



**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA**  
**FACULTAD DE VETERINARIA**

**Programa de Posgrados**

**EVALUACIÓN DE LA NEURODEGENERACIÓN OCACIONADA  
POR LA INFECCIÓN NATURAL CON EL VIRUS DEL DISTEMPER  
CANINO MEDIANTE POTENCIALES EVOCADOS VISUALES Y  
SOMATOSENSITIVOS DE MIEMBRO POSTERIOR**

**MARY ELIZABETH GUTIÉRREZ DOS SANTOS**

**TESIS DE MAESTRÍA EN SALUD ANIMAL**

**URUGUAY**  
**2022**





**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA**

**FACULTAD DE VETERINARIA**

**Programa de Posgrados**

**EVALUACIÓN DE LA NEURODEGENERACIÓN OCACIONADA  
POR LA INFECCIÓN NATURAL CON EL VIRUS DEL DISTEMPER  
CANINO MEDIANTE POTENCIALES EVOCADOS VISUALES Y  
SOMATOSENSITIVOS DE MIEMBRO POSTERIOR**

**MARY ELIZABETH GUTIÉRREZ DOS SANTOS**

---

**Dr. Alejandro Bielli**  
**Director de Tesis**

---

**Dr. Luis Delucchi**  
**Co-director**

**2022**

**INTEGRACIÓN DEL TRIBUNAL DE  
DEFENSA DE TESIS**

**Alejandro Benech; DMTV, PhD  
Facultad de Veterinaria  
Universidad de la República - Uruguay**

**Leonel Gómez; Dr, MSc, PhD  
Facultad de Ciencias  
Universidad de la República - Uruguay**

**José M. Verdes; DMTV, MSc, PhD  
Facultad de Veterinaria  
Universidad de la República - Uruguay**

**2022**



Facultad de Veterinaria  
Universidad de la República  
Uruguay



### ACTA DE TESIS DE MAESTRÍA

**ORIENTACIÓN:** Salud Animal

**LUGAR Y FECHA DE LA DEFENSA:** Aula 101, 9/11/22

**TRIBUNAL:** Alejandro Benech, José Manuel Verdes, Leonel Gómez

CI	NOMBRE	CALIFICACIÓN	NOTA
4832160-8	GUTIERREZ DOS SANTOS, MARY ELIZABETH	555	12

NOTA: La calificación mínima para aprobar la defensa es 0.00 (0)

TRIBUNAL

FIRMA

Dr. Leonel Gómez

Dr. Alejandro Benech

Dr. José Manuel Verdes

## **AGRADECIMIENTOS**

Quisiera agradecer y dedicar este trabajo a mis padres por siempre apoyarme, alentarme y creer en mis proyectos por más audaces y atrevidos que parecieran. A mi Perlita, que le toco una mamá que “*no para quieta*”, espero ser un buen ejemplo para su vida. A mi compañero de vida Mauri quien escuchó atentamente y vio gestarse este proyecto desde el día cero, y en el camino tuvo su propia epifanía.

A mis tutores Luis y Alejandro por haber confiado en mí para llevar adelante este trabajo de investigación, “*muchas gracias*”.

A los docentes e integrantes de la Policlínica de Neurología, los que están y los que ya no están o están lejos; los cuales me recibieron, con tanta buena disposición y enseñaron tantas cosas.

A todos los integrantes (docentes, funcionarios y estudiantes) del Hospital Veterinario de la Facultad de Veterinaria que con su buena voluntad siempre me ayudaron a concretar cada etapa de este trabajo.

A todos los propietarios y pacientes que padecieron esta difícil enfermedad, para los que sobrevivieron un mimo grande y aquellos que no pudieron mi mayor agradecimiento.

## **RESUMEN**

El distemper canino es una infección multisistémica, letal; provocada por un Morbillivirus. Frecuentemente afecta al sistema nervioso. La leucoencefalitis desmielinizante es la forma más frecuente de Distemper neurológico. Ha sido vinculado con la esclerosis múltiple (EM) por sus mecanismos de injuria similares. Se ha determinado en EM que los potenciales evocados visuales (PEV) y somatosensitivos (PESS) son muy buenos marcadores del curso de la enfermedad y permiten detectar precozmente lesiones que se sospechan a nivel clínico. El objetivo de este trabajo fue determinar si existe alteración en la respuesta de los PEV y PESS del nervio tibial en caninos con Distemper.

Fueron registrados los PEV, ERG (electrorretinograma) y PESS de miembros posteriores a nivel craneal y espinal en caninos infectados naturalmente con Distemper y en caninos sanos.

Se demostró un aumento de la latencia de las ondas N1, P1, N2, P2 y N3 del PEV bilateralmente, sin alteraciones en las amplitudes de las mismas. Para el ERG no se encontró diferencias entre ambos grupos. En cuanto a los PESS se encontró un aumento de la latencia de las ondas P1 y N1 en el registro craneal, sin alteraciones de la amplitud. No se halló alteraciones en las latencias a nivel espinal; asimismo, existió un aumento en la amplitud N1-P1; P1-N2 y N2-P2 en los registros espinales. Los resultados obtenidos pueden ayudar a establecer un diagnóstico precoz de daño neurológico vinculado a Distemper dado que muchas veces los signos neurológicos de los pacientes con Distemper aparecen más tardíamente que los signos digestivos o respiratorios. Por lo tanto, la realización de estos estudios podría ser una herramienta para detectar trastornos en la conducción nerviosa central, aún en fases subclínicas de la enfermedad.

## **SUMMARY**

Canine distemper is a deadly, multi-system infection, caused by a Morbillivirus. Frequently affecting the nervous system, demyelinating leukoencephalitis is the most frequent form of neurological Distemper. It has been linked to multiple sclerosis (MS) because of its similar injury mechanisms. Visual evoked potentials (VEP) and somatosensory potentials (SSEP) have been determined in MS to be very good markers of the course of the disease and allow early detection of clinically suspected lesions. The aim of this work was to determine if there is an alteration in the response of the VEP and SSEP of the tibial nerve in canines with Distemper.

The VEP, ERG and SSEP of posterior limbs were recorded at both the cranial and spinal levels in both canines naturally infected with Distemper and in healthy canines. An increase in the latency of the N1, P1, N2, P2 and N3 waves of the VEP was demonstrated bilaterally, without alterations in their amplitudes. For the ERG, no differences were found between the two groups. Regarding the SSEP, an increase in the latency of the P1 and N1 waves was found in the cranial registry, without any changes in amplitude. The latencies at the spinal level were not altered; likewise, there was an increase in the N1-P1 amplitude; P1-N2 and N2-P2 in the spinal registers. The results obtained can provide an early diagnosis of Distemper neurological damage since, often, the neurological signs of patients with Distemper appear later than the digestive or respiratory signs. Therefore, performing these studies could become a tool to detect central nervous conduction disorders during still subclinical phases of the disease.



RESUMEN .....	7
1. INTRODUCCIÓN .....	1
2. ANTECEDENTES ESPECÍFICOS .....	3
3. CARACTERIZACION DEL PROBLEMA DE INVESTIGACION .....	6
<b>4. HIPOTESIS .....</b>	<b>7</b>
<b>5. OBJETIVOS .....</b>	<b>8</b>
5.1 <i>Objetivo general:</i> .....	8
5.2 <i>Objetivos específicos:</i> .....	8
6. MATERIALES Y MÉTODOS .....	9
6.1 <i>Diseño experimental:</i> .....	9
6.2 <i>Población muestral:</i> .....	9
6.3 <i>Criterios de inclusión:</i> .....	9
6.4 <i>Criterios de exclusión:</i> .....	9
6.5 <i>Diseño del estudio:</i> .....	10
6.6 <i>Equipo para el registro de los PE:</i> .....	10
6.7 <i>Potenciales Evocados Visuales y Electrorretinograma .....</i>	<b>11</b>
6.7.1 <i>Colocación de electrodos de registro:</i> .....	11
6.7.2 <i>Estímulo:</i> .....	12
6.7.3 <i>Aspectos técnicos del registro:</i> .....	12
6.8 <i>Potenciales Evocados Somatosensitivos .....</i>	13
6.8.1 <i>Colocación de los electrodos de registro:</i> .....	13
6.8.2 <i>Estímulo:</i> .....	14
6.8.3 <i>Aspectos técnicos del registro:</i> .....	14
6.9 <i>Análisis estadístico:</i> .....	14
7. RESULTADOS .....	16
7.1 <i>Potenciales Evocados Visuales .....</i>	16
7.2 <i>Electrorretinograma .....</i>	18
7.3 <i>Potenciales Evocados Somatosensitivos .....</i>	19
8. DISCUSIÓN.....	22
9. CONCLUSIONES .....	27
10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	28

## INDICE DE FIGURAS Y TABLAS

Figura 1. Test rápido de inmunocromatografía en un animal enfermo.

Figura 2. Esquema de equipo Akonic Bio PC para Potenciales Evocados.

Figura 3. Sitios de colocación de electrodos para PEV y ERG.

Figura 4. Sitios de colocación de electrodos para la obtención de PESS de MMPP por estimulación del nervio tibial.

Figura 5. Colocación de electrodos en el sitio de estimulación para registro de PESS del nervio tibial.

Figura 6. Ejemplos representativos de registros de PEV de un canino con Distemper y de un canino control.

Figura 7. Gráfica de barras de las latencias de las distintas ondas que componen los PEV.

Figura 8. Ejemplos representativos de registros de ERG de un canino con Distemper y de un canino control.

Figura 9. Ejemplos representativos de registros de PESS de MPD obtenidos por estimulación del nervio tibial de un canino con Distemper y de un canino control.

Figura 10. Gráfica de barras de las amplitudes del registro a nivel espinal de las distintas ondas que componen los PESS.

Tabla 1. Latencias medias y desvíos estándar para cada componente de los PEV en ambos grupos.

Tabla 2. Latencias medias y desvíos estándar para cada componente de los PESS en ambos grupos.

## **LISTA DE ABREVIACIONES**

VDC (Virus del Distemper Canino)

DC (Distemper Canino)

EM (Esclerosis Múltiple)

RM (Resonancia Magnética)

PE (Potencial Evocado)

ERG (Electrorretinograma)

PEV (Potencial Evocado Visual)

PEV p (Potencial Evocado Visual tipo patrón reversible)

PEV f (Potencial Evocado Visual tipo Flash)

GRD (Ground, electrodo de tierra)

NO (Neuritis óptica)

PESS (Potencial Evocado Somatosensitivo)

TCC (Tiempo de conducción central)

MPD (Miembro posterior derecho)

MPI (Miembro posterior izquierdo)

MMPP (Miembros Posteriores)

OD (Ojo derecho)

OI (Ojo izquierdo)

# 1. INTRODUCCIÓN

El Virus del Distemper canino (VDC) perteneciente al género *Morbillivirus* y a la familia *Paramyxoviridae*, es el agente etiológico del Distemper canino (DC), una de las enfermedades multisistémicas infecciosas más comunes en caninos domésticos.

Se propaga a través de las vías respiratorias causando inmunosupresión, lo que favorece las infecciones secundarias (Beineke et al. 2009; de Vries et al. 2015; Rendon et al. 2019).

Si bien se ha podido controlar esta enfermedad por el uso de vacunas, se han descrito numerosos brotes infecciosos en diversas partes del mundo (Panzera et al. 2015). A pesar del tiempo pasado entre los primeros reportes de casos, aún no existe un tratamiento efectivo, lo que ha llevado al DC a ser una enfermedad endémica en el mundo entero (Pinotti et al. 2016). Afecta además de a caninos domésticos, a otros miembros de los órdenes Carnivora, Rodentia, Primates, Artiodactyla y Proboscidea, siendo una potencial amenaza para especies silvestres y en peligro de extinción (Martinez-Gutiérrez & Ruiz-Saenz, 2016).

Los estudios epidemiológicos realizados en nuestro país en pacientes que asistieron al hospital de la Facultad de Veterinaria, reflejan que la enfermedad se encuentra en situación de endemismo (Lariccia & Kramer, 2018). Asimismo confirman que un alto porcentaje de los animales enferman a pesar de estar vacunados, lo que concuerda con lo reportado por otros autores (Richards et al. 2011; Galan et al. 2014; Feijóo et al. 2021).

El VDC cursa con una diversidad de signos clínicos tales como trastornos respiratorios, digestivos, dermatológicos y neurológicos, con compromiso de los sistemas involucrados. Los signos neurológicos pueden aparecer simultáneamente con la afectación sistémica o de 1 a 3 semanas después de la resolución de los signos sistémicos (Amude et al. 2006).

Los daños a este nivel pueden ser devastadores, dejando importantes secuelas en los animales que sobreviven o pudiendo llevar a la muerte, ya que son de mal pronóstico (Koutinas et al. 2002).

Dentro de la sintomatología neurológica asociada a la infección se puede observar: rigidez de nuca, signos vestibulares, cerebelosos, paresia, paraplejia, convulsiones y mioclonias, siendo estas últimas altamente sugestivas de DC aunque pueden estar ausentes en más de la mitad de los casos. Se ha descrito también déficits visuales tales como coriorretinitis y neuritis óptica (Tipold et al. 1992; Nell 2008; Amude et al. 2010; Galan et al. 2014).

La infección por el VDC ha sido propuesta como modelo de diferentes condiciones desmielinizantes en el humano (Vandeveldt & Zurbriggen, 1995). En particular, el DC comparte similitudes en los cambios neuropatológicos con la Esclerosis Múltiple (EM) (Beineke et al. 2009; Ulrich et al. 2014) por lo que ha sido descrita como la “EM aguda en caninos” (Amude et al. 2010).

La EM es una enfermedad neurodegenerativa, inflamatoria crónica de los humanos que produce destrucción de mielina y disfunción neuronal, en la que confluyen procesos de inflamación, desmielinización, gliosis y daño axonal desde los inicios de la misma, mediada por una respuesta autoinmune anómala en individuos genéticamente predispuestos sobre quienes varios factores ambientales podrían influir en el desarrollo y progresión de la enfermedad (Pérez et al. 2019).

Presenta como síntomas en común con el DC: neuritis óptica, alteraciones retinianas, parestias, plejias, incoordinación motora, inestabilidad en la marcha y movimientos involuntarios tales como mioclonias (Söderström, 2001; Pueyo et al. 2010; Fernández et al. 2015; Shaharabani et al. 2018).

El DC representa uno de los pocos modelos naturales que ocurren espontáneamente para estudiar la patogénesis de la pérdida de mielina asociada con mecanismos inmunomediados (Beineke et al. 2009).

## 2. ANTECEDENTES ESPECÍFICOS

El diagnóstico de la EM se realiza teniendo en cuenta criterios clínicos de diseminación espacial y temporal, así como métodos de investigación paraclínicos (bandas oligoclonales en fluido cerebro espinal, potenciales evocados y técnicas imagenológicas). La búsqueda de marcadores biológicos que contribuyan al diagnóstico y seguimiento evolutivo es constante dada la complejidad de la enfermedad y el escaso conocimiento de su fisiopatología (Fernández et al. 2013; Jakimovski & Zivadinov 2022).

La resonancia magnética (RM) es ampliamente utilizada como biomarcador; sin embargo, la correlación existente con la progresión de la discapacidad es baja y su valor predictivo limitado (Barkhof, 2002; Davis, 2014).

Los potenciales evocados (PE) permiten un buen seguimiento de la enfermedad y constituyen un biomarcador sólido ya que establecen un pronóstico sobre la discapacidad que provocará la enfermedad (Ramanathan et al. 2013; Schlaeger et al. 2016; Barton et al. 2019). Se ha demostrado una fuerte correlación entre las alteraciones encontradas en los PE multimodales y las escalas utilizadas para la evaluación de la discapacidad (Hardmeier et al. 2017).

Estas técnicas permiten la detección precoz de alteraciones funcionales con anterioridad a su manifestación clínica e incluso en ausencia de síntomas deficitarios (Cambron et al. 2012; Kraft, 2013; Ramanathan et al. 2013; Di Maggio et al. 2014; Kiiski et al. 2016). A su vez, por medio de los PE se puede llegar a diferenciar entre desmielinización y daño axonal (Klistorner et al. 2007; Pueyo et al. 2010; You et al. 2011; 2012).

Por otra parte la utilización de resonancia magnética (RM) en Medicina Veterinaria no alcanza los grados de desarrollo y difusión que se observan en Medicina Humana, por lo que el uso diagnóstico de los PE es una alternativa eficaz y fácilmente al alcance para el estudio de enfermedades desmielinizantes en animales domésticos.

Un PE es la respuesta eléctrica producida en el sistema nervioso por un estímulo sensorial externo, por lo tanto explora un sistema aferente a la corteza, no así los motores. Existen diversos tipos de potenciales en función de la clase de estímulo sensorial que se aplique (somatosensitivo, visual, auditivo o motor); o del origen de las ondas (espinales, tronco encefálicas o corticales).

En cada una de estas pruebas, la respuesta PE consiste en una secuencia de deflexiones positivas o negativas (picos y ondas). Las características a evaluar son la presencia o ausencia de la respuesta, polaridad, configuración, amplitud y latencia.

Las ondas obtenidas y sus respectivas latencias proveen datos sobre la funcionalidad del sistema nervioso; asimismo es posible evaluar también por medio de otra técnica neurofisiológica, como el electroretinograma (ERG), la integridad de las fibras nerviosas de la retina.

Los potenciales evocados visuales (PEV) representan la respuesta eléctrica de la corteza occipital generada por la estimulación del campo visual central. Mientras que el ERG corresponde a potenciales generados en la retina registrados desde la córnea o la piel periorbitaria.

Los PEV y el ERG exploran la integridad de la vía visual y proporcionan una medida objetiva y reproducible de la función de la vía óptica. Habitualmente se obtienen por medio de la estimulación con un damero y son conocidos como PEV tipo patrón reversible o *pattern reversal* (PEVp); estos son más reproducibles y precisos que los PEV tipo flash (PEVf) en la valoración del nervio óptico.

Los PEVp presentan una menor variabilidad intra e inter individuos a diferencia de las respuestas a los estímulos tipo flash PEVf, que muestran variabilidad entre individuos aunque en un mismo sujeto son muy simétricos. Sin embargo, en caninos se utiliza el flash como estímulo luminoso dadas las características de los pacientes caninos y la necesaria colaboración del paciente para realizar los PEVp, ya que es imprescindible una correcta fijación de la mirada en el damero (Chiappa, 1997).

Los PEV son un método usado comúnmente para el diagnóstico electrofisiológico de neuritis óptica asociado a EM (Chiappa & Hill, 1997; Chiappa, 1980). Más del 50% de los pacientes desarrollan neuritis óptica (NO) en algún momento de la enfermedad. La NO se presenta como la primera manifestación en un 20 a 30% de los casos (Cantore, 1996; Söderström, 2001; Fernández et al., 2015).

Por otra parte, la estimulación eléctrica de un territorio cutáneo o de un nervio periférico genera una secuencia de potenciales originados por la transmisión del impulso a lo largo de la vía somestésica, los núcleos de relevo y en la corteza cerebral. Esta actividad se puede registrar mediante electrodos de superficie y se conoce como potenciales evocados somatosensitivos o somestésicos (PESS) (Chiappa, 1997).

Si bien se consideraba los PEV como los más sensibles a la hora de confirmar un diagnóstico de EM y NO, con una sensibilidad del 77 al 100% y del 44 al 100% en pacientes sin signos oftalmológicos (Habek et al. 2017), Djuric et al. (2010) demostraron que los PESS de los miembros inferiores (principalmente el PESS del nervio tibial) superan la sensibilidad de los PEV en casos de EM remitente recurrente, dando hallazgos patológicos en hasta 80% de los pacientes sin síntomas ni signos sensoriales.

La razón es que el PESS del nervio tibial evalúa los tractos ascendentes a través de toda la longitud de la médula espinal, tronco encefálico y cerebro. Cuanto mayor sea la cantidad de

tejido atravesado, mayor es la probabilidad de que áreas afectadas por la enfermedad sean halladas (Chiappa, 1997).

Hasta el momento son escasos los estudios que describen cómo se afectan los PE en caninos con DC.

Ochikubo et al. (1993) estudiaron los potenciales evocados visuales en monos ardillas (*Saimiri sciureus*) infectados con el VDC, encontrando alteraciones en la etapa subaguda de la enfermedad, así como encontraron alteraciones en un animal sin signos clínicos, pero que mostró los cambios histopatológicos propios de la enfermedad en la necropsia.

Richards et al. (2011) reportaron un caso en un perro Jack Russel de 9 años con convulsiones, giros en círculos y ceguera, al cual se le realizó ERG sin encontrar alteraciones.

Mondino et al. (2019) describieron cómo se afectan los PESS en 15 caninos con DC. Se obtuvo registros a nivel espinal y craneano. A nivel craneano observaron un incremento en la latencia del componente P1, así como una disminución de la amplitud N1-P1 en el miembro posterior izquierdo, en los animales infectados. Mientras que a nivel espinal el único parámetro afectado fue la amplitud N2-P2, mostrando un aumento de la misma.

### **3. CARACTERIZACION DEL PROBLEMA DE INVESTIGACION**

El DC constituye una de las principales infecciones presentes en caninos en nuestro país. La naturaleza de la enfermedad es variable, y sus consecuencias pueden ser graves. Además de la evidente relevancia clínica en medicina veterinaria, dadas las similitudes existentes entre esta patología y algunas condiciones desmielinizantes en humanos, el estudio de la neurodegeneración que provoca la misma, es de gran importancia.

Es por ello que el presente trabajo propone estudiar el daño que esta enfermedad neurodegenerativa provoca de forma natural en caninos domésticos, mediante técnicas neurofisiológicas; se busca contribuir a un abordaje más preciso para la prevención y el diagnóstico de la enfermedad.

Se dispondrá así de un marcador biológico accesible para la monitorización cualitativa de la neurodegeneración provocada por esta enfermedad, siendo base también para futuros estudios sobre la utilización de estos instrumentos como modo fiable para evaluar la respuesta a determinados tratamientos. El desarrollo de la propuesta permite también entender algunos aspectos comunes entre el DC y enfermedades desmielinizantes del humano, utilizando el perro como modelo animal.

#### **4. HIPOTESIS**

En el DC existen alteraciones a nivel neurofisiológico que permitirían utilizar técnicas electrofisiológicas para su diagnóstico, así como establecer un pronóstico funcional.

## **5. OBJETIVOS**

### ***5.1 Objetivo general:***

Evaluar la existencia de afectación funcional de las vías visuales y somatosensitivas en caninos infectados naturalmente con el VDC mediante técnicas neurofisiológicas.

### ***5.2 Objetivos específicos:***

1. Realizar PEV, ERG y PESS en caninos infectados naturalmente con distemper.
2. Comparar los resultados encontrados en los animales enfermos con los de animales sanos.
3. Determinar si existen alteraciones en los PEV, ERG y PESS.
4. Determinar qué tipo de alteraciones predominan (procesos desmielinizantes y/o daño axonal).
5. Comparar los resultados obtenidos en caninos con DC con las alteraciones encontradas en enfermedades desmielinizantes en humanos.

## **6. MATERIALES Y MÉTODOS**

### *6.1 Diseño experimental:*

Fueron estudiados caninos (*Canis lupus familiaris*) que concurrieron a la consulta en la Policlínica del Hospital de Pequeños Animales, de la Facultad de Veterinaria (UdelaR) y provenientes de Clínicas Veterinarias particulares derivados a la institución.

Sólo se incluyeron aquellos animales que contaron con el consentimiento por escrito de sus propietarios, en donde se les explicó en detalle todos los procedimientos a realizar. El protocolo experimental fue aprobado por la Comisión de Experimentación en el Uso de Animales (CEUA) de la FVET-Udelar, protocolo número 516/17.

### *6.2 Población muestral:*

Para el presente trabajo se establecieron dos (2) grupos de estudio, en los cuales no se hizo distinción entre sexo, raza, edad, ni estado vaccinal. El grupo 1 (control) estuvo compuesto por diez (10) animales sanos que no presentaron ningún signo de enfermedad general. Mientras que el grupo 2 (casos clínicos) estuvo constituido por cuarenta y un (41) animales con sintomatología clínica compatible con DC en curso, adquirido de forma natural.

El rango de edad se encontró entre los 3 a 144 meses, con un promedio en los 22,78 meses (solo dos individuos fueron añosos).

### *6.3 Criterios de inclusión:*

Los criterios de inclusión al grupo 2, fueron la presencia de signos clínicos característicos de la enfermedad y la detección cualitativa de antígenos del VDC mediante un kit de análisis, en secreción ocular, nasal, orina (Fast test Distemper; Megacor, Austria) (Figura 1).

Se le realizó a cada animal un examen físico general y neurológico para determinar el estado sanitario del mismo, el cual fue llevado a cabo exclusivamente por un Médico Veterinario (co-director de esta tesis). Asimismo estuvo a cargo de la administración de los fármacos para la sedación y los controles vitales pertinentes durante la realización de los estudios neurofisiológicos.

### *6.4 Criterios de exclusión:*

El criterio de exclusión al grupo 2 fue la presencia de mioclonias. Si las mismas fueron tan extensas o intensas que no permitieran la realización de los PE libres de artefactos debido a los movimientos ocasionados, el animal fue excluido del grupo.

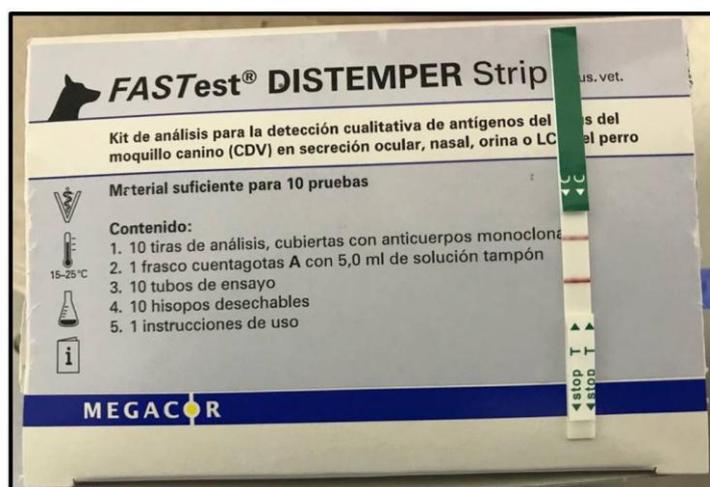


Figura 1. Test rápido de inmunocromatografía, la tira muestra resultado positivo en un animal enfermo.

### 6.5 Diseño del estudio:

Fueron estudiados con PE todos los animales pertenecientes a los Grupos 1 y 2. En aquellos animales cuyas condiciones clínicas lo permitieron, los estudios se llevaron a cabo bajo sedación con el fin de reducir el estrés y los artefactos provocados por el movimiento, por lo que se les solicitó previamente un ayuno de sólidos de 8 hs y 4 hs de líquido.

Se utilizó como sedante Xilacina (0.5-1.0 mg/kg) por vía intramuscular (I/M) (Pellegrino & Sica, 2005; Gutiérrez et al. 2020). Sin embargo, teniendo en cuenta el criterio de exclusión y la tolerancia al estudio por parte de los animales, el grupo 2 se dividió en cinco subgrupos: en el primero (n=10) se realizó los tres estudios previstos (PEV + ERG +PESS); a otro subgrupo de animales (n=8) se le realizó PEV + ERG; a otro subgrupo (n=9) se le realizó PEV + PESS; a otro se le realizó sólo PEV (n= 8) y finalmente al último subgrupo sólo PESS (n= 7).

### 6.6 Equipo para el registro de los PE:

Dada la baja amplitud de los PE en comparación con la actividad electroencefalográfica, el registro de las señales bioeléctricas se realizó con un sistema digitalizado de amplificación, promediación y filtrado de señales (Sistema Bio-PC Potenciales Evocados V.9, Akonic S.A. Argentina). La figura 2 muestra un esquema del equipo utilizado para la realización de estos estudios.

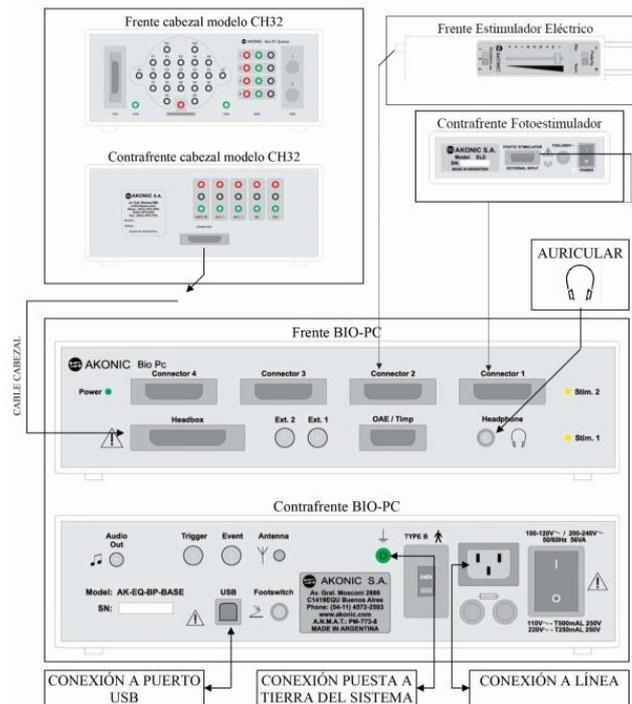


Figura 2. Esquema de equipo Akonic Bio PC para Potenciales Evocados (Akonic S.A. Argentina; adaptación de Manual del usuario Bio PC).

Para todas las técnicas se utilizaron electrodos de aguja de acero inoxidable inocuos para el animal, de colocación subdérmica; uno activo o de registro (+) próximo al área generadora de las respuestas eléctricas, otro de referencia (-) alejado del anterior, y un tercer electrodo de tierra (Strain et al. 1990; Uzuka et al. 1995; Pellegrino & Sica, 2005; Kimotsuki et al. 2005; Meij et al. 2006; Tovar-Sahuquillo, 2014).

## 6.7 Potenciales Evocados Visuales y Electrorretinograma

### 6.7.1 Colocación de electrodos de registro:

Para el registro de los PEV, se adaptó a los caninos el sistema internacional 10/20 de colocación de electrodos para humanos (Pellegrino & Sica, 2004). Así, el electrodo de registro se colocó en la línea media de la protuberancia occipital (Oz), el de referencia en la línea media del hueso frontal entre ambos ojos (Fpz), y el de tierra sobre la línea media del vértex (Cz) entre ambas orejas.

Para el ERG, se utilizó el mismo tipo de electrodo; el electrodo de registro se colocó 0,5 cm por debajo del párpado inferior, mientras que el electrodo de referencia fue situado 0,5 cm caudal al canto lateral del ojo a estimular. El electrodo de tierra se colocó sobre la línea

media del vértex (Cz). La Figura 3 muestra los sitios de colocación de electrodos para los PEV y ERG.

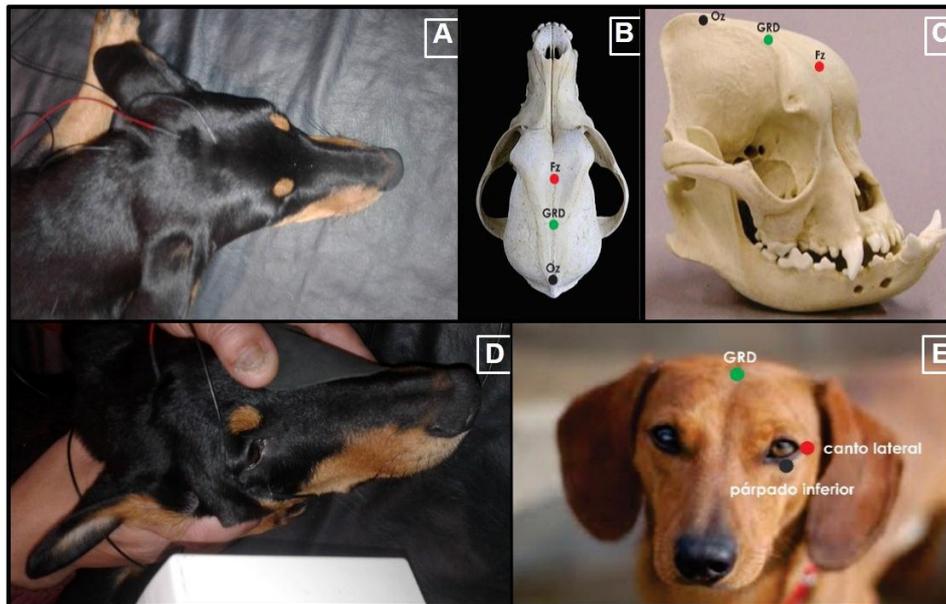


Figura 3. Sitios de colocación de electrodos para PEV y ERG. A) Se muestra los sitios de colocación para los PEV en la cabeza de canino. B y C) Se muestra los sitios de colocación en cráneos mesocefálico y braquicefálico. D) Sitios de colocación de electrodos para ERG en canino. E) Colocación de electrodos en canino para ERG.

### 6.7.2 Estímulo:

Como estímulos para evocar las respuestas, se empleó flashes de luz blanca generados por un estroboscopio a 1 Hz de frecuencia, colocados próximos al ojo a estimular sin tocar los párpados. Se realizó 128 estimulaciones monoculares para los PEV y 64 para los ERG, tapando el ojo contralateral al estímulo con un parche opaco, para aislar las respuestas de cada ojo y poder, por tanto, detectar asimetrías funcionales entre ambos ojos.

Para cada técnica, se realizó 2 series completas de estímulos en cada ojo. Los dos registros consecutivos en cada ojo permiten confirmar la reproducibilidad de las respuestas.

### 6.7.3 Aspectos técnicos del registro:

Para la obtención de los PEV y ERG se filtró la señal durante la adquisición de datos, utilizando una banda pasante de 1-100 Hz, con un tiempo de análisis de 300 ms dado que para la obtención de respuestas con sospecha de latencias prolongadas se utiliza tiempos de análisis mayores a lo habitual. La impedancia para todos los electrodos fue menor a 5 kOhm.

## 6.8 Potenciales Evocados Somatosensitivos

### 6.8.1 Colocación de los electrodos de registro:

Se obtuvo registros a nivel espinal y craneal. Los potenciales a nivel espinal fueron adquiridos por medio de la colocación de dos electrodos, el electrodo activo cerca de la línea media a la altura del espacio intervertebral L7-S1, y un electrodo de referencia insertado en el proceso espinoso correspondiente a L7. Un electrodo de tierra fue colocado para cerrar el circuito (Holliday et al. 1979; Vanderzant et al. 1989; Pellegrino & Sica, 2005; Meij et al. 2006).

Se registró los potenciales craneanos insertando subcutáneamente el electrodo activo a nivel de Fz (nomenclatura del sistema internacional 10-20 de colocación de electrodos) ya que en dicha región subyace al área somato-sensitiva correspondiente al miembro posterior (Uzuka et al. 1995; Johnson et al. 2020).

El electrodo de referencia se ubicó a nivel de la apófisis espinosa de la vértebra C1 (Chiappa, 1997; Uzuka y col., 1995). La Figura 4 muestra los sitios donde se colocaron los electrodos de registro a nivel craneal y espinal para el registro de los PESS.

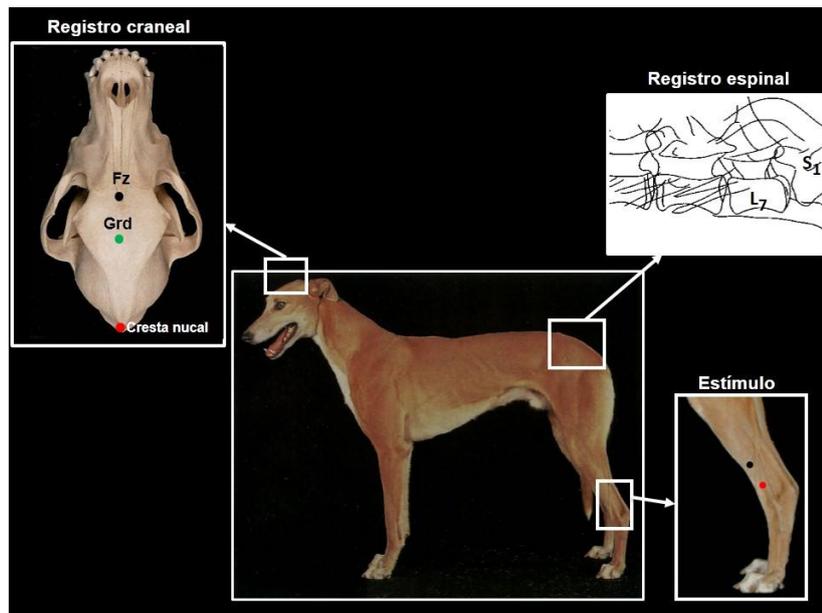


Figura 4. Sitios de colocación de electrodos para la obtención de PESS de MMPP por estimulación de nervio tibial.

### 6.8.2 Estímulo:

Los PESS fueron obtenidos por estimulación del nervio tibial por medio de electrodos de agujas subdérmicas de 15 mm de longitud (Akonic S.A., Argentina). Los mismos fueron colocados en forma subcutánea en la cara lateral del miembro a estimular, tomando como referencia la vena safena y colocando el cátodo proximal de modo de evitar el bloqueo anódico, tal como se muestra en la Figura 5.



Figura 5. Colocación de electrodos en el sitio de estimulación para registro de PESS de nervio tibial.

Los estímulos aplicados fueron pulsos cuadrados de 0,1 ms de duración a 5 Hz, con intensidad supra-máxima generados por un estimulador eléctrico. La intensidad se determinó buscando el umbral motor.

### 6.8.3 Aspectos técnicos del registro:

Se aplicó 500 estimulaciones unilaterales en cada miembro, realizando 2 series completas de estímulos. Los dos registros consecutivos en cada miembro permiten confirmar la reproducibilidad de las respuestas.

La señal se filtró durante la adquisición de datos utilizando una banda pasante de 30- 3000 Hz, con un tiempo de análisis de 50 ms. La impedancia para todos los electrodos fue menor a 5 kOhms.

### 6.9 Análisis estadístico:

Para el análisis de los datos y su correcta interpretación fueron elaboradas tablas de normalidad en base a los animales pertenecientes al grupo control. Estos datos se

compararon con los datos de los pacientes con DC (Strain, 1990; Kimotsuky, 2005; Tovar-Sahuquillo, 2014). Los valores correspondientes a las distintas variables fueron expresados como medias  $\pm$  desvío estándar.

Se evaluaron los valores de latencia (tiempo transcurrido entre la aplicación del estímulo y el pico máximo de la onda positiva o negativa, en milisegundos) y amplitud (medida desde el valor máximo positivo o negativo al pico de la onda previa o posterior, en microvoltios) de los PE y ERG a fin de identificar el estado funcional. Además, para los PESS se determinó el Tiempo de Conducción Central (TCC), como la diferencia entre las latencias de los potenciales craneanos y el potencial espinal (Pellegrino & Sica 2005).

Luego de evaluar la distribución de los datos obtenidos por medio de la prueba de hipótesis de Shapiro-Wilk en ambos grupos y dado que los mismos no poseían distribución normal, las diferencias entre el grupo control y el grupo casos clínicos fueron evaluadas con la prueba U de Mann-Whitney-Wilcoxon para muestras independientes. Se consideraron significativos los valores con  $p \leq 0,05$ .

Se clasificaron los valores obtenidos en cada individuo en normales o anormales. Los umbrales de latencia y amplitud para determinar si eran normales o no, se basaron en las medias y desvío estándar de los datos del grupo de control. Se consideró que una latencia y/o amplitud máxima era anormal si excedía dos desvíos estándar.

Las alteraciones se clasificaron en unilateral o bilateral según si las alteraciones estaban en uno o ambos ojos y/o miembros. Se determinó si había predominancia de los fenómenos desmielinizantes comprobable a través del retraso de los potenciales (aumento de las latencias) o de daño axonal probado mediante la reducción de la amplitud (Klistorner et al. 2007; You et al. 2011).

Después de clasificar los resultados individuales como normales o anormales, se comparó la proporción de hallazgos normales y anormales entre ambos grupos con el test exacto de Fisher (nivel de significancia  $p \leq 0,05$ ).

## 7. RESULTADOS

Se obtuvo datos de amplitudes y latencias de las ondas que conforman el ERG, PEV, y PESS de miembros posteriores tanto a nivel espinal como craneal.

### 7.1 Potenciales Evocados Visuales

En el grupo 1 (control), los PEV por flash consistieron según su polaridad, en 3 componentes negativos nombrados con la letra N, acompañado de los números 1, 2 y 3 respectivamente y 2 positivos nombrados con la letra P acompañado de los números 1 y 2, registrados en los primeros 150 -200 ms luego del estímulo visual. En la Figura 6 se muestran los registros de un animal perteneciente al grupo 2 y los registros de uno perteneciente al grupo 1 (sanos).

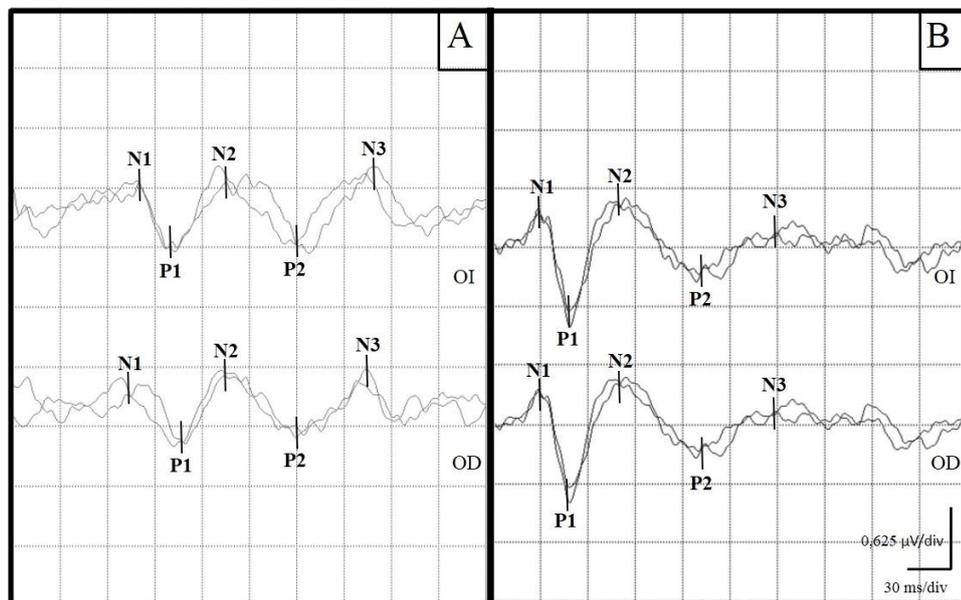


Figura 6. Ejemplos representativos de registros de PEV de un canino con DC (A) y de un canino control sano (B). Se puede apreciar un incremento de las latencias de las ondas en el canino enfermo.

En la mayoría de los PEV realizados al grupo 2 (n= 35) se observó bilateralmente un incremento significativo en todas las latencias que conforman los potenciales tal como se esperaba, ver Tabla 1.

## Latencias

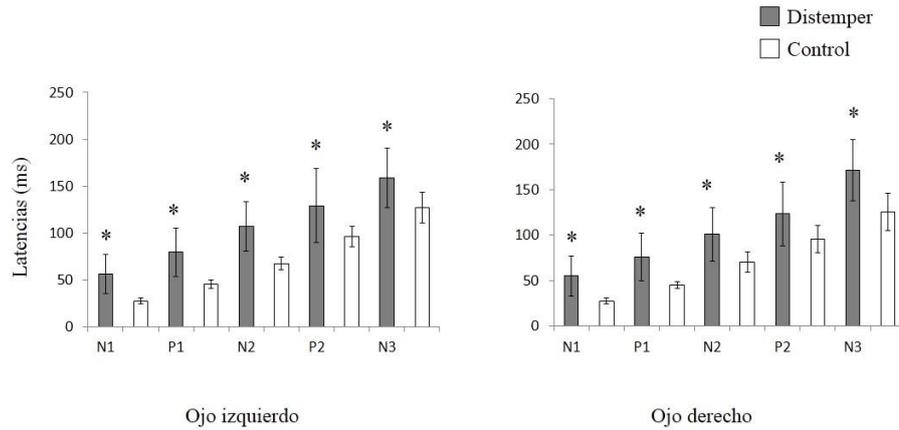


Figura 7. Gráfica de barras de las latencias de las distintas ondas que componen los PEV; (\*) = diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

Tabla 1. Latencias medias y desvíos estándar para cada componente de los PEV en ambos grupos.

	Distemper		Control	
	OI	OD	OI	OD
<b>N1</b>	56,5 ± 21,0	54,9 ± 21,9	27,6 ± 3,1	27,4 ± 3,1
<b>P1</b>	79,5 ± 25,5	76,1 ± 26,0	45,3 ± 4,4	45,0 ± 3,6
<b>N2</b>	107,0 ± 26,2	101,0 ± 29,3	67,4 ± 7,0	70,0 ± 11,2
<b>P2</b>	129,3 ± 39,7	123,3 ± 35,1	96,5 ± 11,0	95,8 ± 14,9
<b>N3</b>	159,9 ± 31,7	171,7 ± 33,7	127,0 ± 6,7	125,4 ± 20,8

De los treinta y cinco animales con DC evaluados, en un animal no se obtuvo ninguna respuesta bilateralmente, mientras que en 4 animales sólo se obtuvieron respuestas unilateralmente.

La latencia del componente N1 estuvo aumentada en el 76,5 % para el ojo izquierdo, mientras que en el ojo derecho se encontró aumentada en un 64,7 %. En cuatro de los animales no se obtuvo respuestas unilateralmente.

Para P1 se encontró un aumento en la latencia en un 76,5 % de los animales en el ojo izquierdo y de un 70,6 % en el ojo derecho. Cuatro de los animales no presentaron respuestas unilateralmente.

La latencia de N2 en el ojo izquierdo se encontró prolongada en el 70,6 % de los casos mientras que los valores para el ojo derecho estuvieron prolongados en un 58,8 %. Seis de los animales no presentaron esta onda bilateralmente, mientras que en un animal la onda estuvo ausente para el ojo derecho y presente en el izquierdo.

El componente P2 tuvo un aumento en la latencia en el 32,3 % de los animales en el ojo izquierdo y en 35,3 % de los animales en el ojo derecho. Cinco de los animales no presentaron esta onda bilateralmente, mientras que en dos animales el aumento fue unilateral.

Con respecto a la onda N3 solamente se obtuvo registros consistentes y reproducibles en nueve de los treinta y cuatro animales estudiados (26,4 %). Se encontró un aumento bilateral de la latencia en tres de los animales (11,7 %).

En cuanto a las amplitudes, no se observó alteraciones. Si se observó una tendencia al aumento de la amplitud N2-P2 en el ojo izquierdo, siendo la media y el desvío estándar de los controles  $1,02 \pm 0,58$  y de  $1,66 \pm 1,06$  la de los animales afectados ( $p= 0,08$ ).

## **7.2 Electrorretinograma**

El ERG por flash en el grupo 1 se caracterizó por la presencia de una onda positiva (onda a) seguida de una onda de gran amplitud negativa (onda b), sin presencia de onda c.

Las latencias correspondientes a las ondas a y b en el ERG no fueron diferentes (n.s.) entre los grupos. Asimismo las amplitudes tampoco se vieron afectadas (n.s.).

De los dieciocho animales infectados con DC a los que se les realizó ERG, seis presentaron PEV alterados (cinco con aumento de las latencias y uno con ausencia de respuesta); en cuanto al ERG solo presentaron respuesta unilateralmente.

La figura 8 muestra un ERG representativo de un animal enfermo y de uno sano.

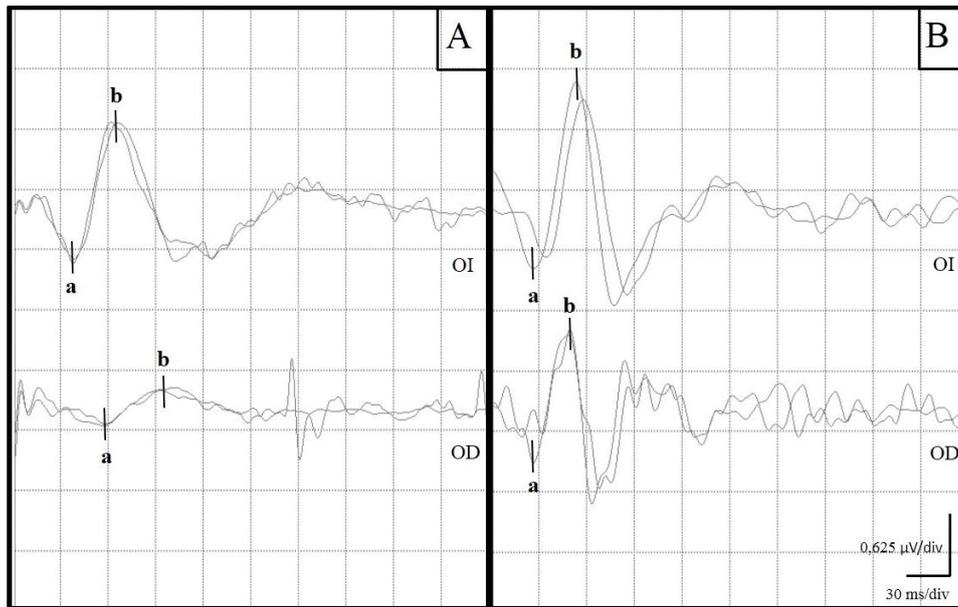


Figura 8. Ejemplos representativos de registros de ERG de un canino con DC (A) y de un canino control (B). Se puede apreciar asimetría entre los ERG con menor amplitud para el ojo derecho en el canino enfermo.

### 7.3 Potenciales Evocados Somatosensitivos

El PESS de miembros posteriores por estimulación del nervio tibial consistió en el grupo 1 a nivel craneal de dos picos positivos y uno negativo; P1, N1 y P2 respectivamente.

A nivel espinal se obtuvo 2 picos negativos y dos positivos; P1, N1, P2 y N2. La Figura 9 muestra un PESS representativo de un animal enfermo y otro de uno sano.

Fueron estudiados por PESS veintiséis animales pertenecientes al grupo 2.

A nivel craneano en cuanto a las latencias, se observó un aumento de la onda P1 bilateralmente en el 11 %.

En el MPI en los animales controles fue de  $19,3 \pm 3,2$  y en los animales enfermos  $23,2 \pm 3,7$  ms, (media  $\pm$  ds,  $p=0,003$ ). Para el MPD en los animales controles fue  $19,1 \pm 2,65$  y en los enfermos  $22,9 \pm 5,5$  ms, (media  $\pm$  ds,  $p=0,02$ ).

Asimismo, las latencias de la onda N1 estuvieron aumentadas en el 19,2% para el MPI; mientras que del 11% para el MPD.

En el MPI fueron de  $23,1 \pm 2,64$  para el grupo control y de  $26,6 \pm 4,4$  para los animales enfermos (media  $\pm$  ds,  $p=0,01$ ), mientras que para el MPD la latencia media fue de  $22,9 \pm 2,4$  en controles y de  $26,4 \pm 6,0$  para los animales con DC (media  $\pm$  ds,  $p=0,05$ ). En

cuanto a las latencias del potencial a nivel espinal no estuvieron alteradas con respecto al grupo control.

A nivel espinal, no se observó cambios significativos en las latencias al comparar entre los grupos. La tabla 2 resume los valores de latencias medias para los PESS a nivel craneal y espinal.

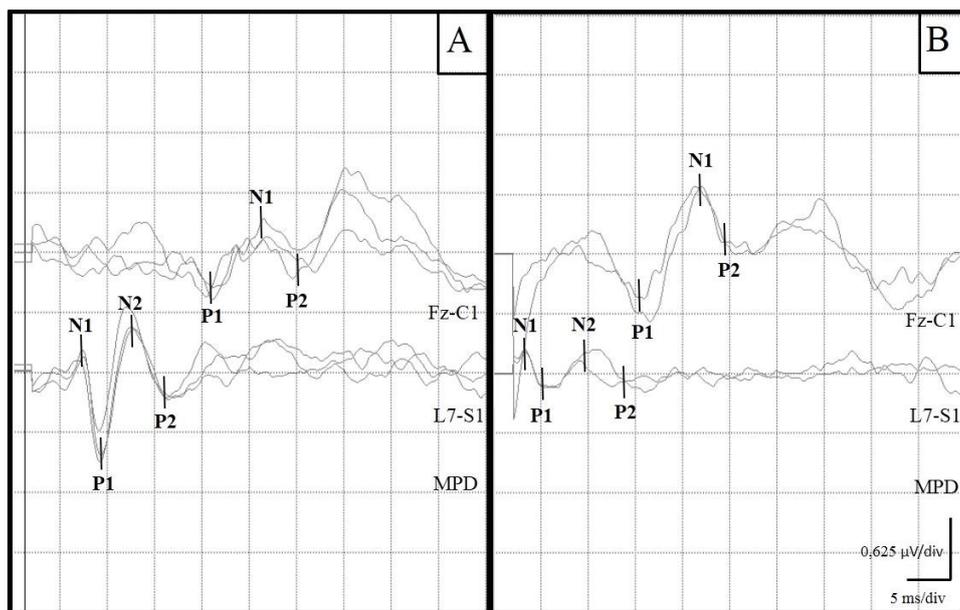


Figura 9. Ejemplos representativos de registros de PESS de MPD obtenidos por estimulación de nervio tibial de un canino con DC (A) y de un canino control (B).  
Nótese el aumento de amplitud del potencial a nivel espinal.

Tabla 2. Latencias medias y desvíos estándar para cada componente de los PESS en ambos grupos.

		Distemper		Control	
		MPI	MPD	MPI	MPD
<i>craneal</i>	<b>P1</b>	23,2±3,7	22,9±5,5	19,3±3,2	19,1±2,6
	<b>N1</b>	26,6±4,4	26,4±6,0	23,0±2,6	22,9±2,4
	<b>P2</b>	30,0±4,7	29,5±6,2	27,4±3,3	27,1±2,7
<i>espinal</i>	<b>N1</b>	6,5±2,0	6,4±2,5	5,3±1,5	5,2±1,5
	<b>P1</b>	8,7±2,5	8,5±2,4	7,5±1,1	7,7±1,4
	<b>N2</b>	11,4±2,0	11,5±2,4	11,1±1,7	11,1±1,2
	<b>P2</b>	14,5±2,4	14,5±2,7	14,2±1,3	13,9±1,4

Las amplitudes en los PESS a nivel craneano no mostraron alteraciones significativas.

En cambio a nivel espinal se observó un aumento significativo de las amplitudes N1-P1; P1-N2 y N2-P2 bilateralmente, tal como se muestra en la figura 10.

En el MPI las amplitudes para N1-P1 fueron de  $0,22 \pm 0,11$  en los animales controles; mientras que en el grupo enfermo fue de  $0,41 \pm 0,34$ . Los valores para el MPD fueron de  $0,23 \pm 0,09$  en los animales sanos y de  $0,44 \pm 0,25$  en los enfermos.

Para P1- N2 en el MPI, las amplitudes fueron de  $0,24 \pm 0,06$  en animales del grupo control y de  $0,56 \pm 0,43$  en el grupo con DC. En el MPD fueron de  $0,27 \pm 0,10$  para los controles y de  $0,57 \pm 0,37$  para el grupo con DC.

Para N2-P2 en el MPI, las amplitudes fueron de  $0,17 \pm 0,06$  en animales del grupo control y de  $0,35 \pm 0,23$  en el grupo con DC. En el MPD fueron de  $0,18 \pm 0,08$  para los controles y de  $0,43 \pm 0,28$  para el grupo con DC.

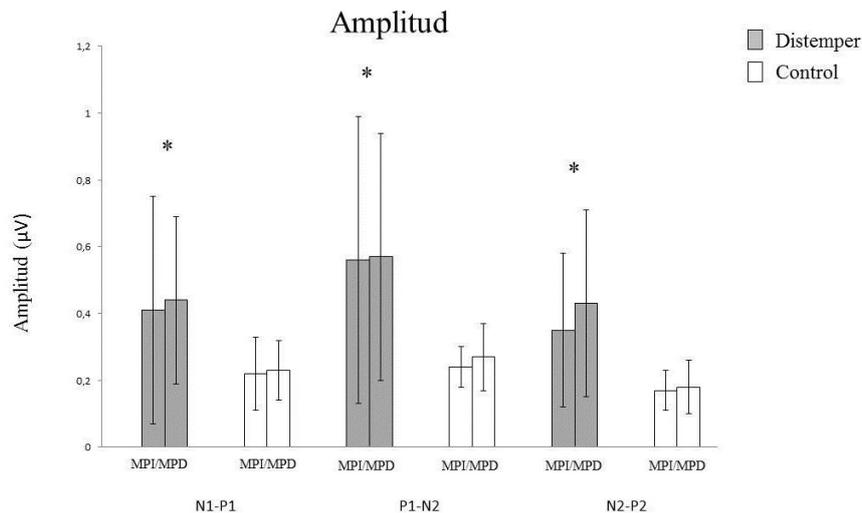


Figura 10. Gráfica de barras de las amplitudes del registro a nivel espinal de las distintas ondas que componen los PESS; (\*) = diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

El TCC en el miembro izquierdo se halló significativamente prolongado en los animales enfermos ( $16,7 \pm 4,1$ ) al compararlos con el grupo control ( $13,9 \pm 2,3$ ) (media  $\pm$  desvío estándar;  $p=0,03$ ).

Asimismo de los 26 animales evaluados por PESS, el 51,7 % de ellos presentaron mioclonias al momento del estudio, las cuales no interfirieron en el registro de los PE.

Al comparar la proporción de estudios alterados en el grupo de animales enfermos; de los 19 individuos evaluados en común con ambas técnicas (PEV y PESS) dieciséis animales (84,2 %) presentaron alteraciones en los PEV; mientras que los PESS estuvieron alterados en once de los animales el (57,9 %).

## 8. DISCUSIÓN

El desarrollo del presente trabajo proporciona nuevos datos, de origen local, que pueden ser utilizados tanto en el diagnóstico como en el seguimiento de pacientes con DC, así como para otras enfermedades desmielinizantes, neurológicas y oftalmológicas.

La estandarización y creación de nuestras propias tablas de normalidad para estos estudios con los estándares que el equipo utilizado proporciona permitió que estas técnicas puedan ser realizadas de rutina como parte de las herramientas diagnósticas con las que cuenta la Policlínica de Neurología del Departamento de Clínicas y Hospital Veterinario Pequeños Animales de la Facultad de Veterinaria. Asimismo describe aspectos del registro de los potenciales que contribuyen a la mejor comprensión de esta enfermedad.

Si bien el uso de potenciales evocados en caninos se ha centrado principalmente en la investigación más que en sus aplicaciones clínicas, la respuesta normal de los PE y ERG en caninos ha sido descrita desde ya hace tiempo por varios autores (Holliday et al. 1979; Sato et al. 1982; Vanderzant, 1989; Strain et al. 1990; Kimotsuki 2005; Meij et al. 2006; Torres et al. 2016).

Los registros obtenidos por ellos no difieren en gran medida con los obtenidos en nuestro grupo control. Sin embargo, con respecto a la nomenclatura de las ondas sí existen diferencias; si bien no hay un consenso al respecto, en este trabajo se decidió nombrarlas de forma descriptiva según la polaridad de las mismas, teniendo en cuenta las entradas del amplificador diferencial y cómo se determina la polaridad según éste (Lee et al. 2017).

En el presente trabajo no se realizó distinción entre sexo, edad y estado vaccinal. Un estudio de la situación epidemiológica del VDC realizado entre los años 2006-2016, en el Hospital Veterinario de la Facultad de Veterinaria de nuestro país mostró que no hubo prevalencia de un sexo sobre otro (Lariccia & Kramer, 2018). En cuanto a los PE no existen reportes que justifiquen realizar distinción entre sexos; estudios en humanos indicaron que valores del PEV en hombres con respecto a mujeres no presentaron diferencias clínicamente significativas (Chiappa, 1997).

Con respecto a la edad, los animales entre 3 y 6 meses de edad fueron los más susceptibles a la infección. Sin embargo, el trabajo de Lariccia & Kramer (2018) reporta que todas las franjas etarias están afectadas, con un promedio en los 2 años y 7 meses; en nuestra muestra el promedio fue de 1 año y 11 meses.

En cuanto a los cambios ocurridos en los PE en relación a la edad, Kimotsuki et al. (2006) reportan una prolongación en las latencias de las ondas N2, P2 y N3 (nomenclatura adecuada según la polaridad utilizada en este trabajo) en el PEV de caninos mayores a 15 años al compararlos con los PEV de animales de 1 año. Por otra parte, existen reportes que mencionan que la maduración de la vía visual en caninos se da entre las 11 semanas y las 15 semanas, cuando aumentan las amplitudes y disminuyen las latencias (Fox 1968; Tovar & Torres, 2014).

Por otra parte, Fox et al. (1967) reportan que el proceso de mielinización en la médula espinal del perro se completa al inicio de las 10 semanas, mientras que la maduración del neocórtex en el canino se daría dentro del mismo periodo (Fox et al., 1966). La actividad eléctrica cerebral completaría su ontogenia entre las 20 a las 30 semanas (Senba et al., 1984). No se encontró reportes que describan el proceso de maduración del PESS en el canino.

Estudios histopatológicos en animales infectados naturalmente con el VDC y con antecedentes desconocidos de vacunación demostraron la desmielinización como uno de los cambios característicos, por lo que no habría razones que justificaran realizar en este primer análisis diferenciación entre grupos de animales vacunados y no vacunados (Galan et al., 2014; Ulrich et al., 2014; Feijóo et al., 2021).

En este trabajo se demostró que los PE se encuentran alterados en los animales infectados con DC con respecto al grupo control. De acuerdo con la hipótesis de trabajo, las latencias en el grupo con DC estuvieron prolongadas tanto en los PEV como en los PESS de nervio tibial.

Estos hallazgos concuerdan con los reportes referentes a EM dadas las similitudes neuropatológicas existentes entre ambas enfermedades (Leocani et al., 2003; Leocani et al., 2018; Barton et al., 2019).

En cuanto a las alteraciones encontradas en los PEV realizados a los caninos con DC, las latencias de todos los componentes se vieron aumentadas, mientras que las amplitudes no sufrieron cambios a excepción de N2-P2 para el ojo izquierdo.

Por otra parte, en la EM se ha demostrado que ocurre un aumento en la latencia de las ondas del PEV (realizado por damero), siendo el aumento en latencia P100 la principal alteración descrita. Esto se ha asociado con trastornos de la mielinización (Comi et al., 1999).

Una lesión desmielinizante en el nervio óptico de unos 10 mm de longitud causa un retraso en la conducción de aproximadamente de 25 milisegundos (Hardmeier et al., 2017). Estudios de RM en pacientes con EM han mostrado lesiones en las radiaciones ópticas en un 70 % de los individuos (Alshowaeir et al., 2014), lo que explica la disfunción visual presente en éstos.

En nuestro grupo de estudio se observó que los aumentos en las latencias fueron más marcados en las ondas P1, N1 y P2. Este aumento de la latencia concuerda con lo esperado en vinculación con la fisiopatología de esta enfermedad.

La infección por el VDC lleva a lesiones en las vainas de mielina y formación de vacuolas en la sustancia blanca (Schobesberger et al., 2002). Con respecto a las lesiones neuropatológicas que pudieran influir en el funcionamiento de la vía visual, Amude et al. (2010) describen que la corteza occipital se encuentra afectada principalmente en la encefalitis del perro viejo.

Mike & Carithes (1975) reportan lesiones histopatológicas en el ojo de caninos infectados; así como signos de desmielinización del nervio óptico y sus tractos. Este conjunto de alteraciones está en concordancia con nuestros hallazgos, dado que la prolongación de la latencia de PEV se considera desde hace mucho tiempo como un indicador de desmielinización; y el grado de desmielinización dentro de la vía visual de los modelos animales se correlaciona con la magnitud del retraso (You et al., 2011).

En cuanto a las alteraciones encontradas en los PESS, el incremento de la latencia también era de esperarse, ya que este tipo de potencial ha demostrado ser de gran utilidad en el estudio de enfermedades desmielinizantes. Son varios los autores que han demostrado que ocurre un aumento en la latencia de las ondas, tanto en los potenciales del nervio tibial como en los del mediano y el peroneo (Walsh et al., 1982; Rossini et al., 1985; Comi et al., 1999; Leocani et al., 2000). Este cambio en la latencia se ha asociado con trastornos de la mielinización (Comi et al., 1999).

En pacientes con EM progresiva el síndrome espinal a menudo predomina y los PESS han demostrado alteraciones en el 77 % de los casos; de este modo los PESS no solo detectan lesiones en el cerebro sino que también lo hacen en médula espinal (Djuric et al., 2010).

Cuando en el diagnóstico electrofisiológico se considera solamente las propiedades de las respuestas, en los PESS la proporción de alteraciones es menor que al considerar el TCC, complementando su información con la que brindan otras técnicas electrofisiológicas. Asimismo, a diferencia de las latencias absolutas, el TCC se ve mínimamente afectado por la longitud de la extremidad, temperatura o lesión de nervios periféricos (Vanderzant et al., 1989); por lo tanto, fue pertinente considerarlo en el trabajo dado que estas variables no siempre pudieron ser controladas adecuadamente. Cabe destacar que en estados tempranos de la EM el aumento en el TCC puede ser la única alteración encontrada (Ganes, 1980). En el presente trabajo se encontró un aumento del TCC, lo que era de esperarse dado que las lesiones histológicas en estos pacientes se encuentran en el sistema nervioso central y el TCC nos permite evaluar el tiempo que demora el estímulo en recorrer la distancia entre el sitio de entrada a la sustancia gris de la médula espinal y su llegada a la corteza somatosensitiva (Ganes, 1980; Pellegrino & Sica, 2005; Destri et al., 2020).

En cuanto al aumento de la amplitud N2-P2 en el PEV para el ojo izquierdo, así como el aumento en la amplitud de los PESS a nivel espinal, estos resultados no eran esperados dado que en los reportes de alteraciones de PE debidas a lesiones desmielinizantes con afectación de la conducción nerviosa suele ocurrir un incremento de latencia y una disminución de la amplitud.

El aumento de la amplitud de los PE típicamente se asocia con epilepsia mioclónica progresiva (Shibasaki et al. 1985). Se ha descrito que los PESS corticales gigantes implican hiperexcitabilidad; y pueden ser vistos también en desordenes no epilépticos, inclusive en pacientes con enfermedades desmielinizantes (Anzellotti et al., 2016; Palomeque et al., 2017; Oguri et al., 2020).

Se ha descrito que la presencia de un aumento de la amplitud de los PE involucra hiperexcitabilidad del sistema nervioso central, tanto en el cerebro como en la médula espinal, debido a la falla de las entradas inhibitorias de las interneuronas (Lazzaro et al., 1996; Palomeque et al., 2017).

Aunque en los trabajos citados el aumento en la amplitud de los PESS se refiere únicamente a registros obtenidos a nivel cortical, Oguri et al. (2020) describen además la presencia de un componente de alta frecuencia y un aumento de amplitud en el PEV y amplitudes aumentadas de los PESS a nivel cortical y cervical en pacientes con enfermedad de Gaucher en humanos.

Por otra parte, en las lesiones desmielinizantes del DC, se ha demostrado que la mayoría de las células infectadas son los astrocitos. Estas células cumplen funciones muy importantes y dentro de éstas se encuentra la eliminación de neurotransmisores como el glutamato de la hendidura sináptica y la posterior degradación por la enzima glutamina sintetasa, evitando así la muerte celular excitotóxica de las neuronas y de oligodendrocitos productores de mielina (Klemens et al., 2019).

Brunner et al. (2007) mostraron que las células neuronales del hipocampo de ratas infectadas con el VDC producen una mayor cantidad de glutamato, lo que conduce a la neurodegeneración. En varias patologías tales como Alzheimer, epilepsia, hipoxia, diabetes y EM se ha identificado una reducción de la glutamina sintetasa (Klemens et al., 2019). Eid et al. (2019) demostraron que la reducción de la glutamina sintetasa astrocítica es un factor importante para desencadenar algunas epilepsias.

La glutamina sintetasa es una enzima que regula el metabolismo del glutamato en el sistema nervioso central, cataliza la síntesis de glutamina a partir de glutamato y es responsable de la desintoxicación de amoníaco en el cerebro, así como del ciclo glutamato/GABA-glutamina (Shin et al., 2003).

Esto nos permitiría especular que el aumento en la amplitud de los PESS sobretodo a nivel espinal podría estar ocasionado por la hiperexcitabilidad generada por la disminución de la glutamina sintetasa. Sin embargo, el mecanismo por el cual ocurrió ese aumento de amplitud debe ser estudiado en profundidad.

Con respecto a los animales evaluados por PESS, más de la mitad presentaron mioclonias; sin embargo, el mecanismo fisiopatológico de la mioclonia no está bien definido. Se ha especulado que el sitio de la lesión podría ser la motoneurona inferior de la médula espinal, pese a que no se encontraron lesiones histopatológicas en la sustancia gris medular en caninos con mioclonias (Pellegrino, 2015).

Comakli et al. (2020) concluyen que una de las principales causas de mioclonias en las infecciones por VDC puede ser el bloqueo de la inhibición post-sináptica en las neuronas o la falla del metabolismo del GABA. Además, un desequilibrio de la neurotransmisión de GABA podría desempeñar un papel en la desmielinización en las infecciones por VDC.

En cuanto a las mioclonias espinales, se ha descrito en medicina humana que las mismas son causadas por distintas etiologías (Shibasaki & Hallett, 2005).

La fisiopatología no se conoce con exactitud aunque se estima que la pérdida del equilibrio entre los mecanismos inhibidores y excitadores espinales sería la causante. Según Shibasaki & Hallett (2005) los PESS son de amplitud normal o disminuida dependiendo de la topografía lesional. Sin embargo, estos trabajos se refieren a los potenciales evocados a nivel cortical y no se hace mención respecto de los hallazgos a nivel espinal.

Ese aumento de la amplitud podría estar relacionado con las mioclonias por la hiperexcitabilidad generada a causa de la disminución de la glutamina sintetasa. Pero faltan estudios que confirmen esta hipótesis.

El aumento de amplitud de los PEV, visto en nuestros animales infectados con VDC solo se pudo observar en el lado izquierdo, lo que se puede explicar por haber comenzado siempre las estimulaciones en el mismo ojo (derecho) permaneciendo el otro ocluido, esto implica una adaptación a la oscuridad para el segundo ojo, con el consiguiente aumento de amplitud.

Con respecto a los resultados de los ERG, Mike & Carithes (1975) describen en caninos infectados con DC lesiones a nivel histopatológico de variado tipo: necrosis, degeneración de las células ganglionares de la retina, edema y manguitos peri-vasculares, proliferación de células epiteliales pigmentarias, cuerpos de inclusión en retina y atrofia de conos y bastones. Sin embargo, en nuestro trabajo la ausencia de alteraciones específicas en la electroretinografía en los animales enfermos, concuerda con lo demostrado para esta técnica en pacientes con EM, dada su poca especificidad (Barton et al., 2019).

Klistoner et al. (2014) reportan alteraciones en pacientes con EM, las que se presume son debidas al adelgazamiento de las células ganglionares de la retina y sin embargo estas lesiones son más evidentes por tomografía de coherencia óptica. Dada su poca especificidad y el tiempo adicional que plantea la realización del electroretinograma, no aportaría un beneficio clínico en el manejo rutinario del DC.

En EM los PESS de nervio tibial han demostrado ser los más sensibles, lo que se debe a que esta modalidad de PE evalúa los tractos ascendentes a través de todo el largo de la médula espinal, tronco encefálico y cerebro (Vural et al. 2018). En cuanto a la sensibilidad de estos estudios en los animales con DC, los PEV estuvieron más afectados que los PESS. Esto confirma la predilección del VDC por el nervio óptico, una de las regiones más afectadas por la desmielinización tal como lo describen Vandeveldel & Zurbriggen, (2005).

## 9. CONCLUSIONES

El presente estudio permitió estandarizar a nivel nacional las técnicas de PEV, PESS y ERG en caninos. Asimismo se creó tablas de normalidad propias que permiten realizar las comparaciones entre sujetos sanos y enfermos. Esto se ha reflejado en un beneficio para el Hospital Veterinario de la Facultad, ya que se ha brindado el servicio a los pacientes que así lo necesiten de forma regular.

Por otra parte se comprobó la existencia de alteraciones en los PEV y PESS de miembros posteriores en caninos infectados con distemper (aumento de latencias en PEV y PESS craneal y aumento de amplitud en PESS espinal). Es de hacer notar que estos estudios no habían sido realizados con este fin anteriormente en caninos.

El aumento de las latencias en los componentes de los PE permite que las lesiones neurológicas sean diagnosticadas antes que los signos y síntomas neurológicos aparezcan. Estas técnicas han demostrado ser una herramienta de gran utilidad en la detección de lesiones silentes, ya que muchas veces los síntomas relacionados con afección del sistema nervioso de los pacientes con DC aparecen más tardíamente que los síntomas en otros sistemas.

Asimismo, se demostró que los PEV constituyen la técnica más sensible en el diagnóstico del DC, poniendo en manifiesto que las alteraciones a nivel del nervio óptico son más frecuentes de lo que se pensaba e inclusive que se presentan en ausencia de signos que el clínico tratante pueda detectar al momento de la evaluación general.

En cuanto a las perspectivas que han surgido a raíz del presente trabajo, se plantea a los PEV como una buena herramienta para evaluar la efectividad de distintos tratamientos en esta patología en futuros estudios. Así como también se plant nuevas interrogantes en relación a la afectación de los PESS y el origen de la mioclonia en el DC.

## 10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alshowaer D, Yiannikas C, Garrick R, Parratt J, Barnett M, Graham S, Klistorner, A. (2014). Latency of multifocal visual evoked potentials in nonoptic neuritis eyes of multiple sclerosis patients associated with optic radiation lesions. *Invest Ophthalmol & Vis Sci*, 55(6): 3758-3764.
2. Amude A, Alfieri A, Alfieri, A. (2006). The nervous form of canine distemper. *Vet Zootec*, 13(2): 125-136.
3. Amude A, Alfieri A, Alfieri, A. (2010). Canine distemper virus and multiple sclerosis: A real or an anecdotal association. *Appl Microbiol*, 737-745.
4. Anzellotti F, Onofri M, Bonanni L, Saracino A, Franciotti R. (2016). Giant early components of somatosensory evoked potentials to tibial nerve stimulation in cortical myoclonus. *NeuroImage: Clin*, 12: 212-218.
5. Barkhof F. (2002). The clinico-radiological paradox in multiple sclerosis revisited. *Current opinion in neurology*, 15(3): 239-245.
6. Barton J, Garber J, Klistorner A, Barnett, M. (2019). The electrophysiological assessment of visual function in Multiple Sclerosis. *Clin Neurophysiol Pract*, 4: 90-96.
7. Beineke A, Puff C, Seehusen F, Baumgärtner W. (2009). Pathogenesis and immunopathology of systemic and nervous canine distemper. *Vet Immunol Immunopathol*, 127(1-2): 1-18.
8. Brunner J, Plattet P, Majcherczyk P, Zurbriggen A, Wittek R, Hirling H. (2007). Canine distemper virus infection of primary hippocampal cells induces increase in extracellular glutamate and neurodegeneration. *J Neurochem*, 103(3): 1184-1195.
9. Cambron, M., D'Haeseleer, M., Laureys, G., Clinckers, R., Debruyne, J., & De Keyser, J. (2012). White-matter astrocytes, axonal energy metabolism, and axonal degeneration in multiple sclerosis. *J Cereb Blood Flow Metab*, 32(3): 413-424.
10. Cantore A. (1996). Optic neuritis. *Penn Med*, 99: 96-98.
11. Chiappa, K. H. Pattern shift visual, brainstem auditory, and short-latency somatosensory evoked potentials in multiple sclerosis. (1980) *Neurology*, 30: 110-123.
12. Chiappa K. (1997). Pattern-Shift Visual Evoked Potential: Metodology. En: Chiappa K. (1997). *Evoked Potential in Clinical Medicine*. Ed. Lippincott-Raven 3ª ed. Philadelphia, Cap 2, pp. 30-94.
13. Chiappa K, Hill R. (1997). Pattern-Shift Visual Evoked Potential: Interpretation. En: Chiappa K. (1997) *Evoked Potential in Clinical Medicine*. Ed. Lippincott-Raven 3ª ed. Philadelphia, Cap 3, pp. 95-130.

14. Çomaklı, S., Özdemir, S. & Değirmençay, Ş. (2020). Canine distemper virus induces downregulation of *GABA<sub>A</sub>*, *GABA<sub>B</sub>*, and *GATI* expression in brain tissue of dogs. *Arch Virol* 165, 1321–1331.
15. Comi G, Leocani L, Medaglini S, Locatelli T, Martinelli V, Santuccio G, Rossi P. (1999). Measuring evoked responses in multiple sclerosis. *Mult Scler*, 5(4): 263–267.
16. Davis A. (2014). The clinico-radiological paradox in multiple sclerosis: novel implications of lesion size. *Mult Scler*, 20(4): 515-516.
17. Destri A, Sánchez L, Stewart J, Dennis R. (2020). Clinical, MRI and histopathological findings in a dog with distemper meningomyelitis. *Veterinary Record Case Reports*, 8.
18. Di Maggio G, Santangelo R, Guerrieri S, Bianco M, Ferrari L, Medaglini S, Rodegher M, Colombo B, Moiola L, Chieffo R, Del Carro U, Martinelli V, Comi G, Leocani L. (2014) Optical coherence tomography and visual evoked potentials: which is more sensitive in multiple sclerosis? *Mult Scler*, 20(10):1342-1347
19. Di Lazzaro V, Restuccia D, Nardone R, Oliviero A, Profice P, Insola A, Tonali P, Rothwell C. (1996). Changes in spinal cord excitability in a patient with rhythmic segmental myoclonus. *J Neurol, Neuros Psychiatry*, 61(6): 641-644.
20. Djuric S, Djuric V, Zivkovic M, Milosevic V, Jolic M, Stamenovic J, Djordejevic G, Calixto M. (2010). Are somatosensory evoked potentials of the tibial nerve the most sensitive test in diagnosing multiple sclerosis? *Neurol India*, 58(4): 537–541.
21. Eid T, Lee TW, Patrylo P, Zaveri HP. (2019) Astrocytes and Glutamine Synthetase in Epileptogenesis. *J Neurosci Res*, 97(11):1345-1362
22. Feijóo G, Yamasaki K, Delucchi L, Verdes J. (2021). Central nervous system lesions caused by canine distemper virus in 4 vaccinated dogs. *J Vet Diagn Invest* 33 (4): 640-647.
23. Fernandez O, Arroyo-Gonzalez R, Rodriguez-Antiguedad A, Garcia-Merino A, Comabella M, Villar M, Meca-Lallana E. (2013). Biomarkers in multiple sclerosis. *Rev Neurol*, 56(7): 375-390.
24. Fernández O, Fernández V, Guerrero V. Enfermedades desmielinizantes del sistema nervioso central. (2015). *Rev Ed Sup*, 11: 4601-4609.
25. Fox M, Inman O, Himwich W. (1966). The postnatal development of neocortical neurons in the dog. *J Comp Neurol*, 127 (2): 199-206.
26. Fox M, Inman O, Himwich W. (1967). The postnatal development of the spinal cord of the dog. *J Comp Neurol*, 130 (3): 233-240.
27. Fox M. (1968). Neuronal development and ontogeny of evoked potentials in auditory and visual cortex of the dog. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, 24 (3): 213-226.
28. Galán A, Gamito A, Carletti BE, Guisado A, de las Mulas JM, Pérez J, Martín EM. (2014). Uncommon acute neurologic presentation of canine distemper in 4 adult dogs. *Can Vet J*, 55(4), 373-378.

29. Ganes T. (1980). Somatosensory evoked responses and central afferent conduction times in patients with multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 43(10):948-53.
30. Gutiérrez, M., Feijóo, G., & Delucchi, L. J. (2020). Neurophysiological evaluation of canine congenital hydrocephalus in three dogs. *Vet Rec Case Rep*, DOI:10.1136/vetreccr-2019-000949
31. Habek M, Adamec I, Barun B, Crnošija L, Gabelić T, Krbot Skorić M. (2017) Clinical Neurophysiology of Multiple Sclerosis. *Adv Exp Med Biol*, 958: 129-139
32. Hardmeier M, Leocani L, Fuhr P. (2017). A new role for evoked potentials in MS? Repurposing evoked potentials as biomarkers for clinical trials in MS. *Mult Scler*, 23(10): 1309-1319.
33. Holliday TA, Weldon NE, Ealand BG. (1979). Percutaneous recording of evoked spinal cord potentials of dogs. *Am J Vet Res*, Mar;40(3):326-33.
34. Jakimovski, D., & Zivadinov, R. (2022). Editorial of Special Issue “Multiple Sclerosis: From Diagnostic Biomarkers to Imaging and Clinical Predictors”. *Diagnostics*, 12(2), 482.
35. Johnson J, Luh M, Rivard C, Graham L, White A, Fitz-Maurice M, Barry, F. (2020). Stereotactic cortical Atlas of the Domestic canine Brain. *Sci Rep*, 10 (1): 1-16.
36. Kiiski S, Ní Riada S, Lalor C, Goncalves R, Nolan H, Whelan R, Bramham J. (2016). Delayed P100-Like latencies in multiple sclerosis: A preliminary investigation using visual evoked spread spectrum analysis. *Plos one*, 11(1): e0146084. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0146084>
37. Kimotsuki T, Yasuda M, Tamahara S, Matsuki N, Ono K. (2005). Topographic analysis of flash visual evoked potentials in dogs. *J Vet Med Sci*, 67(9): 869-875.
38. Kimotsuki T, Yasuda M, Tamahara S, Tomihari M, Matsuki N, Ono K. (2006). Age associated changes on flash visual evoked potentials in dogs. *J Vet Med Sci* 68 (1): 79-82.
39. Klemens J, Ciurkiewicz M, Chludzinski E, Iseringhausen M, Klotz, D, Pfankuche M, Beineke A. (2019). Neurotoxic potential of reactive astrocytes in canine distemper demyelinating leukoencephalitis. *Sci rep*, 9 (1): 1-16.
40. Klistorner A, Graham S, Fraser C, Garrick R, Nguyen T, Paine M, Billson A. (2007). Electrophysiological evidence for heterogeneity of lesions in optic neuritis. *Investig Ophthalmol Vis Sci*, 48 (10): 4549-4556.
41. Koutinas AF, Polizopoulou ZS, Baumgaertner W, Lekkas S, Kontos V. (2002). Relation of clinical signs to pathological changes in 19 cases of canine distemper encephalomyelitis. *J Comp Pathol*, 126 (1) :47-56.
42. Kraft H. (2013) Evoked potentials in multiple sclerosis. *Phys Med Rehabil Clin N Am*, 24 (4): 717-20.
43. Lariccia & Kramer. (2018). Distemper Canino: estudio epidemiológico retrospectivo en el Hospital de Facultad de Veterinaria (2006-2016). Tesis de Grado, Montevideo, Uruguay.

44. Lee E, Seok H, Park K, Seo D. (2018). Evoked potential: basic requirements and guidelines for writing reports. *Ann Clin Neurophysiol*, 20(1):18-25.
45. Leocani L, Martinelli V, Natali-Sora G, Rovaris M, Comi G. (2003). Somatosensory evoked potentials and sensory involvement in multiple sclerosis: comparison with clinical findings and quantitative sensory tests. *Mult Scler*, 9 (3): 275-279.
46. Leocani L, Guerrieri S, Comi G. (2018). Visual evoked potentials as a biomarker in multiple sclerosis and associated optic neuritis. *Neuroophthalmol*, 38 (3): 350-357.
47. Martinez-Gutierrez M, Ruiz-Saenz J. (2016). Diversity of susceptible hosts in canine distemper virus infection: a systematic review and data synthesis. *BMC Vet Res*, 12(1): 78.
48. Meij P, Suwankong N, van den Brom E, Venker-van Haagen J, Hazewinkel A. Tibial nerve somatosensory evoked potentials in dogs with degenerative lumbosacral stenosis. *Vet Surg*. 35(2): 168-175.
49. Mike B, Carithers W. (1975). Chorioretinitis and detached retina as post-distemper lesions in the canine. *Iowa State University Veterinarian*, 37(2): 1.
50. Mondino A, Gutiérrez M, Delucchi L. (2019). Evaluación de potenciales evocados somatosensitivos del nervio tibial en caninos con Distemper. *Veterinaria (Montevideo)*, 55(211): 21-28.
51. Nell B. (2008). Optic neuritis in dogs and cats. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 38(2):403-415.
52. Ochikubo F, Nagata T, Yoshikawa Y, Matsubara Y, Kai C, Yamanouchi Y. (1993). Electroencephalogram and evoked potentials in the primate model of viral encephalitis. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol/Evoked Potentials Section*, 88(5): 397-407.
53. Oguri M, Saito Y, Okanishi T, Matuura Y, Akiyama S, Ikeguchi T, Narita A, Hirooka Y, Maegaki Y. (2020). High-frequency component in flash visual evoked potentials in type 3 Gaucher disease. *Brain Dev*, 42(1): 19-27.
54. Martín-Palomeque G, Castro-Ortiz A, Pamplona-Valenzuela P, Saiz-Sepúlveda Á, Cabañes-Martínez L, López R. (2017). Large amplitude cortical evoked potentials in nonepileptic patients. Reviving an old neurophysiologic tool to help detect CNS pathology. *Clin Neurophysiol*, 34(1): 84-91.
55. Panzera Y, Sarute N, Iraola G, Hernández M, Pérez R. (2015). Molecular phylogeography of canine distemper virus: Geographic origin and global spreading. *Mol Phylogenet Evol*, 92: 147-54.
56. Pellegrino F, Sica, R. (2004). Canine electroencephalographic recording technique: findings in normal and epileptic dogs. *Clin Neurophysiol*, 115(2): 477-487.
57. Pellegrino F, Sica R. (2005). Potenciales Evocados Somatosensitivos (PESS) obtenidos por estimulación del nervio Mediano (registros espinal y craneano) en caninos. *InVet*, 7(1): 107-117.
58. Pellegrino F. (2015). Neuropatología y síndromes clínicos del virus del moquillo canino: estado actual del conocimiento. Retrieved, 22, 2015.

59. Pinotti M, Gollan A, Canavesio M, Passeggi C, Larrateguy M, Paz M, Formentini E. (2016). Virus de distemper canino: detección molecular de diferentes aislamientos provenientes de perros de la provincia de santa fe, argentina, ente los años 2000 y 2010. In *Vet*, 18 (1): 349-355.
60. Pueyo V, Ara JR, Martín J. La retina como marcador biológico de daño neuronal [The retina as a biological marker of neuronal damage]. (2010). *Arch Soc Esp Oftalmol*, 85(5):163-164.
61. Ramanathan S, Prelog K, Barnes E, Tantsis E, Reddel S, Henderson A, Vucic S, Gorman M, Benson L, Alper G, Riney C, Barnett M, Parratt J, Hardy T, Leventer R, Merheb V, Nosadini M, Fung V, Brilot F, Dale R. (2013). The utility of multimodal evoked potentials in multiple sclerosis prognostication. *Clin Neurosci*, 20: p. 1576-1581. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jocn.2013.01.020>
62. Rendon-Marin S, da Fontoura Budaszewski R, Canal CW, Ruiz-Saenz J. (2019) Tropism and molecular pathogenesis of canine distemper virus. *Virology*, 16(1):30
63. Richards T, Whelan N, Pinard C, Alcalá F, Wolfe K. (2011). Optic neuritis caused by canine distemper virus in a Jack Russell terrier. *Can Vet J*, 52(4):398-402.
64. Rossini P, Basciani M, Di Stefano E, Febbo A, Mercuri N. (1985). Short-latency scalp somatosensory evoked potentials and central spine to scalp propagation characteristics during peroneal and median nerve stimulation in multiple sclerosis. *Electro Clin Neuro*, 60(3), 197–206.
65. Schobesberger M, Zurbriggen A, Doherr MG, Weissenböck H, Vandeveld M, Lassman H, Griot C. (2002). Demyelination precedes oligodendrocyte loss in canine distemper virus-induced encephalitis. *Acta Neuropathol*, 103(1), 11–19.
66. Senba H, Tokuriki M, Sasaki N, Takeuchi A, Usui K. (1984). Developmental EEG of the Beagle Dog. *Jpn J Vet Sci*, 46 (6): 771-781.
67. Shaharabani R, Ram-On M, Talmon Y, Beck, R. (2018). Pathological transitions in myelin membranes driven by environmental and multiple sclerosis conditions. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 115(44), 11156-11161.
68. Shibasaki H, Yamashita Y, Neshige R, Tobimatsu S, Fukui R. (1985). Pathogenesis of giant somatosensory evoked potentials in progressive myoclonic epilepsy. *Brain*, 108:225-40.
69. Shibasaki, H, Hallett M. (2005). Electrophysiological studies of myoclonus. *Muscle & Nerve*, 31(2), 157-174.
70. Shin DW, Yoon YS, Matsumoto M, Huang W, Ceraulo P, Young W. (2003). Glutamine synthetase induced spinal seizures in rats. *Yonsei Med J*. 44(1):125-132.
71. Söderström, M. (2001). Optic neuritis and multiple sclerosis. *Acta Ophthalmol Scand*, 79: 223-227.
72. Strain G, Jackson M, Tedford L. (1990) Visual evoked potentials in the clinically normal dog. *J Vet Intern Med*, 4(4):222-225.
73. Tipold A, Vandeveld M, Jaggy A. (1992). Neurological manifestations of canine distemper virus infection. *Small Anim Prac*, 33(10), 466-470.

74. Torres D, Tovar M. (2016). Clinical guideline for assessing flash visual evoked potentials in laboratory dogs and normal data for beagle dogs. *Scand J Lab Anim Sci*, 42, 1-8.
75. Tovar-Sahuquillo M, Torres-Soriano D. (2014). Protocolo Combinado de PEV y ERG en perros Beagle para evaluar la integridad funcional de las vías visuales. *Archivos de Medicina Veterinaria*, 46:289-297.
76. Ulrich R, Puff C, Wewetzer K, Kalkuhl A, Deschl U, Baumgärtner W. (2014). Transcriptional changes in canine distemper virus-induced demyelinating leukoencephalitis favor a biphasic mode of demyelination. *PLoS One*, 9(4):e95917.
77. Uzuka Y, Saitoh M, Hiramatsu I, Nagata T. (1995). Studies on the factors affecting the recording of somatosensory evoked potentials induced by tibial nerve stimulation in dogs. *J Vet Med Sci*, 57 (5): 871-876.
78. Vanderzant CW, Schott RJ, Natale JE, Pondo CA, D'Alecy LG. (1989). Somatosensory evoked potentials of the dog: recording techniques and normal values. *J Neurosci Methods*, 27(3):253-263.
79. Vandeveld M, Zurbriggen A. (1995). The neurobiology of canine distemper virus infection. *Vet Microbiol*, 44(2-4): 271-280.
80. de Vries RD, Duprex WP, de Swart RL. (2015) Morbillivirus infections: an introduction. *Viruses*, 7(2):699-706
81. Vural G, Gümüşyayla S, Bektaş H, Akdeniz G, Deniz O. (2018). Did evoked potential studies lose their significance in the diagnosis of multiple sclerosis? *Biomed J Sci & Tech Res*, 10 (2):7651-7656.
82. Walsh P, Kane N, Butler S. (2005). The clinical role of evoked potentials. *J Neurol Neurosurg Ps*, 76, 16–22.
83. You Y, Klistorner A, Thie J, Graham SL. (2011). Latency delay of visual evoked potential is a real measurement of demyelination in a rat model of optic neuritis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 52(9):6911-6918.
84. You Y, Klistorner A, Thie J, Gupta VK, Graham SL. (2012). Axonal loss in a rat model of optic neuritis is closely correlated with visual evoked potential amplitudes using electroencephalogram-based scaling. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 53(7):3662.