

UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA



UNIVERSIDADE
DE LISBOA



DOENÇAS INFLAMATÓRIAS ENCEFÁLICAS DO CÃO: COMPARAÇÃO ENTRE A
IMAGEM DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA E A ANÁLISE DO LÍQUIDO
CEFALORRAQUIDIANO

JOANA LAMPREIA NUNES DIOGO

ORIENTADOR:
Doutor António José de Almeida
Ferreira
TUTOR:
Dr. Rui Pedro Lima Santos Mota

2022

UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

U LISBOA

UNIVERSIDADE
DE LISBOA



DOENÇAS INFLAMATÓRIAS ENCEFÁLICAS DO CÃO: COMPARAÇÃO ENTRE A
IMAGEM DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA E A ANÁLISE DO LÍQUIDO
CEFALORRAQUIDIANO

JOANA LAMPREIA NUNES DIOGO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

JÚRI

PRESIDENTE:

Doutora Maria Teresa da Costa
Mendes Vítor Villa de Brito

VOGAIS:

Doutor António José de Almeida
Ferreira
Doutora Maria Rita Martins Garcia
da Fonseca Pequito

ORIENTADOR:

Doutor António José de Almeida
Ferreira

TUTOR:

Dr. Rui Pedro Lima Santos Mota

DECLARAÇÃO RELATIVA ÀS CONDIÇÕES DE REPRODUÇÃO DA DISSERTAÇÃO

Nome: Joana Lampreia Nunes Diogo

Título da Tese ou Dissertação: doenças inflamatórias encefálicas do cão: comparação entre a imagem de ressonância magnética e a análise do líquido cefalorraquidiano.

Ano de conclusão (indicar o da data da realização das provas públicas):

2 de Junho de 2022

Designação do curso
de Mestrado ou de
Doutoramento:

Mestrado integrado em Medicina Veterinária

Área científica em que melhor se enquadra (assinale uma):

- Clínica Produção Animal e Segurança
Alimentar Sanidade Animal
 Morfologia e

Função

Declaro sobre compromisso de honra que a tese ou dissertação agora entregue corresponde à que foi aprovada pelo júri constituído pela Faculdade de Medicina Veterinária da ULISBOA.

Declaro que concedo à Faculdade de Medicina Veterinária e aos seus agentes uma licença não-exclusiva para arquivar e tornar acessível, nomeadamente através do seu repositório institucional, nas condições abaixo indicadas, a minha tese ou dissertação, no todo ou em parte, em suporte digital.

Declaro que autorizo a Faculdade de Medicina Veterinária a arquivar mais de uma cópia da tese ou dissertação e a, sem alterar o seu conteúdo, converter o documento entregue, para qualquer formato de ficheiro, meio ou suporte, para efeitos de preservação e acesso.

Retenho todos os direitos de autor relativos à tese ou dissertação, e o direito de a usar em trabalhos futuros (como artigos ou livros).

Concordo que a minha tese ou dissertação seja colocada no repositório da Faculdade de Medicina Veterinária com o seguinte estatuto (assinale um):

- Disponibilização imediata do conjunto do trabalho para acesso mundial;
- Disponibilização do conjunto do trabalho para acesso exclusivo na Faculdade de Medicina Veterinária durante o período de 6 meses, 12 meses, sendo que após o tempo assinalado autorizo o acesso mundial*;

* Indique o motivo do embargo (OBRIGATÓRIO)

Nos exemplares das dissertações de mestrado ou teses de doutoramento entregues para a prestação de provas na Universidade e dos quais é obrigatoriamente enviado um exemplar para depósito na Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa deve constar uma das seguintes declarações (incluir apenas uma das três):

- É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO INTEGRAL DESTA TESE/TRABALHO APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.
- É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO PARCIAL DESTA TESE/TRABALHO (indicar, caso tal seja necessário, nº máximo de páginas, ilustrações, gráficos, etc.) APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.
- DE ACORDO COM A LEGISLAÇÃO EM VIGOR, (indicar, caso tal seja necessário, nº máximo de páginas, ilustrações, gráficos, etc.) NÃO É PERMITIDA A REPRODUÇÃO DE QUALQUER PARTE DESTA TESE/TRABALHO.

Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, 02 de Junho de 2022

Assinatura: Joana Nunes Diogo

DOENÇAS INFLAMATÓRIAS ENCEFÁLICAS DO CÃO: COMPARAÇÃO ENTRE A IMAGEM DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA E A ANÁLISE DO LÍQUIDO CEFALORRAQUIDIANO

Resumo

As doenças inflamatórias do sistema nervoso central (SNC) podem ter uma etiologia infecciosa ou não infecciosa, sendo estas últimas mais frequentes na espécie canina. Este grupo de doenças inflamatórias não-infecciosas do SNC reúne diversas entidades clínicas, cujo diagnóstico definitivo requer a confirmação histopatológica, sem a qual passam a designar-se meningoencefalites de origem desconhecida. Os dois principais exames complementares utilizados no diagnóstico destas doenças, na prática clínica, são a análise do líquido cefalorraquidiano (LCR) e a ressonância magnética (RM). O objetivo do presente estudo foi o de avaliar imagens de RM emparelhadas com a análise de LCR de cães com o diagnóstico provável de doença inflamatória encefálica, por forma a averiguar a ocorrência de associações entre os resultados obtidos nos dois métodos. Assim, analisaram-se retrospectivamente 75 casos, cada um correspondendo a uma imagem de RM e uma análise de LCR pertencentes ao mesmo animal. Recolheu-se informação relativa à localização das lesões e características da imagem, bem como informação relativa à análise do LCR. Observou-se que a pleocitose monocítica está associada a uma probabilidade 18 vezes superior de surgir emparelhada com uma imagem de RM alterada, quando foi comparada com a pleocitose neutrofílica. As lesões no tronco cerebral surgiram associadas a pleocitoses monocíticas e a aumentos de proteína total (PT) no LCR mais graves ($p < 0,05$ e $p > 0,01$, respetivamente). As lesões multifocais e difusas revelaram uma probabilidade 5 vezes superior do que as focais de resultar num LCR com alterações patológicas. Não se observou associação entre as características da imagem e a análise do LCR, levando à conclusão de que a RM não deverá ser utilizada para prever as alterações do LCR. Conclui-se que os dois métodos complementares de diagnóstico deverão continuar a ser utilizados em conjunto, uma vez que a sua sensibilidade está longe da desejável, no que toca ao diagnóstico das doenças inflamatórias do SNC.

Palavras-chave: sistema nervoso central, líquido cefalorraquidiano, imagem por ressonância magnética, cão.

INFLAMMATORY DISEASES OF THE BRAIN IN DOGS: COMPARISON BETWEEN MAGNETIC RESONANCE IMAGING (MRI) AND CEREBRALSPINAL FLUID (CSF) ANALYSIS

Abstract

Inflammatory diseases of the central nervous system (CNS) may have an infectious or non-infectious etiology, the latter being more frequent in the canine species. This group of non-infectious inflammatory diseases of the CNS includes several clinical entities whose definitive diagnosis requires histopathological confirmation, without which the preferred term is meningoencephalitis of unknown origin (MUO). The two main complementary tests used in the diagnosis of these diseases in clinical practice are cerebrospinal fluid (CSF) analysis and magnetic resonance imaging (MRI). The objective of the present study was to evaluate MRI images paired with CSF analysis of dogs with a probable diagnosis of inflammatory brain disease, in order to investigate the occurrence of associations between the results obtained in both diagnostic methods. To this end, concurrent MRI and CSF analysis of 75 dogs presented to the Montenegro Imaging Center were examined retrospectively. Information was collected regarding the location of lesions and image characteristics, as well as information regarding the CSF analysis. It was observed that monocytoid pleocytosis is associated with an 18-fold higher probability of being paired with an altered MR image, when it was compared to neutrophilic pleocytosis. Brainstem lesions appeared associated with monocytoid pleocytosis and more marked CSF total protein increases ($p < 0.05$ and $p > 0.01$, respectively). Multifocal and diffuse lesions were 5 times more likely than focal lesions to result in CSF with pathological changes. No association was observed between imaging features and CSF analysis, leading to the conclusion that MRI should not be used to predict the changes to be found in the CSF analysis. We conclude that the two complementary diagnostic methods should continue to be used together, as their sensitivity is far from desirable for the diagnosis of inflammatory CNS diseases.

Key-words: central nervous system, cerebrospinal fluid, magnetic resonance imaging, dog.

Índice

1. Descrição das atividades desenvolvidas durante o estágio curricular.....	1
2. Revisão bibliográfica	3
2.1. O encéfalo	3
2.1.1. O cérebro	4
2.1.2. O tronco cerebral.....	4
2.1.2.1. O diencefalo.....	5
2.1.2.2. O mesencefalo.....	5
2.1.2.3. A ponte	6
2.1.2.4. Medula oblonga	6
2.1.3. O Cerebelo	7
2.1.4. As meninges.....	7
2.1.5. O sistema ventricular e o fluxo de líquido cefalorraquidiano (LCR)	8
2.1.6. Os sistemas de barreira.....	9
2.2. Doenças inflamatórias do sistema nervoso central	9
2.3. A ressonância magnética.....	11
2.3.1. Bases físicas	11
2.3.2. Sequências de pulso e a sua interpretação à luz da neuroimagem	12
2.3.2.1. Sequências spin eco (SE)	13
2.3.2.2. Sequências spin eco modificadas	14
2.3.2.2.1. Fast spin eco (FSE) / Turbo spin eco (TSE).....	14
2.3.2.2.2. Recuperação Inversão.....	15
2.3.3. Produtos de contraste.....	16
2.3.4. A RM no diagnóstico de doenças inflamatórias encefálicas.....	16
2.3.4.1. O efeito de episódios convulsivos na imagem de RM	17
2.4. O líquido cefalorraquidiano (LCR).....	17
2.4.1. Produção	17
2.4.2. Indicações para a colheita de LCR	18
2.4.3. Variabilidade dos resultados da análise.....	18

2.4.4.	Armazenamento e processamento	18
2.4.5.	Análise macroscópica: cor e turvação	19
2.4.6.	Contaminação hemática	19
2.4.7.	Contagem total de células	20
2.4.8.	Contagem diferencial de leucócitos	21
2.4.8.1.	Pleocitose neutrofílica	21
2.4.8.2.	Pleocitose monocítica	22
2.4.8.3.	Pleocitose eosinofílica.....	22
2.4.8.4.	Pleocitose mista.....	22
2.4.8.5.	Células tumorais	23
2.4.9.	Proteínas totais, quota de albumina e eletroforese das proteínas.....	23
2.4.9.1.	Imunoglobulinas.....	24
2.4.9.1.1.	Autoanticorpos.....	25
2.4.9.1.2.	Anticorpos contra agentes infecciosos	26
2.4.10.	Cultura do LCR.....	26
2.4.11.	PCR.....	26
2.4.12.	Alterações do LCR após episódios convulsivos.....	26
3.	Material e métodos.....	27
3.1.	Recolha de dados e critérios de inclusão.....	27
	Figura 2: Processo de exclusão dos casos.	28
3.2.	Preparação dos animais para o exame de RM	29
3.3.	Realização do exame RM.....	30
3.4.	Colheita de LCR	31
3.5.	Análise do LCR.....	32
3.6.	Tratamento de dados.....	32
3.7.	Análise estatística.....	35
4.	Resultados.....	36
4.1.	Análise descritiva da amostra	36
4.2.	Associações entre variáveis	37

4.2.1. Relação entre a presença de alterações patológicas na RM e as alterações no LCR.....	37
4.2.2. Relação entre a localização das lesões e as alterações no LCR.....	39
4.2.1. Relação entre as características da imagem e as alterações no LCR ...	40
4.2.2. Relação entre a distribuição das lesões e as alterações no LCR.....	41
5. Discussão de resultados	43
5.1. Análise descritiva.....	43
5.1.1. Localização das lesões.....	44
5.1.2. Características da imagem	45
5.1.3. Características do LCR.....	45
5.2. Associação entre variáveis	46
5.2.1. Relação entre a presença de alterações patológicas na RM e as alterações no LCR.....	46
5.2.2. Relação entre a localização das lesões e as alterações no LCR.....	47
5.2.3. Relação entre as características da imagem e as alterações no LCR ...	48
5.2.4. Relação entre a distribuição das lesões e as alterações no LCR.....	49
5.3. Limitações do presente estudo	49
6. Conclusão.....	52
7. Referências Bibliográficas	53

Índice de Figuras

Figura 1: Imagens de RM na ponderação T2 (FSE) do encéfalo de um cão sem alterações patológicas visíveis.	3
Figura 2: Processo de exclusão dos casos.....	28
Figura 3: Posicionamento correto de um cão para o estudo de neurocrânio	30
Figura 4: Antenas de RM passíveis de ser utilizadas em estudos de neurocrânio, de diferentes tamanhos.....	31
Figura 5: Imagens de RM, ponderadas em T2, obtidas no plano sagital mediano..	34
Figura 6: Imagens de RM, correspondentes ao mesmo animal, ponderadas em T1, obtidas no plano dorsal.....	35
Figura 7: À esquerda: Imagem de RM na ponderação T2-FLAIR, obtida no plano transversal ao nível dos hemisférios cerebrais evidenciando duas lesões hiperintensas, localizadas ao nível do lobo temporal (1) e frontal (2) direitos, que provocam efeito de massa. Esta compressão das estruturas adjacentes resulta num desvio da linha média à esquerda, bem como numa alteração da forma da secção transversal do ventrículo lateral direito, que surge achatado e desviado à esquerda. À direita: Imagem de RM ponderada em T2, obtida num plano sagital à esquerda da linha média. Identifica-se uma lesão de grandes dimensões (não visível na integra), hiperintensa, que afeta todos os lobos do hemisfério cerebral esquerdo. Esta lesão exerce efeito de massa, visível nesta imagem através da ligeira herniação transtentorial caudal, ou seja, passagem de parte do cerebelo através do forâmen magno (cabeça de seta).....	36

Índice de Tabelas

Tabela 1: Tempo de eco (TE) e Tempo de repetição (TR) para as ponderações de ressonância magnética em T1, T2 e densidade de prótons (PD) (Mai 2018)	13
Tabela 2: Critérios de classificação da pleocitose e valor de PT quanto à sua magnitude, segundo Bohn et al. (2006)	32
Tabela 3: Variáveis sob estudo	33
Tabela 4: Resultados do teste de Fisher para a presença de alterações na RM relativamente às características do LCR.	38
Tabela 5: Relação entre a presença de alterações na RM e o tipo de pleocitose.	38
Tabela 6: Valores de Odds Ratio para a presença de pleocitose monocítica, mista e neutrofílica, relativamente à presença de alterações na RM.	38
Tabela 7: Resultados do teste de Fisher para a localização das lesões relativamente às características do LCR	39
Tabela 8: Relação entre a presença de lesões no tronco cerebral e o tipo de pleocitose.	40
Tabela 9: Relação entre a presença de lesões no tronco cerebral e a valor do aumento de PT.	40
Tabela 10: Resultados do teste de Fisher para a distribuição das lesões relativamente às características do LCR	41
Tabela 11: Resultados do teste de Fisher para a distribuição das lesões relativamente às características do LCR	41
Tabela 12: Relação entre a distribuição das lesões e a presença de alterações no LCR.	42
Tabela 13: Relação entre a distribuição das lesões e o valor da pleocitose.	42
Tabela 14: Relação entre a distribuição das lesões e o valor do aumento de PT.	42
Tabela 15: Valor de Odds Ratio para a distribuição das lesões relativamente à presença de alterações no LCR.	42

Lista de abreviaturas

- B_0 – Campo magnético gerado pelo ímã da máquina de ressonância magnética
- BHE – Barreira Hematoencefálica
- CAMV – Centro de atendimento médico-veterinário
- CIM – Centro de Imagem Montenegro
- FLAIR – Fluid Attenuated Inversion Recovery
- FSE – Fast spin eco
- HRVM – Hospital Referência Veterinária Montenegro
- Kg - Kilograma
- LCR – Líquido Cefalorraquidiano
- LEN – Leucoencefalite necrosante
- M_0 – Vetor de Magnetização Nítida
- MARE – Meningite-arterite responsiva a esteroides
- MEG – Meningoencefalite granulomatosa
- MEN – Meningoencefalite necrosante
- Mmol - Milimol
- Ms - milissegundos
- MUO – Meningoencefalite de origem desconhecida (meningoencephalitis of unknown origin)
- PIC – Pressão intracraniana
- PD – *Proton density*
- PT – Proteína total
- RF - Radiofrequência
- RM – Ressonância Magnética
- SARA – Sistema Ativador Reticular Ascendente
- SE – Spin eco
- SNC – Sistema Nervoso Central
- STIR – Short Tau Inversion Recovery
- TAC – Tomografia Axial Computorizada
- TI – Tempo de inversão
- TE – Tempo de eco
- TR – Tempo de repetição
- TSE – Turbo spin eco

1. Descrição das atividades desenvolvidas durante o estágio curricular

A autora da presente dissertação realizou o estágio curricular do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, na área de clínica de animais de companhia, no Hospital Referência Veterinária Montenegro (HRVM), no Porto, sob orientação do Dr. António Ferreira (diretor clínico do Hospital Escolar Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa) e do Dr. Rui Mota (fundador e responsável clínico do Centro de Imagem Montenegro (CIM)). Este estágio teve uma duração de seis meses, tendo as atividades sido divididas, a pedido da aluna, entre dias passados exclusivamente no HRVM e dias dedicados ao CIM. De facto, no momento da escolha do local a candidatar-se para a realização do estágio curricular, a aluna teve em conta o seu particular interesse pelas áreas da neurologia e imagiologia sem, no entanto, pretender restringir as atividades a realizar no estágio e, por consequência, o seu processo de aprendizagem. Nesse sentido, o HRVM, pela sua íntima relação com o CIM, surgiu como o local que cumpria este requisito de permitir a obtenção de conhecimento nas áreas específicas de maior interesse da aluna, ao mesmo tempo que permitia o desenvolvimento das competências transversais à clínica de animais de companhia, bem como acompanhar o trabalho de médicos veterinários mais dedicados a outras áreas desta mesma clínica.

No HRVM, todos os dias, à exceção do fim-de-semana e feriados, têm início com uma reunião do corpo clínico, com a duração de cerca de uma hora. Nesta reunião tem lugar a discussão obrigatória de todos os casos referentes aos animais internados no momento, bem como de outros assuntos relevantes à equipa. Para além disso, os participantes podem apresentar, por iniciativa própria, artigos científicos recentes que considerem relevantes, ou ainda pequenos trabalhos de revisão de temas pertinentes.

Os dias dedicados ao HRVM contemplavam dias alocados ao internamento e dias focados no acompanhamento das consultas. Os horários realizados contemplaram turnos diurnos e noturnos, bem como turnos de apoio aos feriados e domingos. Para além disso, faz parte das atividades dos estagiários o atendimento de chamadas telefónicas e o apoio esporádico na receção. A aluna teve a oportunidade de acompanhar consultas de diversa natureza, desde consultas de primovacinação e aconselhamento aquando da aquisição de um novo animal e consultas de urgência até consultas de medicina interna, oftalmologia, dermatologia, cardiologia e neurologia. Durante os dias de apoio no internamento, cabe aos estagiários a administração da maioria das medicações, bem como garantir a alimentação dos animais e a limpeza do internamento. O trabalho no internamento permite a aquisição de um olhar crítico relativamente ao bem-estar dos animais, e o desenvolver da capacidade de reconhecer alterações no estado dos mesmos, bem como das competências relativas à manipulação dos pacientes da melhor forma possível. Para além disso, permite um

acompanhamento próximo dos casos, à medida que os mesmos se desenrolam, algo que, na perspectiva da aluna, potencia grandemente a aprendizagem da prática na clínica.

Nos dias dedicados ao acompanhamento das atividades desenvolvidas no CIM, a aluna teve a oportunidade de aprofundar os seus conhecimentos sobre a tomografia axial computadorizada (TAC) e a ressonância magnética (RM), bem como da neurologia veterinária. Este trata-se de um centro essencialmente de referência, recebendo casos enviados por colegas de todo o país e ainda de muitos locais em Espanha, bem como de casos com origem no HRVM. Os animais podem ser transportados até ao local pelos tutores ou pelos colegas referentes, o que permitiu à aluna, no momento de receção dos pacientes, o desenvolvimento de diversos tipos de discurso. No CIM, a aluna adquiriu e desenvolveu inúmeras competências, relativas à preparação dos animais para o exame, incluindo a colocação de uma via endovenosa, a realização de pré-medicação e indução anestésica e a intubação endotraqueal; ao posicionamento dos animais para exame, tanto de TAC como de RM; à realização dos exames em si, incluindo o manuseamento das máquinas, a escolha de parâmetros a utilizar e das condições de administração do meio de contraste endovenoso; à leitura dos exames e posterior realização de relatórios e, ainda, à comunicação de resultados, tanto com tutores como com colegas. Durante o período de estágio, a aluna pôde participar na realização de TACs de crânio, tórax, abdómen, membros, e coluna, e de RMs de crânio, coluna e joelho. A casuística observada foi extremamente variada, desde casos de ortopedia, neurologia, oncologia, malformações vasculares, entre outros.

Finalmente, é importante mencionar que a aluna considera o seu local de estágio, referindo-se tanto ao HRVM como ao CIM, como um local onde se estima a relação com os colegas médicos veterinários e onde se estimula a interajuda entre colegas, tanto dentro do local de trabalho como entre centros de atendimento médico-veterinário (CAMVs). Considera ter aprendido, pelo exemplo e pela prática, como fomentar uma boa relação, não apenas com os tutores mas, também, com os colegas.

2. Revisão bibliográfica

2.1. O encéfalo

O encéfalo e a medula espinhal formam o sistema nervoso central (SNC). À exceção do cérebro e cerebelo, a maior parte do SNC consiste numa estrutura tubular contida no interior de um envelope ósseo, o qual é formado pela caixa craniana e a coluna vertebral. Este tubo tem um componente intracraniano, o tronco cerebral e um componente extracraniano, a medula espinhal.

No interior da caixa craniana, numa posição anterior, dorsal e lateral relativamente ao tronco cerebral, estão os hemisférios cerebrais que, juntos, constituem o cérebro propriamente dito (telencéfalo). O tronco cerebral, num sentido craniocaudal, subdivide-se em: diencéfalo, mesencéfalo, ponte (metencéfalo ventral) e medula oblonga (mielencéfalo). Finalmente, o cerebelo (metencéfalo dorsal) pode ser encontrado dorsalmente ao tronco cerebral e caudalmente aos hemisférios, estando separado dos mesmos pela fissura transversa, a qual alberga o tentório do cerebelo (de Lahunta et al. 2014; da Costa and Dewey 2016; König and Liebich 2016). A fissura transversa e o tentório do cerebelo dividem a caixa craniana numa porção cranial e caudal. A figura 1 ilustra as principais estruturas constituintes do encéfalo visíveis na imagem de RM.

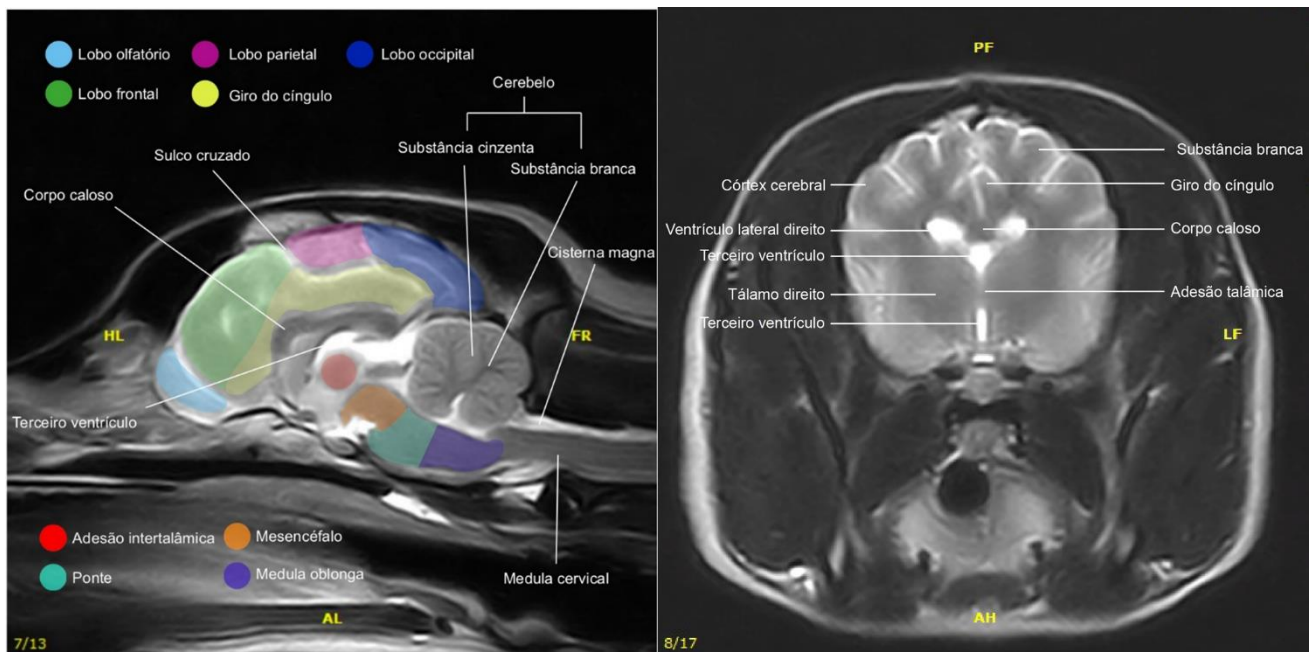


Figura 1: Imagens de RM na ponderação T2 (FSE) do encéfalo de um cão sem alterações patológicas visíveis. À esquerda: corte sagital mediano. À direita: corte transversal ao nível da aderência intertalâmica. Imagens manipuladas e legendadas pela autora, com permissão do CIM.

2.1.1. O cérebro

O cérebro constitui, de um ponto de vista volumétrico, a maior parte do encéfalo. A fissura longitudinal divide-o em dois hemisférios, cada um contendo giros salientes, separados uns dos outros por sulcos. Por oposição à medula espinhal, a substância cinzenta dos hemisférios situa-se à periferia. Assim, cada giro é composto por substância cinzenta à periferia, formando o córtex cerebral, e substância branca em profundidade, constituindo a *corona radiata* (de Lahunta et al. 2014). Para além disso, cada hemisfério é passível de ser dividido em lobos, denominados consoante o osso suprajacente. O lobo frontal localiza-se rostralmente ao sulco cruzado, e contém a maior parte do córtex motor (König and Liebich 2016). O lobo parietal situa-se caudalmente ao sulco cruzado e dorsal ao giro de Sylvius, estendendo-se caudalmente até ao terço caudal do hemisfério. Contém a área somatossensorial, recebendo informação propriocetiva consciente e nociceptiva (da Costa and Dewey 2016). O lobo occipital corresponde ao terço caudal do hemisfério, e inclui o córtex visual. A porção ventrolateral do hemisfério, ventral ao giro de Sylvius, corresponde ao lobo temporal, e engloba o córtex auditivo e vestibular. A porção rostroventral dos hemisférios é constituída pelos lobos olfativos. O pedúnculo olfativo corre na face ventral dos hemisférios até ao lobo piriforme, uma protuberância situada lateralmente à hipófise e medial ao lobo temporal (de Lahunta et al. 2014). Também identificado na figura 1 está o giro do cíngulo, que não pertence a nenhum lobo em particular, e faz parte do sistema límbico, envolvido no processamento das emoções, aprendizagem e memória (da Costa and Dewey 2016).

O corpo caloso, ventral ao giro do cíngulo, é composto por fibras que ligam os dois hemisférios cerebrais, permitindo que funcionem como uma só estrutura, o cérebro (de Lahunta et al. 2014; da Costa and Dewey 2016).

Sinais de disfunção cerebral incluem alteração do estado mental e do comportamento, convulsões, pressionar a cabeça contra superfícies (*“head pressing”*), andamento em círculos, défices na resposta de ameaça e alteração da proprioceção consciente, associada a andamentos normais. Dor cervical também pode estar associada a lesões cerebrais estruturais que provoquem distensão das meninges (da Costa and Dewey 2016).

2.1.2. O tronco cerebral

O tronco cerebral comunica com os hemisférios através da cápsula interna, a qual inclui axónios que se projetam desde o córtex até ao tronco, e axónios com origem no tálamo que se dirigem para o córtex cerebral (de Lahunta et al. 2014). Este será descrito num sentido crâniocaudal.

2.1.2.1. O diencéfalo

A porção mais rostral do tronco cerebral pode ser subdivida em: (1) tálamo, uma estrutura de grandes dimensões localizada de cada lado da aderência intertalâmica, uma estrutura ovalada, situada na linha média, rodeada pelo terceiro ventrículo; (2) hipotálamo, ventral ao anterior, situado na linha média; (3) metatálamo, lateral e dorsocaudal ao tálamo, constituído pelos corpos geniculados; (4) subtálamo, pequeno e localizado numa posição ventrolateral; e (5) epitálamo, de pequenas dimensões, localizado na linha média (de Lahunta et al. 2014).

O diencéfalo, devido à sua estreita ligação com os hemisférios cerebrais, poderá ser agrupado com os mesmos numa estrutura denominada prosencéfalo – encéfalo anterior (König and Liebich 2016). Por esta razão, os sinais associados a uma disfunção diencefálica são muito semelhantes àqueles enunciados para o cérebro. Uma diferença é o facto de o andamento em círculos associado a lesões do diencéfalo se poder verificar tanto para o lado da lesão, como nas lesões nos hemisférios, como para o lado contrário. Para além disso, animais com lesões no diencéfalo podem revelar alterações relacionadas com disfunção endócrina ou incapacidade de regular corretamente a temperatura corporal, se o hipotálamo estiver afetado. Finalmente, alterações do estado mental, como estupor ou mesmo coma, podem estar associadas a lesões neste órgão, já que faz parte do sistema ativador reticular ascendente (SARA), o qual se projeta do tronco cerebral para o córtex, e que é responsável pela manutenção do estado de vigília (da Costa and Dewey 2016).

2.1.2.2. O mesencéfalo

Esta é uma estrutura de secção quase redonda, atravessada pelo aqueduto mesencefálico. É no mesencéfalo que têm origem os nervos oculomotor – par craniano III – e troclear – par craniano IV (de Lahunta et al. 2014). O mesencéfalo é um componente importante do SARA, sendo que a sua disfunção leva, muitas vezes, a estupor ou coma (da Costa and Dewey 2016).

De cada lado do mesencéfalo, numa posição ventrolateral ao aqueduto, encontra-se um núcleo vermelho, constituído por um grupo de neurónios motores que dá origem ao trato rubroespinal, importante na iniciação do movimento. Por esta razão, lesões no mesencéfalo ou caudais ao mesmo causam frequentemente alterações dos andamentos ao afetarem os núcleos vermelhos e/ou os tratos rubrospinais (da Costa and Dewey 2016).

2.1.2.3. A ponte

A ponte constitui, juntamente com o cerebelo, o metencéfalo. Esta contém as fibras transversas da ponte, que estabelecem ligações com o cerebelo e que recebem o nervo trigémio – par craniano V, e as fibras longitudinais da ponte, com origem nos hemisférios cerebrais. Algumas destas fibras terminarão nos núcleos pontinos, enquanto outras continuam caudalmente para formar outros tratos importantes (de Lahunta et al. 2014).

Lesões da ponte podem causar alterações graves da consciência, bem como alterações dos andamentos com sinal de motoneurónio superior, caracterizado por reflexos normais ou aumentados, associados a um aumento do tónus muscular (da Costa and Dewey 2016).

2.1.2.4. Medula oblonga

Esta estrutura estende-se desde as fibras transversas da ponte até às raízes ventrais do primeiro nervo espinal cervical. As fibras longitudinais da ponte que não terminam num núcleo pontino vão correr, em direção caudal, na face ventral do corpo trapezoide e formar as pirâmides da medula. Este corpo trapezoide é composto por fibras que correm paralela e caudalmente às fibras transversas, e encontra-se em estreita ligação com o nervo vestibulococlear, par craniano VIII e o núcleo coclear, fazendo parte do sistema auditivo (de Lahunta et al. 2014). As pirâmides da medula decussam, ou seja, cruzam-se parcialmente ao nível da saída do nervo hipoglosso, par craniano XII, e continuam na medula espinal, dando origem ao trato corticoespinal – trata-se de axónios com origem nos hemisférios que se projetam ao longo da medula espinal (König and Liebich 2016). É, também, na região da medula oblonga que têm origem os restantes nervos cranianos ainda não mencionados, a saber: nervo abducente (VI), nervo facial (VII), nervo glossofaríngeo (IX), nervo vago (X) e nervo acessório (XI) (de Lahunta et al. 2014). Finalmente, é este segmento do tronco cerebral que alberga os núcleos dos centros vitais, como é o caso dos centros respiratório e cardíaco, situados na formação reticulada (König and Liebich 2016).

De um ponto de vista clínico, a medula oblonga pode ser dividida numa porção rostral e numa porção caudal. Enquanto lesões na medula rostral estão associadas a sinais vestibulares, lesões mais caudais causam disfonia, disfagia e, ocasionalmente, paralisia da língua. Para além disso, alterações da medula podem levar a alteração do estado mental e da respiração, bem como tetraplegia ou paralisia com sinal de motoneurónio superior, ao afetar a formação reticulada (da Costa and Dewey 2016).

2.1.3. O Cerebelo

O cerebelo, ou metencéfalo dorsal, localiza-se na fossa posterior da caixa craniana, dorsalmente à ponte (metencéfalo ventral) e medula oblonga. É composto por dois hemisférios laterais e uma porção mediana, o vérmis cerebelar (da Costa and Dewey 2016). À semelhança dos hemisférios cerebrais, a substância cinzenta do cerebelo encontra-se à periferia da branca (corpo medular), a qual se assemelha a uma árvore (denominada árvore da vida) quando visualizada num corte sagital (König and Liebich 2016), como é o caso da imagem da esquerda da figura 1.

Existem três pedúnculos cerebelares de cada lado do quarto ventrículo, que albergam fibras nervosas que mantêm o contacto entre o cerebelo, o tronco cerebral e os hemisférios cerebrais (de Lahunta et al. 2014). As funções deste órgão são o resultado direto da sua comunicação com as restantes estruturas encefálicas, e incluem a manutenção do equilíbrio e regulação da atividade motora. Assim, o cerebelo é responsável pela capacidade de executar movimentos sincronizados e controlados no espaço, no que diz respeito à sua força e amplitude (König and Liebich 2016). Disfunções cerebelares podem causar ataxia cerebelar, caracterizada por dismetria, bem como tremores de intenção, mais evidentes a nível da cabeça. Além disso, este órgão desempenhará um papel importante em várias funções, como a memória, a aprendizagem e o processamento da dor (da Costa and Dewey 2016).

2.1.4. As meninges

Todo o SNC é envolvido por três membranas de tecido conjuntivo, chamadas meninges: a dura-máter, aracnoide e a pia-máter. Estas protegem o SNC e delimitam o espaço subaracnoideio. A dura-máter, ou paquimeninge, é a camada mais exterior, muito resistente, constituída por tecido conjuntivo denso (Junqueira and Carneiro 2017). As duas restantes camadas – a pia-máter e a aracnoide – constituem, devido à sua consistência mais branda, as leptomeninges (do grego leptós, “fino, delgado”). A pia-máter adere à superfície externa da medula espinhal e estruturas encefálicas, enquanto a aracnoide reveste a face interna da dura-máter, da qual está separada por um espaço virtual denominado subdural (de Lahunta et al. 2014). A aderência entre a dura e a aracnoide é frouxa, podendo as duas ser facilmente separadas. É possível a acumulação de sangue entre as duas (hematoma subdural), deixando o espaço subdural de ser virtual, algo sempre patológico (de Lahunta et al. 2014). Entre as duas leptomeninges está o espaço subaracnoideio, preenchido por líquido cefalorraquidiano (LCR), que comunica com o sistema ventricular, e funciona como um sistema de amortecimento que protege o SNC contra traumatismos (Junqueira and Carneiro 2017).

Em determinados locais, formam-se as vilosidades da aracnoide, que penetram a dura-máter e constituem locais de passagem de LCR para a corrente sanguínea. Ao contrário da aracnoide, que não contém vasos sanguíneos, a pia-máter é extremamente vascularizada, e adere ao tecido nervoso subjacente, garantindo a sua vascularização. De facto, os vasos sanguíneos penetram o tecido nervoso revestidos por uma bainha de pia-máter, que os acompanha até ao ponto em que vasos de maior calibre passam a capilares sanguíneos (Junqueira and Carneiro 2017).

Dá-se o nome de cisternas subaracnoideias aos locais nos quais a pia-máter e a aracnoide estão mais distantes uma da outra. A cisterna de maiores dimensões é a cerebelomedular, mais conhecida por cisterna magna, localizada no ângulo entre o cerebelo e a medula (figura 1). É um dos locais de colheita de LCR (de Lahunta et al. 2014).

2.1.5. O sistema ventricular e o fluxo de líquido cefalorraquidiano (LCR)

O SNC contém um conjunto de cavidades que, como um todo, recebem o nome de sistema ventricular, dentro do qual circula LCR. Este sistema tem início no cérebro, com os ventrículos laterais, cada um dos quais alojado no seio de um hemisfério cerebral. Cada ventrículo lateral envia um recesso para o interior do lobo olfativo, e comunica com o terceiro ventrículo através do forâmen interventricular. O terceiro ventrículo (figura 1), alojado no diencéfalo, à volta da aderência intertalâmica, continua no aqueduto mesencefálico, que atravessa o mesencéfalo e flui ao nível do ângulo pontinomedular para o quarto ventrículo. Finalmente, o quarto ventrículo encontra-se dorsalmente à ponte e medula oblonga, e continua no canal central da medula espinal, a nível do óbex (de Lahunta et al. 2014; König and Liebich 2016).

Todo o sistema ventricular é revestido por células endoteliais, ciliadas, que auxiliam no movimento do LCR através deste (Zachary 2017). A nível ventricular existem os plexos coroides, estruturas vasculares modificadas, compostas por pia-máter e capilares fenestrados e dilatados, sendo as principais estruturas responsáveis pela produção de LCR (Junqueira and Carneiro 2017). Para além dos plexos coroides, este líquido é produzido pelos capilares cerebrais, células do parênquima e ainda pelas células endoteliais e raízes dorsais da medula espinal. O LCR é produzido, portanto, ao longo de todo o SNC (da Costa and Dewey 2016; Tumani et al. 2017).

O escoamento do LCR do sistema ventricular para o espaço subaracnoideu faz-se através dos forâmenes de Luschka, localizados lateralmente no quarto ventrículo (Di Terlizzi and Platt 2006). Este flui no espaço subaracnoideu, à periferia de toda a superfície cerebral, e vai sendo absorvido maioritariamente a nível das vilosidades da aracnoide, localizadas nos seios venosos, e a nível dos vasos linfáticos da mucosa nasal, após passar a lâmina cribiforme (Tumani et al. 2017). No passado, o SNC era considerado desprovido de um sistema linfático

(Weed 1914; Ransohoff and Engelhardt 2012), no entanto, em 2015 foram publicados dois artigos que demonstram a existência de vasos linfáticos associados aos seios venosos incorporados na dura-máter, capazes de proceder à troca de fluido e moléculas com o LCR (Aspelund et al. 2015; Louveau et al. 2015).

2.1.6. Os sistemas de barreira

O SNC encontra-se isolado dos restantes sistemas orgânicos a vários níveis, tanto físicos como químicos, e tal deve-se, em grande parte, à existência de interfaces complexos entre os três fluidos que se encontram na caixa craniana, a saber: o LCR, o sangue e o fluido intersticial do parênquima (de Lahunta et al. 2014). As barreiras entre estes compartimentos são a barreira hematoencefálica (BHE), entre o plasma sanguíneo e o fluido intersticial, a barreira sangue-LCR, existente a nível dos plexos coróides, e, finalmente, a barreira LCR-parênquima. Estas barreiras semipermeáveis garantem a manutenção de um ambiente estável nos tecidos encefálicos, de um ponto de vista químico, pouco suscetível a alterações na circulação sanguínea (Di Terlizzi and Platt 2006).

2.2. Doenças inflamatórias do sistema nervoso central

As doenças inflamatórias do SNC incluem as meningites, encefalites e mielites, dependendo se afetam as meninges, o encéfalo ou a medula, respetivamente. No entanto, na prática encontram-se, não raro, combinações destas três (Platt and Olby 2012).

Este é um grupo de doenças frequentemente encontrado em neurologia veterinária (Talarico and Schatzberg 2010; Portero et al. 2019). Podem ter uma etiologia infecciosa, quando causadas por vírus, bactérias, fungos ou protozoários, ou ser de cariz não infeccioso. No entanto, na maioria dos casos (cerca de 60%), não se encontra uma causa infecciosa (Platt and Olby 2012). Estas doenças inflamatórias não infecciosas englobam várias entidades clínicas diferentes, para as quais o diagnóstico definitivo é histopatológico. As mais comuns são a meningoencefalite granulomatosa (MEG), a meningite-arterite responsiva a esteróides (MARE), a meningoencefalite necrosante (MEN) e a leucoencefalite necrosante (LEN), embora existam outras. Na ausência de uma confirmação histopatológica, utiliza-se o termo meningoencefalite de origem desconhecida (*Meningoencephalitis of unknown origin*: MUO) (Zarfoss et al. 2006; Vitale and Foss 2019).

As doenças inflamatórias do SNC podem afetar qualquer raça, a qualquer idade, e podem seguir um curso agudo ou mais arrastado no tempo (Thomas 1998). Parece, no entanto, existir uma predisposição de raças pequenas, e uma prevalência superior em fêmeas no que toca às doenças inflamatórias não-infecciosas do SNC (Granger et al. 2010). Uma exceção é a MARE, mais frequentemente encontrada em cães de porte grande, como o Boxer e o Golden Retriever (Tipold and Jaggy 1994; de Lahunta et al. 2014).

A patogênese das doenças inflamatórias não infecciosas do SNC é, ainda, pouco conhecida. Pensa-se que sejam o resultado de um processo autoimune, caracterizado por uma resposta predominantemente do tipo celular. Os fatores responsáveis pelo desencadear deste processo não foram, até ao momento presente, identificados (Kipar et al. 1998; Park et al. 2012).

Estas produzem um amplo leque de sinais neurológicos, intimamente ligados à localização anatômica das lesões, e quase sempre inespecíficos para uma doença inflamatória em concreto. Alguns sinais são muito característicos de algumas doenças, mas não existe um sinal patognomónico de nenhuma. As mioclonias da cabeça e dos membros são extremamente sugestivas de esgana, no entanto, podem ocorrer secundariamente a processos como a MEG, por exemplo (Tipold 1995). Num estudo retrospectivo de 220 casos de doença inflamatória do SNC, Tipold (1995) registou a ocorrência de hiperestesia com rigidez cervical em 93% dos casos de MARE, mas também em 34% dos restantes casos.

Os sinais clínicos são progressivos e, frequentemente, restringem-se ao sistema nervoso, sendo menos frequente a identificação de sinais sistémicos, como febre ou leucocitose. Assim, estes animais têm, não raro, hemograma e análises bioquímicas dentro dos intervalos de referência (Tipold 1995). No que toca à distribuição das lesões no seio do SNC, estas doenças podem surgir como lesões focais, afetando apenas uma estrutura, ou lesões multifocais ou difusas, sendo mais comum esta segunda distribuição (Thomas 1998; Granger et al. 2010).

Uma vez que o diagnóstico definitivo destas doenças requer o diagnóstico histopatológico, o diagnóstico em vida, sem recorrer a técnicas como a biópsia cerebral, é extremamente difícil, devido à variabilidade das manifestações clínicas que lhes estão associadas, e à baixa especificidade, não só dos sinais clínicos, mas também das imagens de ressonância magnética e da análise do LCR (Granger et al. 2010; Vitale and Foss 2019). Para além disso, dada a maior incidência em animais jovens e de raças pequenas, acredita-se que exista alguma predisposição genética associada ao desenvolvimento destas doenças (Vitale and Foss 2019).

Assim, o diagnóstico em vida é, principalmente, pressuposto, passando pelo exame neurológico e localização das lesões, seguido da RM, análise do LCR e eventual pesquisa por agentes infecciosos (Vitale and Foss 2019). Existem imagens, em ressonância magnética, sugestivas de determinadas doenças inflamatórias, embora muitas vezes tal não aconteça, e a imagem seja compatível com várias doenças dentro deste grupo (Thomas 1998). Assim, a análise do LCR é um exame complementar de extrema importância, permitindo direcionar o clínico e, por vezes, fornecer um diagnóstico definitivo (Tipold 1995).

2.3. A ressonância magnética

Esta secção debruçar-se-á sobre as bases do funcionamento da ressonância magnética (RM), com o objetivo de enquadrar o leitor e facilitar a interpretação do texto. Não se pretende, no entanto, entrar em detalhes físicos acerca dos fenómenos nos quais assenta esta modalidade de diagnóstico.

De facto, o advento da ressonância magnética veio revolucionar a capacidade de diagnóstico em neurologia, já que este exame fornece uma excelente resolução e diferenciação dos tecidos moles (Leigh et al. 2008). Trata-se, portanto, do exame imagiológico de eleição quando se trata de afeções do sistema nervoso, permitindo a identificação de processos patológicos dificilmente identificáveis em tomografia computadorizada, por exemplo (Platt and Olby 2012).

Ao contrário da tomografia axial computadorizada, a ressonância magnética não utiliza radiação X ou outra radiação ionizante para a obtenção de imagens. Outra grande diferença entre estes dois métodos de imagem reside no facto de, na ressonância magnética, podermos obter imagens em qualquer plano anatómico sem ser necessário reposicionar o paciente. Na tomografia, os planos secundários são obtidos através de reformatações levadas a cabo por um computador (Platt and Olby 2012).

Em suma, esta modalidade de imagem avançada baseia-se na magnetização de uma amostra, utilizando um campo magnético forte, seguida da aplicação de pulsos de radiofrequência (RF), ou seja, de radiação eletromagnética, levando à geração de um sinal pelos átomos de hidrogénio contidos na amostra, o qual é captado por uma bobina recetora e transformado num sinal elétrico. Por meio de computadores, esse sinal elétrico é utilizado para a reconstrução de uma imagem do paciente. Assim, é importante compreender os conceitos básicos da física que aqui se aplicam.

2.3.1. Bases físicas

A RM baseia-se no facto de qualquer átomo com um número ímpar de prótons e/ou neutrões gerar o seu próprio campo magnético, podendo dizer-se que possui um momento magnético diferente de zero. No caso da ressonância magnética, o átomo mais comumente utilizado para a obtenção de imagens é o hidrogénio, constituído por apenas um próton (Mai 2018). Este é o átomo ideal já que, não só abunda nos tecidos biológicos alvo de estudo, como tem a capacidade de gerar um sinal relativamente forte quando comparado com outros elementos com propriedades magnéticas semelhantes. Finalmente, o hidrogénio vê a sua distribuição nos tecidos e, em particular, no tecido nervoso, significativamente alterada em processos patológicos, facilitando a distinção entre tecido normal e tecido alterado (da Costa and Dewey 2016).

Imaginando a amostra como um conjunto de átomos de hidrogénio em estado de equilíbrio, os vetores correspondentes ao campo magnético individual de cada próton encontram-se orientados aleatoriamente (da Costa and Dewey 2016), de tal forma que o somatório de todos esses vetores, denominado Vetor de Magnetização Nítida (M_0), seja igual a zero. E é por esta razão que um tecido biológico em repouso não tem magnetismo mensurável (Mai 2018).

Ao ser colocada no equipamento de RM, a amostra fica sobre a influência de um campo magnético externo (B_0), gerado pelo íman da máquina. Assim, os vetores, que outrora se orientavam de forma aleatória, agora alinham-se com o campo magnético B_0 (Platt and Olby 2012). O vetor M_0 passa a ser diferente de zero, mas não é mensurável pois é mascarado pelo campo forte gerado pelo equipamento (Mai 2018). Os campos magnéticos gerados pelos equipamentos de RM podem variar entre 7 tesla (alto campo) e 0.2 tesla (baixo campo), sendo os segundos mais comumente utilizados em medicina veterinária (Platt and Olby 2012; da Costa and Dewey 2016).

Uma vez que o objetivo da RM é medir o valor de M_0 associado a cada vóxel da amostra (semelhante a um pixel, mas tridimensional), é necessário tornar este vetor visível dentro do muito mais forte campo magnético B_0 (da Costa and Dewey 2016). Para tal, utiliza-se um pulso de RF para fornecer energia aos átomos da amostra, invertendo os seus vetores e tornando-os perpendiculares ao vetor do campo B_0 (pulso de 90°) (Mai 2018).

Esta posição perpendicular é instável, e os átomos voltam à posição inicial, paralelos ao campo magnético principal B_0 , a partir do momento em que o pulso termina, num processo denominado relaxamento. Este relaxamento pode ser decomposto em dois fenómenos independentes, um mais longo, cerca de 500 a 1000 milissegundos (ms) em tecidos biológicos, o tempo de relaxamento em T1, e um mais curto, o tempo de relaxamento em T2, durando de 50 a 100 ms. Estes dois tempos são características específicas de cada tecido biológico, variando consoante o seu estado físico e características moleculares dos mesmos (Mai 2018). Finalmente, é durante este período de relaxamento que a amostra emite o seu próprio sinal eletromagnético, o seu próprio pulso de RF, o qual é captado pelo equipamento e analisado por um computador para ser reconstruído numa imagem do paciente (Platt and Olby 2012).

2.3.2. Sequências de pulso e a sua interpretação à luz da neuroimagem

Compreendendo os fundamentos da técnica e os dois tipos de relaxamento, é possível alterar os gradientes de campo magnético e os pulsos de RF, de forma a evidenciar determinados tecidos em detrimento outros. À combinação do gradiente magnético e dos pulsos de RF escolhidos dá-se o nome de sequência de pulso (da Costa and Dewey 2016). As sequências de pulso mais simples e frequentemente utilizadas pertencem ao grupo das

sequências spin eco (SE). Estas podem ser ponderadas em T1, em T2 ou em PD (*proton density*, ou seja, a densidade de prótons existente na amostra) dependendo de qual é a característica dos tecidos a ser utilizada para os distinguir uns dos outros na imagem final (Platt and Olby 2012; da Costa and Dewey 2016).

2.3.2.1. Sequências spin eco (SE)

Estas sequências caracterizam-se pela aplicação de um pulso de RF de 180° após o pulso inicial de 90°. Ao se aplicar um segundo pulso, aumenta-se o tempo durante o qual o sinal proveniente da amostra pode ser gravado, e elimina-se a influencia de determinadas imperfeições constantes, nomeadamente as associadas ao campo magnético B₀ (Mai 2018) e interferências causadas por estruturas externas àquelas que se quer estudar, como o fluxo de vasos sanguíneos que se encontrem nas proximidades. Este segundo pulso é aplicado exatamente a meio do período que decorre entre o primeiro pulso e o eco (sinal). Este tempo que decorre entre o pulso de 90° e o sinal é o tempo de eco (TE), ou seja, o pulso de 180° é aplicado 1/2 TE após o pulso de 90° (Platt and Olby 2012). Uma vez que o sinal gerado por apenas uma sequência de pulso não é suficiente para gerar a imagem, este processo é repetido em intervalos pré-definidos, que se traduzem no tempo de repetição (TR), ou seja, o intervalo de tempo entre dois pulsos de 90°. A típica imagem de RM tem uma matriz com 256x256 pixéis, pelo que, nesse caso, a sequência terá de ser repetida 256 vezes, uma para cada linha de pixéis, de modo a criar uma imagem (Mai 2018).

A variação dos dois parâmetros mencionados no parágrafo anterior, TE e TR, define a ponderação da imagem, a qual poderá ser ponderada em T1 (T1-W), ponderada em T2 (T2-W) e ponderada de acordo com a densidade de prótons da amostra (PDW). As características do TE e TR para cada uma das ponderações encontram-se resumidas na tabela 1 (Mai 2018).

Tabela 1: Tempo de eco (TE) e Tempo de repetição (TR) para as ponderações de ressonância magnética em T1, T2 e densidade de prótons (PD) (Mai 2018)

PONDERAÇÃO	T1-W	T2-W	PDW
TE	Curto (10-30ms)	Longo (>80ms)	Curto (10-30ms)
TR	Curto (300-700ms)	Longo (>2000ms)	Longo (>200ms)

Numa imagem ponderada em T1 veremos a gordura hiperintensa (branca) devido ao seu curto tempo de relaxamento em T1 e os fluidos hipointensos (escuros), já que possuem um tempo de relaxamento longo em T1 (da Costa and Dewey 2016). Os restantes tecidos moles apresentam intensidades intermédias (Hecht and Adams 2010a). Estas ponderações fornecem um bom detalhe anatómico, pois são imagens com pouco ruído. Já o contraste obtido nestas ponderações não é tão bom como nas imagens em T2, não favorecendo tanto a identificação de alterações patológicas. No entanto, a administração de um agente de

contraste leva a um aumento da sensibilidade na detecção de lesões (Mai 2018). Os agentes de contraste serão abordados mais à frente nesta secção.

Nas imagens ponderadas em T2 selecionam-se tempos longos, que minimizam os efeitos do relaxamento em T1, levando a uma distinção dos tecidos baseada no seu tempo de relaxamento em T2. Assim, os líquidos surgem hiperintensos, pois o seu tempo de relaxamento em T2 é longo, e a gordura surge hipointensa (da Costa and Dewey 2016). Nestas imagens, as lesões surgem com um bom contraste relativamente às estruturas circundantes, devido ao seu elevado conteúdo hídrico, que as torna hiperintensos (Mai 2018).

Finalmente, as ponderações PD são mais utilizadas em estudos ortopédicos, possuindo um valor limitado na neuroimagem. Caracterizam-se por um excelente detalhe anatómico (da Costa and Dewey 2016).

2.3.2.2. Sequências spin eco modificadas

Trata-se de sequências que se alicerçam nas SE convencionais, mas que contam com pequenas diferenças que trazem determinadas vantagens. Uma permitem obter um tempo de aquisição mais curto, como é o caso das sequências Fast Spin Eco (FSE) ou Turbo Spin Eco (TSE). Outras permitem suprimir o sinal de determinados tecidos que possam mascarar estruturas de interesse – é o caso das sequências Recuperação Inversão.

2.3.2.2.1. Fast spin eco (FSE) / Turbo spin eco (TSE)

O protocolo convencional SE é caracterizado por pulsos de 90° seguidos de pulsos de 180°. Assim, apenas se gera um eco, ou seja, uma emissão de sinal, por cada TR (da Costa and Dewey 2016). Significa isto que, para a elaboração de uma imagem, é necessário repetir cada ciclo um número significativo de vezes, as suficientes para preencher a matriz selecionada, uma linha de cada vez. O resultado final é um longo tempo de aquisição (7 a 15 minutos para uma ponderação em T2) (Mai 2018).

Acontece que, uma vez que o TR é superior ao TE, é possível incluir mais do que um pulso de 180° dentro de um só TR, ou seja, entre dois pulsos de 90°. Se se aplicar, por exemplo, quatro pulsos de 180°, a matriz será preenchida quatro vezes mais rapidamente, e o tempo de aquisição passará para um quarto do original. Assim, reduz-se o tempo de aquisição sem comprometer a qualidade da imagem (da Costa and Dewey 2016). O *Turbo factor* (ou *echo-train length* ou, ainda, *shot factor*, dependendo do equipamento de RM que se está a utilizar) corresponde ao número de pulsos de 180° entre cada par de pulsos de 90° (Mai 2018).

Estas sequências recebem o nome de Fast Spin Eco (FSE) ou Turbo Spin Eco (TSE), e produzem imagens muito semelhantes àquelas produzidas pelas sequências SE convencionais, havendo praticamente substituído as sequências SE ponderadas em T2 (da

Costa and Dewey 2016). As duas principais diferenças residem no facto de o tecido adiposo surgir mais hiperintenso nas imagens FSE ponderadas em T2 do que surge nas imagens SE, e no facto de estas imagens serem menos sensíveis à presença de pequenas hemorragias, por terem uma suscetibilidade magnética menor (Mai 2018). Esta primeira diferença constitui uma desvantagem destas sequências, já que a gordura epidural, ao surgir hiperintensa, poderá mascarar lesões hiperintensas em T2 presentes no canal vertebral (da Costa and Dewey 2016).

2.3.2.2. Recuperação Inversão

Estas sequências contam com um pulso de 180° antes da série 90/180, denominado pulso de inversão. Dependendo do tempo decorrido entre o pulso de 180° e o primeiro pulso de 90° , ao qual se dá o nome de tempo de inversão (TI), ou Tau, consegue suprimir-se o sinal dos fluidos (TI longo) ou da gordura (TI curto) (da Costa and Dewey 2016). Este pulso inicial leva à inversão dos vetores de magnetização nítida, o qual, após o pulso, inicia o processo de relaxamento longitudinal (em T1) que o leva para a posição original. Ao longo do relaxamento, o vetor passa por um ponto no qual é nulo, e demora um determinado tempo a atingir esse ponto, que é característico de cada tecido, e dependente do seu tempo de relaxamento em T1 (Mai 2018). Assim, conhecendo o tempo de relaxamento em T1 de um determinado tecido é possível calcular quando é que o seu vetor de magnetização nítida será nulo, e aplicar os pulsos de RF de forma que o sinal que originaria desse tecido seja anulado.

Existem duas principais sequências de recuperação inversão, a saber: Short Tau Inversion Recovery (STIR) e Fluid Attenuated Inversion Recovery (FLAIR). A primeira permite suprimir tecidos com um tempo de relaxamento em T1 mais curto, utilizando TIs curtos, como é o caso da gordura. É, portanto, uma sequência muito utilizada para estudos musculoesqueléticos e de coluna, permitindo suprimir a componente adiposa da medula óssea e a gordura epidural (Mai 2018).

A segunda permite suprimir o sinal de fluidos, nomeadamente do LCR. Pode ser adquirida nas ponderações T1 e T2, sendo a última a mais frequentemente utilizada. Trata-se de uma imagem extremamente sensível na deteção de doença, evidenciando qualquer lesão rica em água (com edema ou hemorragia associada, por exemplo), mesmo se essa estiver rodeada por LCR (Mai 2018). A utilização de imagens T2-FLAIR em conjunto com ponderações T2 (SE ou FSE) permite uma melhor caracterização das lesões que surgem hiperintensas nas ponderações T2. Ao aplicar o FLAIR, o sinal com origem em fluidos puros, como é o caso do LCR e do fluido contido em lesões quísticas, é suprimido, e esses materiais surgem hipointensos (da Costa and Dewey 2016). As imagens FLAIR ponderadas em T1 não são utilizadas nos protocolos de rotina, mas podem revelar-se úteis na caracterização de lesões rodeadas por LCR, como é o caso de meningiomas localizados no espaço

subaracnoideu (Mai 2018). São sensíveis na detecção de lesões que captam contraste, podendo ser utilizadas como uma alternativa às imagens T1 pós-contraste convencionais (da Costa and Dewey 2016).

2.3.3. Produtos de contraste

Os produtos de contraste utilizados na RM são materiais dotados de características paramagnéticas, sendo que o mais comum é o gadolínio. O paramagnetismo é uma característica de materiais compostos por íons contendo elétrons desemparelhados, que lhes confere uma suscetibilidade magnética positiva, capaz de exercer um efeito nas estruturas que os rodeiam (Mai 2018). Assim, o gadolínio é administrado pela via endovenosa e acumula-se nas zonas mais vascularizadas, ou cuja vascularização se encontra alterada. Este elemento paramagnético interage com os prótons, provocando uma diminuição do tempo de relaxamento em T1, com um consequente aumento drástico do sinal com origem nessas estruturas nas imagens ponderadas em T1 (Platt and Olby 2012). Esta captação de contraste, que se traduz numa hiperintensidade de sinal em T1, acontece se uma dada lesão é vascularizada, localizada fora da BHE ou que tenha alterado a mesma, permitindo a acumulação de agente de contraste nesses locais. Assim, algumas estruturas intracranianas, por estarem localizadas fora da BHE, captam contraste de forma fisiológica. Estas estruturas incluem a hipófise, os plexos coróides e vasos sanguíneos (Mai 2018).

O meio de contraste é administrado, por norma, a uma dose de 0,1 mmol/kg (da Costa and Dewey 2016), embora a administração de doses mais elevadas (até 0,3 mmol/kg) possa facilitar o diagnóstico de determinadas alterações, nomeadamente de meningites em estádios iniciais (Runge et al. 1995)

2.3.4. A RM no diagnóstico de doenças inflamatórias encefálicas

A RM é um método bastante sensível no diagnóstico de doenças do SNC, com sensibilidades reportadas de 89% (Bohn et al. 2006) a 95,7% (Wolff et al. 2012). No entanto, nas doenças inflamatórias do SNC em particular, a sensibilidade deste método de diagnóstico diminui. Num estudo, apenas se detetou alterações em 62% dos animais com doença inflamatória (Bohn et al. 2006). Já Wolff et al. (2012) reporta uma sensibilidade de 80,7% para a detecção de inflamação.

De um modo geral, as encefalites geram lesões predominantemente multifocais e hiperintensas em T2. A captação de contraste é variável, bem como a ocorrência de efeito de massa (Tipold 1995; Bohn et al. 2006; Hecht and Adams 2010b; da Costa and Dewey 2016; Mai 2018). O FLAIR em T2 poderá permitir a detecção de lesões mais subtis não identificáveis pela ponderação T2 convencional, pelo que deve fazer parte de um protocolo de neurocrânio quando existe a suspeita de doença inflamatória encefálica (Hecht and Adams 2010b). A

sensibilidade da RM para a detecção de meningite isoladamente é considerada baixa (Keehnihan et al. 2013).

Um dos principais diagnósticos diferenciais são as neoplasias, as quais podem produzir imagens extremamente variadas em RM (Cherubini et al. 2005). Por outro lado, algumas doenças inflamatórias, como é o caso da MEG, podem produzir lesões focais confundíveis com neoplasias (Lobetti and Pearson 1996). Num estudo dedicado à diferenciação de doenças encefálicas neoplásicas e não neoplásicas através da RM, levado a cabo por Cherubini et al. (2005), foram erradamente classificados como neoplasia dois casos MEG e duas encefalites bacterianas.

2.3.4.1. O efeito de episódios convulsivos na imagem de RM

Cães com epilepsia idiopática também podem ter alterações na imagem de RM, embora sejam transitórias (Fauser and Tumani 2018). Estas surgem principalmente nos lobos piriformes e temporais, e possivelmente nos olfatórios e frontais, sendo uni ou bilaterais. Revelam-se hiperintensas nas ponderações T2 e hipointensas nas ponderações T1. Pode haver ou não captação de contraste (Mellema et al. 1999; da Costa and Dewey 2016). Após terapêutica anticonvulsiva apenas, estas lesões resolvem parcial ou totalmente após 10 a 14 semanas, sugerindo tratar-se de edema citotóxico ou vasogénico induzido pelos episódios convulsivos (Mellema et al. 1999).

2.4. O líquido cefalorraquidiano (LCR)

O LCR envolve todos os elementos do sistema nervoso central e possui funções nutritivas e protetoras do mesmo. Tem um papel importante, juntamente com os vasos sanguíneos, na regulação da pressão intracraniana (PIC), e funciona como um sistema amortecedor, protegendo o SNC de traumas. Este é responsável por manter controlado, dentro de parâmetros estreitos, o ambiente onde se inserem os tecidos do SNC (Cook and DeNicola 1988).

2.4.1. Produção

A taxa de produção do LCR é significativamente elevada: a totalidade do seu volume é renovada entre três a cinco vezes por dia (de Lahunta et al. 2014; Tumani et al. 2017). A sua produção no cão verifica-se a uma velocidade de cerca de 0.047 mL/min (Kay et al. 1974), e este ritmo de produção elevado sugere que o mesmo seja produzido de forma contínua, independentemente das variações de pressão dentro do sistema ventricular. Apesar de ser independente da pressão sanguínea, a taxa de produção de LCR é afetada pela pressão osmótica do sangue. É por esta razão que, em casos de traumatismo cranioencefálico, se administra manitol com o objetivo de diminuir a pressão intracraniana, pois a administração

endovenosa de soluções hipertônicas leva à diminuição da produção de LCR (de Lahunta et al. 2014).

2.4.2. Indicações para a colheita de LCR

A análise do LCR é sensível na detecção de doença, mas pouco específica, na medida em que à mesma alteração podem ser atribuídas várias causas (Di Terlizzi and Platt 2009). Permite, no entanto, encaminhar o diagnóstico para um grupo de doenças (metabólica, inflamatória, neoplásica) (Tipold 1995; Bohn et al. 2006; Di Terlizzi and Platt 2006), permitindo ao clínico hierarquizar a lista de diagnósticos diferenciais resultante do exame neurológico e imagem de ressonância magnética (Bohn et al. 2006). Apesar das suas limitações, é considerado um teste fundamental no diagnóstico em vida de doenças inflamatórias do SNC, e um importante complemento ao diagnóstico por imagem. Vários estudos têm sugerido que, no caso particular das doenças inflamatórias, a análise do LCR poderá ser mais sensível do que a RM, salientando a importância de realizar estes dois exames em conjunto (Lamb et al. 2005; Bohn et al. 2006).

Este fluido pode ser colhido ao nível da cisterna magna, entre o osso occipital e a primeira vértebra cervical, ou por punção lombar, a nível do espaço intervertebral entre L4 e L5 ou, preferencialmente, L5 e L6 (Platt and Olby 2012).

2.4.3. Variabilidade dos resultados da análise

Em cães saudáveis, o valor de proteína total (PT) do LCR colhido por punção lombar é superior àquele do LCR colhido da cisterna magna, verificando-se a relação inversa com o número de células nucleadas por microlitro (Bailey and Higgins 1985). Relativamente à sensibilidade na detecção de alterações, a maioria dos autores defende que uma colheita efetuada caudalmente à lesão será mais sensível, e fornecerá resultados mais fidedignos (Early et al. 2019). Thomson et al (1990) verificou que, no caso de lesões focais localizadas na coluna toracolombar, apenas 27% dos LCRs recolhidos da cisterna magna estava alterado, por oposição a 88% das amostras recolhidas por punção lombar.

Quanto à quantidade passível de ser colhida, sem perigo para o animal, é cerca de 1mL por cada 5kg de peso. Este mililitro é suficiente para a análise citológica, contagem celular e dosear da proteína total, mas não o é para outras análises, como culturas, eletroforeses ou titulações (Chrisman 1992).

2.4.4. Armazenamento e processamento

As características e composição do LCR tornam-no num meio instável para a conservação das células nele contidas (Chrisman 1992). Com efeito, em poucas horas após a colheita verificam-se alterações significativas no número e morfologia celular, aumentando

o número de células impossíveis de identificar, e diminuindo a percentagem relativa de cada tipo celular (Fry et al. 2006). Bienzle et al. (2000) verificou que 31% das células já não eram passíveis de identificar após 24h de armazenamento a 4°C. Tal pode resultar na incorreta interpretação dos resultados, especialmente para amostras com uma pleocitose leve a moderada (de Graaf et al. 2011).

As várias linhagens celulares não se degradam à mesma velocidade. Segundo Fry et al (2006), os neutrófilos serão o tipo celular mais resistente, e os macrófagos o mais lábil, tendo a sua percentagem relativa significativamente diminuída a partir das duas horas após a colheita. Adicionalmente, a degradação ocorre mais lentamente em amostras com um aumento da concentração de PT, sendo que a probabilidade de adulteração dos resultados é mais baixa para amostras com um valor de PT superior a 50 mg/dL (Bienzle et al. 2000; Fry et al. 2006).

2.4.5. Análise macroscópica: cor e turvação

O LCR, quando normal, é um fluido incolor e translúcido, sendo que qualquer alteração destas características é considerada anormal (Di Terlizzi and Platt 2009). Uma coloração avermelhada ou rosada sugere a presença de sangue, o qual tem origem, muitas vezes, na contaminação iatrogénica da amostra, aquando da colheita. Se, após centrifugação, se observar um sobrenadante translúcido e um sedimento avermelhado, estamos na presença de eritrócitos intactos. Um sobrenadante xantocrómico (amarelado) indica a ocorrência de uma hemorragia mais antiga, com acumulação de oxihemoglobina, bilirrubina ou metahemoglobina após degradação dos eritrócitos. Uma coloração amarelada também pode ser a consequência de um aumento do teor proteico, devido à presença de bilirrubina (que surge conjugada com a albumina) (Cook and DeNicola 1988; Vernau et al. 2008). O aumento do número de células torna o LCR turvo (Chrisman 1992), estando esta alteração macroscópica associada a aumentos graves da contagem celular (Di Terlizzi and Platt 2009; Kent 2012).

2.4.6. Contaminação hemática

A presença de eritrócitos no LCR é sempre considerada anormal e resulta, frequentemente, da contaminação iatrogénica, como consequência de pequenos traumas infligidos pela agulha no momento de colheita (Chrisman 1992), como a penetração nos seios venosos vertebrais dorsais, ou a passagem por pequenos vasos meníngeos (Doyle and Solano-Gallego 2009). Sendo uma fonte de leucócitos, a contaminação hemática teria o potencial de afetar tanto a contagem celular, como alterar o diferencial leucocitário. No entanto, o quanto a contaminação iatrogénica afeta a análise do LCR não é consensual. Apesar de várias tentativas de encontrar fórmulas para a correção do número total de células

com base no número de eritrócitos, ainda nenhuma foi considerada válida (MacNeill et al. 2018) e, para além disso, é possível encontrar eritrócitos em grande quantidade em amostras contaminadas sem se encontrar, no entanto, leucócitos (Vernau et al. 2008). Outros estudos sugerem o contrário, como é o caso daquele levado a cabo por Doyle e Solano-Gallego (2009), em amostras de LCR com contagens celulares baixas (<5 cél/μL). As autoras chegaram à conclusão de que a contaminação hemática (>500 eritrócitos/μL) afetou significativamente a concentração proteica, a percentagem de neutrófilos e a presença de eosinófilos, sugerindo que amostras contaminadas não permitem distinguir doenças inflamatórias do SNC daquelas não inflamatórias.

2.4.7. Contagem total de células

Embora os valores normais possam variar ligeiramente entre laboratórios, considera-se que o normal, em cães, é a existência de menos do que 5 células por microlitro (cél/μL) (Chrisman 1992). Ao aumento do número total de células nucleadas dá-se o nome de pleocitose, e esta alteração está frequentemente associada a doenças inflamatórias do SNC (Bailey and Higgins 1986a; Cook and DeNicola 1988; Chrisman 1992). A magnitude da pleocitose está dependente de vários fatores, relacionados com a gravidade da doença, a sua etiologia e o envolvimento meníngeo (Cook and DeNicola 1988; Vernau et al. 2008). Chrisman (1992) caracteriza-a da seguinte forma: (1) pleocitose ligeira (<50 cél/μL); (2) pleocitose moderada (50-500 cél/μL); e (3) pleocitose grave (>500 cél/μL), embora exista uma grande variabilidade dos valores que se utilizam para classificar a magnitude das pleocitoses. Alguns autores consideram que uma pleocitose é grave quando os valores de células por μL ultrapassam os 100 (Di Terlizzi and Platt 2009), e outros que a partir de 21 células já consideram a pleocitose moderada (Bohn et al. 2006).

A magnitude da pleocitose não está relacionada com o prognóstico (Chrisman 1992). Um exemplo é a MARE, a qual pode estar associada a défices neurológicos evidentes, na sua forma crónica, e contagens celulares superiores a 500 cél/μL (Tipold 1995), e que, no entanto, é uma doença com bom prognóstico, sendo, muitas vezes, possível reverter o estado do animal em poucos dias com a terapêutica adequada (Chrisman 1992; da Costa and Dewey 2016). Na outra face da moeda estão doenças inflamatórias associadas a pouco ou nenhum envolvimento meníngeo, as quais podem relevar contagens celulares baixas (<50 cél/μL) e, ainda assim, ter efeitos devastadores. Um exemplo é a forma aguda da infeção pelo vírus da esgana (Chrisman 1992; Tipold 1995; Vandeveld and Greene 2012).

As neoplasias estão, normalmente, associadas a contagens celulares dentro da normalidade (Dickinson et al. 2006), embora Snyder et al. (2006) tenham realizado a análise de LCR em 51 cães com neoplasias encefálicas primárias, e verificado que 58% dos animais tinha um aumento do número de células nucleadas.

Para além das doenças inflamatórias e das neoplasias, outras causas de pleocitose incluem lesões discais, particularmente no caso de lesões agudas (Thomson et al. 1989), e lesões vasculares, como tromboembolismo fibrocartilágneo e vasculites (Chrisman 1992).

2.4.8. Contagem diferencial de leucócitos

A população celular encontrada no LCR de cães saudáveis é constituída, principalmente, por linfócitos pequenos e monócitos (Christopher et al. 1988; Vernau et al. 2008). Para além destas, é normal a presença de neutrófilos maduros e não degenerados em pequeno número, bem como de agregados de células dos plexos coroides (Cook and DeNicola 1988). A presença de linfócitos grandes, mesmo na presença de uma contagem celular normal, é considerada uma alteração patológica (Di Terlizzi and Platt 2009).

A análise citológica do LCR deve ser efetuada sempre, mesmo não se verificando pleocitose (Cook and DeNicola 1988). Christopher et al. (1988) verificou que cerca de um quarto dos animais cuja contagem celular se encontrava dentro dos valores de referência tinha alterações relevantes, tanto na morfologia como no tipo celular, como a presença de linfócitos grandes ou aumento da percentagem de neutrófilos. Na ausência de contaminação hemática, percentagens de neutrófilos superiores a 10-20% deverão ser consideradas anormais (Chrisman 1992).

Finalmente, a análise citológica é importante uma vez que permite caracterizar o tipo de pleocitose presente, a qual, se interpretada à luz de cada caso clínico, poderá orientar o médico veterinário para um determinado grupo de doenças (inflamatória, neoplásica, degenerativa) ou a hierarquizar a sua lista de diagnósticos diferenciais (Chrisman 1992; Bohn et al. 2006).

2.4.8.1. Pleocitose neutrofílica

Caracteriza-se por uma percentagem elevada (>75%) de neutrófilos na amostra (Chrisman 1992). Esta alteração ocorre associada a múltiplos processos, incluindo doenças inflamatórias, traumas, hemorragias e neoplasias (Cook and DeNicola 1988).

Doenças inflamatórias de origem bacteriana surgem associadas a uma pleocitose neutrofílica grave, constituída por neutrófilos degenerados, associados ou não a bactérias (Kent 2012). A administração recente de antibióticos pode adulterar estes resultados, diminuindo o número total de células, e alterando o seu tipo e morfologia – os neutrófilos surgem não degenerados (Vernau et al. 2008) e podem deixar de ser o tipo celular principal, em detrimento das células mononucleares. Estes casos poderão ser difíceis de distinguir de doenças inflamatórias não infecciosas, ou mesmo de doenças neoplásicas (Chrisman 1992; Di Terlizzi and Platt 2009).

A MARE é uma doença frequentemente associada a pleocitoses exuberantes (>500 cél/μL) com percentagens de neutrófilos entre 75 e 100%. Ao contrário das meningites bacterianas, estes neutrófilos encontram-se não degenerados (Chrisman 1992).

Outra possível causa de pleocitose neutrofílica é uma neoplasia intracraniana. Os meningiomas foram, no passado, associados a uma pleocitose neutrofílica moderada a grave (Bailey and Higgins 1986b). No entanto, um estudo mais recente verificou que não só 70% dos casos de meningioma não apresentaram aumento do número de células, e apenas se verificou predominância de neutrófilos em menos de 20% dos casos (Dickinson et al. 2006).

2.4.8.2. Pleocitose monocítica

A pleocitose monocítica caracteriza-se por um aumento da percentagem de linfócitos e/ou monócitos/macrófagos (Di Terlizzi and Platt 2009). Uma pleocitose moderada a grave, com uma percentagem de linfócitos superior a 60% pode estar associada a doenças infecciosas de origem viral, como a esgana e raiva, de origem bacteriana (especialmente após antibioterapia) (Kent 2012) ou a doenças sem cariz infeccioso, como a MARE na sua forma crónica (Tipold and Jaggy 1994), a MEG (Bailey and Higgins 1986a) e a MEN (Cordy and Holliday 1989). O sarcoma histiocítico pode levar a uma pleocitose monocítica com predominância de monócitos (Tamura et al. 2009).

Outras doenças que podem levar a uma pleocitose monocítica incluem a toxoplasmose, erliquiose (Kent 2012), meningoencefalites fúngicas (Bohn et al. 2006) e ainda hérnias discais crónicas (Vernau et al. 2008).

2.4.8.3. Pleocitose eosinofílica

Em caso de inflamação do SNC, os eosinófilos são uma pequena fração das células observadas, geralmente não mais de 4% (Smith-Maxie et al. 1989), podendo estar presentes em diversos processos inflamatórios e constituindo um achado inespecífico. A presença de eosinófilos em maior percentagem (>10%) pode estar associada a agentes como *Cryptococcus neoformans* e *Neospora caninum* (Tipold 1995; Vernau et al. 2008; Windsor et al. 2009) ou não apresentar nenhuma causa evidente, sugerindo a presença de um processo inflamatório autoimune, possivelmente desencadeado por um agente ainda não identificado, denominando-se meningoencefalite ou meningoencefalomielite eosinofílica idiopática (Bennett et al. 1997).

2.4.8.4. Pleocitose mista

A inexistência de um tipo celular predominante recebe o nome de pleocitose mista, e pode estar associada a variados processos patológicos, tanto inflamatórios, como traumáticos e vasculares (Chrisman 1992; Bohn et al. 2006). A doença inflamatória mais comumente

associada a este tipo de pleocitose é a MEG (Di Terlizzi and Platt 2009), embora se devam considerar outros diagnósticos diferenciais, como a neosporose (Cuddon et al. 1992), a MEN (Stalis et al. 1995) e a fase crónica da MARE (Tipold and Jaggy 1994).

2.4.8.5. Células tumorais

A presença de células tumorais descamadas no LCR pode acontecer com qualquer tumor, embora seja mais comum com tumores dos plexos coroides, linfomas e sarcomas histiocíticos (Snyder et al. 2006; Westworth et al. 2008; Tamura et al. 2009; Miller et al. 2019). Ainda assim, o diagnóstico de tumores intracranianos através da visualização de células tumorais no LCR é algo raro (Vernau et al. 2008).

2.4.9. Proteínas totais, quota de albumina e eletroforese das proteínas

Como visto anteriormente, o LCR é muito menos proteico do que o sangue, tanto que o teor em proteínas do primeiro é quantificado em mg/dL, enquanto as proteínas totais (PT) do plasma são normalmente quantificadas em g/dL (de Lahunta et al. 2014). Para além disso, como é mencionado anteriormente, o intervalo de referência para o valor de PT do LCR depende do local de recolha, sendo que valores até 30-40 mg/dL são considerados normais para uma amostra recolhida na cisterna magna mas, nas amostras colhidas por punção lombar, consideram-se normais valores de proteína de até 40-45 mg/dL (Cook and DeNicola 1988; Chrisman 1992; Early et al. 2019). Num estudo retrospectivo em 220 cães com doença inflamatória do SNC, verificou-se um aumento das PT do LCR em 71% dos casos, sendo os valores mais elevados atribuídos à MARE (Tipold 1995). Outras doenças do SNC que podem levar a um aumento das PT incluem lesões discais e neoplasias (Bohn et al. 2006; Ródenas et al. 2011).

O aumento da concentração de proteínas no LCR pode resultar de vários mecanismos fisiopatológicos, como a obstrução ao fluxo do líquido por uma lesão que exerce efeito de massa, a perda de integridade da BHE e a produção intratecal de imunoglobulinas (Chrisman 1992), que consiste na produção de imunoglobulinas dentro do SNC, como consequência da infiltração deste por plasmócitos (Tipold et al. 1993). Este aumento está, normalmente, associado a pleocitose, mas, por vezes, tal não se verifica, sendo esta condição denominada dissociação albuminocitológica (Di Terlizzi and Platt 2009). Esta dissociação pode resultar da produção intratecal de imunoglobulinas que ocorre em encefalites virais (Chrisman 1992) ou ocorrer associada a processos neoplásicos (Ródenas et al. 2011).

O teste de Pandy é um teste passível de ser utilizado no CAMV que permite averiguar a presença de globulinas, e consiste na adição de uma gota de LCR a 1mL de reagente de Pandy. A solução tornar-se-á turva se se verificar um aumento da quantidade de globulinas

no LCR (Cook and DeNicola 1988; Chrisman 1992), com uma sensibilidade para cerca de 50 mg/dL (Di Terlizzi and Platt 2009).

É possível investigar alterações das proteínas do LCR de uma forma mais detalhada, e possivelmente caracterizar melhor o mecanismo fisiopatológico subjacente, ou seja, averiguar se existe uma ruptura da BHE, produção intratecal de imunoglobulinas, ou uma junção dos dois (Bichsel et al. 1984). Uma vez que a albumina presente no LCR tem sempre origem no plasma sanguíneo, um aumento da mesma pressupõe uma alteração da BHE (Vernau et al. 2008). A percentagem de albumina no LCR de animais normais varia entre 30 e 70% (Chrisman 1992; Di Terlizzi and Platt 2006), sendo que o seu valor pode variar dentro de níveis fisiológicos de acordo com a albumina plasmática. É possível calcular o quociente de albumina (QA), através do cálculo do rácio entre a albumina no LCR e a albumina no plasma sanguíneo. O valor normal deste parâmetro encontra-se entre 0.17 e 0.3, e o aumento deste rácio é causado pela ruptura da BHE, com passagem de albumina para o LCR (Chrisman 1992; Di Terlizzi and Platt 2009). Aumentos da QA verificam-se em doenças inflamatórias, tanto infecciosas como não, algumas neoplasias e, ainda, em casos de lesões discais (Chrisman 1992; Behr et al. 2006). Apesar disto, Behr et al. (2003) verificaram uma correlação forte entre o valor de PT do LCR e a QA, sugerindo que este segundo parâmetro não é indispensável na avaliação da integridade da BHE, e que o valor de PT por si só poderá ser suficiente. Adicionalmente, o cálculo da QA não se revelou útil na distinção entre os vários grupos de doenças estudados (doenças infecciosas, doenças inflamatórias não infecciosas, doenças neoplásicas e outras) (Behr et al. 2003).

Outra forma de caracterizar um aumento da concentração proteica do LCR é a eletroforese das proteínas. Enquanto as alfa-globulinas têm sempre origem no sangue, as beta e gama-globulinas não, pelo que o seu aumento, se não acompanhado de um aumento das alfa-globulinas, sugere que o processo patológico poderá não ter afetado a integridade da BHE (Chrisman 1992). Por exemplo, cães infetados pelo vírus da esgana não raro apresentam um aumento das gama-globulinas no LCR (Vernau et al. 2008). Se tal estiver associado a uma QA normal, então essas gama-globulinas serão o resultado de produção intratecal (Tipold 1995).

2.4.9.1. Imunoglobulinas

É normal a presença de uma pequena quantidade de IgG no LCR de cães saudáveis, enquanto IgA e IgM raramente são detetadas. Os níveis de IgG considerados normais dependem da quantidade de IgG no plasma sanguíneo. Assim, à semelhança da QA, é mais interessante a análise do rácio de IgG, que relaciona a quantidade existente no LCR e no sangue, do que o valor destas imunoglobulinas apenas no LCR. Este calcula-se dividindo a concentração de IgG no LCR pela plasmática e, por sua vez, a divisão do rácio de IgG pela

QA permite obter o índice de IgG (Chrisman 1992). Tipold et. al (1993) consideram que valores de índice de IgG superiores a 2,8 confirmam que o aumento de IgG no LCR se deva à produção intratecal, por oposição a uma disrupção da BHE, e que valores situados entre 1,3 e 2,8 aumentam a suspeita de que nos encontramos perante uma doença inflamatória.

A produção intratecal de IgG é típica das doenças inflamatórias do SNC (Tipold et al. 1993), e pode constituir um dado importante, especialmente no caso de quadros crónicos associados a uma contagem celular normal ou apenas ligeiramente aumentada (Chrisman 1992). Uma exceção a esta regra é a forma aguda da esgana, já que a infiltração por células inflamatórias é característica da forma crónica desta doença (Tipold et al. 1993). Finalmente, apesar de o aumento do índice de IgG estar muito associado a doenças inflamatórias, pode ser observado, embora não frequentemente, em quadros neoplásicos, sugerindo uma componente inflamatória associada (Chrisman 1992; Tipold et al. 1993).

Já que a IgG é a única globulina detetada no LCR de animais saudáveis, a presença de IgM poderá ter importância clínica (Chrisman 1992). De facto, está reportada a deteção destas imunoglobulinas no LCR de cães com encefalite causada pelo vírus da esgana, mesmo na sua forma crónica. (Tipold et al. 1994). Este é um achado interessante, uma vez que a IgM é característica da fase inicial da resposta humoral (Day and Schultz 2014), verificando-se, posteriormente, um desvio de IgM para IgG, cuja concentração se mantém elevada durante períodos mais longos. O facto de se detetar IgM no LCR de animais com doenças crónicas (Tipold et al. 1994) sugere que este desvio poderá não ocorrer no sistema nervoso dos cães, algo que também ainda não se verificou na espécie humana (Felgenhauer and Schädlich 1987).

A terceira imunoglobulina passível de estar presente no LCR é a IgA. Esta é encontrada em maiores quantidades no LCR de cães com MARE (Tipold and Jaggy 1994), mas também em casos encefalite secundária a esgana e MEG (Tipold et al. 1994).

2.4.9.1.1. Autoanticorpos

Tem-se vindo a identificar autoanticorpos no SNC de cães, dirigidos contra astrócitos. Uchida et al. (1999) identificou a presença destes anticorpos no LCR e plasma de cães com MEN e, mais tarde, estes foram identificados noutras doenças do SNC, tanto inflamatórias como tumorais (Matsuki et al. 2004). Matsuki et al. (2004) verificaram que, dentro das doenças inflamatórias, os títulos mais elevados (1:10 ou superiores) estão associados à MEN e MEG, enquanto apenas se encontraram anticorpos em 1 dos 11 casos de esgana e 1 dos 10 casos de MARE e, em ambos os casos, em títulos baixos (1:1). O mesmo estudo também refere a presença de autoanticorpos em casos de tumores, embora em títulos relativamente baixos.

2.4.9.1.2. Anticorpos contra agentes infecciosos

A pesquisa de anticorpos específicos contra agentes infecciosos deve, idealmente, ser efetuada em amostras emparelhadas de soro e LCR, já que a quantidade de IgG encontrada no segundo depende daquela no sangue, bem como da integridade da BHE (Chrisman 1992). Para além disso, um aumento de anticorpos no LCR pode ser secundário à contaminação com sangue (Vandeveldel and Greene 2012). Assim, pode calcular-se um “índice de anticorpos” específico para um determinado antigénio, à semelhança daquilo que se faz para a IgG (Di Terlizzi and Platt 2009).

Um aumento dos anticorpos contra o vírus da esgana presentes no LCR prova que a encefalite é secundária à infeção por este vírus, pois tal não se verifica quer em animais vacinados, quer em animais com sinais sistémicos de esgana mas sem sinais neurológicos (Vandeveldel and Greene 2012).

2.4.10. Cultura do LCR

As culturas bacterianas de LCR deverão ser consideradas quando se observam neutrófilos degenerados, com ou sem bactérias associadas, durante a avaliação citológica, e, também, em animais que apresentem febre e/ou leucocitose com neutrofilia associados à sintomatologia neurológica (Chrisman 1992). No entanto, a obtenção de culturas bacterianas positivas a partir do LCR de animais com meningoencefalites bacterianas é difícil (Tipold 1995; Radaelli and Platt 2002).

É possível realizar culturas fúngicas, embora a concentração de organismos possa não ser suficiente para se obter crescimento (Chrisman 1992).

2.4.11. PCR

É possível a pesquisa de antigénios bacterianos por PCR, havendo permitido diagnosticar pelo menos um caso de meningoencefalite bacteriana cuja cultura de LCR havia sido negativa (Messer et al. 2008). Para além de bactérias, pode detetar-se a presença de antigénios de origem viral (vírus da esgana) (Vandeveldel and Greene 2012) ou diagnosticar-se protozoonoses, como a toxoplasmose ou a neosporose (Schatzberg et al. 2003).

2.4.12. Alterações do LCR após episódios convulsivos

É possível a existência de pleocitose após a ocorrência de episódios convulsivos. Trata-se, no entanto, de um evento relativamente raro e transitório (Fauser and Tumani 2018). Neste sentido, aconselha-se a investigação de uma causa subjacente a alterações do LCR de pacientes convulsivos (Barry and Hauser 1994). Ainda assim, pode ser desafiante distinguir

se as alterações encontradas no LCR de um animal com convulsões se devem a uma afeção subjacente ou se são uma consequência direta do episódio convulsivo (Vernau et al. 2008)

Num estudo em 200 cães com suspeita de epilepsia idiopática, apenas 30 (15%) tinha alterações do LCR, do quais apenas 14 tinha pleocitose, com uma média de 6 cél/ μ L, sempre monocítica. Esses 30 casos foram, ainda assim, classificados como epilepsia idiopática, e pelo menos 20 deles mostraram melhorias na frequência dos episódios convulsivos após terapêutica anticonvulsiva, num período médio de acompanhamento de 32 meses (Coelho et al. 2019). Neste mesmo estudo, na maioria dos casos de LCR anormal, este havia sido colhido mais de uma semana depois da última convulsão.

3. Material e métodos

3.1. Recolha de dados e critérios de inclusão

Os dados utilizados na elaboração deste trabalho tiveram origem nos relatórios dos exames de ressonância magnética realizados no Centro de Imagem Montenegro, no Porto, entre 2017 e 2021. Trata-se de um centro essencialmente de referência, não tendo como principal propósito o seguimento de casos a longo prazo. Foi efetuada uma pesquisa na base de dados interna dos relatórios, de modo a compilar os casos que cumprissem os seguintes critérios: (1) imagem compatível com a presença de lesões inflamatórias encefálicas ou (2) imagem de RM sem alterações. Destes, recolheram-se os relatórios de RM referentes aos animais com a indicação de que se havia realizado colheita de LCR no centro. Dessa pesquisa resultaram 189 casos. O processo de seleção encontra-se resumido na figura 2.

Dos casos que cumpriam os requisitos inicialmente estabelecidos, eliminaram-se 18 por não ter sido possível encontrar o relatório referente à análise citológica do LCR. Depois, eliminaram-se 5 casos nos quais a contaminação hemática do LCR foi considerada grave pelo patologista. Apesar de não ser consensual o efeito da contaminação hemática, a exclusão destes casos visou minimizar os seus possíveis efeitos.

O principal motivo de exclusão foi a elevada probabilidade de se tratar de epilepsia idiopática, havendo-se excluído 88 animais por esta razão. Trata-se de animais entre os 6 meses e os 6 anos, submetidos a exame de imagem por um ou mais episódios convulsivos, sem outros sinais neurológicos relatados, cujo exame de imagem não revelou quaisquer alterações, e cujo LCR apresentava características normais. Entre estes, existem alguns casos com alterações na RM que, muito provavelmente, se tratavam alterações transitórias pós-ictais, como é o caso de regiões de hiperintensidade em T2 na região dos lobos piriformes, as quais podem ser uni ou bilaterais. Adicionalmente, e uma vez que se desconhece o tempo decorrido entre o último episódio convulsivo e o exame de imagem e colheita de LCR, foram também excluídos casos que apresentavam apenas ligeiras alterações

no líquido, associadas a um exame de imagem perfeitamente normal, uma vez que pleocitoses monocítica e mistas leves a moderadas poderão ser transitórias no período que se segue à convulsão (Barry and Hauser 1994; Fauser and Tumani 2018; Coelho et al. 2019).

Foram, ainda, excluídos 2 casos nos quais a possibilidade de se tratar de uma afeção metabólica era significativa. Em ambos os casos, a imagem revelou a presença de lesões bilaterais e simétricas, a nível da substância branca periventricular, hiperintensas em T2 e sem captação de contraste, características muito sugestivas de doença metabólica encefálica (Hecht and Adams 2010b).

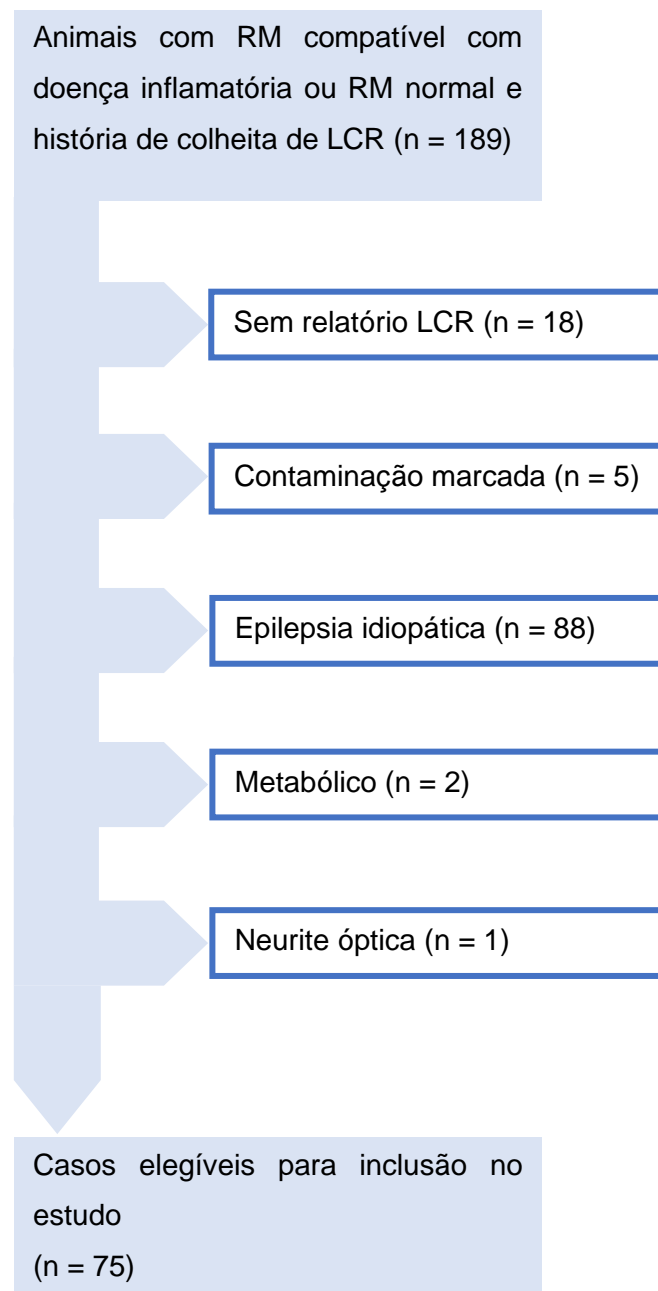


Figura 2: Processo de exclusão dos casos.

Finalmente, foi excluído um caso de neurite óptica unilateral, por se ter considerado como não sendo uma estrutura encefálica, apesar de o nervo óptico ser o único nervo periférico envolvido por LCR, e, portanto, poder ser considerado uma extensão do sistema nervoso central (de Lahunta et al. 2014).

No final do processo de seleção, foram considerados 75 casos elegíveis para fazer parte do estudo.

Tratando-se de um estudo retrospectivo, a informação referente a cada caso incluído neste trabalho foi aquela que constava nos relatórios de RM e nos relatórios de análise do LCR, não contando com informações acerca da história pregressa, nem com informações relativas ao acompanhamento a longo prazo dos animais. O relatório do exame de RM continha informação relativa à identificação do animal (idade, raça e género), ao motivo do exame (apontado pelo colega referente), e aos dados imagiológicos, contando com uma descrição das estruturas encefálicas do animal (quer estejam alteradas ou não), acompanhadas por imagens representativas das mesmas.

Já os relatórios da análise citológica do LCR, elaborados por dois laboratórios externos, contavam com uma descrição das características físicas do líquido (turvação, cor), os valores referentes à contagem celular (expresso em células nucleadas por μL) e à quantificação das proteínas totais (expresso em mg/dL), o resultado do teste de Pandy (positivo ou negativo), uma breve descrição do exame citológico e uma conclusão por parte do patologista.

3.2. Preparação dos animais para o exame de RM

No dia do exame, recomendou-se a realização de jejum de cerca de 6 a 8 horas. À chegada, foi colocada uma via endovenosa para a administração dos fármacos destinados à pré-medicação e indução anestésicas. A pré-medicação consistiu, por norma, na combinação de um opióide com uma benzodiazepina. Os opioides utilizados foram a metadona (Semfortan 10mg/mL, 0,2 mg/kg IV), o butorfanol (Dolorex 10mg/kg, 0,2 mg/kg IV) e a buprenorfina (Buprecare 0,3mg/mL, 0,015 mg/kg IV). A benzodiazepina de escolha foi o midazolam (Midazolam 5mg/mL, 0,2mg/kg IV). Finalmente, a indução foi realizada com propofol (Propofol-Lipuro 10mg/mL, 1-4mg/kg e *ad effectum*), e a manutenção anestésica com isoflurano (IsoVet® 100mg/g).

Este protocolo foi adaptado a cada caso, sendo o opióide selecionado consoante o grau de dor do animal, por exemplo. Além disso, em caso de alteração do estado mental poderá não ser necessário realizar pré-medicação, uma vez que existe uma depressão pré-existente do SNC.

3.3. Realização do exame RM

Todos os exames de RM foram realizados utilizando uma máquina com um ímã de 0,25T (Vet-MR Grande; Esaote; Itália), ou seja, de baixo campo. Para o estudo do encéfalo, os animais foram posicionados em decúbito esternal (Figura 3), e o médico veterinário escolheu a antena que melhor se adequava ao tamanho da cabeça do animal (Figura 4). O desejável é utilizar a antena mais estreita na qual caiba o crânio do animal, de forma a posicionar os detetores mais próximos da estrutura anatômica a estudar, com o objetivo de maximizar o sinal com origem nas mesmas, e minimizar o artefacto. Para tal, o Centro de Imagem Montenegro dispõe de 4 antenas diferentes passíveis de ser utilizadas em estudos de neurocrânio (Figura 4).

Figura 3: Posicionamento correto de um cão para o estudo de neurocrânio. (Fonte: a autora, no Centro de Imagem Montenegro)



Durante o exame, os animais foram mantidos a fluidoterapia. Para além disso, já que o exame tem uma duração de, pelo menos, 45 minutos, é aplicado um gel oftálmico com efeito lubrificante (Lacryvisc) de forma a diminuir o risco de desidratação e ocorrência de lesões na córnea.

Todos os estudos realizados incluíram ponderações T1 (pré e pós administração de contraste), T2 e T2-FLAIR. Os planos escolhidos podem ter sofrido ligeiras variações entre exames embora, por norma, se tenham obtido os planos dorsal e transversal para as ponderações T1, tanto pré como pós administração de contraste, os planos sagital, dorsal e transversal para as ponderações T2, e ainda um plano transversal da ponderação T2-FLAIR.

O produto de contraste utilizado, o mesmo para todos os exames, foi o gadolínio, composto paramagnético administrado sob a forma de ácido gadotérico (Dotarem® 0,5

mmol/mL, 0,2mL/kg IV). Este foi administrado por via endovenosa e de forma manual, imediatamente antes da aquisição das ponderações em T1 pós-contraste.

3.4. Colheita de LCR

A colheita de LCR foi efetuada no seguimento da realização do exame de RM. Todas as amostras foram colhidas da cisterna magna. Os animais, ainda sob efeito da anestesia geral necessária para o exame de RM, foram posicionados em decúbito lateral direito, e um ajudante foi colocado do lado oposto ao médico que realizou a colheita, de modo a segurar o chanfro do animal, estabilizando o pescoço e, simultaneamente, provocando uma ventroflexão do mesmo. Desta forma, ao provocar a flexão da articulação atlanto-occipital, maximiza-se o espaço entre o occipital e a primeira vértebra cervical, facilitando o acesso à cisterna magna. De modo a evitar infeções iatrogénicas, a assepsia foi essencial durante o procedimento, pelo que foi realizada a tricotomia e preparação assética da região a puncionar. A colheita foi realizada utilizando agulhas especializadas para o efeito, do tipo Spinocan (Braun®) de 40mm ou 75mm, ambas com 22G. Estas possuem um estilete de forma a impedir a inserção de um cilindro de epiderme no espaço subaracnoideu.

Após a preparação do local, o operador localizou os processos transversos de C1 (asas do atlas) com o polegar e o dedo médio, e coloca o dedo indicador na protuberância do osso occipital, formando um triângulo. O local de punção deverá ser no centro deste triângulo, na linha média, onde é possível sentir uma ligeira depressão. Ao inserir a agulha, esta deve avançar lentamente, à medida que se retira e recoloca o estilete para averiguar a saída de



Figura 4: Antenas de RM passíveis de ser utilizadas em estudos de neurocrânio, de diferentes tamanhos. (Fonte: a autora, no Centro de Imagem Montenegro)

LCR. Frequentemente, foi possível sentir a passagem através da dura-máter, como um “pop” ao perfurar uma membrana fibrosa, embora esta sensação não deva ser sobrevalorizada, sob risco de introduzir a agulha demasiado profundamente. Uma vez no local pretendido, o operador remove o estilete e recolhe a quantidade necessária de líquido para um tubo seco de plástico. Para colher o LCR, deixou-se pingar a quantidade pretendida para dentro do tubo, nunca utilizando uma seringa para acelerar o processo.

3.5. Análise do LCR

As amostras colhidas foram enviadas para o laboratório externo no dia da colheita, sendo analisadas nas 12 a 24 horas seguintes. Todas as amostras foram enviadas para o mesmo laboratório externo (Cedivet) à exceção de quatro, analisadas num outro local (DNAtech). Em ambos os laboratórios, a contagem celular foi realizada utilizando a máquina ADVIA 2120i (Siemens), e a determinação da concentração de proteínas totais foi realizada utilizando o método do vermelho de pirogalol.

Aquando da análise dos relatórios, pela autora, do presente trabalho, o LCR foi considerado inflamatório caso possuísse mais do que 5 cél/ μ L e/ou valores de PT superiores a 30 mg/dL (Di Terlizzi and Platt 2006). Adicionalmente, os casos foram divididos em subgrupos consoante o valor quer da pleocitose, quer do aumento do teor proteico. Uma vez que não existe uma classificação padrão para estes parâmetros, optou-se por seguir aquela descrita por Bohn et al. (2006). Assim, os casos foram classificados da forma descrita na tabela 2:

Tabela 2: Critérios de classificação da pleocitose e valor de PT quanto à sua magnitude.

Pleocitose (cél/ μ L)	Classificação	PT (mg/dL)
6-20	Leve	30-50
21-500	Moderada	50-200
>500	Grave	>200

Fonte: Bohn et al. (2006)

3.6. Tratamento de dados

Após recolhidos os casos e excluídos aqueles que não cumpriam os critérios estabelecidos, a informação foi reunida numa folha de Microsoft Office Excel®, registando os dados referentes à sinalização, às características de interesse relativamente às imagens de RM (lesão focal vs. multifocal, a localização, a presença ou não de efeito de massa, a intensidade de sinal nas ponderações escolhidas e a caracterização da captação de contraste) e aos resultados da análise do LCR, descritos acima. As variáveis incluídas neste estudo encontram-se compiladas na tabela 3.

Tabela 3: Variáveis sob estudo

Sinalização	Idade	Anos
	Sexo	Fêmea / Macho
	Raça	-
Dados relativos à RM	RM alterada	Sim / não
	Lesão prosencefálicas	Sim / não
	Lesão no tronco cerebral	Sim / não
	Lesão no cerebelo	Sim / não
	Lesão nas meninges	Sim / não
	Hipersinal em T2	Sim / não
	Hipersinal em T2-FLAIR	Sim / não
	Efeito de massa	Sim / não
	Captação de contraste	Sim / não
	Dados relativos à análise do LCR	LCR alterado
Valor da pleocitose		Leve / moderada / grave
Tipo de pleocitose		Mista / monocítica / neutrofílica / eosinofílica
Valor do aumento de proteína		Leve / moderado / grave
Teste de Pandy		Positivo / negativo

No que toca à localização das lesões, o diencéfalo foi contemplado juntamente com os hemisférios cerebrais, denominado prosencéfalo, ao invés de ser incluído na localização “tronco cerebral”. Esta escolha deve-se à estreita ligação anatómica e funcional que possui com o cérebro propriamente dito (telencéfalo). Quanto à distribuição, as lesões foram consideradas multifocais quando se identificaram focos lesionais distintos e focais quando apenas se identificou um foco lesional, de limites moderadamente a bem definidos. As lesões difusas foram aquelas para as quais pode não ser possível identificar vários focos lesionais, mas cuja extensão e limites mal definidos não as permitem classificar como focais. Estas últimas foram agrupadas com as lesões multifocais. A figura 5 ilustra os três tipos de lesões, quanto à sua distribuição.

O hipersinal em T2 e T2-FLAIR caracteriza-se por um aumento de intensidade da lesão nestas ponderações, quando comparada com a intensidade do parênquima encefálico normal. A captação de contraste traduz-se num aumento de sinal da lesão, mais ou menos grave, nas ponderações T1 após a administração de produto de contraste, quando comparadas com a ponderação T1 pré-contraste (figura 6). Considerou-se que as lesões exerciam efeito de massa quando se observou um desvio da linha média no sentido oposto à lesão, quando se observou o desvio ou compressão de estruturas circundantes, ou alterações na conformação do sistema ventricular (assimetria, alteração da forma dos ventrículos) atribuíveis à presença de uma lesão compressiva (figura 7).

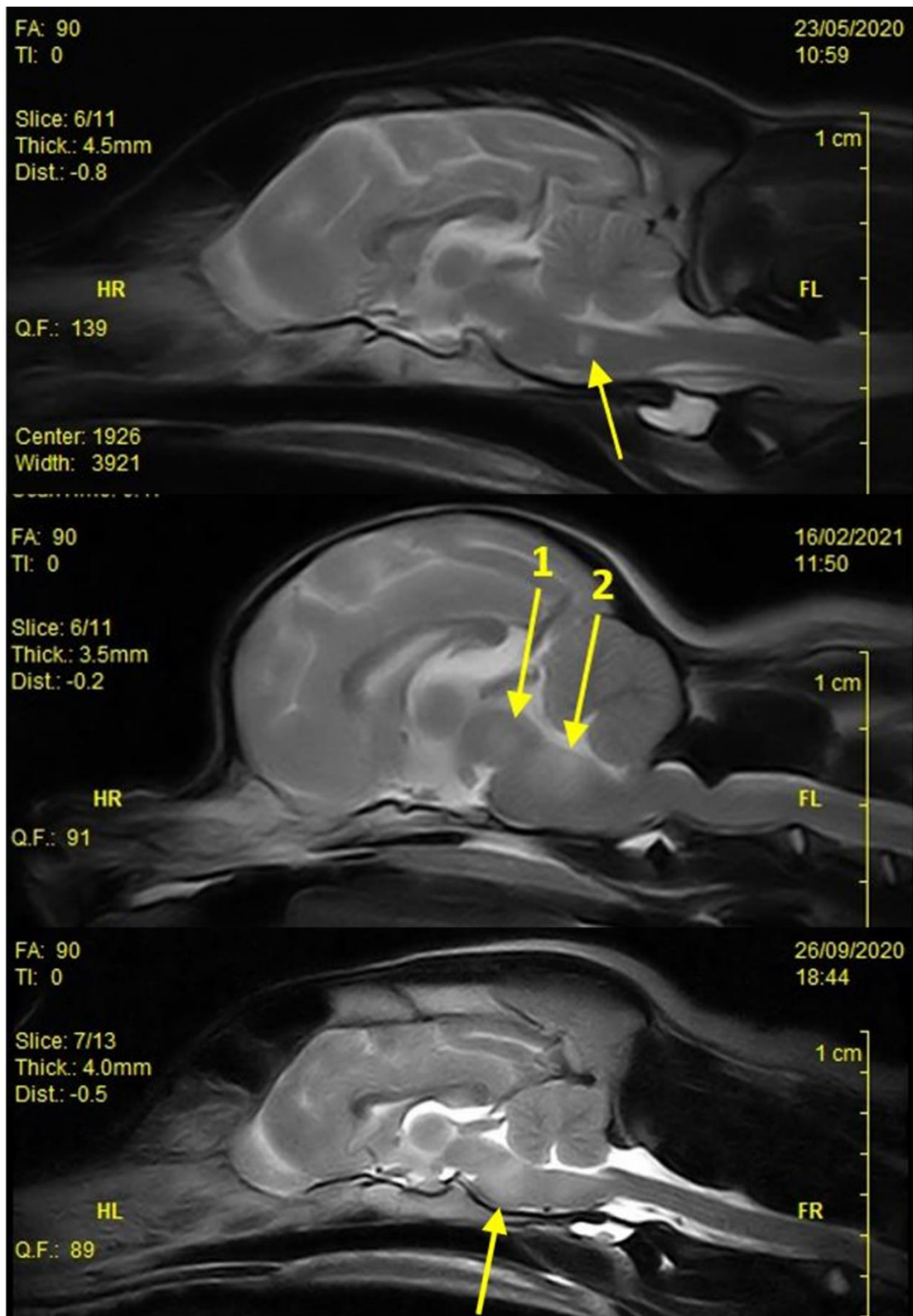


Figura 5: Imagens de RM, ponderadas em T2, obtidas no plano sagital mediano. Em cima: Lesão focal, hiperintensa em T2-W, localizada ao nível da medula oblonga. No centro: lesão multifocal, sendo visíveis dois focos lesionais distintos, hiperintensos em T2-W localizados no mesencéfalo (1) e na ponte e medula oblonga (2). Em baixo: Lesão difusa, de limites mal definidos, hiperintensa em T2-W, localizada ao longo do mesencéfalo, ponte e medula oblonga.

3.7. Análise estatística

A totalidade da análise estatística foi efetuada utilizando o programa estatístico R (R statistical package, versão 4.1.0; The R Foundation for Statistical Computing) e a extensão R Commander. Primeiramente, procedeu-se a uma análise descritiva da amostra, apresentando as frequências absolutas e relativas para as variáveis qualitativas e, no caso dos parâmetros qualitativos (idade, contagem celular e teor de proteínas), os valores máximo e mínimo, bem como a média. Em segundo lugar, com o objetivo de averiguar a presença de associações entre as variáveis qualitativas realizou-se o teste de Fisher. Considerou-se a presença de significância estatística quando o valor de p se revelou inferior a 0,05. Finalmente calculou-se o Odds Ratio para duas das associações encontradas através do teste anterior.

A pesquisa por associações entre as variáveis realizou-se comparando sucessivamente cada característica da imagem (RM alterada vs. normal; localização das lesões; características das lesões na imagem; distribuição das lesões) com as alterações de interesse na análise do LCR (LCR alterado vs. normal; valor da pleocitose; tipo de pleocitose; valor do aumento de PT).

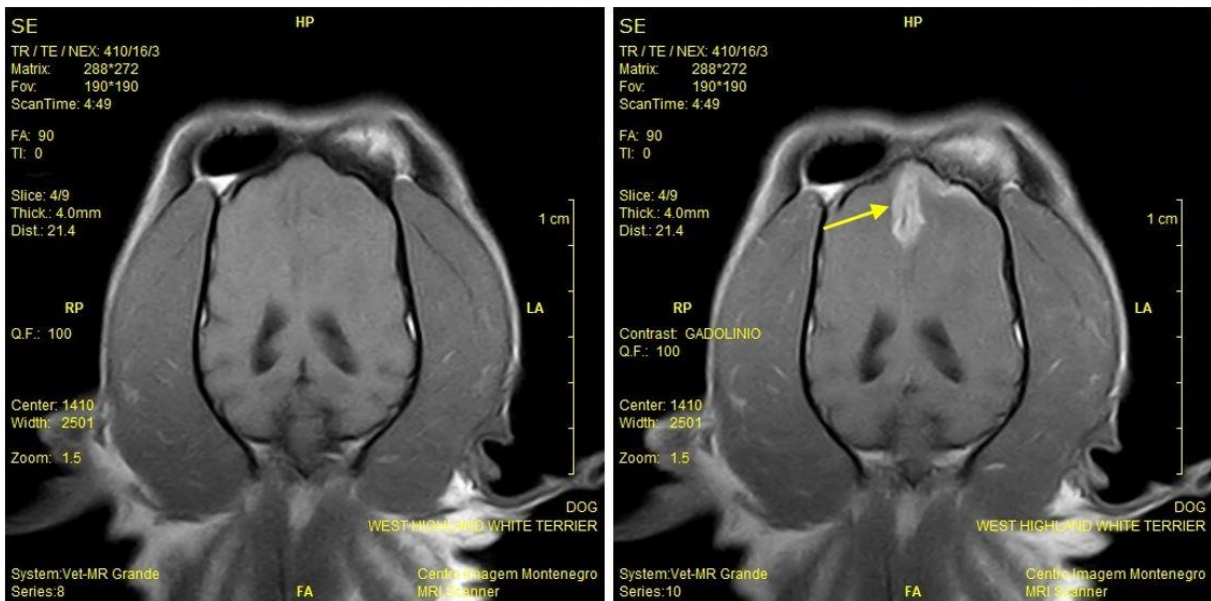


Figura 6: Imagens de RM, correspondentes ao mesmo animal, ponderadas em T1, obtidas no plano dorsal. À esquerda: imagem obtida antes da administração de produto de contraste, não sendo visível qualquer alteração. À direita: imagem obtida após a administração de produto de contraste, sendo visível captação ao nível das meninges dos lobos frontais e ainda do lobo parietal esquerdo (seta).

4. Resultados

4.1. Análise descritiva da amostra

Os 75 casos que constituem a amostra incluem 41 fêmeas (54,7%) e 34 machos (45,3%), com idades compreendidas entre os 3 meses e os 13 anos, e uma média de idade de 5,2 anos. No que diz respeito à raça, observou-se um predomínio de raças pequenas, que correspondem a 54,7% (41/75) da amostra. A raça mais frequente afetada foi o buldogue francês, com 11 casos (14,7%), seguida do pinscher, com 7 casos (9,33%), e dos Yorkshire Terriers, Chihuahuas e Labrador Retrievers, as três representadas por 5 casos cada (6,7%). A restante amostra incluiu 20 raças diferentes, e ainda treze animais sem raça definida (17,3%).

A maioria dos animais neste estudo contava com alterações patológicas na ressonância magnética, havendo esta sido considerada alterada em 90,6% (68/75) dos animais. No que diz respeito à localização das lesões, o local mais comumente afetado foi o prosencéfalo, apresentando lesões em 72% dos animais (54/75), seguido do tronco cerebral, alterado em 26,7% (20/75). As meninges surgiram alteradas em apenas 17,3% (13/75) e o cerebelo em 9,3% (7/75). Dos animais com lesões visíveis em RM (n=68), 60,3% (41/68) apresentava lesões multifocais ou difusas, sendo que os restantes 39,7% (27/68)

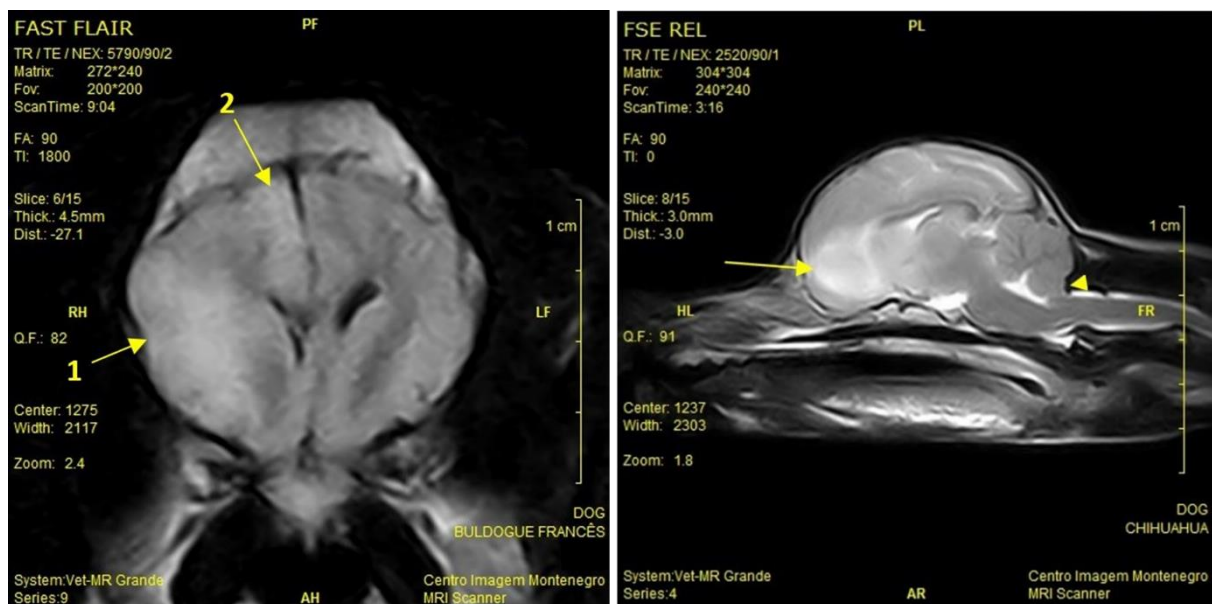


Figura 7: À esquerda: Imagem de RM na ponderação T2-FLAIR, obtida no plano transversal ao nível dos hemisférios cerebrais evidenciando duas lesões hiperintensas, localizadas ao nível do lobo temporal (1) e frontal (2) direitos, que provocam efeito de massa. Esta compressão das estruturas adjacentes resulta num desvio da linha média à esquerda, bem como numa alteração da forma da secção transversal do ventrículo lateral direito, que surge achatado e desviado à esquerda. À direita: Imagem de RM ponderada em T2, obtida num plano sagital à esquerda da linha média. Identifica-se uma lesão de grandes dimensões (não visível na íntegra), hiperintensa, que afeta todos os lobos do hemisfério cerebral esquerdo. Esta lesão exerce efeito de massa, visível nesta imagem através da herniação cerebelar caudal, ou seja, passagem de parte do cerebelo através do forâmen magno (cabeça de seta).

apresentavam lesões focais. Ainda sobre estes 68 animais, 92,7% (63/68) apresentava lesões hiperintensas em T2 e T2-FLAIR, 47,1% (32/68) tinha lesões captantes de contraste, e 30,9% (21/68) destas lesões exercia efeito de massa.

Relativamente à análise do LCR, 74,7% (56/75) das amostras foram classificadas como contendo alterações indicativas de um processo inflamatório (células > 5 cél/ μ L e/ou PT > 30 mg/dL). O valor de células estava disponível para 93,3% (70/75) dos casos, dos quais 71,4% (50/70) eram superiores ao limite normal, e foram considerados como casos de pleocitose. Os valores de células dos animais com pleocitose variaram entre 7 e 1460 cél/ μ L, sendo a média 195,7 cél/ μ L. Destes animais, 24% (12/50) apresentava pleocitoses classificadas como leves (6-20 cél/ μ L), 64% (32/50) pleocitoses moderadas (21-500 cél/ μ L) e 12% (6/50) pleocitoses graves (>500 cél/ μ L). Quanto ao tipo celular predominante, a pleocitose mais frequentemente observada foi a mista, contemplando 44% (22/50) dos casos, seguida da monocítica, com 38% (19/50), da neutrofílica, com 16% (8/50) e, finalmente, a eosinofílica, com apenas 1 caso, constituindo 2% do total de casos de aumento de células. No que toca ao teor proteico, este valor estava disponível para 70/75 (93,3%) dos casos, dos quais 44/70 (62,9%) eram superiores ao limite normal. A concentração média de proteína foi de 70,2 mg/dL, sendo o valor mínimo registado 11,3 mg/dL e o máximo 669,3 mg/dL. Destes aumentos, 50% (22/44) eram leves (30-50 mg/dL), 38,6% (17/44) moderados (51-200 mg/dL) e 11,4% (5/44) graves (>201 mg/dL). Finalmente, o resultado do teste de Pandy estava disponível para 70/75 casos (93,3%) e revelou-se positivo em 32,9% (23/70) dos casos e negativo nos restantes 67,1% (47/75). Os valores em falta, tanto de contagem celular como de teor proteico, como do teste de Pandy, deveram-se a uma quantidade de amostra insuficiente.

4.2. Associações entre variáveis

Apenas as tabelas de contingência referentes às variáveis entre as quais existem associações com importância estatística serão apresentadas na íntegra (tabelas 5, 8, 9, 12, 13 e 14), enquanto os restantes resultados serão resumidos numa tabela para cada característica da imagem para a qual se procuraram associações com as características do LCR (tabelas 4, 7, 10 e 11).

4.2.1. Relação entre a presença de alterações patológicas na RM e as alterações no LCR

Primeiramente, averiguou-se a relação entre a presença de alterações na ressonância (RM alterada: sim/não) e as várias alterações do líquido. Os resultados do teste de Fisher encontram-se resumidos na tabela 4. A única associação significativa do ponto de vista

estatístico encontrada foi uma associação entre a presença de alterações na RM com o tipo de pleocitose ($p < 0,05$). Os valores relativos à relação entre estas duas variáveis estão descritos na tabela 5.

Tabela 4: Resultados do teste de Fisher para a presença de alterações na RM relativamente às características do LCR.

Teste exato de Fisher		p-value (significância < 0,05)
RM Alterada (S/N)	LCR alterado vs. normal	0,1808
	Valor da pleocitose	0,5792
	Tipo de pleocitose	< 0,05
	Valor do aumento de proteína	0,7794

Tabela 5: Relação entre a presença de alterações na RM e o tipo de pleocitose.

		TIPO DE PLEOCITOSE				TOTAL
		EOSIN	MISTA	MONOCIT	NEUTROF	
RM ALTERADA	S	1 (2,3%)	20 (46,5%)	18 (41,9%)	4 (9,3%)	43 (100%)
	N	0 (0%)	2 (28,6%)	1 (14,3%)	4 (57,1%)	7 (100%)
TOTAL		1	22	19	8	50

De facto, verificou-se que 57% (4/7) dos animais que não demonstraram alterações na imagem de ressonância magnética eram animais com pleocitose neutrofílica. Além disso, e olhando para os mesmos dados de forma inversa, enquanto para os restantes tipos de pleocitose a quase totalidade dos animais tinha alterações na RM (90,9% (20/22) para a pleocitose mista e 94,7% (18/19) para a pleocitose monocítica), apenas 50% dos casos de pleocitose neutrofílica tinha alterações na RM. Após o cálculo do Odds Ratio para averiguar a probabilidade de os diferentes tipos de pleocitose estarem associados a alterações na RM, cujos resultados estão expressos na íntegra na tabela 6, verificou-se que a pleocitose monocítica é 18 vezes mais provável de estar associada a uma RM com alterações do que a pleocitose neutrofílica (intervalo de confiança 95% = 1,56 – 207,45). Por apenas existir um caso de pleocitose eosinofílica, não foi possível averiguar a presença de qualquer tipo de associação entre este tipo de pleocitose e a presença de determinadas características na imagem de RM.

Tabela 6: Valores de Odds Ratio para a presença de pleocitose monocítica, mista e neutrofílica, relativamente à presença de alterações na RM.

Fatores	Odds Ratio	IC 95%
Pleocitose monocítica vs. Pleocitose neutrofílica	18	1,56 – 207,45
Pleocitose monocítica vs. Pleocitose mista	1,8	0,15 – 21,57
Pleocitose mista vs. Pleocitose neutrofílica	10	1,34 – 74,51

4.2.2. Relação entre a localização das lesões e as alterações no LCR

Não se verificou relação entre a localização das lesões e a presença de alterações no LCR. Para além disso, a localização das lesões não aparenta ter influência no valor da pleocitose. No que toca ao tipo de pleocitose e à magnitude do aumento de proteína, o teste de Fisher acusou a presença de uma relação significativa destes parâmetros com as lesões localizadas no tronco cerebral ($p < 0,05$ e $p < 0,01$, respetivamente). Os resultados do teste de Fisher para a localização das lesões em relação às alterações do LCR encontram-se na tabela 7.

De facto, dos 16 animais com lesão no tronco cerebral e concomitante aumento de células no LCR, 62,5% (10/16) apresentava pleocitose do tipo monocítica, enquanto os restantes 37,5% (6/16) apresentavam pleocitoses do tipo misto. Já no que toca aos animais sem alterações no tronco cerebral e aumento do teor de células no LCR, este grupo inclui todos os 8 casos de pleocitose neutrofílica, que perfazem 23,5% (8/34) dos casos sem lesões identificadas neste local. A tabela 8 reúne os dados utilizados para a realização deste teste de Fisher.

Tabela 7: Resultados do teste de Fisher para a localização das lesões relativamente às características do LCR

Teste exato de Fisher		p-value (significância < 0,05)
Prosencéfalo	LCR alterado vs. normal	0,7698
	Valor da pleocitose	0,4791
	Tipo de pleocitose	0,3137
	Valor do aumento de proteína	0,7032
Tronco cerebral	LCR alterado vs. normal	0,07826
	Valor da pleocitose	0,1243
	Tipo de pleocitose	< 0,05
	Valor do aumento de proteína	< 0,01
Cerebelo	LCR alterado vs. normal	0,6709
	Valor da pleocitose	0,1322
	Tipo de pleocitose	0,2566
	Valor do aumento de proteína	0,2155
Meninges	LCR alterado vs. normal	1
	Valor da pleocitose	0,1065
	Tipo de pleocitose	0,1936
	Valor do aumento de proteína	0,9327

Tabela 8: Relação entre a presença de lesões no tronco cerebral e o tipo de pleocitose.

		TIPO DE PLEOCITOSE				TOTAL
		EOSIN	MISTA	MONOCIT	NEUTROF	
LESÃO TRONCO CEREBRAL	S	0 (0%)	6 (37,5%)	10 (62,5%)	0 (0%)	16 (100%)
	N	1 (2,9%)	16 (47,1%)	9 (26,5%)	8 (23,5%)	34 (100%)
TOTAL		1	22	19	8	50

No caso da relação entre as lesões no tronco cerebral e o aumento do teor proteico no LCR, apenas 10,5% (2/19) dos animais com lesões neste local tinham valores de proteína dentro dos valores normais. No caso das lesões prosencefálicas e meníngeas, 34% (17/50) e 41,5% (5/12) dos animais, respetivamente, tinham valores de proteína dentro da normalidade. Os resultados relativos à relação das lesões localizadas no tronco cerebral e o aumento de proteína no LCR encontram-se na tabela 9.

Tabela 9: Relação entre a presença de lesões no tronco cerebral e a valor do aumento de PT.

		VALOR AUMENTO PT				TOTAL
		LEVE	MODERADO	GRAVE	NORMAL	
LESÃO TRONCO CEREBRAL	S	6 (31,6%)	8 (42,1%)	3 (15,8%)	2 (10,5%)	19 (100%)
	N	16 (31,4%)	9 (17,6%)	2 (3,9%)	24 (47,1%)	51 (100%)
TOTAL		22	17	5	26	70

4.2.1. Relação entre as características da imagem e as alterações no LCR

Não se verificou qualquer relação significativa do ponto de vista estatístico entre as características na imagem em ressonância magnética (presença de hipersinal em T2 e T2-FLAIR, efeito de massa e captação de contraste) e as alterações inflamatórias no LCR. Os resultados do teste de Fisher relativo a estas variáveis encontram-se na tabela 10.

Tabela 10: Resultados do teste de Fisher para a distribuição das lesões relativamente às características do LCR

Teste exato de Fisher		p-value (significância < 0,05)
Hipersinal T2/T2-FLAIR	LCR alterado vs. normal	0,1287
	Valor da pleocitose	0,3953
	Tipo de pleocitose	1
	Valor do aumento de proteína	0,3328
Captação de contraste	LCR alterado vs. normal	0,7873
	Valor da pleocitose	0,8321
	Tipo de pleocitose	0,4629
	Valor do aumento de proteína	0,6853
Efeito de massa	LCR alterado vs. normal	0,7722
	Valor da pleocitose	1
	Tipo de pleocitose	0,7673
	Valor do aumento de proteína	0,4712

4.2.2. Relação entre a distribuição das lesões e as alterações no LCR

Quando se avaliou a relação entre a distribuição das lesões e as várias alterações referentes à análise do LCR, verificou-se que apenas o tipo de pleocitose não será influenciado pelo facto de a lesão ser multifocal ou focal. Os resultados do teste de Fisher para a distribuição das lesões encontram-se na tabela 11. As tabelas 12, 13 e 14 incluem as frequências relativas e absolutas relativamente às relações significativas encontradas.

Em primeiro lugar, verificou-se uma associação ($p < 0,01$) entre a presença de lesões multifocais e a presença de alterações inflamatórias no líquido. Enquanto 85,4% (35/41) dos animais com lesões multifocais acusaram alterações inflamatórias no LCR, apenas 51,9% (14/27) daqueles com lesões focais tinha alterações patológicas no LCR. Após o cálculo do Odds Ratio (tabela 15), verificou-se que lesões multifocais ou difusas estão associadas a uma **probabilidade 5,4 vezes superior** de surgir emparelhadas com um LCR com alterações, quando comparadas com lesões focais.

Tabela 11: Resultados do teste de Fisher para a distribuição das lesões relativamente às características do LCR

Teste exato de Fisher		p-value (significância < 0,05)
Distribuição (Multifocal/difuso vs. Focal)	LCR alterado vs. normal	< 0,01
	Valor da pleocitose	< 0,05
	Tipo de pleocitose	0,7049
	Valor do aumento de proteína	< 0,05

Tabela 12: Relação entre a distribuição das lesões e a presença de alterações no LCR.

		LCR INFLAMATÓRIO		TOTAL
		S	N	
DISTRIBUIÇÃO	F	14 (51,9%)	13 (48,1%)	27 (100%)
	M	35 (85,4%)	6 (14,6%)	41 (100%)
TOTAL		49	19	68

Tabela 13: Relação entre a distribuição das lesões e o valor da pleocitose.

		VALOR PLEOCITOSE			TOTAL
		LIGEIRA	MODERADA	GRAVE	
DISTRIBUIÇÃO	F	6 (54,5%)	5 (45,5%)	0 (0%)	11 (100%)
	M	5 (15,6%)	21 (65,6%)	6 (18,8%)	32 (100%)
TOTAL		11	26	6	43

Tabela 14: Relação entre a distribuição das lesões e o valor do aumento de PT.

		VALOR AUMENTO PT				TOTAL
		LIGEIRO	MODERADO	GRAVE	NORMAL	
DISTRIBUIÇÃO	F	8 (32%)	2 (8%)	1 (4%)	14 (56%)	25 (100%)
	M	13 (33,3%)	13 (33,3%)	4 (10,3%)	9 (23,1%)	39 (100%)
TOTAL		21	15	5	23	64

Para além disso, o valor tanto da pleocitose como do aumento de proteína estarão relacionados com a distribuição das lesões ($p < 0,01$ e $p < 0,05$, respetivamente). De facto, 65,9% (27/41) dos casos de lesão multifocal ou difusa tiveram aumentos de células acima das 30 (moderados ou graves), sendo que apenas 19,2% (5/26) dos casos de lesão focal levaram a aumentos desse valor. Para além disso, 57,7% (15/26) das lesões focais não levaram a aumentos do valor de células, enquanto este parâmetro se manteve dentro dos valores normais em apenas 22% (9/41) dos casos de lesões multifocais. Finalmente, resta acrescentar que todos os casos de pleocitose grave estão associados a lesões multifocais ou difusas. No que toca às proteínas, 56% (14/25) dos animais com lesões focais apresentava proteínas dentro dos valores normais. Dos animais com lesões focais que apresentavam aumentos do valor de proteína no LCR, 72,7% (8/12) tinha aumentos ligeiros apenas.

Tabela 15: Valor de Odds Ratio para a distribuição das lesões relativamente à presença de alterações no LCR.

Fator	Odds Ratio	IC 95%
Lesão multifocal/difusa vs. lesão focal	5,42	1,72 – 17,09

5. Discussão de resultados

5.1. Análise descritiva

No que à sinalização diz respeito, a amostra sob estudo corrobora a ideia de que as doenças inflamatórias do SNC podem afetar um vasto leque de cães, no que diz respeito à idade e à raça. O intervalo de idades dos animais na amostra é amplo (3 meses a 13 anos) mas, em média, tem-se animais de meia-idade (5,2 anos). No que toca à raça, e em concordância com publicações anteriores, reunidas na revisão sistemática sobre 457 casos de MUO, levada a cabo por Granger et al. (2010), tem-se uma elevada frequência de raças pequenas, correspondendo a mais de metade da amostra. Não se deixam, no entanto, de observar raças grandes, estando o Labrador Retriever entre as raças mais representadas, reforçando a ideia de que qualquer raça poderá ser afetada (Thomas 1998). Quanto ao sexo, a maior percentagem de fêmeas relativamente aos machos parece ir ao encontro da sugestão de que as fêmeas poderão estar predispostas ao desenvolvimento destas doenças (Granger et al. 2010). Autores anteriores não verificaram esta predisposição (Tipold 1995). No caso do presente estudo, o reduzido tamanho da amostra não permite confirmar ou refutar a presença desta predisposição.

No presente estudo, mais de 90% dos animais apresentava alterações patológicas na imagem de RM, e quase 75% revelou sinais de um processo inflamatório no LCR. Dos 68 animais com uma imagem de RM alterada, 19 (27,9%) não apresentou quaisquer alterações no LCR. Inversamente, existem 7 casos com um LCR inflamatório, mas cuja imagem estava normal – em 7/75 (9,3%) dos casos, a análise do LCR permitiu identificar um processo patológico não identificado anteriormente pela RM. Uma vez que este estudo não conta com o diagnóstico definitivo de forma a comparar os valores obtidos nos dois métodos de diagnóstico utilizados, não é possível calcular valores de sensibilidade de forma fiável. No entanto, estes valores parecem contradizer a ideia de que a análise de LCR será um método mais sensível na deteção das doenças inflamatórias do SNC do que a RM. De facto, segundo Bohn et al. (2006) enquanto a sensibilidade da RM e da análise do LCR no diagnóstico de doenças do SNC na generalidade é de 89% e 75%, respetivamente, a sensibilidade dos dois métodos de diagnóstico decresce quando nos referimos ao grupo específico das doenças inflamatórias, passando a ser de 62% e 85%, respetivamente. Assim, segundo este estudo, enquanto no diagnóstico de doenças do SNC no geral, incluindo neoplasias, doenças do espaço intervertebral e doenças inflamatórias, a RM será mais sensível do que o LCR, quando se trata apenas das doenças inflamatórias, a análise do LCR será mais sensível. Ao contrário do presente estudo, este inclui lesões não só encefálicas, mas também medulares, um dado relevante, uma vez que, dessa forma, se incluem outras doenças com mecanismos fisiopatológicos diferentes e características diferentes nos dois métodos de diagnóstico,

potenciando a geração de resultados distintos. Já o estudo levado a cabo por Wolff et al. (2012), numa amostra de 77 cães com doença encefálica confirmada por histopatologia, a sensibilidade da RM para a deteção do grupo das doenças inflamatórias revelou-se superior àquela calculada por Bohn et al. (2006), com um valor de 81%. Os exames de RM que integraram este estudo foram realizados com uma RM de alto campo. Embora o impacto na capacidade diagnóstica não seja claro e, aparentemente, a sensibilidade das duas modalidades ser próxima (Hayashi et al. 2004; Mai 2018), são necessários mais estudos para comparar a sensibilidade de ambos os métodos. Adicionalmente, esta sensibilidade poderá variar consoante o grupo de doenças em questão e consoante a região anatómica sob estudo. Por fim, no estudo de Wolff et al. (2012), a sensibilidade é calculada comparando com o diagnóstico histopatológico, enquanto o estudo de Bohn et al. (2006) calcula este parâmetro comparando com o total de casos com diagnóstico clínico. Por um lado, a inclusão de casos apenas com diagnóstico histopatológico aumenta a probabilidade de se incluir casos de maior gravidade, possivelmente associados a uma imagem com alterações mais graves. Relativamente à sensibilidade da análise do LCR no diagnóstico de doenças inflamatórias não infecciosas do SNC, Granger et al. (2010) reportam percentagens entre 16 e 22% de LCR com características normais, dependendo da doença em questão, valores próximos ao de 25% obtido no presente estudo.

5.1.1. Localização das lesões

Relativamente à localização das lesões, o principal local afetado foi o prosencéfalo. De facto, muitas doenças inflamatórias encefálicas geram lesões principalmente nesta localização, nomeadamente algumas MUOs, como a MEG (Cordy 1979; Granger et al. 2010), a MEN e LEN (Cordy and Holliday 1989; Stalis et al. 1995), mas também doenças infecciosas como a forma aguda da esgana (polioencefalopatia) (Thomas 1998; da Costa and Dewey 2016). Uma exceção será a MARE, que corresponde a uma fatia importante das doenças inflamatórias do SNC em cães, e que afeta principalmente as meninges, apenas afetando o parênquima cerebral em situações crónicas (Tipold and Jaggy 1994; de Lahunta et al. 2014). É possível que este estudo contemple poucos casos de MARE, uma vez que as meninges da medula espinhal cervical surgem mais frequente e gravemente afetadas do que aquelas que revestem as estruturas encefálicas (de Lahunta et al. 2014). Adicionalmente, as meninges surgiram afetadas em apenas 17,3% dos casos, o que sustenta a hipótese de que a MARE poderá corresponder a uma menor percentagem dos casos, quando comparada a doenças como a MEN e a MEG.

5.1.2. Características da imagem

Quanto às características da imagem em RM, verificou-se uma maior prevalência de lesões multifocais ou difusas, relativamente às focais, o que era de esperar de acordo com a literatura existente (Tipold 1995; Granger et al. 2010). A quase totalidade destas lesões (92,7%) apresentou hipersinal nas ponderações T2, característica essa associada a um aumento do teor hídrico do tecido, altamente sugestivo da presença de um processo inflamatório (Mai 2018). Houve, no entanto, 5 casos nos quais a lesão apenas se tornou visível após a administração de contraste, não sendo identificável nas ponderações em T2. Nestes casos, é possível que o processo inflamatório em curso, devido ao mecanismo fisiopatológico subjacente, não tenha resultado num aumento suficiente do teor hídrico do tecido afetado para gerar um hipersinal em T2, mas que tenha causado uma disrupção da BHE, permitindo um acumular de produto de contraste na região.

No presente estudo, 47,1% das lesões identificadas captaram produto de contraste, um valor significativamente inferior àquele que surge na literatura, perto dos 70% (Cherubini et al. 2005; Coates et al. 2007; Granger et al. 2010). No estudo levado a cabo por Cherubini et al. (2005), com o objetivo de encontrar sinais na RM para distinguir entre lesões neoplásicas e não neoplásicas encefálicas, apesar de 73% (8/11) das doenças inflamatórias terem demonstrado captação de contraste, verificou-se que esta característica está significativamente associada às neoplasias encefálicas, não havendo sido demonstrada associação com outro grupo de doenças (inflamatórias, vasculares, degenerativas).

5.1.3. Características do LCR

No que diz respeito à análise do LCR, verificou-se que 71,4% dos animais apresentava aumento do número de células nucleadas (pleocitose) e 62,9% apresentava um aumento do teor proteico do líquido. Estes valores são semelhantes aqueles reportados por Bohn et al. (2006) que, ao abordar, à semelhança do presente estudo, as doenças inflamatórias encefálicas como um grupo, independentemente do mecanismo fisiopatológico subjacente, verificou um aumento de células em 76% dos casos, e um aumento de proteína em 68% dos casos.

Considerou-se relevante o facto de mais de metade dos animais com aumento de proteínas no LCR ter aumentos ligeiros, inferiores a 50 mg/dL. Este é um dado importante, na medida em que o teor proteico está inversamente relacionado com a velocidade de degradação das células presentes no líquido (Fry et al. 2006) as, quais, com o passar do tempo, se vão tornando progressivamente mais difíceis de identificar. Como mencionado anteriormente, recomenda-se que o LCR seja analisado o mais brevemente possível após a colheita, de modo a minimizar os efeitos da deterioração celular (Chrisman 1992). Já que as

amostras são analisadas por um laboratório externo, a análise poderá tardar até 24 horas. Segundo Fry et al. (2006), o armazenamento da amostra a 4°C permite que o número total de células não sofra alterações significativas até às 48h após colheita. Por esta razão, os resultados obtidos para o número de células nucleadas neste estudo foram considerados fidedignos. Já relativamente à citologia, o mesmo estudo relatou que, 12 horas após a colheita, até 33% das células podiam não ser passíveis de ser identificadas, particularmente em amostras com valores baixos de PT (<50 mg/dL). Nas amostras com um teor proteico mais elevado, a percentagem de células irreconhecíveis às 12 horas pós-colheita caiu para 6%. A grande percentagem de casos com valores de proteína inferiores a 50 mg/dL poderá ter tido influência nas proporções relativas dos vários tipos de pleocitose, ao gerar uma dificuldade acrescida na identificação das mesmas.

Nas amostras de LCR com alterações patológicas, tanto os valores de células como aqueles referentes ao teor proteico se situaram em intervalos amplos, desde valores muito próximos da normalidade até valores gravemente alterados. Mais uma vez, esta constatação vai ao encontro da grande variabilidade de alterações provocadas por este grupo de doenças, e estão alinhados com as observações feitas por outros autores (Lamb et al. 2005; Bohn et al. 2006).

5.2. Associação entre variáveis

5.2.1. Relação entre a presença de alterações patológicas na RM e as alterações no LCR

Ao averiguar a presença de associações entre as variáveis sob estudo, começou por se avaliar a relação entre a presença de alterações patológicas na RM com as várias características da análise do LCR. A primeira associação encontrada foi aquela entre as pleocitoses monocíticas e mistas e a presença de alterações na RM. De facto, quando comparadas com a pleocitose neutrofílica, estes tipos de pleocitose demonstram uma probabilidade 18 e 10 vezes superior de estar associadas a uma RM com alterações, referindo-se estes valores à pleocitose monocítica e mista, respetivamente. Hugo et al (2015) verificou que a pleocitose monocítica era 22,8x mais provável de estar associada a uma imagem anormal do que a linfocítica, e 95x relativamente à neutrofílica. Utilizando os dados que os autores disponibilizam no artigo, e agrupando as pleocitoses monocítica e linfocítica como um grupo de pleocitoses monocíticas, calculou-se o Odds Ratio da pleocitose monocítica relativamente à pleocitose neutrofílica, no que toca à probabilidade de estar associado a alterações na ressonância, e o valor obtido foi de 17,1, muito semelhante àquele obtido no presente estudo. Segundo os autores (Hugo et. al, 2015), esse terá sido o primeiro estudo a verificar esta associação. É importante mencionar que o reduzido número de

pleocitoses neutrofílicas em ambos os estudos (8 no presente estudo e 6 naquele levado a cabo por Hugo et al. (2015)) poderá pôr em causa a precisão desta associação.

As duas principais afeções associadas com a pleocitose neutrofílica são a MARE e as meningoencefalites bacterianas. Como referido anteriormente, as meningoencefalites de origem bacteriana são algo raramente diagnosticado em medicina veterinária, não só por serem raras, mas também devido à elevada mortalidade à qual estão associadas (Tipold 1995; Messer et al. 2008). Já a MARE é uma afeção relativamente frequente, apontada como a principal causa da meningite em cães jovens (Tipold and Schatzberg 2010; da Costa and Dewey 2016). Para além das encefalites bacterianas e da MARE, e embora menos frequente, também a MEG e a MEN já foram associadas a pleocitoses neutrofílicas (Coates et al. 2007; Granger et al. 2010; da Costa and Dewey 2016).

No caso do presente estudo, é possível que alguns dos casos de pleocitose neutrofílica fossem casos de MARE, nos quais houvesse envolvimento das meninges encefálicas, mas que não fosse suficientemente expressivo para gerar alterações na RM.

5.2.2. Relação entre a localização das lesões e as alterações no LCR

Ao avaliar a relação entre a localização das lesões e a presença de alterações inflamatórias, no geral, no LCR, não se encontrou associação. Acontece que os resultados obtidos no presente estudo não estão em concordância com a ideia de que a presença de alterações no LCR, bem como o valor das mesmas, está intimamente dependente do envolvimento meníngeo (Cook and DeNicola 1988; Vernau et al. 2008; da Costa and Dewey 2016). De facto, não se encontrou associação entre a localização das lesões e a presença de alterações, ou o valor da pleocitose, e o facto de a lesão se localizar nas meninges não tornou mais provável a presença de um LCR inflamatório, nem surgiu associada a pleocitoses mais graves. Não é possível, no entanto, refutar esta hipótese de que o envolvimento meníngeo poderá influenciar as alterações presentes no LCR, principalmente devido ao tamanho reduzido da amostra. Em primeiro lugar, o facto de este envolvimento das meninges não ser prontamente evidente na imagem de ressonância não permite excluir definitivamente que estes tecidos estejam afetados. Keehnihan et al. (2013) averiguaram a sensibilidade da RM na deteção de alterações meníngeas em cães, comparando os resultados da imagem com o diagnóstico histopatológico, e chegaram à conclusão de que este método complementar de diagnóstico tem uma baixa sensibilidade para o diagnóstico de afeção meníngea. Adicionalmente, verificou-se envolvimento meníngeo na RM em apenas 17,6% dos animais com LCR inflamatório, uma percentagem relativamente inferior àquela observada por Lamb et al. (2005), de 28%. Tal poderá dever-se unicamente a diferenças relacionadas com a amostra de cada estudo, e com a casuística observada.

Relativamente à associação encontrada entre a presença de lesões no tronco cerebral e a pleocitose monocítica, esta provavelmente dever-se-á ao facto de as doenças que mais afetam esta localização anatómica, a saber, a MEG, a LEN e a leucoencefalomalácia associada à infeção pelo vírus da esgana, estarem associadas, mais frequentemente, a este tipo de pleocitose. Inversamente, a pleocitose neutrofílica surgiu negativamente associada com a presença de lesões no tronco cerebral – nenhum dos casos deste tipo de pleocitose correspondia a uma imagem de RM com lesões no tronco cerebral. Isto pode ser uma consequência do facto de as pleocitoses neutrofílicas surgirem, não raro, associadas a imagens sem alterações patológicas ou, ainda, prender-se com o facto de, como dito anteriormente, a doença mais comumente associada com este tipo de pleocitose, a MARE, afetar sobretudo as meninges.

Do ponto de vista anatómico, seria de esperar que lesões no tronco cerebral estivessem associadas a uma maior probabilidade de aumento de proteína do que lesões no prosencéfalo, uma vez que a primeira estrutura é de dimensões consideravelmente menores, e que mais facilmente as lesões estariam localizadas na proximidade do sistema ventricular e do espaço subaracnoideu, permitindo a passagem de proteínas para o LCR. No entanto, o mesmo se esperaria para as lesões meníngeas, as quais serão as mais próximas, fisicamente, do LCR.

Finalmente, relativamente à avaliação da relação da localização das lesões com a análise do LCR, é importante ter em conta que se procedeu à escolha de uma divisão anatómica das estruturas, divisão essa que, invariavelmente, exerce influência nos resultados do estudo. Primeiramente, escolheu-se contemplar os hemisférios e o diencefalo como um só, o prosencéfalo, ao invés de agrupar o diencefalo com as restantes estruturas que envolvem o tronco cerebral. Em segundo lugar, a divisão anatómica escolhida para classificar a localização das lesões é simples, e não tem em conta a proximidade das lesões com o sistema ventricular, por exemplo, algo que, tal como se equaciona para o caso das meninges, poderá ter influência no valor das alterações observadas no LCR.

5.2.3. Relação entre as características da imagem e as alterações no LCR

A ausência de relação entre as características das lesões na imagem, no que toca à sua intensidade de sinal, à captação de contraste e à compressão das estruturas adjacentes, e as características do LCR vai ao encontro do estudo levado a cabo por Hugo et al. (2014), que conclui que não se deverá utilizar a imagem de RM para prever o valor das alterações no LCR. Paralelamente, Cherubini et al (2005) verificaram que tanto a presença de efeito de massa como a captação de contraste estão associados significativamente com doenças neoplásicas ($p=0,002$ e $p=0,025$, respetivamente) e que, apesar de surgirem, não raro, no contexto de afeções não neoplásicas, não possuem uma associação significativa com as

mesmas. Apesar disto, e como se refere anteriormente, não se tem conhecimento sobre a história pregressa dos animais sob estudo, e eventuais terapêuticas aplicadas poderão ter adulterado os resultados. Sabe-se que tratamento prévio ao exame de RM pode induzir alterações na BHE, na intensidade de sinal, no efeito de massa e edema perilesional e no grau de captação de contraste (Cherubini et al. 2005; Lamb et al. 2005).

5.2.4. Relação entre a distribuição das lesões e as alterações no LCR

No presente estudo, as lesões multifocais e difusas surgiram associadas a uma probabilidade superior de surgir emparelhadas com um LCR inflamatório, quando comparadas com as lesões focais. Efetivamente, as lesões multifocais e difusas surgiram associadas a uma probabilidade 5 vezes superior de estar associadas a um LCR inflamatório do que aquelas focais. Hugo et al. (2015) não encontraram esta associação. No entanto, não é surpreendente que lesões multifocais e difusas mais facilmente provoquem alterações no líquido. Trata-se de lesões de limites mal definidos e, por norma, de maiores dimensões, que mais facilmente se localizarão na proximidade do sistema ventricular e afetarão mais estruturas, facilitando a disrupção da BHE em mais do que um local, promovendo à alteração do LCR. Este resultado pode dever-se à constituição da amostra do presente estudo, que poderá conter um número elevado de lesões multifocais ou difusas na proximidade do sistema ventricular, ou com dimensões consideravelmente superiores às lesões focais deste estudo, levando à associação observada.

5.3. Limitações do presente estudo

Em primeiro lugar, é evidente que o tamanho reduzido da amostra constitui um fator negativo na geração de dados robustos. Trata-se de uma limitação transversal à grande maioria dos estudos realizados em clínica de pequenos animais, visível em praticamente todos os estudos mencionados nesta discussão de resultados, à exceção da revisão sistemática levada a cabo por Granger et al. (2010).

Em segundo lugar, os casos clínicos presentes neste estudo carecem de um diagnóstico definitivo, histopatológico. Esta característica acarreta algumas desvantagens, mas também vantagens. Por um lado, a ausência deste diagnóstico definitivo impede o conhecimento profundo da amostra sob estudo, na medida em que se desconhecem as proporções relativas das várias doenças inflamatórias encefálicas na mesma. Poderá existir uma maior prevalência de uma determinada doença, ou haver doenças pouco representadas, de forma a haver alterado a proporção relativa de determinados tipos de pleocitose, ou de características de imagem, condicionando os resultados obtidos. Adicionalmente, a impossibilidade de subcategorizar os casos de acordo com as doenças inflamatórias

subjacentes não permitiu estabelecer relações entre as características da imagem e LCR com doenças específicas, ajudando à melhor caracterização das mesmas.

No entanto, o facto de o critério de inclusão não ser o diagnóstico histopatológico, mas sim o diagnóstico presuntivo com base na imagem e LCR não traz apenas limitações. Na verdade, permite a inclusão de casos de gravidade muito variada, incluindo alguns que, posteriormente, terão obtido uma boa resposta ao tratamento e que, por essa razão, dificilmente chegariam à mesa de necropsia e contariam com um diagnóstico definitivo.

Uma verdadeira desvantagem é a ausência da avaliação de doenças infecciosas do SNC. É possível que alguns animais deste estudo tenham vindo a realizar despistes, mas esta informação não estava disponível aquando da recolha de dados. De facto, no que diz respeito às infeções bacterianas, o facto de serem doenças muito pouco frequentes (de Lahunta et al. 2014) e de as culturas serem, não raro, infrutíferas (Tipold 1995; Radaelli and Platt 2002) justifica a sua não realização por rotina. Para além de raras, a mortalidade associada a estas doenças é particularmente elevada e precoce (Tipold 1995; Messer et al. 2008), sendo provável que muitos destes animais não cheguem a realizar exame de imagem. Quando se trata das doenças virais e daquelas causadas por protozoários, principalmente *Neospora caninum*, a situação é diferente. Trata-se de um leque de doenças mais amplo e de frequência variável. Embora estas doenças frequentemente gerem sinais sugestivos, embora não patognomónicos, como o caso das mioclonias e hiperqueratose das almofadas plantares associadas à esgana, e a polimiosite associada à neosporose, também podem surgir casos nos quais estes sinais não se confirmem, ou que passem despercebidos. Para além disso, é importante salientar que os casos presentes no estudo são casos referenciados exclusivamente para exame de imagem e colheita de LCR, e que, muitas vezes, não vêm acompanhados de uma história pregressa extensiva. Adicionalmente, as decisões clínicas são, em última análise, tomadas pelo veterinário referente e não pelos veterinários do Centro de Imagem Montenegro, que podem apenas sugerir e aconselhar os colegas. Finalmente, acresce a limitação relativa aos elevados custos associados aos despistes destas doenças infecciosas, diminuindo a *compliance* dos tutores, particularmente após a realização do exame de RM e análise padrão do LCR, procedimentos já por si associados a um custo elevado. Assim, devido à ausência destes despistes, não foi possível elaborar um estudo que se debruçasse apenas sobre as MUOs, as afeções menos bem conhecidas dentro das doenças inflamatórias encefálicas, algo que teria permitido diminuir a variabilidade dos casos no que toca à etiologia e mecanismo fisiopatológico subjacente.

Outra limitação do estudo, que se prende com o facto de estes serem casos referenciados e de este se tratar de um estudo retrospectivo, é o facto de não se conhecer a história pregressa, nomeadamente naquilo que diz respeito a terapêuticas que possam ter sido instituídas antes da realização do exame. De facto, é da impressão da autora que, pelo

facto de ser um exame complementar cuja acessibilidade em medicina veterinária em Portugal é relativamente recente, e, também, devido ao elevado custo para os tutores, não raro o médico veterinário, mediante a suspeita clínica de doença inflamatória encefálica, institui uma terapêutica com corticosteroides antes da realização do exame. Sabe-se que a administração prévia de corticosteroides pode afetar profundamente os resultados obtidos tanto na imagem (Cherubini et al. 2005) como na análise do LCR (da Costa and Dewey 2016). No presente estudo, devido à razão anteriormente mencionada e ao facto de se tratar de um estudo retrospectivo, o desconhecimento da história progressiva não permite saber qual será o peso e influencia de eventuais terapêuticas instituídas previamente aos exames complementares, que possam ter influenciado os resultados obtidos.

Ainda relativamente à história progressiva, sabe-se que uma grande parte dos animais neste estudo tinha história de convulsões, não raro como único motivo apontado para a realização do exame. De facto, a ocorrência de episódios convulsivos pode gerar alterações patológicas tanto na imagem de RM como na análise do LCR como consequência direta do episódio, e não da doença subjacente. Estas alterações são variáveis e estão dependentes de múltiplos fatores, nomeadamente o tempo decorrido entre a última convulsão e a realização dos exames complementares. Enquanto aquelas que ocorrem na RM estão relativamente bem definidas (hipersinal em T2, principalmente nos lobos piriformes e temporais, uni ou bilateral), as que ocorrem no LCR não, tornando difícil, por vezes, saber o peso destes episódios convulsivos nas alterações encontradas numa dada análise do LCR (Vernau et al. 2008). No entanto, considera-se que as alterações provocadas por episódios convulsivos na análise do LCR sejam pouco frequentes e leves (Fauser and Tumaní 2018; Coelho et al. 2019), pelo que se especula que a sua influência nos resultados deste estudo seja negligenciável, particularmente após haver excluído, como é explicado na secção de Materiais e Métodos, casos com uma imagem de RM perfeitamente normal, e com pleocitoses monocíticas ou mistas apenas muito ligeiras.

Finalmente, é importante relembrar que, no que toca à contagem celular e ao aumento de proteína, estes valores absolutos foram agrupados consoante o seu valor. Os limiares utilizados para caracterizar estes aumentos de células e proteína como leves, moderados ou graves são aqueles utilizados por Bohn et al. (2006). No entanto, outros autores utilizaram valores diferentes (Chrisman 1992; Hugo et al. 2014). O efeito do agrupamento, aliado à ausência de um método padrão de caracterizar estes aumentos, poderá ter influenciado os resultados obtidos, bem como dificultado a comparação dos resultados com aqueles de outros estudos que não utilizem os mesmos valores.

6. Conclusão

De facto, tanto a ressonância magnética como a análise do líquido cefalorraquidiano são dois exames complementares de diagnóstico essenciais na neurologia veterinária. Permitem a obtenção de informações diferentes, complementares, acerca da doença em questão, de modo a melhor caracterizar cada caso individual e, posteriormente, tomar o melhor curso de ação. As doenças inflamatórias encefálicas são um grupo cuja heterogeneidade, naquilo que toca às alterações provocadas na RM e LCR dificulta a sua caracterização, bem como o seu diagnóstico definitivo sem que seja necessário recorrer a técnicas mais invasivas como a biópsia e posterior exame histopatológico.

No caso específico nas MUO, o desconhecimento existente relativamente ao seu mecanismo fisiopatológico, aliado à escassez de conhecimento acerca das suas características histopatológicas e relação das mesmas com a imagem de RM exige a realização de novos estudos, idealmente prospetivos e contando com o diagnóstico histopatológico, no sentido de colmatar estas lacunas.

Com o objetivo de melhor caracterizar este grupo de doenças, procurou-se averiguar a existência de associações entre as alterações encontradas no exame de RM e aquelas encontradas no LCR. Apesar de a análise do LCR ser apontada como o exame complementar de diagnóstico mais importante na caracterização de doenças inflamatórias, a mesma deverá continuar a ser efetuada em conjunto com a RM, uma vez que a sensibilidade dos dois métodos está longe dos 100%. Dado o tamanho da amostra e a natureza retrospectiva deste estudo, não foi possível tirar conclusões acerca de qual será, de facto, o método mais sensível entre os dois.

Reforçou-se a ideia de que não haverá relação entre as características da imagem, naquilo que diz respeito à intensidade de sinal, à presença de efeito de massa e à captação de produto de contraste, e as alterações encontradas no líquido. Encontrou-se, no entanto, uma associação significativa entre a presença de alterações patológicas no exame de RM e as pleocitoses mistas e monocíticas. É verdade que, em medicina veterinária, os dois métodos de diagnóstico são, normalmente, efetuados em sequência, a colheita de LCR após a RM. No entanto, na eventualidade de o LCR ser efetuado primeiro – num CAMV que não disponha de máquina de ressonância magnética, mas cujos clínicos sejam capazes de realizar a colheita do LCR, por exemplo, – a observação de uma pleocitose monocítica na citologia reforça o valor acrescido que terá a realização do exame de imagem, na medida em que a probabilidade de encontrar alterações patológicas é elevada, e que ajudará a caracterizar a doença do animal em questão.

São necessários mais estudos, idealmente prospetivos e contando com diagnóstico histopatológico ou, caso não seja possível, com uma análise separada dos vários tipos de

pleocitose, de modo a minimizar a variabilidade de mecanismos fisiopatológicos dentro de cada grupo. É, também, necessária a análise de amostras de dimensões consideravelmente superiores, de modo a averiguar a veracidade das associações encontradas no presente estudo, particularmente naquilo que à pleocitose neutrofílica diz respeito, uma vez que a número de casos é muito reduzido.

7. Referências Bibliográficas

Aspelund A, Antila S, Proulx ST, Karlsen TV, Karaman S, Detmar M, Wiig H, Alitalo K. 2015. A dural lymphatic vascular system that drains brain interstitial fluid and macromolecules. *J Exp Med*. 212(7):991–999. doi:10.1084/jem.20142290.

Bailey CS, Higgins RJ. 1985. Comparison of total white blood cell count and total protein content of lumbar and cisternal cerebrospinal fluid of healthy dogs. *Am J Vet Res*. 46(5):1162–1165.

Bailey CS, Higgins RJ. 1986a. Characteristics of Cerebrospinal Fluid Associated with Canine Granulomatous Meningoencephalomyelitis: a retrospective study. *J Am Vet Med Assoc*. 188(4):418–421.

Bailey CS, Higgins RJ. 1986b. Characteristics of Cisternal Cerebrospinal Fluid Associated with Primary Brain Tumors in the Dog: a retrospective study. *J Am Vet Med Assoc*. 188(4):414–417.

Barry E, Hauser AW. 1994. Pleocytosis After Status Epilepticus. *Arch Neurol*. 51(2):190–193.

Behr S, Trumel C, Cauzinille L, Palenché F, Braun J-P. 2006. High Resolution Protein Electrophoresis of 100 Paired Canine Cerebrospinal Fluid and Serum. *J Vet Intern Med*. 20:657–662.

Behr S, Trumel C, Palenché F, Braun J-P. 2003. Assessment of a pyrogallol red technique for total protein measurement in the cerebrospinal fluid of dogs. *J Smal*. 44:530–533.

Bennett PF, Allan FJ, Guilford WG, Julian AF, Johnston CG. 1997. Idiopathic Eosinophilic Meningoencephalitis in Rottweiler Dogs: three cases (1992-1997). *Aust Vet J*. 75(11):786–789.

Bichsel P, Vandeveld M, Vandeveld E, Affolter U, Pfister H. 1984. Immunoelectrophoretic determination of albumin and IgG in serum and cerebrospinal fluid in dogs with neurological diseases. *Res Vet Sci*. 37(1):101–7.

Bienzle D, McDonnell JJ, Stanton JB. 2000. Analysis of cerebrospinal fluid from dogs and cats after 24 and 48 hours of storage. *J Am Vet Med Assoc*. 216:1761–1764.

Bohn AA, Wills TB, West CL, Tucker RL, Bagley RS. 2006. Cerebrospinal fluid analysis and magnetic resonance imaging in the diagnosis of neurologic disease in dogs: a retrospective study. *Vet Clin Pathol*. 35(3):315–320.

Cherubini GB, Mantis P, Martinez TA, Lamb CR, Cappello R. 2005. Utility of magnetic resonance imaging for distinguishing neoplastic from non-neoplastic brain lesions in dogs and cats. *Vet Radiol Ultrasound*. 46(5):384–387. doi:10.1111/j.1740-8261.2005.00069.x.

Chrisman CL. 1992. Cerebrospinal Fluid Analysis. *Vet Clin North Am - Small Anim Pract.* 22(4):781–810. doi:10.1016/s0195-5616(92)50077-8.

Christopher MM, Perman V, Hardy RM. 1988. Reassessment of cytologic values in canine cerebrospinal fluid by use of cytocentrifugation. *J Am Vet Med Assoc.* 192(12):1726–9.

Coates JR, Barone G, Dewey CW, Vitale CL, Holloway-Azene NM, Sessions JK. 2007. 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.

Coelho AM, Maddox TW, Sanchez-Masian D, Gonçalves R. 2019. Diagnostic value of cerebrospinal fluid analysis in a population of dogs with suspected idiopathic epilepsy. *Vet Rec.* 185(17).

Cook JR, DeNicola DB. 1988. Cerebrospinal Fluid. *Vet Clin North Am - Small Anim Pract.* 18(3):475–99. doi:10.1016/s0195-5616(88)50051-7.

Cordy DR. 1979. Canine granulomatous meningoencephalomyelitis. *Vet Pathol.* 16(3):325–333. doi:10.1177/030098587901600306. <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/030098587901600306>.

Cordy DR, Holliday TA. 1989. A Necrotizing Meningoencephalitis of Pug Dogs. *Vet Pathol.* 26:191–194.

da Costa RC, Dewey CW. 2016. *Practical Guide to Canine and Feline Neurology.* 3rd ed. Wiley Blackwell.

Cuddon P, Lin D-S, Bowman DD, Lindsay DS, Miller TK, Duncan ID, DeLahunta A, Cummings J, Suter M, Cooper B, et al. 1992. Neospora caninum Infection in English Springer Spaniel Littermates. *J Vet Intern Med.* 6:325–332.

Day MJ, Schultz RD. 2014. *Veterinary Immunology Principles and Practice.* CRC Press.

Dickinson PJ, Sturges BK, Kass PH, LeCouteur RA. 2006. Characteristics of Cisternal Cerebrospinal Fluid Associated with Intracranial Meningiomas in Dogs: 56 cases (1985-2004). *J Am Vet Med Assoc.* 228(4):564–567. doi:10.2460/javma.228.4.564.

Doyle C, Solano-Gallego L. 2009. Cytologic interpretation of canine cerebrospinal fluid samples with low total nucleated cell concentration, with and without blood contamination. *Vet Clin Pathol.* 38(3):392–396.

Early PJ, Munana KJ, Olby NR, Mariani CL. 2019. Comparison of cerebrospinal fluid parameters from the cerebellomedullary and lumbar cisterns in 54 dogs. *Can Vet J.* 60:885–888.

Fausser S, Tumani H. 2018. Epilepsy. *Handb Clin Neurol.* 146(3):259–266.

Felgenhauer K, Schädlich H-J. 1987. The compartmental IgM and IgA response within the central nervous system. *J Neurol Sci.* 77:125–135.

Fry MM, Vernau W, Kass PH, Vernau KM. 2006. Effects of time, initial composition, and stabilizing agents on the results of canine cerebrospinal fluid analysis. *Vet Clin Pathol.* 35(1):72–77.

de Graaf MT, van den Broek PDM, Kraan J, Luitwieler RL, van den Bent MJ, Boonstra JG, Schmitz PIM, Gratama JW, Smitt PAES. 2011. Addition of serum-containing medium to cerebrospinal fluid prevents cellular loss over time. *J Neurol*. 258:1507–1512.

Granger N, Smith PM, Jeffery ND. 2010. 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.

Hayashi N, Watanabe Y, Masumoto T, Mori H, Aoki S, Ohtomo K, Okitsu O, Takahashi T. 2004. Utilization of low-field MR scanners. *Magn Reson Med Sci*. 3(1):27–38. doi:10.2463/mrms.3.27.

Hecht S, Adams WH. 2010a. MRI of Brain Disease in Veterinary Patients Part 1: Basic Principles and Congenital Brain Disorders. *Vet Clin North Am - Small Anim Pract*. 40:21–38.

Hecht S, Adams WH. 2010b. MRI of Brain Disease in Veterinary Patients Part 2: Acquired Brain Disorders. *Vet Clin North Am - Small Anim Pract*. 40:39–63.

Hugo TB, Heading KL, Labuc RH. 2014. Canine cerebrospinal fluid total nucleated cell counts and cytology associations with the prevalence of magnetic resonance imaging abnormalities. *Vet Med Res Reports*. 5:75–84.

Junqueira LC, Carneiro J. 2017. *Tecido Nervoso*. In: *Histologia Básica*. 13th ed. Editora Guanabara Koogan. p. 155–184.

Kay WJ, Israel E, Prata RG. 1974. Cerebrospinal Fluid. *Vet Clin North Am*. 4(2):419–435.

Keehnihan EK, Summers BA, David FH, Lamb CR. 2013. Canine Meningeal Disease: Associations Between Magnetic Resonance Imaging Signs and Histological Findings. *Vet Radiol Ultrasound*. 54(5):501–515.

Kent M. 2012. Bacterial Infections of the Central Nervous System. In: *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. p. 1045–1058.

Kipar A, Baumgärtner W, Vogl C, Gaedke K, Wellman M. 1998. Immunohistochemical characterization of inflammatory cells in brains of dogs with granulomatous meningoencephalitis. *Vet Pathol*. 35(1):43–52. doi:10.1177/030098589803500104.

König HE, Liebich H-G. 2016. *Anatomia dos Animais Domésticos*. 6th ed. Artmed Editora.

de Lahunta A, Glass E, Kent M. 2014. *Veterinary Neuroanatomy and Clinical Neurology*. Saunders.

Lamb CR, Croson PJ, Cappello R, Cherubini GB. 2005. Magnetic Resonance Findings in 25 Dogs with Inflammatory Cerebrospinal Fluid. *Vet Radiol Ultrasound*. 46(1):17–22.

Leigh EJ, Mackillop E, Robertson ID, Hudson LC. 2008. Clinical Anatomy of the Canine Brain Using Magnetic Resonance Imaging. *Vet Radiol Ultrasound*. 49(2):113–121. doi:10.1111/j.1740-8261.2008.00336.x.

Lobetti R, Pearson J. 1996. Magnetic resonance imaging in the diagnosis of focal granulomatous meningoencephalitis in two dogs. *Vet Radiol Ultrasound*. 37(6):424–427.

Louveau A, Smirnov I, Keyes TJ, Eccles JD, Rouhani SJ, Peske JD, Derecki NC, Castle D, Mandell JW, Lee KS, et al. 2015. Structural and functional features of central nervous system lymphatic vessels. *Nature*. 523(7560):337–341. doi:10.1038/nature14432.

MacNeill AL, Andre BG, Zingale Y, Packer RA, McGrath S. 2018. The effects of iatrogenic blood contamination on total nucleated cell counts and protein concentrations in canine cerebrospinal fluid. *Vet Clin Pathol*. 47(3):464–470.

Mai W. 2018. *Diagnostic MRI in Dogs and Cats*. 1st ed. Taylor and Francis Group.

Matsuki N, Fujiwara K, Tamahara S, Uchida K, Matsunaga S, Nakayama H, Doi K, Ogawa H, Ono K. 2004. Prevalence of Autoantibody in Cerebrospinal Fluids from Dogs with Various CNS Diseases. *J Vet Med Sci*. 66(3):295–297.

Mellema LM, Koblik PD, Kortz GD, LeCouteur RA, Chechowicz MA, Dickinson PJ. 1999. Reversible Magnetic Resonance Imaging Abnormalities in Dogs Following Seizures. *Vet Radiol Ultrasound*. 40(6):588–595.

Messer JS, Wagner SO, Baumwart RD, Colitz CM. 2008. A case of canine streptococcal meningoencephalitis diagnosed using universal bacterial polymerase chain reaction assay. *J Am Anim Hosp Assoc*. 44(4):205–209. doi:10.5326/0440205.

Miller AD, Miller RC, Rossmeisl JH. 2019. Canine Primary Intracranial Cancer: A Clinicopathologic and Comparative Review of Glioma, Meningioma, and Choroid Plexus Tumors. *Front Oncol*. 9(1151).

Park ES, Uchida K, Nakayama H. 2012. Comprehensive immunohistochemical studies on canine necrotizing meningoencephalitis (NME), necrotizing leukoencephalitis (NLE), and granulomatous meningoencephalomyelitis (GME). *Vet Pathol*. 49(4):682–692. doi:10.1177/0300985811429311.

Platt SR, Olby NJ. 2012. *BSAVA Manual of Canine and Feline Neurology*. 4th ed.

Portero M, Martínez de Merlo E, Pérez C, Benito M, Daza MA, Fragio C. 2019. Cerebrospinal fluid and blood lactate concentrations as prognostic biomarkers in dogs with meningoencephalitis of unknown origin. *Vet J*. 254. doi:10.1016/j.tvjl.2019.105395.

Radaelli ST, Platt SR. 2002. Bacterial meningoencephalomyelitis in dogs: A retrospective study of 23 cases (1990-1999). *J Vet Intern Med*. 16(2):159–163. doi:10.1111/j.1939-1676.2002.tb02348.x.

Ransohoff RM, Engelhardt B. 2012. The anatomical and cellular basis of immune surveillance in the central nervous system. *Nat Rev Immunol*. 12(9):623–635. doi:10.1038/nri3265. <http://dx.doi.org/10.1038/nri3265>.

Ródenas S, Pumarola M, Gaitero L, Zamora À, Añor S. 2011. Magnetic resonance imaging findings in 40 dogs with histologically confirmed intracranial tumours. *Vet J*. 187(1):85–91. doi:10.1016/j.tvjl.2009.10.011.

Runge VM, Wells JW, Williams NM, Lee C, Timoney JF, Young AB. 1995. Detectability of early brain meningitis with magnetic resonance imaging. *Invest Radiol*. 30(8):484–495. doi:8557515.

Schatzberg SJ, Haley NJ, Barr SC, de Lahunta A, Olby N, Munana KJ, Sharp N. 2003. Use of a multiplex polymerase chain reaction assay in the antemortem diagnosis of toxoplasmosis and neosporosis in the central nervous system of cats and dogs. *Am J Vet Res*.

64:1507–1513.

Smith-Maxie LL, Parent JP, Rand J, Wilcok BP, Norris AM. 1989. Cerebrospinal Fluid Analysis and Clinical Outcome of Eight Dogs with Eosinophilic Meningoencephalomyelitis. *J Vet Intern Med.* 3:167–174.

Snyder JM, Shofer FS, Van Winkle TJ, Massicotte C. 2006. Canine Intracranial Primary Neoplasia: 173 Cases (1986–2003). *J Vet Intern Med.* 20:669–675.

Stalis IH, Chadwick B, Dayrell-Hart B, Summers BA, Van Winkle TJ. 1995. Necrotizing Meningoencephalitis of Maltese Dogs. *Vet Pathol.* 32:230–235.

Talarico LR, Schatzberg SJ. 2010. Idiopathic granulomatous and necrotising inflammatory disorders of the canine central nervous system: A review and future perspectives. *J Small Anim Pract.* 51(3):138–149. doi:10.1111/j.1748-5827.2009.00823.x.

Tamura S, Tamura Y, Nakamoto Y, Ozawa T, Uchida K. 2009. MR imaging of histiocytic sarcoma of the canine brain. *Vet Radiol Ultrasound.* 50(2):178–81. doi:10.1111/j.1740-8261.2009.01512.x.

Di Terlizzi R, Platt S. 2006. The function, composition and analysis of cerebrospinal fluid in companion animals: Part I - Function and composition. *Vet J.* 172(3):422–431. doi:10.1016/j.tvjl.2005.07.021.

Di Terlizzi R, Platt S. 2009. The function, composition and analysis of cerebrospinal fluid in companion animals: Part II - Analysis. *Vet J.* 180(1):15–32. doi:10.1016/j.tvjl.2007.11.024. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.11.024>.

Thomas WB. 1998. Inflammatory diseases of the central nervous system in dogs. *Clin Tech Small Anim Pract.* 13(3):167–178. doi:10.1016/S1096-2867(98)80038-8.

Thomson CE, Kornegay JN, Stevens JB. 1989. Canine Intervertebral Disc Disease: Changes in the Cerebrospinal Fluid. *J Small Anim Pract.* 30(12):685–688.

Tipold A. 1995. Diagnosis of Inflammatory and Infectious Diseases of the Central Nervous System in Dogs: A Retrospective Study. *J Vet Intern Med.* 9(5):304–314. doi:10.1111/j.1939-1676.1995.tb01089.x.

Tipold A, Jaggy A. 1994. Steroid responsive meningitis-arteritis in dogs: Long-term study of 32 cases. *J Small Anim Pract.* 35:311–316.

Tipold A, Pfister H, Vandeveld M. 1993. Determination of the IgG index for the detection of intrathecal immunoglobulin synthesis in dogs using an ELISA. *Res Vet Sci.* 54:40–44.

Tipold A, Pfister H, Zurbriggen A, Vandeveld M. 1994. Intrathecal synthesis of major immunoglobulin classes in inflammatory diseases of the canine CNS. *Vet Immunol Immunopathol.* 42:149–159.

Tipold A, Schatzberg SJ. 2010. An update on steroid responsive meningitis-arteritis. *J Small Anim Pract.* 51(3):150–154. doi:10.1111/j.1748-5827.2009.00848.x.

Tumani H, Huss A, Bachhuber F. 2017. The cerebrospinal fluid and barriers – anatomic and physiologic considerations. *Handb Clin Neurol.* 146:3–20. doi:10.1016/B978-0-12-804279-3.00002-2.

Vandevelde M, Greene CE. 2012. Canine Distemper. In: Infectious Diseases of the Dog and Cat. p. 25–42.

Vernau W, Vernau KM, Bailey CS. 2008. Cerebrospinal Fluid. Clin Biochem Domest Anim.:769–819.

Vitale S, Foss K. 2019. Immune-mediated central nervous system disease—current knowledge and recommendations. Top Companion Anim Med.(34):22–29. doi:10.1053/j.tcam.2018.11.003.

Weed LH. 1914. Studies on Cerebro-Spinal Fluid. No. II - The Theories of Drainage of Cerebro-Spinal Fluid with an Analysis of the Methods of Investigation. J Med Research. 31(1).

Westworth DR, Dickinson PJ, Vernau W, Johnson EG, Bollen AW, Kass PH, Sturges BK, Vernau KM, LeCouteur RA, Higgins RJ. 2008. Choroid Plexus Tumors in 56 Dogs (1985–2007). J Vet Intern Med. 22(5):1157–1165.

Windsor RC, Sturges BK, Vernau KM, Vernau W. 2009. Cerebrospinal Fluid Eosinophilia in Dogs. J Vet Intern Med. 23:275–281.

Wolff CA, Holmes SP, Young BD, Chen A V., Kent M, Platt SR, Savage MY, Schatzberg SJ, Fosgate GT, Levine JM. 2012. Magnetic Resonance Imaging for the Differentiation of Neoplastic, Inflammatory, and Cerebrovascular Brain Disease in Dogs. J Vet Intern Med. 26:589–597.

Zachary JF. 2017. Pathologic Basis of Veterinary Disease. 6th ed. Elsevier Ltd.

Zarfoss M, Schatzberg SJ, Venator K, Cutter-Schatzner K, Cuddon P, Pintar J, Weinkle T, Scarlett J, DeLahunta A. 2006. Combined cytosine arabinoside and prednisone therapy for meningoencephalitis of unknown aetiology in 10 dogs. J Small Anim Pract. 47:588–595.