servicio de Biopatología Clínica del HCVC.

- Hemograma: los parámetros del hemograma se obtuvieron en un analizador hematológico basado en la tecnología de la citometría de flujo laser (ADVIA 120®, Siemens Healthineers, Munich, Alemania). El recuento diferencial leucocitario se realizó a partir de un frotis sanguíneo.
- Perfil bioquímico: La valoración de la concentración plasmática de urea, creatinina, glucosa, colesterol y alanino aminotransferasa (ALT) se realizó con técnicas de química seca y espectrofotometría de reflectancia (Sistema Reflotron®, Roche Diagnostics, Mannheim, Alemania). Para determinar la concentración sérica de calcio y fosfatasa alcalina se emplearon técnicas de química líquida espectrofotométricas (O-cresoftaleína complexona y p-nitrofenol fosfato cinético, respectivamente) en kits comerciales (Randox, Cruilin, Irlanda). Los ácidos biliares totales se valoraron mediante la técnica enzimática cíclica espectrofotométrica (técnica de ácidos biliares de 5ª generación, Diazyme Lab, Poway, California) y las proteínas plasmáticas totales (sólidos totales) por refractometría (Clinical refractometer® Atago, Tokyo, Japón). El ionograma (sodio, potasio, cloro) se obtuvo en un analizador iónico selectivo (Microlyte 3+2® ThermoFisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA). La determinación de proteínas totales se realizó mediante química líquida (Técnica Biuret).
- Perfil Tiroideo: las concentraciones plasmáticas de tiroxina (T₄ total) y tirotropina (TSH) se determinaron mediante inmunoensayos quimioluminiscentes en el analizador Immulite 1000® (Siemens Healthineers, Munich, Alemania) validados para la especie canina.

5.3.2. Estudio de inmunofluorescencia indirecta en plasma o suero para descartar enfermedades endémicas (*Leishmania infantum* y *Ehrlichia canis*)

El estudio se realizó en el HCVC en el Servicio de Diagnóstico de Ehrlichiosis y Leishmaniosis Canina de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Complutense de Madrid. Para la determinación de *E.canis* las diluciones empleadas fueron 1:40, 1:80, 1:160 y 1:320 y para *L. infantum*, 1:50, 1:100, 1:200 y 1:400. Los controles positivos de *E. canis* y *L. infantum* procedían de la seroteca de dicho servicio. La lectura de se realizó empleando un microscopio de epifluorescencia Olympus BH-2® (Olympus Imaging America Inc., Center Valley, Pennsylvania, Estados Unidos) con filtro azul, empleando el objetivo de 40X aumentos. Se consideraron positivos a leishmaniosis los animales con títulos de anticuerpos $\geq 1/100$, y positivos a erlichiosis los títulos $\geq 1/80$.

5.3.3. Procedimiento anestésico

Para realizar el estudio de RM y la extracción de LCR, los pacientes fueron anestesiados por el equipo clínico del Servicio de Anestesiología del HCVC. Para establecer el protocolo anestésico, los pacientes se dividieron acorde a la clasificación de la American Society of Anesthesiologists (ASA)³¹⁸ de esta forma:

- Pacientes ASA I-II: premedicación con medetomidina (0,005-0,01 mg/kg) [Domtor® (1mg/ml. 10 ml), ESTEVE. Laboratorios Dr. Esteve, Barcelona] + metadona (0,3 mg/kg) intramuscular [Metasedin® (10mg/ml. 1ml), ESTEVE. Laboratorios Dr. Esteve, Barcelona]; inducción con propofol (1-3 mg/kg) [Vetofol® (10 mg/ml. 50 ml), ESTEVE. Laboratorios Dr. Esteve, Barcelona] mantenimiento con anestésico inhalatorio isoflurano (1-2%) [ISOFLO® (100% p/p. 250 ml), ESTEVE. Laboratorios Dr. Esteve, Barcelona].
- Pacientes ASA III-IV-V: premedicación con metadona (0,3 mg/kg) y/o midazolam (0,3 mg/kg) intramuscular [Dormicum® (15mg/3ml. 5 ml), Roche S.A., Barcelona]; inducción y mantenimiento como ASA I-II.

Durante la anestesia, todos los pacientes recibieron oxigenoterapia al 100%, ventilación mecánica [Matrx® VMS, Midmark Animal Health, UK; Ventilador Hallowell® EMC Modelo

2000], fluidoterapia con solución Ringer Lactato (5-10 ml/kg/h) [Fisiovet® (500ml), BBraun, VetCare S.A., Barcelona] y monitorización de frecuencia cardiaca, presión arterial no invasiva [PetMap® Graphic II, Ramsey Medical Inc., USA], pulsioximetría [Pulsioxímetro Oxy 3 Gima] y capnografía [Vamos®, Dräger, Germany].

5.3.4. Protocolo de RM

La RM se realizaron en el equipo Panorama 0.23T® (Philips Medical Systems, Países Bajos) del Servicio de Diagnóstico por la Imagen del HCVC. El protocolo empleado fue:

- Secuencia TSE - T2 (Turbo Spin Echo potenciada en T2) en plano sagital.
- Secuencia TSE - T2 (Turbo Spin Echo potenciada en T2) en plano transversal.
- Secuencia FLAIR (Fluid Attenuation Inversion Recovery) en plano transversal.
- Secuencia FFE3D - T2* (Fast Field Echo tridimensional potenciada en T2*) en plano transversal.
- Secuencia SE - T1 (Spin Echo potenciada en T1) en plano transversal.
- Secuencia SE - T1 (Spin Echo potenciada en T1) en plano dorsal.
- Postcontraste: Secuencia SE - T1 (Spin Echo potenciada en T1) en plano transversal
- Postcontraste: Secuencia SE - T1 (Spin Echo potenciada en T1) en plano dorsal.

(Contraste con gadolinio [Gadoteridol. Prohance® (Sol. 279,3 mg/ml), Laboratorios Rovi, Madrid] (0,1mmol/Kg).

5.3.5. Toma de muestra de LCR

Después del estudio de RM, el personal de la Consulta de Neurología del HCVC procedió a la extracción del LCR siguiendo siempre el mismo procedimiento. Con el paciente bajo anestesia general inhalatoria y colocado en decúbito lateral, se preparó asépticamente la región atlanto-occipital (rasurado y lavados con clorhexidina +/- etanol). Se elevó la nariz del paciente hasta situar el plano sagital del morro paralelo a la mesa, se flexionó completamente el cuello y se estiraron los pabellones auriculares rostralmente. La inserción de la aguja se efectuó en el centro del triángulo delimitado por la protuberancia occipital y los puntos más prominentes

de las alas del atlas (cisterna cerebelomedular)⁴¹. La extracción de la muestra se realizó con aguja espinal de 21 gauge y media pulgada, recolectándose 1,5- 2 ml de LCR en tubos de EDTA [EDTA 3K®, Aquisel K3E, BD Diagnostic Systems, Argentina] y alicuotas en criotubos sin medio; durante todo el procedimiento, se mantuvieron condiciones de esterilidad (Fig. 6.a, 6.b y 6.c).

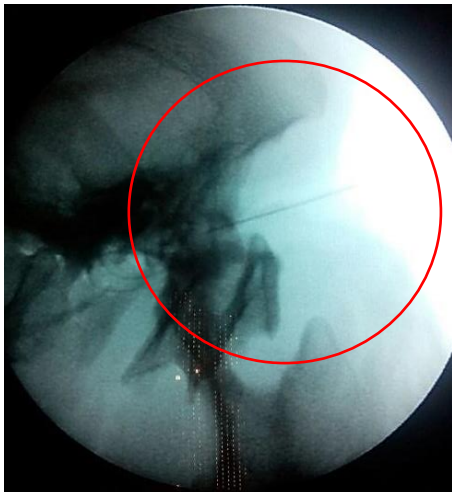


Fig. 6a. Referencias anatómicas para la extracción de LCR.



Fig. 6b. Guantes estériles y aguja espinal de 21 gauge y 1/2



Fig. 6c. Recolección de muestra de LCR en tubo de EDTA.

5.3.6. Análisis LCR

5.3.6.1. Análisis básico LCR: el LCR fue procesado en el Laboratorio de Biopatología Clínica del HCVC en un intervalo nunca superior a 30 minutos desde su obtención. En cada muestra se realizó un recuento de células totales y RTCN en un hemocitómetro (Neubauer improved®, Brand), así como un recuento diferencial de células nucleadas (neutrófilos, linfocitos, linfoblastos, monocitos y eosinófilos) y un estudio morfológico de las células a partir de una preparación citológica. Para ello, se depositó en citoconos el volumen de LCR necesario para obtener en un portaobjetos una monocapa de 80×10^3 células, siempre que la concentración de células lo permitiera, con suero heterólogo canino al 20%, centrifugándose posteriormente a 800 rpm, 10 min (Cytospin3®, ThermoFisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA)). Las preparaciones citológicas se tiñeron con May-Grünwald-Giemsa. La concentración de proteínas totales se realizó mediante técnica espectrofotométrica del Rojo de Pirogalol, Randox, Crumlin, Irlanda.

5.3.6.2. Enfermedades infecciosas en LCR: se realizaron PCR en LCR de moquillo canino, *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, *Leishmania infantum* en el Laboratorio del Grupo de Investigación de la UCM "Epicontrol- Carnívoros" y en Laboratorio de diagnóstico clínico veterinario LABOKLIN GmbH & Co. KG (Alemania).

En el Laboratorio del Grupo de Investigación de la UCM "Epicontrol- Carnívoros" se empleo el siguiente protocolo:

- *Leishmania infantum*: la extracción de ADN se realizó mediante el kit QIAamp DNA Mini Kit[®] (QIAGEN) siguiendo los protocolos definidos por el fabricante. Todos los productos de la PCR fueron sometidos a una electroforesis en gel de agarosa D1 Low EEO al 1,5% en tampón TAE 1x (Roche 10X). Para su visualización se empleó SYBR 10000X (Invitrogen, España) y un transiluminador de Bio-RAD. Las muestras con un tamaño de 353 pb fueron consideradas positivas a ADN de *Leishmania*.
- *Toxoplasma gondii*: este estudio se llevó a cabo mediante la amplificación de una secuencia del gen B1 de *T. gondii*, repetido 35 veces en el genoma del parásito y conservado en las diferentes cepas. Esta PCR consta de dos amplificaciones consecutivas, en la segunda de las cuales se utiliza como muestra el producto amplificado de la primera. Los productos de PCR se analizaron tras una electroforesis en gel de agarosa (BIO-RAD) al 2% en tampón TBE y al que se añadió bromuro de etidio (10 mg/ml) en una cubeta de electroforesis horizontal SUB-CELL[®]GT (BIO-RAD). Los productos así teñidos se visualizaron con luz ultravioleta mediante el sistema Gel Doc 2000 (BIO-RAD) utilizando el programa Quantity One 4.4.0 (BIO-RAD).
- *Neospora caninum*: la detección del ADN se llevó a cabo mediante una PCR anidada para la región del ITS1 de *N. caninum*. En todas las reacciones se utilizaron como testigo positivo el ADN obtenido de taquizoítos de *N. caninum* y como negativo agua ultrapura estéril. Los productos resultantes de la segunda amplificación de la PCR anidada (210 pb), se visualizaron en un gel de agarosa al 1,8-2% teñido con bromuro de etidio (0,1 µg/ml). En cada pocillo del gel se añadieron 15 µl del producto amplificado en solución

de carga para ADN. Como marcador de tamaño molecular se utilizó un patrón de ADN comercial (DNA Ladder 1Kb plus, Gibco-BRL o DNA Ladder 100 pb, Biotools). El ADN se visualizó con luz ultravioleta.

Tanto para *N. caninum* como para *T. gondii* la presencia de un fragmento de 194 pb en la primera PCR indicó un resultado positivo a confirmar en la segunda amplificación. La presencia de un fragmento de 214 pb indicó la amplificación del control interno, correspondiente a la zona amplificada del gen 3.3 de la histona felina. El producto amplificado en la segunda PCR se consideró positivo si aparecía una banda de 97 pb.

En el Laboratorio de diagnóstico clínico veterinario LABOKLIN GmbH & Co. KG se empleo el siguiente protocolo:

- *Virus moquillo canino*: Method: TaqMan real time PCR; Target: N-protein encoding gene
- *Neospora caninum*: Method: TaqMan real time PCR; Target: Nc5 gene
- *Toxoplasma gondii*: Method: TaqMan real time PCR; Target: 529-bp repeat element gene

5.3.6.3. Determinación de biomarcadores: se determinaron los siguientes biomarcadores:

- **Lactato en sangre completa y en LCR:** Inmediatamente después de la extracción de LCR, se obtuvo una muestra sanguínea de 1 ml por venopunción yugular. A continuación, se determinaron los niveles de lactato en LCR (L-LCR) y sangre completa (L-SANG) mediante un Lactatímetro Accutrend Analyzer Roche® (Fig.7).



Fig 7. Accutrend Analyzer Roche®. Determinación de L-LCR y L-SANG

- **Alanina, colina, creatina, glucosa, glutamato, glutamina, lactato, lípidos, mioinositol, N-acetil-aspartato, taurina mediante espectroscopia "in vitro" de LCR ^1H NMR:** Previo al análisis se dejó que las muestras congeladas alcanzaran temperatura ambiente (aproximadamente 20 min). Las muestras se prepararon poniendo en un capilar de 3mm una alícuota de 120 μL de LCR y 60 μL de una disolución 0.1 mM de ácido trimetilsilil propionato- TSP en deuterio20- D_{20} . Los análisis de protón se realizaron en el CAI de RMN de la UCM en el equipo Bruker AV500 equipado con una sonda de detección inversa TXI con gradientes en z. Las muestras se registraron a 298K en capilares de 3mm. Los espectros fueron adquiridos y procesados utilizando el software de Bruker Topspin 2.1 pL8. La secuencia de pulsos utilizada es la secuencia de presaturación de Bruker: noesypr1d. Los principales parámetros de adquisición son 256 acumulaciones, ventana espectral de 15 ppm con un tiempo de relajación de 5s.

La base de datos empleada para identificar los metabolitos fue *Biological Magnetic Resonance Data Bank* (<http://bmr.b.wisc.edu/>)

El procesamiento de imágenes de espectros se realizó con el programa NMRnotebook 2.80[®] 2000-2011 NMRTEC S.A.S.

5.4. TRATAMIENTO

En todos los pacientes en los que se instauró tratamiento, el fármaco común fue prednisona vía oral administrado según el siguiente protocolo:

- 1,5- 2 mg/kg/24h durante 4 semanas.
- 1 mg/kg/24h durante 4-6 semanas.
- 0,75 mg/kg/24h durante 4-6 semanas.
- 0,5 mg/kg/24h durante 4-6 semanas.
- 0,25 mg/kg/24h durante 4-6 semanas.
- 0,25 mg/kg/48h durante 4-6 semanas.
- 0,25 mg/kg/72h durante 4- 6 semanas.

- 0,1 mg/kg/72h durante 4-6 semanas.
- Suspensión.

La disminución de la dosis se realizó siempre que fuera posible, si no había empeoramiento de los signos clínicos, hasta suspender la administración del fármaco. Si el paciente presentaba signos de recaída, tras una reducción de la dosis, se reiniciaba el tratamiento con la dosis inmediatamente anterior y se buscaba la dosis mínima efectiva.

El tratamiento con prednisona se completó si era necesario con:

- Arabinósido de citosina [Citarabina[®]. Polvo y disolv. para sol. iny. 500 mg. Laboratorio PFIZER] a una dosis de 50 mg/m²/12h subcutánea durante 2 días. Se realizaron 4 ciclos cada 3 semanas para, posteriormente, ir espaciando los mismos a 4 ciclos cada 4 semanas, 4 ciclos cada 5 semanas, 4 ciclos cada 6 semanas y así sucesivamente²⁰⁸.
- Ciclosporina [Atopica[®] 25 mg, cápsulas; Laboratorio NOVARTIS] a razón de 5 mg/kg/12h vía oral Se realizó una reducción paulatina de un 25% mensualmente hasta suspender o alcanzar la dosis mínima efectiva.

5.5. SEGUIMIENTO

En función de la respuesta al tratamiento, los pacientes se clasificaron como curados (animal libre de enfermedad sin tratamiento), estables con tratamiento (animal sin signos graves de enfermedad, pero que necesita tratamiento médico crónico), sin respuesta al tratamiento (ausencia de respuesta favorable en 1 mes).

Se registraron los pacientes que presentaron recaídas de la enfermedad por reaparición de los signos clínicos después de un período de mejoría.

Se analizó el tiempo de supervivencia de los pacientes a nivel global y a los 7 días y se registró si la causa de fallecimiento fue la MOD o debido a otras causas no relacionadas.

Todos los datos obtenidos de los pacientes y los resultados del plan de trabajo realizado se registraron en una base de datos diseñada con el programa Microsoft Excel versión

14.0.7182.5000; Microsoft Office Professional Plus® 2010. Se elaboró una base de datos con los siguientes parámetros:

- Paciente: raza, peso, sexo, edad en años, peso en kg.
- Analítica sanguínea: antigüedad inferior a 1 mes. Hematocrito (%), proteínas totales (g/dl), leucocitos, (células/ μ L), neutrófilos (células/ μ L), cayados (células/ μ L) y lactato (mg/dl).
- Signos clínicos: presencia o ausencia de alteración mental, alteración del comportamiento, convulsiones, signos multifocales, déficit visual, alteración de otros pares craneales, marchas en círculo, *pressing*, alteración cerebelar, dolor cervical, dolor en otros puntos de raquis, hemiparesia, paraparesia y/o tetraparesia; se registró, además, la duración de los signos clínicos previos al diagnóstico en días.
- Hallazgos de RM: presencia o ausencia de lesión focal, difusa o multifocal, desplazamiento de la línea media, efecto masa, ventriculomegalia, lesión encefálica, lesión en tronco encefálico, lesión cerebelar, lesión medular, herniación cerebral, herniación transtentorial, herniación foramen magno, captación de contraste lesional, captación de contraste meníngeo, pérdida surcos cerebrales, afectación de fosa rostral, afectación de fosa caudal, síndrome de Chiari, siringohidromielia, afectación de sustancia blanca, afectación de sustancia gris y edema perilesional.
- Análisis de LCR:
 - Análisis básico: proteínas totales (mg/dl), RTCN (cél/ μ l), neutrófilos (%), neutrófilos degenerados (%), linfocitos (%), linfocitos activados (%), linfoblastos (%), monocitos (%), monocitos activados (%), eosinófilos (%).
 - Biomarcadores: alanina, citrato, colina, creatina, glucosa, glutamato, glutamina, lactato, N-acetilaspártato, mioinositol, lípidos, taurina, valina.
- Tratamiento:
 - Fármacos empleados (prednisona + arabinósido de citosina (grupo A); prednisona +/- ciclosporina (grupo B); sin tratamiento (grupo C)).
 - Tratamiento previo al diagnóstico.
 - Tratamiento corticoide previo al diagnóstico.

- Respuesta inicial al tratamiento (respuesta favorable en 48h).
 - Presencia de recaída.
 - Respuesta global al tratamiento: curado, estable con tratamiento y sin respuesta al tratamiento.
- Supervivencia (días).
- Causa de la muerte: MOD o no relacionada.

Sólo en tres pacientes se pudo repetir la RM y análisis de LCR de control a los 8 meses del diagnóstico con el fin de suspender el tratamiento instaurado. En estos pacientes se realizó el mismo protocolo que en el inicio del diagnóstico y se analizaron las mismas variables.

5.6. EUTANASIA

En 6 pacientes se practicó la eutanasia humanitaria en función de los hallazgos de RM y estado general del paciente. La eutanasia se realizó con Pentobarbital sodico 20 g [Dolethal[®]. Laboratorio VÉTOQUINOL E.V.S.A.]. El análisis de LCR en estos pacientes, previo consentimiento informado de los propietarios, se llevó a cabo recién eutanasiados con una demora nunca superior a 10 segundos desde la parada cardiorrespiratoria de los pacientes. No se realizó con los pacientes vivos para evitar complicaciones derivadas de la técnica. El análisis de L-SANG en estos pacientes siempre se realizó con los pacientes vivos.

5.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico se realizó en el Centro de Cálculo UCM (SITIO). El paquete estadístico empleado fue Statistical Package for the Social Science (SPSS) versión 22 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) y SAS versión 9.4 (SAS Institute, Inc., Cary, NC, USA).

Se realizó un análisis descriptivo que incluye media, desviación estándar (DS), máximo, mínimo y mediana de las variables cuantitativas (edad, tiempo de supervivencia, parámetros

sanguíneos [hematocrito, lactato, proteínas totales plasmáticas, recuentos de glóbulos blancos y cayados, lactato] y parámetros en LCR [lactato, proteínas totales, RTCN y recuento diferencial]). En el análisis descriptivo de las variables categóricas se evaluó la frecuencia y porcentaje de:

- Signos clínicos y hallazgos de RM enumerados previamente.
- Tratamiento: tipo de tratamiento, tratamiento previo al diagnóstico, tratamiento con corticoides previo al diagnóstico, respuesta favorable al tratamiento en 48h, respuesta global al tratamiento (curado, estable con tratamiento y desfavorable).
- Recaídas.
- Vivo al finalizar el estudio.
- Muerte por MOD.

Las comparaciones entre variables se realizaron mediante el test de suma de rangos de Wilcoxon, test Kruskal Wallis, test de Chi-cuadrado y el coeficiente de correlación de Spearman. En el test de Spearman se considera las siguientes correlaciones: fuerte-perfecta (0,76-1,0), moderada-fuerte (0,51- 0,75), débil (0,26-0,5), escasa o nula (0- 0,25).

Se evalúa el tiempo de supervivencia global y a los 7 días con las correspondientes curvas de Kaplan- Meier para todas las variables; en la variable L-LCR y L- SANG se realiza punto de corte en 4 mmol/L, en proteínas totales en LCR en 30 mg/dl y en RTCN en 100 cel/ μ l.

En todos los casos, se consideró que los resultados son estadísticamente significativos si $p < 0,05$.

6 RESULTADOS

6.1 ANÁLISIS DESCRIPTIVO

En el estudio se incluyen un total de 56 perros. 45 pertenecen al grupo objeto de estudio (grupo MOD) y 11 al grupo control (grupo EI).

6.1.1 Grupo EI (N= 11)

6.1.1.1 Reseña de los pacientes: Este grupo lo constituyen 10 machos y 1 hembra con edades medias de $4,7 \pm 2,6$ años. El peso medio de los pacientes es de $23 \pm 9,48$ kg. Las razas incluidas en este grupo y sus porcentajes son: mestizo (37%), Labrador retriever y Bulldog francés (18%) y Alaskan malamute, Perro de aguas y Pastor alemán (9%).

6.1.1.2 Signos clínicos: el 100% de los pacientes presentaron convulsiones.

6.1.1.3 Hallazgos de RM: sin hallazgos en el 100% de los casos.

6.1.1.4 Análisis sanguíneo: Las medias, DS, mínimos y máximos de los parámetros sanguíneos se resumen en la Tabla 11.

6.1.1.5 Análisis de LCR:

6.1.1.5.1 Análisis básico de LCR: las medias, DS, mínimos y máximos de los parámetros estudiados se resumen en la Tabla 12.

6.1.1.5.2 $^1\text{HNMR}$ metabolitos: en todos los pacientes incluidos en este grupo se pudo realizar esta técnica. Las frecuencias de resonancia de los espectros se muestran en ppm en el eje X. Para facilitar la explicación de los espectros, se ilustran de manera conjunta con los espectros de referencia obtenidos de la Biological Magnetic Resonance Data Bank (<http://bmrw.wisc.edu/>) junto con sus picos (Fig. 8). El espectro del etanol empleado en la desinfección del área de extracción del LCR se muestra en la Fig. 9 y también como parte de los espectros de referencia. El resto de los espectros de resonancia de los pacientes del grupo EI se muestran en las Fig. 10-11

6.1.1.6 Supervivencia: todos los pacientes permanecen vivos al finalizar el estudio (mayo 2017).

Tabla 11. Resultados análisis sanguíneos grupo EI

	N	Media	DS	Mínimo	Máximo
Htc (%)	11	42,6	7,08	35,1	55,2
PT (mg/dl)	11	6,35	1,01	4,5	7,6
SANGRE Glóbulos blancos (cel/ μ l)	11	11.425	7.250	6.100	14.900
Segmentados (cel/ μ l)	11	8.850	2.050	4.270	11.560
Cayados (cel/ μ l)	11	0	0	0	0
Lactato (mmol/L)	11	1,74	0,83	0,9	3,9

Htc: hematocrito; PT: proteínas totales; N: tamaño muestral; DS: desviación estándar.

Tabla 12. Resultados análisis básico LCR grupo EI.

	N	Media	DS	Mínimo	Máximo
Lactato (mmol/L)	11	2,78	0,57	2,10	3,8
PT (mg/dl)	11	24,56	6,43	14,3	30,7
RTCN (cel/ μ l)	11	0,72	0,78	0	2
Neutrófilos (%)	11	na	na	na	na
LCR Linfocitos (%)	11	na	na	na	na
Linfocitos activados (%)	11	na	na	na	na
Linfoblastos (%)	11	na	na	na	na
Monocitos (%)	11	na	na	na	na
Monocitos activados (%)	11	na	na	na	na
Eosinófilos (%)	11	na	na	na	Na

PT: proteínas totales; RTCN: recuento total de células nucleadas; N: tamaño muestral; DS: desviación estándar.

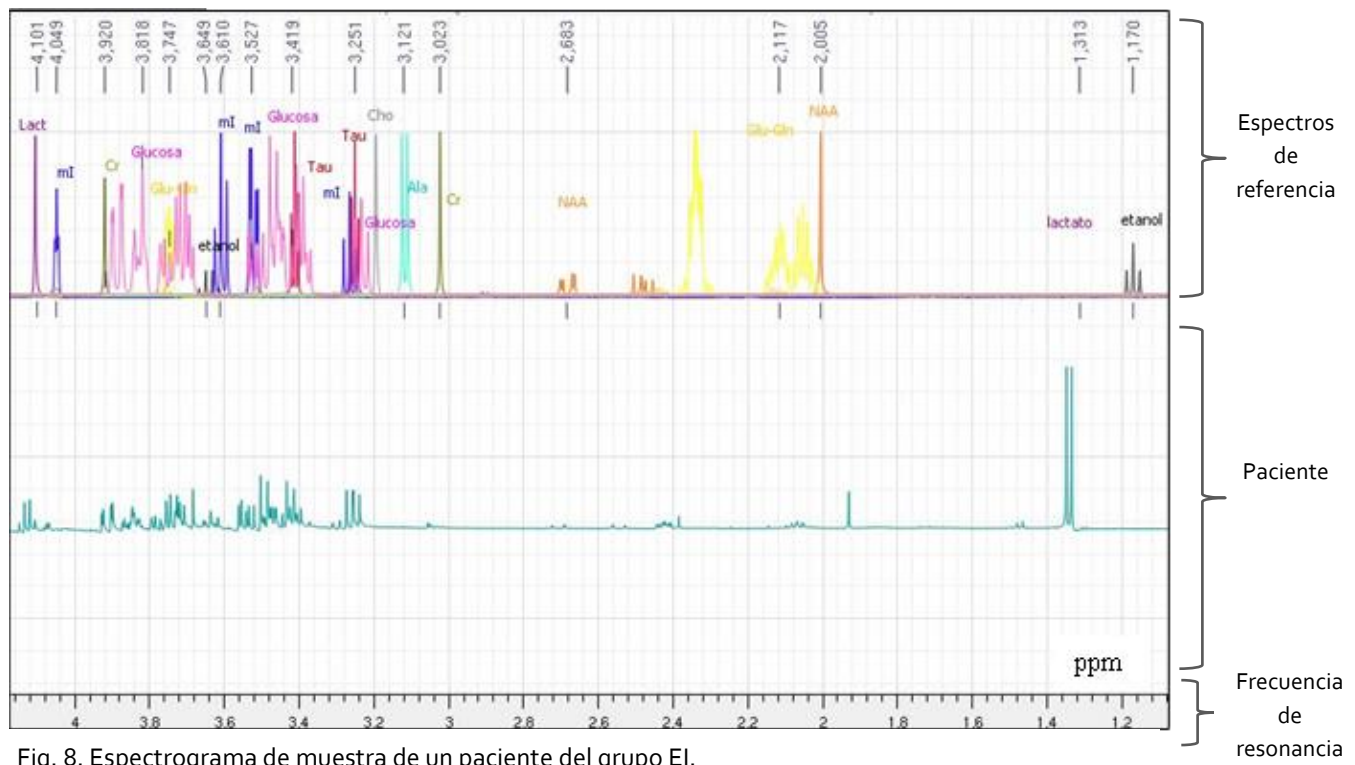


Fig. 8. Espectrograma de muestra de un paciente del grupo EI.

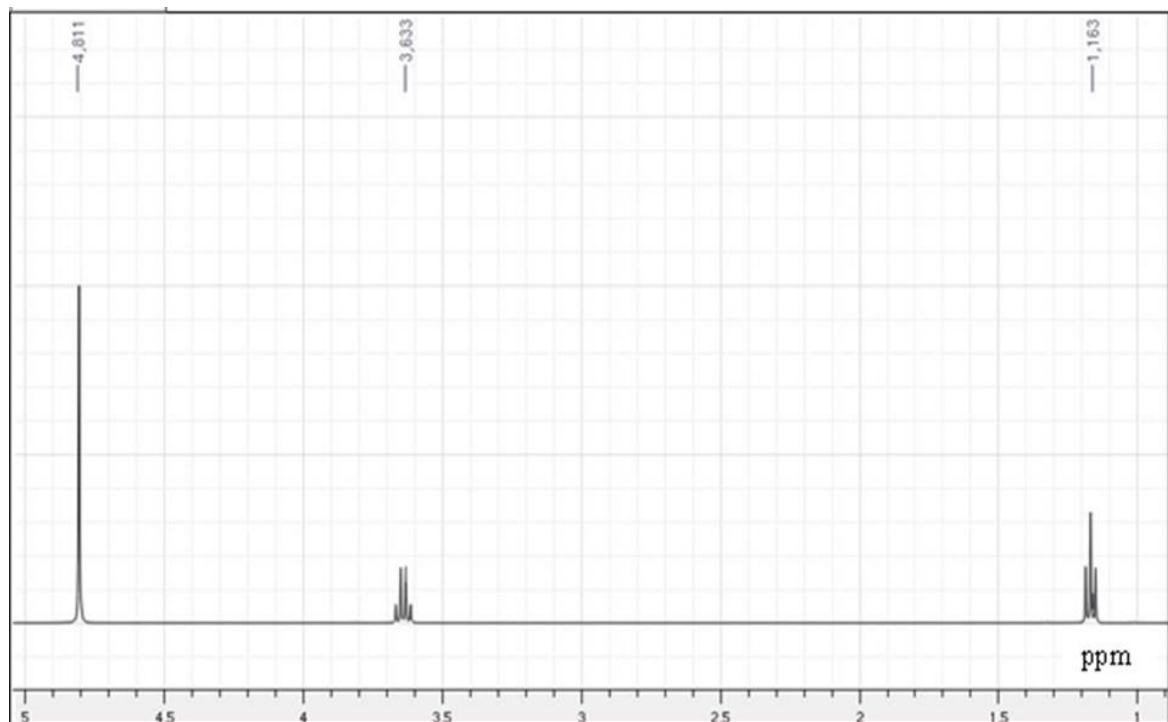


Fig. 9. Espectrograma del etanol.

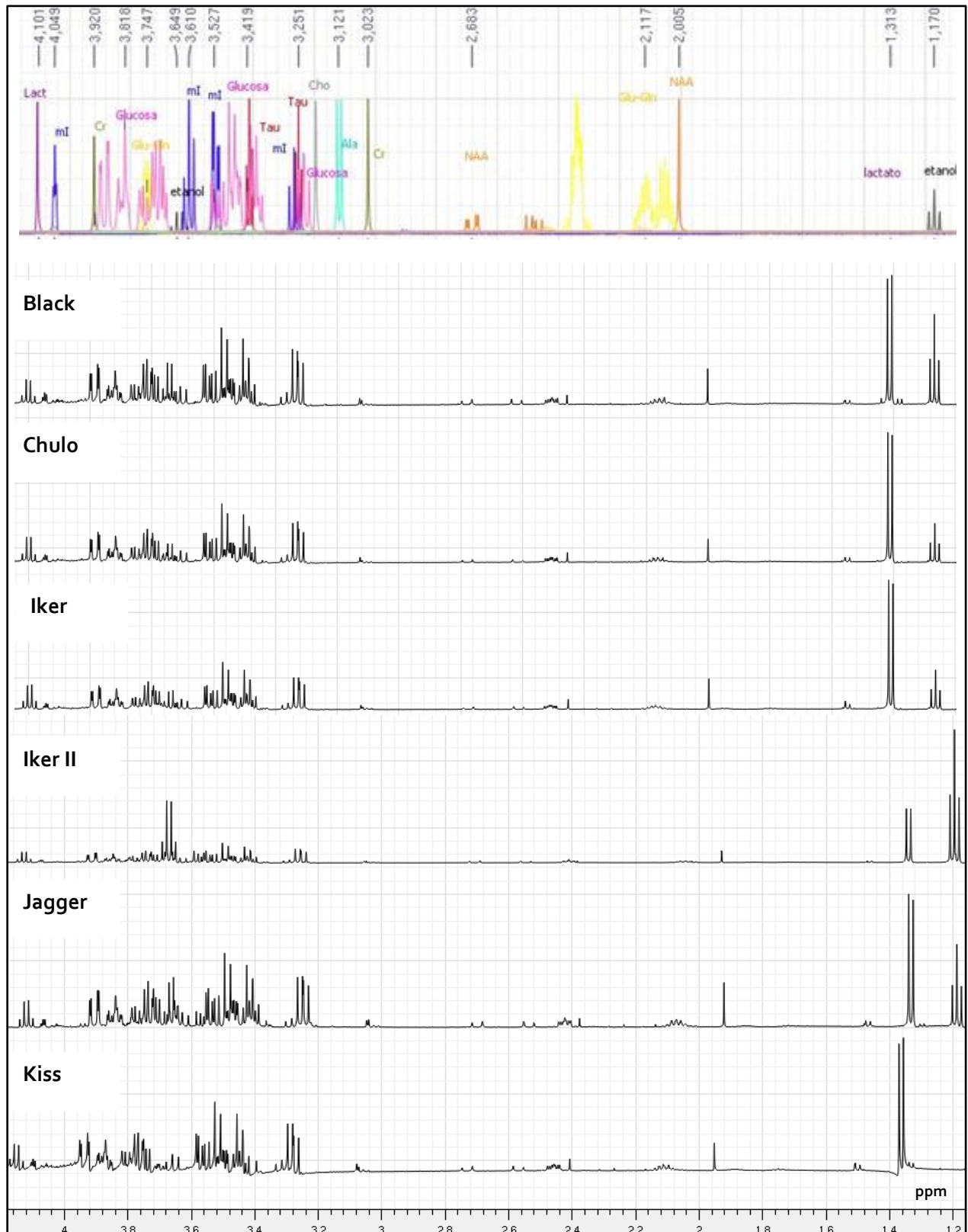


Fig. 10. Espectrogramas de pacientes grupo EI (parte 1)

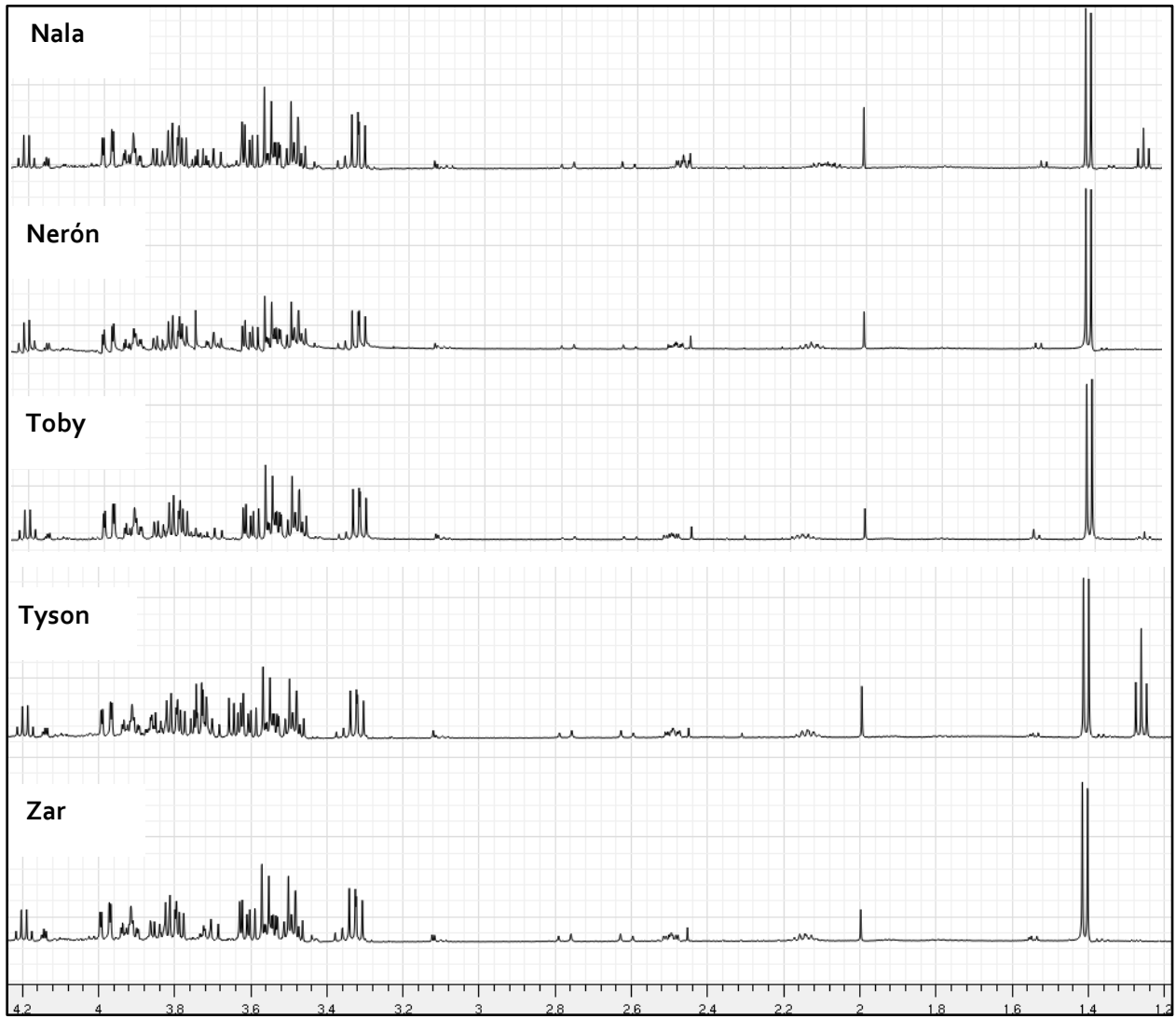


Fig. 11. Espectrogramas de pacientes grupo E1 (parte 2)

6.1.2 Grupo MOD (N= 45)

6.1.2.1 Reseña de los pacientes: Este grupo lo constituyen 20 hembras y 25 machos con edades de $6,6 \pm 3,9$ años y un peso medio de $7,3 \pm 5,5$ kg. Las razas incluidas en este grupo y sus porcentajes se muestran en la Fig. 12.

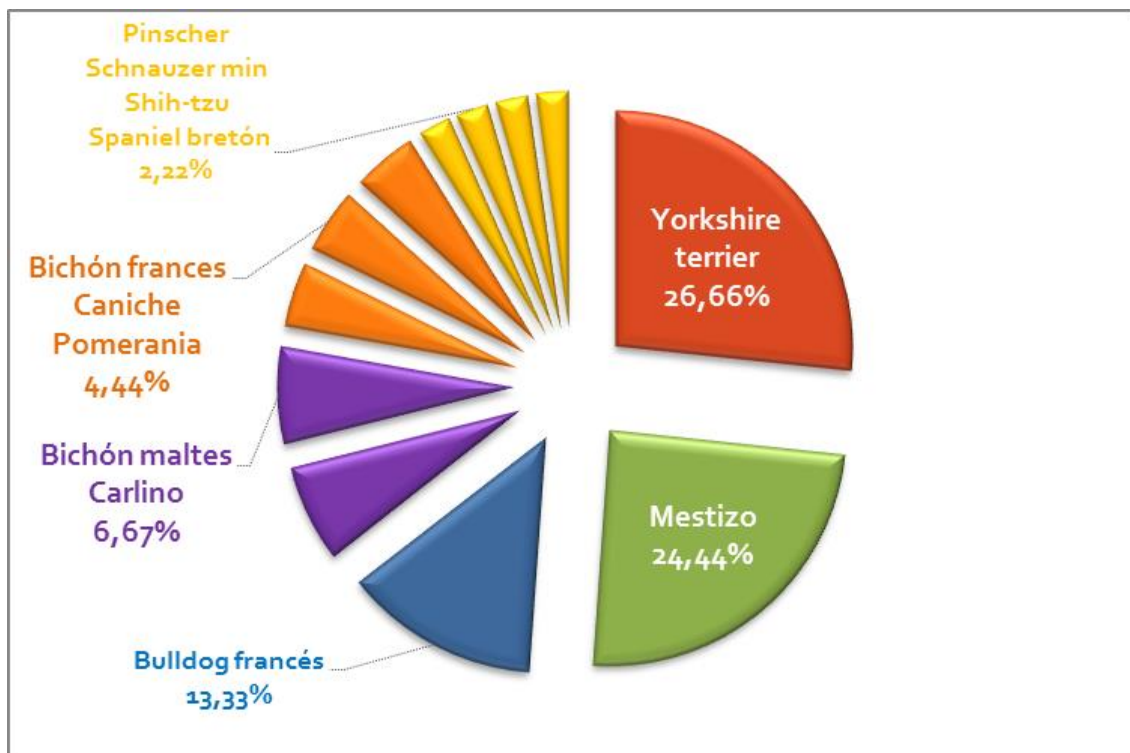


Fig. 12. Razas incluidas en el grupo MOD y sus porcentajes.

6.1.2.2 Signos clínicos: los signos clínicos y sus porcentajes se muestran en la Fig. 13. La duración media de los signos clínicos previos al diagnóstico varió de 1 a 450 días con una media de 10 días.

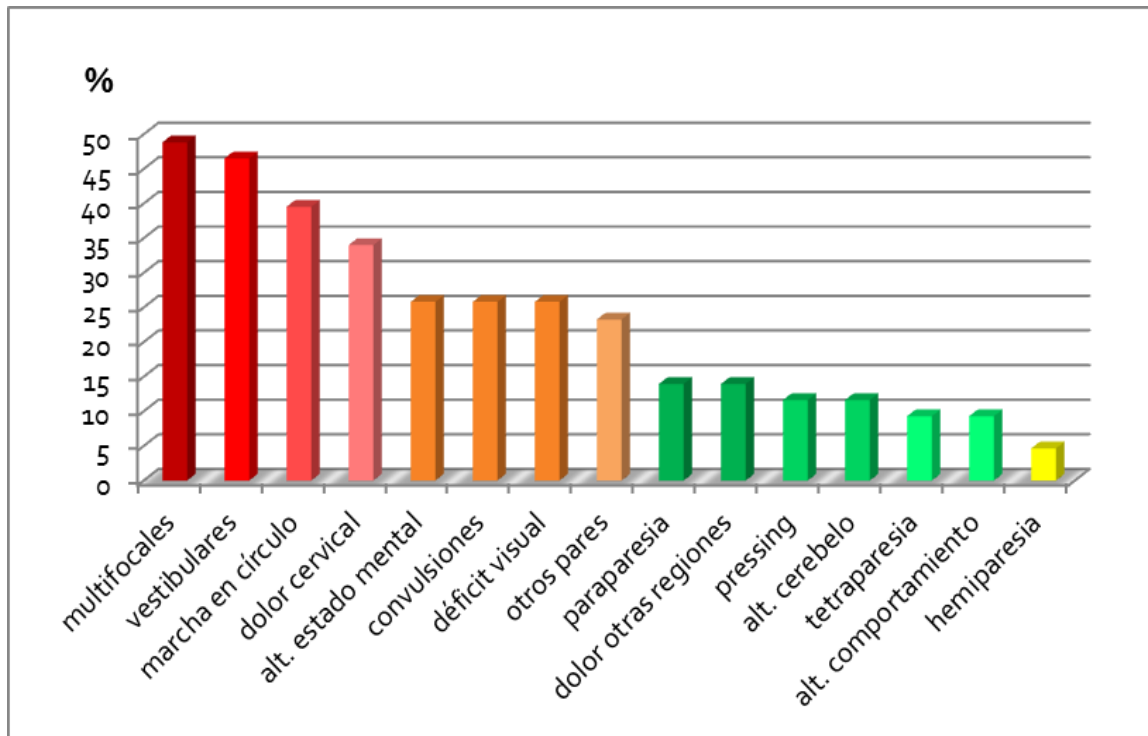


Fig. 13. Tipo y frecuencia de signos clínicos en el grupo MOD

En las Fig. 14- 31 se ilustran los signos clínicos estudiados (todas las imágenes y videos corresponden a pacientes incluidos en el estudio). Para ver los vídeos ha de emplearse un lector de códigos bidi o QR:



Fig. 14. Síndrome vestibular central severo.

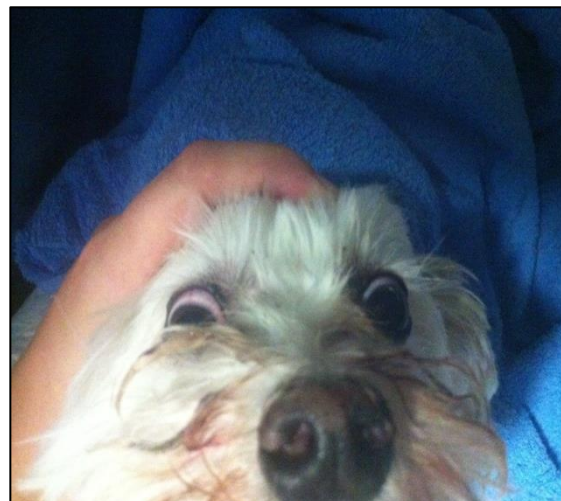


Fig. 15. Estrabismo vestibular ventro- lateral



Fig. 16. Video síndrome vestibular central severo paciente Fig. 14.



Fig. 17. Video nistagmo vestibular vertical.



Fig. 18. Video marcha en círculos y *pressing*.



Fig. 19. Video dolor cervical.



Fig. 20. Video alteración del estado mental (estupor).



Fig. 21. Video convulsiones parciales.



Fig. 22. Video convulsiones tónico-clónicas generalizadas.



Fig. 23. Video ceguera bilateral y midriasis con pupilas arreactivas.

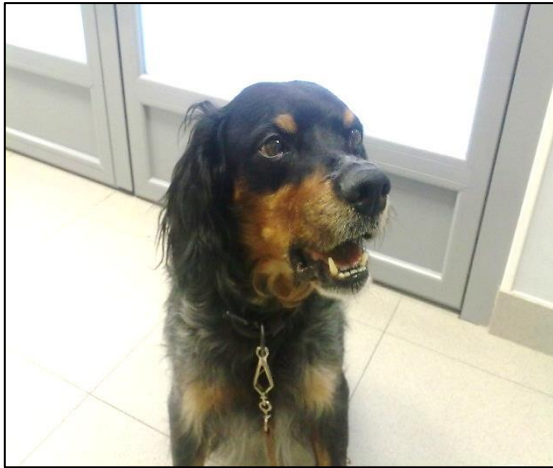


Fig. 24. Otros pares (parálisis bilateral del trigémino).



Fig. 25. Otros pares (anisocoria).



Fig. 26. Video paparesia no ambulatoria. Silla ruedas.



Fig. 27. Video alteración cerebelar (hipermetría).



Fig. 28. Video alteración cerebelar (temblor de intención).



Fig. 29. Video tetraparesia ambulatoria.



Fig. 30. Video alteración del comportamiento.



Fig. 31. Video hemiparesia izquierda.

6.1.2.3 Hallazgos de RM: se realizó RM en 43 de los 45 pacientes. Los principales hallazgos encontrados y sus porcentajes se esquetizan en las Fig. 32- 36.

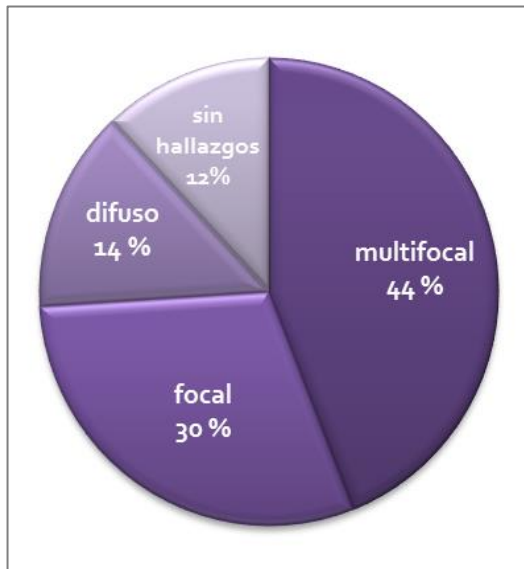


Fig. 32. RM: Distribución de las lesiones.

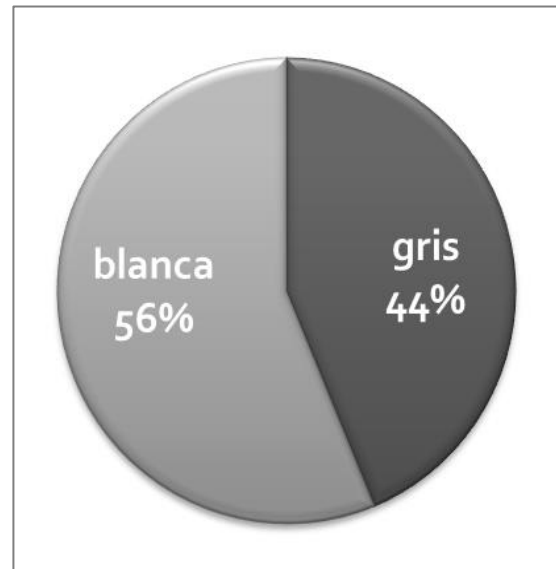


Fig. 33. RM: Afectación de sustancia.

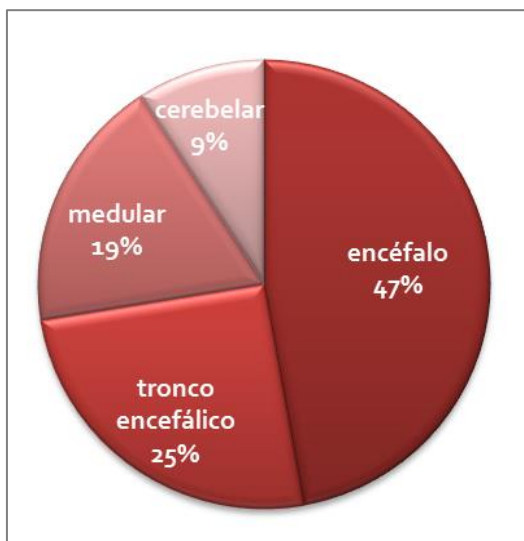


Fig. 34. RM Localización.

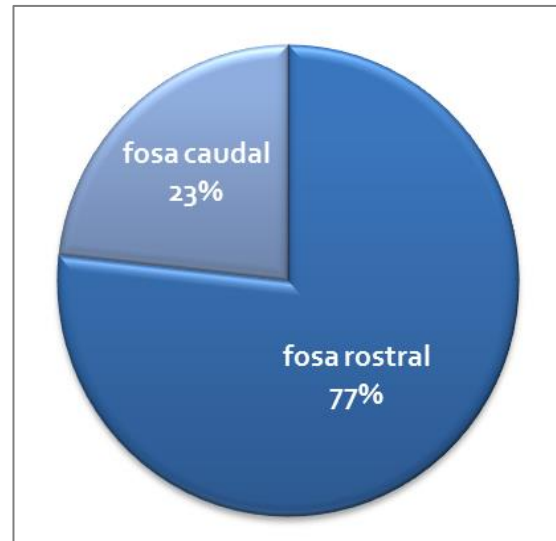


Fig. 35. RM Afectación de fosa.

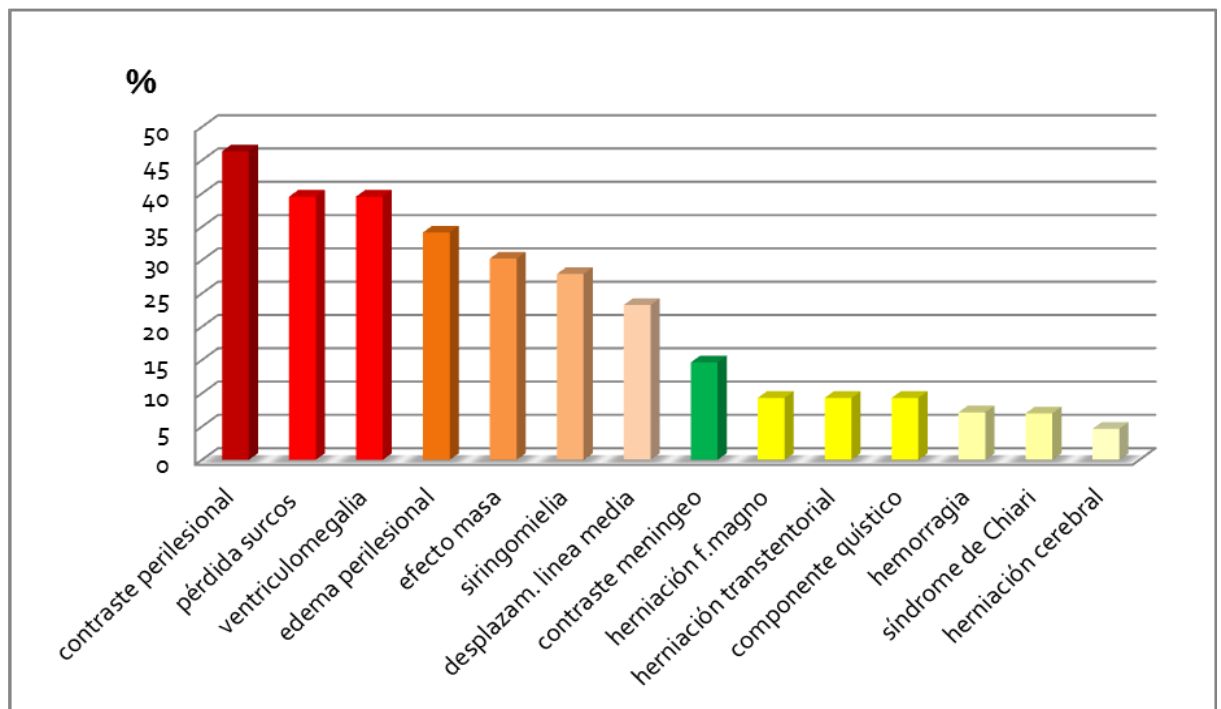


Fig. 36. RM: Características y frecuencias de las lesiones.

En las Fig. 37- 56 se ilustran las imágenes de los hallazgos de resonancia incluidos en el estudio (todas las imágenes corresponden a pacientes incluidos en el estudio):

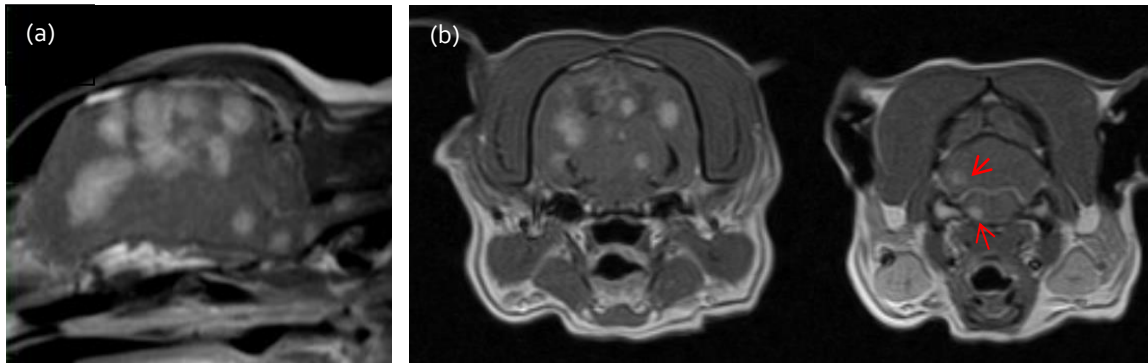


Fig. 37. Imágenes de RM post contraste en secuencia *Spin-Echo* (SE) potenciadas en T1 (a) en plano sagital y (b) en plano transversal. Lesiones multifocales en cerebro, cerebelo, tronco encefálico y médula espinal.

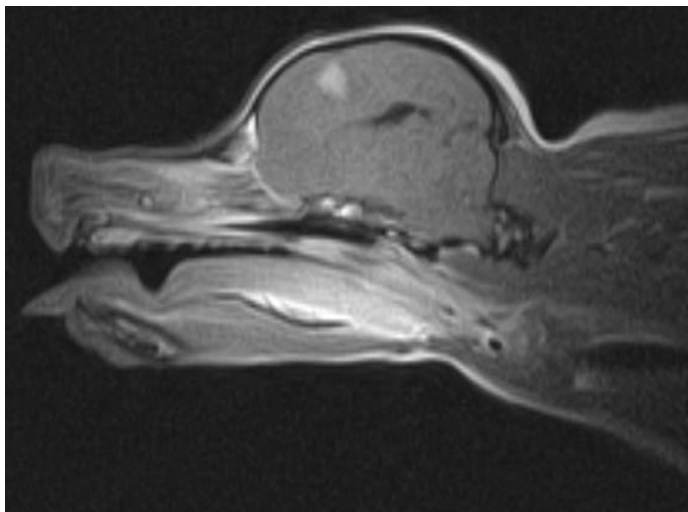


Fig. 38. Imagen de RM postcontraste en secuencia Turbo Spin-Echo (TSE) potenciada en T1 en plano sagital. Lesión focal en encéfalo.

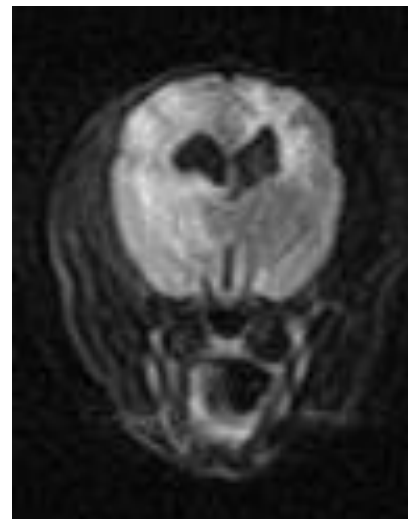


Fig. 39. Imagen de RM FLAIR en plano transversal. Lesión difusa.

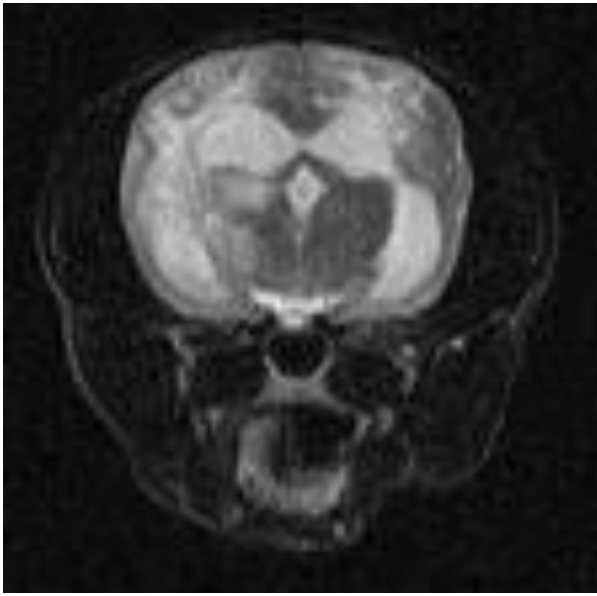


Fig. 40. Imagen de RM TSE potenciada en T2 en plano transversal. Afectación sustancia blanca.

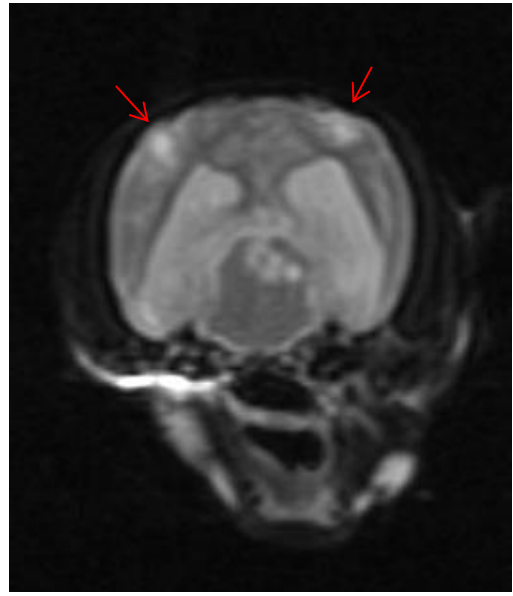


Fig. 41. Imagen de RM TSE potenciada en T2 en plano transversal. Afectación sustancia gris.

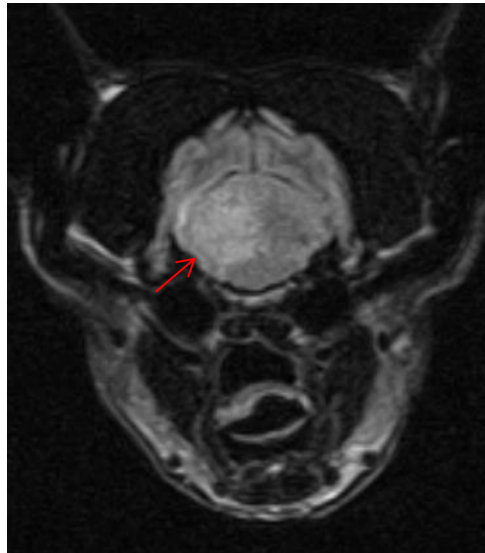


Fig. 42. Imagen de RM FLAIR en plano transversal. Lesión en cerebelo.

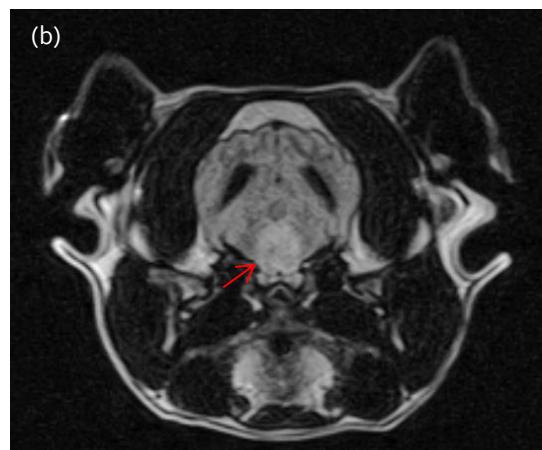
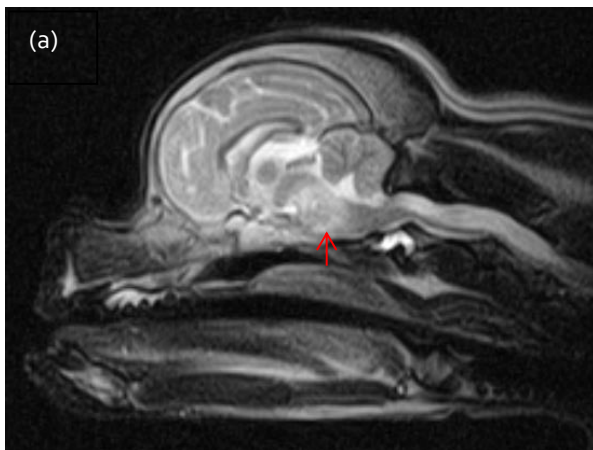


Fig. 43. Imágenes de RM (a) TSE potenciada en T2 en plano sagital; (b) FLAIR en plano transversal. Lesión extensa en tronco encefálico con siringomielia obstructiva.

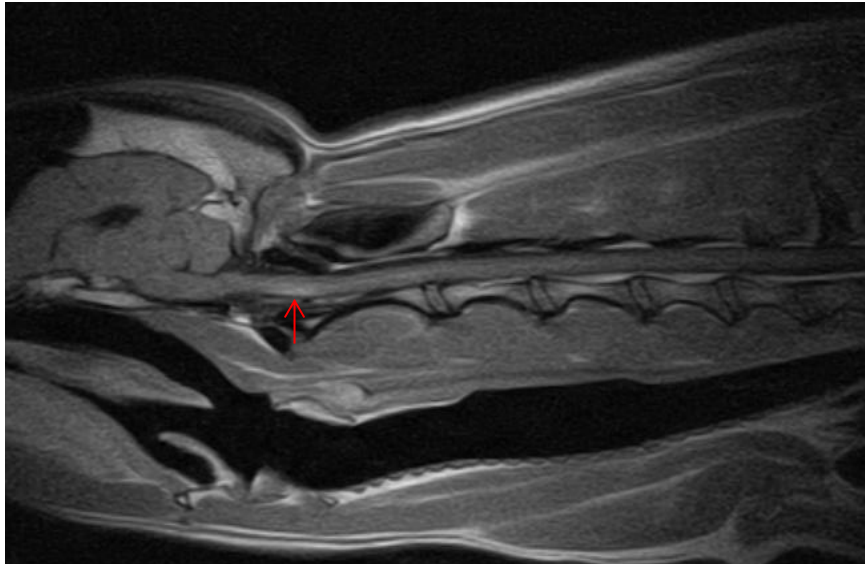


Fig. 44. Imagen de RM post contraste TSE potenciada en T1 en plano sagital. Lesión medular leve.

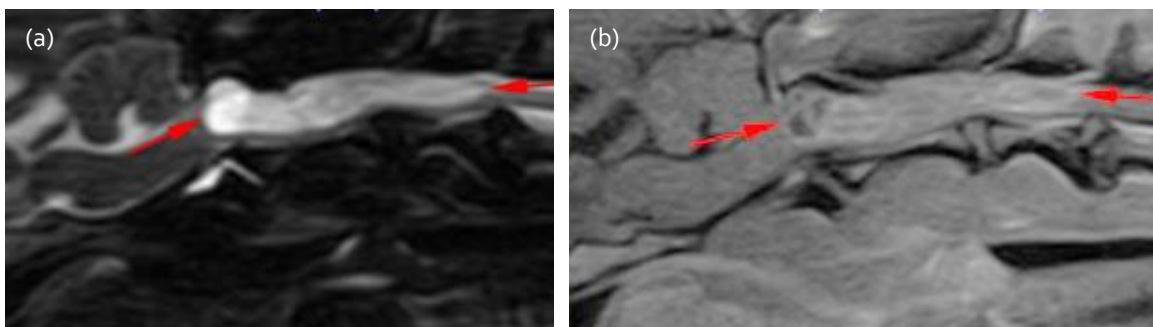


Fig. 45. Imagen de RM (a) TSE potenciada en T2 en plano sagital; (b) postcontraste TSE potenciada en T1 en plano sagital. Lesión medular extensa.

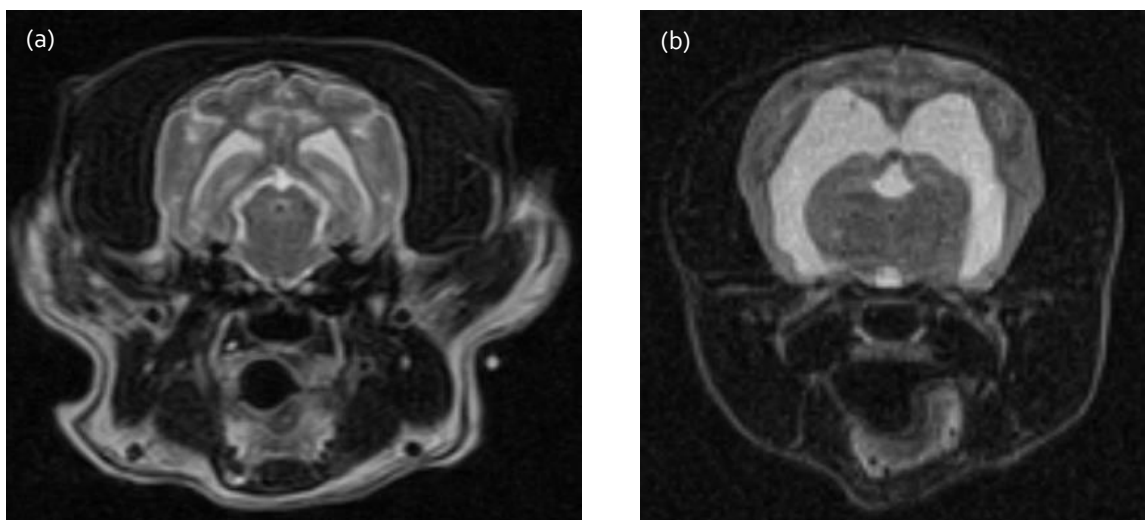


Fig. 46. Imágenes de RM TSE potenciadas en T2 en secuencia transversal. (a) Sistema ventricular normal y surcos cerebrales normales; (b) Pérdida de surcos cerebrales y dilatación ventricular.

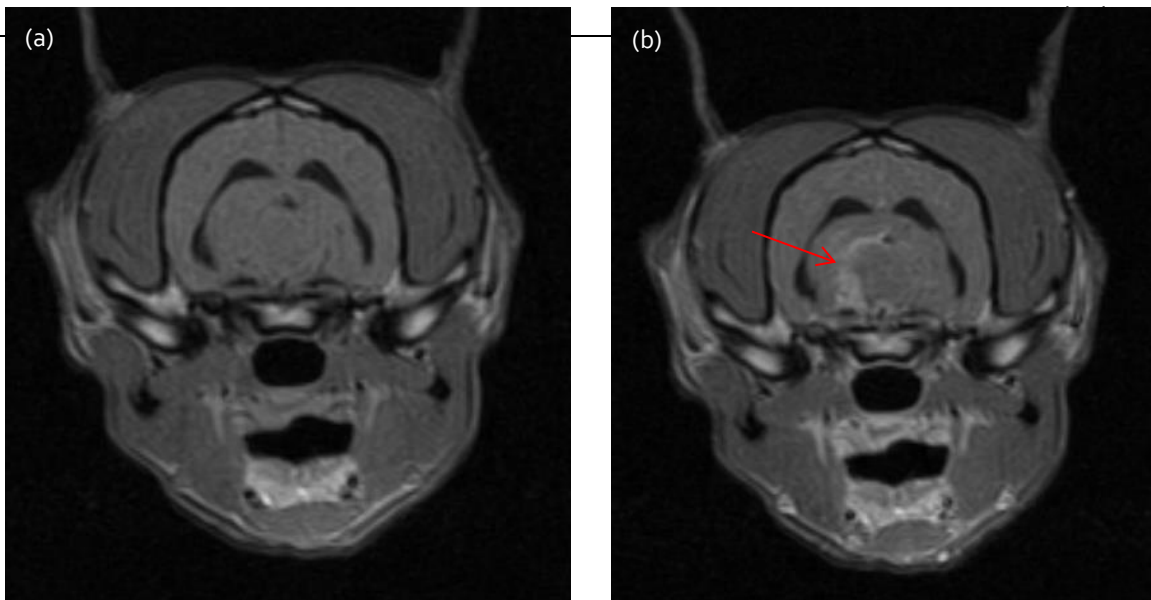


Fig. 47. Imágenes de RM SE potenciada en T₁ en secuencia transversal (a) precontraste; (b) postcontraste. Captación de contraste perilesional.

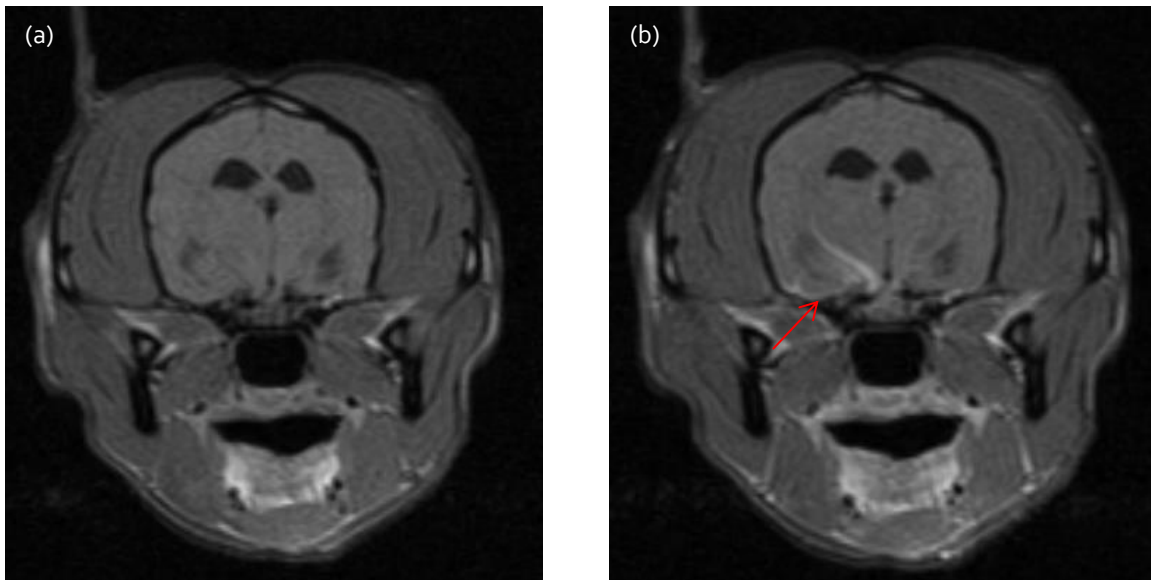


Fig. 48. Imágenes de RM SE potenciadas en T₁ en secuencia transversal (a) precontraste; (b) postcontraste. Contraste meníngeo.

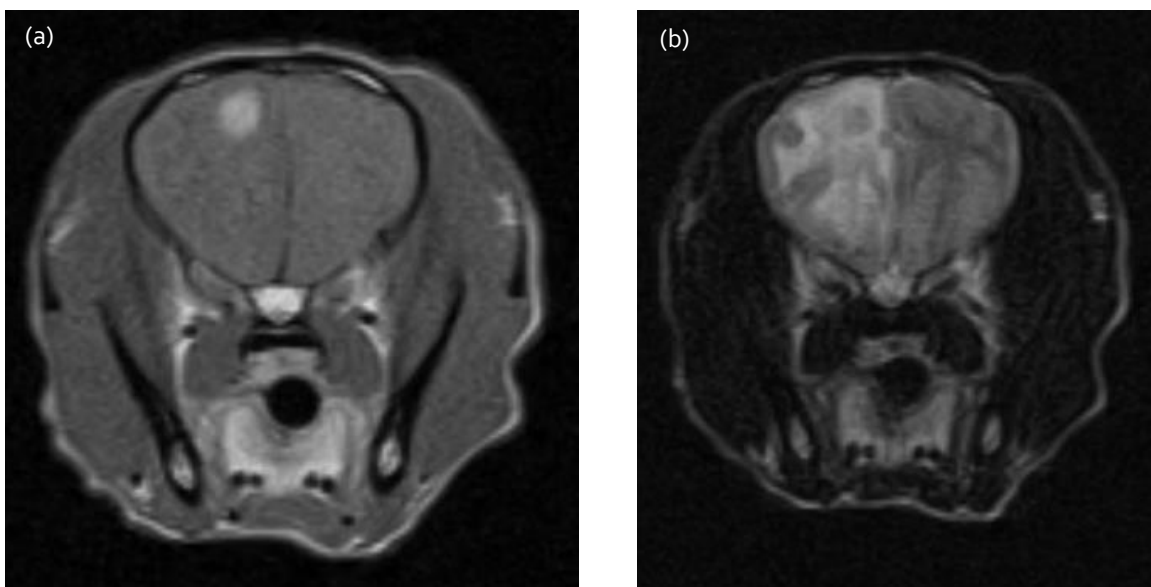


Fig. 49. Imágenes de RM (a) postcontraste TSE potenciada en T₁ en secuencia transversal. Lesión focal con captación de contraste; (b) TSE potenciada en T₂ en secuencia transversal. Edema perilesional severo.

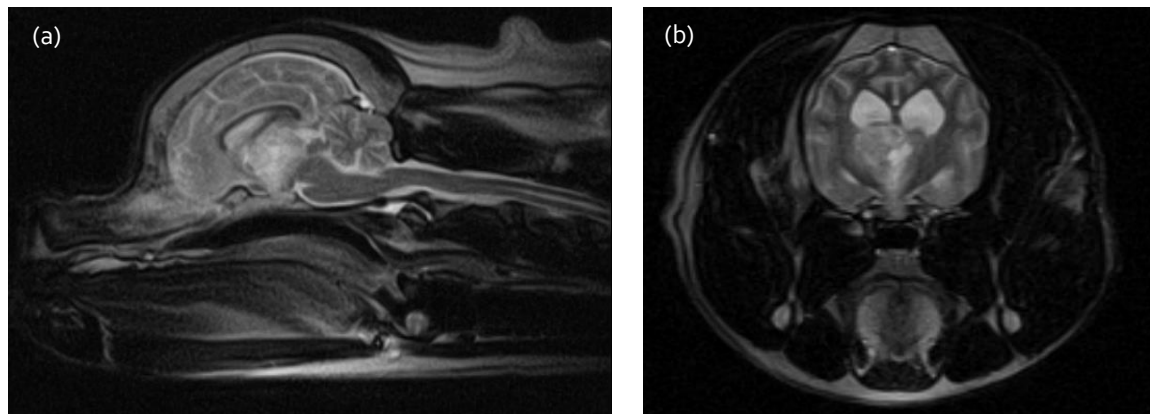


Fig. 50. Imágenes de RM TSE potenciadas en T2 en (a) secuencia sagital y transversal (b). Efecto masa, herniación cerebelar y siringomielia obstructiva asociada.

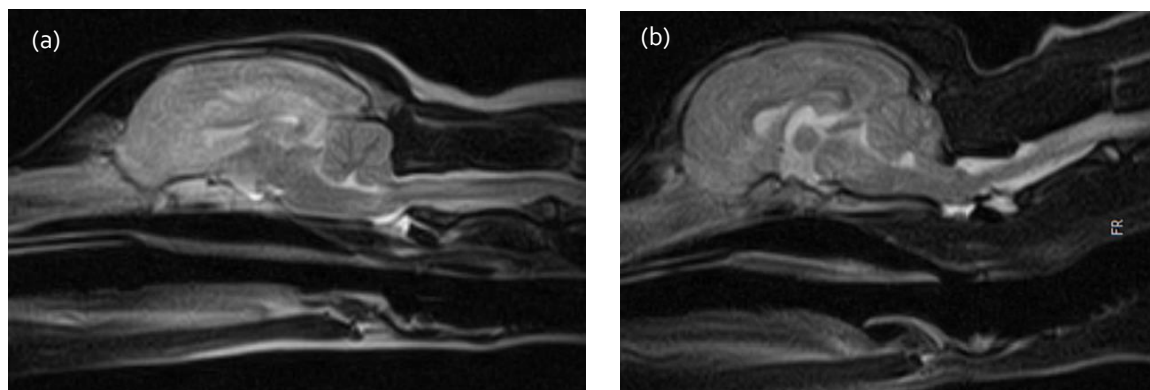


Fig. 51. Imágenes de RM TSE potenciadas en T2 en plano sagital. (a) Herniación cerebral, transtentorial y cerebelar; (b) Herniación cerebelar.

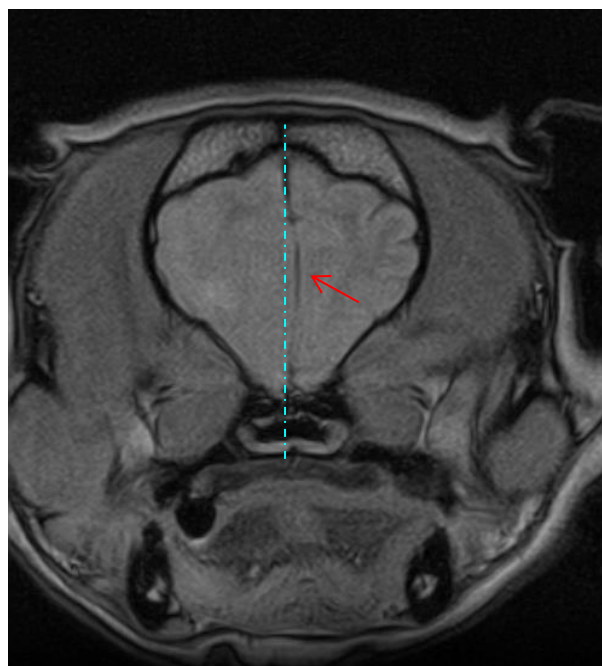


Fig. 52. Imagen de RM en secuencia Fast Field- Echo 3D (FFE3D) potenciada en T2 en plano sagital. Desplazamiento línea media.

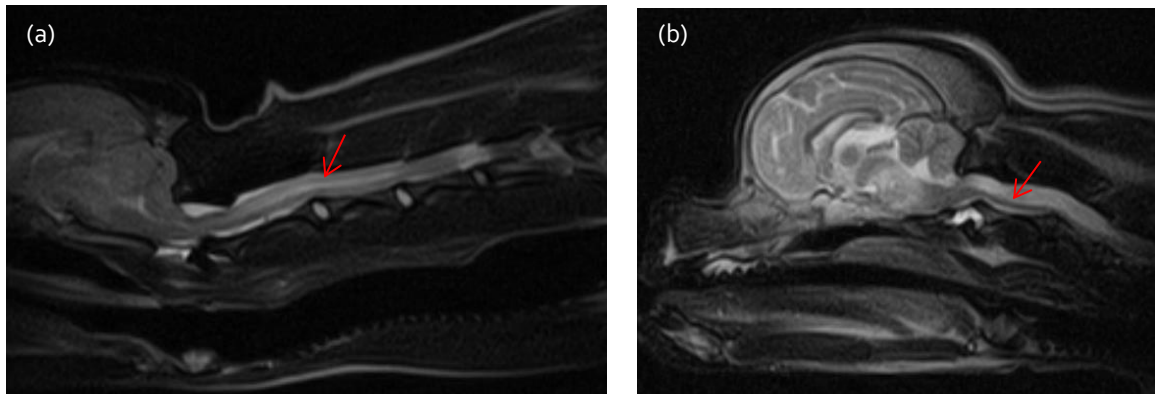


Fig. 53. Imágenes de RM TSE potenciadas en T2 en plano sagital. (a) Siringomielia obstructiva leve y severa (b).

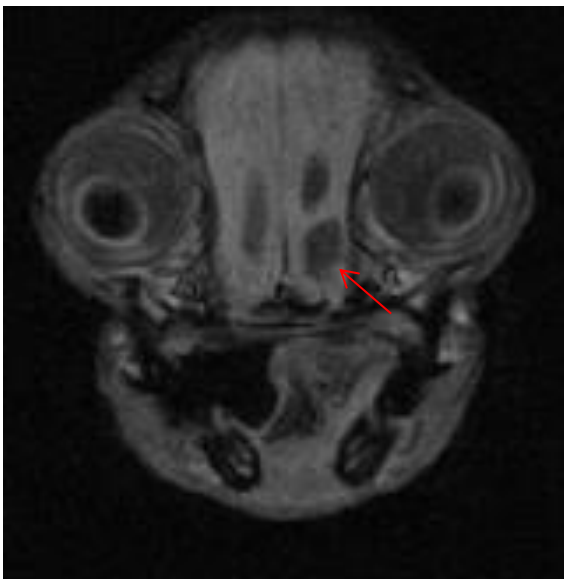


Fig. 54. Imagen de RM FFE_{3D} potenciada en T2 en plano sagital. Componente quístico.

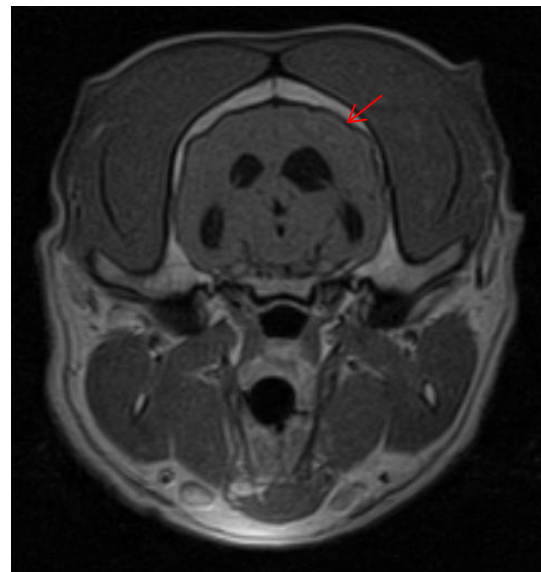


Fig. 55. Imagen de RM SE potenciada en T1 en secuencia transversal. Componente hemorrágico.

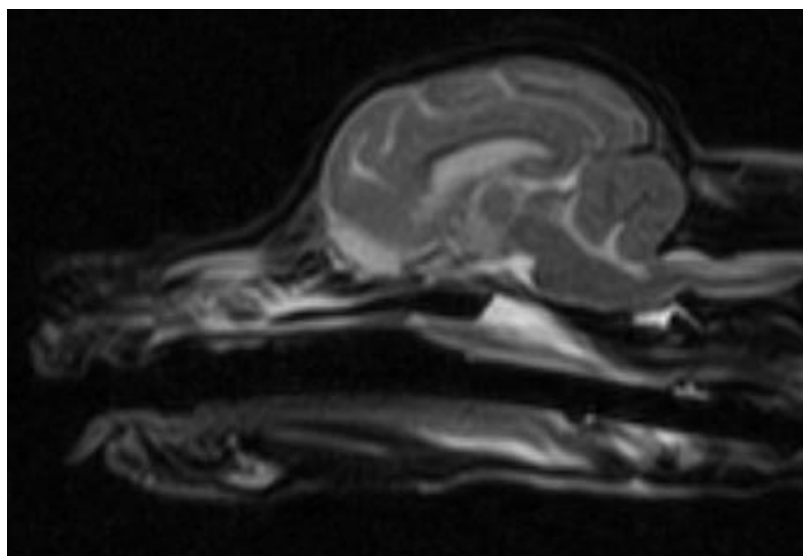


Fig. 56. Imagen de RM TSE potenciada en T2 en plano sagital. Síndrome de Chiari y siringomielia.

6.1.2.4 Análisis sanguíneo: Aunque todos los animales incluidos en el grupo MOD presentaron analítica sanguínea normal sólo se incluyeron en el análisis estadístico los valores sanguíneos de las analíticas con una antigüedad inferior a 1 mes del momento del diagnóstico. Las medias, DS, mínimos y máximos de los parámetros se resumen en la Tabla 13.

Tabla 13. Resultados análisis sanguíneos del grupo MOD

	N	Media	DS	Mínimo	Máximo
Htc (%)	27	47,10	5,41	36	61,40
PT (mg/dl)	25	6,71	0,65	5,40	8
SANGRE Glóbulos blancos (cel/ μ l)	26	9.437,9	3.537,7	5.800	16.920
Segmentados (cel/ μ l)	23	6.659,2	2.150	3.465	11.954
Cayados (cel/ μ l)	23	29,14	61,34	0	196
Lactato (mmol/L)	41	2,77	2,43	0	13,20

Htc: hematocrito; PT: proteínas totales; N: tamaño muestral; DS: desviación estándar.

6.1.2.5 Análisis LCR:

6.1.2.5.1 Análisis básico: Las medias, DS, mínimos y máximos de los parámetros se resumen en las Tabla 14.

Tabla 14. Resultados análisis básico LCR del grupo MOD.

	N	Media	DS	Mínimo	Máximo
Lactato (mmol/L)	45	4,10	2,31	1,80	13
PT (mg/dl)	40	57,80	38,12	17	174,70
RTCN(ce/μl)	43	114,91	318,04	0	1720
Neutrófilos (%)	43	7,43	14,80	0	61
Linfocitos (%)	43	15,35	22,89	0	86
LCR Linfocitos activados (%)	43	22,02	31,9	0	91
Linfoblastos (%)	43	2,62	3,58	0	13
Monocitos (%)	43	4,02	10,23	0	48
Monocitos activados (%)	43	28,91	28,91	0	81
Eosinófilos (%)	43	0,26	1,13	0	7

PT: proteínas totales, RTCN: recuento total de células nucleadas; N: tamaño muestral; DS: desviación estándar.

La pleocitosis más frecuentemente observada en este estudio es la linfocítica (37% de pacientes) (Fig. 58), seguida de monocítica (35%) (Fig. 59) y mixta (28%) (Fig. 60); (Fig. 57: LCR sin alteraciones)

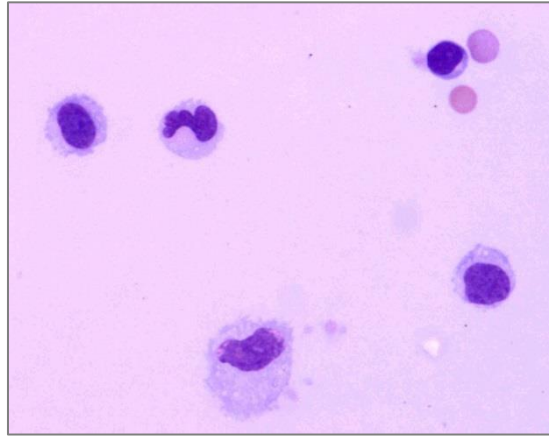


Fig. 57. LCR sin alteraciones. Presencia de escasas células mononucleares sin activación.

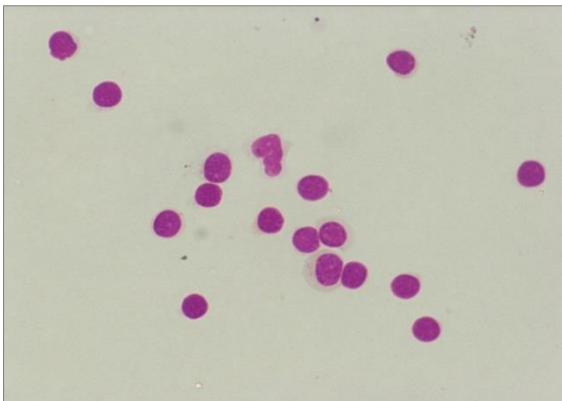


Fig. 58. Pleocitosis linfocítica.

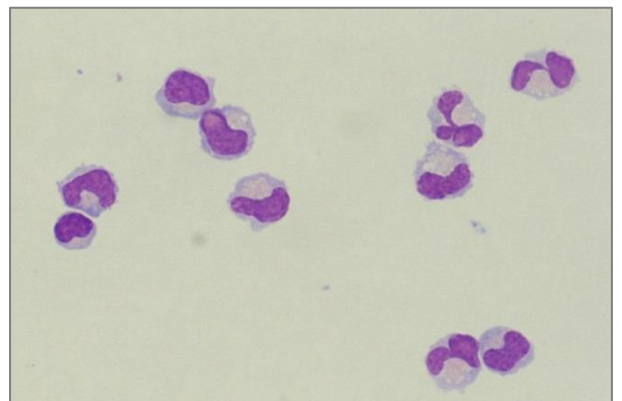


Fig. 59. Pleocitosis monocítica.

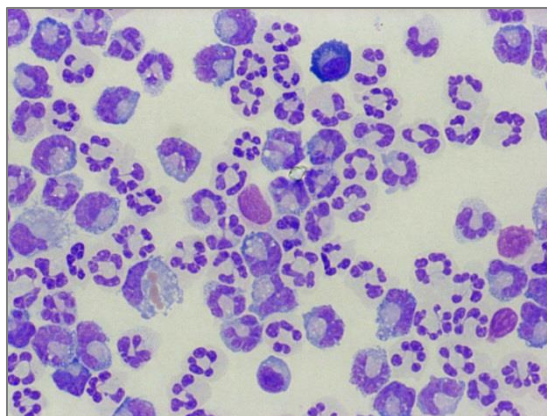


Fig. 60. Pleocitosis mixta.

6.1.2.5.2 $^1\text{HNMR}$ metabolitos: en 30 de los 45 pacientes se pudo realizar esta técnica. El espectro del eutanásico administrado (Dolethal[®]) se muestra en la Fig. 61. Los espectros de los principales metabolitos en relación con los espectros de referencia se muestran en las Fig. 62-66 .

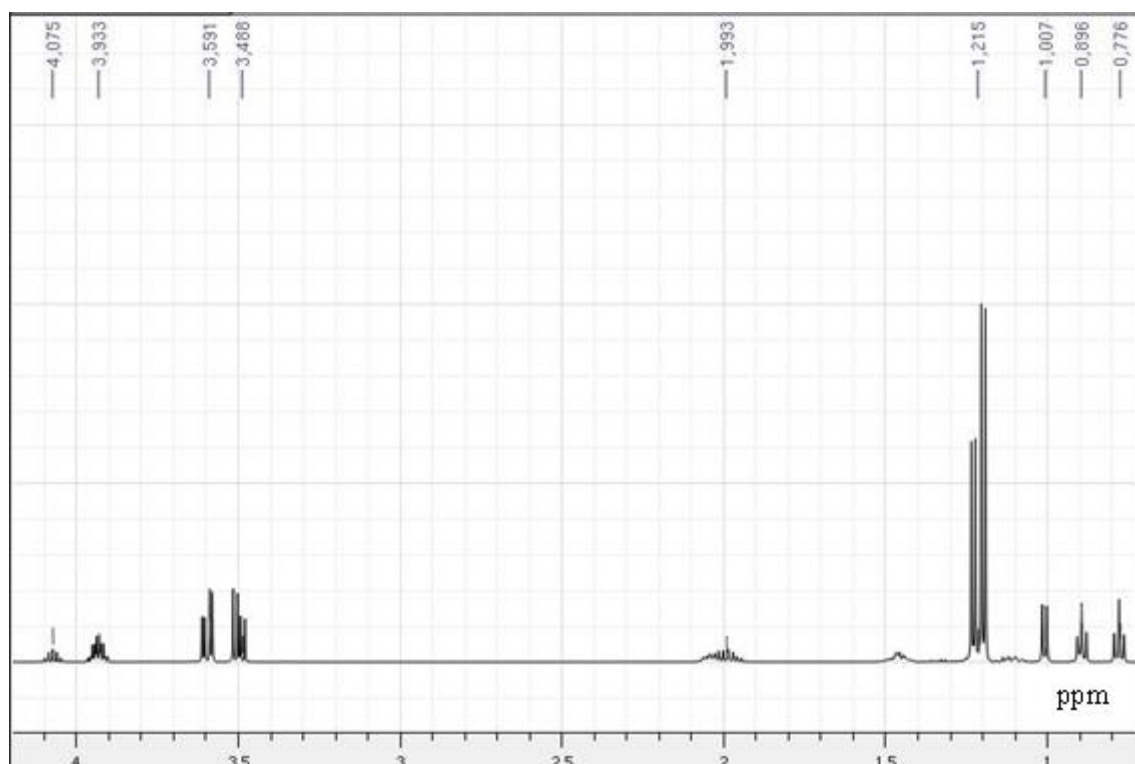


Fig. 61. Espectrograma del Dolethal.

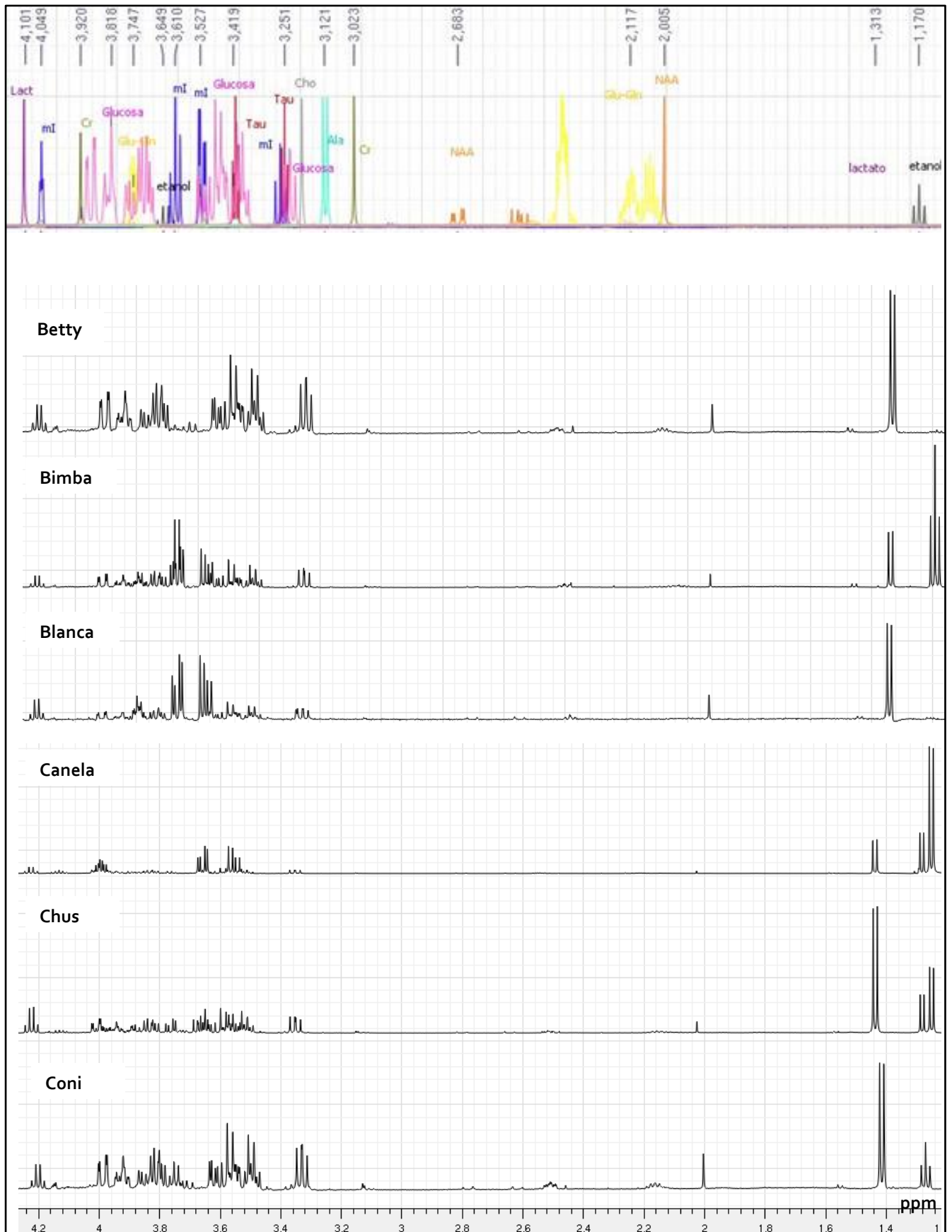


Fig. 62. Espectrogramas de pacientes grupo MOD (parte 1).

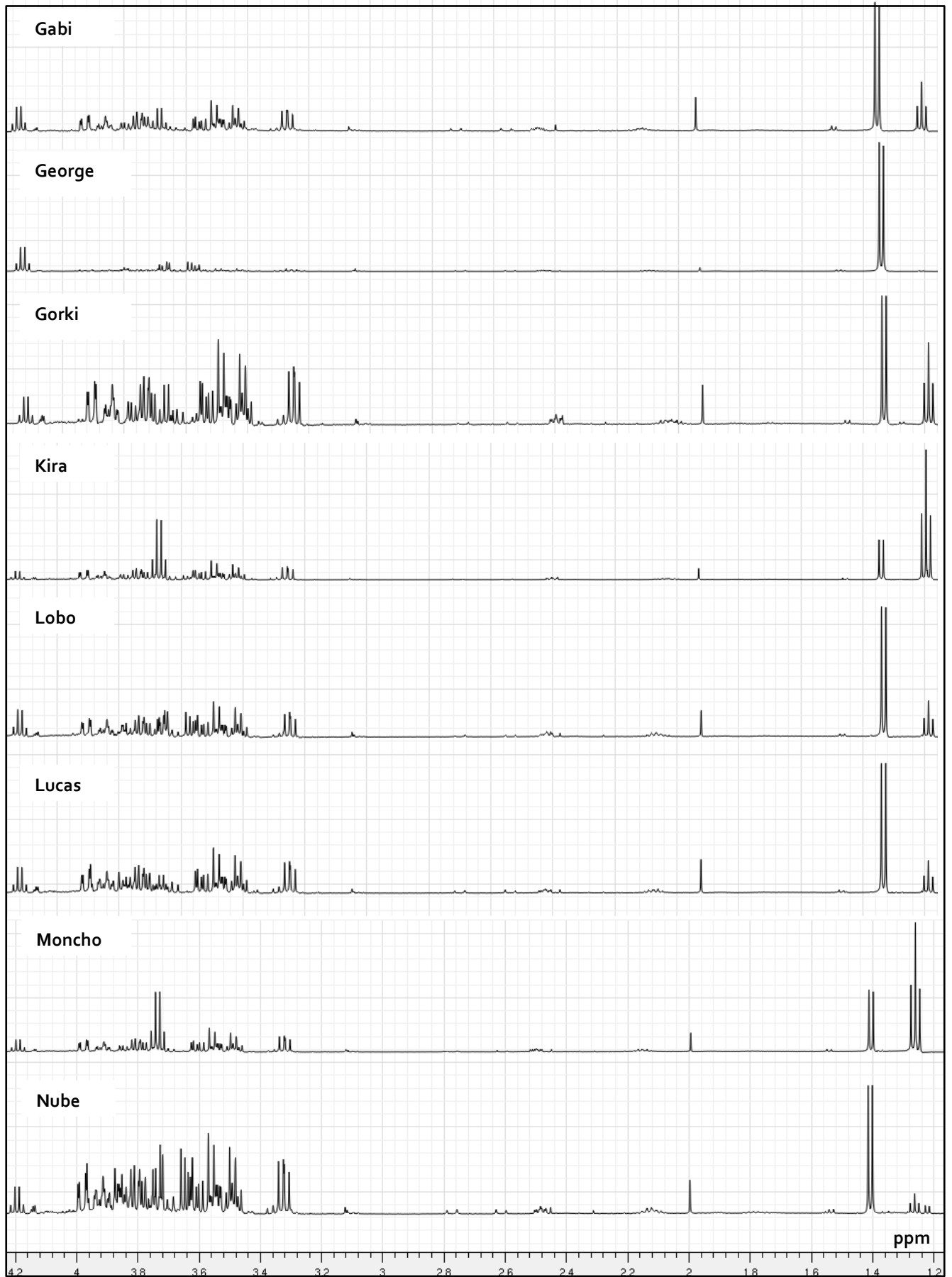


Fig. 64. Espectrogramas de pacientes grupo MOD (parte 2).

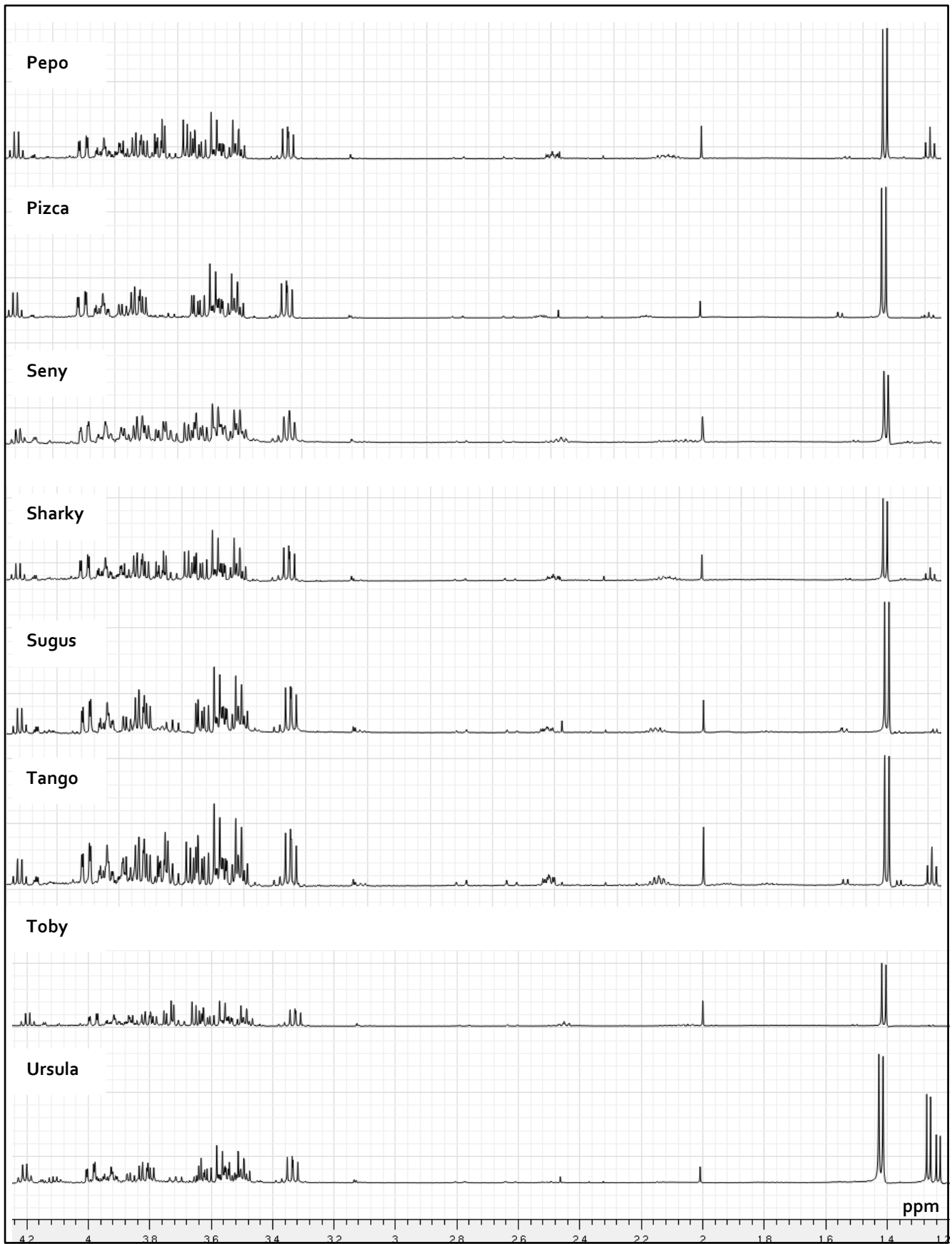


Fig. 65. Espectrogramas de pacientes grupo MOD (parte 3).

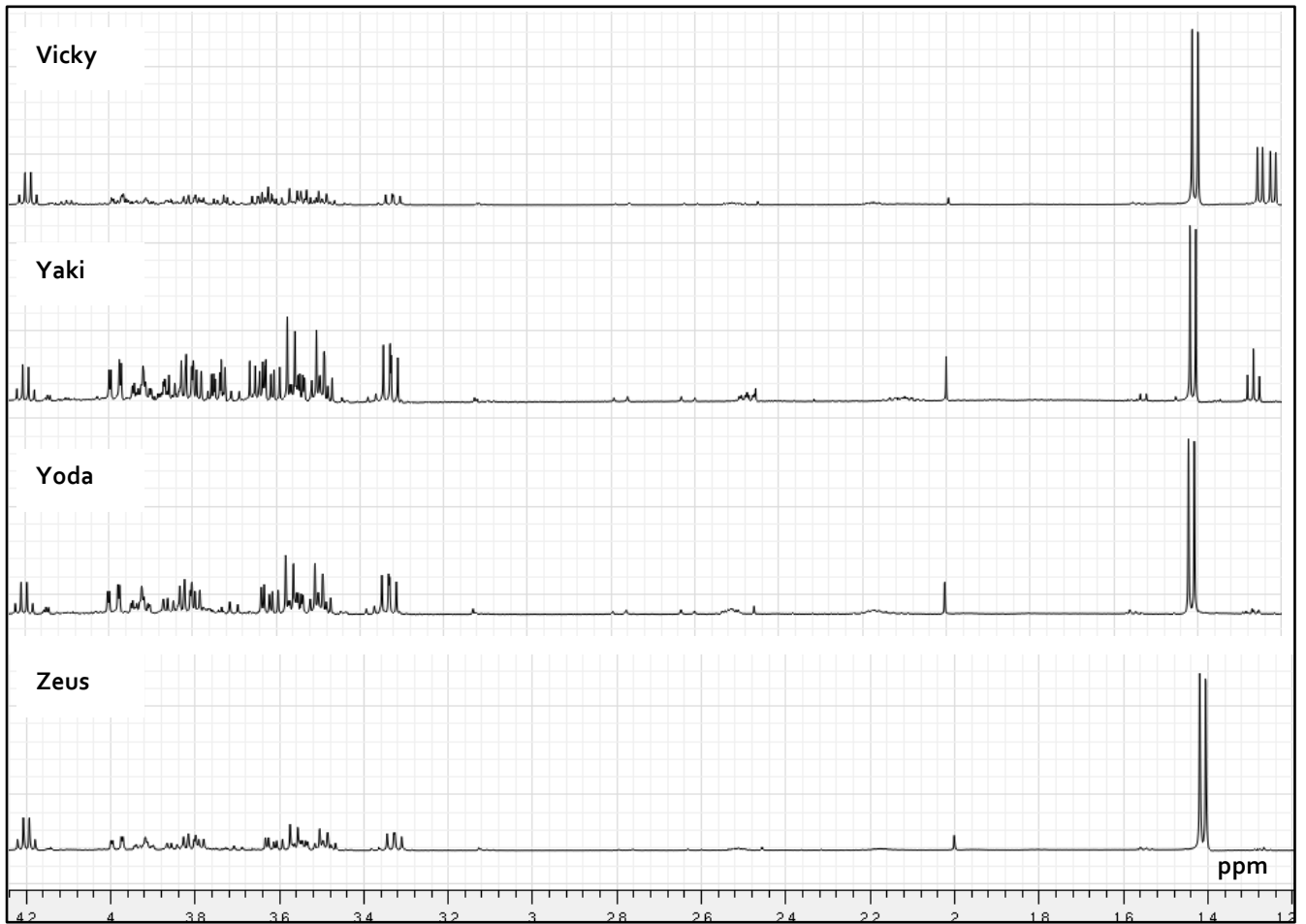


Fig. 66. Espectrogramas de pacientes grupo MOD (parte 4).

6.1.2.6 Tratamientos:

- Tratamientos recibidos previos al diagnóstico en otros centros:
 - ✓ El 37,21% de los pacientes recibieron tratamiento previo al diagnóstico y de ellos el 41,86% había sido tratado con glucocorticoides sin disponer de un diagnóstico definitivo.

- Tratamientos instaurados una vez diagnosticados:
 - ✓ El 56,41% (22/45) de los pacientes se trataron con prednisona + arabinósido de citosina (grupo A).
 - ✓ El 43,59% (17/45) con prednisona +/- ciclosporina (grupo B).
 - ✓ El 13,33% (6/45) de los pacientes no recibieron tratamiento por realizarse la eutanasia humanitaria en el momento del diagnóstico (grupo C).

- El 66,67% de los pacientes tratados tuvo una respuesta favorable en los primeros 7 días independientemente del tipo de tratamiento administrado.

- Los niveles de L-SANG y L-LCR en los distintos grupos de tratamiento fueron (Tabla 15) (Fig. 67):

Tabla 15. Concentraciones de L-SANG y L-LCR (mmol/L) en función del grupo del tratamiento.

Tratamiento	N	Variable	N	Media	DS	Mínimo	Máximo
A	22	L-SANG	22	2,37	1,42	0,80	7,50
		L-LCR	22	3,25	0,92	1,80	6,30
B	17	L-SANG	16	2,53	2,29	0	8,10
		L-LCR	17	4,36	2,69	2,0	13,00
C	6	L-SANG	3	7,00	5,37	3,70	13,20
		L-LCR	6	6,47	3,20	4,20	12,30

N: tamaño muestral; DS: desviación estándar; L-SANG: lactato sanguíneo; L-LCR: lactato en líquido cefalorraquídeo; A: prednisona + arabinósido de citosina; B: prednisona + ciclosporina; C: sin tratamiento.

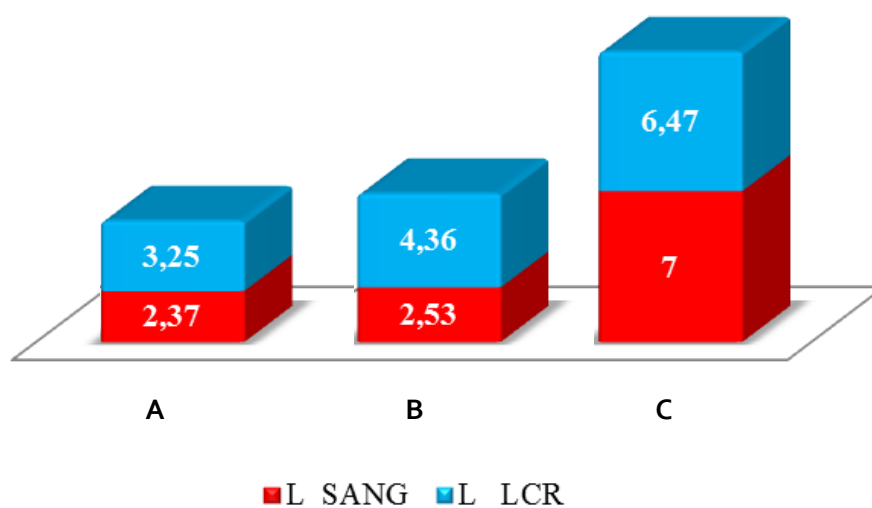


Fig. 67. Esquema de las concentraciones medias de L-SANG y L-LCR (mmol/L) según el tipo de tratamiento. (A: prednisona + arabinósido de citosina; B: prednisona + ciclosporina; C: sin tratamiento.)

6.1.2.7 RM y análisis de LCR de control.

Sólo en tres pacientes, todos incluidos en el grupo B de tratamiento, se consiguió repetir RM y análisis de LCR a los 8 meses del inicio del tratamiento. Los valores analíticos sanguíneos, análisis básico de LCR, signos clínicos y resumen de los hallazgos de RM en el momento del diagnóstico y en el control postratamiento se resumen en las Tablas 16, 17 y 18. Las imágenes de RM en el diagnóstico y control de cada paciente se muestran en las Fig. 68- 70.

Tabla 16. Resultados análisis sanguíneos en el momento del diagnóstico y en el control postratamiento

	BOCA d(x)	BOCA c(tto)	LOLA d(x)	LOLA c(tto)	MUSA d(x)	MUSA c(tto)
Htc (%)	39,5	37,5	42,8	39,5	52,4	48
PT (mg/dl)	7,4	6,8	6,14	6,8	6,6	6,5
SANGRE Glóbulos blancos (cel/ μ l)	12,200	10,200	4,820	5,300	16,920	15,250
Segmentados (cel/ μ l)	5,734	5,340	3,465	3,650	ND	ND
Cayados (cel/ μ l)	122	0	0	0	ND	ND
Lactato (mmol/L)	1,8	1,7	1,3	1,2	0	1,9

Htc: hematocrito; PT: proteínas totales; d(x): diagnóstico; c(tto): control postratamiento.

Tabla 17. Resultados análisis básico LCR en el momento del diagnóstico y en el control postratamiento.

	BOCA	BOCA	LOLA	LOLA	MUSA	MUSA
	d(x)	c(tto)	d(x)	c(tto)	d(x)	c(tto)
Lactato	4,1	3,4	3,7	3,5	2	1,9
PT (mg/dL)	119	31,5	49	ND	23,5	22
RTCN(ce/μl)	722	8	54	8	19	0
Neutrófilos (%)	0	0	2	6	34	0
LCR Linfocitos (%)	0	80	0	0	0	0
Linfocitos activados (%)	87	0	91	73	15	0
Linfoblastos (%)	0	0	2	6	0	0
Monocitos (%)	0	0	5	0	2	0
Monocitos activados(%)	0	15	13	20	49	0
Eosinófilos	0	0	0	0	0	0

LCR: líquido cefalorraquídeo; PT: proteínas totales; RTCN: recuento total de células nucleadas; d(x): diagnóstico; c(tto): control postratamiento.

Tabla 18. Signos clínicos y hallazgos de RM en el momento del diagnóstico y en el control postratamiento.

	BOCA	BOCA	LOLA	LOLA	MUSA	MUSA
	d(x)	c(tto)	d(x)	c(tto)	d(x)	c(tto)
Signos clínicos	Déficit visual	NO	Déficit visual Otros pares	NO	Dolor cervical Dolor otros raquis	NO
RM	Focal Encéfalo Fosa rostral Contraste perilesional Sust. Blanca	NO	Multifocal Encéfalo Fosa rostral Sust. blanca Sust. gris	Persisten, pero en menor grado	Dilatación ventricular	NO

d(x): diagnóstico; c(tto): control postratamiento; Sust: sustancia

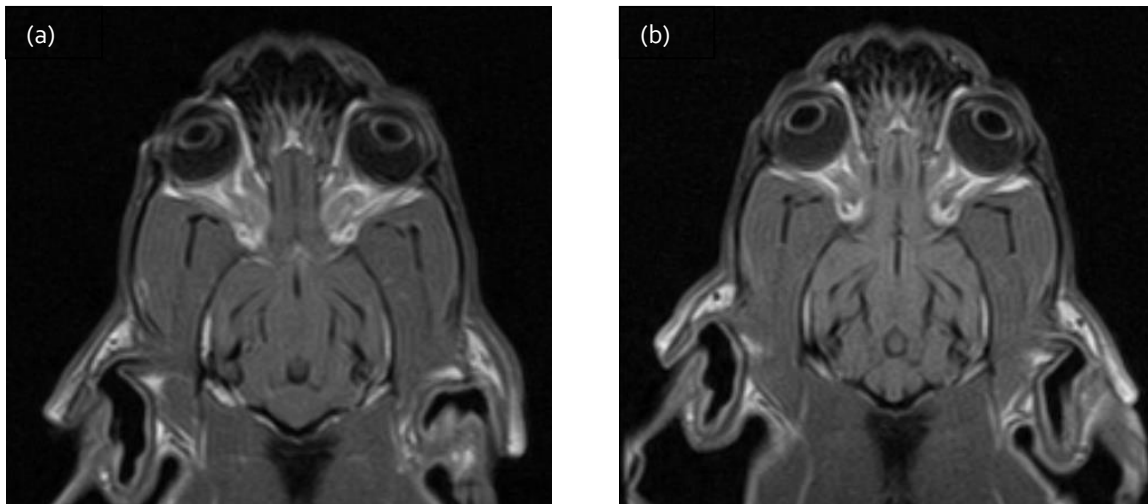


Fig. 68. BOCA. Imágenes de RM SE potenciada en T1 en plano sagital postcontraste (a) Diagnóstico: Neuritis óptica bilateral; (b) Control posttratamiento: normal.

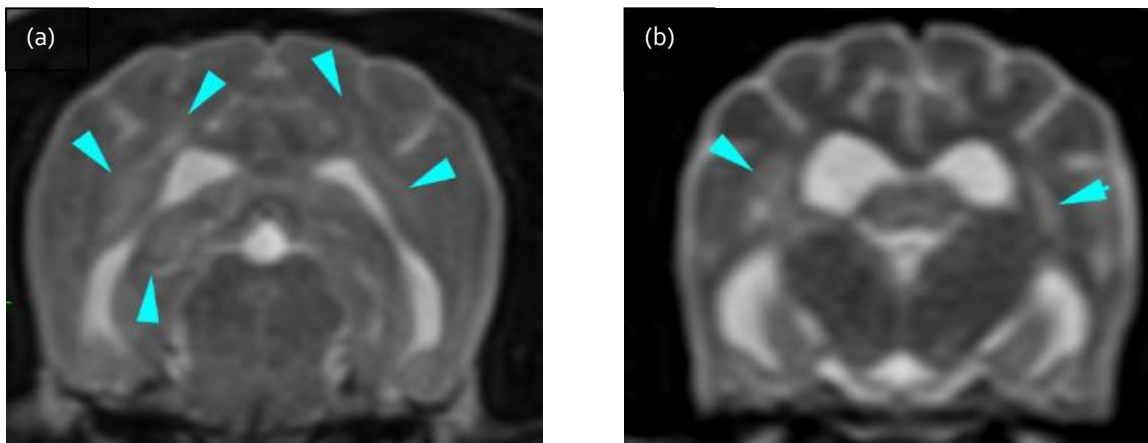


Fig. 69. LOLA. Imágenes de RM TSE potenciadas en T2 en plano transversal. (a) Diagnóstico: Cambios multifocales con afectación principalmente de la materia blanca y pérdida de surcos cerebrales. (b) Control posttratamiento: la extensión de los cambios de señal es menor, mejor diferenciación entre materia gris y blanca y aumento de grosor de los surcos cerebrales.

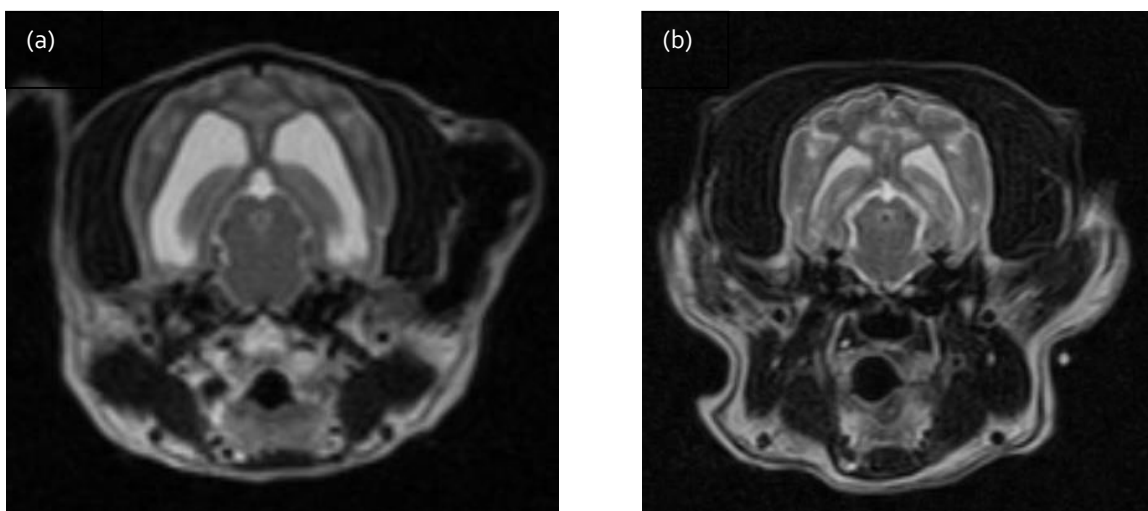


Fig. 70. MUSA. Imágenes de RM TSE potenciadas en T2 en plano transversal (a) Diagnóstico: dilatación ventricular. (b) Control posttratamiento: sistema ventricular normal.

Los espectros obtenidos mediante ^1H NMR superpuestos con los espectros en el momento del diagnóstico se muestran en las Fig. 71-73.

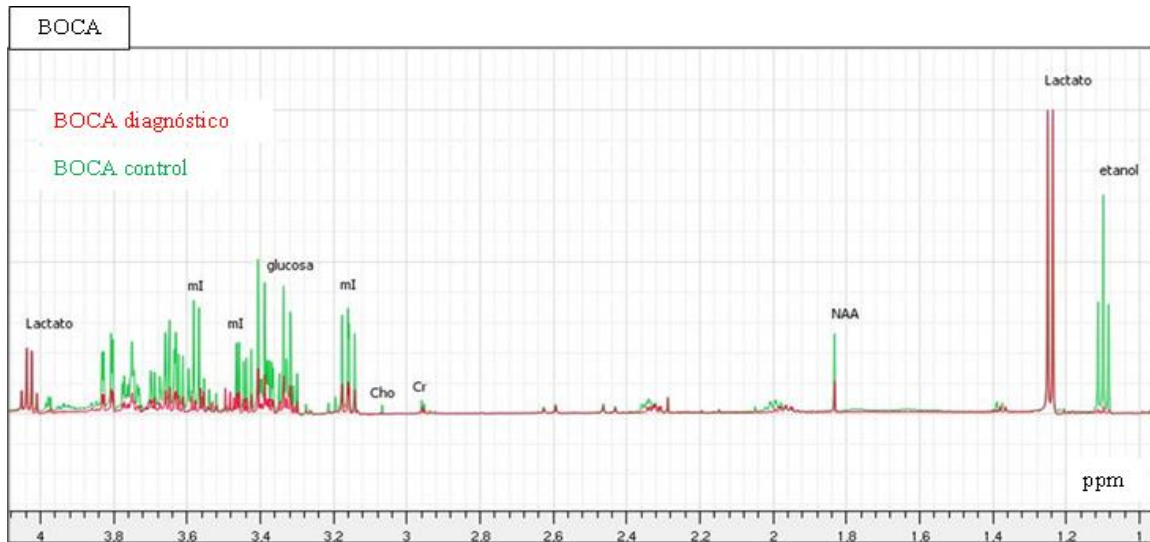


Fig. 71. BOCA. Espectros superpuestos diagnóstico y control postratamiento (8 meses).

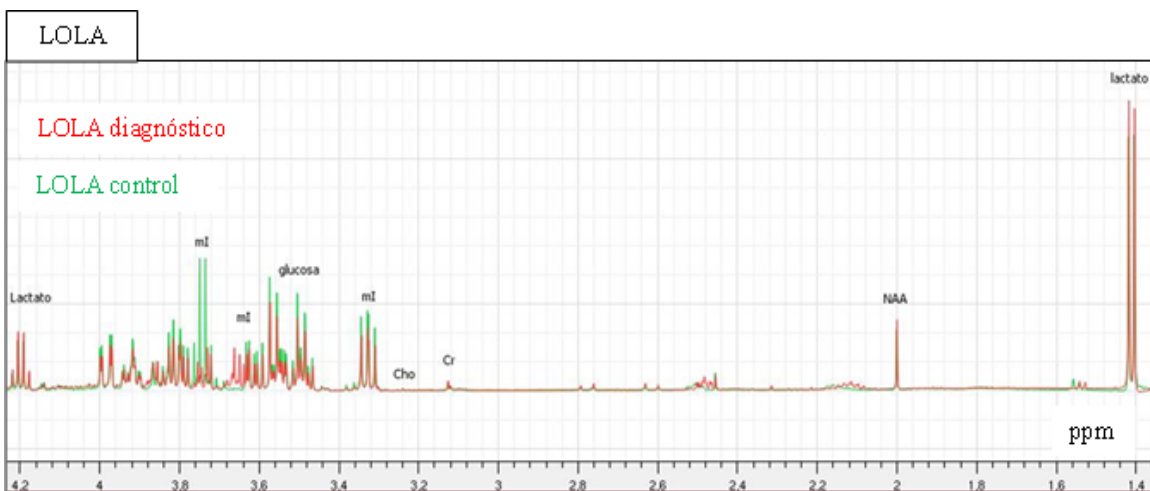


Fig. 72. LOLA. Espectros superpuestos diagnóstico y control postratamiento (8 meses).

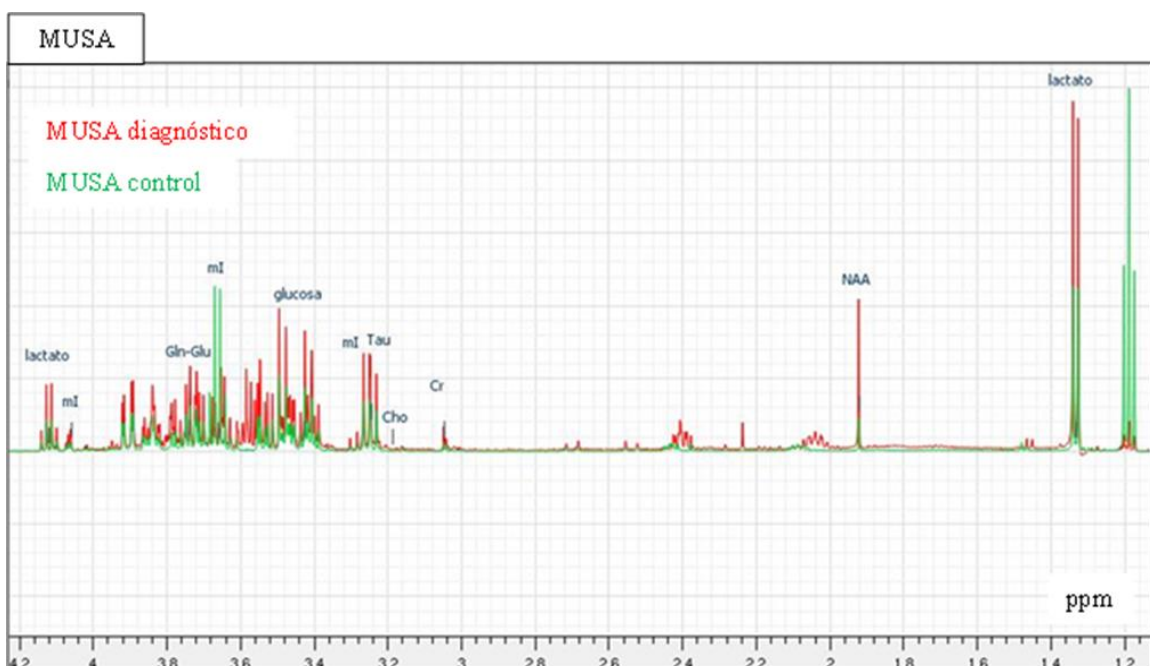


Fig. 73. MUSA. Espectros superpuestos diagnóstico y control postratamiento.

6.1.2.8 Evolución de la enfermedad (Fig. 74):

- En el 20% de los pacientes tratados se consiguió la curación del proceso.
- El 44,44% permanecieron estables con tratamiento.
- El 35,56% de los pacientes no presentaron respuesta favorable al tratamiento en el primer mes.

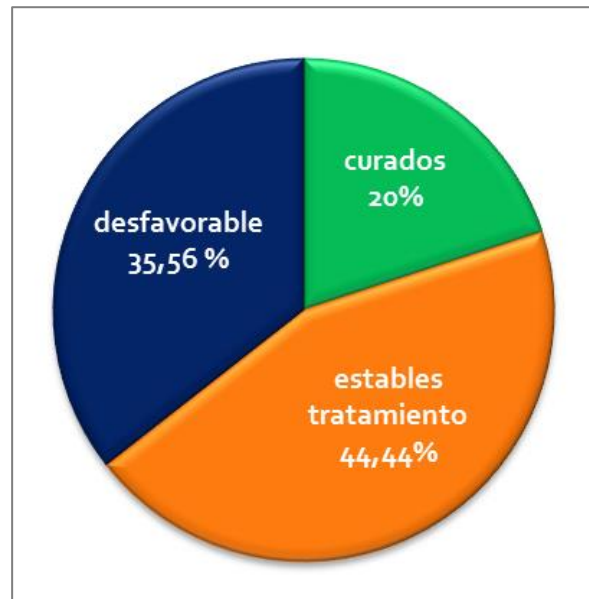


Fig. 74. Evolución de la enfermedad.

El 24,44% de los pacientes estables sufrieron una recaída de la enfermedad.

6.1.2.9 Supervivencia: el tiempo de supervivencia osciló entre 0 y 2511 días con un tiempo medio de 579,33 días, independientemente del tratamiento. 14 de los 45 pacientes (31,11%) estaban vivos al finalizar el estudio. De los 31 pacientes fallecidos, 6 (19,35%) lo hicieron por causas ajenas a la MOD (atropello, ahogamiento en piscina, enfermedad renal crónica, insuficiencia cardiaca y bronconeumonía).

Las medias, DS, mínimos y máximos de los parámetros sanguíneos y de LCR en los pacientes con supervivencia <7 días o >7 días se muestran en la Tablas 19 y 20.

Tabla 19. Análisis sanguíneo en pacientes con supervivencia inferior o superior a 7 días.

ANÁLISIS SANGUÍNEO	N	Media	DS	Mínimo	Máximo
Supervivencia menor o igual a 7 días (N=11)					
Htc (%)	5	46,55	3,86	42,84	53
PT (mg/dl)	5	6,72	0,99	5,40	8
Glóbulos blancos (cel/ μ l)	5	10.060	3.305	5.500	13.900
Segmentados (cel/ μ l)	5	8.051,6	3.390	3.520	11.954
Cayados (cel/ μ l)	5	39,20	87,65	0	196
Lactato (mmol/L)	5	6,27	3,50	3,70	13,20
Supervivencia mayor de 7 días (N=34)					
Htc (%)	22	47,23	5,78	36	61,40
PT (mg/dl)	20	6,70	0,57	5,80	7,80
Glóbulos blancos (cel/ μ l)	21	9.289	3.652	5.800	16.920
Segmentados (cel/ μ l)	18	6.272,4	1.597,9	3.465	10.090
Cayados (cel/ μ l)	18	26,35	54,99	0	186
Lactato (mmol/L)	34	2,05	1,35	0	7,50

Htc: hematocrito; PT: proteínas totales; N: tamaño muestral; DS: desviación estándar

Tabla 20. Análisis básico de LCR en pacientes con supervivencia inferior o superior a 7 días.

ANÁLISIS LCR	N	Media	DS	Mínimo	Máximo
Supervivencia menor o igual a 7 días (N=11)					
Lactato (mmol/L)	11	6,84	3,17	4,20	13
PT (mg/dl)	9	72,23	53,89	27	174,70
RTCN(ce/μl)	10	127,40	337,04	0	1.085
Neutrófilos (%)	10	9,80	20,72	0	61
Linfocitos (%)	10	13,50	18,48	0	46
Linfocitos activados (%)	10	14,90	31,70	0	84
Linfoblastos (%)	10	2,10	2,69	0	7
Monocitos (%)	10	6	15,23	0	48
Monocitos activados (%)	10	23,30	27,66	0	75
Eosinófilos (%)	10	0	0	0	0
Supervivencia mayor de 7 días (N=34)					
Lactato (mmol/L)	34	3,21	0,88	1,8	6,30
PT (mg/dl)	33	53,61	32,15	17	119
RTCN(ce/μl)	33	111,12	317,40	0	1720
Neutrófilos (%)	33	6,71	12,83	0	54
Linfocitos (%)	33	15,91	24,30	0	86
Linfocitos activados (%)	33	24,18	32,24	0	91
Linfoblastos (%)	33	2,77	3,83	0	13
Monocitos (%)	33	3,42	8,40	0	40
Monocitos activados (%)	33	30,61	29,48	0	81
Eosinófilos (%)	33	0,33	1,27	0	7

PT: proteínas totales; RTCN: recuento total de células nucleadas; N: tamaño muestral, DS: desviación estándar.

6.2 COMPARACIÓN DE GRUPOS (MOD – EI)

6.2.1 Reseña

Existen diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,0001$) en el peso de los pacientes, presentando un peso mayor los pacientes del grupo EI.

6.2.2 Analítica sanguínea

No se encontraron diferencias entre los grupos en ninguno de los parámetros sanguíneos evaluados, incluyendo el lactato

6.2.3 Análisis de LCR

6.2.3.1 Análisis básico LCR

Los valores de proteínas totales, RTCN, neutrófilos, linfocitos, linfocitos activados, linfoblastos, monocitos activados y L-LCR, están aumentadas en los pacientes del grupo MOD con respecto al grupo EI y este aumento es estadísticamente significativo (Tabla 21).

Tabla 21. Comparación del análisis básico de LCR entre el grupo EI y MOD

Parámetro	Grupo EI (media \pm DS)	Grupo MOD (media \pm DS)	Valor de p
PT (mg/dl)	24,56 \pm 6,43	57,80 \pm 38,12	$p < 0,0007$
RTCN (cél/ μ l)	0,72 \pm 0,78	114,91 \pm 318,04	$p < 0,0001$
Neutrófilos (cél/ μ l)	0	7,43 \pm 14,80	$p < 0,01$
Linfocitos (cél/ μ l)	0	15,35 \pm 22,89	$p < 0,01$
Linfocitos activados (cél/ μ l)	0	22,02 \pm 31,9	$p < 0,01$
Linfoblastos (cél/ μ l)	0	2,62 \pm 3,58	$p < 0,0047$
Monocitos activados (cél/ μ l)	0	28,91 \pm 28,91	$p < 0,0009$
Lactato (mmol/L)	2,78 \pm 0,57	4,10 \pm 2,31	$p < 0,01$

PT: proteínas totales; RTCN: recuento total de células nucleadas; cél: células. DS: desviación estándar.

No existen diferencias en el recuento de monocitos ni eosinófilos.

6.2.3.2 ^1H NMR metabolitos

No se encontraron diferencias entre los espectros del grupo EI y MOD (Fig. 75). La gráfica de puntos no permite diferenciar los pacientes con epilepsia idiopática de los pacientes con MOD. La mayoría de los pacientes convergen en un punto que imposibilita la clasificación de los mismos en el grupo EI o MOD.

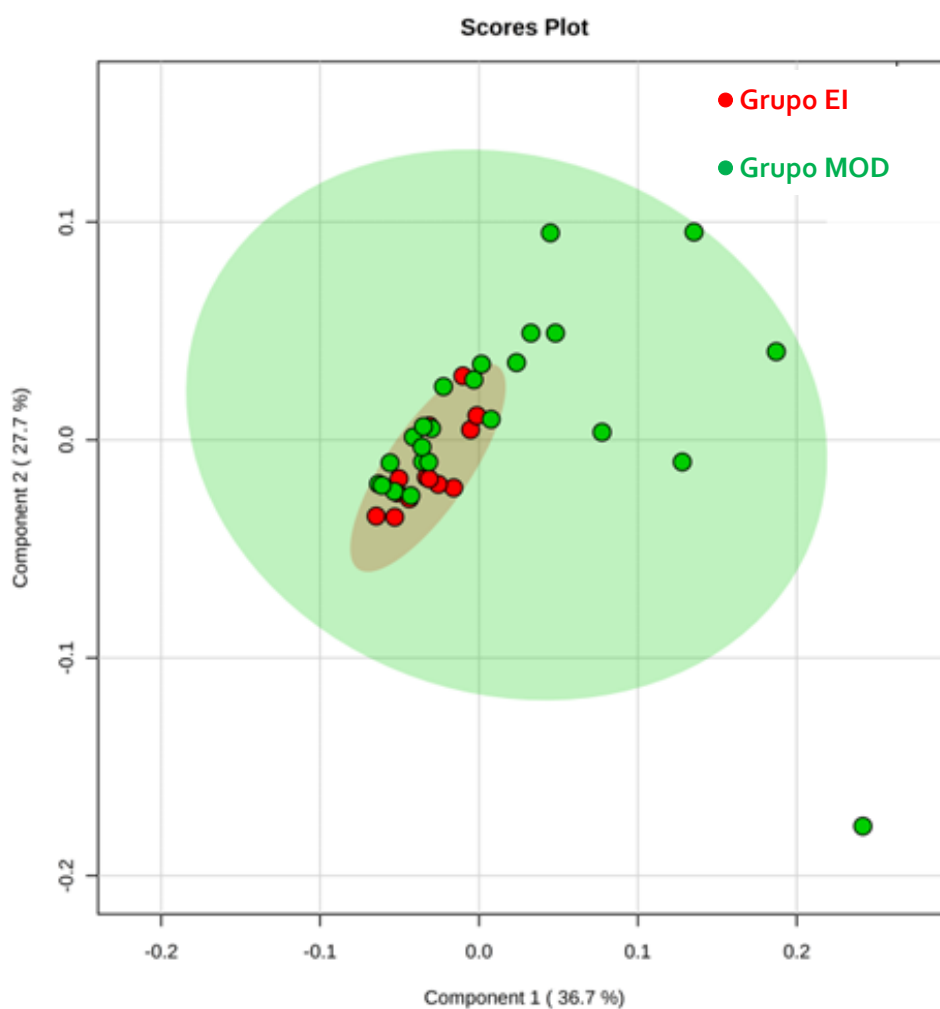


Fig. 75. Diagrama de puntos para espectros ^1H NMR: Pacientes grupo EI y grupo MOD.

6.3 CORRELACIONES Y COMPARATIVAS GRUPO MOD

6.3.1 Correlaciones entre las variables paramétricas

6.3.1.1 Reseña

Existe una correlación positiva débil entre la edad y el L-LCR ($S= 0,40394$; $p< 0,0059$), así como entre el peso y L-LCR ($S= 0,38529$; $p< 0,0090$). Los pacientes con más edad y de mayor peso tienen L-LCR superiores.

6.3.1.2 Analítica sanguínea

Se ha encontrado una correlación positiva fuerte-moderada entre el L-SANG y el L-LCR ($S= 0,63557$; $p< 0,0001$). Los pacientes con L-SANG elevado tienen también concentraciones elevadas de L-LCR.

El hematocrito presenta una correlación negativa débil con el L-LCR ($S= -0,42442$; $p<0,0273$). A menor hematocrito, mayor concentración de L-LCR.

6.3.1.3 Análisis de LCR

La concentración de proteínas totales en LCR muestra una correlación positiva débil con el L-LCR ($S=0,32495$; $p< 0,0408$). Los pacientes con proteínas aumentadas presentan una concentración de L-LCR mayor.

6.3.1.4 Tiempo de supervivencia

Existe una correlación negativa fuerte-moderada entre el tiempo de supervivencia y el L-LCR ($S= -0,50210$; $p< 0,0004$) así como una correlación negativa débil entre el tiempo de supervivencia y el L-SANG ($S= -0,35685$; $p< 0,0220$). A menor tiempo de supervivencia, mayor concentración de L-LCR y L-SANG

No se encontraron correlaciones estadísticamente significativas en el grupo MOD entre L-SANG y L-LCR con el resto de las variables paramétricas a estudio (proteínas totales, glóbulos blancos, % segmentados y % cayados en sangre; RTCN, % neutrófilos, % linfocitos; % linfocitos activados; % linfoblastos, % mononocitos, % monocitos activados, % eosinófilos en LCR y duración de los signos clínicos previos al diagnóstico).

6.3.2 Comparativas de variables no paramétricas

Existen diferencias estadísticamente significativas entre el L-SANG y L-LCR en los pacientes con respuesta favorable en 1 mes así como en los que presentaron una evolución desfavorable. También se hallaron diferencias en las concentraciones de L-LCR en los pacientes que permanecieron estables con tratamiento y los pacientes con recaídas (Tabla 21).

Tabla 22. Diferencias significativas encontradas entre L-LCR, L-SANG y variables relacionadas con el tratamiento.

Variable	L-LCR	L-SANG
Respuesta favorable al tratamiento en 1 mes	p< 0,0010	
Estable con tratamiento	p< 0,0013	p< 0,0037
Evolución desfavorable	p< 0,0497	
Recaída	p< 0,0356	p< 0,0004

L-LCR: lactato en líquido cefalorraquídeo; L-SANG: lactato sanguíneo.

6.4 ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA GRUPO MOD

Se analizó la supervivencia global y a los 7 días en función de las siguientes variables:

6.4.1 Reseña paciente: la raza, sexo, edad y peso (< 15 kg; >15 kg) no influyeron en la supervivencia de los pacientes.

6.4.2 Signos clínicos: los pacientes con alteración del estado mental, exploración neurológica compatible con signos multifocales, alteración de la visión, marcha en círculos y alteración del comportamiento presentaron una supervivencia global estadísticamente significativa menor que el resto (Fig. 76- 8o):

➤ *Alteración del estado mental* (Fig. 76):

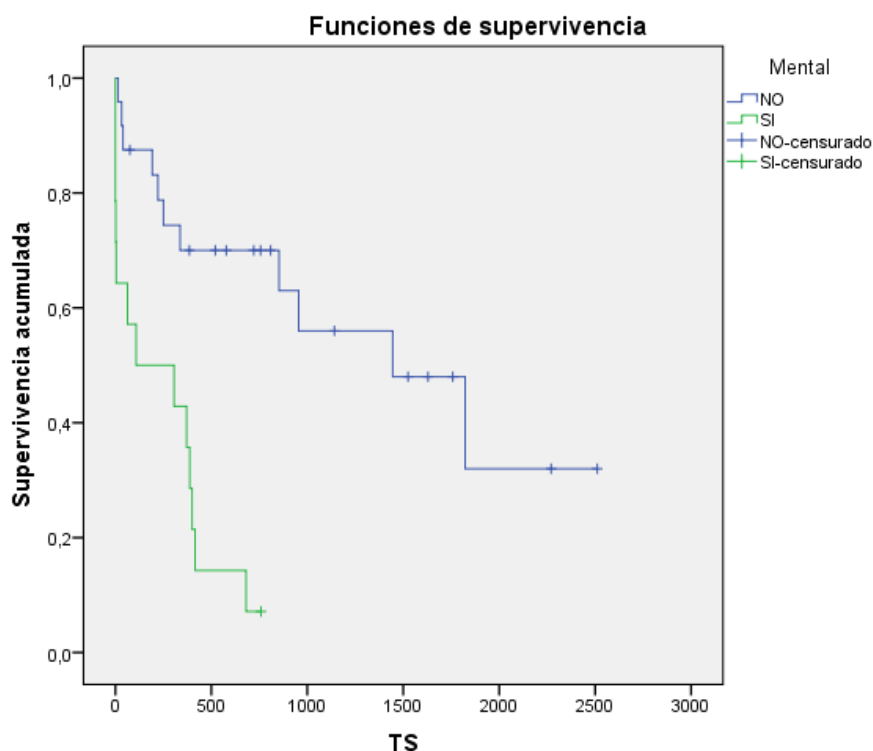


Fig. 76. Curva supervivencia en función de la presencia de alteración del estado mental. *TS: tiempo de supervivencia.*

	Chi-cuadrado	gl	p
Log Rank (Mantel-Cox)	14,276	1	,000*
Breslow (Generalized Wilcoxon)	11,704	1	,001*
Tarone-Ware	12,893	1	,000*

Al analizar la supervivencia a 7 días, sólo se encontraron diferencias estadísticamente significativas en este parámetro ($p < 0,05$). Los pacientes con alteración del estado mental son los que menos tiempo sobreviven.

➤ *Signos multifocales (Fig. 77):*

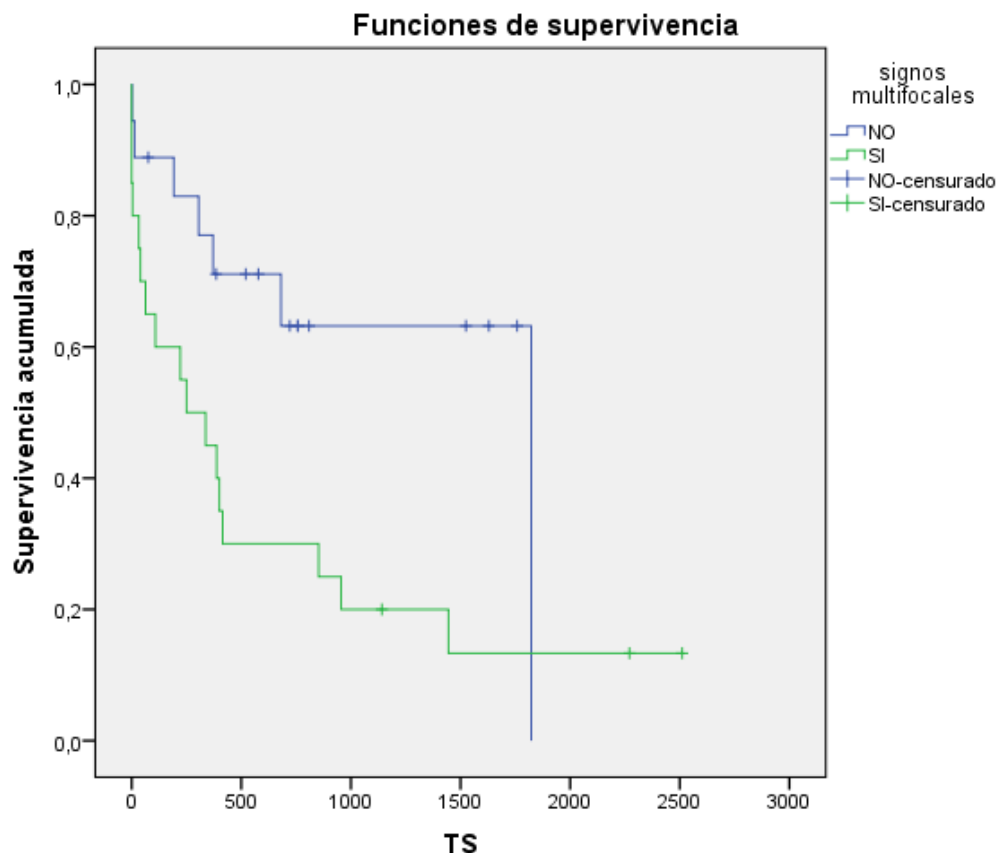


Fig. 77. Curva supervivencia en función de la presencia de signos multifocales. *TS: tiempo de supervivencia.*

	Chi-cuadrado	gl	p
Log Rank (Mantel-Cox)	5,206	1	,023*
Breslow (Generalized Wilcoxon)	5,384	1	,020*
Tarone-Ware	5,654	1	,017*

➤ Déficit visual (Fig. 78):

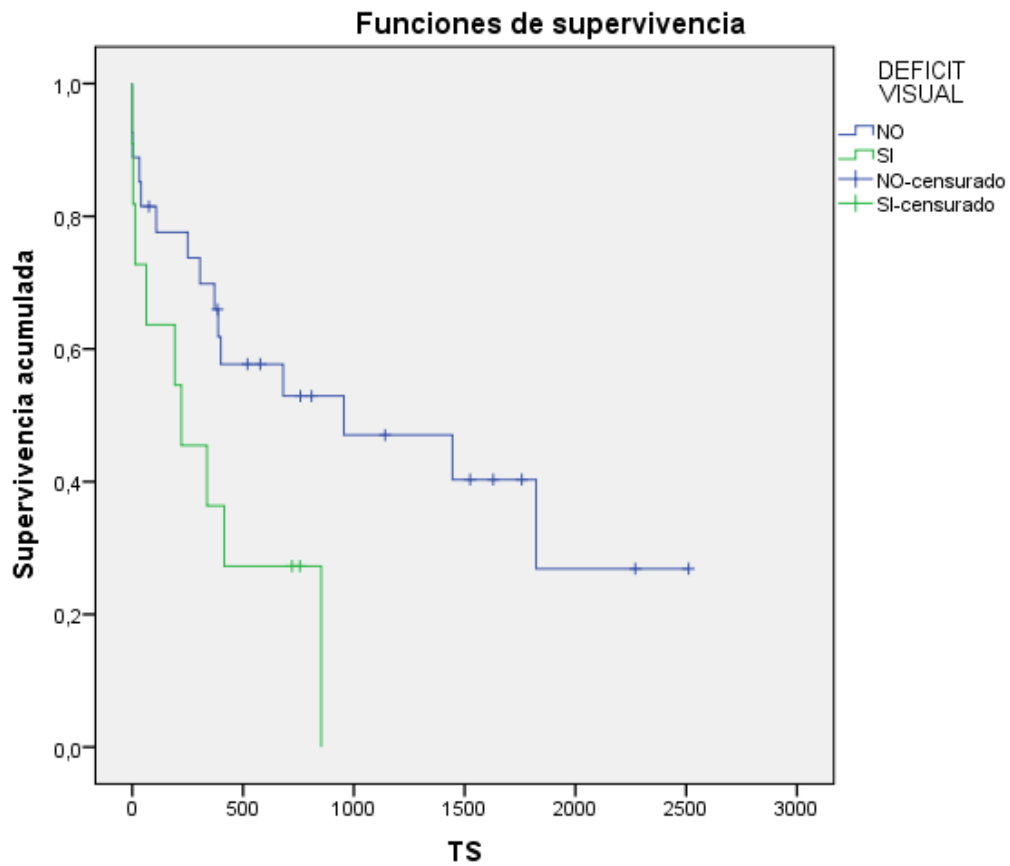


Fig. 78. Curva supervivencia en función de la presencia de déficits visuales. *TS*: tiempo de supervivencia.

	Chi-cuadrado	gl	p
Log Rank (Mantel-Cox)	4,355	1	,037*
Breslow (Generalized Wilcoxon)	3,108	1	,078
Tarone-Ware	3,655	1	,056*

➤ *Marcha en círculos* (Fig. 79):

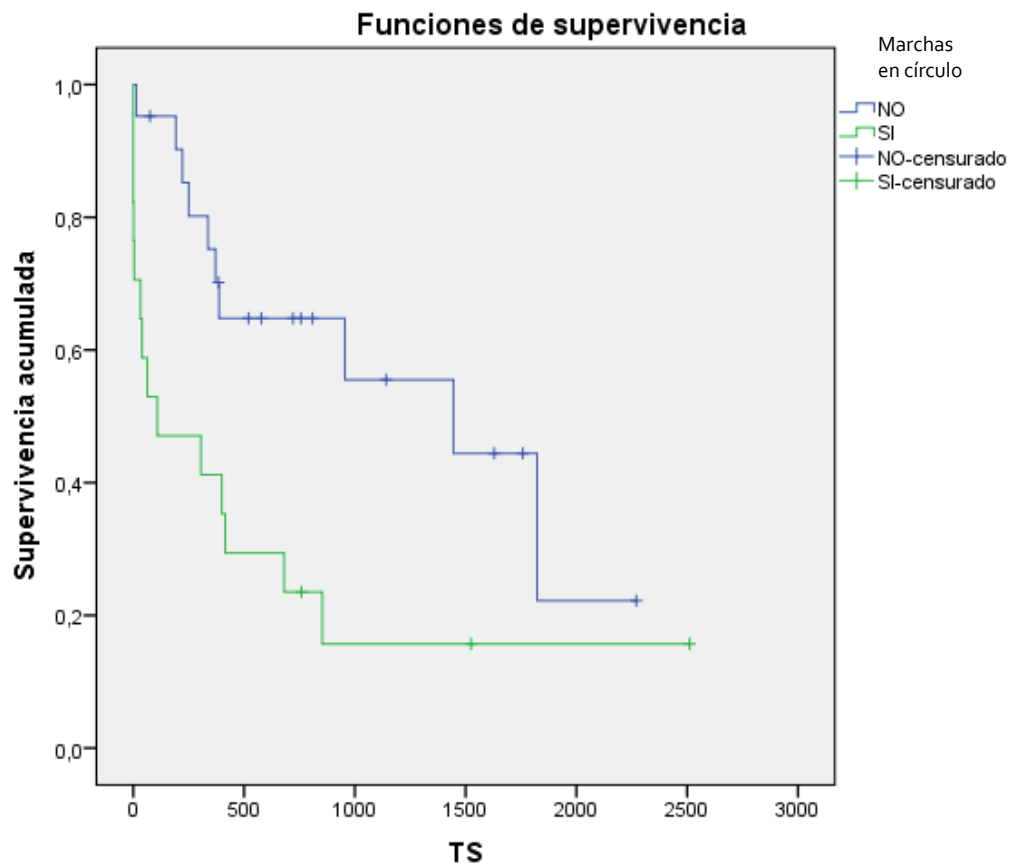


Fig. 79. Curva supervivencia en función de la presencia de marcha en círculos. *TS*: tiempo de supervivencia.

	Chi-cuadrado	gl	p
Log Rank (Mantel-Cox)	6,156	1	,013*
Breslow (Generalized Wilcoxon)	8,467	1	,004*
Tarone-Ware	7,807	1	,005*

➤ *Alteración del comportamiento* (Fig. 8o):

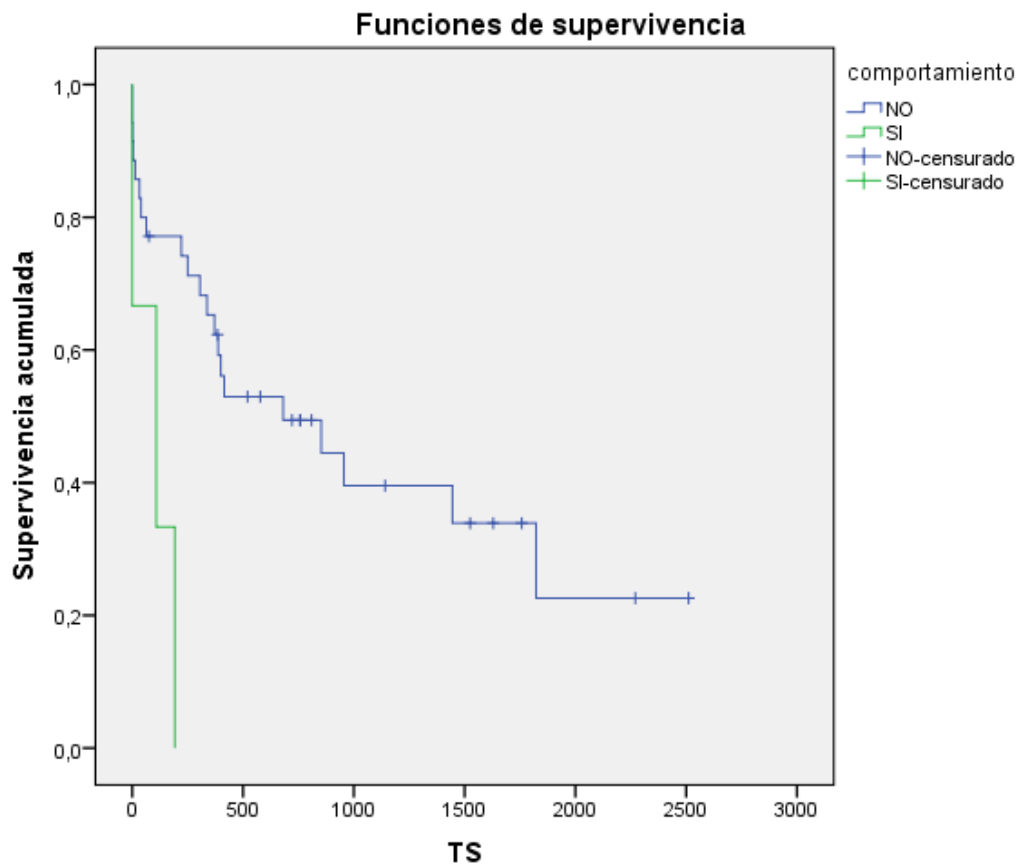


Fig. 8o. Curva supervivencia en función de la presencia de alteración del comportamiento. *TS: tiempo de supervivencia.*

	Chi-cuadrado	gl	p
Log Rank (Mantel-Cox)	7,959	1	,005*
Breslow (Generalized Wilcoxon)	6,417	1	,011*
Tarone-Ware	7,144	1	,008*

No se observaron diferencias estadísticamente significativas en la supervivencia de pacientes que presentaron convulsiones, mayor duración signos clínicos previos al diagnóstico, alteración de otros pares craneales, *pressing*, alteración cerebelar, dolor cervical, dolor en otros puntos de raquis, hemiparesia, paraparesia y/o tetraparesia.

6.4.3 Hallazgos de RM: los pacientes con evidencia de siringomielia, afectación de la sustancia gris y componente hemorrágico en la RM presentaron una supervivencia global estadísticamente significativa menor que el resto (Fig. 81- 83):

➤ *Siringomielia* (Fig. 81):

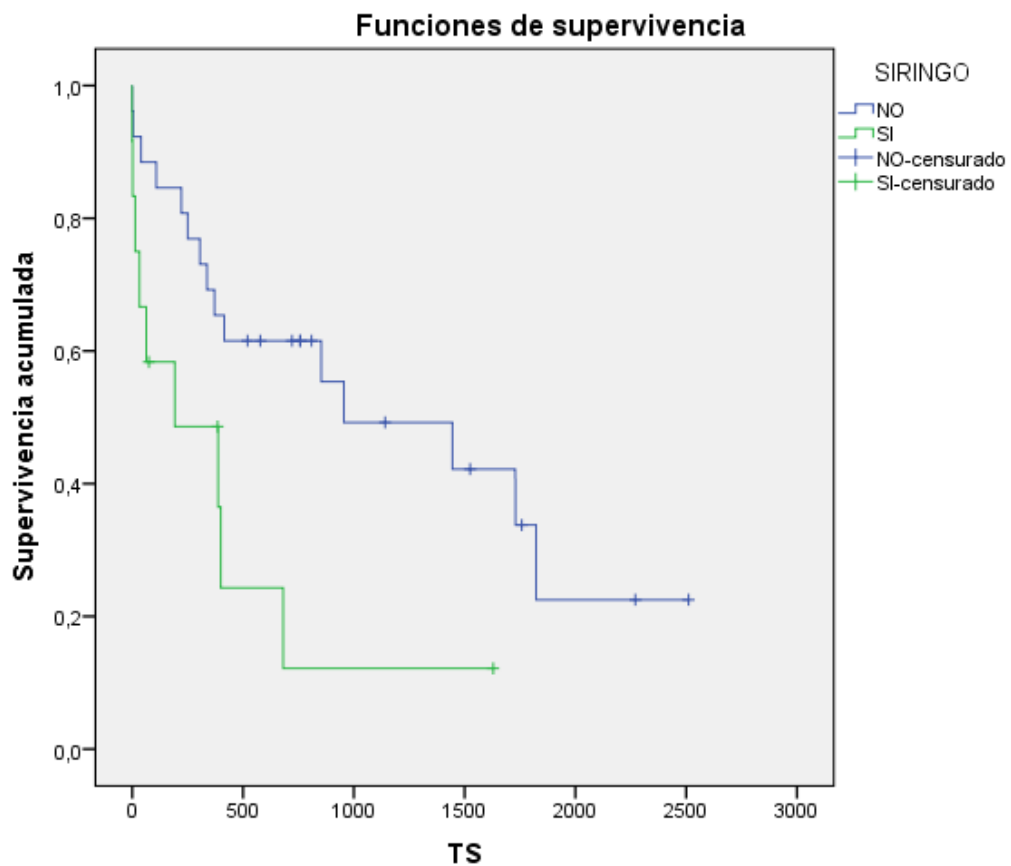


Fig. 81. Curva supervivencia en función de la presencia de siringomielia. *TS: tiempo de supervivencia.*

	Chi-cuadrado	gl	p
Log Rank (Mantel-Cox)	5,474	1	,019*
Breslow (Generalized Wilcoxon)	5,398	1	,020*
Tarone-Ware	5,589	1	,018*

➤ *Afectación sustancia gris* (Fig. 82):

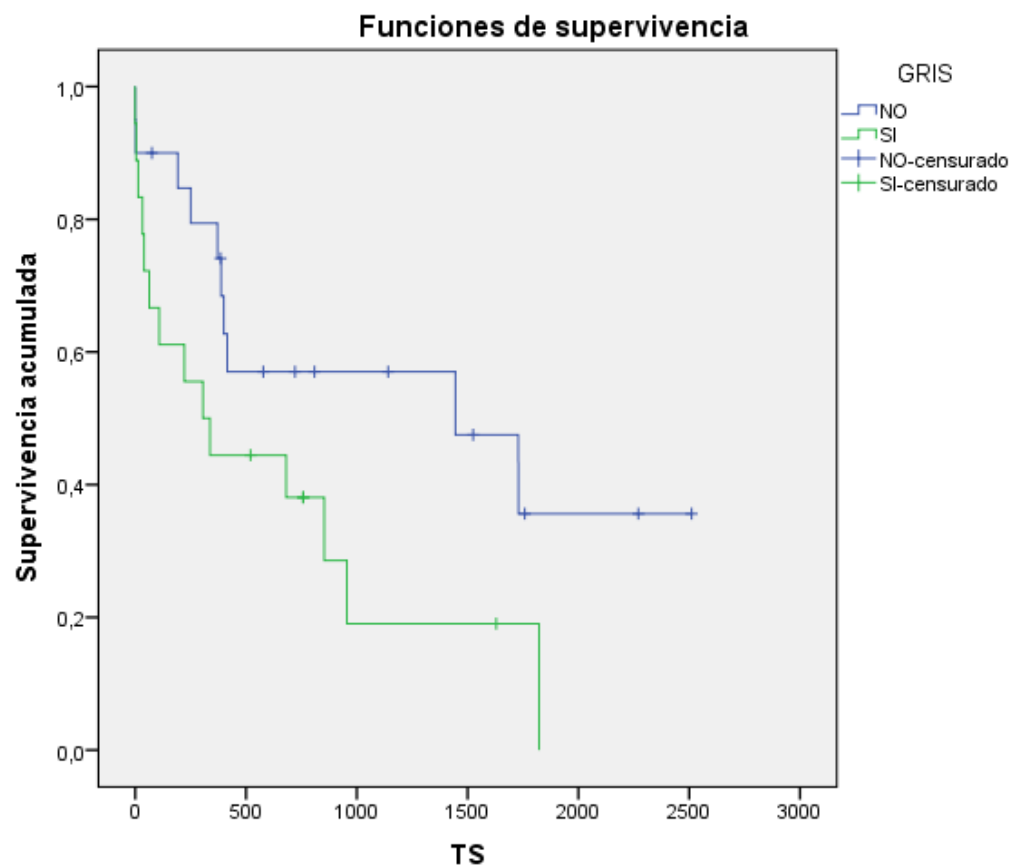


Fig. 82. Curva supervivencia en función de la afectación de sustancia gris. *TS: tiempo de supervivencia*

	Chi-cuadrado	gl	p
Log Rank (Mantel-Cox)	3,618	1	,057*
Breslow (Generalized Wilcoxon)	2,918	1	,088
Tarone-Ware	3,199	1	,074

➤ *Componente hemorrágico* (Fig.83):

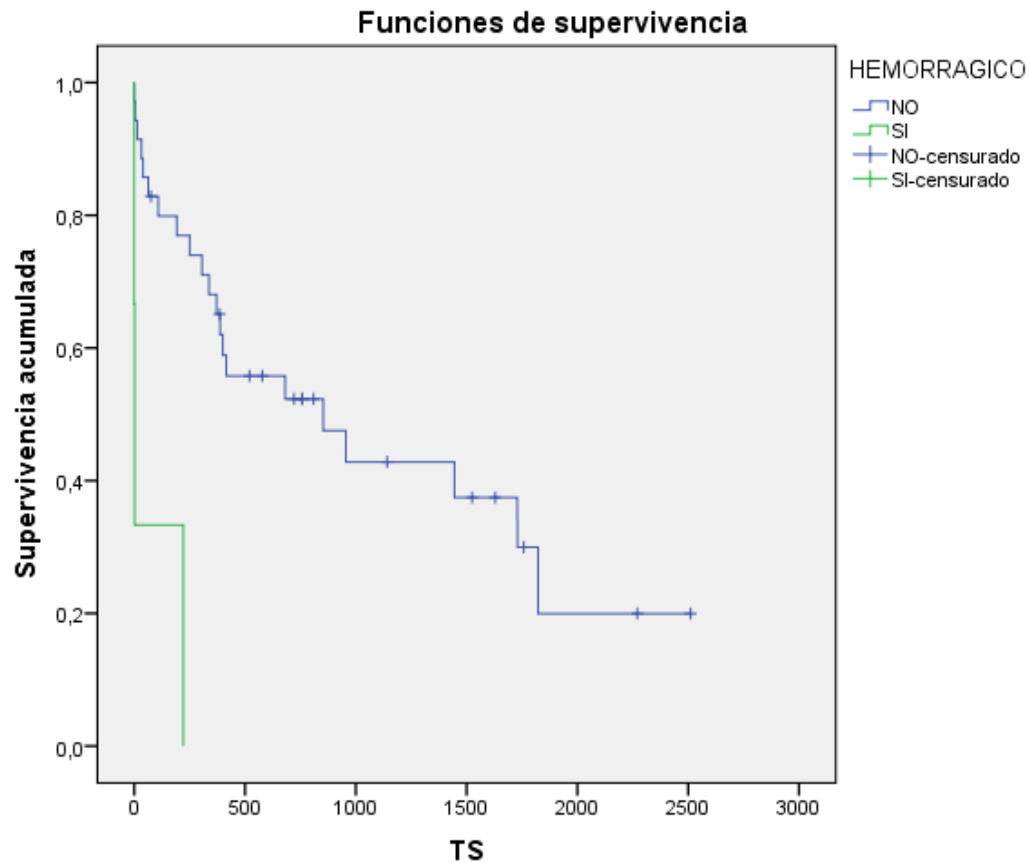


Fig. 83. Curva supervivencia en función de la presencia de componente hemorrágico. *TS: tiempo de supervivencia*

	Chi-cuadrado	gl	p
Log Rank (Mantel-Cox)	14,371	1	,000*
Breslow (Generalized Wilcoxon)	14,075	1	,000*
Tarone-Ware	14,235	1	,000*

Al analizar la supervivencia a 7 días, sólo se encontraron diferencias estadísticamente significativas en este parámetro ($p < 0,01$).

No se observaron diferencias en la supervivencia global de los pacientes que presentaron: lesiones multifocales, lesión focales, lesión difusa, desplazamiento de la línea media, efecto masa, ventriculomegalia, lesión encefálica, lesión en tronco encefálico, lesión cerebelar, lesión medular, herniación cerebral, herniación transtentorial, herniación foramen magno, pérdida surcos cerebrales, captación de contraste lesional, captación de contraste meníngeo, afectación de fosa rostral, afectación de fosa caudal, síndrome de Chiari, afectación de sustancia blanca y edema perilesional.

6.4.4 Analítica sanguínea:

- Al analizar la supervivencia a 7 días se encontraron diferencias estadísticamente significativas en L-SANG ($p < 0,0001$). Los pacientes con L-SANG elevado sobreviven menos. No se encontraron diferencias en el resto de los parámetros sanguíneos evaluados (hematocrito, proteínas totales, recuento de glóbulos blancos, segmentados y cayados).
- Para elaborar la curva de supervivencia según los niveles de L-SANG se estableció el punto de corte en 4 mmol/L. Este punto de corte se valoró acorde a la concentración máxima obtenida en el L-LCR en el grupo E1 con el fin de unificar el valor tanto para L-SANG como para el L-LCR. Los pacientes con L-SANG > 4 mmol/L presentan una supervivencia menor que el resto de los pacientes y estas diferencias son estadísticamente significativas (Fig. 84).

6.4.5 Análisis LCR:

- Al analizar la supervivencia a 7 días se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el L-LCR ($p < 0,0001$). Igual que para el L-SANG, los pacientes con L-LCR elevado sobreviven menos.

Se elaboraron curvas de supervivencia en función de las proteínas totales con punto de corte en 30 mg/dl, RTCN en 100 células/ μ l (pleocitosis severa) y el L-LCR con punto de corte igual que el L-SANG en 4 mmol/L. De todos los parámetros analizados, sólo existen diferencias estadísticamente significativas en las concentraciones de L-LCR con una supervivencia menor en los pacientes con L-LCR > 4 mmol/L (Fig. 85)

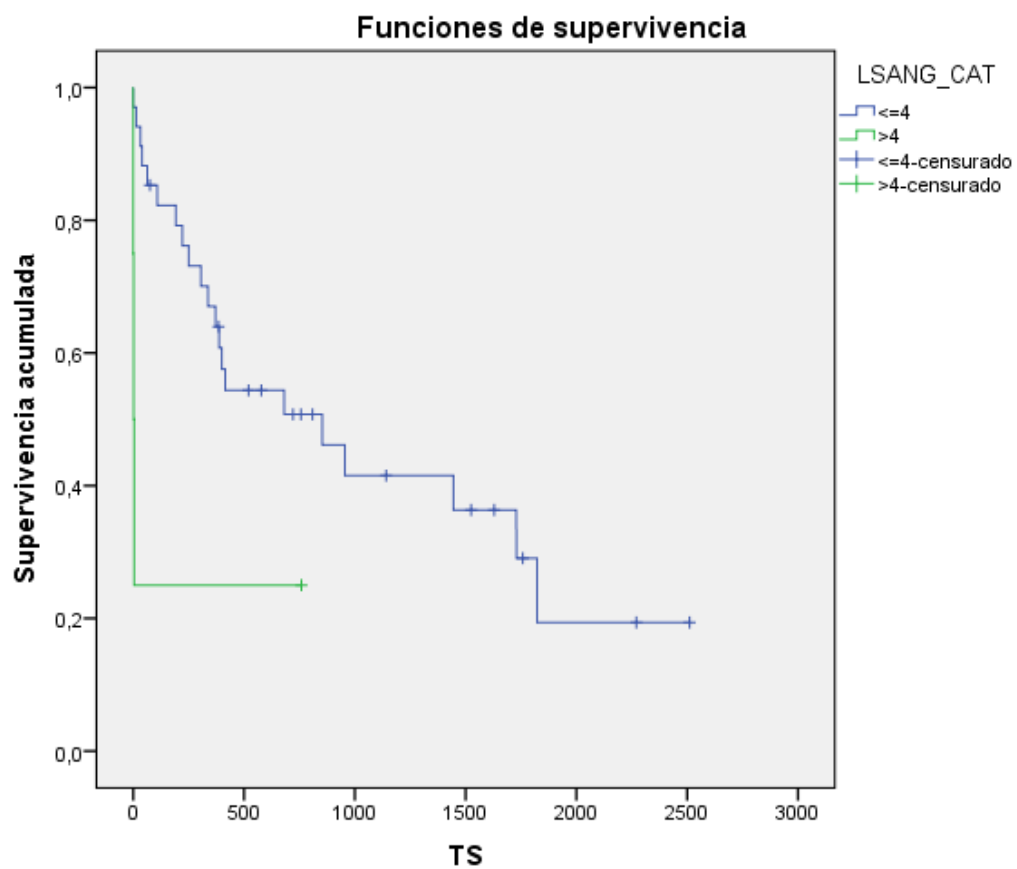


Fig.84. Curva supervivencia para L-SANG ≤ 4 o > 4 mmol/L. TS: tiempo de supervivencia

	Chi-cuadrado	gl	p
Log Rank (Mantel-Cox)	4,662	1	,031*
Breslow (Generalized Wilcoxon)	8,174	1	,004*
Tarone-Ware	6,447	1	,011*

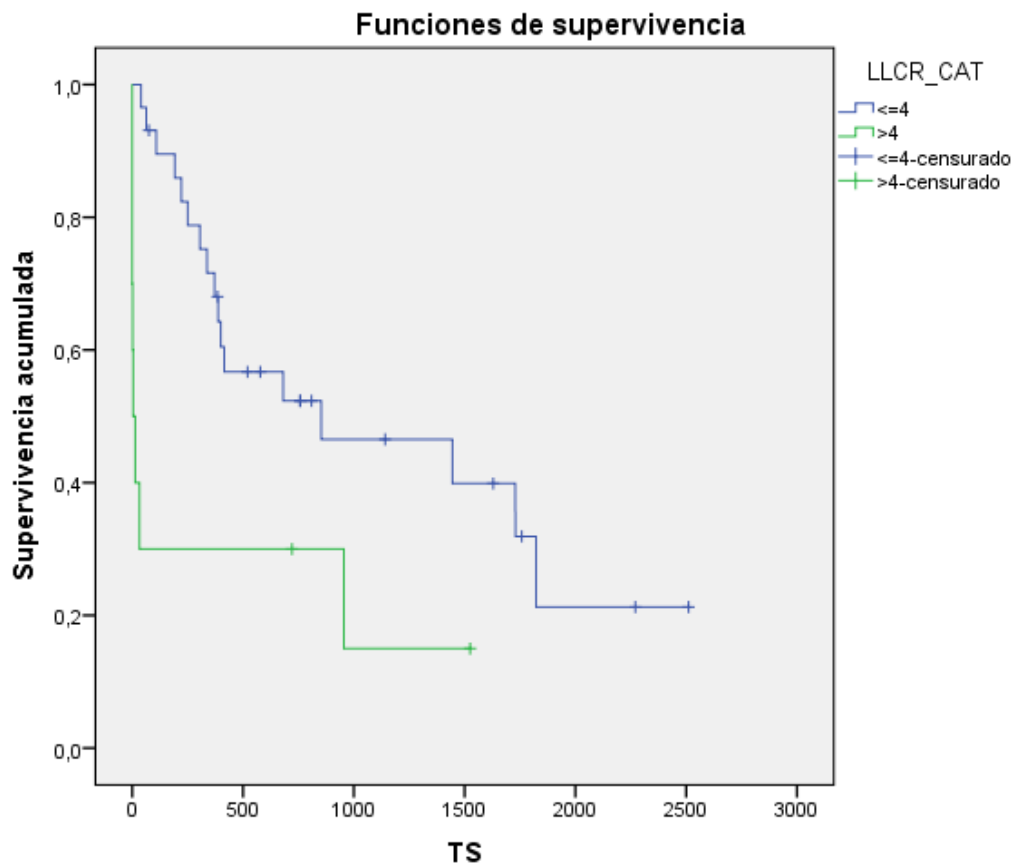


Fig. 85. Curva supervivencia para L-LCR ≤ 4 o > 4 mmol/L. *TS*: tiempo de supervivencia

	Chi-cuadrado	gl	p
Log Rank (Mantel-Cox)	6,787	1	,009*
Breslow (Generalized Wilcoxon)	12,158	1	,000*
Tarone-Ware	9,591	1	,002*

6.4.6 Tratamiento

6.4.6.1 Tratamiento previo al diagnóstico.

- Los pacientes en los que se instauró tratamiento sin un diagnóstico adecuado presentan una menor supervivencia (Fig.86)

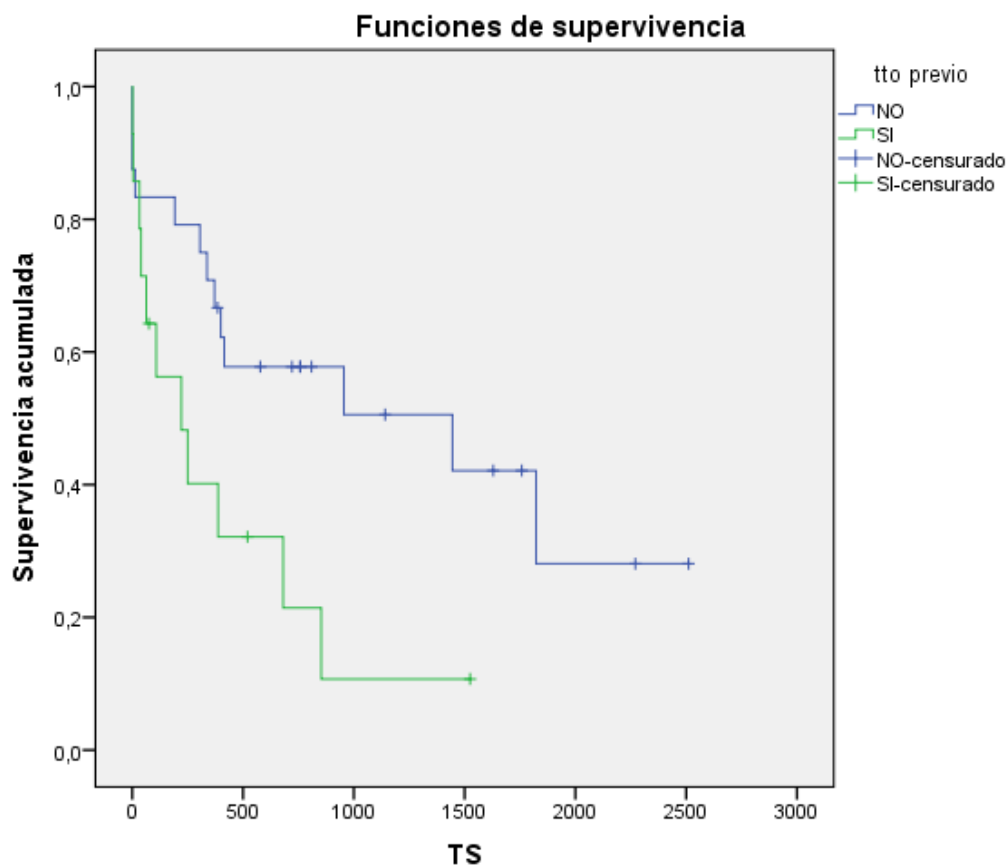


Fig. 86. Curva supervivencia en función de haber recibido tratamiento previo. *tto*: tratamiento; *TS*: tiempo de supervivencia

	Chi-cuadrado	gl	p
Log Rank (Mantel-Cox)	4,889	1	,027*
Breslow (Generalized Wilcoxon)	3,388	1	,066
Tarone-Ware	4,185	1	,041*

- Los pacientes con tratamiento glucocorticoide previo al diagnóstico también presentan una supervivencia menor que el resto (Fig.87).

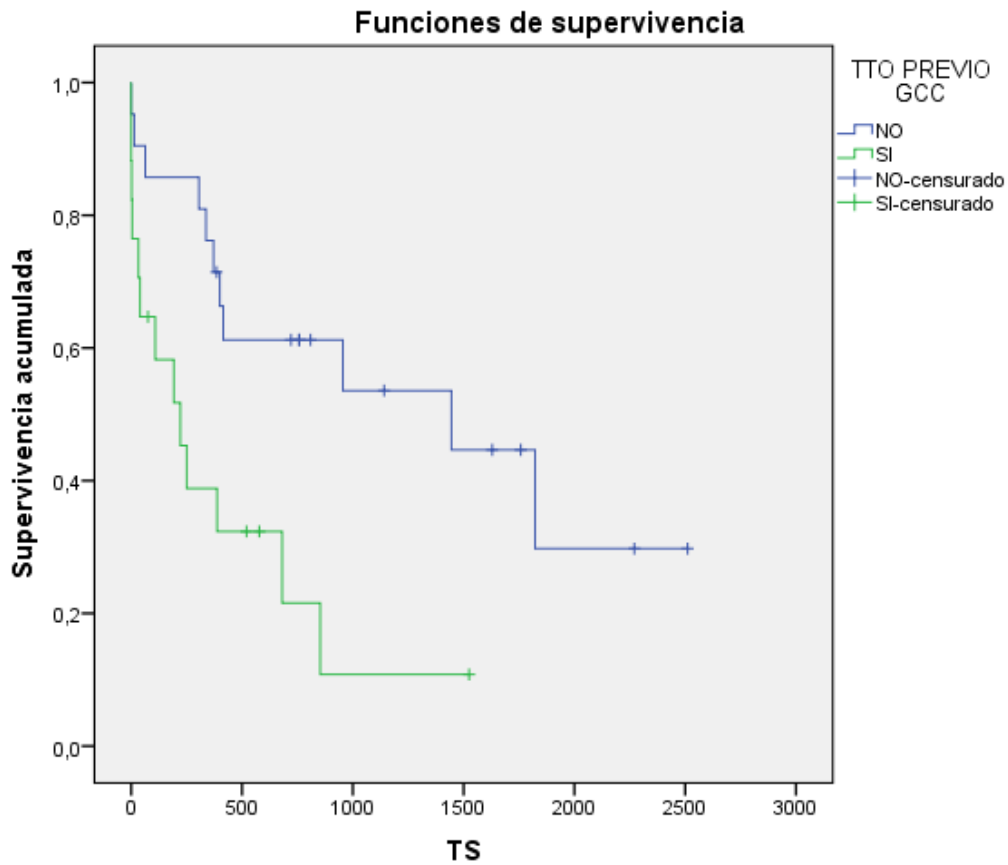


Fig. 87. Curva supervivencia en función de haber recibido tratamiento previo con glucocorticoides. *tto*: *tratamiento*; *GCC*: *glucocorticoides*; *TS*: *tiempo de supervivencia*

	Chi-cuadrado	gl	p
Log Rank (Mantel-Cox)	6,887	1	,009*
Breslow (Generalized Wilcoxon)	6,424	1	,011*
Tarone-Ware	6,777	1	,009*

6.4.6.2 Tratamiento instaurado después del diagnóstico

- Existen diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,001$) en la supervivencia entre los pacientes no tratados y los tratados. Los pacientes no tratados tienen una supervivencia muy inferior a los tratados (Fig. 88). También existen diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,01$) en la supervivencia a 7 días entre los pacientes del grupo de tratamiento A frente al B, con una mayor supervivencia en el grupo A. Sin embargo, no existen diferencias significativas en la supervivencia global de los pacientes entre los dos tratamientos administrados (A vs B) (Fig. 89).

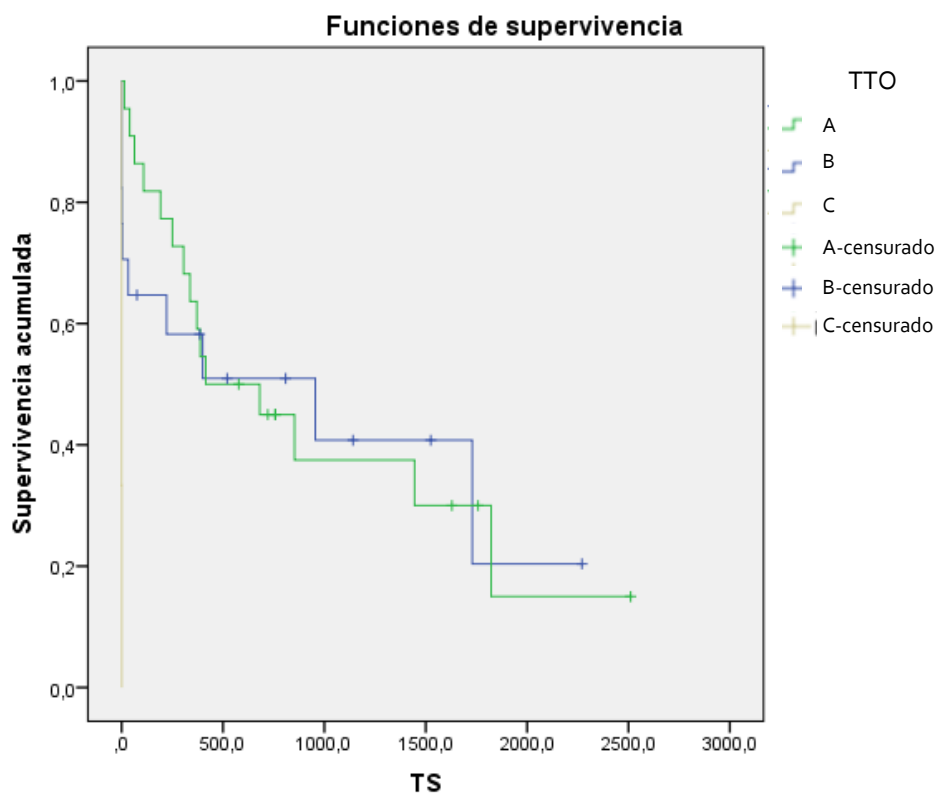


Fig. 88. Curva supervivencia en función de los tres grupos de tratamiento (A: prednisona + arabinósido de citosina; B: prednisona +/- ciclosporina; C: sin tratamiento). *TS*: tiempo de supervivencia.

		C					
		Chi-cuadrado	p	Chi-cuadrado	p	Chi-cuadrado	p
Log Rank (Mantel-Cox)	A			,025	,873	33,248	,000*
	B	,025	,873			12,985	,000*
	C	33,248	,000	12,985	,000		
Breslow (Generalized Wilcoxon)	A			,556	,456	31,479	,000*
	B	,556	,456			10,645	,001*
	C	31,479	,000	10,645	,001*		
Tarone-Ware	A			,211	,646	32,363	,000*
	B	,211	,646			11,750	,001*
	C	32,363	,000*	11,750	,001*		

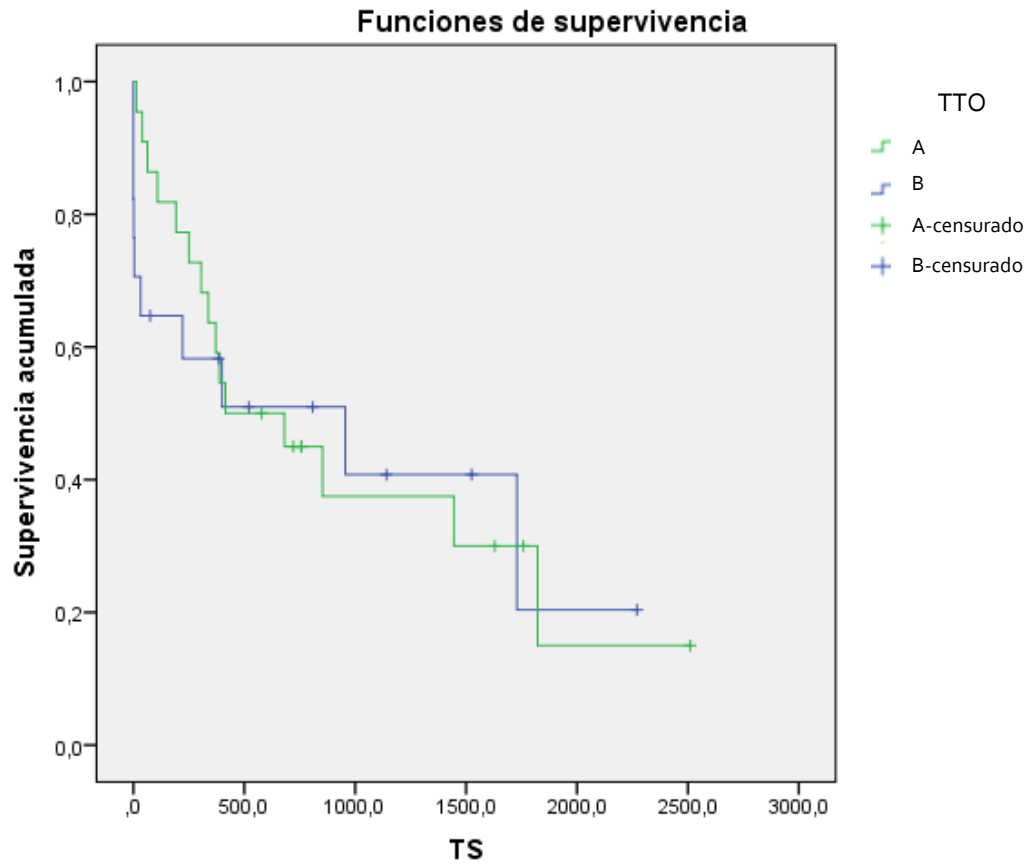


Fig. 8g. Curva supervivencia en función de los dos protocolos de tratamiento (A: prednisona + arabinósido de citosina; B: prednisona+/- ciclosporina). *TS: tiempo de supervivencia.*

	Chi-cuadrado	gl	p
Log Rank (Mantel-Cox)	,025	1	,873
Breslow (Generalized Wilcoxon)	,556	1	,456
Tarone-Ware	,211	1	,646

6.4.6.3 Respuesta favorable al tratamiento en 7 días

Los pacientes que presentan una respuesta favorable a los 7 días de haber iniciado el tratamiento adecuado presentan una mayor supervivencia (Fig. 90).

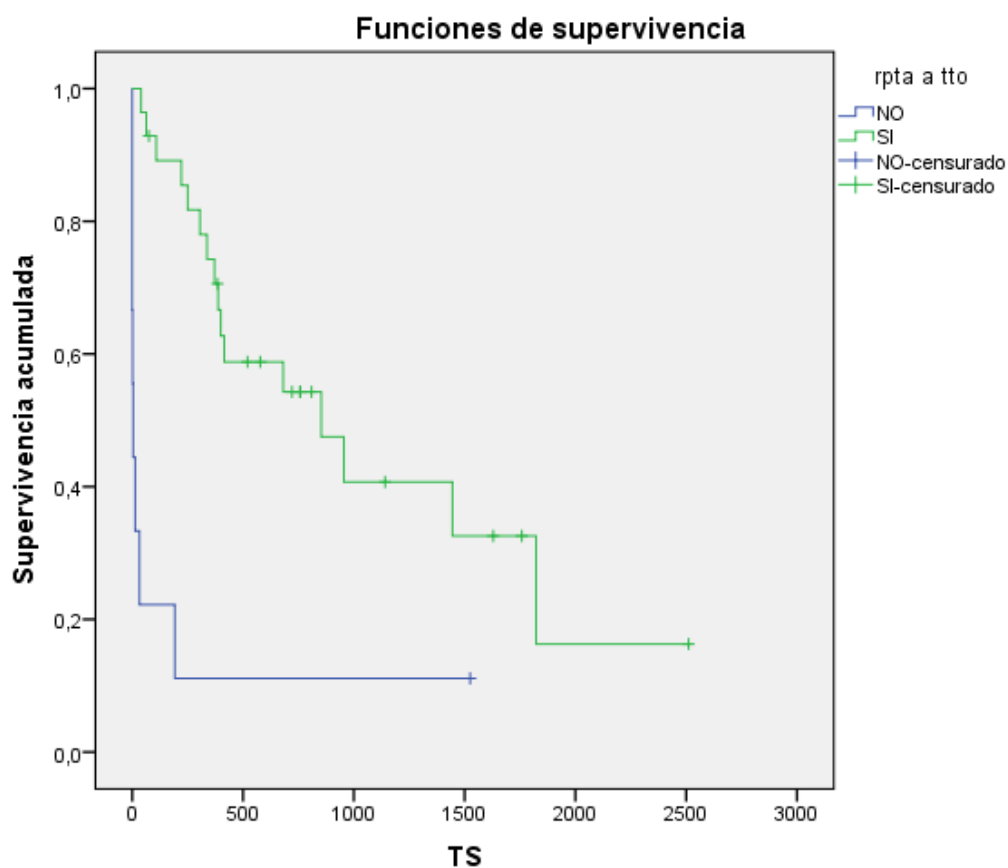


Fig. 90. Curva supervivencia en función de la respuesta al tratamiento en 7 días. *TS: tiempo de supervivencia.*

	Chi-cuadrado	gl	p
Log Rank (Mantel-Cox)	15,248	1	,000
Breslow (Generalized Wilcoxon)	25,188	1	,000
Tarone-Ware	21,624	1	,000

6.5 ANÁLISIS METABOLITOS MEDIANTE ^1H NMR

En el análisis de los espectros de los pacientes no se encuentran diferencias entre el grupo EI y el grupo MOD (Fig. 75). Por este motivo, se procede a realizar nuevos análisis en función de la supervivencia. Se comparan los pacientes con MOD con supervivencia < 1 mes con el grupo EI sin obtener diferencias (Fig. 100). Tampoco se encuentran diferencias en los pacientes del grupo MOD con supervivencia < 1 mes y el resto de pacientes del grupo MOD (Fig. 101). Sin embargo, sí existen diferencias entre los 3 pacientes del grupo MOD en el momento del diagnóstico y su control posttratamiento a los 8 meses (Fig. 102)

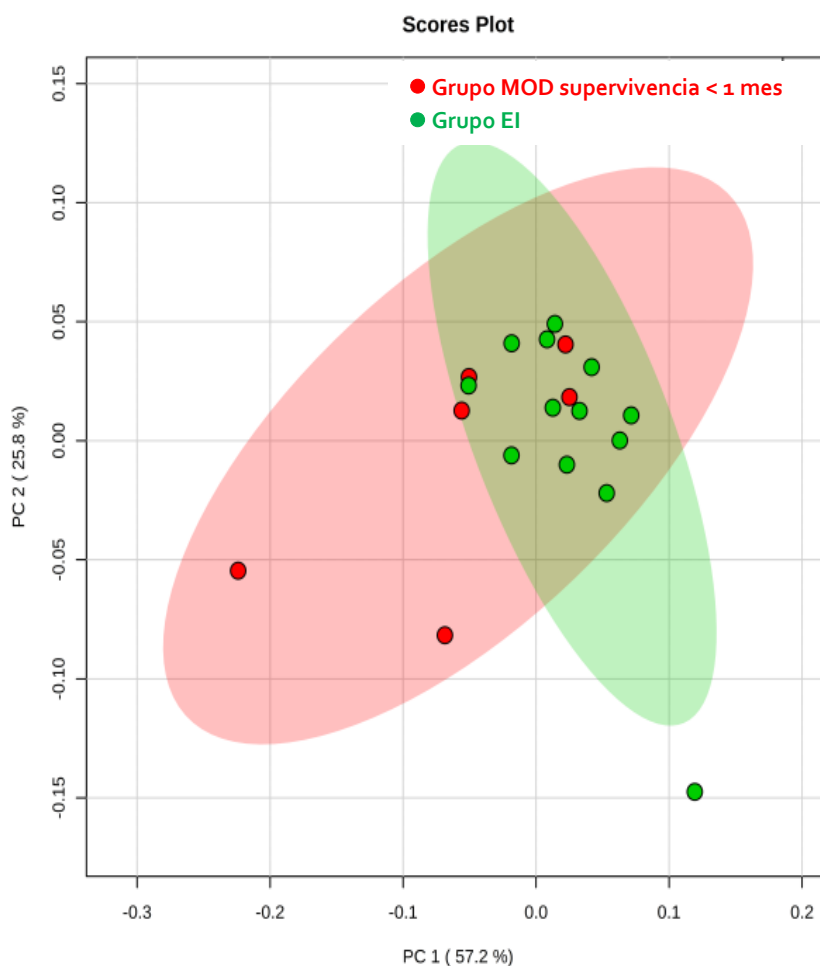


Fig. 91. Diagrama de puntos. Pacientes grupo EI y grupo MOD con supervivencia menor de 1 mes.

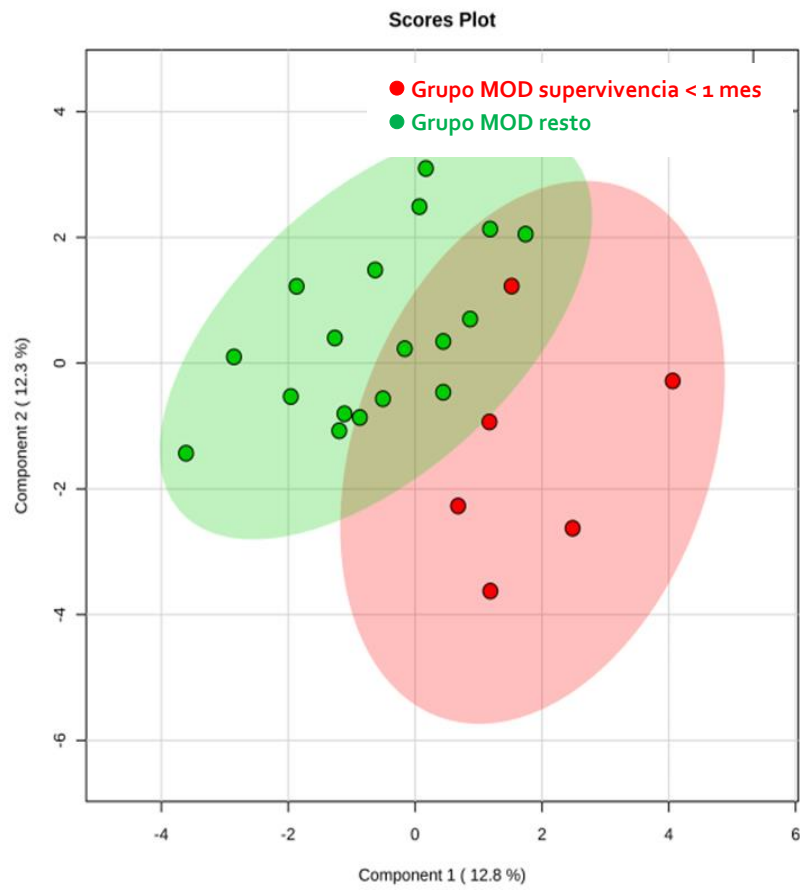


Fig. 92. Diagrama de puntos. Pacientes grupo MOD y grupo MOD con supervivencia menor de 1 mes.

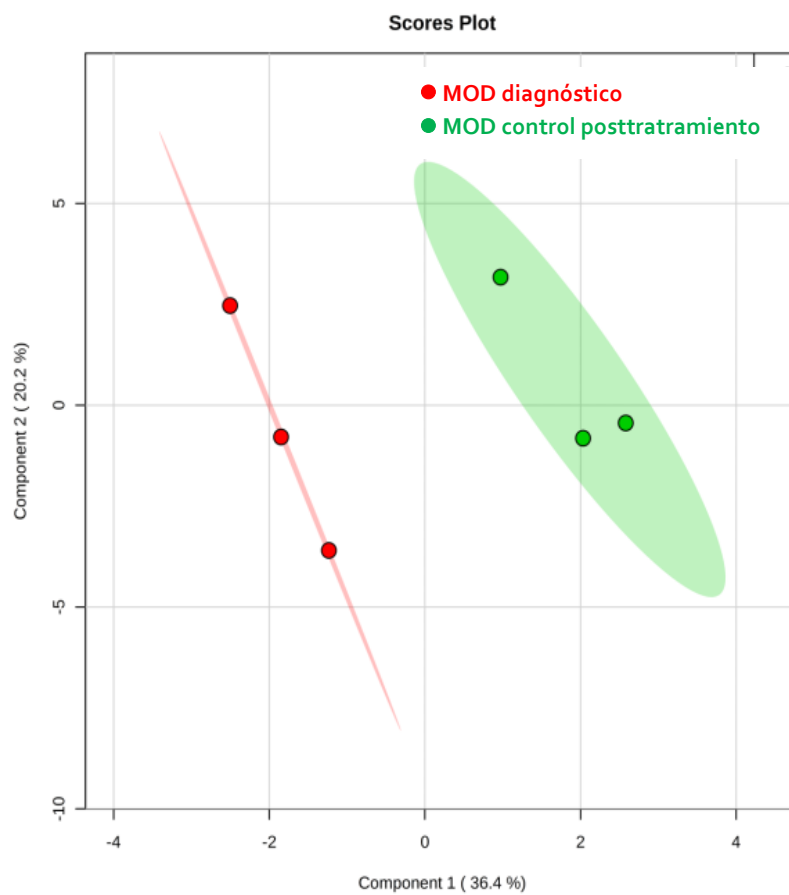


Fig. 93. Diagrama de puntos. Pacientes grupo MOD en el momento del diagnóstico y en el control.

Los espectros ampliados de estos 3 pacientes en el momento del diagnóstico y en el control posttratamiento (8 meses), comparándolos con un paciente del grupo EI y con los metabolitos de referencia, así como, los espectros superpuestos ampliados (diagnóstico y control posttratamiento) de cada uno de estos pacientes se muestran en las Fig.94- 114 .

6.5.1 LOLA

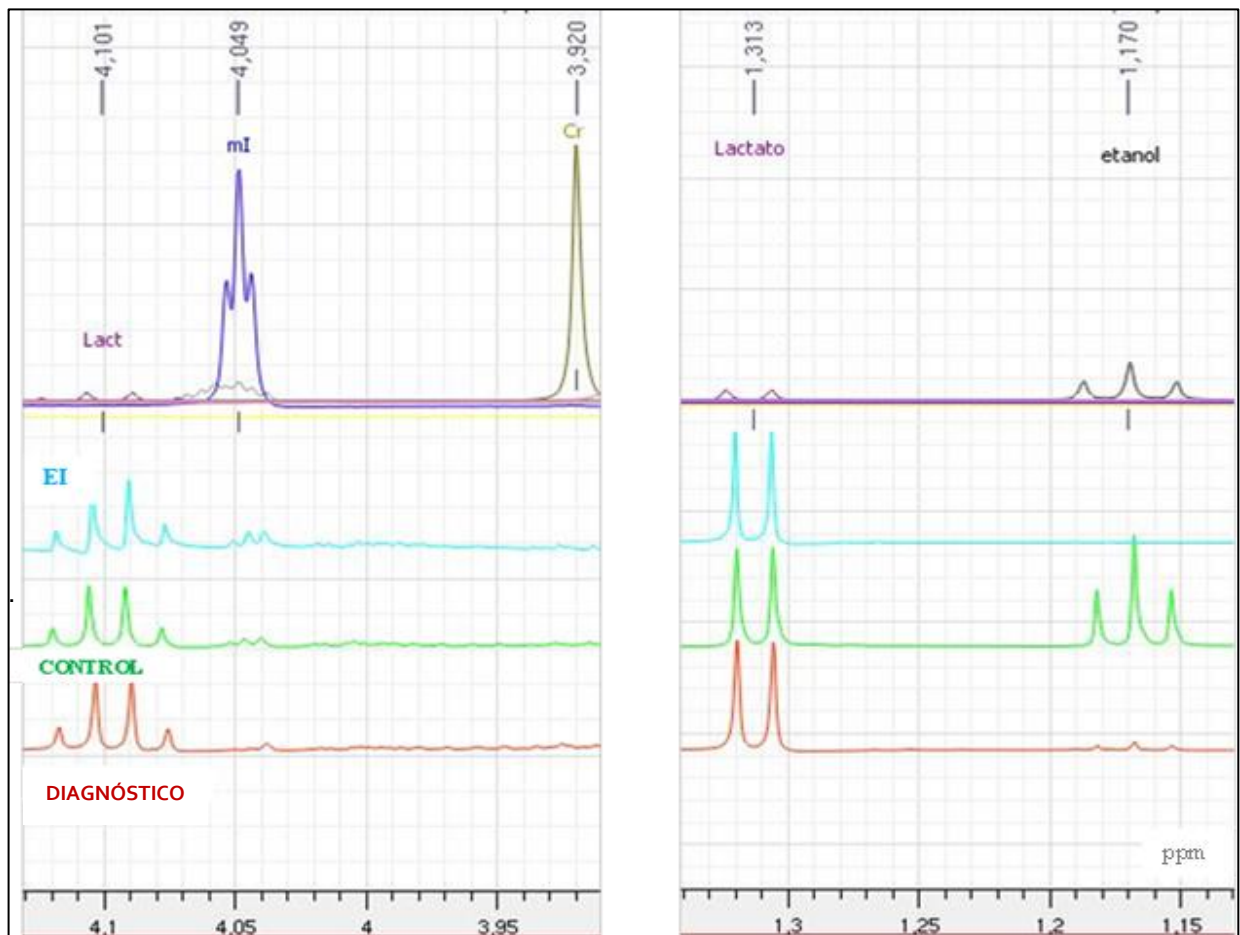


Fig. 94. Lola 1. El pico del lactato desciende levemente en el control posttratamiento con respecto al diagnóstico y se asemeja al paciente del grupo EI; el ml aumenta en el control y también se asemeja al grupo EI; la Cr en este espectrograma no se puede evaluar adecuadamente.

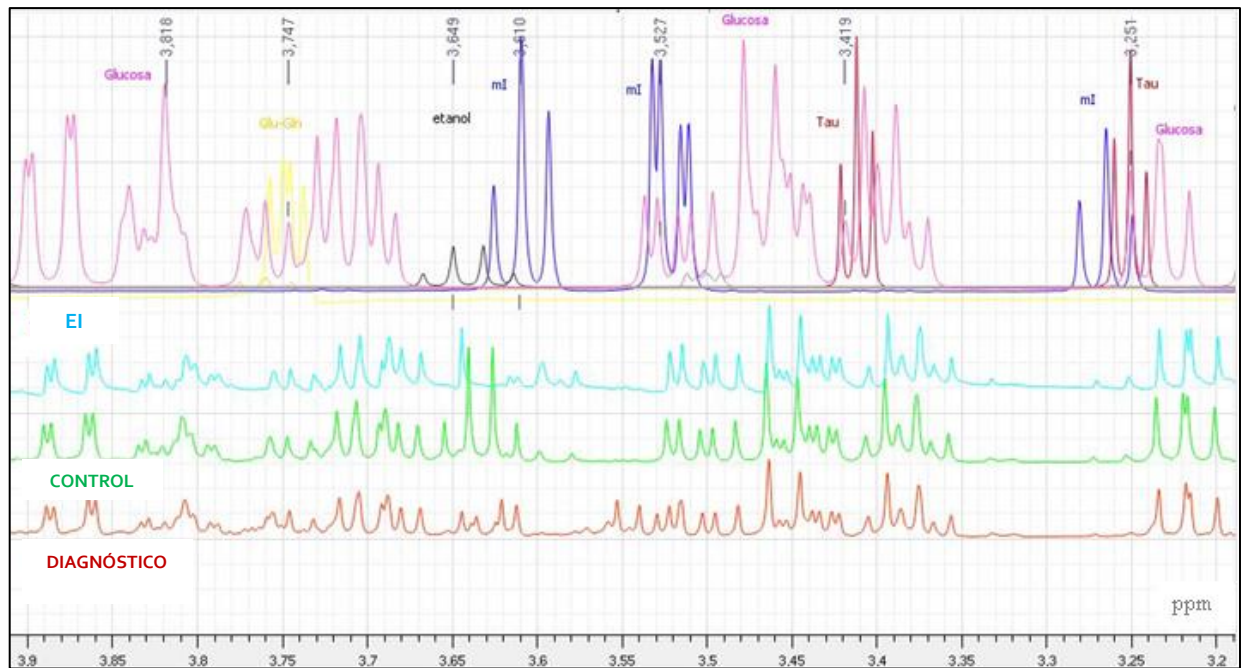


Fig. 95. Lola 2. Aumento de los picos de glucosa y ml en el control postratamiento similares al paciente EI; la modificación de la Gln, Glu y Tau no es valorable por superposición con otros picos y con el etanol.

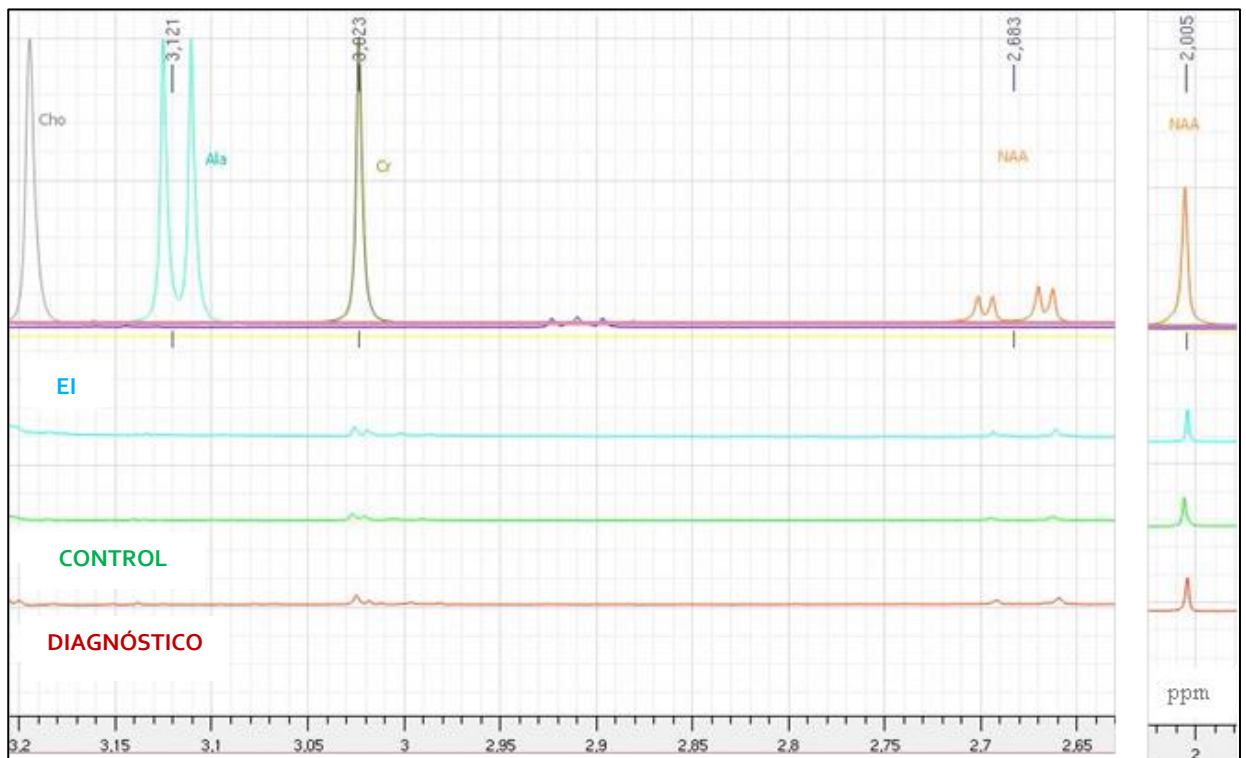


Fig. 96. Lola 3. Ausencia de pico de Cho y Ala; leve disminución en el pico de la Cr y leve incremento en el NAA en el control postratamiento (poco apreciable sin ampliar (Ver Fig. 100). Aumento de los picos de glucosa y ml en el control postratamiento similares al paciente EI; la modificación de la Gln, Glu y Tau no es valorable por superposición con otros picos y con el etanol.

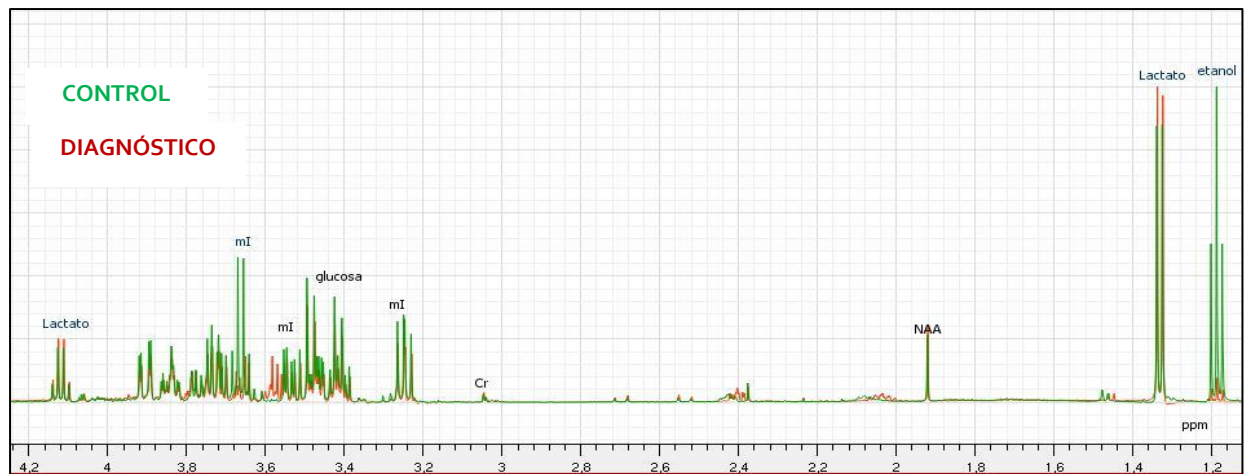


Fig. 97. Lola 4. Espectros del control posttratamiento y del momento del diagnóstico superpuestos.

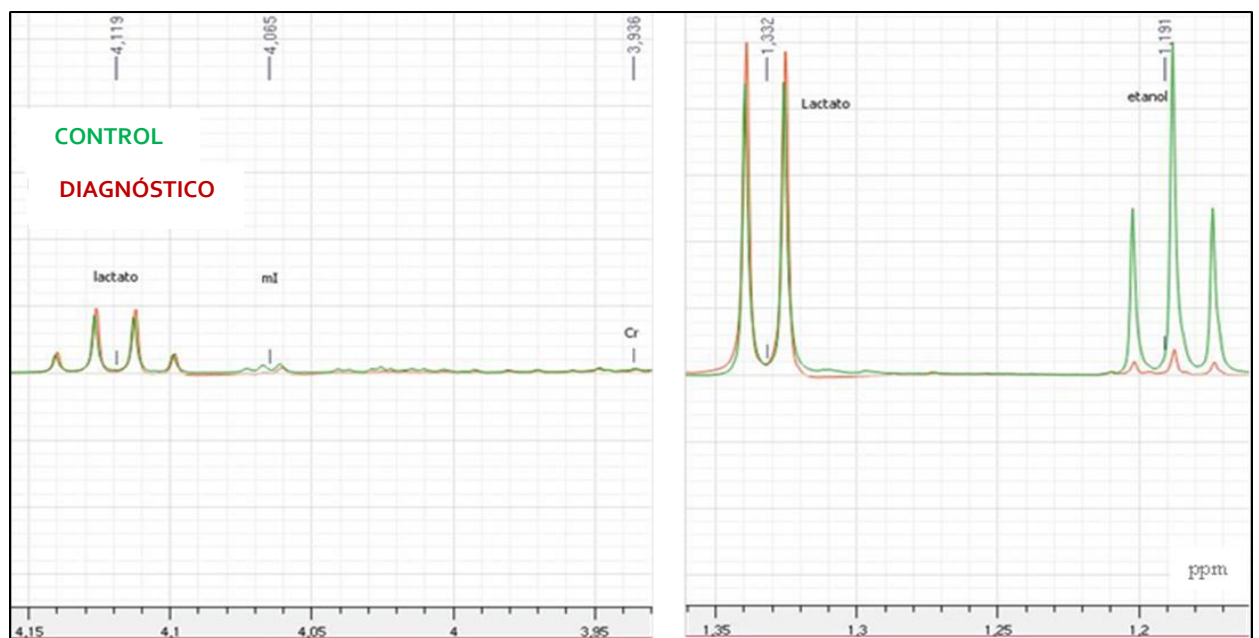


Fig. 98. Lola 5. Disminución del pico de lactato, aumento del mI y leve disminución de la Cr en el control posttratamiento.

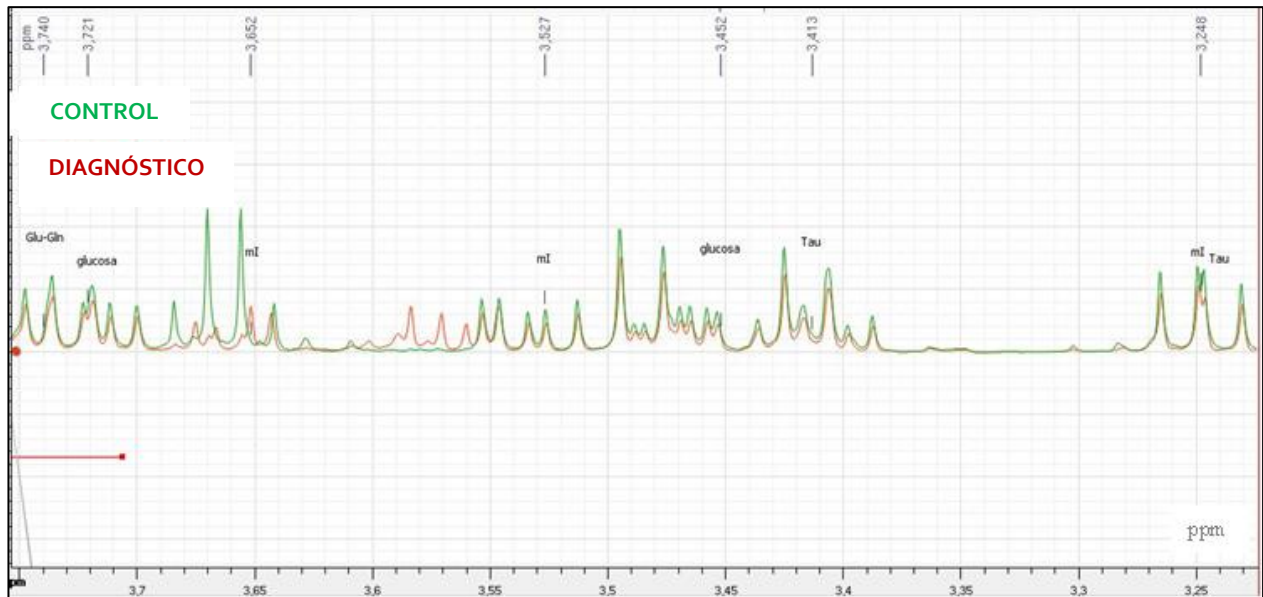


Fig. 99. Lola 6. Incremento de los picos de glucosa y del ml en el control posttratamiento; la Glu, Gln y Tau no son valorables por superposición con otros espectros.

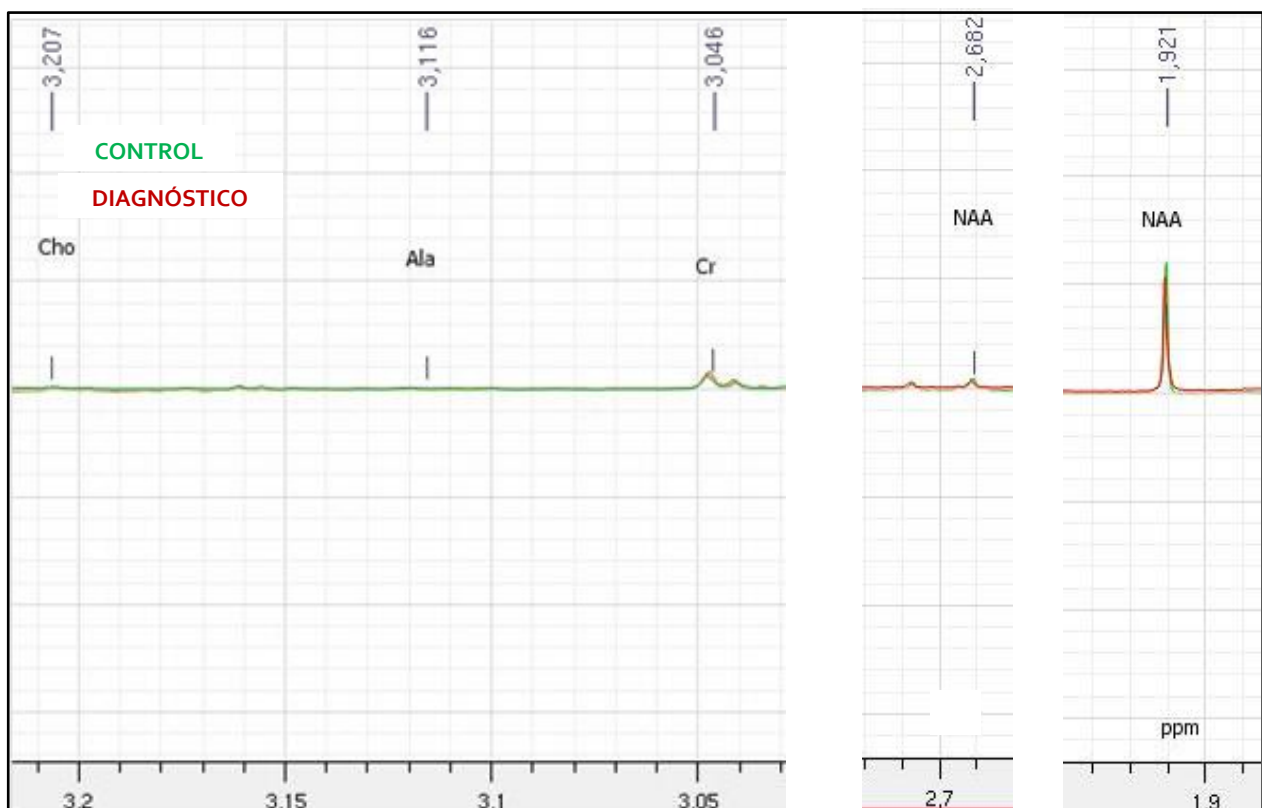


Fig. 100. Lola 7. Ausencia de pico valorable en la región de la Cho y Ala; leve disminución en el pico de la Cr y aumento del NAA en el control posttratamiento.

6.5.2 BOCA

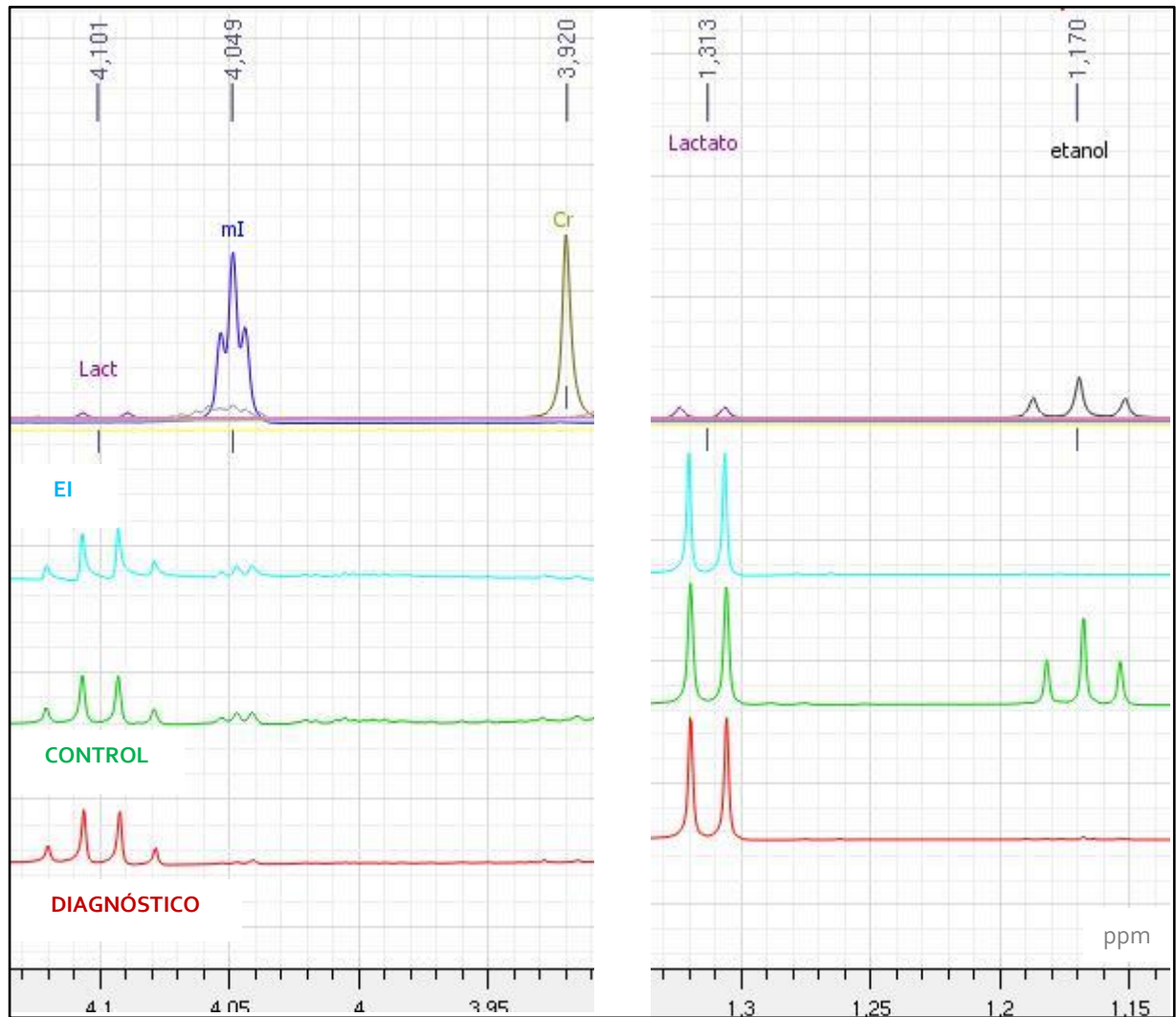


Fig. 101. Boca 1. El pico del lactato es similar en el control posttratamiento con respecto al momento del diagnóstico y se asemejan ambos al paciente del grupo EI; el mI y la Cr aumentan en el control posttratamiento y también se asemejan al grupo EI.

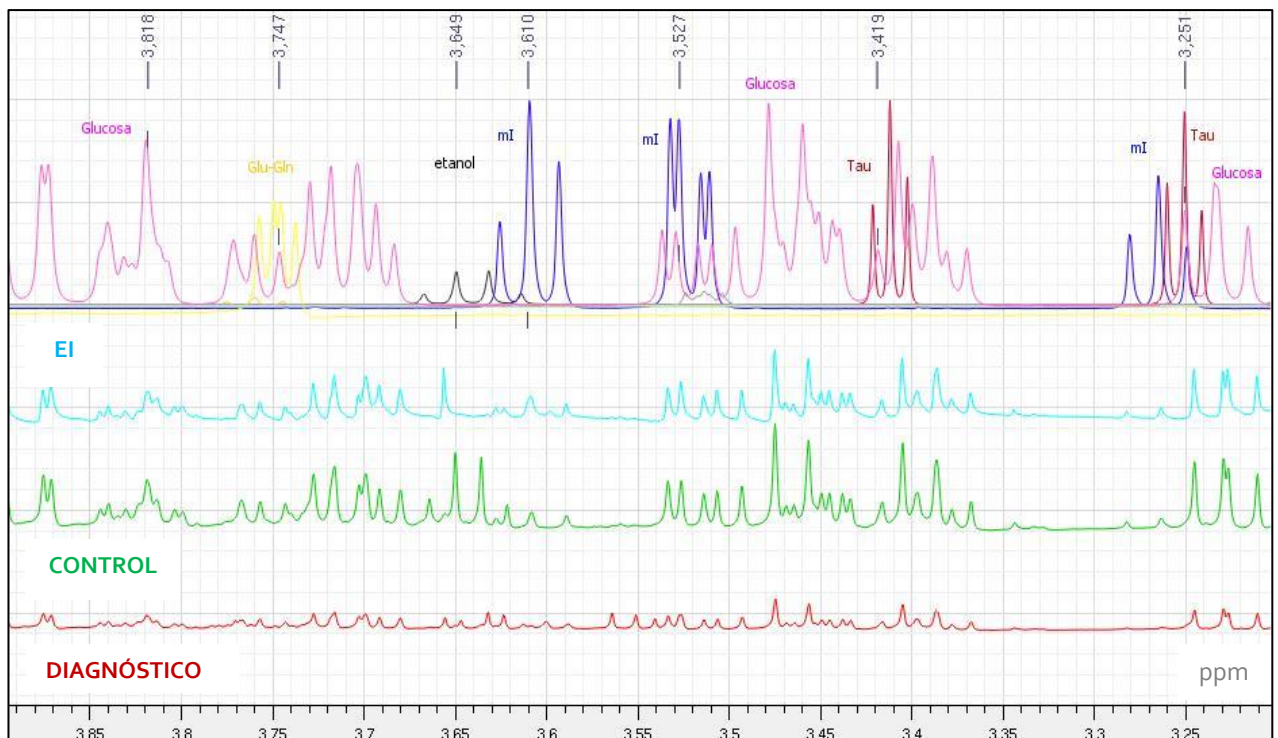


Fig. 102. Boca 2. Aumento de los picos de glucosa y mI en el grupo control posttratamiento; la modificación de la Gln, Gln y Tau no es valorable por superposición con otros picos y con el etanol.

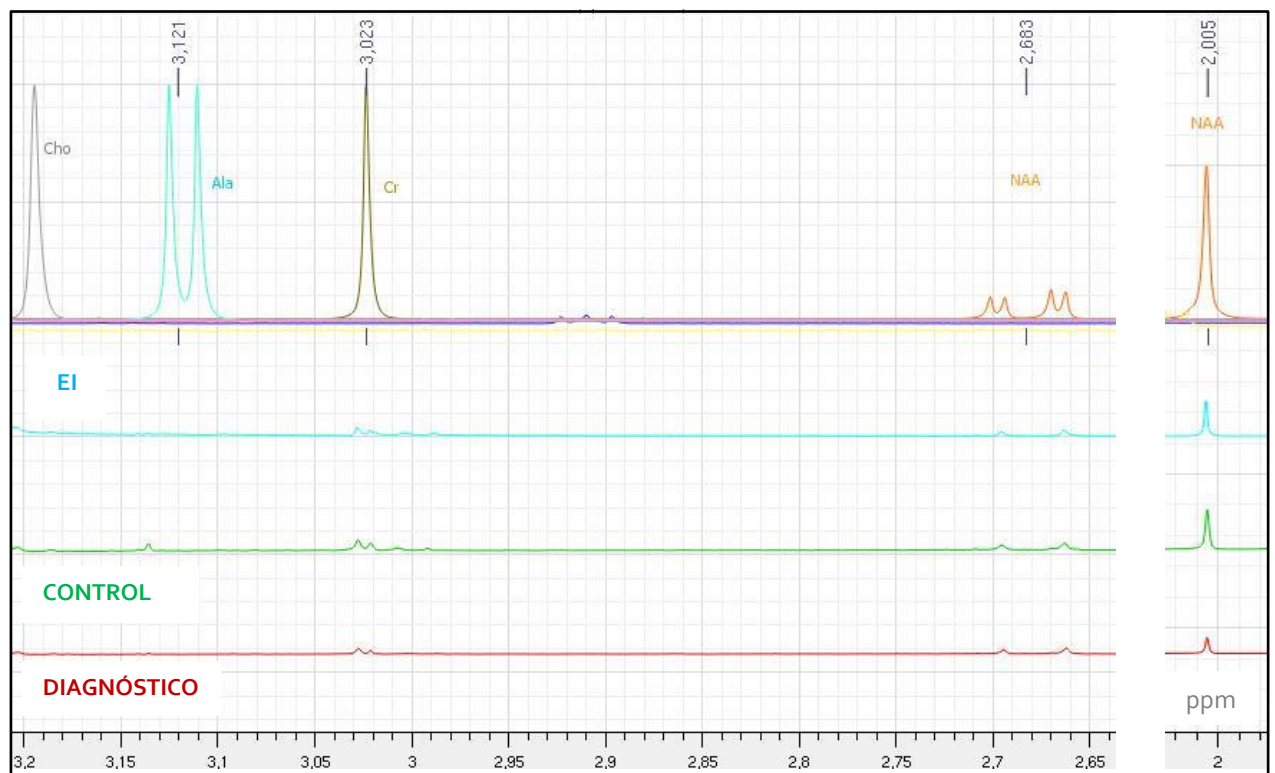


Fig. 103. Boca 3. Ausencia de pico de Cho y Ala; incremento de la Cr y el NAA en control posttratamiento que se asemejan al pico del grupo EI.

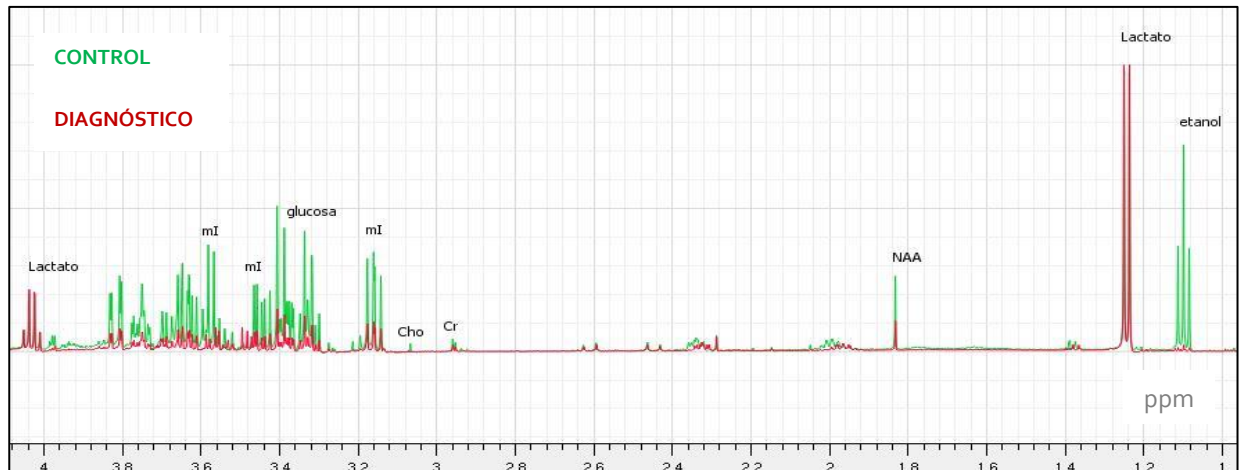


Fig. 104. Boca 4. Espectros del control posttratamiento y del momento del diagnóstico superpuestos.

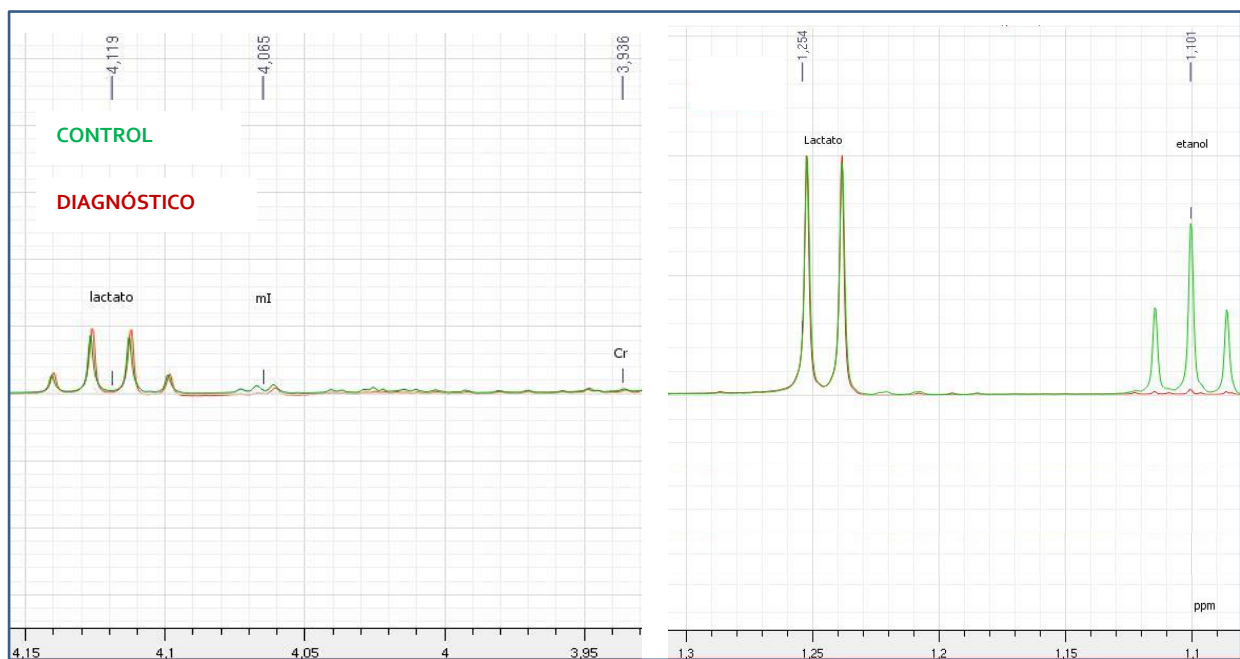


Fig. 105. Boca 5. Pico de lactato similar en el control posttratamiento y en el momento del diagnóstico; aumento del mI y muy leve incremento de la Cr en el control posttratamiento.

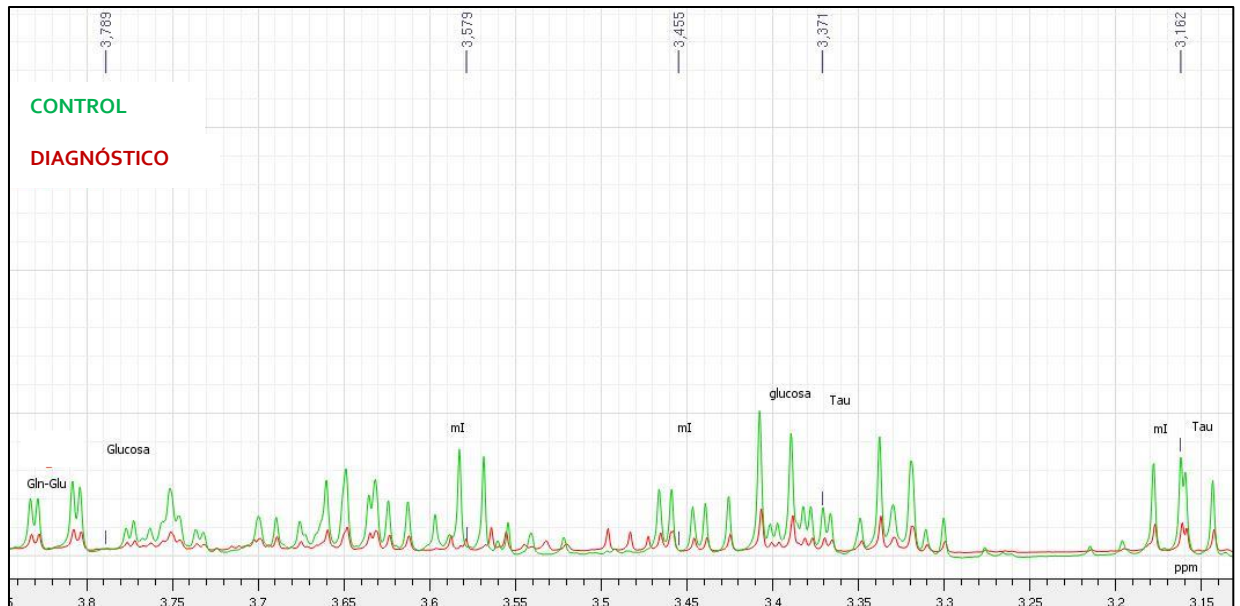


Fig. 106. Boca 6. Incremento de los picos de glucosa y del mI en el control; la Glu, Gln y Tau no son valorables por superposición con otros espectros.

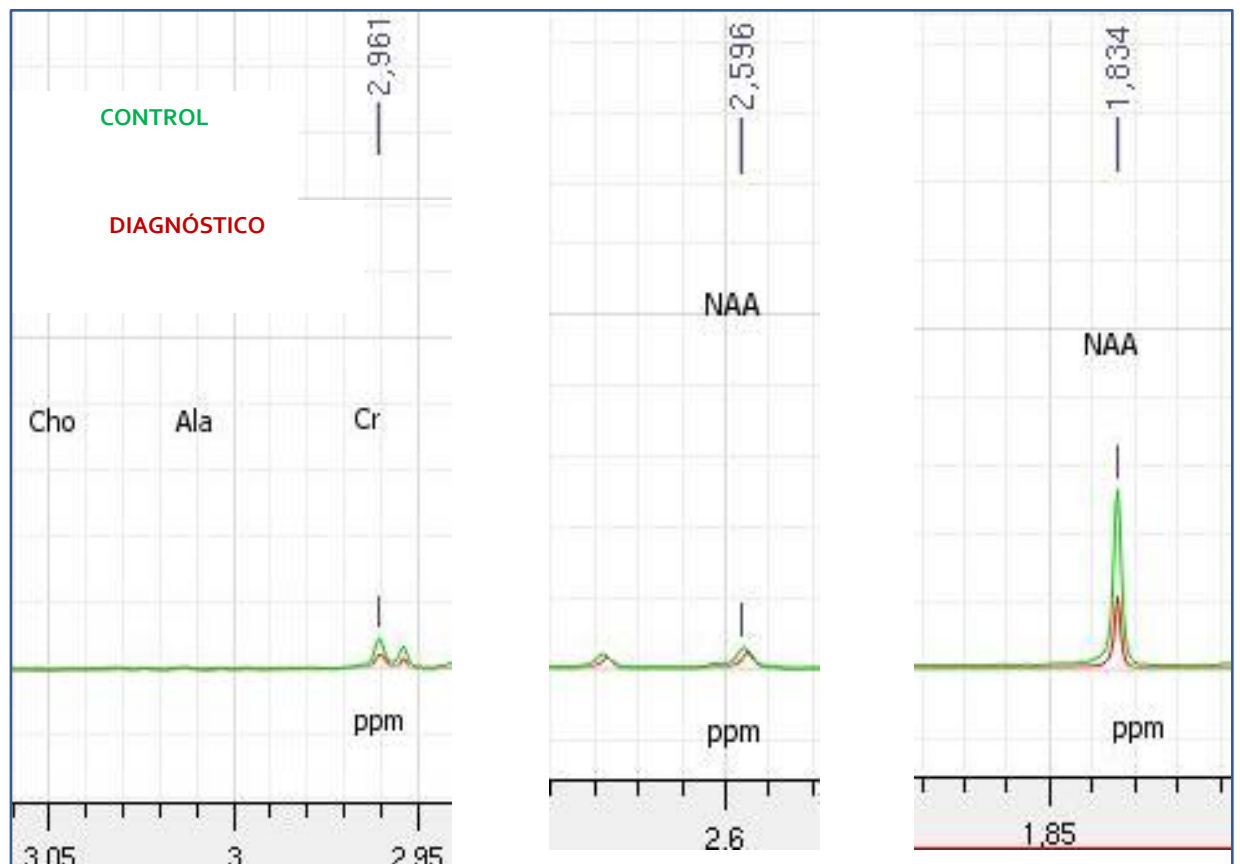


Fig. 107. Boca 7. Ausencia de pico valorable en la región de la Cho y Ala; leve incremento en el pico de la Cr y notable aumento del NAA en el control posttratamiento sobre todo en 1,6 ppm.

6.5.3 MUSA

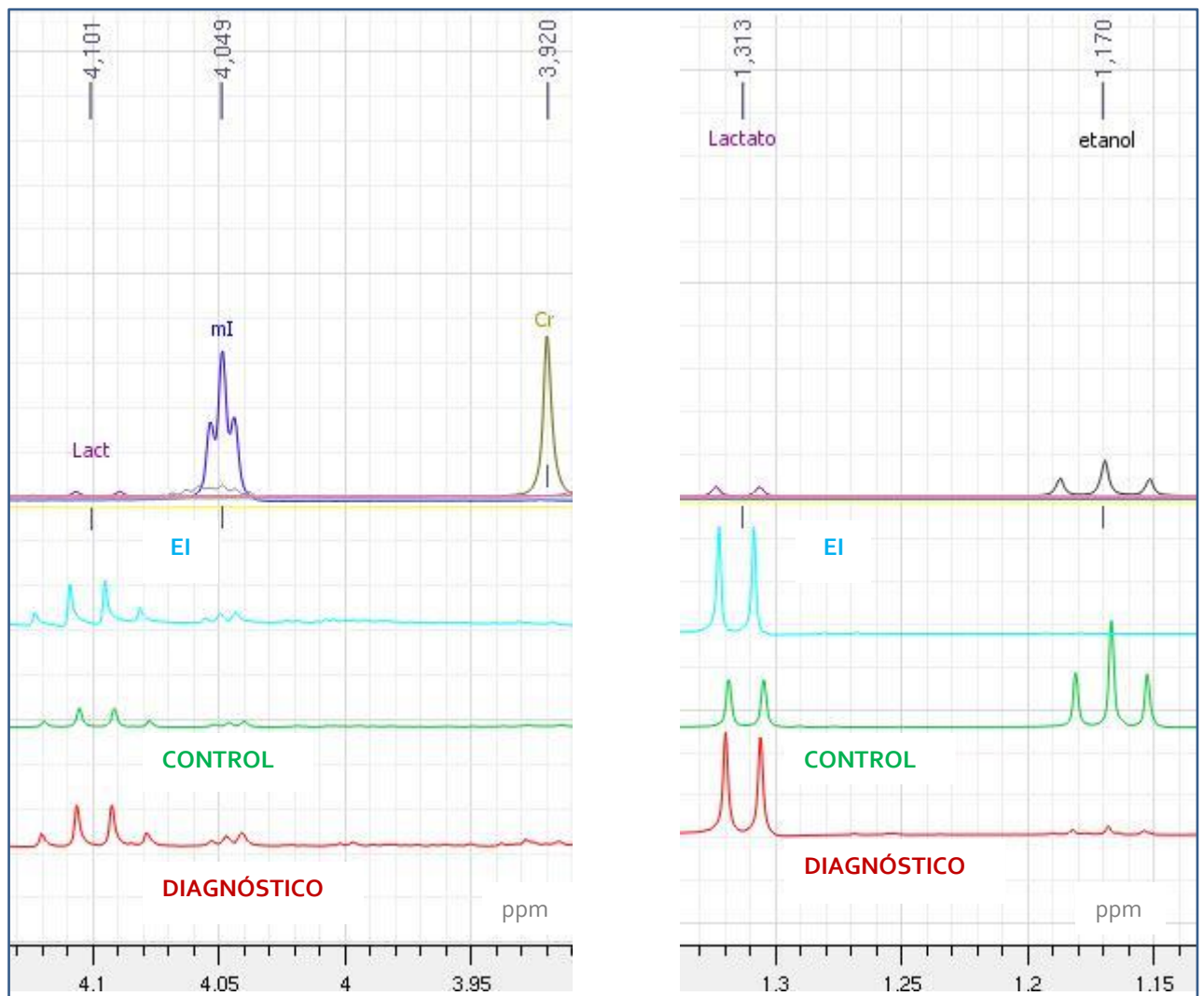


Fig. 108. Musa 1. El pico del lactato disminuye en el control posttratamiento con respecto al diagnóstico; el mI en esta frecuencia de resonancia parece presentar una leve disminución en el control; la Cr disminuye levemente.

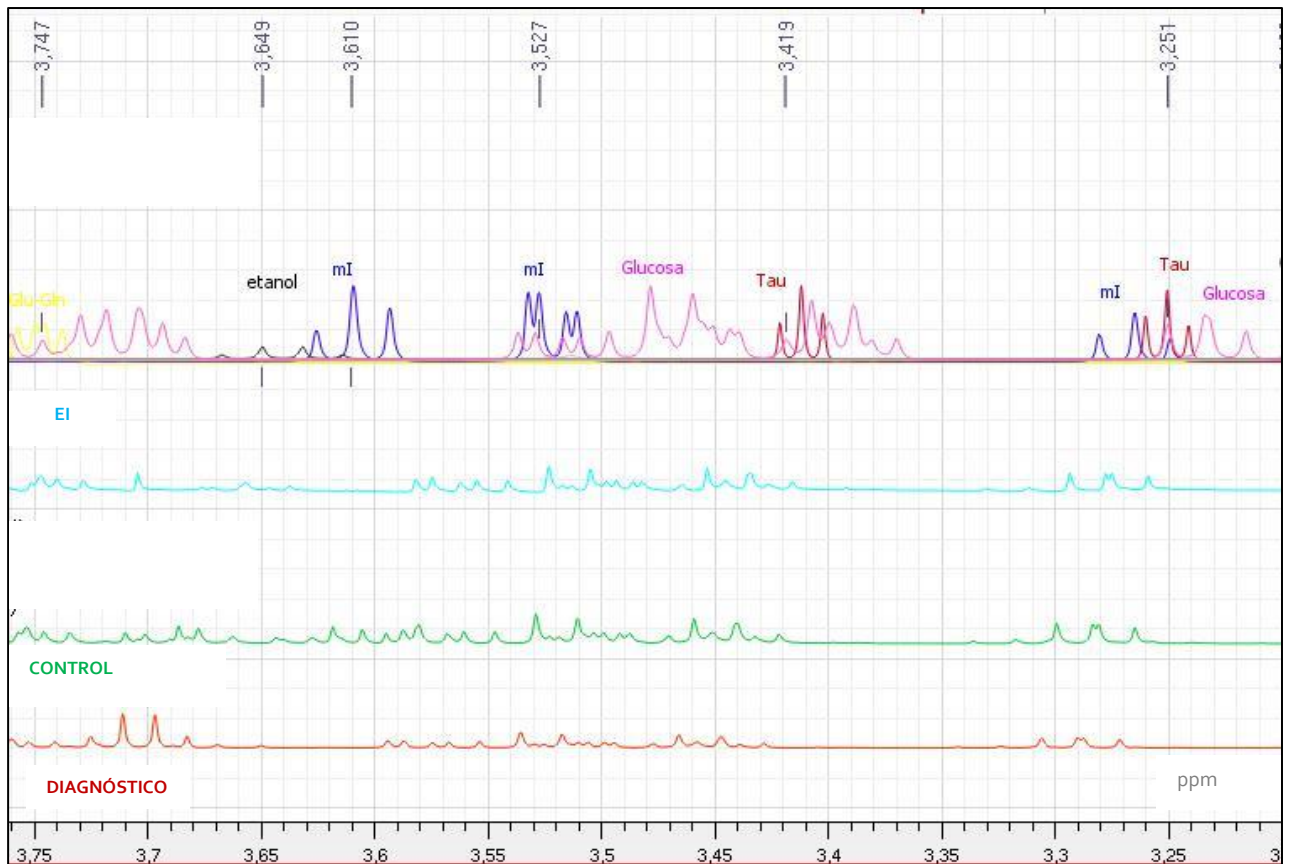


Fig. 109. Musa 2. Incremento muy leve de los picos de glucosa y mI en el grupo. El mI se superpone en esta frecuencia de resonancia con el etanol por lo que no puede ser evaluado adecuadamente en esta región; la modificación de la Gln, Gln y Tau no es valorable por superposición con otros picos y con el etanol.

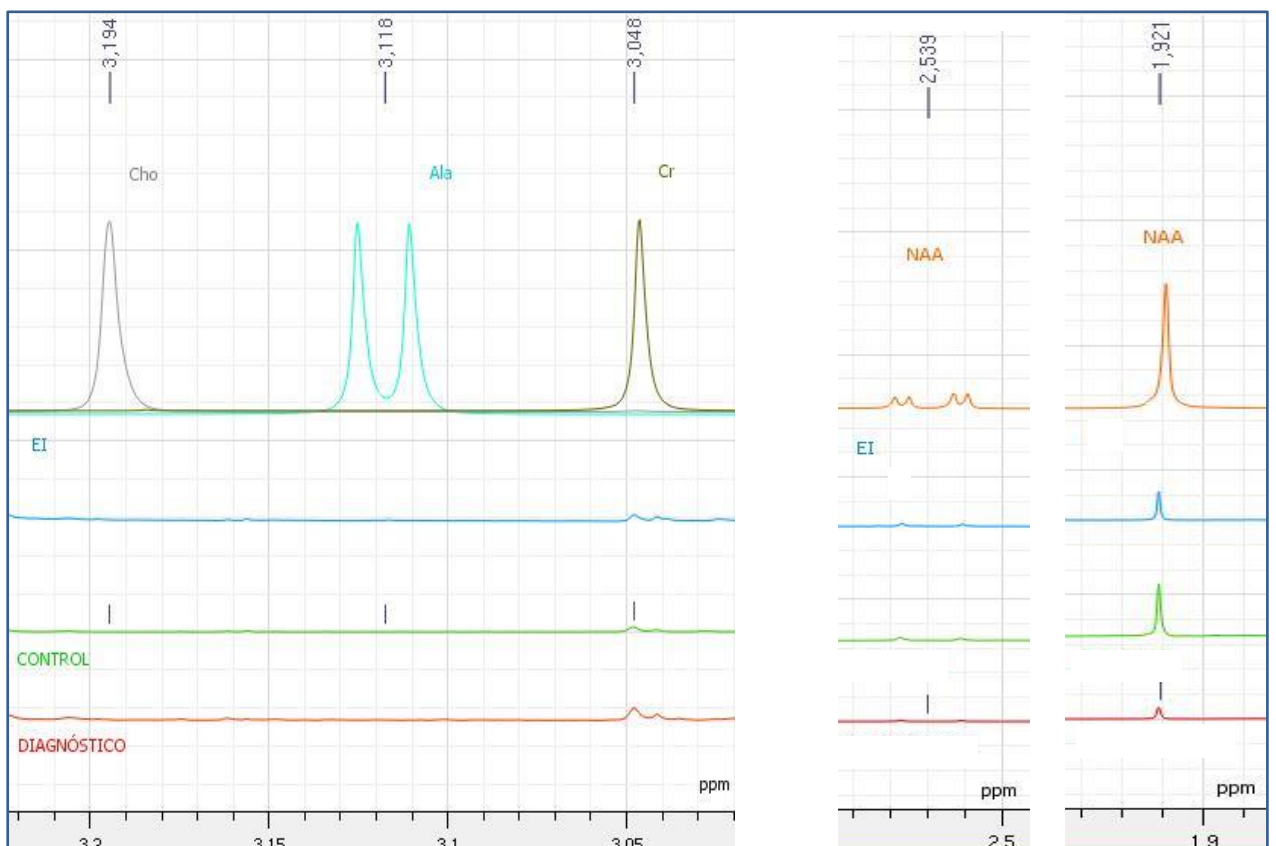


Fig. 110. Musa 3. Ausencia de pico de Cho y Ala; disminución de la Cr y aumento del NAA en el control posttratamiento que se asemejan al pico del grupo EI.

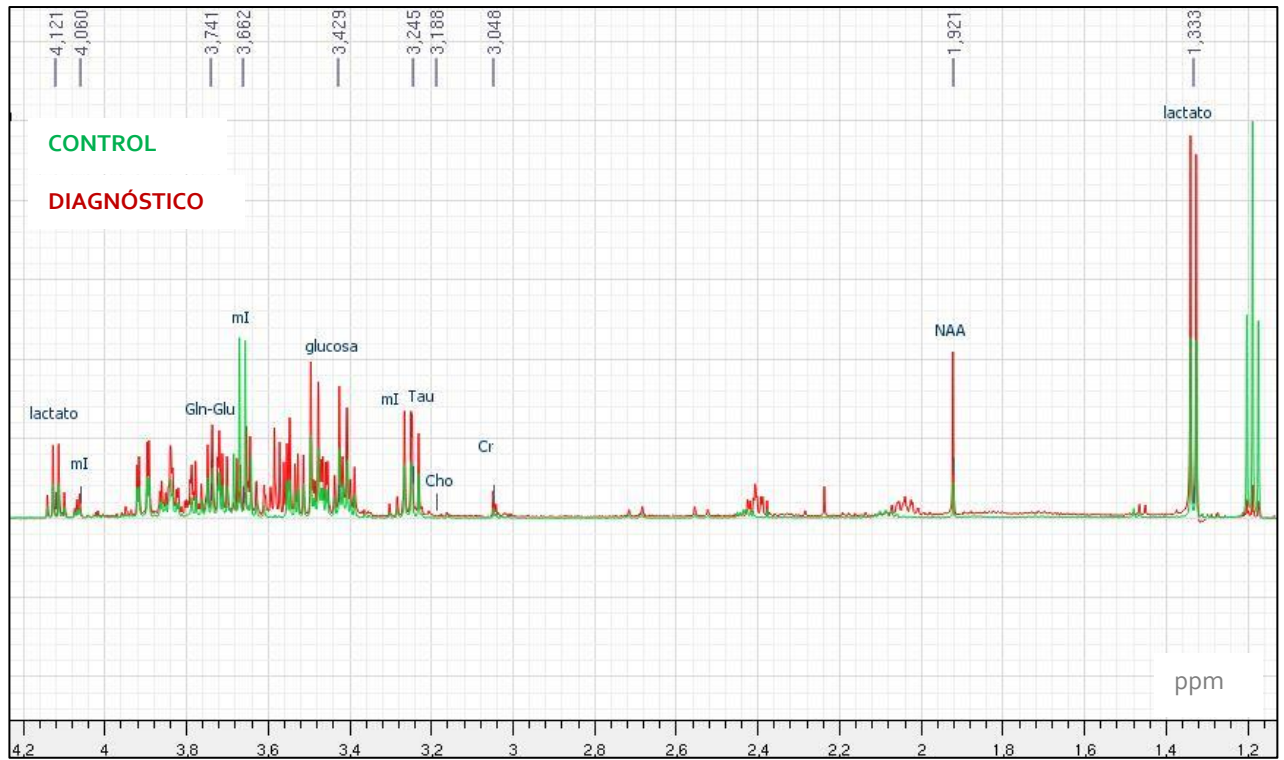


Fig. 111. Musa 4. Espectros del control posttratamiento y del momento del diagnóstico superpuestos.

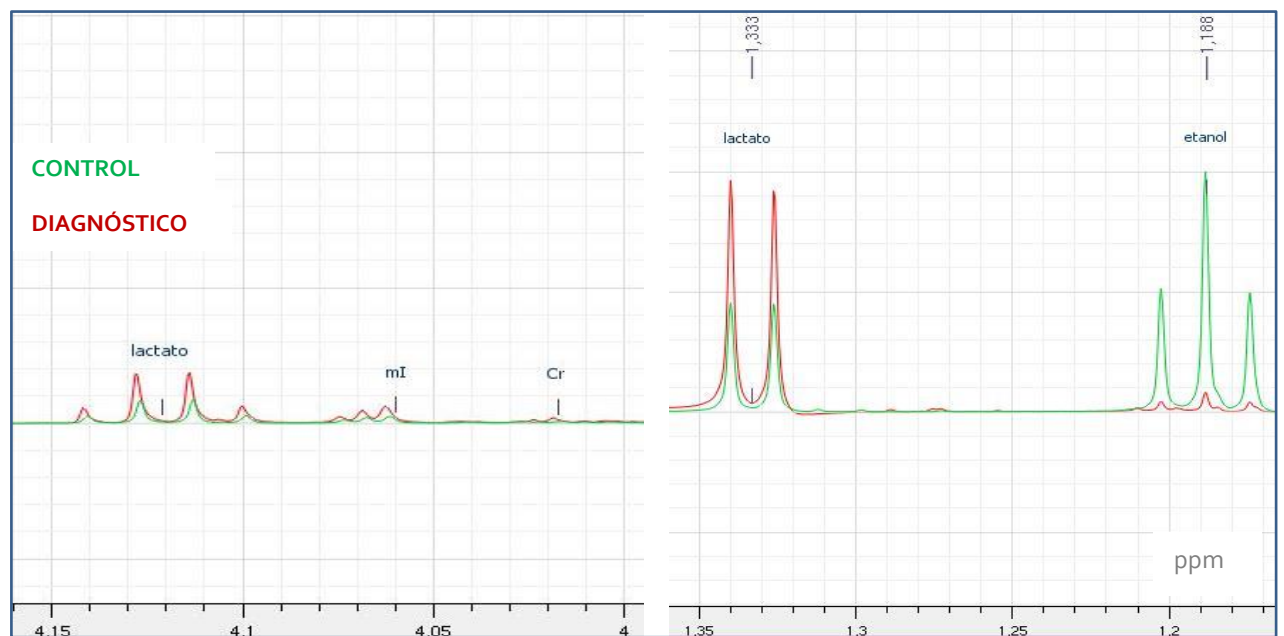


Fig. 112. Musa 5. Disminución del pico de lactato, mI y Cr en el grupo control posttratamiento.

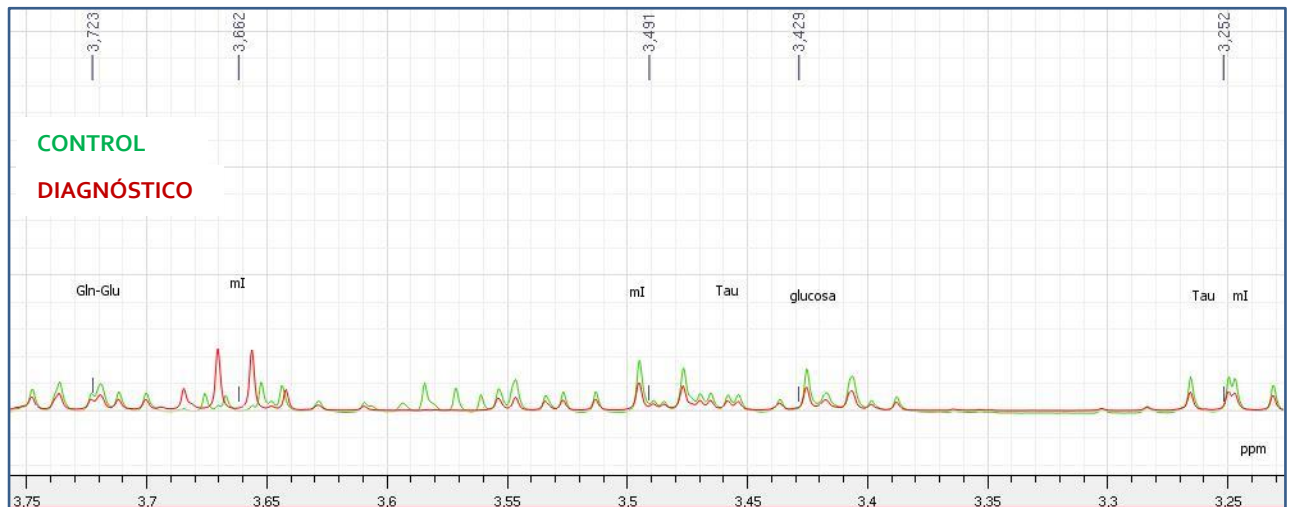


Fig. 113. Musa 6. El control posttratamiento presenta un incremento de los picos de glucosa; el mI en frecuencias 3,4 y 3,2 ppm presenta incrementos, pero en la frecuencia 3,6 ppm se observa un disminución que no puede ser evaluada adecuadamente por superposición con el espectro del etanol. La Glu, Gln y Tau no son valorables por superposición con otros espectros.

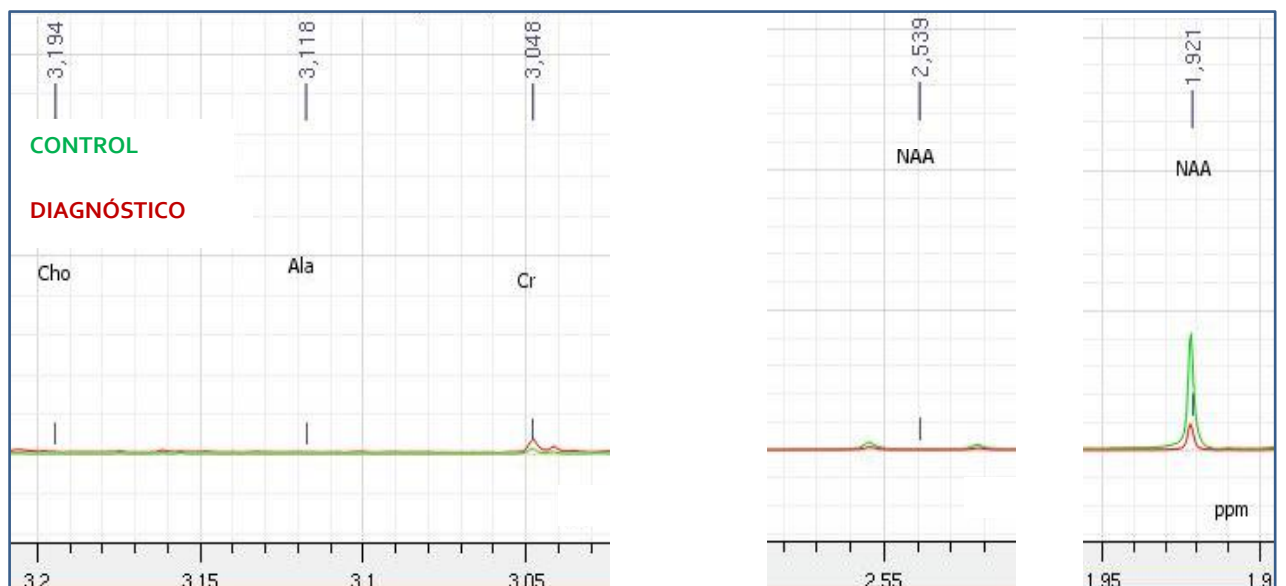


Fig. 114. Musa 7. Ausencia de pico valorable en la región de la Cho y Ala; leve disminución en el pico de la Cr y notable aumento del NAA en el control posttratamiento sobre todo en la frecuencia 1,92 ppm.

En la Tabla 23. se resumen los metabolitos estudiados en los espectrogramas, sus propiedades y principales frecuencias de resonancia en ppm, así como su variación esperada en los pacientes con MOD. También se incluyen en esta misma tabla las modificaciones de los metabolitos observados en los 3 pacientes en el control posttratamiento.

Tabla 23. Resumen de los metabolitos en LCR, frecuencias de resonancia (ppm) y propiedades. Modificaciones de los metabolitos en los LCR del control posttratamiento.

Metabolito	ppm	Propiedades	MOD	Lola	Boca	Musa
Lactato	1,3 4,1	Producto del metabolismo anaerobio	↑	↓	↓	↓
NAA	2,0 2,6-2,7	Marcador integridad neuronal	↓	↑	↑	↑
Cr	3,02 3,93 4,8	Sustrato metabolismo energético de neuronas y glía	↑	↓	↑	↓
Cho	3,2	Marcador de membrana celular	↑	NO	NO	NO
ml	3,5-3,6	Marcador de glía y de receptores neuronales	↓	↑	↑	↑
Lípidos	0,9- 1,2 3,8 5,0-5,5	Productos destrucción tisular	↑	SP	SP	SP
Ala	1,47 3,78	No claras	↓	NO	NO	NO
Glu	2,05-2,5 3,6-3,8	Neurotransmisor excitatorio	↑	SP	SP	SP
Gln	2,05-2,5 3,6-3,8	Marcador glial	↓	SP	SP	SP
Tau	3,25 3,42	Neurotransmisión, osmoregulación, crecimiento, antioxidante, regulador del calcio	↑	SP	SP	SP
Glucosa	3,43 3,80	Sustrato energético básico	↓	↑	↑	↓

ppm: partes por millón; MOD: variación de los metabolitos en pacientes con meningoencefalitis de origen desconocido;

SP: no detectable por superposición.

6.6 NECROPSIAS

Sólo se pudo relizar necropsia en 3 de los 45 pacientes del grupo MOD. Los resultados obtenidos fueron:

- Meningoencefalitis granulomatosa multifocal en un mestizo hembra > 15 kg, de 13 años con enfermedad estable en tratamiento durante 5 años.
- Meningoencefalitis necrotizante en un Bulldog inglés hembra de 8 años eutanasiada en el momento del diagnóstico por el mal estado general.
- Meningoencefalitis necrotizante en un Bulldog inglés macho de 8 años con respuesta desfavorable al mes de tratamiento.

7 DISCUSIÓN

A continuación se valoran los resultados obtenidos en el presente trabajo en base a la raza, sexo, edad, peso, signos clínicos, hallazgos de RM, análisis sanguíneo, análisis básico de LCR, tratamientos, evolución de los pacientes, tiempo de supervivencia y análisis del LCR mediante $^1\text{HNMR}$, así como las limitaciones del estudio.

7.1 RAZA

En nuestro estudio las principales razas afectadas por MOD son, por orden, Yorkshire terrier, mestizos toys y Bulldog francés (Fig.12) (pag. 156). *Granger et al.*, en su meta-análisis de 457 pacientes incluye a la raza Yorkshire terrier como una de las de mayor incidencia; sin embargo, el Bulldog francés no se encuentra como raza referenciada y no evaluaron mestizos⁶⁰. *Lowrie et al.*, en su estudio con 39 pacientes, sí incluyeron mestizos que resultaron ser los más afectados, lo que coincide con nuestros resultados. En este último estudio, no se incluyó ningún Yorkshire terrier y el Bulldog francés fue la raza menos frecuente²⁰⁸. La variabilidad de razas que se observa entre todos los estudios es, atribuible a la diferente localización geográfica y a la popularidad de determinadas razas en un momento temporal. No hay ninguna referencia bibliográfica que evalúe la incidencia de MOD en las distintas razas en España. Actualmente, en nuestro país y, en particular, en las áreas urbanas (localización donde se encuentra el centro hospitalario del que proceden los pacientes de este estudio) hay una gran población de Yorkshire terrier y Bulldog francés, lo que explica que estas dos razas sean las de mayor incidencia en nuestro estudio. La mayoría de los mestizos incluidos en el presente trabajo (73%) son cruces de Yorkshire Terrier, Chihuahua, Bichón, Caniche y Shih-tzu, todas ellas razas susceptibles de padecer MOD⁶⁰. No se han encontrado diferencias estadísticamente significativas en la supervivencia en función de las razas mayoritarias de este estudio (Yorkshire terrier y mestizos).

7.2 SEXO

Según nuestros resultados, no existe predisposición sexual para desarrollar MOD. El 55% de los pacientes son machos y el 45% hembras, lo que coincide con los estudios de *Granger et al.*, y *Cornelis et al.*^{60,216}

No existen diferencias estadísticamente significativas en la supervivencia en función del sexo del paciente. Tampoco en otros estudios se describe que exista una relación entre ambos parámetros⁶⁰.

7.3 EDAD

La edad media de presentación de la enfermedad es de 6,4 años, con un rango entre los 6 meses y 14 años. Los principales estudios^{60,208,215} describen también este rango de edad.

No se han hallado diferencias estadísticamente significativas en la supervivencia de los animales en función de la edad, al igual que en la bibliografía consultada^{215,216}.

7.4 PESO

Aunque el rango de peso de los pacientes con MOD en nuestro estudio varía entre 1,2 y 25 kg, el peso medio es de 5 kg, debido a la alta incidencia de la enfermedad en las razas toy. En el estudio de *Granger et al.*, el mayor porcentaje de pacientes pesaban < 10 kg, seguidos de > 20 kg y 10-20 kg⁶⁰. *Cornelis et al.*, establecen un punto de corte en 15 kg; el 75% eran perros < 15 kg y el 25% > 15kg²¹⁶. Si se distribuyen a los pacientes de nuestro estudio según los grupos de peso de las dos publicaciones mencionadas, se obtienen los siguientes resultados (Fig. 115):

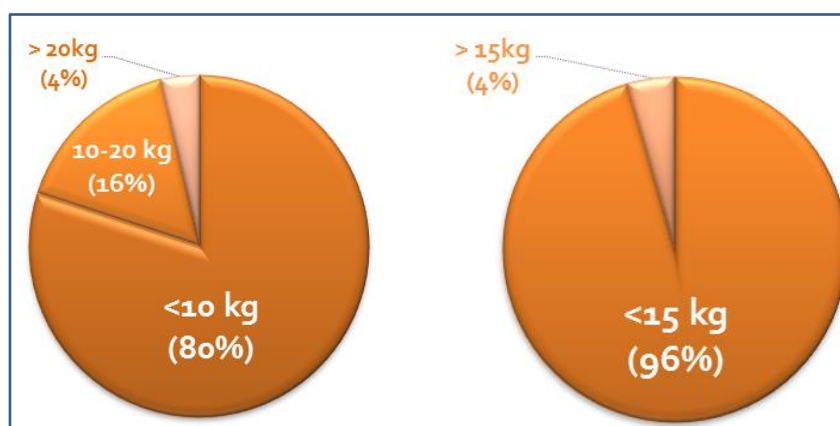


Fig. 115. Distribución de los pacientes en función del peso.

De esta forma, podemos comprobar que nuestros resultados coinciden completamente con los descritos por *Cornelis et al.*, (mayor porcentaje de perros < 15kg)²¹⁶, aunque el porcentaje de perros < 15 kg es todavía mayor. También muestran coincidencias con los de *Granger et al.* en que la mayor incidencia se produce en perros de peso < 10 kg; sin embargo, el porcentaje se invierte para el peso 10-20 kg y >20 kg. Posiblemente esta discrepancia puede atribuirse a las diferencias en la distribución de razas según la geografía.

No se han encontrado diferencias estadísticamente significativas en la supervivencia de los pacientes < 15 kg y > 15 kg, al igual de lo que ocurre en el estudio de *Cornelis et al.*²¹⁶. El hecho de que solo el 6,66% de los pacientes incluidos en nuestro estudio pese más de 15 kg (frente al 25% del estudio de *Cornelis et al.*) impide que se pueda valorar adecuadamente este grupo de pacientes por un tamaño muestral insuficiente²¹⁶.

7.5 SIGNOS CLÍNICOS

Los signos clínicos más frecuentes observados en este estudio en la exploración neurológica de los pacientes con MOD son los multifocales (48,88%), lo que coincide con la mayoría de los estudios consultados, donde describen porcentajes superiores al 40%: *Granger et al.* (40%), *Cornelis et al.* (57%), *Coates et al.* (84%) y *Menaut et al.* (87%)^{60,191,206,216}. Sin embargo, en el estudio de *Muñana & Luttgen*, los signos multifocales y focales se presentan en el mismo porcentaje (50%)⁵⁹. Es lógico que esta presentación sea la más frecuente, ya que en MEN y LEN las lesiones suelen ser multifocales y la presentación multifocal de la MEG es la más habitual. Estos signos clínicos multifocales, como se discutirá más tarde, se confirman en la distribución de lesiones en RM, ya que la localización multifocal es, también, la más frecuente (44,19%).

La supervivencia de los pacientes con signos multifocales es significativamente inferior ($p < 0,023$) a la que presentan los pacientes con signos focales. Solo en el estudio de *Muñana & Luttgen*⁵⁹ se describe un resultado similar, ya que en el resto no encontraron diferencias^{191,208,215,216}. La presentación de signos multifocales implica que las lesiones suelen ser más severas, lo que justifica que este hallazgo constituya un factor pronóstico negativo (Fig. 77) (pag.189).

Los signos vestibulares (46,51%), seguidos de marcha en círculos (39,53%) y dolor cervical (34%) son los siguientes en frecuencia. Sólo en el estudio de *Meanut et al.* se analizan estos

signos, con porcentajes similares a los nuestros, excepto por la salvedad de que la marcha en círculos y la alteración del estado mental presentan la misma incidencia (37%)²⁰⁶. *Coates et al.* también evalúan signos vestibulares con idénticos resultados que en nuestro estudio¹⁹¹. En la MEN, LEN y MEG (sobre todo la forma focal) es habitual la afectación de los hemisferios cerebrales, tálamo y tronco encefálico lo que justifica la elevada incidencia, tanto de los signos vestibulares como centrales (p.ej. marcha en círculos). El dolor cervical también es un signo frecuente. Como la afectación meníngea es poco habitual en los distintos subtipos de MOD, excepto la forma multifocal de la MEG, es poco probable que ésta sea la causa del dolor cervical. Consideramos que su origen podría estar en otras causas, entre las que destacamos la propia inflamación, el edema asociado, el efecto masa, la afectación del tronco encefálico, la ventriculomegalia, la siringomielia y/o herniaciones de distinto tipo.

La supervivencia de los pacientes que presentan marcha en círculos es significativamente menor ($p < 0,013$) y, por tanto, su presencia debe considerarse factor pronóstico negativo (Fig. 79) (pag. 191). No hemos encontrado referencias que evalúen este parámetro. La marcha en círculos suele estar asociada a alteración del estado mental y, en muchas ocasiones, a lesiones proencefálicas severas que condicionan la supervivencia³¹⁹.

La alteración del estado mental, presencia de convulsiones y déficit visual y alteración de otros pares craneales se presentan cada uno en un 23-25% de los pacientes. *Menaut et al.* y *Cornelis et al.* describen porcentajes similares en la frecuencia de las convulsiones (25-27%), pero, sin embargo, el porcentaje de pacientes con estado mental alterado es muy superior al de nuestra población (56%)^{206,216}. Esta diferencia en el porcentaje de alteración del estado mental puede atribuirse a la tendencia a remitir a los pacientes a centros de referencia especializados. En España este acto es poco habitual y, posiblemente, sea la causa de que los pacientes con alteración del estado mental como único signo clínico no sean remitidos a nuestro centro, lo que disminuye el porcentaje. Por otro lado, *Coates et al.* describen una incidencia mucho mayor de convulsiones (57%), posiblemente porque en su estudio sólo se incluyen pacientes con MEG, que es el subtipo de MOD que cursa más frecuentemente con este signo clínico¹⁹¹.

Tanto el déficit visual como la alteración del estado mental pueden considerarse factores pronóstico negativos, ya que la supervivencia es significativamente menor ($p < 0,037$ y $p < 0,001$, respectivamente) cuando el paciente presenta estos signos clínicos (Fig. 78 y 80) (pag. 190 y 192). Además, cuando se analiza la supervivencia a 7 días en los pacientes que presentan alteración del estado mental, es también, estadísticamente significativa menor ($p < 0,005$).

Todos los estudios que han evaluado la influencia del estado mental alterado en la supervivencia coinciden en considerarlo factor pronóstico negativo^{191,215,216}. Un déficit de estado mental sugiere, en general, una lesión intracraneal severa/moderada que afecta a los hemisferios cerebrales y/o tronco encefálico y, por tanto, determina un peor pronóstico³¹⁹. En nuestro estudio, el 60% de los pacientes que sobrevivieron menos de 7 días presentaron alteración mental en contraposición al 23% de los que sobrevivieron más de 7 días. Por lo tanto, los pacientes que presenten estado mental alterado tendrán un peor pronóstico, con supervivencias, en algunos casos, menores a 7 días.

El déficit visual no se ha analizado en otros estudios. Este signo es el principal en el curso de la forma ocular de la MEG, aunque también puede observarse en la forma focal y en la MEN y LEN. Generalmente, excepto en la forma ocular de la MEG, la pérdida de visión suele ser crónica y si los pacientes solo presentan este signo clínico, pasa desapercibido para los propietarios hasta que no conduce a pérdida visual bilateral. Este hecho implica que el diagnóstico se produzca de forma tardía y, por tanto, se reduzca la esperanza de vida.

No se han encontrado diferencias estadísticamente significativas en la supervivencia de pacientes que presentan convulsiones. La influencia de este signo en la supervivencia es controvertida, ya que numerosos artículos concluyen que no constituye un factor pronóstico^{60,191,214,215}, mientras que otros consideran que sí influye negativamente en la supervivencia^{208,216}. El estudio que incluye más pacientes con convulsiones es el de *Coates et al.*, y en él no se encontró relación con la supervivencia, al igual que en nuestro estudio. Los estudios a este respecto del equipo de *Cornelis et al.*, (uno de los principales equipos especializados en epilepsia) son igualmente, contradictorios en sus distintas publicaciones. De esta forma, en uno de sus estudios hallaron una supervivencia menor a los 7 días en pacientes >15 kg con MOD y convulsiones²¹⁶; sin embargo, en otro de sus estudios no encontraron diferencias significativas al comparar los pacientes < 15 kg con MOD y convulsiones con los >15 kg²¹⁵. Esta variación entre los estudios posiblemente sea debida a los propietarios. La repercusión psicológica de las crisis epilépticas de las mascotas en los propietarios es muy individual. En ocasiones, la decisión de no continuar con el tratamiento en este tipo de pacientes es un condicionante psicológico del propietario más que una evolución desfavorable, ya que asocia crisis epilépticas con sufrimiento de su mascota.

Otros signos clínicos menos frecuentes son paraparesia y dolor en otras regiones de raquis (13,95%), *pressing* y alteración cerebelar (11,63%), tetraparesia y alteración del comportamiento (9,30%) y hemiparesia (4,65%). La afectación medular es inusual, de ahí que

signos como paraparesia, dolor en otras regiones de raquis, tetraparesia y hemiparesia estén entre los signos menos frecuentes lo que coincide con el resto de los estudios^{60,191,206}.

El *pressing* y la alteración del comportamiento son signos típicos de afectación cortical, igual que la alteración del estado mental y la marcha en círculos; sin embargo, las primeras no alcanzan el mismo porcentaje que las segundas. En el estudio de *Meanut et al.*, los cambios de comportamiento tienen la misma incidencia que en nuestro estudio (9%)²⁰⁶. Es posible que los pacientes que presenten alteración del comportamiento (p.ej. agresividad) como único signo de la MOD se diagnostiquen como problema etológico puro y nunca acudan a un centro de referencia neurológico. Los pacientes que presentan *pressing*, habitualmente, se encuentran en fases avanzadas de la enfermedad y con una calidad de vida mermada, pero, muchas veces puede confundirse con disfunción cognitiva severa, lo que puede condicionar que sea un signo clínico subestimado.

Los pacientes con alteración del comportamiento en nuestro estudio tienen una supervivencia menor estadísticamente significativa ($p < 0,011$) (Fig. 80) (pag.192). Ningún otro estudio ha valorado este parámetro. El comportamiento es regulado por el sistema límbico que está formado por partes del tálamo, hipotálamo, amígdala, cuerpo caloso, septo y mesencéfalo. Las lesiones talámicas e hipotalámicas suelen tener repercusiones graves, lo que implica una menor supervivencia³¹⁹.

Meanut et al., encontraron un porcentaje similar al nuestro en la alteración cerebelar (9%)²⁰⁶. Sin embargo, en el estudio de *Granger et al.*, el porcentaje es inferior (4%)⁶⁰. La afectación cerebelar es poco habitual en las MOD, ya que es prácticamente exclusiva de la forma focal de la MEG, que es la menos frecuente.

7.6 HALLAZGOS DE RM

La distribución de las lesiones más frecuente es la multifocal, seguida de focal y difusa. En un 11,6% de los pacientes no se detectaron lesiones en el estudio de RM (Fig. 32) (pag.160); *Granger et al.* también describen que un porcentaje bajo de pacientes (7%) con MOD presentan una RM normal⁶⁰.

La localización más habitual de las lesiones es la encefálica, seguida del tronco encefálico. En menor porcentaje la localización es medular y cerebelar (Fig. 34) (pag. 160). Estos resultados

condicionan que la alteración de la fosa rostral sea mucho mayor que la caudal. Por otro lado, la afectación de la sustancia blanca es mayor que la gris (Fig. 33) (pag. 160), ya que la primera es la principal afectada en todos los subtipos de MOD (sobre todo en LEN y MEN).

Acorde a estos resultados, en nuestro estudio, los pacientes con MOD presentan, generalmente, lesiones multifocales con afectación encefálica y de tronco encefálico (fosa rostral), sobre todo en la sustancia blanca. Estos hallazgos de RM explican que los signos clínicos neurológicos más frecuentes sean multifocales, alteraciones vestibulares, marcha en círculos y dolor cervical.

Nuestro estudio coincide, tanto en la distribución como en la localización de las lesiones, con el de *Cornelis et al.*²¹⁶ y con el de *Muñana et al.* en relación a la localización⁵⁹. Sin embargo, en el meta-análisis de *Granger et al.* y el estudio de *Coates et al.*, aunque la distribución multifocal es la más frecuente, la afectación del tronco encefálico es superior a la encefálica. Las localizaciones medular y cerebelar en estos dos últimos estudios también son las menos frecuentes^{60,191}.

Aunque sí se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la supervivencia de los pacientes con signos multifocales con una supervivencia menor (Fig. 77) (pag.189), este resultado no se produce cuando se evalúa la distribución multifocal en RM. Es posible que no se hayan podido identificar adecuadamente todas las lesiones que realmente existen debido al equipo de RM de bajo campo que se ha empleado en este estudio.

Lowrie et al. analizan la afectación de la fosa rostral y caudal en la supervivencia de los pacientes, sin encontrar diferencias en la supervivencia, al igual que ocurre en nuestro estudio²⁰⁸; sin embargo, cabe destacar que no mencionan qué fosa está más afectada

Los pacientes que presentan lesiones que afectan a la sustancia gris tienen una supervivencia significativamente menor (Fig. 82) (pag.194). La sustancia gris se encuentra, sobre todo, a nivel cortical, aunque también se identifica en tálamo e hipotálamo. Los principales signos asociados a estas localizaciones son convulsiones, marcha en círculos, alteración del estado mental y del comportamiento. En nuestro estudio, estos tres últimos signos están asociados también a una menor supervivencia. Tanto en la MEG como en la MEN se afecta la sustancia gris, además de la blanca. La MEG multifocal es la forma de presentación más frecuente y, aunque suele estar afectada la sustancia blanca cerebral, tronco encefálico caudal, cerebelo y medula cervical, en la presentación aguda pueden encontrarse lesiones vasculares en

sustancia gris, leptomeninges y plexos coroideos. En estos casos está descrito que la progresión es muy rápida y fatal^{122,154}

En la MEN el infiltrado inflamatorio se extiende hacia la corteza cerebral, ocupa la sustancia gris y se introduce en la sustancia blanca subyacente. Las lesiones más severas se observan en tálamo e hipocampo¹³⁷. Las lesiones crónicas derivan en una necrosis extensiva o malacia, sobre todo en la corteza cerebral y núcleos talámicos¹³⁹. Cuando ya hay afectación de tálamo (predominantemente sustancia gris) y/o existen áreas de malacia (también en áreas de sustancia gris) el estadio de la enfermedad es muy avanzado y, por tanto, la supervivencia es menor.

En cuanto al resto de hallazgos de RM evaluados, la captación de contraste perilesional es un hallazgo frecuente (46,34%) en comparación con el realce meníngeo (14,63%). La afectación meníngea es prácticamente exclusiva de la forma multifocal de la MEG y, aunque puede también observarse en MEN, es infrecuente. Aunque *Lowrie et al.* analizan la captación de contraste perilesional con fines pronósticos, no indican su incidencia²⁰⁸. Los estudios de *Cornelis et al.*, no coinciden con el nuestro, ya que muestran contraste perilesional en el 70% y meníngeo en el 68%. Estas diferencias posiblemente sean debidas al distinto tamaño muestral y a la diferencia de campo entre nuestro equipo de RM (bajo campo: 0,23 T) y el suyo (alto campo: 1,5 T). La mayoría de los pacientes son de raza toy, y la identificación de pequeñas alteraciones, como un leve realce meníngeo, puede pasar desapercibida con nuestro equipo.

Igual que en el resto de la bibliografía consultada, no existen diferencias estadísticamente significativas en la supervivencia de los pacientes que presentan captación de contraste perilesional^{161,167,208,215,216}.

La pérdida de surcos cerebrales es frecuente (39,53%), al igual que se describe en los estudios de *Cornelis et al.* (36%) y *Lowrie et al.* (46%)^{208,216}. Este hallazgo es consecuencia de la inflamación y degeneración crónica y progresiva de la enfermedad. En nuestro estudio no se ha encontrado relación entre la pérdida de surcos cerebrales y la supervivencia, coincidiendo con los resultados de *Cornelis et al.*^{215,216}; por el contrario *Lowrie et al.*, sí encontraron una asociación estadísticamente significativa²⁰⁸. Uno de los criterios de exclusión del estudio de *Lowrie et al.*, es haber recibido tratamiento previo con glucocorticoides. *Cornelis et al.*, no mencionan este hecho en sus criterios y en nuestro estudio no es un criterio de exclusión. Es posible, que tanto en nuestro estudio como en el de *Cornelis et al.*, haya un sesgo en este parámetro como consecuencia de la inclusión de pacientes que hayan recibido tratamiento

previo con glucocorticoides, ya que la inflamación puede estar enmascarada por el tratamiento^{208,216}.

La dilatación ventricular también es un hallazgo frecuente en nuestro estudio, con la misma incidencia que la pérdida de surcos cerebrales. Este parámetro no se analiza en ningún otro estudio. Este hallazgo es infrecuente en la MEG, variable en la LEN y frecuente en la MEN y debe valorarse con precaución en ciertas razas como el Pug y Bulldog en los que no hay estudios sobre el volumen ventricular normal y en los que se han encontrado asimetrías ventriculares como variantes anatómicas normales¹⁶³. En nuestro estudio, el 20% de los pacientes (9) pertenecen a estas razas y, de ellos, el 33,33% presentan ventriculomegalia (3 pacientes); por ello, la dilatación ventricular observada en nuestro estudio, excepto en los 3 pacientes indicados, puede atribuirse a la propia enfermedad como consecuencia de un hidrocefalo *ex vacuo* secundario a la pérdida de sustancia blanca¹⁶³.

El edema perilesional observado en RM se debe, fundamentalmente, al aumento de permeabilidad de la BHE por la inflamación y, posteriormente, a la lesión citotóxica de arteriolas y vénulas (edema vasogénico). No existen diferencias en la supervivencia de estos pacientes. El edema cerebral tiene también un componente transependimario favorecido por el aumento de presión del LCR con el consecuente aumento de PIC. Como el principal criterio de inclusión en nuestro estudio es que dispongamos de análisis de LCR, los pacientes con aumento marcado de PIC no están incluidos, ya que la extracción de LCR está contraindicada. Posiblemente, este sesgo condicione que no se hayan encontrado diferencias significativas. En ninguno de los estudios consultados se analiza este hallazgo.

El efecto masa está presente en el 30,23% de los casos, porcentaje inferior que en los estudios de *Lowrie et al.* (66%) y *Cornelis et al.* (57%)^{208,216}. El efecto masa puede ser el resultado de una lesión focal única que ocupa espacio, múltiples lesiones multifocales o edema perilesional; de ahí que su porcentaje sea similar a este último. Este hallazgo es levemente superior en porcentaje al desplazamiento de la línea media (23,26%), que es una de las principales consecuencias del efecto masa. El desplazamiento de la línea media también puede observarse en pacientes con asimetrías ventriculares severas. Esta relación también es similar en el estudio de *Cornelis et al.* (efecto masa 57%; desplazamiento de línea media 33,33%)²¹⁶. En nuestro estudio no existen diferencias estadísticamente significativas en la supervivencia de pacientes con desplazamiento de línea media y/o efecto masa. Sólo el estudio de *Lowrie et al.*, las describe²⁰⁸. El sesgo de nuestro estudio de no incluir pacientes con aumento marcado de

PIC puede ser un determinante, también, para no encontrar diferencias estadísticamente significativas en la supervivencia en este parámetro.

El 27,91% de los pacientes presentan siringomielia. La siringomielia es el acúmulo patológico de LCR en el canal central de la médula espinal y se puede producir por cualquier patología que curse con una obstrucción del flujo del LCR (meningoencefalomielitis infecciosa, MOD, malformación de Chiari tipo I, ependimitis, neoplasias ...) ³²⁰. Del 27,91%, de los pacientes con siringomielia sólo el 6,98% presentan síndrome de Chiari y siringomielia; por lo que en el porcentaje restante (20,9%) este signo es el resultado de la obstrucción de flujo de LCR por la propia inflamación y es factor pronóstico negativo para la supervivencia ($p < 0,02$) (Fig. 82) (pag. 193). No existe ningún estudio que haya valorado estos parámetros en MOD.

La herniación a través foramen magno, transtentorial y cerebral son infrecuentes en este estudio (4,65-9,3%) y no influyen en la supervivencia. Estos hallazgos pueden estar sesgados, una vez más, por el análisis del LCR como criterio de inclusión, ya que suele estar contraindicado en la mayoría de las herniaciones. Estos porcentajes son mayores en el estudio de *Cornelis et al.* (24,56-38,58%), aunque el 18% de los pacientes no poseen análisis de LCR por contraindicación y están incluidos en el estudio ²¹⁶. Sin embargo, tampoco encontraron diferencias en la supervivencia, a diferencia de lo que describe *Lowrie et al.*, en el caso de la herniación de foramen magno como consecuencia del aumento de PIC ²⁰⁸.

La presencia de lesiones quísticas o cavitarias en pacientes con MOD es infrecuente y ningún otro estudio lo ha valorado. Estas lesiones son la consecuencia de la necrosis y la cronicidad de la enfermedad. Pueden observarse en la forma crónica de LEN, y suelen ser lesiones multifocales extensas necróticas y quísticas en la sustancia blanca más profunda del cerebro y en tálamo ^{139,158}. No presenta relación con la supervivencia.

Por último, el componente hemorrágico también se encuentra entre los hallazgos menos frecuentes. Este parámetro tampoco se ha evaluado en ningún otro estudio. La hemorragia es el resultado de la alteración severa de la BHE, inflamación extrema y necrosis que conlleva a un peor pronóstico. Este hecho se evidencia en nuestro estudio al observar diferencias estadísticamente muy significativas en la curva de supervivencia para esta variable ($p < 0,000$) (Fig. 83) (pag. 195) y también al analizar la supervivencia a 7 días ($p < 0,02$).

7.7 ANÁLISIS SANGUÍNEO

No se observaron anormalidades en los parámetros sanguíneos evaluados en los pacientes del grupo MOD, excepto en los niveles de L-SANG (Tabla 13) (pag. 168). Los valores de L-SANG fueron de $2,77 \pm 2,43$ mmol/L (valores de referencia descritos para la especie canina $<2,5$ mmol/L), mostrando una lactatemia superior en comparación con el grupo control EI que presentó $1,75 \pm 0,57$ mmol/L, aunque las diferencias entre los grupos no llegan a ser estadísticamente significativas. Cuando se analizan de manera independiente los valores de L-SANG en los perros que se eutanasian en el momento del diagnóstico (habitualmente por presentar un grado más severo de la enfermedad), la hiperlactatemia es severa, y alcanzó valores medios de $7 \pm 5,37$ mmol/L (Fig. 67) (pag.177). Por otra parte, existe una correlación negativa débil pero estadísticamente significativa entre el tiempo de supervivencia y L-SANG ($S = -0,35685$; $p < 0,0220$). Sólo el grupo de *Cornelis et al.* incluyen en su análisis los parámetros sanguíneos, así como L-SANG, aunque solo lo determinan en 49 de 116 perros. Sus niveles medios son de 2,1 mmol/L en el grupo que sobrevive menos de 7 días y 1,4 mmol/L en los que sobreviven más de 7 días y las diferencias son estadísticamente significativas ($p < 0,026$). En nuestro estudio también se han encontrado diferencias estadísticamente muy significativas para supervivencia $< 0 >$ a 7 días ($p < 0,0001$) en relación al valor de L-SANG; sin embargo, nuestros niveles medios son de 6,27 mmol/L en el grupo que sobrevive menos de 7 días (bastante superiores a los de *Cornelis et al.*) y 2,05 mmol/L en los que sobreviven más de 7 días. Esta variación en el valor medio de L-SANG y en la significación estadística entre el estudio de *Cornelis et al.*, y el nuestro en los pacientes con supervivencia menor a 7 días posiblemente sea debida a que en el estudio de *Cornelis et al.* sólo lo analizaron en el 42% de los pacientes, mientras que en nuestro estudio se ha analizado en el 87% y, por ello, nuestro trabajo presenta un mayor significación estadística y por tanto una mayor fiabilidad²¹⁶.

La hiperlactatemia observada en los pacientes con menor supervivencia, puede ser debida a un estado hipermetabólico y/o hipoxia tisular como consecuencia de la lesión inflamatoria del SNC característica de la MOD. El cerebro tiene una gran actividad metabólica y depende del suministro eficiente de nutrientes, sobre todo del aporte constante de glucosa y oxígeno. Las células del sistema nervioso no almacenan glucógeno ni realizan la gluconeogénesis. A medida que aumenta la actividad del sistema nervioso se requiere un incremento de la energía metabólica en las neuronas²²⁹.

La producción de lactato es una respuesta preventiva del organismo para que persista la producción de energía intracelular cuando el metabolismo aeróbico es inadecuado. El lactato es uno de los mejores parámetros de predicción de la severidad de las lesiones y de la mortalidad individual en situaciones que implican hipoxia tisular²³⁵. Sin embargo, en nuestro estudio, la correlación negativa estadísticamente significativa ($p < 0,0220$) entre L-SANG y supervivencia es débil, por lo que no se puede emplear este parámetro como único factor pronóstico en pacientes con MOD que sobrevivan más de 7 días. No obstante, aunque la correlación es débil, cuando se analiza la supervivencia de los pacientes al establecer un punto de corte para el L-SANG en 4 mmol/L sí que existen diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,031$) (Fig. 84) (pag. 197). Valores elevados de L-SANG, por tanto, deben considerarse como marcador pronóstico negativo sobre todo en pacientes con una concentración superior a 4 mmol/L. Hiperlactatemias inferiores a 4 mmol/L aisladas probablemente no tengan significación.

7.8 ANÁLISIS BÁSICO DE LCR

En el análisis de LCR la media de todos los valores está fuera del rango de la normalidad (Tabla 14) (pag. 169).

7.8.1 Recuento total de células nucleadas y proteínas totales

Existen diferencias estadísticamente significativas en el RTCN, en el porcentaje de neutrófilos, linfocitos, linfocitos activados, linfoblastos y monocitos activados y en el valor de proteínas totales entre el grupo MOD y EI. Sin embargo, no se observan diferencias en los porcentajes de monocitos en reposo ni en el de los eosinófilos. Las células que pueden encontrarse en un LCR normal deben ser linfocitos y monocitos con escasa activación. Todas las células con activación intensa, linfoblastos y eosinófilos se consideran patológicas. Aunque no está clara la etiología de las MOD, la fisiopatología de esta enfermedad parece indicar que el incremento del recuento de células nucleadas en LCR se puede explicar por dos causas: por un lado, por la reacción inflamatoria sistémica crónica y, por otro, por la producción local del sistema fagocítico del SNC¹⁰¹; por lo tanto es lógico encontrar diferencias en el RTCN

($p < 0,0001$) al igual que proteínas totales > 30 mg/dl ($p < 0,0007$). En el grupo EI, las proteínas totales son de $24,56 \pm 6,43$ mg/dl, un valor muy inferior al de $57,80 \pm 38,12$ mg/dl que presenta el grupo MOD.

Los valores medios de proteínas totales y RTCN en el grupo MOD coinciden con los definidos en la mayoría de los estudios. La pleocitosis más frecuentemente observada en este estudio es la linfocítica (37% de pacientes), seguida de monocítica (35%) y mixta (28%), igual que en los estudios de *Gragner et al.*, *Meanut et al.*, y *Cornelis et al.*^{60,206,216}; sin embargo, en los estudios de *Coates et al.* y *Zarfoss et al.*, la pleocitosis monocítica es la más frecuente^{191,205}. Estas diferencias en los tipos de pleocitosis evidencian la gran variabilidad de las MOD, ya que pueden cursar con cualquiera de estos patrones.

La relación entre el RTCN y la supervivencia es controvertida. *Cornelis et al.*, encontraron diferencias estadísticamente significativas en la supervivencia en función del RTCN y del porcentaje de neutrófilos para pacientes con supervivencia menor de 7 días²¹⁶. *Oliphant et al.* también encontraron diferencias, pero sólo para el RTCN²¹⁷. Sin embargo, ni en el resto de estudios ni en el nuestro se observa esta relación^{191,205,208,215}.

Los valores tan extremos que se han obtenido en nuestro estudio en el RTCN (0-1720 células/ μ l; con una media y DS de $114,91 \pm 318,04$ células/ μ l), podrían ser los responsables de no haber encontrado significación estadística. No obstante, el hecho de analizar la supervivencia global y a 7 días para estas variables (RTCN y proteínas totales) en nuestro estudio y no encontrar diferencias estadísticamente significativas nos lleva a postular que el RTCN y las proteínas totales no puedan considerarse buenos indicadores pronósticos de supervivencia.

En nuestro estudio, el 17% de los pacientes presentaron LCR normal. Este porcentaje es similar al presentado en otras referencias, que varían del 14-22%. Un hallazgo importante a tener en cuenta en nuestro estudio es que el 75% de los pacientes que presentaron LCR normal habían recibido tratamiento previo con corticoides. Aunque esta administración se había suspendido previamente a la extracción de LCR, no podemos descartar que la influencia del tratamiento se mantenga en el tiempo y, por tanto, que este porcentaje represente falsos negativos. En otros estudios no indican si los pacientes con MOD y LCR normal habían recibido este tipo de tratamiento.

7.8.2 Lactato en LCR

7.8.2.1 L-LCR en grupo MOD y EI

La media de la concentración de L-LCR en el grupo MOD es $4,10 \pm 2,31$ mmol/L. Existen escasas publicaciones que evalúen los niveles de L-LCR en perros sanos, por lo que los valores de referencia no están claramente establecidos: $1,90 \pm 0,61$ mmol/L²⁶³; $1,66 \pm 0,22$ mmol/L²⁶⁴; $1,189$ mmol/L ($0,416-1,850$ mmol/L)²⁶⁶; $1,6 \pm 0,4$ mmol/L²⁶⁸; $2,094 \pm 0,374$ mmol/L²⁶⁹.

En nuestro estudio no disponemos de datos de L-LCR en un grupo compuesto de animales sanos, por el dilema ético que supone someter a animales sanos a una técnica invasiva de riesgo sin causa justificada; en consecuencia, nuestro grupo control lo constituyen perros que padecen epilepsia idiopática, aunque el análisis se realizó siempre en ausencia de crisis durante los 15 días previos. Los valores de L-LCR en nuestro grupo EI son levemente superiores a los descritos en la bibliografía para animales sanos ($2,78 \pm 0,57$ mmol/L). No existen referencias bibliográficas, en conocimiento de la autora, que evalúen los niveles de L-LCR en perros epilépticos sin crisis recientes.

No obstante, el hecho de que encontremos diferencias estadísticamente significativas en los valores de L-LCR entre nuestros dos grupos MOD y EI ($p < 0,01$), implica que podemos concluir que la elevación de este parámetro está asociada al desarrollo de MOD, ya que podemos asumir que, en una comparativa con animales sanos, estas diferencias estadísticamente significativas se mantendrían e incluso podrían ser superiores.

Existe una correlación positiva moderada-fuerte entre L-SANG y L-LCR en el grupo MOD ($S = 0,63557$) ($p < 0,0001$), que, sin embargo, no se observa en el grupo EI ($p < 0,2370$). Estos resultados indican que los pacientes con MOD presentan una alteración evidente de la BHE, lo que no sucede en pacientes con epilepsia idiopática sin crisis recientes y tampoco en animales sanos. *Lobert et al.*, determinaron niveles de L-LCR en animales sanos y epilépticos, entre otros. Los valores de L-LCR de ambos grupos fueron similares²⁶². En individuos sanos, los niveles de L-LCR deberían ser independientes de los niveles sanguíneos. La BHE regula el transporte del lactato entre el LCR y la sangre. El L-SANG se encuentra en forma ionizada y, en rangos fisiológicos de pH, su difusión a través de la BHE es prácticamente nula²⁵⁵. Cualquier alteración asociada con una oxigenación escasa del cerebro, incremento de la actividad metabólica o aumento de PIC (situaciones frecuentes en MOD), puede incrementar la

concentración de L-LCR²⁵³, ya que el mantenimiento de la homeostasis se realiza gracias a la regulación del balance iónico y al flujo de entrada y salida de componentes⁵. Se han descrito incrementos en los niveles de L-LCR durante cambios en el metabolismo cerebral, en la actividad inmunológica y en muerte celular como consecuencia de la alteración de la BHE²⁵⁴. Por tanto, en base a nuestros resultados que revelan niveles aumentados de L-LCR en pacientes con MOD, podemos considerar que el L-LCR constituye un biomarcador de alteración de la BHE en esta patología.

7.8.2.2 L-LCR y edad

Se observa una correlación positiva débil estadísticamente significativa entre el L-LCR y la edad del paciente ($S= 0,40394$; $p<0,0059$) que no se observa en el grupo control ($S= -0,35617$; $p<0,2823$). Cabe destacar que en este último, la edad media de los animales es menor ($4,7\pm 2.64$ frente a $6,64\pm 3,90$ en el grupo MOD), lo cual, quizás pueda tener alguna diferencia entre grupos.

No existen valores de referencia de L-LCR en función de la edad en perros sanos. El único estudio que lo analiza, lo evalúa comparando animales sanos con edades comprendidas entre 1 y 11 años con un grupo de pacientes con disfunción cognitiva leve (8-15 años) y otro severa (14-16 años). En este estudio se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los 3 grupos, pero las atribuyen al grado de la disfunción cognitiva²⁶³.

En medicina humana tampoco existen estudios a este respecto, porque no sería ético someter a pacientes sanos a una prueba invasiva como la extracción de LCR. Uno de los estudios más amplios (9036 muestras) evalúa pacientes postquirúrgicos neurológicos y de UCI con *shunt* ventriculares. Las concentraciones de L-LCR se incrementan progresivamente con la edad (sobre todo, a partir de los 40 años), variando de $0,9-2,2$ mmol/L en niños menores de 1 año hasta $1,4-2,7$ mmol/L en mayores de 80 años. En este artículo no indican la patología que presenta cada paciente ni si existe deterioro cognitivo²⁵⁷.

7.8.2.3 L-LCR y peso

Se ha hallado una correlación positiva débil estadísticamente significativa entre el peso y L-LCR ($S= 0,38529$; $p<0,0090$) que no se encuentra en el grupo EI ($S=0,17163$; $p<0,6139$). *Cornelis*

et al., describen una menor supervivencia a 7 días en pacientes con MOD con peso superior a 15 kg²¹⁶. No se puede comparar este resultado con el estudio de *Cornelis et al.*, puesto que nuestro estudio sólo presenta dos pacientes > 15 kg. Quizás al aumentar el tamaño muestral se pueda contrastar mejor estos resultados.

7.8.2.4 L-LCR y hematocrito sanguíneo

Existe una correlación débil negativa entre el L-LCR y el hematocrito sanguíneo ($S=0,42442$; $p<0,0273$), que no se encuentra en el grupo EI ($S= -0,100$; $p<0,8729$). En periodos de hipoxia, los tejidos solo pueden emplear la glucólisis como fuente de producción de energía cuyos productos finales son hidrogeniones y lactato. Es una vía menos efectiva y el resultado energético es mucho menor, pero se produce a mayor velocidad que el metabolismo aeróbico²³⁴. La medición de lactato es útil para valorar la oxigenación tisular ya que es un buen indicador de hipoperfusión porque sus niveles aumentan de forma significativa en estados de hipoxia celular²³³. Esta correlación negativa confirma que, en situaciones de hipoxia, las células del SNC producen mayor cantidad de lactato, e ilustra la gran sensibilidad del SNC a la hipoxia asociada a disminución del hematocrito sanguíneo. Esta sensibilidad del SNC es muy superior a la de otros tejidos, como parece demostrar el hecho de que esta correlación no se produce con los niveles de L-SANG ($S= -0,16416$; $p<0,4330$).

7.8.2.5 L-LCR y proteína totales en LCR

Se observa una correlación positiva débil entre el L-LCR y las proteínas totales en LCR ($S=0,32495$; $p<0,0408$), que no existe en el grupo EI ($S= -0,48607$; $p<0,12$). Durante la inflamación, las células inflamatorias migran dentro del parénquima del SNC y al LCR, lo que produce una alteración de las concentraciones de proteínas en el LCR³⁹. Un aumento en las proteínas es un indicador inespecífico de daño en el SNC e implica la alteración de la BHE, o bien que se ha producido un incremento local en la producción de Ig G. Estos hallazgos son frecuentes en enfermedades inflamatorias del SNC, entre las que se incluyen las MOD³⁷. Por tanto, este resultado confirma, de nuevo, la utilidad del L-LCR como biomarcador de alteración de la BHE.

7.9 TRATAMIENTOS, EVOLUCIÓN DE LOS PACIENTES Y TIEMPO DE SUPERVIVENCIA

Los pacientes que recibieron tratamiento inadecuado previo al diagnóstico y, sobre todo, tratamiento glucocorticoide, presentan una supervivencia menor estadísticamente significativa ($p < 0,027$ y $p < 0,009$, respectivamente) (Fig. 86 y 87) (pag. 199 y 200). En los procesos inmunomediados como las MOD, el tratamiento inicial debe ser correcto y lo más agresivo posible para evitar su cronificación y la presentación de recidivas de la enfermedad. Ninguno de los pacientes tratados con glucocorticoides antes del diagnóstico, recibieron dosis inmunosupresoras. En las MOD, el empleo de dosis antiinflamatorias empíricas de glucocorticoides mejora inicialmente los signos clínicos, por lo que se demora el diagnóstico adecuado de la enfermedad y, por tanto, condiciona la supervivencia del paciente.

Hemos observado que existen diferencias significativas ($p < 0,001$) en la supervivencia entre los pacientes tratados y no tratados (Fig. 88) (pag. 201), lo cual parece obvio. No obstante, estas diferencias hay que interpretarlas con precaución, ya que los pacientes no tratados coinciden con los eutanasiados en el momento del diagnóstico o al día posterior por su mal estado, por lo que, realmente, no han contribuido a valorar su evolución a corto-medio plazo sin tratamiento. Desde el punto de vista ético no se puede negar el tratamiento a un paciente con una enfermedad tan grave como la MOD, por lo que resulta imposible incluir un grupo de pacientes diagnosticados de MOD sin tratamiento para determinar su supervivencia.

Los niveles medios de L-LCR (6,47 mmol/L) y L-SANG (7 mmol/L) son significativamente mayores ($p < 0,0048$) en los animales no tratados por practicar la eutanasia humanitaria en el momento del diagnóstico que en los grupos en tratamiento (grupo A: L-SANG 2,37 mmol/L y L-LCR 3,25 mmol/L; grupo B: L-SANG 2,53 mmol/L y L-LCR 4,36 mmol/L;) (Fig. 67) (pag. 177). Además el L-SANG y L-LCR en los pacientes que sobreviven menos de 7 días (6,27 y 6,84 mmol/L) son significativamente mayores que los que sobreviven más de 7 días (2,05 y 3,21 mmol/L). Consideramos que estos hallazgos son muy significativos y que confirman que el L-LCR es un excelente indicador de alteración de la BHE y de pronóstico de la enfermedad que la produce. De la misma forma, el L-SANG sirve como marcador de un estado hipermetabólico y/o hipoxia tisular consecutiva a la lesión inflamatoria del SNC. Los pacientes eutanasiados en el momento del diagnóstico o con supervivencia menor de 7 días presentan

una enfermedad mucho más avanzada y severa, que se refleja en niveles elevados de L-LCR y L-SANG. Por tanto, la determinación de estas variables podrían ser empleadas como criterio para emitir un pronóstico en casos de MOD y discriminar qué pacientes podrían beneficiarse del tratamiento.

Aunque en la bibliografía consultada hay variaciones en el tiempo de supervivencia entre los distintos protocolos terapéuticos^{101,185,186,196,200,204-211}, en este estudio no se han encontrado estadísticamente significativas en la supervivencia global en función del protocolo administrado: prednisona + arabinósido de citosina o prednisona +/- ciclosporina. En base a estos resultados, se podría concluir que ambas opciones son válidas para tratar a los pacientes con MOD

Sin embargo, al analizar la supervivencia a 7 días, sí que se han encontrado diferencias estadísticamente significativas entre el uso de ambos protocolos de tratamiento ($p < 0,01$). Ningún paciente del grupo de tratamiento A (prednisona + arabinósido de citosina) ha sobrevivido menos de 7 días. El arabinósido de citosina tiene una farmacocinética similar por vía intravenosa y subcutánea. Su capacidad para atravesar la BHE es muy elevada, con un pico máximo de concentración en LCR entre 57 +/- 13 minutos tras su administración¹⁸⁸. Sin embargo, la ciclosporina tiene una pobre absorción tras su administración vía oral y su biodisponibilidad es variable entre los pacientes (23-45%); además, su capacidad para atravesar la BHE es prácticamente nula¹⁹². Mientras que con el arabinósido de citosina se obtiene una respuesta al tratamiento prácticamente inmediata, con la ciclosporina es necesario esperar varios días para que alcance concentraciones terapéuticas. Estos motivos, juntos con los resultados obtenidos en nuestro estudio, nos llevan a recomendar el empleo de prednisona + arabinósido de citosina en pacientes con peor pronóstico.

Tras el tratamiento, el 20% de los pacientes mejoraron de forma definitiva (curación), el 44,44% permanecieron estables con tratamiento crónico y el 35,56% tuvo una evolución desfavorable. En resumen, el 64,44% tuvo una evolución favorable y el 35,56% desfavorable. El 24,44% de los pacientes estables presentó una recaída, pero ésta no estuvo asociada, necesariamente, a un mal pronóstico. Del total de los pacientes que presentaron una recaída, el 28% permanecen vivos y su tiempo medio de supervivencia es de 811 días. No existen suficientes referencias bibliográficas para contrastar estos hallazgos sobre evolución y supervivencia a largo plazo, ya que tan solo *Cornelis et al.* han evaluado la evolución de la enfermedad, pero sólo a 7 días²¹⁶.

En nuestro estudio, los pacientes que no evolucionan favorablemente tras una semana de tratamiento presentan una supervivencia significativamente inferior ($p < 0,000$) (Fig. 90) (pag. 203). En el 33,33% de los pacientes, la administración de tratamiento no obtuvo una respuesta favorable en 7 días de tratamiento, porcentaje que coincide completamente con el *de Cornelis et al.* (31%)²¹⁶. El porcentaje de pacientes con evolución desfavorable (35%) es similar a los que no sobreviven más de 7 días (25%). Consideramos que este hallazgo es muy relevante ya que implica que si un paciente con MOD no responde en los primeros 7 días de tratamiento, su pronóstico es muy malo.

El 64,44% de los pacientes que tuvieron una evolución favorable con el tratamiento mostraron diferencias estadísticamente significativas en las concentraciones de L-SANG ($p < 0,0037$) y L-LCR ($p < 0,0010$) respecto a los que evolucionaron desfavorablemente. Por tanto, ambos parámetros, L-SANG y L-LCR, son buenos marcadores para predecir la evolución de los pacientes, de forma que, a menor concentración de L-SANG y L-LCR, mejor evolución.

No se han encontrado diferencias estadísticamente significativas entre el L-SANG y L-LCR con la curación del paciente. En el caso de los pacientes con evolución desfavorable, tanto el L-LCR ($p < 0,0497$) como el L-SANG ($p < 0,0004$) presentan diferencias significativas. Sin embargo, las concentraciones independientes de L-LCR sólo son estadísticamente significativas para los pacientes estables con tratamiento ($p < 0,0013$) y los que presentan recaídas ($p < 0,0356$).

Por tanto, el L-LCR y L-SANG pueden emplearse de manera conjunta como indicadores de pronóstico favorable (concentraciones normales) o desfavorable (incremento de la concentración). Así mismo, el L-LCR aislado puede usarse como indicador de respuesta favorable al tratamiento (normal), desfavorable y de recaídas (incrementado). Este hallazgo se apoya en la correlación moderada-fuerte negativa entre el L-LCR y el tiempo de supervivencia ($S = -0,50210$; $p < 0,0004$) y la correlación débil-negativa entre el L-SANG y la supervivencia ($S = -0,35685$; $p < 0,0220$).

El tiempo de supervivencia de los pacientes osciló entre 0 y 2511 días con un tiempo medio de 579,33 días, independientemente del tratamiento. 14 de los 45 pacientes (31,11%) seguían vivos al finalizar el estudio. De los 31 pacientes fallecidos, 6 lo hicieron por causas ajenas a la MOD, con lo cual el porcentaje de mortalidad a causa de la enfermedad asciende a un 55%.

Si analizamos el tiempo de supervivencia en función del tratamiento, los pacientes del grupo tratamiento A (prednisona + arabinósido de citosina) tuvieron un tiempo de supervivencia

entre 13-2511 días con un promedio de 727 días, muy superior a lo descrito en la bibliografía (335-531 días)^{200,204-209}. La diferencia observada en el tiempo de supervivencia puede ser debida a las variaciones en el protocolo de tratamiento en pacientes que sobreviven más de un año, periodo a partir del cual no se ha definido un consenso terapéutico. *Lowrie et al.*, mantienen su protocolo de prednisona hasta los 8 meses y el de arabinósido de citosina (ciclos cada 6 semanas) hasta los 18 meses, pero no especifican si continúan o no con el tratamiento en los pacientes que sobreviven este periodo. En nuestro estudio, ambos fármacos se han mantenido en el tiempo, por encima de los 18 meses, llegando incluso a administrar de manera crónica pequeñas dosis de prednisona (p.ej: 0,1 mg/kg/72h) y ciclos de arabinósido de citosina cada 16-20 semanas. Este tratamiento crónico se mantuvo en pacientes que continuaban con signos clínicos, pacientes sin signos clínicos pero con alteraciones en la RM y/o LCR de control posttratamiento o en pacientes sin signos en los que por motivos económicos no se pudieron repetir las pruebas. La elevada tasa de supervivencia en nuestro estudio, por tanto, podría atribuirse a nuestro protocolo de tratamiento crónico.

El grupo tratado con prednisona +/- ciclosporina tuvo un tiempo de supervivencia de 0-2271 días con un promedio de 592 días, similar a lo descrito en la bibliografía (240-930 días)^{185,186,196,210,211}. Sin embargo, como se ha indicado previamente, no existen diferencias estadísticamente significativas en la supervivencia global entre los dos grupos (Fig. 89) (pag. 202).

Existe una correlación moderada-fuerte negativa entre el L-LCR y el tiempo de supervivencia ($S = -0,50210$; $p < 0,0004$). A mayor concentración de L-LCR, menor supervivencia de los pacientes. En el curso de las MOD, como ya se ha indicado previamente, hay un aumento marcado de la permeabilidad de la BHE, que permite la difusión de sustancias y metabolitos que, en condiciones normales, no lo harían. Además, cualquier alteración asociada con una pobre oxigenación cerebral, incremento de la actividad metabólica e inmunológica y/o aumento de PIC pueden incrementar la concentración L-LCR^{253,254}. Todas estas alteraciones son frecuentes en pacientes con MOD. De esta forma, cuanto más severas sean, la concentración de L-LCR será mayor y menor el tiempo de supervivencia. Este hallazgo se confirma en el análisis de supervivencia que es significativamente menor en los pacientes con L-LCR > 4 mmol/L ($p < 0,009$) (Fig. 85) (pag. 198). De esta forma, podemos concluir que niveles de L-LCR > 4 mmol/L implican daño neuronal severo y, por tanto, una menor supervivencia.

Lobert et al., encontraron concentraciones elevadas de L-LCR en pacientes con enfermedades inflamatorias del SNC (sin diferenciar infecciosas de no infecciosas); sin embargo, no

analizaron la supervivencia de los pacientes²⁶². Esta tesis doctoral es la primera en analizar los niveles de L-LCR en pacientes con MOD y su correlación con la supervivencia.

En el ámbito clínico, la medicina veterinaria ha experimentado un avance muy importante en los últimos años, haciendo posibles algunos tratamientos y niveles de cuidados impensables hace poco tiempo. No obstante, la cuestión económica siempre es un problema cuando se tratan pacientes en estado grave. Tal y como ocurriera en medicina humana en su momento, el objetivo actual de la medicina veterinaria es permitir que más pacientes puedan recibir un tratamiento adecuado, pero optimizando los recursos y aumentando la eficacia terapéutica, para, de esta forma, reducir los costes de ingreso de los animales graves. Este concepto general es de máxima prioridad en el campo de la neurología veterinaria, especialidad que requiere un elevado desembolso económico (tanto en pruebas como en tratamientos) que muchos propietarios no pueden permitirse. Por tanto, la búsqueda de parámetros sencillos de realizar e interpretar y que permitan emitir un pronóstico fiable para poder determinar qué pacientes se pueden beneficiar de un tratamiento es prioritaria.

Los resultados de este trabajo muestran que la determinación de L-SANG y, sobre todo, L-LCR en pacientes con MOD debe considerarse una herramienta esencial en el diagnóstico de esta patología ya que sirven de apoyo al pronóstico y, por tanto, permiten, de forma fiable, proporcionar un asesoramiento adecuado a los propietarios que les ayude a tomar decisiones referentes a sus mascotas.

7.10 ANÁLISIS DE LCR MEDIANTE ¹HNMR

Las MOD son patologías inmunomediadas y, por lo tanto, son muy variables de un individuo a otro, ya que el sistema inmune reacciona de manera completamente individual.

No se han encontrado diferencias a nivel metabólico en el SNC entre el grupo EI y el grupo MOD (Fig. 75) (pag. 185), lo que puede explicarse por la gran variabilidad de la enfermedad y al hecho de que cada paciente se encuentra en un estadio distinto de la enfermedad. No descartamos, por lo tanto, que una selección de pacientes más homogénea permitiera establecer un perfil metabólico significativo.

Otro punto a tener en cuenta en la evaluación de los espectros es que presentan dos contaminaciones. Una es el etanol empleado en la limpieza estéril del área de extracción de

LCR. Este compuesto genera 3 picos en el espectrograma a 1,2, 3,6 y 4,8 ppm, que se solapan con numerosos metabolitos, sobre todo el lactato, Cr, Glu, Gln y lípidos. La otra contaminación es la originada por el eutanásico empleado en 6 pacientes que fueron sacrificados inmediatamente antes de la obtención del LCR y que, por lo tanto, fueron incluidos en el grupo con menor supervivencia. El eutanásico presenta picos en el espectrograma en 0,77-1, 1,2, 2, 3,4-3,6 y 3,9-4 ppm; el de 1,2 ppm es el más intenso e interfiere notablemente con el pico del lactato (1,3 ppm). El eutanásico, por tanto, se solapa con la mayoría de los metabolitos estudiados.

Aunque en el análisis y procesamiento de datos de $^1\text{H-NMR}$ se ha intentado suprimir ambas señales, su presencia no se ha podido evitar por completo y este hecho puede contribuir a que no se hayan encontrado diferencias entre el grupo EI y MOD en general (Fig. 75) (pag. 185), ni tampoco entre el grupo EI y los pacientes del grupo MOD con supervivencia < 1 mes, ni entre el grupo MOD con supervivencia < 1 mes con el resto de pacientes del grupo MOD (Fig. 91 y 92) (pag. 204 y 205).

Sería necesario eliminar estos dos factores por completo para determinar si la ausencia de diferencias puede ser atribuida a ellos. Por tanto, se debería emplear otro compuesto igual de efectivo en la asepsia que el etanol, que no interfiera en los espectros de LCR de $^1\text{H-NMR}$, pero que, a su vez, permita el procesamiento adecuado de la muestra para su estudio citológico. Por otro lado, en los pacientes que se vayan a eutanasiar, previo consentimiento informado de los propietarios, se debería realizar la extracción de LCR con el paciente vivo.

Sin embargo, sí se observan diferencias en los espectros de los 3 pacientes en los que se pudo realizar un control a los 8 meses del diagnóstico (Fig. 93) (pag. 205). En este caso no se encuentra la interferencia del eutanásico y al comparar un mismo animal, la variabilidad de la gravedad y curso de la enfermedad entre los distintos pacientes tampoco existe. Sí persiste la influencia del etanol, pero al comparar un mismo paciente, el efecto que tiene en el espectrograma no es limitante. Aunque el tamaño muestral es muy limitado, consideramos que las conclusiones que pueden extraerse de este estudio preliminar son muy significativas.

Los hallazgos que hemos valorado en los picos del espectrograma de estos tres pacientes son los siguientes:

7.10.1 Lactato

Se observa una disminución en los picos del espectrograma del lactato en todos los pacientes en el control posttratamiento al cabo de 8 meses (siendo más evidente en dos de ellos) que, además, se corresponde con los resultados de la determinación con el lactatímetro portátil. La disminución de los niveles de L-LCR es, probablemente, el producto de reestablecer las condiciones aeróbicas y, por tanto, del correcto metabolismo cerebral (Fig. 98, 105 y 112) (pag. 208, 212 y 216). Una vez que el proceso inflamatorio está en remisión, disminuye el incremento energético necesario para mantener la gran actividad metabólica (sobre todo aporte de glucosa y oxígeno) derivada de la inflamación y se reduce la hipoxia. El ciclo de Krebs y la fosforilación oxidativa se reestablecen como rutas metabólicas y la glucólisis disminuye. El lactato y los hidrogeniones son consumidos y se metabolizan a glucosa o son oxidados a agua y dióxido de carbono²³².

Aunque no se han analizado las muestras sanguíneas de estos pacientes mediante ¹HNMNR, los niveles de L-SANG medidos con el lactatímetro portátil no muestran esta disminución (Tabla. 16) (pag. 177). Por tanto, la disminución de los niveles L-LCR en estos pacientes, asociado a una resolución de los signos clínicos y a los hallazgos de RM, refuerzan el uso este parámetro como biomarcador pronóstico de supervivencia y de evolución favorable del tratamiento en MOD.

7.10.2 NAA

El NAA es un marcador de integridad neuronal y, por tanto, se encuentra disminuido en pacientes con MOD debido a la disfunción neuronal como consecuencia de la alteración de su síntesis, degradación o incremento del volumen de las células inflamatorias en el tejido afectado²⁷³.

Los tres pacientes en el estudio control tras el tratamiento, presentan mayores concentraciones de NAA que en el momento del diagnóstico, y es más evidente en la frecuencia 2 ppm que en 2,6-2,7 ppm (Fig. 100, 107 y 114) (pag. 209, 213 y 217). Este aumento de la síntesis en pacientes estables en tratamiento manifiesta la normalización del metabolismo energético cerebral, ya que es esencial en la regulación y la síntesis de los lípidos y la mielina²⁷⁴. Además, los aminoácidos implicados en la síntesis de NAA se originan a partir

del ciclo de Krebs, por lo que un aumento de los niveles de NAA supone la integridad de este ciclo y, por tanto, del metabolismo aeróbico.

Aunque nuestro estudio es el primero que analiza LCR "in vitro" en pacientes caninos con MOD mediante ^1H NMR, Beckmann et al. encontraron resultados similares en su estudio "in vivo". Observaron niveles menores de NAA en áreas cerebrales afectadas por la inflamación en comparación con las no afectadas. Sus valores se normalizaron después del tratamiento con radioterapia en las áreas afectadas inicialmente, alcanzando valores similares a los de las zonas no afectadas²⁰².

En las imágenes de los espectros de nuestro estudio donde se comparan la muestra de LCR en el momento del diagnóstico y la del control posttratamiento junto con una muestra de LCR de un paciente del grupo EI, puede observarse que el pico de la NAA de la muestra control posttratamiento es similar a la del paciente EI (Fig. 96, 103 y 110) (pag.207, 211 y 215). Aunque puede originarse aumento de la concentración de NAA en pacientes epilépticos por exceso de glutamato con la consecuente entrada de calcio intracelular, esto parece ocurrir sólo si las crisis son recientes²⁸⁰. El grupo EI de nuestro estudio no había padecido crisis recientes previas a la extracción de LCR, por lo que las concentraciones de NAA deberían ser similares a un paciente sano.

Por tanto, el incremento del pico del NAA en la muestra control posttratamiento puede considerarse un indicador de viabilidad neuronal y de respuesta favorable al tratamiento instaurado.

7.10.3 Cr

Dos de los tres pacientes presentan una muy leve disminución del pico de Cr en el control posttratamiento, mientras que en el tercero se observa un discreto incremento (Fig. 100, 107 y 114 respectivamente) (pag. 209, 213 y 217)

La Cr es parte del sustrato del metabolismo energético y marcador de los sistemas dependientes de energía de las células del SNC (neuronas y glía)²⁸⁶. Es sensible a cambios externos por su síntesis hepática y renal, así como por cambios osmóticos, por lo que su disminución, considerada de forma aislada, no indica un fallo del metabolismo energético. Se cree que los cambios en su concentración en enfermedades inflamatorias del SNC pueden ser

debidos a cambios en el volumen celular, edema vasogénico y la disminución del metabolismo energético^{286,288}. La disminución del pico observada en dos de los pacientes puede ser atribuida a la mejoría de la inflamación. Una disminución de la inflamación supone una menor densidad celular y, por tanto, menor volumen. Sin embargo, el paciente BOCA presenta un leve aumento del pico con respecto al diagnóstico. Aunque no presentaba signos clínicos y los hallazgos de la RM fueron normales, mantiene anomalías leves en su análisis de LCR. En este paciente se suspendió el tratamiento 4 meses antes del control. Por tanto, podemos considerar que la Cr no disminuye en este paciente porque persiste cierto grado de inflamación en el LCR. Sin embargo, en el paciente LOLA, en la que persisten lesiones leves en la RM e inflamación en el LCR, la Cr disminuye. Este hallazgo, como se ha indicado previamente, avala la teoría de que la evaluación aislada de este metabolito debe realizarse con precaución. Posiblemente en este caso, al estar en tratamiento en el momento del control, la reacción inflamatoria sea menor que en el caso del otro paciente y, por tanto, disminuye la Cr y se acompaña del resto de cambios en los metabolitos que indican un mejoría de la inflamación.

En un estudio "in vivo" mediante espectroscopia ¹HNMR en perros con tumores intracraneales y MOD se observaron diferencias en su concentración en ambos grupos (Cr menor); sin embargo esta disminución solo fue estadísticamente significativa en el grupo tumoral²⁷³.

7.10.4 ml

Aunque se han encontrado concentraciones altas de ml en personas, asociadas a la degradación de las vainas de mielina y a la activación glial y de los astrocitos en el curso de enfermedades inflamatorias autoinmunes como la esclerosis múltiple²⁹⁶, en MOD las concentraciones son bajas. Un estudio experimental en ratas ha demostrado una menor concentración de ml en el curso del daño oxidativo inducido en cultivos celulares de astrocitos³²¹. Este hecho, junto con la baja incidencia de desmielinización, podría ser la explicación de niveles menores de ml en pacientes con MOD, ya que es una patología con un gran estrés oxidativo.

En nuestro estudio los tres pacientes muestran una elevación marcada del pico del ml en las muestras control posttratamiento (Fig. 99, 106 y 113) (pag. 209, 213 y 217). Uno de ellos (MUSA) presenta un pico claro de elevación en la frecuencia 2,6 ppm; sin embargo, a otras

frecuencias esta elevación no está clara, posiblemente por superposición con el etanol, la glucosa, Gln, Glu y Tau.

Nuestro estudio coincide con el de *Richter et al.*, en el que encontraron reducción de los niveles de NAA y ml²⁷³ en pacientes en tratamiento.

Los picos de ml en los controles son similares a los observados en los pacientes del grupo EI. Por lo tanto, un incremento en el pico del ml en los controles posttratamiento puede implicar un menor estrés oxidativo y el retorno a un metabolismo y funcionalidad neuronal normal, como ocurre con otros metabolitos.

7.10.5 Glu-Gln

En los tres pacientes se ha observado un incremento de sus picos en el control posttratamiento (Fig. 99, 106 y 113) (pag. 209, 213 y 217). Las dos sustancias son difíciles de separar y, aunque su concentración en cerebro sea mayor que la del NAA, su resolución no es buena. Además, los picos de estos metabolitos son difíciles de evaluar por la gran superposición que presentan con la glucosa y el metanol, entre otros. Parece una incongruencia que los niveles estén incrementados respecto al momento del diagnóstico en pacientes con mejoría clínica, sobre todo el de Glu (principal neurotransmisor excitatorio). En los tres pacientes también se incrementa en el control posttratamiento la concentración de glucosa como se va explicar posteriormente. Por tanto, es posible que el incremento del complejo Glu- Gln sea por superposición con la glucosa.

Aunque en perros se ha descrito un incremento del Glu y la Gln en MEN de manera conjunta con la Tau³⁰⁹, no siempre se produce esta asociación, ya que la Tau puede prevenir la despolarización de membrana inducida por el Glu y, por tanto, reducir su daño celular inhibiendo el aumento del complejo glutamato-glutamina^{273,310}.

En nuestro estudio no hemos podido evaluar adecuadamente los picos de la Tau por superposición con el resto de los metabolitos.

7.10.6 Glucosa

Aunque la glucosa no es un metabolito que se analice de rutina en LCR en veterinaria a excepción de las meningoencefalitis bacterianas y fúngicas, en nuestro estudio se observa un aumento de su concentración en dos de los tres pacientes en el control posttratamiento con respecto a la muestra del momento del diagnóstico; no obstante, el gran solapamiento espectral en esa región limita la fiabilidad de la detección.

A pesar de ello, parece lógico observar una mayor concentración de glucosa en el grupo control posttratamiento (similar al grupo EI) (Fig. 95, 102 y 109) (pag. 207, 211 y 215), asociada a una disminución de los niveles de L-LCR, Cr y ml y a un aumento del NAA como consecuencia de la restauración de un adecuado metabolismo en el SNC.

La leve disminución que se observa en un paciente posiblemente sea debida a solapamiento con otros metabolitos que interfieren en su determinación.

7.10.7 Ala

No se observa ningún pico en la frecuencia de RMN de la Ala (Fig. 96, 103 y 110) (pag. 207, 211 y 215) puesto que su incremento parece estar asociado con la presencia de meningiomas y no está descrito en MOD.

7.10.8 Cho

No se observa ningún pico en la frecuencia de resonancia en ninguno de los tres pacientes ni en el momento del diagnóstico ni en el control posttratamiento (Fig. 96, 103 y 110) (pag. 207, 211 y 215).

Su concentración suele elevarse en MOD. En medicina humana, aumenta en el curso agudo de enfermedades autoinmunes, como la esclerosis múltiple, y suele normalizarse durante la resolución de la fase aguda. Es posible que en nuestro estudio no se detecte el pico de este metabolito porque ninguno de los pacientes se encontraba en fase aguda de la enfermedad.

7.10.9 Lípidos y Tau

Estos metabolitos no pueden ser analizados correctamente en este estudio por superposición con otros metabolitos en el caso de la Tau y con el etanol en el caso de los lípidos.

Todos estas variaciones en los metabolitos del LCR reflejan el cambio metabólico que sufre el SNC durante la inflamación y la posterior recuperación de la misma, es decir, el paso de una situación de pérdida de integridad celular con aumento del volumen celular por la propia inflamación y el edema, hipermetabolismo, hipoxia (glucólisis en detrimento del Ciclo de Krebs) y estrés oxidativo a una situación de reducción de la inflamación y, por tanto, la vuelta a la integridad celular, metabolismo cerebral normal, ausencia de hipoxia (Ciclo de Krebs) y cese del estrés oxidativo.

Las conclusiones del estudio realizado al analizar "*in vitro*" el LCR mediante ^1H NMR es que los espectros obtenidos no permiten diferenciar los pacientes con MOD de los epilépticos sanos, es decir, no son útiles para el diagnóstico de la enfermedad; sin embargo, los resultados preliminares obtenidos en los tres pacientes tratados permiten considerarlo como una herramienta muy adecuada para valorar la evolución de los pacientes en tratamiento y podría, por tanto, considerarse como un marcador de la necesidad de continuar o no el tratamiento establecido.

7.11 LIMITACIONES DEL ESTUDIO

Como todos los trabajos de investigación, este estudio presenta algunas limitaciones. La principal limitación, como en la mayoría de los estudios relacionados con las MOD es la falta de confirmación histopatológica de las mismas (disponible solo en 3 pacientes). Por este motivo, los criterios de inclusión del grupo MOD fueron tan estrictos (ausencia de otras enfermedades concomitantes y de agentes infecciosos en LCR en todos los pacientes, información de la evolución de todos los pacientes al finalizar el estudio...). Estos criterios de inclusión limitaron notablemente el número de casos, que finalmente fueron 45. Veintiún pacientes no pudieron ser incluidos en el estudio por no poder contactar con el propietario tras la instauración del tratamiento para evaluar la evolución de la enfermedad, presentar otras patologías crónicas (p.ej: enfermedad renal crónica) o por no disponer de muestra para descartar enfermedades infecciosas (bien por muestra insuficiente como consecuencia del tamaño del paciente o por malas condiciones de conservación). De la misma forma los criterios de inclusión del grupo EI, en concreto, no haber presentado crisis epilépticas los 15 días previos a la RM y no padecer otras enfermedades concomitantes, también limitaron el tamaño muestral. No obstante, la mayoría de los estudios clínicos publicados en veterinaria sobre MOD cuentan con un número similar o incluso inferior de pacientes y ninguno de ellos descartan en el 100% de los pacientes enfermedades infecciosas endémicas en LCR en pacientes sin confirmación histopatológica, hecho que sí se ha realizado en nuestro estudio. En el estudio de *Lowrie et al.*, en el que incluyen 39 pacientes sólo realizan serología sanguínea de *Neospora caninum*²⁰⁸. El trabajo de *Cornelis et al.*, es uno de los que posee mayor tamaño muestral (111 pacientes); sin embargo, sólo analizaron enfermedades infecciosas endémicas en 78 pacientes, no indicando en cuántos pacientes realizan serología o PCR en LCR²¹⁵.

Otra limitación importante del estudio es el hecho de que todos los pacientes posean análisis de LCR como criterio de inclusión. Esto posiblemente haya generado un sesgo en el estudio, ya que no ha sido posible evaluar la incidencia del aumento de PIC en la supervivencia porque la extracción de LCR en pacientes en esta situación está contraindicada. Por el mismo motivo, tampoco se ha podido analizar adecuadamente los distintos tipos de herniaciones. Teniendo en cuenta los resultados obtenidos, hubiese sido interesante valorar en estos pacientes las concentraciones de L-SANG como biomarcador pronóstico.

Hasta que no se analizaron los LCR mediante ¹HNMR se desconocía la gran contaminación y superposición de espectros que originan el etanol y el eutanásico. Aunque una vez analizados

los primeros, se evitó el uso de etanol en la desinfección de la zona de extracción de LCR, la mayoría de las muestras incluidas en el estudio son muestras conservadas en congelación contaminadas con etanol. Para solventar esta complicación se intentó suprimir la señal del etanol a la hora de elaborar los diagramas de puntos y cuando se evaluaron los espectros de manera individual siempre se incluyó el espectro del etanol de manera conjunta.

Dentro del análisis de los metabolitos del LCR mediante ^1H NMR cabe resaltar que no se dispone de un grupo control sano. El grupo control de este estudio son pacientes con epilepsia idiopática. Aunque se excluyeron los pacientes que presentaron convulsiones los 15 días previos no se puede considerar una muestra control estricta. La bibliografía consultada muestra alteraciones en metabolitos como el Glu y el NAA en pacientes epilépticos con crisis recientes, pero no se han encontrado referencias al respecto en pacientes epilépticos con ausencia de crisis. Aunque hubiera sido ideal poder incluir animales sanos en el grupo control, esto genera un gran dilema ético, ya que la extracción de LCR es un procedimiento invasivo que, además, requiere anestesia general y que, por tanto, no está exento de riesgo.

El bajo campo magnético del equipo de RM empleado es otro factor a tener en cuenta, sobre todo, en pacientes de razas toy. La mayoría de los artículos consultados en la bibliografía emplean RM de alto campo y es posible que muchos de los hallazgos descritos en sus estudios no sean apreciables en nuestros estudios de RM. Sería interesante en un futuro poder emplear RM de alto campo.

8 CONCLUSIONES

1. Los pacientes afectados por meningoencefalitis de origen desconocido en nuestra área geográfica son, fundamentalmente, perros de raza Yorkshire terrier, mestizos toys y Bulldog francés, sin predisposición sexual, y con edades y peso medio de 6,6 años y 5 kg, respectivamente. Los signos clínicos más habituales son multifocales, vestibulares, marcha en círculos y dolor cervical. La distribución mayoritaria de las lesiones en resonancia magnética es multifocal y afectan a la fosa rostral (encéfalo) y a la sustancia blanca; en su mayoría captan contraste y se acompañan de pérdida de surcos cerebrales asociada a dilatación ventricular.
2. Pueden considerarse factores pronósticos negativos la presencia de los siguientes signos: a nivel clínico, multifocalidad y/o déficit visual y/o alteración del estado mental y/o alteración del comportamiento y/o marcha en círculo; en hallazgos de resonancia magnética, la afectación de sustancia gris y/o siringomielia y/o componente hemorrágico.
3. La alteración del estado mental y/o la observación de componente hemorrágico en la resonancia magnética se asocian a un pronóstico negativo a corto plazo (supervivencia inferior a 7 días).
4. Los pacientes que presentan una respuesta favorable a los 7 días de tratamiento tienen mejor pronóstico. En el conjunto de la población estudiada, un 20% de los pacientes alcanzan la curación, el 44% permanecen estables con tratamiento crónico y el 36% evoluciona desfavorablemente.
5. Los pacientes que han recibido tratamiento empírico previo al diagnóstico y, sobre todo, glucocorticoides a dosis no inmunosupresoras, alcanzan una menor supervivencia.
6. La combinación de prednisona y arabinósido de citosina debe considerarse como tratamiento de elección en los pacientes con peor pronóstico.
7. La determinación conjunta de lactato en líquido cefalorraquídeo y en sangre puede emplearse como indicador pronóstico favorable (concentraciones dentro del rango de referencia) o desfavorable (incremento de la concentración). Concentraciones de lactato superiores a 4 mmol/L, tanto en líquido cefalorraquídeo como en sangre, se asocian a una menor supervivencia.

8. El lactato en líquido cefalorraquídeo puede considerarse un factor predictivo de la respuesta a tratamiento, ya que una concentración normal se asocia a una respuesta favorable, mientras que su elevación, probablemente consecutiva a una alteración severa de la BHE, es indicativa de evolución desfavorable y de recaídas.
9. El análisis del líquido cefalorraquídeo mediante espectroscopia por resonancia magnética nuclear realizada a través de la determinación del hidrógeno parece ser una herramienta muy prometedora para valorar la evolución de los pacientes en tratamiento y podría considerarse como un marcador de la necesidad de continuar o no la terapia; no obstante son necesarios más estudios a este respecto.
10. De todos los parámetros valorados en este estudio (análisis sanguíneo y de LCR, signos clínicos, hallazgos de resonancia magnética y espectroscopia por resonancia magnética nuclear realizada a través de la determinación del hidrógeno), la determinación de lactato en sangre y líquido cefalorraquídeo puede considerarse el marcador pronóstico más importante en pacientes con meningoencefalitis de origen desconocido. Además, su medición es sencilla, rápida y poco costosa, por lo que debería incluirse en los análisis básicos en cualquier paciente sospechoso.

9 BIBLIOGRAFÍA

1. Cardoso, F. L., Brites, D. & Brito, M. A. Looking at the blood-brain barrier: Molecular anatomy and possible investigation approaches. *Brain Res. Rev.* 64, 328–363 (2010).
2. Joo, F. Insight into the regulation by second messenger molecules of the permeability of the blood-brain barrier. *Microsc. Res. Tech.* 27, 507–515 (1994).
3. Ballabh, P., Braun, A. & Nedergaard, M. The blood-brain barrier: An overview: Structure, regulation, and clinical implications. *Neurobiol. Dis.* 16, 1–13 (2004).
4. Lee, S. *et al.* Blood–brain barrier interfaces and brain tumors. *Arch. Pharm. Res.* 29, 265–275 (2006).
5. Petty, M. & Lo, E. Junctional complexes of the blood–brain barrier: permeability changes in neuroinflammation. *Prog. Neurobiol.* 68, 311–323 (2002).
6. Hawkins, B. & Davis, T. The blood–brain barrier/neurovascular unit in health and disease. *Pharmacol. Rev.* 57, 173–185 (2005).
7. Carvey, P., Hendey, B. & Monahan, A. The blood–brain barrier in neurodegenerative disease: a rhetorical perspective. *J. Neurochem.* 111, 291–314 (2009).
8. Zlokovic, B. The blood-brain barrier in health and chronic neurodegenerative disorders. *Neuron.* 57, 178–201 (2008).
9. Webb, A. A. & Muir, G. D. The Blood-Brain Barrier and its role in inflammation. *J. Vet. Intern. Med.* 14, 399–411 (2000).
10. Choi, Y. & Kim, K. Blood–neural barrier: its diversity and coordinated cell-to-cell communication. *BMB Rep.* 41, 345–352 (2008).
11. Dore-Duffy, P. Pericytes: pluripotent cells of the blood brain barrier. *Curr. Pharm. Des.* 14, 1581–1593 (2008).
12. Persidsky, Y., Ramirez, S., Haorah, J. & Kanmogne, G. Blood-brain barrier: structural components and function under physiologic and pathologic conditions. *J. Neuroimmune Pharmacol.* 1, 223–226 (2006).
13. Wolburg, H. & Lippoldt, A. Tight junctions of the blood–brain barrier: development, composition and regulation. *Vasc. Pharmacol.* 38, 323–337 (2002).

14. Banks, W. A. & Erickson, M. A. The blood-brain barrier and immune function and dysfunction. *Neurobiol. Dis.* 37, 26–32 (2010).
15. Bernacki, J., Dobrowolska, A., Nierwinska, K. & Malecki, A. Physiology and pharmacological role of the blood–brain barrier. *Pharmacol. Rep.* 60, 600–622 (2008).
16. Stamatovic, S., Keep, R. & Andjelkovic, A. Brain endothelial cell–cell junctions: how to ‘open’ the blood brain barrier. *Curr. Neuropharmacol.* 6, 179–192. (2008).
17. Yuan, S. Protein kinase signaling in the modulation of microvascular permeability. *Vasc. Pharmacol.* 39, 213–223 (2003).
18. Uemura, E. en *Fundamentals of Canine Neuroanatomy and Neurophysiology.* 11–37 (Wiley Blackwell, 2015).
19. Wong, D., Dorovini-Zis, K. & Vincent, S. R. Cytokines, nitric oxide, and cGMP modulate the permeability of an in vitro model of the human blood–brain barrier. *Exp. Neurol.* 190, 446–455 (2004).
20. Yamagata, K., Tagami, M., Takenaga, F., Yamori, Y. & Itoh, S. Hypoxia-induced changes in tight junction permeability of brain capillary endothelial cells are associated with IL-1beta and nitric oxide. *Neurobiol. Dis.* 17, 491–499 (2004).
21. Liebner, S. *et al.* Wnt/ β -catenin signaling controls development of the blood–brain barrier. *J. Cell. Biol.* 183, 409–417 (2008).
22. Bradley, G., Daroff, R., Fenichel, G. & Jankovic, J. en *Neurology in Clinical Practice.* 1, 809–828 (Elsevier Inc, 2004).
23. Gutiérrez Pabello, J. en *Inmunología veterinaria.* 1–127 (El Manual Moderno S.A. de C.V., 2010).
24. de Lahunta, A. en *Veterinary neuroanatomy and clinical neurology.* 54– 65 (Saunders Elsevier, 2009).
25. Quan, N. Immune-to-brain signaling: how important are the blood–brain barrier-independent pathways? *Mol. Neurobiol.* 37, 142–152 (2008).

26. Wolburg, H., Noell, S., Mack, A., Wolburg-Buchholz, K. & Fallier-Becker, P. Brain endothelial cells and the glio-vascular complex. *Cell Tissue Res.* 335, 75–96 (2009).
27. Willis, C. & Davis, T. Chronic inflammatory pain and the neurovascular unit: a central role for glia in maintaining BBB integrity? *Curr. Pharm. Des.* 14, 1625–1643 (2008).
28. Jaeger, L., Dohgu, S., Lynch, J., Fleegal-DeMotta, M. & Banks, W. Effects of lipopolysaccharide on the blood–brain barrier transport of amyloid beta protein: a mechanism for inflammation in the progression of Alzheimer’s disease. *Brain. Behav. Immun.* 23, 507–517 (2009).
29. Lassmann, H. Models of multiple sclerosis: new insights into pathophysiology and repair. *Curr. Opin. Neurol.* 21, 242–247 (2008).
30. Engelhardt, B. The blood–central nervous system barriers actively control immune cell entry into the central nervous system. *Curr. Pharm. Des.* 14, 1555–1565 (2008).
31. Dohgu, S. & Banks, W. Lipopolysaccharide-enhanced transcellular transport of HIV-1 across the blood–brain barrier is mediated by the p38 mitogen-activated protein kinase pathway. *Exp. Neurol.* 210, 740–749 (2008).
32. Salkeni, M., Lynch, J., Price, T. & Banks, W. Lipopolysaccharide impairs blood–brain barrier P-glycoprotein function in mice through prostaglandin- and nitric oxide-independent pathways and nitric oxide-independent pathways. *J Neuroimmune Pharmacol.* 4, 276–282 (2009).
33. Di Terlizzi, R. & Platt, S. The function, composition and analysis of cerebrospinal fluid in companion animals: Part I - Function and composition. *Vet. J.* 172, 422–431 (2006).
34. Johanson, C. E. *et al.* Multiplicity of cerebrospinal fluid functions: New challenges in health and disease. *Cerebrospinal Fluid Res.* 5, 10 (2008).
35. Wright, B. L. C., Lai, J. T. F. & Sinclair, A. J. Cerebrospinal fluid and lumbar puncture: A practical review. *J. Neurol.* 259, 1530–1545 (2012).
36. Wamsley, H. & Allegan, A. en *BSVA Manual de neurología de pequeños animales.* 47–73 (Ediciones S, 2008).
37. Tipold, A. Cerebrospinal Fluid. *Braund ’ s Clinical Neurology in Small Animals: Localization , Diagnosis and Treatment* 338– 345 (2003) en <www.ivis.org>

38. Platt, S. & Garosi, L. *Small Animal Neurological Emergencies*. 341-383 (Manson Publishing, 2012).
39. Gutiérrez-González, R., Pérez-Zamarrón, A. & Rodríguez-Boto, G. Normal perfusion pressure breakthrough phenomenon: Experimental models. *Neurosurg. Rev.* 37, 559–568 (2014).
40. Di Terlizzi, R. & Platt, S. R. The function, composition and analysis of cerebrospinal fluid in companion animals: Part II - Analysis. *Vet. J.* 180, 15–32 (2009).
41. Lowrie, M. & Anderson, J. Cerebrospinal fluid: analysis and interpretation in small animals. *In Pract.* 33, 78–85 (2011).
42. Bienzle, D., McDonnell, J. J. & Stanton, J. B. Analysis of cerebrospinal fluid from dogs and cats after 24 and 48 hours of storage. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 216, 1761–1764 (2000).
43. Fry, M. M., Vernau, W., Kass, P. H. & Vernau, K. M. Effects of time, initial composition, and stabilizing agents on the results of canine cerebrospinal fluid analysis. *Vet. Clin. Pathol.* 35, 72–77 (2006).
44. Kim, I. *et al.* Cerebrospinal fluid analysis in 13 clinically healthy Beagle dogs; hematological, biochemical and electrophoretic findings. *Korean J. Vet. Res.* 48, 105–110 (2008).
45. Doyle, C. & Solano-Gallego, L. Cytologic interpretation of canine cerebrospinal fluid samples with low total nucleated cell concentration, with and without blood contamination. *Vet. Clin. Pathol.* 38, 392–396 (2009).
46. Tipold, A., Pfister, H., Zurbriggen, A. & Vandeveld, M. Intrathecal synthesis of major immunoglobulin classes in inflammatory diseases of the canine CNS. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 42, 149–159 (1994).
47. Tipold, A. Diagnosis of inflammatory and infectious diseases of the central nervous system in dogs: a retrospective study. *J. Vet. Intern. Med.* 9, 304–14 (1995).
48. Chrisman, C. Cerebrospinal fluid analysis. *Vet. Clin. North Am. - Small Anim. Pract.* 781–810 (1992).

49. Sorjonen, D. Total protein, albumin quota, and electrophoretic patterns in cerebrospinal fluid of dogs with central nervous system disorders. *Am. J. Vet. Res.* 48, 301–305 (1987).
50. Oji, T., Kamishina, H., Cheeseman, J. A. & Clemmons, R. M. Measurement of myelin basic protein in the cerebrospinal fluid of dogs with degenerative myelopathy. *Vet. Clin. Pathol.* 36, 281–284 (2007).
51. Desnoyers, M., Bédard, C., Meinkoth, J. & Crystal, M. en *Diagnostic cytology and hematology of the dog and the cat*. 215–234 (Mosby- Elsevier, 2008).
52. Cook et al. Cerebrospinal fluid. *Vet. Clin. North Am. - Small Anim. Pract.* 18, 475–499 (1988).
53. Levine, G. J. *et al.* Relationships between cerebrospinal fluid characteristics , injury severity , and functional outcome in dogs with and without intervertebral disk herniation. *Vet. Clin. Pathol.* 3, 437–446 (2014).
54. Thomson, C., Kornegay, J. & Stevens, J. Canine intervertebral disk disease: changes in the cerebrospinal fluid. *J. Small Anim. Pract.* 30, 685–688 (1989).
55. Bartholomew, K. A., Stover, K. E., Olby, N. J. & Moore, S. A. Clinical characteristics of canine fibrocartilaginous embolic myelopathy (FCE): a systematic review of 393 cases (1973–2013). *Vet. Rec.* 179, 650 (2016).
56. Reiber, H. Cerebrospinal fluid data compilation and knowledge-based interpretation of bacterial , viral , parasitic , oncological , chronic inflammatory and demyelinating diseases . Diagnostic patterns not to be missed in neurology and psychiatry. *Arq. Neuropsiquiatr.* 47, 337–350 (2016).
57. Long, S. N., Johnston, P. E. & Anderson, T. J. Primary T-cell lymphoma of the central nervous system in a dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 218, 719–722 (2001).
58. Vandeveld, M. & Jaggy, A. Neurological manifestations of canine distemper virus infection. *J. Small Anim. Pract.* 33, 466–470 (1992).
59. Munana, K. & Luttgen, P. Prognostic factors for dogs with granulomatous meningoencephalomyelitis: 42 cases (1982–1996). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 212, 1902–1906 (1998).

60. Granger, N., Smith, P. M. & Jeffery, N. D. Clinical findings and treatment of non-infectious meningoencephalomyelitis in dogs: A systematic review of 457 published cases from 1962 to 2008. *Vet. J.* 184, 290–297 (2010).
61. Tipold, a. & Schatzberg, S. J. An update on steroid responsive meningitis-arteritis. *J. Small Anim. Pract.* 51, 150–154 (2010).
62. Radaelli, S. T. & Platt, S. R. Bacterial meningoencephalomyelitis in dogs: a retrospective study of 23 cases (1990-1999). *J. Vet. Intern. Med.* 16, 159–163 (2002).
63. Vandeveld, M. & Spano, J. Cerebrospinal fluid cytology in canine neurologic disease. *Am. J. Vet. Res.* 38, 1827–1832 (1977).
64. Lyon, C. Update on the Diagnosis and management of *Neospora caninum* infections in dogs. *Top. Companion Anim. Med.* 25, 170–175 (2010).
65. Olivier, A. K., Parkes, J. D., Flaherty, H. a, Kline, K. L. & Haynes, J. S. Idiopathic eosinophilic meningoencephalomyelitis in a Rottweiler dog. *J. Vet. diagnostic. Investig.* 22, 646–648 (2010).
66. Vaagenes, P. *et al.* Brain enzyme levels in CSF after cardiac arrest and resuscitation in dogs: markers of damage and predictors of outcome. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 8, 262–275 (1988).
67. Ellenberger, C., Mevissen, M., Doherr, M., Scholtysik, G. & Jaggy, A. Inhibitory and excitatory neurotransmitters in the cerebrospinal fluid of epileptic dogs. *Am. J. Vet. Res.* 65, 1108–1113 (2004).
68. Sturges, B. K. *et al.* 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 (2006).
69. Ennis, M. M. D., Earce, L. K. P. & Orrdin, R. W. N. Bacterial meningoencephalitis and ventriculitis due to migrating plant foreign bodies in three dogs. *Vet. Pathol.* 42, 840–844 (2005).
70. Cizinauskas, S., Tipold, a, Fatzer, R., Burnens, a & Jaggy, a. Streptococcal meningoencephalomyelitis in 3 dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 15, 157–161 (2001).

71. Couto, S. S., Dickinson, P. J., Jang, S. & Munson, L. Pyogranulomatous meningoencephalitis due to *Actinomyces* sp. in a dog. *Vet. Pathol.* 37, 650–2 (2000).
72. Muñoz-Gómez, S., Wirkowski, E. & Cunha, B. A. Post craniotomy extra-ventricular drain (EVD) associated nosocomial meningitis : CSF diagnostic criteria. *Heart Lung.* 44, 158–160 (2015).
73. Wisner, E. & Zwingenberger, A. en *Atlas of Small Animal CT and MRI.* 197- 221 (Wiley Blackwell, 2015).
74. Viallon, A., Botelho-nevers, E. & Zeni, F. Clinical decision rules for acute bacterial meningitis : current insights. *Crit. Care.* 15, 7–16 (2016).
75. Meric, S. M. Canine meningitis. A changing emphasis. *J. Vet. Med. Sci.* 2, 26–35 (1988).
76. Han, J. I., Chang, D. W. & Na, K. J. A multiplex quantitative real-time polymerase chain reaction panel for detecting neurologic pathogens in dogs with meningoencephalitis. *J. Vet. Sci.* 16, 341–347 (2015).
77. Headley, S. A. *et al.* *Cryptococcus gattii*-induced infections in dogs from Southern Brazil. *Mycopathologia.* 180, 265–275 (2015).
78. Taylor, A. R. *et al.* Clinical features and magnetic resonance imaging findings in 7 dogs with central nervous system aspergillosis. *J. Vet. Intern. Med.* 29, 1556–1563 (2015).
79. Lipitz, L., Rylander, H., Forrest, L. J. & Foy, D. S. Clinical and magnetic resonance imaging features of central nervous system blastomycosis in 4 dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 24, 1509–1514 (2010).
80. Schatzberg, S. J. *et al.* Broadly reactive pan-paramyxovirus reverse transcription polymerase chain reaction and sequence analysis for the detection of Canine distemper virus in a case of canine meningoencephalitis of unknown etiology. *J. Vet. Diagnostic. Investig.* 21, 844–849 (2009).
81. Soma, T. *et al.* Canine distemper virus antibody test alone increases misdiagnosis of distemper encephalitis. *Vet. Rec.* 173, 477–477 (2013).
82. Koutinas, a. F., Polizopoulou, Z. S., Baumgaertner, W., Lekkas, S. & Kontos, V. Relation of clinical signs to pathological changes in 19 cases of canine distemper encephalomyelitis. *J. Comp. Pathol.* 126, 47–56 (2002).

83. Vite, C. Inflammatory diseases of the central nervous system. *Braund ' s clinical neurology in small animals : localization , diagnosis and treatment*. 260–292 (2003) en <www.ivis.org>
84. Schatzberg, S. J. *et al.* Polymerase Chain Reaction (PCR) amplification of parvoviral dna from the brains of dogs and cats with cerebellar hypoplasia. *J. Vet. Intern. Med.* 17, 538–544 (2003).
85. Lenghous, C. & Studdert, M. Generalized parvovirus disease in neonatal pups. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 181, 41–44 (1982).
86. Johnson BJ, C. A. Isolation of canine parvovirus from a dog brain with severe necrotizing vasculitis and encephalomalacia. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 184, 1398–1399 (1984).
87. Beckmann, K., Steffen, F., Ohlerth, S., Kircher, P. R. & Carrera, I. Three tesla magnetic resonance imaging findings in 12 cases of canine central european tick-borne meningoencephalomyelitis. *Vet. Radiol. Ultrasound.* 57, 41–48 (2016).
88. Barber, R. M. *et al.* Broadly reactive polymerase chain reaction for pathogen detection in canine granulomatous meningoencephalomyelitis and necrotizing meningoencephalitis. *J. Vet. Intern. Med.* 26, 962–968 (2012).
89. Muñana, K. R. Encephalitis and meningitis. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 26, 857–874 (1996).
90. Garosi, L. *et al.* Necrotizing cerebellitis and cerebellar atrophy caused by neospora caninum infection: magnetic resonance imaging and clinicopathologic findings in seven dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 24, 571–578 (2010).
91. Gallucci, A., Scarpa, F., Brachelente, C. & Gandini, G. Meningoencephalitis and cerebellitis due to Neospora caninum. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 247, 611–613 (2015).
92. Smith-Maxie, L. L., Parent, J. P., Rand, J., Wilcock, B. P. & Norris, Ai. M. Cerebrospinal fluid analysis and clinical outcome of eight dogs with eosinophilic meningoencephalomyelitis. *J. Vet. Intern. Med.* 3, 167–174 (1989).

93. Schatzberg, S. J., Haley, N. J., Barr, S. C., de Lahunta, A. & Sharp, N. J. H. Polymerase chain reaction screening for DNA viruses in paraffin-embedded brains from dogs with necrotizing meningoencephalitis, necrotizing leukoencephalitis, and granulomatous meningoencephalitis. *J. Vet. Intern. Med.* 19, 553–559 (2005).
94. Da Costa Oliveira, V. *et al.* Occurrence of *Leishmania infantum* in the central nervous system of naturally infected dogs: Parasite load, viability, co-infections and histological alterations. *PLoS One* 12, 1–15 (2017).
95. Giannuzzi, A. P., Ricciardi, M., De Simone, A. & Gernone, F. Neurological manifestations in dogs naturally infected by *Leishmania infantum*: descriptions of 10 cases and a review of the literature. *J. Small Anim. Pract.* 58, 125–138 (2017).
96. Márquez, M. *et al.* *Leishmania* amastigotes in the central nervous system of a naturally infected dog. *J. Vet. Diagn. Invest.* 25, 142–6 (2013).
97. José-López, R., De La Fuente, C. & Añor, S. Presumed brain infarctions in two dogs with systemic leishmaniasis. *J. Small Anim. Pract.* 53, 554–557 (2012).
98. Kaewmongkol, G. *et al.* First detection of *Ehrlichia canis* in cerebrospinal fluid from a nonthrombocytopenic dog with meningoencephalitis by broad-range PCR. *J. Vet. Intern. Med.* 30, 255–259 (2016).
99. Barber, R. M. *et al.* Evaluation of brain tissue or cerebrospinal fluid with broadly reactive polymerase chain reaction for Ehrlichia, Anaplasma, spotted fever group Rickettsia, Bartonella, and borrelia species in canine neurological diseases (109 cases). *J. Vet. Intern. Med.* 24, 372–378 (2010).
100. Coates, J. R. & Jeffery, N. D. Perspectives on meningoencephalomyelitis of unknown origin. *Vet. Clin. North Am. - Small Anim. Pract.* 44, 1157–1185 (2014).
101. Talarico, L. R. & Schatzberg, S. J. Idiopathic granulomatous and necrotising inflammatory disorders of the canine central nervous system: A review and future perspectives. *J. Small Anim. Pract.* 51, 138–149 (2010).
102. Hansson-Hamlin, H. & Lilliehöök, I. Steroid-responsive meningitis-arteritis in Nova Scotia duck tolling retrievers. *Vet. Rec.* 173, 527 (2013).
103. Tipold, a, Vandeveld, M. & Zurbriggen, a. Neuroimmunological studies in steroid-responsive meningitis-arteritis in dogs. *Res. Vet. Sci.* 58, 103–108 (1995).

104. Bathen-Noethen, A., Carlson, R., Menzel, D., Mischke, R. & Tipold, A. Concentrations of acute-phase proteins in dogs with steroid responsive meningitis-arteritis. *J. Vet. Intern. Med.* 22, 1149–1156 (2008).
105. Cizinauskas, S. Long-term treatment of dogs with steroid-responsive meningitis-arteritis: clinical, laboratory and therapeutic results. *J. Small Anim. Pract.* 41, 295–301 (2000).
106. Lowrie, M., Penderis, J., McLaughlin, M., Eckersall, P. D. & Anderson, T. J. Steroid responsive meningitis-arteritis: a prospective study of potential disease markers, prednisolone treatment, and long-term outcome in 20 dogs (2006–2008). *J. Vet. Intern. Med.* 23, 862–870 (2009).
107. Henke, D., Vandeveld, M., Gorgas, D., Lang, J. & Oevermann, A. Eosinophilic granulomatous meningoencephalitis in 2 young belgian tervueren shepherd dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 23, 206–210 (2009).
108. Salvadori, C., Baroni, M., Arispici, M. & Cantile, C. Magnetic resonance imaging and pathological findings in a case of canine idiopathic eosinophilic meningoencephalitis. *J. Small Anim. Pract.* 48, 466–469 (2007).
109. Yamaya, Y. *et al.* A case of shaker dog disease in a miniature dachshund. *J. Vet. Med. Sci.* 66, 1159–1160 (2004).
110. Bagley, R., Kornegay, J. & Wheeler, S. Generalized tremors in Maltese: clinical findings in seven cases. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 29, 141–145 (1993).
111. Wagner, S., Podell, M. & Fenner, W. Generalized tremors in dogs: 24 cases (1984–1995). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 731–735 (1997).
112. Shiel, R. E., Mooney, C. T., Brennan, S. F., Nolan, C. M. & Callanan, J. J. Clinical and clinicopathological features of non-suppurative meningoencephalitis in young greyhounds in Ireland. *Vet. Rec.* 167, 333–337 (2010).
113. Shiel, R. E., Kennedy, L. J., Nolan, C. M., Mooney, C. T. & Callanan, J. J. Major histocompatibility complex class II alleles and haplotypes associated with non-suppurative meningoencephalitis in greyhounds. *Tissue Antigens.* 84, 271–276 (2014).

114. Daly, P., Drudy, D., Chalmers, W. S. K. & Baxendale, W. Greyhound meningoencephalitis : PCR-based detection methods highlight an absence of the most likely primary inducing agents. *Vet. Microbiol.* 118, 189–200 (2006).
115. Terzo, E. *et al.* Unique topographic distribution of greyhound nonsuppurative meningoencephalitis. *Vet. Radiol. Ultrasound.* 53, 636–642 (2012).
116. Callanan, J. J. *et al.* A Novel Nonsuppurative meningoencephalitis in young greyhounds in Ireland. *Vet. Pathol.* 39, 56–65 (2002).
117. Koestner, A. & Zeman, W. Primary reticulosis of the central nervous system in dogs. *Am. J. Vet. Res.* 23, 381–383 (1962).
118. Braund, K., Vandeveld, M. & Walker, T. Granulomatous meningoencephalitis in six dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 172, 1195–1200 (1978).
119. Vandeveld, M., Fatze, R. & Fankhauser, R. Immunohistological studies on primary reticulosis of the canine brain. *Vet. Pathol.* 18, 577–588 (1981).
120. Thomas, J. & Eger, C. Granulomatous meningoencephalomyelitis in 21 dogs. *J. Small. Anim. Pr.* 30, 287–293 (1989).
121. Adamo, P., Adams, W. & Steinberg, H. Granulomatous Meningoencephalomyelitis in Dogs. *Compendium. Nv.* 678–690 (2007).
122. Kipar, A., Baumgartner, W. & Vogl, C. Immunohistochemical characterization of inflammatory cells in brains of dogs with granulomatous meningoencephalomyelitis. *Vet. Pathol.* 35, 45–52 (1998).
123. Matsuki, N., Fujiwara, K. & Tamahara, S. Prevalence of autoantibodies in cerebrospinal fluids from dogs with various CNS disease. *J. Vet. Med. Sci.* 66, 295–297 (2004).
124. Matsuki, N., Takahashi, M., Yaegashi, M., Tamahara, S. & Ono, K. Serial examinations of anti-GFAP autoantibodies in cerebrospinal fluids in canine necrotizing meningoencephalitis. *J. Vet. Med. Sci.* 71, 99–100 (2009).
125. Pellegrino, F., Suraniti, A. & Garibaldi, L. en *Síndromes neurológicas en perros y gatos.* 249–261 (Inter-Médica, 2001).
126. Stalis, I. H., Chadwick, B., Dayrell-Hart, B., Summers, B. a & Van Winkle, T. J. Necrotizing meningoencephalitis of Maltese dogs. *Vet. Pathol.* 32, 230–5 (1995).

127. Higgins, R. J. *et al.* Necrotizing meningoencephalitis in five Chihuahua dogs. *Vet. Pathol.* 45, 336–346 (2008).
128. Cantile, C., Chianini, F., Arispici, M. & Fatzer, R. Necrotizing meningoencephalitis associated with cortical hippocampal hamartia in a Pekingese dog. *Vet. Pathol.* 38, 119–22 (2001).
129. Cooper, J. J. *et al.* Necrotizing meningoencephalitis in atypical dog breeds: A case series and literature review. *J. Vet. Intern. Med.* 28, 198–203 (2014).
130. Estey, C., Scott, S. & Cerda-gonzalez, S. Necrotizing meningoencephalitis in a large mixed-breed dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 245, 1274–1278 (2014).
131. Levine, J. M., Fosgate, G. T., Porter, B., Schatzberg, S. J. & Greer, K. Epidemiology of necrotizing meningoencephalitis in pug dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 22, 961–968 (2008).
132. Higginbotham, M. J. Noninfectious inflammatory central nervous system diseases in dogs. *Compendium. Ag.* 488–498 (2007).
133. Barber, R. M. *et al.* Identification of risk Loci for necrotizing meningoencephalitis in pug dogs. *J. Hered.* 102 Suppl, S40–S46 (2011).
134. Uchida, K., Hasegawa, T. & Ikeda, M. Detection of an autoantibody from pug dogs with necrotizing encephalitis (pug dog encephalitis). *Vet. Pathol.* 36, 301–307 (1999).
135. Neilson, D. E. *et al.* Infection-triggered familial or recurrent cases of acute necrotizing encephalopathy caused by mutations in a component of the nuclear pore, RANBP2. *Am. J. Hum. Genet.* 84, 44–51 (2009).
136. Schrauwen, I. *et al.* Identification of novel genetic risk loci in maltese dogs with necrotizing meningoencephalitis and evidence of a shared genetic risk across toy dog breeds. *PLoS One* 9, (2014).
137. Cordy, D. R. & Holliday, T. A. A Necrotizing Meningoencephalitis of Pug Dogs. *Vet. Pathol.* 26, 191–194 (1989).
138. Tipold, A., Fatzer, R., Jaggy, A., Zurbriggen & Vandeveld, A. Necrotizing encephalitis in Yorkshire terriers. *J. Small Anim. Pr.* 34, 623–628 (1993).

139. Park, E. S., Uchida, K. & Nakayama, H. Comprehensive immunohistochemical studies on canine necrotizing meningoencephalitis (NME), necrotizing leukoencephalitis (NLE), and granulomatous meningoencephalomyelitis (GME). *Vet. Pathol.* 49, 682–692 (2012).
140. Park, E.-S., Uchida, K. & Nakayama, H. Th1-, Th2-, and Th17-related cytokine and chemokine receptor mRNA and protein expression in the brain tissues, T cells, and macrophages of dogs with necrotizing and granulomatous meningoencephalitis. *Vet. Pathol.* 50, 1127–34 (2013).
141. Timmann, D., Konar, M., Howard, J. & Vandeveld, M. Necrotising encephalitis in a French bulldog. *J. Small Anim. Pr.* 48, 339–342 (2007).
142. Spitzbarth, I., Schenk, H. C., Tipold, A. & Beineke, A. Immunohistochemical characterization of inflammatory and glial responses in a case of necrotizing leukoencephalitis in a French bulldog. *J. Comp. Pathol.* 142, 235–241 (2010).
143. Ryan, K. & Marks, S. L. Granulomatous meningoencephalomyelitis in dogs. *Compendium.Jl*, 644–651 (2001).
144. Kitagawa, M. *et al.* Ocular granulomatous meningoencephalomyelitis in a dog: magnetic resonance images and clinical findings. *J. Vet. Med. Sci.* 71, 233–7 (2009).
145. Demierre, S. *et al.* Correlation between the clinical course of granulomatous meningoencephalomyelitis in dogs and the extent of mast cell infiltration. *Vet. Rec.* 148, 467–472 (1998).
146. Kitagawa, M., Kanayama, K., Satoh, T. & Sakai, T. Cerebellar focal granulomatous meningoencephalitis in a dog : clinical findings and MR imaging. *J. Vet. Med.* 279, 277–279 (2004).
147. Fliegner, R., Holloway, S. & Slocombe, R. Granulomatous meningoencephalomyelitis with peripheral nervous system involvement in a dog. *Aust. Vet. J* 84, 358–361 (2006).
148. Bradley, G. a. Myocardial necrosis in a pug dog with necrotizing meningoencephalitis. *Vet. Pathol.* 28, 91–93 (1991).
149. Lezmi, S. *et al.* Severe necrotizing encephalitis in a yorkshire terrier : topographic and immunohistochemical study. *J. Vet. Med.* 190, 186–190 (2007).

150. Kuwamura, M. *et al.* Necrotising encephalitis in the Yorkshire terrier : a case report and. *J. Small Anim. Pract.* 43, 459–463 (2002).
151. Cordy, D. R. Canine granulomatous meningoencephalomyelitis. *Vet. Pathol.* 16, 325–33 (1979).
152. Coates, J. Granulomatous meningoencephalomyelitis. *Standars of care: Vetlearn.* 5, 1–4 (2003).
153. Lecouteur, R. A. Enfermedad inflamatoria cerebral en *Southern European Veterinary Conference* (2010).
154. Maeda, H., Ozaki, K., Horikiri, K. & Narama, I. Granulomatous leptomeningitis in beagle dogs. *Vet. Pathol.* 30, 566–73 (1993).
155. Friedenber, S. G. *et al.* Evaluation of a DLA-79 allele associated with multiple immune-mediated diseases in dogs. *Immunogenetics.* 68, 205–217 (2016).
156. Porter, B. F., Ambrus, a & Storts, R. W. Immunohistochemical evaluation of mx protein expression in canine encephalitides. *Vet. Pathol.* 43, 981–7 (2006).
157. Suzuki, M., Uchida, K., Morozumi, M., Hasegawa, T. & Yanai, T. A comparative pathological study on canine necrotizing meningoencephalitis and granulomatous meningoencephalomyelitis. *J. Vet. Med. Sci.* 65(11), 1233–1239, (2003).
158. Uchida, K., Park, E., Tsuboi, M., Chambers, J. K. & Nakayama, H. Pathological and immunological features of canine necrotising meningoencephalitis and granulomatous meningoencephalitis. *Vet. J.* 213, 72–77 (2016).
159. Cherubini, G. B. *et al.* Characteristics of magnetic resonance images of granulomatous meningoencephalomyelitis in 11 dogs. *Vet Rec.* 159, 110-115 (2006).
160. Kang, B.-T. *et al.* Correlation between fluorodeoxyglucose positron emission tomography and magnetic resonance imaging findings of non-suppurative meningoencephalitis in 5 dogs. *Can. Vet. J.* 51, 986–92 (2010).
161. Young, B. D. *et al.* Magnetic resonance imaging characteristics of necrotizing meningoencephalitis in pug dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 23, 527–535 (2009).

162. Young, B. D. *et al.* Comparison of two fat-suppressed magnetic resonance imaging pulse sequences to standard t2-weighted images for brain parenchymal contrast and lesion detection in dogs with inflammatory intracranial disease. *Vet. Radiol. Ultrasound.* 56, 204–211 (2015).
163. Lamb, C. R., Croson, P. J., Cappello, R. & Cherubini, G. B. Magnetic resonance imaging findings in 25 dogs with inflammatory cerebrospinal fluid. *Vet. Radiol. Ultrasound.* 46, 17–22 (2005).
164. Wolff, C. A. *et al.* Magnetic Resonance Imaging for the Differentiation of Neoplastic, Inflammatory, and Cerebrovascular Brain Disease in Dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 26, 589–597 (2012).
165. Young, B. D. *et al.* Evaluation of standard magnetic resonance characteristics used to differentiate neoplastic, inflammatory, and vascular brain lesions in dogs. *Vet. Radiol. Ultrasound.* 55, 399–406 (2014).
166. Lotti, D., Capucchio, M., Gaidolfi, E. & Merlo, M. Necrotizing encephalitis in a yorkshire terrier: clinical⁷ imaging, and pathologic findings. *Vet. Radiol. Ultrasound.* 40, 622–626 (1999).
167. Von Praun, F., Matiasek, K., Grevel, V., Alef, M. & Flegel, T. Magnetic resonance imaging and pathologic findings associated with necrotizing encephalitis in two Yorkshire. *Vet. Radiol. Ultrasound.* 47, 260–264 (2006).
168. Brunner, J. *et al.* Contrast media enhancement of intracranial lesions in magnetic resonance imaging does not reflect histopathologic findings consistently. *Vet. Radiol. Ultrasound.* 52, 619–626 (2011).
169. Dewey, W., Walker, A. & Coates, R. Computed tomography of necrotizing meningoencephalitis in 3 yorkshire terriers. *Vet. Radiol. Ultrasound.* 40, 617-21. (1999).
170. Eom, K. D. *et al.* Positron emission tomography features of canine necrotizing meningoencephalitis. *Vet. Radiol. Ultrasound.* 49, 595–599 (2008).
171. Shibuya, M., Matsuki, N., Fujiwara, K., Imajoh-ohmi, S. & Fukuda, H. Autoantibodies against Glial Fibrillary Acidic Protein (GFAP) in cerebrospinal fluids from pug dogs with necrotizing meningoencephalitis. *J. Vet. Med. Sci.* 69, 241–245.

172. Duque, C., Parent, J. & Bienzle, D. The immunophenotype of blood and cerebrospinal fluid mononuclear cells in dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 16, 714–719 (2002).
173. Koblik, P. D. *et al.* CT-guided brain biopsy using a modified Pelorus Mark III stereotactic system: experience with 50 dogs. *Vet. Radiol. Ultrasound.* 40, 434–40 (1999).
174. Moissonnier, P., Bordeau, W., Delisle, F. & Devauchelle, P. Accuracy testing of a new stereotactic CT -guided brain biopsy device in the dog. *Res. Vet. Sci.* 68, 243–7 (2000).
175. Flegel, T., Podell, M., March, P. A. & Chakeres, D. W. Use of a disposable real-time CT stereotactic navigator device for minimally invasive dog brain biopsy through a mini-burr hole. *Am. J. Neuroradiol.* 23, 1160–1163 (2002).
176. Giroux, A. *et al.* A new device for stereotactic CT-guided biopsy of the canine brain: Design, construction, and needle placement accuracy. *Vet. Radiol. Ultrasound.* 43, 229–236 (2002).
177. Chen, A. V. *et al.* Description and validation of a magnetic resonance imaging-guided stereotactic brain biopsy device in the dog. *Vet. Radiol. Ultrasound.* 53, 150–156 (2012).
178. Harari, J., Moore, M. & Leathers, C. Computed tomographic-guided free-hand needle biopsy of brain tumors in dogs. *Prog. Vet. Neurol.* 4, 41–44 (1994).
179. Flegel, T., Oevermann, a. & Matiasek, K. Diagnostic yield and side effects of minimally invasive brain biopsies in 17 dogs with encephalitis. *J. Vet. Intern. Med.* 26, 969-976 (2012).
180. Klopp, L. S. & Ridgway, M. Use of an endoscope in minimally invasive lesion biopsy and removal within the skull and cranial vault in two dogs and one cat. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 234, 1573–1577 (2009).
181. Vernau, K., Higgins, R. & Bollen, A. Primary canine and feline nervous system tumors: Intraoperative diagnosis using the smear technique. *Vet. Pathol.* 38, 47–57 (2001).
182. Schatzberg, S. & Nghiem, P. en *Small Animal Neurological Emergencies.* 341–363 (Manson Publishing, 2012).
183. Viviano, K. R. Update on immununosuppressive therapies for dogs and cats. *Vet. Clin. North Am. - Small Anim. Pract.* 43, 1149–1170 (2013).

184. Thacker, E. L. Immunomodulators, immunostimulants, and immunotherapies in small animal veterinary medicine. *Vet. Clin. North Am. - Small Anim. Pract.* 40, 473–483 (2010).
185. Adamo, F. & O'Brien, R. Use of cyclosporine to treat granulomatous meningoencephalitis in three dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 225, 1211–1216 (2004).
186. Adamo, P., Rylander, H. & Adams, W. Ciclosporin use in multidrug therapy for meningoencephalomyelitis of unknown aetiology in dogs. *J. Small Anim. Pract.* 48, 486–496 (2007).
187. Pellegrino, F. C. Enfermedades inflamatorias no infecciosas encefálicas. *Neurovet* 82–104 (2014) en <<https://www.researchgate.net/publication/260290352>>
188. Scott-Moncrieff, J. *et al.* Plasma and cerebrospinal fluid pharmacokinetics of cytosine arabinoside in dogs. *Cancer. Chemother. Pharmacol.* 29, 13–18 (1991).
189. Crook, K. I. *et al.* The pharmacokinetics of cytarabine in dogs when administered via subcutaneous and continuous intravenous infusion routes. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 36, 408–411 (2012).
190. Hart, S. K., Hons, B. & Waddell, L. Suspected drug-induced infiltrative lung disease culminating in acute respiratory failure in a dog treated with cytarabine and prednisone. *J. Vet. Emerg. Crit. Care.* 26, 844–850 (2016).
191. Coates, J. R. *et al.* Procarbazine as adjunctive therapy for treatment of dogs with presumptive antemortem diagnosis of granulomatous meningoencephalomyelitis: 21 cases (1998–2004). *J. Vet. Intern. Med.* 21, 100–106 (2007).
192. Plumb, D. *Veterinary Drug Handbook.* (Blackwell Publishing, 2008).
193. Gregory, C. R. *et al.* Leflunomide effectively treats naturally occurring immune-mediated and inflammatory diseases of dogs that are unresponsive to conventional therapy. *Transplant. Proc.* 30, 4143–4148 (1998).
194. Lujan Feliu-Pascual, A. *et al.* Efficacy of Mycophenolate Mofetil for the treatment of presumptive granulomatous meningoencephalomyelitis: preliminary results en *Proceedings of the 20th ECVN Congress Journal of Veterinary Internal Medicine* 509 (2008).

195. Barnoon, I. *et al.* Retrospective evaluation of combined mycophenolate mofetil and prednisone treatment for meningoencephalomyelitis of unknown etiology in dogs : 25 cases (2005 – 2011). *J. Vet. Emerg. Crit. Care.* 26, 116–124 (2016).
196. Wong, M. a, Hopkins, A. L., Meeks, J. C. & Clarke, J. D. Evaluation of treatment with a combination of azathioprine and prednisone in dogs with meningoencephalomyelitis of undetermined etiology: 40 cases (2000-2007). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 237, 929–935 (2010).
197. Uriarte, A., Thibaud, J. & Gnirs, K. Lomustine treatment in non-infectious meningoencephalitis in 8 dogs en *Proceedings. 20th Annu Symp Eur Soc Coll Vet Neurol* 75 (2007).
198. Flegel, T., Bottcher, I., Matiasek, K. & Henke, D. Treatment of immune-mediated noninfectious encephalitis: alternative lomustine. in *20th Annual Symposium of the European College of Veterinary Neurology* (2008).
199. Flegel, T. *et al.* Comparison of oral administration of lomustine and prednisolone or prednisolone alone as treatment for granulomatous meningoencephalomyelitis or necrotizing encephalitis in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 238, 337–345 (2011).
200. Smith, P. M., Stalin, C. E., Shaw, D., Granger, N. & Jeffery, N. D. Comparison of two regimens for the treatment of meningoencephalomyelitis of unknown etiology. *J. Vet. Intern. Med.* 23, 520–526 (2009).
201. Evans, S. M. *et al.* Radiation therapy of canine brain masses. *J. Vet. Intern. Med.* 7, 216–9 (1993).
202. Beckmann, K. *et al.* A newly designed radiation therapy protocol in combination with prednisolone as treatment for meningoencephalitis of unknown origin in dogs: a prospective pilot study introducing magnetic resonance spectroscopy as monitor tool. *Acta. Vet. Scand.* 57, 4 (2015).
203. Zeira, O. *et al.* Adult autologous mesenchymal stem cells for the treatment of suspected non-infectious inflammatory diseases of the canine central nervous system: safety, feasibility and preliminary clinical findings. *J. Neuroinflammation.* 12, 181 (2015).

204. Nuhsbaum, M. T., Powell, C. C., Gionfriddo, J. R., Cuddon, P. A. & Powell, C. C. Treatment of granulomatous meningoencephalomyelitis in a dog. *Vet. Ophthalmol.* 5, 29–33 (2002).
205. Zarfoss, M. *et al.* Combined cytosine arabinoside and prednisone therapy for meningoencephalitis of unknown aetiology in 10 dogs. *J. Small Anim. Pract.* 47, 588–595 (2006).
206. Menaut, P., Landart, J., Behr, S., Lanore, D. & Trumel, C. Treatment of 11 dogs with meningoencephalomyelitis of unknown origin with a combination of prednisolone and cytosine arabinoside. *Vet. Rec.* 162, 241–256 (2008).
207. Behr, S. & Radaelli, S. T. Treatment of meningoencephalitis of unknown origin in a dog. *Vet. Rec.* 164, 627–629 (2009).
208. Lowrie, M., Smith, P. M. & Garosi, L. Meningoencephalitis of unknown origin: investigation of prognostic factors and outcome using a standard treatment protocol. *Vet. Rec.* 172, 527 (2013).
209. Lowrie, M., Thomson, S., Smith, P. & Garosi, L. Effect of a constant rate infusion of cytosine arabinoside on mortality in dogs with meningoencephalitis of unknown origin. *Vet. J.* 213, 1–5 (2016).
210. Gnirs, K. Ciclosporin treatment of suspected granulomatous meningoencephalomyelitis in three dogs. *J. Small. Anim. Pract.* 47, 201–206 (2006).
211. Pakozdy, A. *et al.* SHORT COMMUNICATIONS dogs with suspected GME treated with ciclosporin. *Vet. Rec.* 164, 89–91 (2009).
212. Laupacies, A., Welles, G., Richardson, W. & Tugwell, P. Users guides to the medical literature. How to use an articles about prognosis. *JAMA.* 272, 234–237 (1994).
213. Díaz Novás, J. & Rosa Gallego, B. El pronóstico. *Rev Cuba. Med. Gen. Integr.* en <<http://scielo.sld.cu>> (2004).
214. Bateman, S. & Parent, J. Clinical findings, treatment, and outcome of dogs with status epilepticus or cluster seizures: 156 cases(1990-1995). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 215, 1463–1468 (1999).

215. Cornelis, I., Volk, H. A. & Decker, S. De. Clinical presentation, diagnostic findings and long-term survival in large breed dogs with meningoencephalitis of unknown aetiology *Vet. Rec.* 179, 147- 152 (2016).
216. Cornelis, I., Volk, H. A., Ham, L. Van & Decker, S. De. Prognostic factors for 1-week survival in dogs diagnosed with meningoencephalitis of unknown aetiology. *Vet. J.* 214, 91–95 (2016).
217. Oliphant, B. J., Barnes Heller, H. L. & White, J. M. Retrospective study evaluating associations between midline brain shift on magnetic resonance imaging and survival in dogs diagnosed with meningoencephalitis of unknown etiology. *Vet. Radiol. Ultrasound.* 58, 38-43 (2016).
218. González-Buitrago, J., Ferreira, L. & Muñiz, C. Proteómica clínica y nuevos biomarcadores en los líquidos biológicos. *Med Clin* 131, 426–434 (2008).
219. Atkinson A.J., J. *et al.* Biomarkers and surrogate endpoints: Preferred definitions and conceptual framework. *Clin. Pharmacol. Ther.* 69, 89–95 (2001).
220. Richter, W. Imaging biomarkers as surrogate endpoints for drug development. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 33, S6– S10 (2006).
221. Mart, M. Biomarcadores en la enfermedad de Alzheimer : definición , significación diagnóstica y utilidad clínica. *Psicogeriatría.* 1, 101–114 (2009).
222. Strimbu, K. & Tavel, J. a. What are Biomarkers? *Curr. Opin. HIV AIDS.* 5, 463–466 (2011).
223. Bowser, R., Cudkowicz, M. & Kaddurah-daouk, R. Biomarkers for amyotrophic lateral sclerosis Amyotrophic. *Expert .Rev. Mol. Diagn.* 6, 387–398 (2006).
224. Stewart, R. O. B. *et al.* Identification of candidate biomarkers of brain damage in a mouse model of closed head injury : a metabolomic pilot study. *Metabolomics.* 12, 1–13 (2016).
225. Wu, J. *et al.* NMR analysis of the CSF and plasma metabolome of rigorously matched amyotrophic lateral sclerosis , Parkinson ' s disease and control subjects. *Metabolomics.* 12, 1–13 (2016).

226. González Domínguez, R. Desarrollo de métodos analíticos metabolómicos y metalómicos para el estudio de la enfermedad de Alzheimer: diseño de nuevos biomarcadores químicos de diagnóstico. (Universidad de Huelva; Ciencia y tecnología clínica. 2015).
227. Hassan-smith, G., Wallace, G. R., Douglas, M. R. & Sinclair, A. J. The role of metabolomics in neurological disease. *J. Neuroimmunol.* 248, 48–52 (2012).
228. Londoño, A., Arbeláez, A. & Ascencio, J. L. Resonancia magnética en el estudio de las enfermedades del sistema nervioso central. *Acta. Neurolo. Colomb.* 22, 42–54 (2006).
229. Smith, D. *et al.* Lactate: a preferred fuel for human brain metabolism in vivo. *J. Cereb. Blood. Flow. Metab.* 23, 658–664 (2003).
230. Kruse, J. & Carlson, R. Lactate metabolism. *Crit. Care. Clin.* 5, 725–746 (1987).
231. Guyton, A. & Hall, J. en *Textbook of Medical Physiology.* 772–780 (Ediciones WB Saunders, 2000).
232. Allen, S. E. & Holm, J. L. Lactate: Physiology and clinical utility. *J. Vet. Emerg. Crit. Care* 18, 123–132 (2008).
233. Karagiannis, M. H., Reniker, A. N. & Mann, F. a. Lactate Measurement as an Indicator of Perfusion. *Compendium.* 287–300 (2006).
234. Poole, R. & Halestrap, A. Transport of lactate and other monocarboxylates across mammalian plasma membranes. *Am. J. Physiol.* 264, 761–782 (1993).
235. Lagutchik, M. S., Ogilvie, G. K., Wingfield, W. E. & Hackett, T. B. Lactate kinetics in veterinary critical care: a review. *J. Vet. Emerg. Crit. Care* 6, 81–95. (1996).
236. Moore, J., Owen, R. & Lumsden, J. Clinical evaluation of blood lactate levels in equine. *Equine. Vet. J.* 8, 49–54 (1976).
237. Furr, M., Lessard, P. & White, N. Development of a colic severity score for predicting the outcome of equine colic. *Vet. Surg.* 24, 97–101 (1995).
238. Lofstedt, J., Dohoo, I. & Duizer, G. Model to predict septicemia in diarrheic calves. *Vet. Intern. Med.* 13, 81 (1999).

239. Knaus, W., Draper, E. & Wagner, D. APACHE II: A severity of disease classification system. *Crit. Care.* 13, 818–829 (1985).
240. Horwich, T., Fonarow, G. & Hamilton, M. Anemia is associated with worse symptoms, greater impairment in function capacity and a significant increase in mortality in patients with advanced cardiac failure. *J. Am. Coll. Cardiol.* 39, 1780–1786 (2002).
241. Luft, F. Lactic acidosis update for critical care clinicians. *J. Am. Soc. Nephrol.* 12, 15–19. (2001).
242. Hughes, D., Rozanski, E. & Shofer, F. Effect of sampling site, repeated sampling, pH, and PCO₂ on plasma lactate concentration in healthy dogs. *Am. J. Vet. Res.* 60, 521–524 (1999).
243. Stevenson, C. K. *et al.* Serial blood lactate concentrations in systemically ill dogs. *Vet. Clin. Pathol.* 36, 234–239 (2007).
244. Mizoc, B. Lactate and point-of-care testing. *Crit. Care. Med.* 26, 1474–1476 (1998).
245. Gillespie, Í., Rosenstein, P. G. & Hughes, D. Update: Clinical Use of Plasma Lactate. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 47, 325–342 (2016).
246. Green, T. I., Tonozzi, C. C., Kirby, R. & Rudloff, E. Evaluation of initial plasma lactate values as a predictor of gastric necrosis and initial and subsequent plasma lactate values as a predictor of survival in dogs with gastric dilatation-volvulus: 84 dogs (2003–2007). *J. Vet. Emerg. Crit. Care.* 21, 36–44 (2011).
247. Cortellini, S., Seth, M. & Kellett-gregory, L. M. Plasma lactate concentrations in septic peritonitis : A retrospective study of 83 dogs (2007 – 2012). *J. Vet. Emerg. Crit. Care.* 25, 388–395 (2015).
248. Hagman, R., Reezigt, B., Bergström, L. & Karlstam, E. Blood lactate levels in 31 female dogs with pyometra. *Acta. Vet. Scand.* 51, (2009).
249. Holahan, M., Brown, A. & Drobatz, K. Retrospective Study: The association of blood lactate concentration with outcome in dogs with idiopathic immune-mediated hemolytic anemia: 173 cases (2003–2006). *J. Vet. Emerg. Crit. Care.* 20, 413–420 (2010).
250. Nel, M., Remo, G., Keller, N. & Thompson, P. Prognostic value of blood lactate, blood glucose and hematocrit in canine babesiosis. *J. Vet. Inter. Med.* 18, 471–476 (2004).

251. Bonczynski, J., Ludwig, L. & Barton, L. Comparison of peritoneal fluid and peripheral blood pH, bicarbonate, glucose and lactate concentrations as a diagnostic tool for septic peritonitis in dogs and cats. *Vet. Surg.* 32, 161–166 (2003).
252. De Laforcade, A., Freeman, L. & Rozanski, E. Biochemical analysis of pericardial fluid and whole blood in dogs with pericardial effusion. *J. Vet. Intern. Med.* 19, 833–836. (2005).
253. Ronquist, G., Callerud, T., Niklasson, F. & Friman, G. Studies of Biochemical Markers in Cerebrospinal-Fluid in Patients with Meningoencephalitis. *Infect. and Immun.* 48, 729–734 (1985).
254. Watson, M. & Scott, M. Clinical utility of biochemical analysis of cerebrospinal fluid. *Clin. Chem.* 41, 343–360 (1995).
255. Sullivan, L. a., Campbell, V. L., Klopp, L. S. & Rao, S. Blood lactate concentrations in anesthetized dogs with intracranial disease. *J. Vet. Intern. Med.* 23, 488–492 (2009).
256. Zhang, W. M. & Natowicz, M. R. Cerebrospinal fluid lactate and pyruvate concentrations and their ratio. *Clin. Biochem.* 46, 694–697 (2013).
257. Leen, W. G., Willemsen, M. a., Wevers, R. a. & Verbeek, M. M. Cerebrospinal fluid glucose and lactate: Age-specific reference values and implications for clinical practice. *PLoS One* 7, (2012).
258. Viallon, A., Desseigne, N. & Marjollet, O. Meningitis in adult patients with a negative direct cerebrospinal fluid examination: value of cytochemical markers for differential diagnosis. *Crit Care.* 15, R136 (2011).
259. De Almeida, S. M. *et al.* Quantitation of cerebrospinal fluid lactic acid in infectious and non-infectious neurological diseases. *Clin. Chem. Lab. Med.* 47, 755–761 (2009).
260. Toczyłowska, B., Chalimoniuk, M., Wodowska, M. & Mayzner-Zawadzka, E. Changes in concentration of cerebrospinal fluid components in patients with traumatic brain injury. *Brain Res.* 1104, 183–189 (2006).
261. Albanese, M. *et al.* Cerebrospinal fluid lactate is associated with multiple sclerosis disease progression. *J. Neuroinflammation.* 13, 1–7 (2016).

262. Lobert, V., Mischke, R. & Tipold, A. Lactate and pyruvate levels in blood and cerebrospinal fluid. *Kleintierpraxis*. 48, 735–740 (2003).
263. Pugliese, M. *et al.* Severe cognitive impairment correlates with higher cerebrospinal fluid levels of lactate and pyruvate in a canine model of senile dementia. *Prog. Neuro-Psychopharmacology Biol. Psychiatry*. 29, 603–610 (2005).
264. Taggart, R. & Maxwell, M. Evaluation of cerebrospinal fluid lactate and glucose levels in acute canine intervertebral disc disease en *Research Abstract Program of the 2010 ACVIM Forum* 24, 740 (2011).
265. Witsberger, T. H. *et al.* Associations between cerebrospinal fluid biomarkers and long-term neurologic outcome in dogs with acute intervertebral disk herniation. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 240, 555–562 (2012).
266. Galán-Rodríguez, A. *et al.* Cerebrospinal fluid lactate and pyruvate concentrations and ratio in healthy adult dogs. *Clin. Biochem.* 46, 694–697 (2013).
267. Galan, A. *et al.* Comparative study of select biochemical markers in cerebrospinal fluid of healthy dogs before and after treatment with nutraceuticals. *Vet. Clin. Pathol.* 43, 72–77 (2013).
268. Caines, D. *et al.* Evaluation of cerebrospinal fluid lactate and plasma lactate concentrations in anesthetized dogs with and without intracranial disease. *Can. J. Vet. Res.* 77, 297–302 (2013).
269. Musteata, M., Nicolescu, A., Solcan, G. & Deleanu, C. The ^1H NMR profile of healthy dog cerebrospinal fluid. *PLoS One*. 8, 12–14 (2013).
270. Nemoto, E. M., Hoff, J. T. & Severinghaus, J. W. Lactate uptake and metabolism by brain during hyperlactatemia and hypoglycemia. *Stroke*. 5, 48–53 (1974).
271. Sugi, T., Fujishima, M. & Omae, T. Lactate and pyruvate concentrations, and acid-base balance of cerebrospinal fluid in experimentally induced intracerebral and subarachnoid hemorrhage in dogs. *Stroke*. 6, 715–719 (1975).
272. Bashar, A. H. M. *et al.* Changes in cerebrospinal fluid and blood lactate concentrations after stent-graft implantation at critical aortic segment: a preliminary study. *Interact. Cardiovasc. Thorac. Surg.* 7, 262–266 (2008).

273. Richter, H., Beckmann, K., Meier, D., Dennler, M. & Kircher, P. R. Evaluation of intracranial neoplasia and noninfectious meningoencephalitis in dogs by use of short echo time, single voxel proton magnetic resonance spectroscopy at 3.0 Tesla. *Am. J. Vet. Res.* 77, 452–462 (2016).
274. Martínez, M. A., Florenzano, N. V & Macchia, E. A. Metabolismo del N-acetil-L-aspartato : valor diagnóstico y pronóstico. *Rev. Neurol.* 62, 361–370 (2016).
275. Tallan, H. & Moore, S. Studies on the free amino acids and related compounds in the tissues of the cat. *J. Biol. Chem.* 211, 927–939 (1954).
276. Tallan, H. & Moore, S. N-acetyl-L-aspartic acid in brain. *J. Biol. Chem.* 219, 257–264 (1956).
277. Baslow, M. N-acetylaspartate in the vertebrate brain: metabolism and function. *Neurochem. Res.* 28, 9419–53 (2003).
278. Baslow, M. Brain N-acetylaspartate as a molecular water pump and its role in the etiology of Canavan disease: a mechanistic explanation. *J. Mol. Neurosci.* 21, 185–190 (2003).
279. Bianchi, M. *et al.* Proton MR spectroscopy of mitochondrial diseases: analysis of brain metabolic abnormalities and their possible diagnostic relevance. *Am. J. Neuroradiol.* 24, 1958–1966 (2003).
280. Lukasiuk, K. & Becker, A. J. Molecular Biomarkers of Epileptogenesis. *Neurotherapeutics.* 11, 319–323 (2014).
281. Jacobson, B. Studies on the role of N-acetylaspartic acid in mammalian brain. *J. Gen. Physiol.* 43, 323–333 (1959).
282. Martinot del Pozo, C. & Martinot- Luyo, C. Espectroscopia de resonancia magnética. *Rev. Per. Neurol.* 7, (2001).
283. Carrera, I. *et al.* In vivo proton magnetic resonance spectroscopy for the evaluation of hepatic encephalopathy in dogs. *Am. J. Vet. Res.* 75, 818- 827 (2014).

284. LLufriu Duran, S. Estudios de resonancia magnética y técnicas electrofisiológicas para evaluar y predecir la discapacidad en pacientes con esclerosis múltiple Estudios de resonancia magnética y técnicas electrofisiológicas para evaluar y predecir la discapacidad en pacient. (Universitat de Barcelona; Facultat Medicina. 2013).
285. Alonso, J. & Gili, J. en *Espectroscopia clínica* 18.1– 18.12 (1998).
286. Majós, C. Espectroscopia por resonancia magnética de protón en el diagnóstico de tumores cerebrales. *Radiologia*. 47, 1–12 (2005).
287. Sgarbi, N. Infecciones del sistema nervioso : nuevas herramientas diagnósticas. *Rev. Argentina Radiol*. 79, 12–31 (2016).
288. Chang, L., Ernst, T. & Leonido-Yee, M. Cerebral metabolite abnormalities correlate with clinical severity of HIV-1 cognitive motor complex. *Neurology*.52, 100–108 (1999).
289. Hattingen, E., Raab, P. & Franz, K. Prognostic value of choline and creatine in WHO grade II gliomas. *Neuroradiology*. 50, 759–767 (2008).
290. Gill, S. *et al*. Brain metabolites as ^1H NMR markers of neuronal and glial disorders. *NMR Biomed*. 2, 196–200 (1989).
291. Liguori, C. *et al*. Cerebrospinal fluid lactate levels and brain [^{18}F] FDG PET hypometabolism within the default mode network in Alzheimer ' s disease. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* (2016).
292. Zahr, N. M., Mayer, D., Rohlfing, T., Sullivan, E. V & Pfefferbaum, A. Imaging Neuroinflammation ? A Perspective from MR Spectroscopy. *Brain Pathol*. 24, 654–664 (2014).
293. Barkhof, F. & Walderveen, M. Van. Characterization of tissue damage in multiple sclerosis by nuclear magnetic resonance. *Phil. Trans. R. Soc. L*. 354, 1675–1686 (1999).
294. Smolinska, A. *et al*. NMR and Pattern Recognition Can Distinguish Neuroinflammation and Peripheral Inflammation. *J. Proteome Res*. 10, 4428–4438 (2011).
295. Lynch, K. & Brien, R. O. H Magnetic resonance spectroscopy : A review of the current literature and its potential utility in veterinary oncology. *Vet. J*. 200, 240–247 (2014).

296. Bitsch, A., Bruhn, H. & Vougioukas, V. Inflammatory CNS demyelination: histopathologic correlation with in vivo quantitative proton MR spectroscopy. *Am. J. Neuroradiol.* 20, 1619–1627 (1999).
297. Wenxue, C. *et al.* Grade classification of neuroepithelial tumors using high-resolution magic-angle spinning proton nuclear magnetic resonance spectroscopy and pattern recognition. *Sci. China Life Sci.* 54, 606–616 (2011).
298. Rijpkema, M., Schuurin, J. & Van der Meulen, Y. Characterization of oligodendrogliomas using short echo time 1H MR spectroscopic imaging. *NMR Biomed.* 16, 12–18 (2003).
299. Andrés, J. Espectroscopia de hidrógeno por resonancia magnética en resonadores clínicos y químicos de alto campo . Estudio de caracterización y seguimiento de tumores cerebrales. (Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, 2013).
300. Stadler, K., Christopher, P., Feeney, D. & Jessen, C. Multivoxel proton magnetic resonance spectroscopy of inflammatory and neoplastic lesions of the canine brain at 3.0 T. *Am. J. Vet. Res.* 75, 982–989 (2014).
301. Yue, Q., Isobe, T. & Shibata, Y. New observations concerning the interpretation of magnetic resonance spectroscopy of meningioma. *Eur. Radiol.* 18, 2901–2911. (2018).
302. Savic, I. *et al.* In vivo measurements of glutamine + glutamate (Glx) and N-acetyl aspartate (NAA) levels in human partial epilepsy. *Acta Neurol Scand.* 102, 179–188 (2000).
303. Mercier, P., Lewis, M. J., Chang, D., Baker, D. & Wishart, D. S. Towards automatic metabolomic profiling of high-resolution one-dimensional proton NMR spectra. *J Biomol NMR.* 307–323 (2011).
304. Manno, E. M. Metabolic Encephalopathies. *Vet. Clin. N. Am.- Small Anim. Pract.* 26, 153–161 (2012).
305. Warrington, C. *et al.* Relative metabolite concentrations and ratios determined by use of 3-T region specific proton magnetic resonance spectroscopy of the brain of healthy Beagles. *Am. J. Neuroradiol.* 74, 1291–1303 (2013).

306. Coen, M., Sullivan, M. O., Bubb, W. A., Kuchel, P. W. & Sorrell, T. Proton Nuclear Magnetic Resonance – based metabonomics for rapid diagnosis of meningitis and ventriculitis. *Clin. Infect. Dis.* 41, 1582-1590(2005).
307. Daniel, H., Somorjai, R. L., Himmelreich, U., Malik, R. & Ku, T. Rapid etiological classification of meningitis by NMR spectroscopy based on metabolite profiles and host response. *PLoS One* 4, 1–8 (2009).
308. Wu, Y. *et al.* Metabolic changes in early poststatus epilepticus measured by MR spectroscopy in rats. *J. Cereb. Blood. Flow. Metab.* 35, 1862–1870 (2015).
309. Pham, N.-T., Matsuki, N., Shibuya, M., Tamahara, S. & Ono, K. Impaired expression of excitatory amino acid transporter 2 (EAAT2) and glutamate homeostasis in canine necrotizing meningoencephalitis. *J. Vet. Med. Sci.* 70, 1071–5 (2008).
310. Wu, H., Jin, Y. & Wei, J. Mode of action of taurine as a neuroprotector. *Brain. Res.* 1038, 123– 131 (2015).
311. Stover, J., Morganti-Kosmann, MC Lenzlinger, P., Stocker, R., Kempfski, O. & Kossmann, T. Glutamate and taurine are increased in ventricular cerebrospinal fluid of severely brain injured patients. *J. Neurotrauma.* 16, 135-142 (1999).
312. Foos, T. & Wu, J. The role of taurine in the central nervous system and the modulation of intracellular calcium homeostasis. *Neurochem. Res.* 27, 21– 26 (2002).
313. Tomiyasu, M., Aida, N. & Watanabe, Y. Monitoring the brain metabolites of children with acute encephalopathy caused by the H1N1 virus responsible for the 2009 influenza pandemic: a quantitative in vivo ¹H MR spectroscopy study. *Magn. Reson. Imaging.* 30, 1527– 1533 (2012).
314. Rusbridge, C. *et al.* International Veterinary Epilepsy Task Force recommendations for a veterinary epilepsy-specific MRI protocol. *BMC Vet. Res.* 11, 194 (2015).
315. Potschka, H. *et al.* International veterinary epilepsy task force consensus proposal: outcome of therapeutic interventions in canine and feline epilepsy. *BMC Vet. Res.* 11, 177 (2015).

-
316. De Risio, L. International veterinary epilepsy task force consensus proposal: diagnostic approach to epilepsy in dogs. *BMC Vet. Res.* 11, 148 (2015).
317. Hülsmeier, V. I. *et al.* International Veterinary Epilepsy Task Force's current understanding of idiopathic epilepsy of genetic or suspected genetic origin in purebred dogs. *BMC Vet. Res.* 11, 175 (2015).
318. McMillan, M. & Brearley, J. Assessment of the variation in American Society of Anaesthesiologists Physical Status Classification assignment in small animal anaesthesia. *Vet. Anaesth. Analg.* 40, 229–236. (2013).
319. Morales, C. & Montoliu, P. en *Neurología Canina y Felina*. 189-207 (Multimédica, 2012).
320. Driver, C. J., Volk, H. A., Rusbridge, C. & Van Ham, L. M. An update on the pathogenesis of syringomyelia secondary to Chiari-like malformations in dogs. *Vet. J.* 198, 551–559 (2013).
321. Brand, A., Leibfritz, D. & Richter-Landsberg, C. Oxidative stress induced metabolic alterations in rat brain astrocytes studied by multinuclear NMR spectroscopy. *J Neurosci. Res.* 58, 576–585 (1999).

10 ABREVIATURAS

AJ: uniones adherentes o de anclaje
Ala: alanina
APCs: células presentadoras de antígenos
AQ: cociente albúmina
AST: aspartato amino transferasa
ATP: adenosina trifosfato
BHE: barrera hemato-encefálica
BMVEC: células del endotelio microvascular del cerebro
CCNU: lomustina
Cho: colina
CK: creatin kinasa
Cr: creatina
DLA II: antígeno canino leucocitario clase II
DS: desviación estándar
EI: epilepsia idiopática
FFE 3D: Fast Field Echo 3D
FLAIR: secuencias de anulación de fluido (*Fluid Attenuated Inversión Recovery*)
FNT: Factor Necrosis Tumoral
GABA: ácido gamma aminobutírico
Glu: glutamato
Gln: glutamina
¹H NMR: resonancia magnética nuclear realizada a través de la determinación del hidrógeno
IFN: interferón
Ig: inmunoglobulina
IL: interleukina
LCR: líquido cefalorraquídeo
LDH: lactato deshidrogenasa
LEN: leucoencefalitis necrotizante
LPS: lipopolisacáridos
L-SANG: lactato sanguíneo
L-LCR: lactato líquido cefalorraquídeo
MBP: proteína básica de mielina
MEG: meningoencefalomielitis granulomatosa
MEN: meningoencefalitis necrotizante
MHC: complejo mayor de histocompatibilidad

ml: mioinositol
MOD: meningoencefalomielitis de origen desconocido
NAA: N-acetil aspartato
NK: Natural Killers
NO: óxido nítrico
PAM: presión arterial media
PET-TC: tomografía por emisión de positrones
PIC: presión intracraneal
PPC: presión de perfusión cerebral
PPM: partes por millón
PGE₂: prostaglandina E₂
RM: resonancia magnética
RMN: resonancia magnética nuclear
RTCN: recuento total de células nucleadas
SE: *Spin-Echo*
SNA: sistema nervioso autónomo
SNC: sistema nervioso central
SRMA: meningitis arteritis que responden a esteroides
TC: tomografía axial computerizada
TCRs: receptores de células T
Tc: células T citotóxicas
Th: células T-helper
TJ: tight unions o uniones estrechas
TSE: *Turbo Spin-Echo*
UNV: unidad neurovascular

