

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

**EFEITO DA ACUPUNTURA NO TRATAMENTO DE ANIMAIS
COM SEQUELAS NEUROLÓGICAS DECORRENTES DE
CINOMOSE**

BIANCA PAIVA COSTA RODRIGUES DOS SANTOS

Botucatu – SP

Novembro 2013

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

**EFEITO DA ACUPUNTURA NO TRATAMENTO DE ANIMAIS
COM SEQUELAS NEUROLÓGICAS DECORRENTES DE
CINOMOSE**

BIANCA PAIVA COSTA RODRIGUES DOS SANTOS

Dissertação apresentada junto
ao Programa de Pós-Graduação
em Biotecnologia Animal para
obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Stelio Pacca Loureiro Luna

Co-orientador: Dr. Jean Guilherme Fernandes Joaquim

Botucatu – SP

Novembro 2013

FICHA CATALÓGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE
AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO – CAMPUS DE
BOTUCATU – UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL:

Santos, Bianca Paiva Costa Rodrigues dos

Efeito da acupuntura no tratamento de Animais com sequelas
neurológicas decorrentes de cinomose / Bianca Paiva Costa Rodrigues dos
Santos – Botucatu: [s.n], 2013

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de
Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2013.

Orientador: Prof. Dr. Stelio Pacca Loureiro Luna

Coorientador: Dr. Jean Guilherme Fernandes Joaquim

Assunto CAPES:

1. Cães – Cinomose - Tratamento. 2. Sequela.

CDD

Palavras-chave:

Nome do Autor: Bianca Paiva Costa Rodrigues dos Santos

Título: EFEITO DA ACUPUNTURA NO TRATAMENTO DE ANIMAIS COM
SEQUELAS NEUROLÓGICAS DECORRENTES DE CINOMOSE

COMISSÃO EXAMINADORA

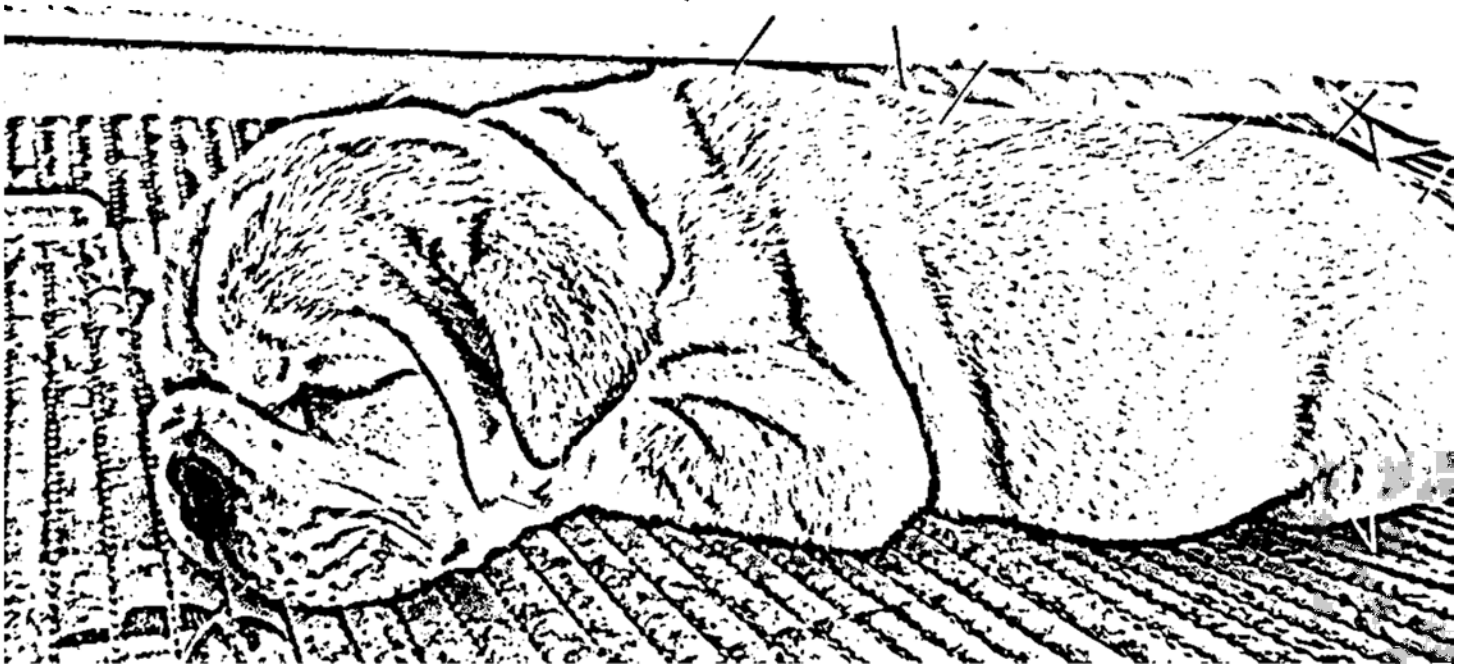
Prof. Dr. Stelio Pacca Loureiro Luna
Presidente e orientador
Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária
FMVZ – UNESP – Botucatu

Prof. Dr. Antônio Carlos Paes
Membro
Departamento de Higiene e Saúde Pública
FMVZ – UNESP – Botucatu

Prof. Dr. Alexandre Mendes Amude
Membro
Departamento de Clínica Veterinária
FMV – UNIC - Cuiabá

Data da Defesa: 20 de novembro de 2013

Dedicatória



Dedicatória

E ste trabalho é dedicado a algumas pessoas especiais na minha vida sem as quais eu não teria chegado até aqui.

Dedico primeiramente à minha mãe, Rosana, que me guiou desde os primeiros passos até este momento, sempre com muito amor e dedicação, deixando muitas vezes suas vontades de lado para que eu pudesse realizar meus sonhos. Me apoiando sempre, mesmo em momentos em que discordava, mas sempre ao meu lado fazendo o papel de mãe, pai e melhor amiga.

Dedico também ao meu pai, Dorival (in memoriam), o qual me inspirou e me fez criar o sonho de ter uma profissão que eu amasse e pudesse me dedicar de corpo e alma. Me ensinou que lutar faz parte da vida e perder algumas lutas só nos fazem crescer. E estou agora realizando o seu sonho que se tornou meu e apesar de não poder receber seu abraço, sei que sempre estará ao meu lado.

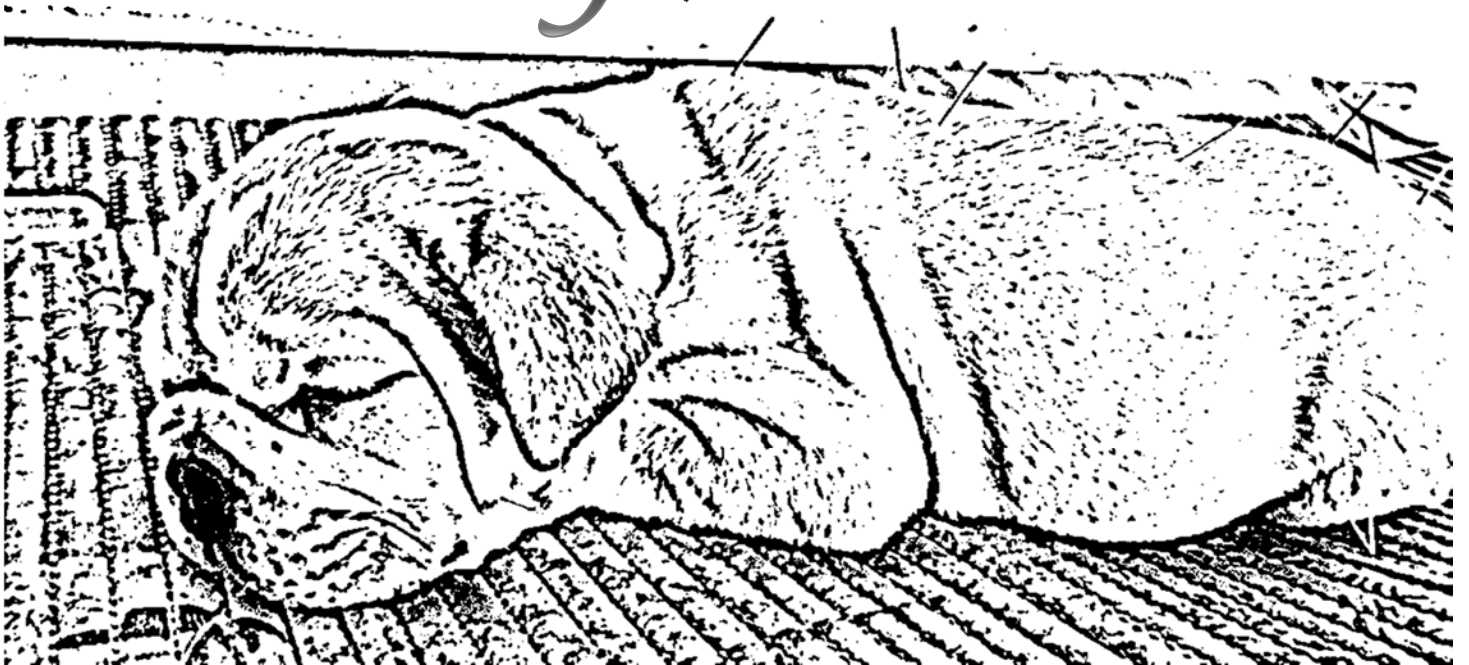
Dedico ao meu orientador, S telio, que me apoiou, desde que nos conhecemos, em todos os momentos, tanto nos profissionais quanto nos pessoais, acreditando e me incentivando sempre, tanto como orientador, como um segundo pai, estando ao meu lado nos momentos que o meu não pode estar.

Dedico também ao meu coorientador Jean, que nos momentos em que pensei em desistir de tudo esteve ao meu lado e me mostrou que existem pessoas que trabalham por amor aos animais e que é isso que vale a pena, me fazendo continuar, apesar de todos os obstáculos, e me tornar a pessoa que sou hoje.

E dedico por fim a todos os animais que sem a paciência deles e sua capacidade de perdoar nossos erros, não teríamos a chance de aprender.

Amo todos vocês!

Agradecimientos



Agradecimentos

“A gratidão é a memória do coração.”

Antísteses de Atenas

Ao meu orientador Prof. Dr. S telio Pacca Loureiro Luna que me deu a oportunidade de desenvolver este projeto e acreditando em mim, me apoiou e dedicou seu tempo.

Ao meu coorientador Dr. Jean Guilherme Fernandes J oaquim que esteve comigo em cada passo deste trabalho me auxiliando e também aguentando meus momentos de dúvida, esclarecendo-as, nos momentos de irritação, tendo paciência e me guiando para que o resultado fosse perfeito.

À minha mãe, Rosana, que esteve ao meu lado em todos os momentos e me apoiou em mais esta etapa da minha vida, tanto psicologicamente quanto materialmente. Obrigada pelas noites em claro ao meu lado, pela paciência nos meus momentos de crise e por colocar a “mão na massa”, dando sua opinião e até mesmo me ajudando finalizar esta dissertação.

Á minha vó Terezinha, que sempre me transmitiu calma e perseverança.

Á minha tia Claudete que sempre acreditou e me apoiou, ajudando a transformar alguns dos meus sonhos em realidade.

Aos meus familiares e amigos que foram privados da minha companhia nos últimos anos, mas que compreenderam e apoiaram.

Ás minhas queridas amigas L ívia e Marilda que além de todo o apoio psicológico me auxiliaram diretamente na execução deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Antônio Carlos Paes por sempre ter me incentivado e disposto a me ajudar em todos os momentos.

Ao Prof. J osé Carlos de F igueiredo Pantoja por todas as ideias e ajuda nas análises estatísticas.

Ao Ragnar S chamall que se dispôs à esclarecer todas minhas dúvidas ao longo de todo o trabalho.

Aos residentes de 2011,2012 e 2013 do S erviço de Diagnóstico por I magem por toda a ajuda nas coletas de material e do Ambulatório de Moléstias I nfecciosas pelo encaminhamento dos casos.

Ao Prof. J oão Pessoa e à doutoranda Cláudia pelo auxílio nos exames de RT-PCR para diagnóstico de cinomose.

Aos colegas do Ambulatório de Acupuntura e Dor Crônica por encaminharem os pacientes durante a execução deste projeto.

A algumas pessoas em especial que ficaram do meu lado nos momentos bons e ruins, auxiliando com artigos, esclarecendo dúvidas, me fazendo rir ou até mesmo chorar, me emprestando o ombro ou dando bronca, mas sempre querendo meu bem. Meus queridos amigos (em ordem alfabética): Aline Rocha, Carol Haddad, Flávia Rodrigues, Juliana Rondani, Laysa Azevedo, Leandro Américo, Maria Luísa (Malu), Mirela Verdugo e Patrícia Imai. Aqueles que por ventura não foram citados desculpem a deficiência de Qi do B açopâncreas e recebam meus sinceros agradecimentos.

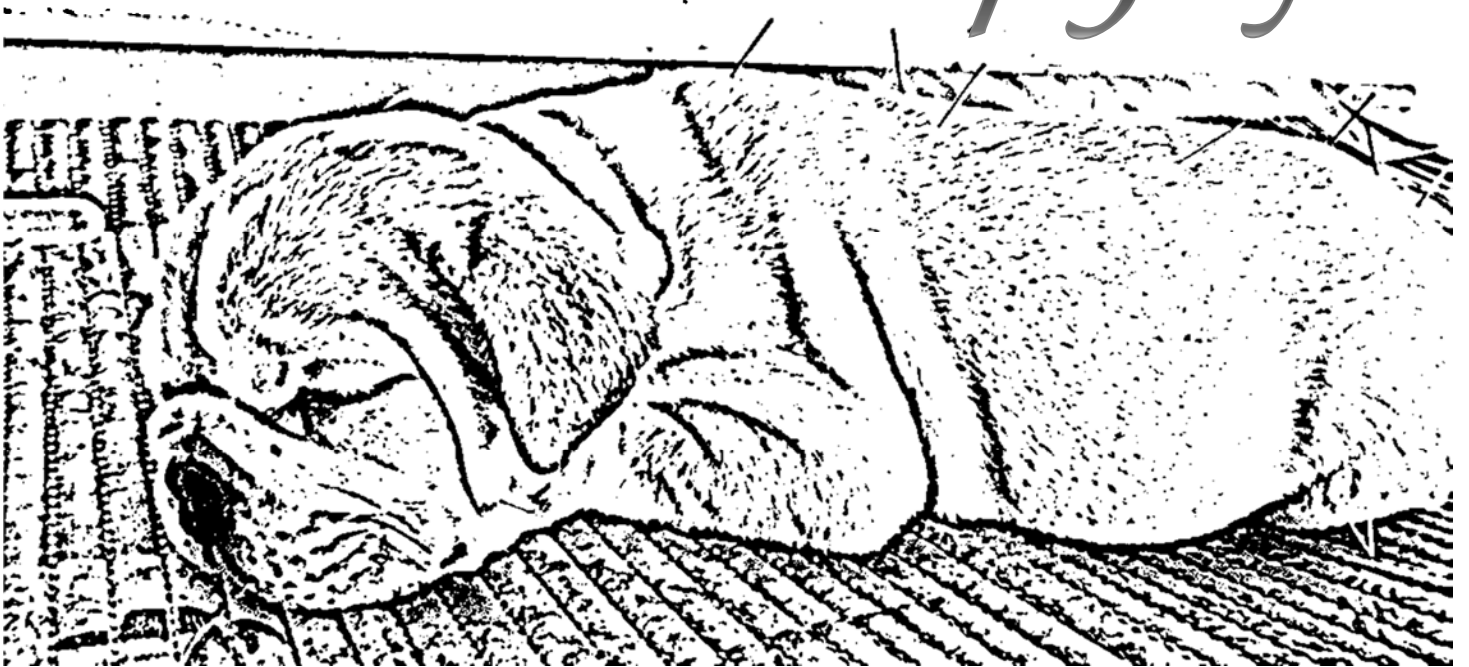
A FMVZ por me acolher, apoiar estes estudos e dar toda a infraestrutura.

A CNPq por todo o apoio financeiro.

Por fim a todos os animais e proprietários que participaram deste estudo, dedicando seus tempos e paciência.

Obrigada a todos de coração.

Epígrafe



Epígrafe

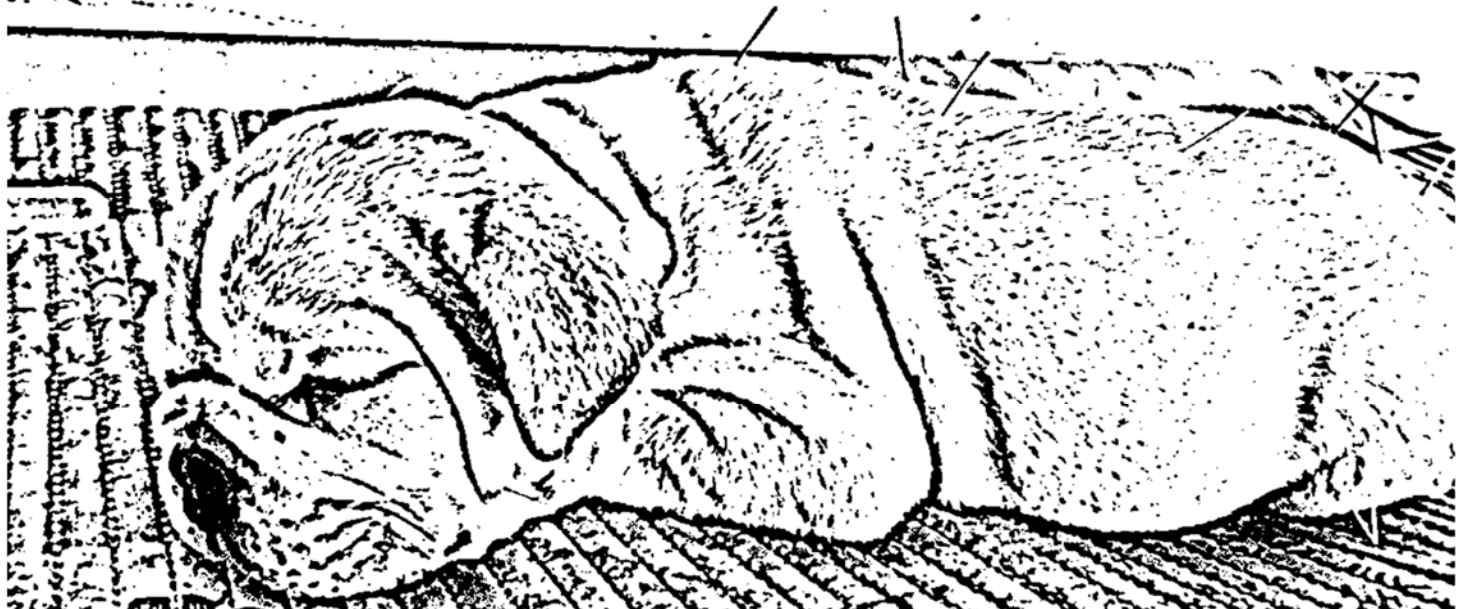
"Conhecimento não é aquilo que você sabe, mas o que você faz com aquilo que você sabe."

Aldous Huxley

"A compaixão para com os animais é das mais nobres virtudes da natureza humana."

Charles Darwin

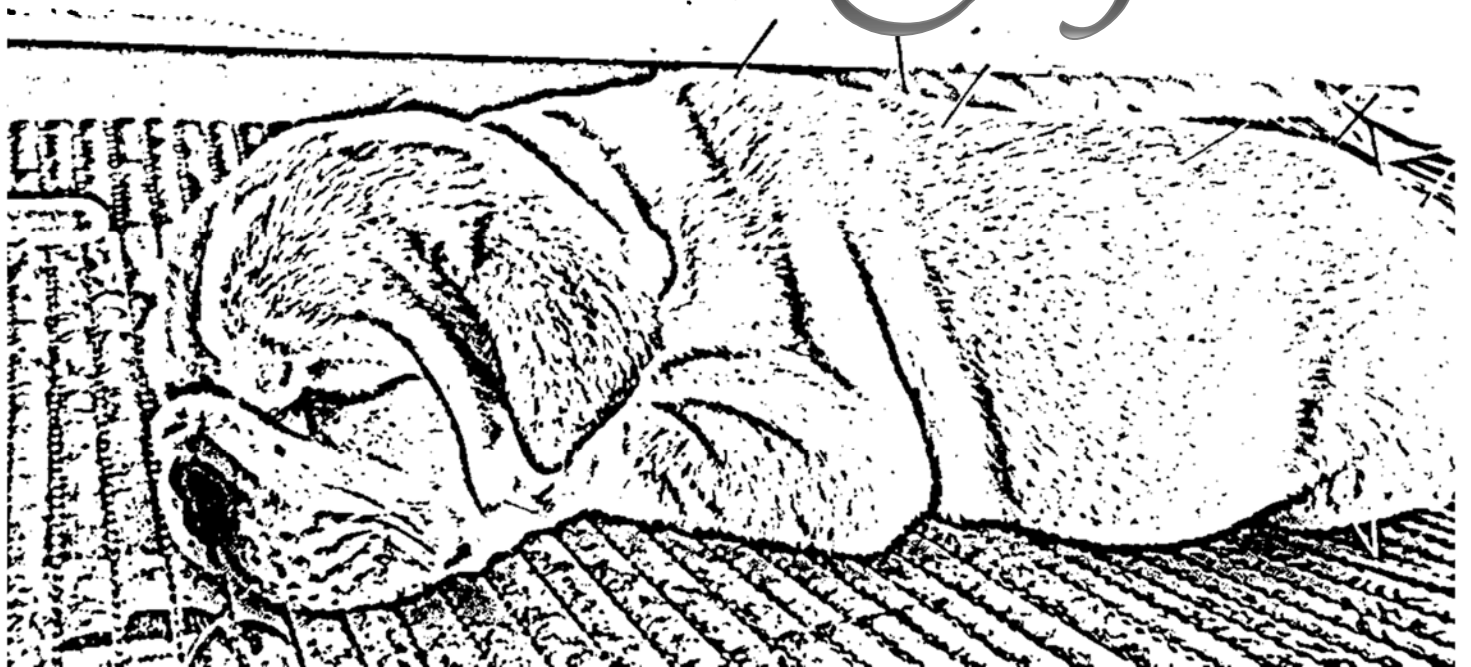
Lista de Tabelas



Lista de Tabelas

TABELA 1. Nome, raça, idade (anos), sexo, porte, imunização e início de sinais clínicos em cães portadores de cinomose e tratados com AP (n=24).	36
TABELA 2. Número de semanas para ocorrência de sucesso em 25%, 50%, 75% e 100% dos animais, nos parâmetros de deambulação, acometimento de nervos cranianos, função do SNC, movimentos involuntários (retorno ao escore I), movimentos involuntários (retorno ao escore I, II ou III) e função urinária, em cães portadores de cinomose e tratados com AP (n=24).	37
TABELA 3. Porcentagem de animais com acometimento nos pares de nervos cranianos	44

Lista de figuras

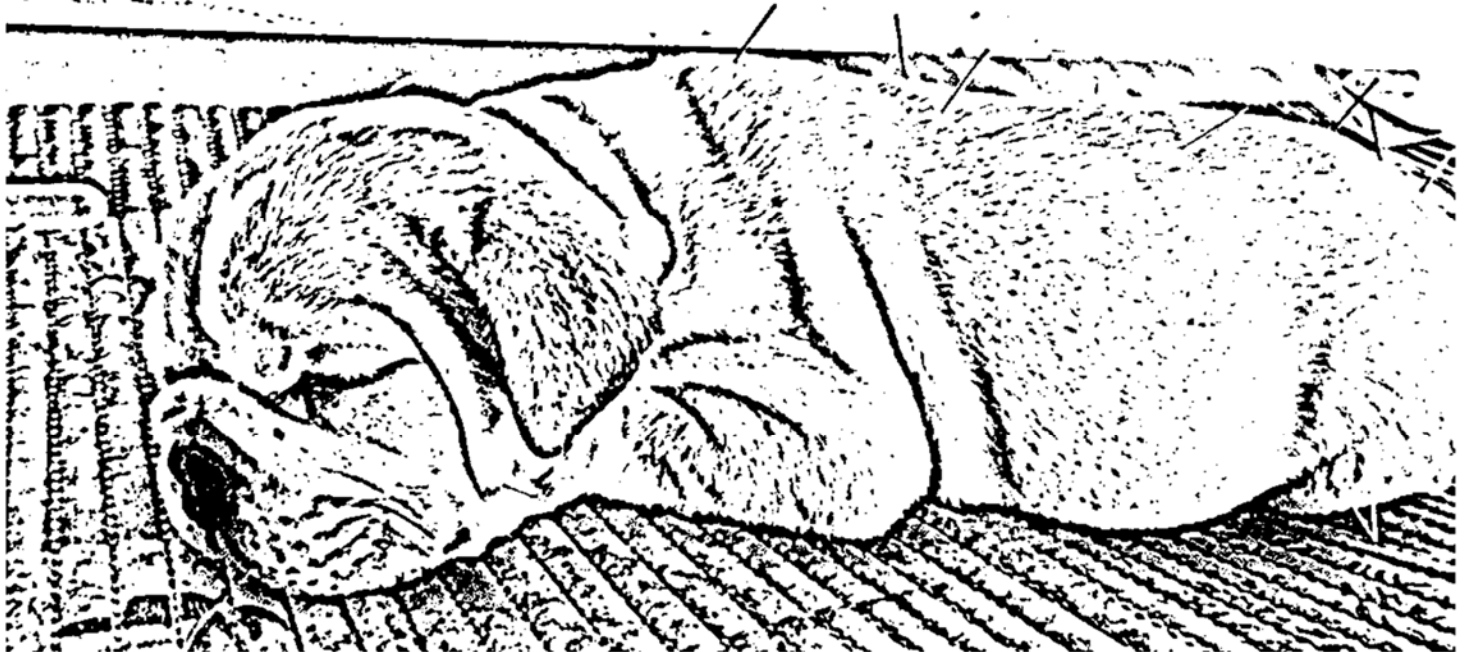


Lista de Figuras

FIGURA 1 Curva de sucesso do grau de para ou tetraparesia ou plegia durante as 24 semanas de tratamento. Cada degrau representa a porcentagem dos animais que retornaram ao escore I ao longo do tempo.....	38
FIGURA 2 Curva de sucesso do grau de alteração de nervos cranianos durante as 24 semanas de tratamento. Cada degrau representa a porcentagem dos animais que retornaram ao escore I ao longo do tempo.....	39
FIGURA 3 Curva de sucesso do grau de alteração encefálica durante as 24 semanas de tratamento. Cada degrau representa a porcentagem dos animais que retornaram ao escore I ao longo do tempo.....	40
FIGURA 4 Curva de sucesso do grau de mioclonia durante as 24 semanas de tratamento. Cada degrau representa a porcentagem dos animais que retornaram ao escore I ao longo do tempo.....	41
FIGURA 5 Curva de sucesso do grau de mioclonia durante as 24 semanas de tratamento. Cada degrau representa a porcentagem dos animais que retornaram ao escore I, II ou III ao longo do tempo.....	41
FIGURA 6 Curva de sucesso do grau alteração do sistema urinário durante as 24 semanas de tratamento. Cada degrau representa a porcentagem dos animais que retornaram ao escore I ao longo do tempo.....	42
FIGURA 7 Distribuição da soma, mediana, média, desvio padrão, máximo e mínimo dos escores durante as 24 semanas de tratamento.....	43
Figura 8 Correlação dos nervos cranianos com pontos de acupuntura (LORENZ e KORNEGAY - modificado, 2006).....	102
Figura 9 Correlação entre a saída de cada nervo do plexo braquial e a musculatura inervada (LORENZ et al, 2011).....	103
FIGURA 10 Dermátomos dos membros torácicos e pélvicos correlacionados com os pontos de acupuntura utilizados em animais portadores de cinomose (LORENZ et al. - modificado, 2011)	104
Figura 11 Correlação dos nervos do plexo lombossacro com os músculos inervados (LORENZ et al., 2011).....	105
Figura 12 Correlação entre a inervação da bexiga e o ponto Be23 (LORENZ et al. - modificado, 2011)	106

FIGURA 13 Correlação entre segmento medular e vertebral com pontos de acupuntura (LORENZ et al. - modificado, 2011)	107
--	-----

Lista de Abreviaturas



Lista de Abreviaturas

AP - acupuntura

Be – meridiano da Bexiga

BH – Bai Hui

BP – meridiano Baço-Pâncreas

E – meridiano Estômago

EA - eletroacupuntura

ELISA – enzyme-linked immunosorbent assay (teste imunoenzimático)

F – meridiano do Fígado

FMVZ – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

IG – meridiano Intestino Grosso

IgG – imunoglobulina G

L – segmento medula lombar

m. - músculo

MI – Moléstias Infecciosas

MPs – membros pélvicos

MTO – Medicina Tradicional Oriental

MTs – membros torácicos

n. – nervo

NREM – non rapid eyes moviment (movimento não rápido dos olhos)

R – meridiano do Rim

REM – rapid eyes moviment (movimento rápido dos olhos)

RNMf – ressonância magnética funcional

RT-PCR - Reverse transcription polymerase chain reaction (Reação em cadeia da polimerase precedido por transcrição reversa)

S – segmento medular sacral

SN – sistema nervoso

SNC – sistema nervoso central

TA – meridiano Triplo Aquecedor

TNF – fator de necrose tumoral

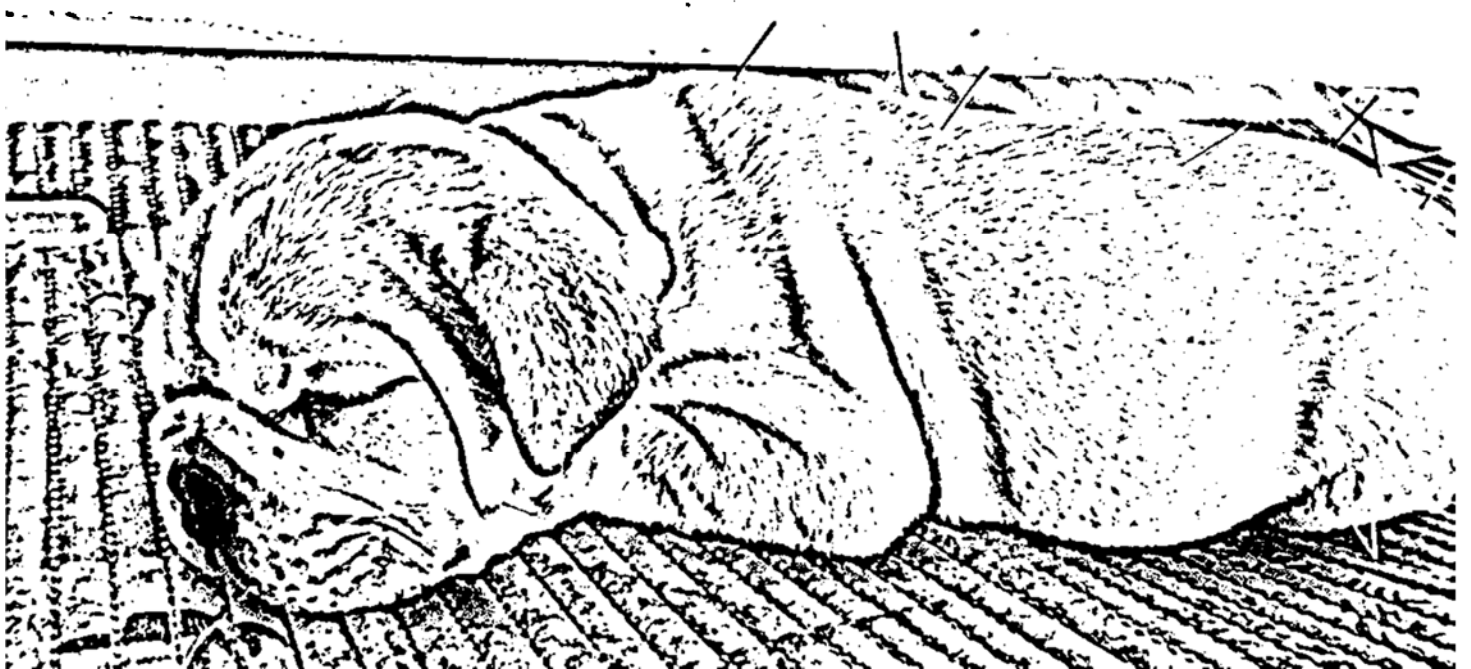
UNESP – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”

VB – meridiano Vesícula Biliar

VG – meridiano Vaso Governador

WHO – World Health Organization

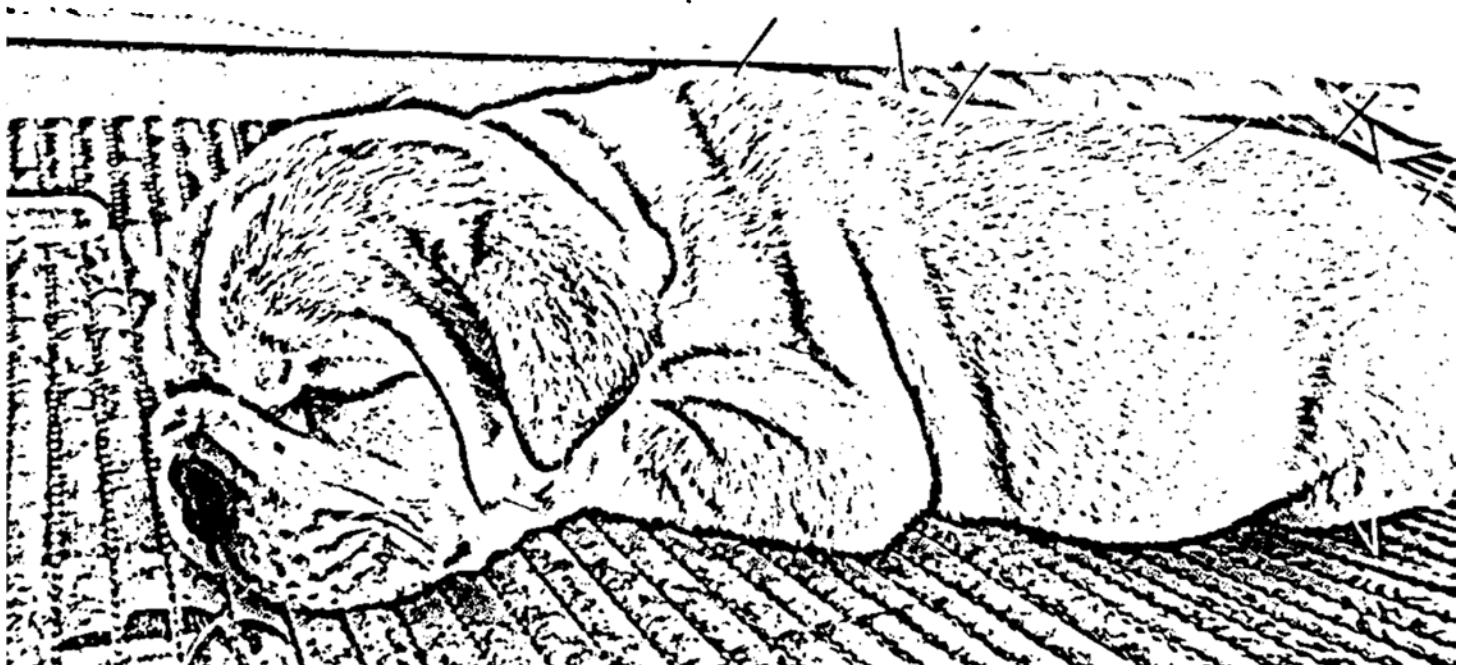
Sumário



SUMÁRIO

	Página
RESUMO	2
ABSTRACT.....	5
1. INTRODUÇÃO	7
2. REVISÃO DE LITERATURA	10
2.1. Cinomose	10
2.1.1. Fisiopatogenia	11
2.1.1.1. Meningoencefalite multifocal do cão adulto por cinomose	13
2.1.2. Síndromes da cinomose	15
2.1.2.1. Sinais clínicos da encefalomielite multifocal do cão adulto.....	16
2.1.3. Diagnóstico	19
2.1.4. Tratamento	20
2.2. Acupuntura	21
3. OBJETIVO e HIPÓTESE.....	25
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	27
4.1. Critérios de Inclusão.....	27
4.2. Avaliação.....	27
4.3. Seleção dos pontos de acupuntura	28
4.4. Análise Vídeos.....	33
4.5. Análise Estatística	33
5. RESULTADOS.....	35
5.1. Panorama dos animais	35
5.2. Escala de avaliação neurológica para cinomose	37
5.3. Avaliação Neurológica.....	43
5.3.1. Avaliação dos Nervos Cranianos.....	44
5.3.2. Localização da Lesão.....	45
6. DISCUSSÃO.....	47
7. CONCLUSÃO.....	57
8. BIBLIOGRAFIA.....	59
9. TRABALHO CIENTÍFICO	70
ANEXO 1	99
ANEXO 2	100

Resumo



SANTOS, B. P. C. R. Efeito da acupuntura no tratamento de animais com sequelas neurológicas decorrentes de cinomose. **Botucatu, 2013. 128p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.**

RESUMO

A cinomose é uma enfermidade infectocontagiosa e multissistêmica de ocorrência mundial com alta morbidade e mortalidade. Quando acomete o sistema neurológico, os animais apresentam sinais clínicos severos que se tornam sequelas, quando recomenda-se comumente a eutanásia pela escassez de métodos de tratamento eficazes. O objetivo deste estudo prospectivo foi avaliar os efeitos da acupuntura no tratamento de sequelas neurológicas em cães, com diagnóstico definitivo de cinomose. Os 24 pacientes selecionados apresentavam RT-PCR positivo para cinomose, sinais neurológicos estáveis e hemograma normal 15 dias antes do início do tratamento com acupuntura associada à eletroacupuntura. Semanalmente realizou-se exame neurológico e graduação do acometimento dos sinais neurológicos de acordo com escala desenvolvida para o estudo. Para análise estatística utilizaram-se os testes de McNemar e Wilcoxon, para comparar respectivamente as proporções e medianas das alterações neurológicas antes e após o tratamento, Fisher, para comparar a porcentagem de animais com acometimento de cada par de nervos cranianos e localização da lesão e as curvas de Kaplan-Meier para avaliar a porcentagem de reversão de cada sinal neurológico ao longo do tratamento. Definiu-se se significância estatística quando $P < 0.05$. Antes do tratamento todos os animais apresentavam alteração de deambulação (de III a V), que retornou a deambulação funcional, escore I ou II, em 79,2% e 8,3% dos animais respectivamente. A mioclonia presente em 50% dos animais, apresentou redução da severidade em todos e cura em 25% dos animais. As alterações encefálicas (18 de 24 animais), de nervos cranianos (18 de 24 animais) e de micção (5 de 24 animais) foram revertidas em todos os animais. Concluiu-se que a acupuntura associada à eletroacupuntura é eficaz no tratamento das sequelas neurológicas da cinomose e atualmente é a melhor opção terapêutica disponível dado ao elevado índice de cura.

Palavras-chave: cães; eletroacupuntura; medicina tradicional chinesa; mioclonia;

Abstract



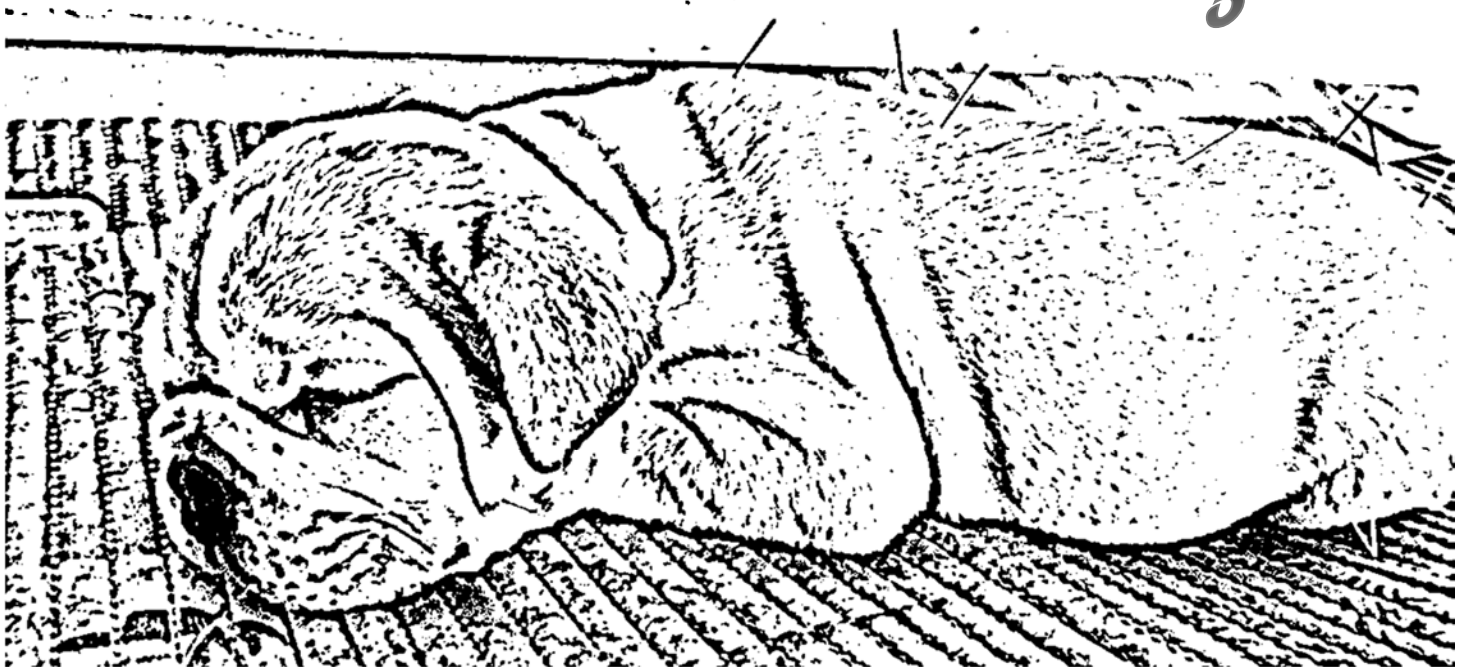
SANTOS, B. P. C. R. Effects of acupuncture in the treatment of animals with neurological sequels produced by distemper. **Botucatu, 2013. 128p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.**

ABSTRACT

Canine distemper is worldwide infectious and multisystemic disease, with high morbidity and mortality. When the neurological system is affected, the animals usually show severe clinical signs and sequels. As no treatment is available, euthanasia is commonly recommended under these circumstances. This study evaluated the effects of acupuncture in the treatment of neurological sequels in dogs with clinical and laboratory diagnosis of distemper. The 24 selected patients were RT-PCR positive for canine distemper, the neurological signs were stable and the CBC was normal 15 days before the treatment with acupuncture combined to electroacupuncture. All animals underwent weekly neurological examination and clinical signs were classified by degree according to a scale developed for the study. Statistical analysis was performed using McNemar's and Wilcoxon's test to compare the proportions and medians of neurological changes before and after treatment respectively. Fisher test compared the percentage of animals showing cranial nerve changes and localization of the lesions and Kaplan- Meier curves evaluated the percentage of reversion of each clinical sign along treatment. Differences were considered significant when $p < 0.05$. Grades from III to V abnormal ambulation before treatment progressed to grades I or II in 79.2% and 12.4% respectively. The myoclonus which was present in 50% of the animals (12 of 24), reduced in all animals and was cured in 25% of the animals after treatment (3 of 12). Brain (18 of 24 animals), cranial nerve (18 of 24 animals) and urination (5 of 24 animals) changes were reversed in all cases. It was concluded that acupuncture combined to electroacupuncture is effective to treat neurological sequels of distemper and is currently the best therapeutic option available due to the high cure rate provided.

Key-words: dogs; myoclonus; tradicional chinese medicine

Introdução



1. INTRODUÇÃO

A cinomose é uma enfermidade infectocontagiosa viral sistêmica em cães, que frequentemente, cursa com afecção do sistema nervoso (SN) acarretando em sinais neurológicos leves a severos. O vírus da cinomose se replica nos neurônios e células da glia causando necrose na substância cinzenta e desmielinização na substância branca respectivamente (TIPOLD *et al.*, 1992).

O prognóstico na fase neurológica é reservado, devido a falta de um tratamento específico de comprovada eficácia e normalmente utiliza-se terapêutica de suporte e sintomática (TIPOLD *et al.*, 1992).

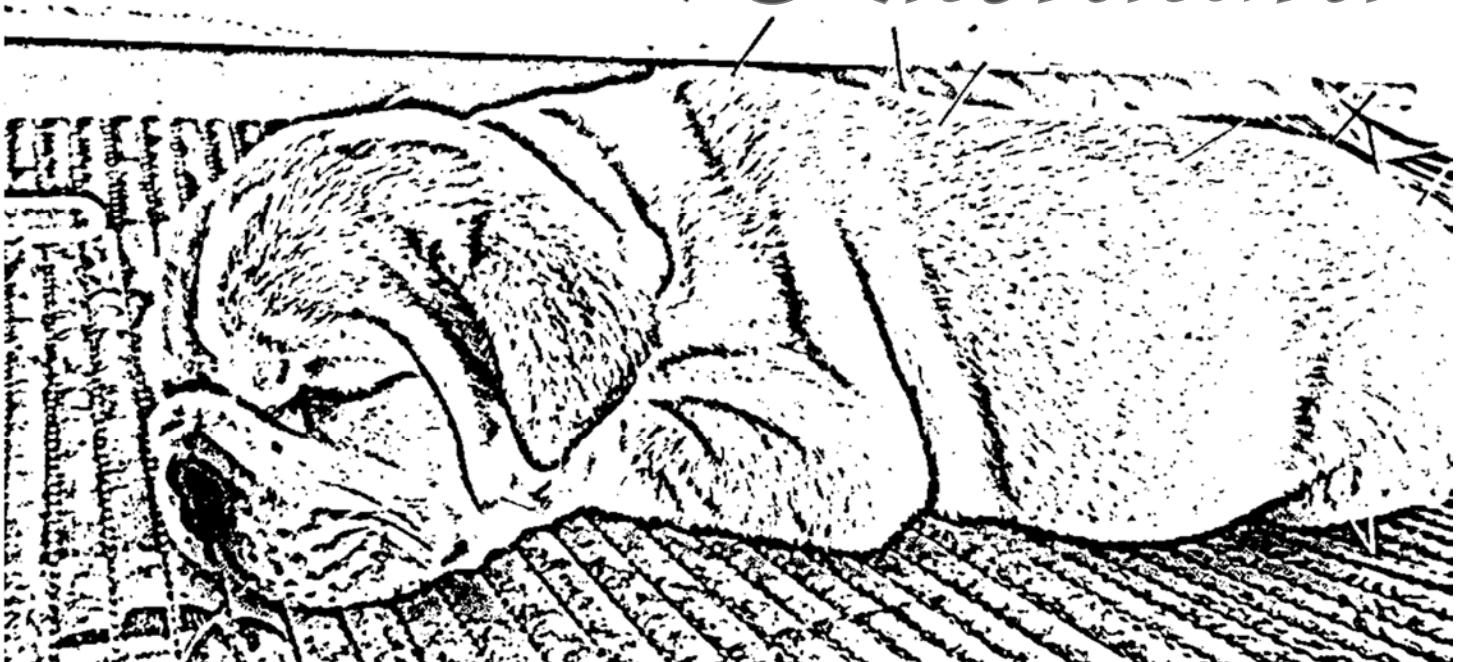
A acupuntura (AP) é uma das bases da Medicina Tradicional Oriental (MTO), sendo que de acordo com a World Health Organization (WHO) há muitos anos tem sido indicada para tratar diversas enfermidades tais como bronquite, asma, catarata, conjuntivite, gengivite, faringite, gastrite, colite, constipação, diarreia, paralisia facial, artrite, paralisias, paresias e dor devido à doença do disco intervertebral, espondilose, síndrome da cauda equina, vestibulopatias, mielopatia degenerativa, epilepsia, dor neuropática entre outras (WHO, 2003; ETTINGER e FELDMAN, 2009).

Cães portadores de alterações neurológicas, causadas por sequelas de cinomose, discopatias e traumas medulares, representam 58,9% do total de atendimentos realizados pelo ambulatório de AP e dor crônica da FMVZ da Unesp campus Botucatu segundo estudo retrospectivo de Ueda *et al.* (2010). Outro estudo retrospectivo realizado anteriormente no mesmo local reportou que 93% dos animais com afecções neurológicas responderam positivamente ao tratamento com AP, dos quais, aproximadamente 3% dos casos correspondiam à sequela de cinomose (JOAQUIM *et al.*, 2003).

A AP é indicada para diversas enfermidades na medicina humana e veterinária, principalmente nas afecções osteomusculares e neurológicas. Desta forma esta terapêutica pode ser promissora para tratar sequelas neurológicas da cinomose da mesma forma que os resultados favoráveis

alcançados no tratamento de outras afecções neurológicas (JOAQUIM *et al.*, 2003; JOAQUIM *et al.*, 2010; ETTINGER e FELDMAN, 2009).

*Revisão de
Literatura*



2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Cinomose

A cinomose é uma enfermidade viral aguda, subaguda ou crônica de ocorrência mundial, altamente contagiosa, que afeta diversos sistemas orgânicos. Foi descrita inicialmente em 1809 por Edward Jenner, o qual detalhou seu curso e suas características clínicas em cães (DUBOVI, 2011). O vírus da cinomose canina é um RNA-vírus classificado na ordem *Mononegavirales*, família *Paramyxoviridae* e gênero *Mobilivirus* (MURPHY, 1999).

Apesar da etimologia da palavra (do grego kúon que originou cino – cão) pode acometer diversos animais como canídeos, felídeos, mustelídeos e mamíferos marinhos. Em canídeos é considerada a enfermidade de maior morbidade e mortalidade no início do século XX (ETTINGER e FELDMAN, 2009; MURPHY, 1999; SUMMERS e APPEL, 1994).

Os cães são os principais reservatórios para o vírus da cinomose e servem como fonte de infecção para os demais carnívoros (VAN MOLL *et al.*, 1995), onde causam sinais clínicos leves a severos, da mesma forma que nos cães, a depender da suscetibilidade do vírus em cada hospedeiro. Além da infecção natural, a vacina pode ser fonte de infecção dos canídeos selvagens, como no caso de hienas, lobos-guará, coiotes, raposas, lobos e ursídeos como pandas vermelhos e pandas gigantes (BUSH *et al.*, 1976; THOMAS-BAKER, 1985; MAINKA, 1993; HAAS *et al.*, 1996, GESE *et al.*, 1997; ZHAO *et al.*, 2010; MULLER *et al.*, 2011). A cinomose é uma importante causa de mortalidade em animais selvagens em zoológicos e parques e também acomete além dos canídeos, os felídeos como leopardos, tigres, leões, onças-pintada entre outros. Felinos domésticos não são acometidos, pois a infecção não resulta na doença clínica e sim na soroconversão viral (CARPENTER *et al.*, 1995; MELI *et al.*, 2010; APPEL *et al.*, 1974). Entre os mustelídeos a infecção é severa, já que são altamente suscetíveis e apresentam uma taxa de mortalidade de 100% em furões domésticos e selvagens. Estudos também descreveram a infecção com sinais clínicos em macacos rhesus e macacos caranguejeiros (SUN *et al.*, 2010; SAKAI *et al.*, 2013).

O vírus da cinomose acomete cães de todas as idades, raças e sexo (TIPOLD *et al.*, 1992). Nesta espécie, mesmo com a introdução da vacina desde a década de 50 e 60 ainda é uma enfermidade com alta taxa de mortalidade e perde apenas para a raiva (TIPOLD, 1995). Apesar da sua incidência ter diminuído, em comparação ao período anterior, ainda há áreas endêmicas, como no Brasil e pode ser considerada reemergente nos Estados Unidos e alguns países da Europa, como Alemanha e Dinamarca (POZZA, 2005; TIPOLD *et al.*, 1992; VANDEVELDE e ZURBRIGGEN, 2005).

2.1.1. Fisiopatogenia

A principal via de infecção do vírus da cinomose é o sistema respiratório, por meio da inalação de aerossóis provindos das fezes, saliva, urina e secreções conjuntivais e nasais de animais infectados. A replicação viral é ativa, ou seja, a infecção é aguda, que pode ou não desencadear sinais clínicos, ocorridos apenas a partir do quinto dia pós-infecção (APPEL, 1985; APPEL e SUMMERS, 1999). Após infectar o sistema respiratório o vírus pode ou não afetar a seguir o sistema digestório e/ou neurológico. Acima de 30% dos cães exibem sinais de envolvimento neurológico durante ou após a infecção sistêmica pelo vírus da cinomose e a maior parte dos carnívoros selvagens que morrem pela doença apresentam evidências de infecção no sistema nervoso central (SNC) (RUDD *et al.*, 2006).

A variação de tempo, intensidade e diversidade do aparecimento dos sinais clínicos se deve à fatores ambientais, individuais e virulência da cepa (APPEL, 1987).

O vírus da cinomose possui tropismo por células que expressam o receptor SLAM, como tímócitos, linfócitos ativados e macrófagos. Assim que o vírus entra em contato com o epitélio do trato respiratório cranial, inicia-se sua replicação nos macrófagos e linfócitos da região. Por infectar inicialmente estas células inicia-se um imunossupressão severa, tanto pela destruição celular quanto por liberação de citocinas (DUBOVI, 2011). A seguir invadem os linfonodos bronquiolares.

Através dos linfócitos o vírus entra na via hematogena e como consequência há linfopenia sistêmica e aumento da temperatura corporal, por supressão dos linfócitos B e T. Em seguida acomete os tecidos linfoides como folículos do baço, timo, linfonodos, medula óssea, placas de peyer no intestino e células de Kupffer no fígado

A progressão ou não do vírus depende de uma resposta imune, celular e humoral eficaz, o que ocorre em 50-70% dos animais, que, portanto, não chegam a apresentar sinais clínicos (GREENE, 2006; DUBOVI, 2011), Por outro lado nos animais que não possuem resposta imune adequada o vírus invade as células mononucleadas do tecido linfoide e desencadeiam novo aumento da temperatura corporal, em associação à sinais clínicos sistêmicos não específicos como anorexia, secreção nasal e ocular, tosse, apatia, êmese e diarreia. Entretanto os sinais podem aparecer separadamente ou em conjunto, a depender da cepa viral e infecção bacteriana secundária (AMUDE *et al.*, 2006; GREENE e APPEL, 2006). Nessa fase o animal imunocompetente pode se recuperar, entretanto nos imunossuprimidos o vírus invade o sistema genitourinário e tardiamente o SNC (MURPHY *et al.*, 1999; DUBOVI, 2011).

O prognóstico da cinomose é reservado já que o tratamento em geral não é específico, sendo apenas de suporte, pois não existe um tratamento antiviral (TIPOLD *et al.*, 1992). Estudos recentes demonstram que a utilização da ribavirina *in vitro* tem forte efeito inibitório na replicação do vírus da cinomose (ELIA *et al.*, 2008). Mangia *et al.* (2012) observaram diminuição da mortalidade em cães tratados com ribavirina, entretanto não houve alteração significativa na inflamação do SNC avaliado pela análise do líquido cefalorraquidiano.

Devido a cinomose ser uma enfermidade de alta morbidade e mortalidade, em 1923 produziu-se a primeira vacina, entretanto utilizou-se o vírus inativado e a proteção não foi significativa. Somente em 1950 produziu-se a vacina com vírus atenuado, as quais proporcionaram uma imunidade adequada e reduziram o número de animais infectados. Na década de 90 houve novamente um aumento dos animais infectados devido à falha vacinal ou imunização incompleta (APPEL e GILLESPIE, 1972).

Tanto a vacina atenuada quanto a recombinante atualmente disponíveis no mercado são polivalentes e, podem, de acordo com alguns autores, comprometer a resposta imunológica devido à interferência entre os antígenos (SCHULTZ, 1995). A vacina atenuada assemelha-se à infecção natural, por promover imunidade humoral e celular, entretanto não causa a doença, pois a replicação viral é suficiente apenas para gerar a resposta imunológica (RIKULA, 2008). Já na vacina recombinante não há replicação viral e há menor estímulo no sistema imune, com menor produção de anticorpos e menor tempo de cobertura imunológica. Essa é indicada em filhotes que ainda possuem anticorpos maternos, sem causar interferência significativa na resposta vacinal (PARDO *et al.*, 1997 e SCHULTZ, 2006).

Nos EUA e diversos países da Europa, a vacinação é sistemática, o que promove alta titulação de anticorpos, que se mantêm por até dois ou três anos (HASS *et al.*, 2008). Essa não é a realidade no Brasil, onde a vacinação é deficiente e a incidência da enfermidade alta. Monti *et al.* (2007) observaram que a imunização é mais eficiente em cães vacinados a partir de 45 ou 60 dias, seguida de dois reforços com intervalos de 21 a 30 dias e revacinação anual administradas por médicos veterinários.

Desde a descoberta da enfermidade até os dias atuais o melhor método de combate à cinomose é a prevenção por meio de vacina com vírus atenuado (MANGIA e PAES, 2008). Entretanto Tuduryet *al.*(1997) verificaram que aproximadamente 19% dos animais com cinomose já haviam sido vacinados adequadamente, o que demonstra que a doença pode ocorrer mesmo com programa correto de vacinação, o que torna vital a vacinação com vacinas “éticas”, ou seja realizada por médicos veterinários, para diminuir a ocorrência de falhas vacinais (EK-KOMMONEN *et al.*, 1997).

As vacinas induzem uma resposta imune inata, que é rápida e inespecífica, e adaptativa, a qual é específica (MOORE e HOGENESCH, 2010).

2.1.1.1. Meningoencefalite multifocal do cão adulto por cinomose

Ferner (1997) relatou que aproximadamente 50% dos animais infectados que sobrevivem à infecção sistêmica apresentam lesões neuropatológicas.

A infecção viral no SNC pode ocorrer isoladamente ou antes, simultaneamente ou após à fase sistêmica (GREENE, 2012; AMUDE *et al.*, 2010). Essa diversidade ocorre devido a virulência da cepa, idade e imunocompetência do animal. A imunidade do animal determina o aparecimento e intensidade dos sinais clínicos, assim como o local de invasão. O animal pode ser imunocompetente e impedir a invasão do vírus no SNC ou permitindo a invasão, mas debelar a infecção sistêmica ou pode ser imunodeficiente (MURPHY *et al.*, 1999; AMUDE *et al.*, 2010).

A invasão do vírus da cinomose no SNC ocorre aparentemente devido a uma falha imunológica e pode ser por via hematogena, através dos linfócitos ou pelo líquido, através da sua replicação no plexo coróide (TIPOLD *et al.*, 1992; VANDEVELDE e ZURBRIGGEN, 1995; DUBOVI, 2011).

Outra possível via de infecção do SNC é por via retrógrada pelo nervo olfatório, através da mucosa nasal onde residem os receptores olfativos neuronais e seus dendritos, que promovem a fácil transição entre as células epiteliais e as demais células, a partir do receptor nectina4 e por seus axônios serem bipolares e penetrarem no bulbo olfatório. A partir daí ultrapassam a placa cribiforme para alcançar o SNC (RUDD *et al.*, 2006).

Quando por via hematogena, os linfócitos atravessam o endotélio vascular das meninges, devido à deposição de imunocomplexos e anticorpos antivirais. Após a invasão no SNC, o vírus atinge o plexo coroide, local onde é produzido o líquido, a partir do qual o vírus se dispersa por todo o SNC. A diversificação dos sinais clínicos da cinomose se dá pela replicação viral constante e multifocal nos diferentes compartimentos neuroanatômicos, acometendo o córtex, trato óptico, tronco encefálico, cerebelo e medula (GREENE e APPEL, 2006)(VANDEVELDE e ZURBRIGGEN, 1995).

Como consequência, ocorre na fase aguda lesões multifocais tanto na substância branca, com desmielinização devido à replicação viral nas células da glia, como na cinzenta, pela infecção neural e necrose. Os astrócitos

aumentam a produção do Fator de Necrose Tumoral (FNT), o que acelera a desmielinização, dado aos efeitos deletérios sobre os oligodentrócitos e mielina. Nesta fase o sistema imunológico está imaturo ou suprimido para combater o vírus e deflagra mínimo processo inflamatório, diversamente da fase crônica (TIPOLD *et al.*, 1992; SUMMERS e APPEL, 1994; VANDEVELDE e ZURBRIGGEN, 1995; GREENE e APPEL, 2006).

A fase crônica ocorre quando o sistema imune é mais lento que a replicação viral, o que viabiliza a persistência de vírus fora das lesões inflamatórias desmielinizantes e a ocorrência dos sinais clínicos característicos da fase crônica. Esse mecanismo é favorecido pela própria estratégia viral, caracterizada pela replicação não citolítica com limitado brotamento, o que retarda sua detecção pelo sistema imune (VANDEVELDE e ZURBRIGGEN, 1995; ZURBRIGGEN *et al.*, 1995; VANDEVELDE e ZURBRIGGEN, 2005). Nesta fase ocorre astrocitose e astrogliose na substância branca, ao mesmo tempo em que o sistema imune produz auto-anticorpos antimielínicos, devido à inflamação e à presença do vírus na mielina, o que causa destruição dos oligodentrócitos e da bainha de mielina (TIPOLD *et al.*, 1992; SUMMERS e APPEL, 1994; VANDEVELDE e ZURBRIGGEN, 1995; 2005; GREENE e APPEL, 2006). Burge *et al.* (1989) demonstraram que os anticorpos estimulam a produção de radicais livres e promovem a degradação fosfolipídica cortical, o que destrói e impede a produção da mielina. Desencadeia-se então uma reação inflamatória imunopatológica, caracterizada pelo aumento das interleucinas e do TNF que causam inflamação severa e propiciam a migração de células inflamatórias para o SNC, intensifica a formação de TNF e mobilizam mais células de defesa (GRÖNE *et al.*, 2000). Griotet *et al.*, (1989) observaram que *in vitro* a desmielinização inflamatória crônica pode ocorrer devido interações entre macrófagos e pela formação de complexos antígeno-anticorpo.

2.1.2. Síndromes da cinomose

Devido à diversidade de sinais neurológicos encontrados nos animais infectados com cinomose, Amude *et al.*, (2012) agruparam as apresentações em três síndromes clínicas levando em conta também a idade, imunização e

história clínica. A encefalite pela cinomose em cães imaturos é caracterizada por acometer animais de até um ano, com sinais gastrointestinais iniciais, seguido de convulsões e mioclonia. A encefalomielite multifocal pela cinomose em cães adultos, também chamada de crônica, acomete animais adultos e observa-se inicialmente fraqueza nos MPs e ataxia, que progride para tetraparesia ou tetraplegia espástica. A encefalite do cão idoso acomete animais acima de seis anos, é de curso crônico e rara ocorrência, onde observam-se alterações de comportamento e sinais cerebelares como hipermetria, mas não se observa mioclonia (VANDEVELDE *et al.*, 1980; AMUDE *et al.*, 2012)

A encefalomielite multifocal do cão adulto, apesar de descrita como rara na literatura, é observada frequentemente em áreas endêmicas como o Brasil (AMUDE *et al.*, 2012) e estudada neste trabalho.

2.1.2.1. Sinais clínicos da encefalomielite multifocal do cão adulto

Nos animais infectados podem-se observar sinais isolados ou associados de hiporreflexia (TUDURY *et al.*, 1997), envolvimento de nervos cranianos, alteração sensorial, mioclonia e alteração de comportamento, que podem se apresentar isoladamente ou em conjunto, como por exemplo, os animais que apresentam exclusivamente paraparesia e ataxia como sinal clínico ou sinais cerebelares ou vestibulares (TIPOLD *et al.*, 1992; DEEM *et al.*, 2000).

Os sinais clínicos vestibulares centrais podem se caracterizar por desvio lateral de cabeça, nistagmo, desequilíbrio, alteração de outros nervos cranianos e alteração da propriocepção consciente, já os sinais cerebelares podem ser ataxia, hipermetria e tremor intencional de cabeça (TIPOLD *et al.*, 1992).

Estudos focam principalmente nos sinais clínicos neurológicos de animais que sofreram eutanásia ou óbito natural e se limitam principalmente a dados histopatológicos, já que os métodos de diagnóstico laboratoriais *in vivo* podem originar falsos negativos, o que diminui a acurácia diagnóstica. Os

achados histológicos da encefalite do cão velho e encefalomielite multifocal do cão adulto diferem. A encefalite do cão velho produz inicialmente perda da acuidade visual e progride para demência e andar compulsivo em círculos. Na encefalomielite multifocal do cão adulto observa-se ataxia e paraparesia, que progride para nistagmo, lesão do nervo facial, desvio lateral da cabeça, tremores de cabeça e atrofia muscular. Em ambos os casos observam-se reflexo de ameaça diminuído e alteração das reações posturais e reflexos espinhais (VANDEVELDE *et al.*, 1980).

A mioclonia é um movimento rítmico caracterizado pela contração de um grupo muscular, seguido de seu relaxamento de frequência esporádica ou rítmica e pode se apresentar em movimentos finos ou grosseiros. Quando esporádica, não ocorre por grandes períodos, pode ser considerada como eventos isolados e confundida com convulsões focais, pois não apresenta perda de consciência. Na mioclonia rítmica pode-se apresentar de forma constante, episódica, relacionada com movimento, postura ou repouso e pode ser focal ou difusa (LORENZ *et al.*, 2012).

Na cinomose observa-se a mioclonia repetitiva constante, caracterizada por contração involuntária rítmica, entretanto também pode ocorrer em situações raras em raças específicas, por administração de alguns fármacos ou em outras doenças inflamatórias, como meningoencefalomielites e intoxicação por chumbo. A mioclonia secundária à cinomose foi descrita pela primeira vez em 1862 e ocorre mais frequentemente nos grupos musculares flexores de um membro, mas pode afetar mais de um grupo muscular e mais de um membro, bem como a musculatura facial e mastigatória. A mioclonia ocorre em menos da metade dos casos e sua fisiopatologia não está totalmente elucidada (BREAZILE *et al.*, 1966; TIPOLD *et al.*, 1992; SILVA, 2005; AMUDE *et al.*, 2006; GREENE e APPEL, 2006).

Normalmente a mioclonia repetitiva constante permanece ao movimento, repouso, sono ou anestesia leve, porém no repouso ou sono sua frequência e severidade podem diminuir. A mioclonia pode aparecer em qualquer fase da cinomose, mas normalmente é observada após a resolução dos sinais clínicos sistêmicos (LORENZ *et al.*, 2012).

A mioclonia repetitiva induzida por fármacos, como a morfina, etomidato e propofol, desaparece rapidamente ou após a biotransformação dos fármacos (LORENZ *et al.*, 2012).

Estudos experimentais demonstraram que o gatilho da mioclonia pode ser por lesão nos núcleos basais, que funcionaria como um marca-passo na medula espinhal ou no tronco encefálico (SUMMERS *et al.*, 1995; AMUDE *et al.*, 2006; LORENZ e KORNEGAY, 2006). A lesão oriunda do vírus causa uma irritação neural local nos neurônios motores da medula espinhal ou no núcleo dos nervos cranianos no tronco encefálico (TIPOLD *et al.*, 1992; GREENE e APPEL, 2006).

Segundo Chrisman *et al.* (2005) as despolarizações rítmicas que originam as contrações musculares, provavelmente são produzidas na substância cinzenta da medula espinhal, no caso das contrações da região cervical, tronco e membros, e do tronco encefálico, quando ocorrem na cabeça. A mioclonia em membros persiste mesmo com a transecção da medula cranial ao segmento relacionado e/ou transecção das raízes dorsais do segmento correspondente a inervação motora do membro e cessa apenas com a transecção dos NMI (BREAZILE *et al.*, 1966; CHRISMAN *et al.*, 2005).

Inada (1989) confirmou que os neurônios motores inferiores são os principais desencadeadores da mioclonia, já que pela eletromiografia a contração pode não ocorrer de forma sincronizada e inicia-se em tempos diferentes em um ou mais músculos. Outra evidência que os neurônios motores inferiores originam a mioclonia é que ela permanece rítmica tanto nos momentos de vigília, quanto nos sono NREM e REM (INADA *et al.*, 1993).

Quanto à localização, a mioclonia pode estar presente em um membro ou grupo muscular ou em mais de um grupo muscular. Frequentemente persiste na atividade, descanso, sono ou anestesia, entretanto tanto no descanso quanto no sono a intensidade pode diminuir em casos (INADA *et al.*, 1993)

Não há tratamento efetivo para mioclonia, entretanto o bolus intravenoso de lidocaína pode interromper ou reduzir a frequência. Anticonvulsivantes não

são efetivos e em alguns animais pode melhorar espontaneamente ao longo dos anos. Quando a mioclonia interfere na locomoção ou alimentação a eutanásia é normalmente recomendada (GEBARA, 2004; GREENE e APPEL, 2006; LORENZ e KORNEGAY, 2006).

2.1.3. Diagnóstico

O diagnóstico da cinomose pode ser realizado por diversas formas, entretanto nenhum método é 100% eficaz. No cão se baseia, principalmente, nas manifestações clínicas da doença, (SILVA, 2005; GREENE e APPEL, 2006; LATHA *et al.*, 2007b), entretanto, a apresentação variável do quadro clínico pode dificultar o seu diagnóstico (SHIN *et al.*, 2004).

Os achados laboratoriais frequentemente encontrados são linfopenia, associada ou não à leucopenia ou leucocitose com desvio à esquerda, anemia, monocitose e, eventualmente, trombocitopenia (TIPOLD *et al.*, 1992).

Um dos métodos diagnósticos é a análise do líquido cefalorraquidiano, onde se pode observar alterações do componente proteico e celularidade, quando o animal apresenta sinais neurológicos, entretanto na desmielinização aguda ou na fase pneumoentérica não se observam alterações no líquido cefalorraquidiano. A inflamação do SNC na encefalomielite multifocal do cão adulto pode ser detectada pela determinação de IgG no líquido cefalorraquidiano (TIPOLD *et al.*, 1992). Em 79 cães com cinomose na fase neurológica, observou-se na análise do líquido cefalorraquidiano, que 77% dos animais apresentavam aumento das proteínas totais e 51% pleocitose com predomínio de linfócitos (TUDURY *et al.*, 1997).

Outros métodos de diagnósticos são a imunofluorescência direta (MEGID *et al.*, 2000) e ELISA (LATHA *et al.*, 2007a), entretanto atualmente são pouco utilizados devido à maior especificidade do RT-PCR (técnica da reação em cadeia pela polimerase precedida de transcrição reversa).

Atualmente o método diagnóstico considerado mais eficaz é o RT-PCR, na qual se pode detectar o ácido nucléico do vírus na urina e outros líquidos de cães, tanto na encefalite aguda quanto na crônica, o que o torna um método eficaz *ante-mortem*, pois é considerado um método rápido, sensível e

específico, para a detecção da infecção pelo vírus da cinomose canina (GEBARA, 2004; AMUDE *et al.*, 2006; SAITO *et al.*, 2006). Amude (2006) avaliou a sensibilidade de diversos fluidos corpóreos e concluiu que a urina apresentou maior sensibilidade e, portanto, é o melhor material biológico para o diagnóstico *ante-mortem*, por meio do RT-PCR.

A observação de anticorpos antivírus no líquido cefalorraquidiano determina uma encefalite causada pela cinomose, já que estes são produzidos localmente e não são observados em animais vacinados ou que não apresente os sinais neurológicos (GREENE e APPEL, 2006).

2.1.4. Tratamento

O tratamento da infecção baseia-se na terapêutica de suporte com a administração de antibióticos de amplo espectro, reposição eletrolítica, vitaminas do complexo B, complementos nutricionais, antieméticos, antiinflamatórios, por exemplo, de forma à minimizar os sinais clínicos (SWANGO *et al.*, 1997).

A infecção ativa pode ser tratada com ribavirina de acordo com estudo realizado por Mangia *et al.*, (2012) onde observaram a curto prazo diminuição da mortalidade no grupo tratado em relação aos demais.

Novos estudos sugerem tratar as sequelas da cinomose com células tronco. Brito *et al.* (2013) realizou transplante alogênico IV de células mononucleares de medula óssea em 11 animais, dos quais sete se apresentavam na fase aguda e quatro na fase crônica. Na fase aguda, cinco apresentaram remissão completa dos sinais clínicos e na crônica, três apresentaram melhora na primeira semana, mas dois destes voltaram a apresentar os mesmos sinais observados anteriormente ao tratamento, o que demonstra que esta técnica pode ser uma boa alternativa para tratar a fase aguda da doença e evitar sequelas, entretanto os resultados foram insatisfatórios para tratar a fase crônica.

Atualmente não há tratamento comprovadamente eficaz na literatura, para as sequelas da cinomose.

2.2. Acupuntura

A AP é uma ferramenta diagnóstica e terapêutica que se baseia no estímulo de acupontos na superfície da pele (LIN, 2006). Dentro dos conceitos da medicina oriental os diagnósticos são feitos utilizando-se uma linguagem metafórica, a partir das teorias do Yin e Yang e dos cinco movimentos (LUNA *et al.*, 2002; LIN, 2006). Dessa forma a cinomose na MTC pode ser vista como um processo de “vento-calor”, ou seja, uma enfermidade infectocontagiosa (vento) com características inflamatórias (calor).

De acordo com a literatura científica atual a AP age por meio de distintos mecanismos de ação, em sua maioria correlacionada com a regulação da função do sistema neuroendócrino e encefálico (CHAN *et al.*, 2001). Sua ação neurofisiológica ocorre a partir do momento em que a agulha é inserida em um acuponto, o qual apresenta baixa resistência elétrica e elevadas concentrações de terminações nervosas sensoriais, feixes e plexos nervosos, mastócitos, vasos linfáticos, capilares e vênulas. Sendo assim, após o estímulo local com as agulhas há uma cadeia de eventos que é desencadeada com a liberação local de mediadores inflamatórios, os quais atuando como amplificadores de sinal estimulam os centros altos encefálicos (hipófise, hipotálamo e tálamo) a liberar encefalinas, neurotransmissores, entre outras substâncias hormonais, os quais irão por sua vez atuar de forma sistêmica no organismo. Os órgãos alvos são dependentes dos acupontos estimulados (SMITH, 1992; LUNDEBERG, 1993).

A maior parte dos pontos de AP localizam-se próximos a estruturas que apresentam importantes efeitos na função neuromuscular. Quando próximos às articulações e bainhas tendíneas estimulam a circulação e regulam o tônus muscular, por modificarem os impulsos proprioceptivos aferentes e eferentes dos tendões e articulações. Quando à cerca dos vasos e nervos de septos intramusculares geram um estímulo direto na ligação musculotendínea e quando situados em pontos motores, local de origem dos feixes nervosos e vasos, estimulam diretamente os fusos musculares (DRAEHMPAEHL *et al.*, 1997).

Além da função muscular, a AP apresenta papel diversificado no SNC. Os pontos E36, E25, C7 e PC6 estimularam o neocórtex, sistema límbico cortical e núcleos talâmicos, já o VG26 e R1 diminuíram a atividade dos núcleos talâmicos e mesencéfalo (FUTAESAKU *et al.*, 1995).

Klide *et al.* (1987) avaliaram o efeito da AP, pela técnica do implante de ouro, em animais epiléticos, observando uma diminuição no número de convulsões, resultado igualmente obtido por Goiz-Marquez *et al.* (2009) que observaram também diminuição da frequência e intensidade das crises convulsivas.

Um estudo retrospectivo entre 1998 e 2009, realizado no Ambulatório de Acupuntura da FMVZ – UNESP, Botucatu, SP relatou que dos 65% dos casos atendidos eram neurológicos, dos quais 65,8% dos animais melhoraram com o tratamento (UEDA *et al.*, 2010).

A eletroacupuntura (EA) é uma das técnicas utilizadas na AP, que consiste no uso de estímulo elétrico em ponto de AP e é considerada importante para tratar doenças neuromusculares (YANG *et al.*, 2003; WONG *et al.*, 2006). Yang *et al.* (2003) compararam os efeitos dos corticosteroides *versus* EA em lesão experimental de medula e observaram melhor resultado quando os métodos foram combinados. O estímulo elétrico pode também ser utilizado em casos com doenças neurológicas para redução da atrofia muscular, do alívio de contraturas e de espasmos, bem como da dor (STEISS, 2002). A EA com baixa frequência tem sido utilizada para condições como hiperreflexia detrusora em pacientes com lesão medular e doenças musculoesqueléticas (PREVINAIRE *et al.*, 1996; JOAQUIM *et al.*, 2010).

Em cães com discopatia graus 4 e 5 crônica e consequente paralisia de membros pélvicos, ao empregar a EA com frequência de 2 e 15Hz por 20 minutos ocorreu o retorno à locomoção em mais de 70% dos animais tratados tanto com o uso isolado da EA quanto após a descompressão cirúrgica associada à EA, contra apenas 40% nos animais submetidos apenas à descompressão cirúrgica tardia (JOAQUIM *et al.*, 2010), o que demonstra o efeito benéfico desta terapêutica em alterações neurológicas.

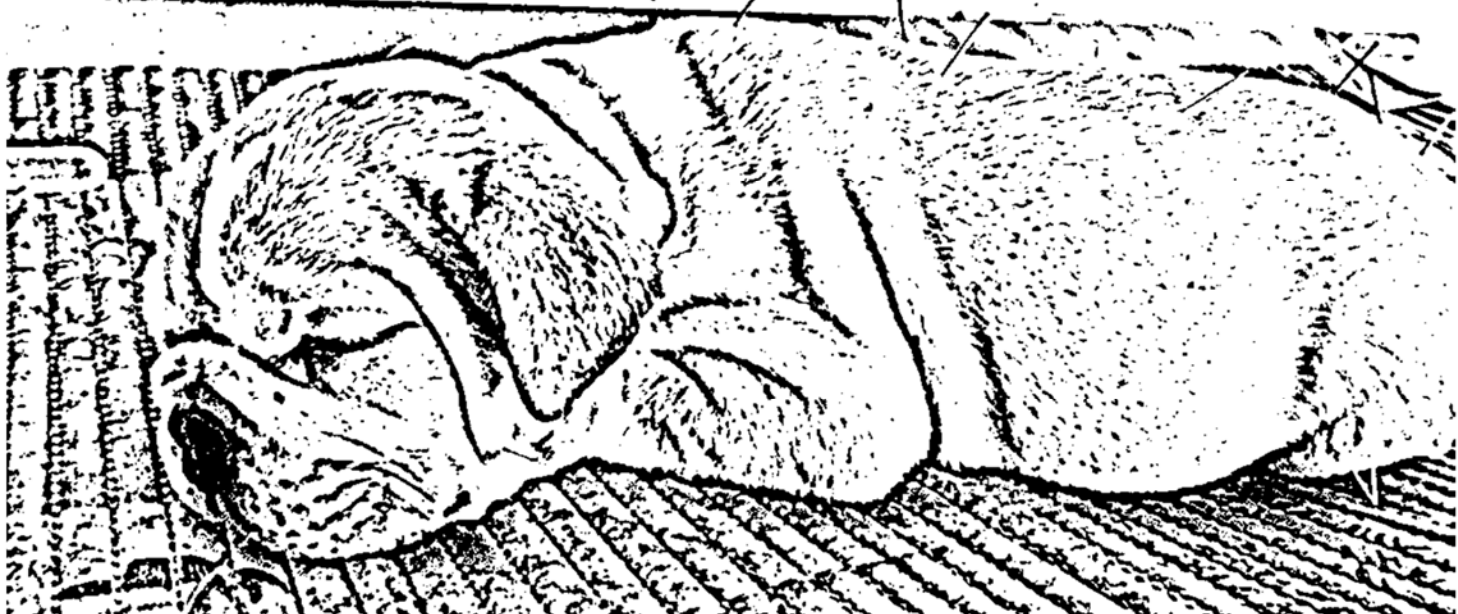
A EA, em comparação à AP, avaliadas pela tomografia computadorizada em ratos, estimulou mais intensamente a circulação e função cerebral, de forma contralateral no córtex e tálamo, ipsilateral nos núcleos da base e bilateral no cerebelo, principalmente por meio dos sistemas aferentes sensoriais específicos e não específicos, sistema extrapiramidal e cerebelo (WANG e JIA, 1996).

O SNC possui uma capacidade de reorganização das vias neurais para suprir uma área danificada, tal fenômeno pode ser potencializado com a utilização de EA devido à um maior recrutamento neuromuscular, como apresentado por Joaquim *et al.* (2010).

A AP age como um método de estimulação neural periférica gera mudanças nas funções sensoriais, motoras e autonômicas, viscerais, hormonais, imunitárias e cerebrais. Os neurônios possuem propriedade fisiológica de modificarem a sua atividade em termos qualitativos, quantitativos e formais, ou seja, neuroplasticidade, a partir de diversos estímulos, o que permite que o SN promova mudanças funcionais no organismo, garantindo a sua adaptabilidade e estabilidade (CARNEIRO, 2001). Assim como o autor anteriormente citado, Janssens (1992) demonstra que a AP pode estimular o crescimento axonal na medula espinhal, diminuir a inflamação e edema e promover vasodilatação ou constrição.

Embora os estudos acima corroborem com a indicação do uso da AP nas enfermidades do SNC, observa-se ainda uma grande lacuna com relação a estudos específicos e bem controlados sobre a ação da AP em cães com sequela de cinomose.

Objetivo e Hipótese

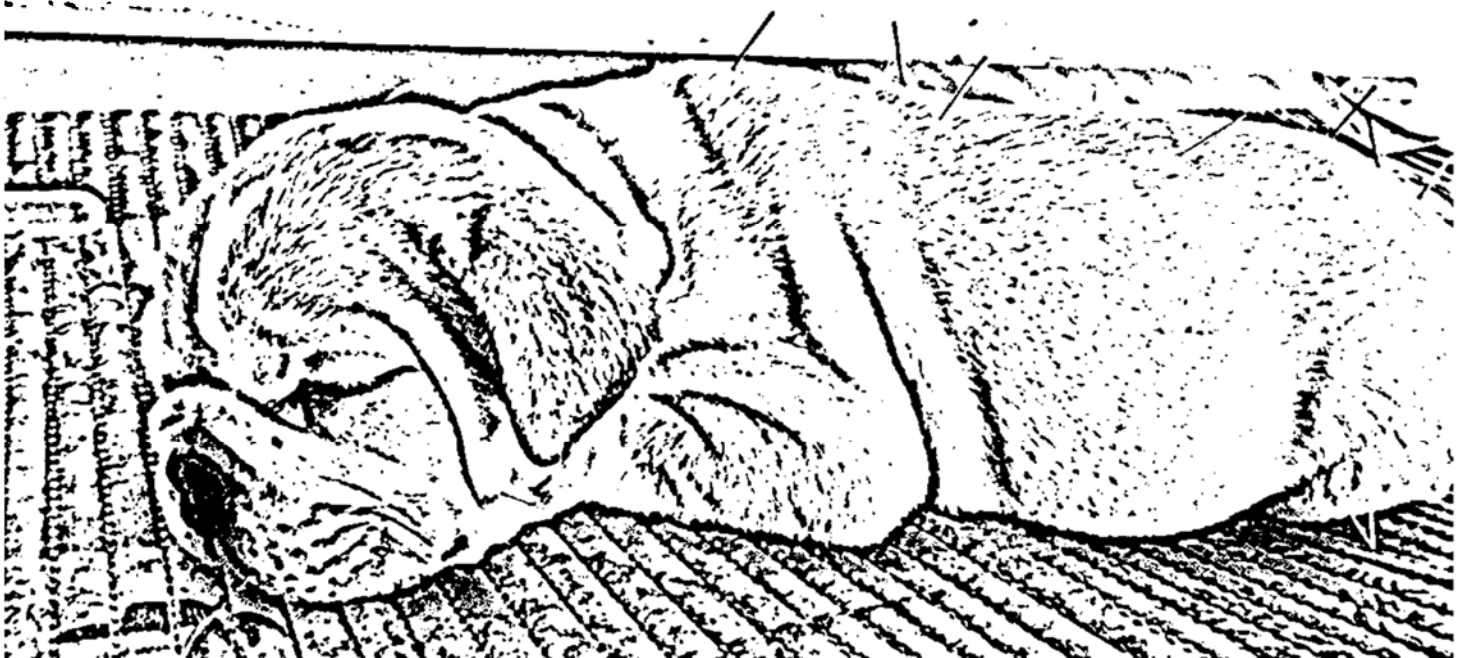


3. OBJETIVO e HIPÓTESE

O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da AP no tratamento de sequelas neurológicas em cães com diagnóstico clínico e laboratorial de cinomose.

A hipótese afirmativa é que a AP causa uma melhora qualitativa e quantitativa ou mesmo reversão das sequelas neurológicas de cães com diagnóstico definitivo de cinomose.

Material e Métodos



4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Critérios de Inclusão

Entre 2011 e 2013 foram encaminhados para atendimento no ambulatório de moléstias infecciosas do Departamento de Higiene e Saúde Pública da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Unesp – Botucatu 679 animais com suspeita clínica de cinomose, dos quais 72 foram inicialmente selecionados para o estudo. No mesmo período foram incluídos no estudo 19 animais com suspeita clínica de cinomose encaminhados por clínicos autônomos da região de Botucatu/SP. No total selecionaram-se 24 cães, dos quais 16 fêmeas e oito machos, com idade entre um e doze anos, de raças variadas, sem outras comorbidades, que apresentavam sinais neurológicos compatíveis com alterações causadas pela cinomose.

Os animais foram submetidos à colheita de dois ml de sangue para realização de hemograma e dois ml de urina, por cistocentese guiada por ultrassom ou cateterização para realização do exame de RT-PCR. O exame de RT-PCR foi realizado no Laboratório de Diagnóstico Molecular do Departamento de Microbiologia e Imunologia do Instituto de Biociências – Unesp – Botucatu.

Os animais positivos ao exame de RT-PCR foram submetidos ao tratamento clínico convencional, assim como os com resultado negativo, estes não incluídos no estudo. O tratamento consistiu basicamente de antibióticoterapia, estimulantes de apetite¹ e fluidoterapia quando necessário. Após dois a oito meses deste tratamento e realização quinzenal do hemograma, os animais que não apresentavam alterações do exame em pauta por 15 dias, apetite e defecação normais, sem o uso de qualquer tipo de medicamento e, portanto, em quadro estável crônico da doença, foram encaminhados para a AP, cujas sessões foram realizadas semanalmente por até seis meses.

4.2. Avaliação

¹Cobavital® - Solvay Farma – São Paulo – SP ou Profol® - Medley – Campinas - SP

Antes do início das sessões de AP, todos os animais foram submetidos à anamnese e avaliação clínica, incluindo as informações do nome, RG, idade, sexo, raça, peso, imunização, início dos sinais clínicos. Realizou-se o exame neurológico completo para localizar a lesão em encefálica, cerebelar, vestibular e/ou medular (anexo 1) e avaliação das escalas descritas no anexo 2.

O protocolo de imunização adequado considerado neste estudo está de acordo com a literatura atual, no qual consiste de primovacinação, com vacina polivalente, em cães com 45 ou 60 dias seguido de mais duas doses com intervalo de 21 a 30 dias seguida de revacinação anual.

Semanalmente, antes de cada sessão de AP, os animais eram submetidos à avaliação neurológica e graduação da escala para verificar a evolução do quadro clínico, até completar seis meses de tratamento ou quando o animal se apresentasse com escore I para todos os parâmetros, o que ocorresse primeiro.

Para fins de análise estatística, a ficha neurológica foi preenchida considerando zero para ausência do sinal avaliado e um para presença do mesmo sinal. A graduação da escala foi realizada de um a três ou de um a cinco de acordo com cada item. Considerou-se cura quando o animal apresentou escore I até o final do tratamento, exceto no item mioclonia onde foi considerada resposta positiva quando o animal apresentava redução do grau IV ou V para os graus I, II ou III.

4.3. Seleção dos pontos de acupuntura

Os pontos de AP selecionados foram baseados em estudo anterior (COLE, 1996) e nas funções dos pontos no SN e locomotor, de acordo com a literatura (SCHOEN, 2006; XIE e PREAST, 2011), sendo utilizada a mesma combinação de pontos em todos os animais.

A localização dos pontos foi definida a partir da medida chinesa *cun*, que é proporcional ao porte do animal e variável de acordo com a região (XIE e PREAST, 2011). Para os pontos localizados nos membros, a largura da pata do animal no nível das articulações interfalangeanas distais, corresponde a três *cun* e para o tórax, a largura da penúltima costela corresponde a um *cun*.

Todos os pontos foram localizados de acordo com Xie e Preast (2011), bem como as funções na medicina tradicional oriental e ocidental descritas na sequência:

Os pontos selecionados foram:

- **Bexiga (Be) 10 – *Tian-zhu***

Localização: Superfície dorsolateral à coluna cervical na depressão caudal à asa do atlas, 1,5 *cun* da linha média.

Indicações: Dispersar vento-frio, secreção e congestão nasal, doenças febris, dor cervical, doença do disco intervertebral, epilepsia e dor no ombro.

- **Be 18 – *Gan-shu***

Localização: superfície dorsolateral à coluna, lateral à borda caudal do processo espinhoso dorsal de T10, 1,5 *cun* da linha média.

Indicações: Doenças hepáticas, doenças da vesícula biliar, desordens oculares, hipertensão, epilepsia, irritabilidade, doença do disco toracolombar. Ponto de associação do fígado.

- **Be 23 – *Shen-shu***

Localização: Superfície dorsolateral à coluna, lateral à borda caudal do processo espinhoso dorsal de L2, 1,5 *cun* da linha média.

Indicações: Doenças renais, incontinência urinária, impotência, edema, disfunção auditiva, doença do disco intervertebral, fraqueza dos membros pélvicos, osteoartrite coxofemoral. Ponto de associação do rim.

- **Be 40 – *Wei-zhong***

Localização: Centro da fossa poplítea.

Indicações: Disúria, incontinência urinária, doença disco intervertebral e coxofemoral, doenças autoimunes, vômito, diarreia, paraparesia ou plegia.

- **Rim (R3) – *Tai-x***

Localização: Superfície caudomedial do membro pélvico, entre o maléolo medial da tíbia e o calcâneo, na ponta do maléolo medial.

Indicações: Doenças renais, disúria, diabetes mellitus, ciclo estral irregular, infertilidade, impotência, faringite, odontalgia, doença disco intervertebral, otite, disfunção auditiva.

- **Vesícula biliar (VB) 20 – *Feng-chi***

Localização: Grande depressão caudal e lateral à protuberância do occipital, medial à borda cranial da asa do atlas, no dorso do pescoço.

Indicações: Dispersa vento externo e interno, dor cervical, doença do disco intervertebral, epistaxe, congestão ou secreção nasal, epilepsia.

- **VB 30 – *Huan-tiao***

Localização: Depressão a meia distância entre o trocanter maior do fêmur e a tuberosidade isquiática

Indicações: Osteoartrite coxofemoral, paraparesia ou plegia, dor muscular.

- **VB 34 – *Yang-ling-quan***

Localização: Superfície lateral do membro pélvico, na depressão cranial e distal à cabeça da fíbula.

Indicações: Hipertensão, vômito, desordens fígado e vesícula biliar, desordens tendões e ligamentos, claudicação de membros pélvicos, fraqueza e paraparesia ou plegia, dor generalizada. Dispersa estagnação.

- **VB 39 – *Xuan-zhong***

Localização: Superfície lateral do membro pélvico, distal ao joelho, 3*cun* proximal à ponta do maléolo lateral da fíbula, na depressão da borda caudal da fíbula.

Indicações: Desordens neurológicas, hematopoiéticas, dor cervical, doença disco intervertebral, paraparesia ou plegia, dor torácica, faringite, desordens anais e perineais e colecistite.

- **Fígado (F) 3 – *Tai-chong***

Localização: Superfície medial do membro pélvico, proximal à articulação metatarsofalangeana, entre o segundo e o terceiro ossos metatarsianos.

Indicações: Desordens fígado e da vesícula biliar, desordens gastrointestinais, distúrbios urogenitais, ciclo estral irregular, paraparesia ou plegia e dor generalizada. Dispersa estagnação.

- **Triplo aquecedor (TA) 20 – *Jiao-sun***

Localização: Cranial e dorsal à orelha em uma depressão no ápice da base da orelha.

Indicações: Dor cervical, doença disco intervertebral, afecções dentárias.

- **Estômago (E) 36 – *Hou-san-li***

Localização: Face craniodorsal ao membro pélvico, 3 *cun* distal ao E35, 0,5 *cun* lateral ao aspecto cranial da crista da tíbia, na saliência do músculo tibial cranial.

Indicações: Náusea, vômito, dor estomacal, úlcera gástrica, estase de alimentos, fraqueza generalizada, constipação, diarreia, dor no joelho, fraqueza membros pélvicos. Tônico geral de Qi.

- **Intestino Grosso (IG) 10 – *Qui-an-san-li***

Localização: Superfície cranio lateral do membro torácico, 2 *cun* distal ao IG11, no sulco entre os músculos extensor do carpo e extensor digital comum.

Indicações: Imunodeficiência, vento-calor, prurido, imunorregulação, diarreia, dor abdominal, claudicação e paresia ou plegia de membros torácicos, dor no cotovelo, odontalgia, gengivite, estomatite, fraqueza dos membros pélvicos, fraqueza generalizada.

- **Vaso Governador (VG) 14 – *Da-zhui***

Localização: Linha média dorsal na depressão cranial ao processo espinhoso dorsal da vértebra T1.

Indicações: Febre, tosse, dispneia, dor cervical, doença disco intervertebral, dermatite, epilepsia e imunodeficiência. Dispersa calor e tonifica *Yin*.

- **VG 16 – Feng-fu**

Localização: Linha média dorsal na depressão entre o osso occipital e C1.

Indicações: Dor cervical, doença disco intervertebral, epilepsia, choque e desordens mentais e emocionais.

- **VG 20 – Bai-hui - Si-shen-cong**

Localização: Linha média dorsal, em uma linha traçada da ponta das orelhas, no nível dos canais auriculares.

Indicações: Epilepsia, desordens do sono, prolapso anal e distúrbios de *shen*. Ponto de sedação.

* Também chamado de *Si-shen-cong*, quando se utiliza quatro agulhas que cercam esse ponto com distancia de 1 *cun*. É utilizado para dispersar vento, fortalecer membros, insônia e distúrbios mentais.

- **Bai-hui**

Localização: Linha média dorsal entre as vértebras L7 e S1.

Indicações: Paraparesia ou plegia, dor lombossacra, doença disco intervertebral, dor articulação coxofemoral, dor abdominal e diarreia. Tonifica *Yang*.

A AP foi realizada em todos os pontos com agulhas de aço inox 0,25X30 ou 0,15X30² a depender do tamanho do animal. Apenas para o conjunto de pontos ao redor de VG 20, denominado *Si-shen-cong* realizou-se EA. Para tal utilizou-se o aparelho de EA³, com frequência mista de 2 e 15 Hz, alternadas a cada 3 segundos por 20 minutos (WALSH, 2001; JOAQUIM *et al.*, 2010). A intensidade da corrente elétrica foi ajustada de acordo com a sensibilidade individual dos animais, iniciando-se em zero e aumentando-se gradualmente. Quando se observou a fasciculação muscular, o estímulo foi reduzido para que a mesma não estivesse presente, já que pela nossa experiência clínica em dois animais, no estudo piloto, cuja fasciculação muscular foi mantida durante a EA

²DongBang® - Dong Bang Acupuncture, Inc. – Coréia do Sul

³EL 530 NKL® - NKL Produtos Eletrônicos Ltda. – Brusque – Santa Catarina

nos mesmos pontos, apresentaram, segundo relato dos proprietários, convulsão tônico-clônica.

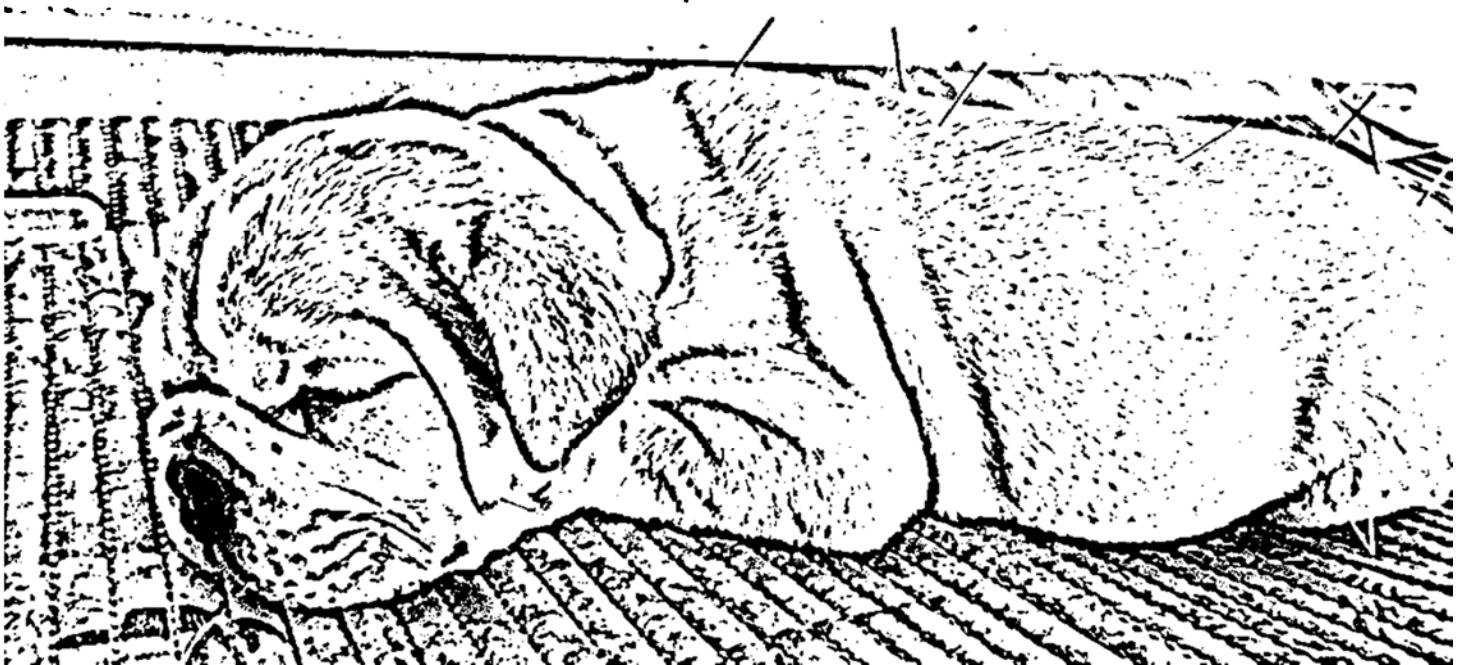
4.4. Análise Vídeos

Os vídeos de 15 dos 24 animais foram avaliados por três observadores cegos quanto ao momento antes ou ao final do tratamento, que atribuíram os mesmos escores de deambulação e mioclonia descritos anteriormente.

4.5. Análise Estatística

Análises estatísticas descritivas produziram distribuições de frequência das variáveis-resposta. Os teste de McNemar e Wilcoxon compararam respectivamente as proporções e medianas das alterações neurológicas antes e após o tratamento, o de Fisher, comparou a porcentagem de animais com acometimento de cada par de nervos cranianos e localização da lesão e as curvas de Kaplan-Meier avaliou a porcentagem de reversão de cada sinal neurológico ao longo do tratamento. Definiu-se se significância estatística quando $P < 0.05$ (INSTITUTE, 2009; WILCOXON, 1945).

Resultados



5. RESULTADOS

5.1. Panorama dos animais

Dos 91 animais encaminhados, coletou-se material para diagnóstico por RT-PCR de 68 animais, pois os demais apresentaram óbito antes da coleta.

Dos 68 animais, o diagnóstico de cinomose não foi confirmado por RT-PCR em 26 cães e em 18 o RT-PCR foi positivo, porém os animais morreram antes do início do tratamento. Desta forma incluiu-se no estudo 24 cães (16 fêmeas e oito machos; idade entre um e doze anos), de raças variadas.

Observou-se que 54,2% dos animais acometidos pelo vírus da cinomose eram de raças definidas e, neste caso, a maior incidência, de 20,8%, foi em poodle (Tabela 1). Os animais foram distribuídos de acordo com a classificação internacional: até um ano - filhotes, de um a nove anos - adultos e dez ou mais anos - idosos (HOSKINS, 1993; GOLDSTON e HOSKINS, 1999), representados neste estudo por 0%, 95,8% e 4,2%.

Quanto ao porte dos animais, 56,52% eram de porte pequeno, até 10kg, 30,43% de porte médio, entre 10 e 25kg e 13,04%, de porte grande, acima de 25kg.

Dos 24 animais utilizados, seis apresentavam protocolo de imunização considerado adequado contra o vírus da cinomose (EK-KOMMONEN *et al.*, 1997), o que representa 26,1% dos animais deste estudo.

De acordo com os hemogramas e exames neurológicos, os animais apresentaram estabilização dos sinais neurológicos e normalização do hemograma, no mínimo entre dois e máximo oito meses. Ao redor de metade dos animais (52,2%) estavam aptos para iniciar o tratamento dois meses após o início dos sinais clínicos.

TABELA 1. Nome, raça, idade (anos), sexo, porte, imunização e início de sinais clínicos em cães portadores de cinomose e tratados com AP (n=24).

	Nome	Raça	Idade (anos)	Sexo	Porte	Imunização	Início Sinais (meses)
1	Bianca	SRD	5	F	Médio	Não	2
2	Samanta	Poodle	1	F	Pequeno	Não	8
3	Belinha	Poodle	12	F	Pequeno	Não	3
4	Fred	Australian Cattle Dog	2	M	Médio	Não	2
5	Dafine	SRD	3	F	Médio	Não	2
6	Mel	SRD	1	F	Médio	Sim	2
7	Duda	SRD	1	F	Médio	Sim	3
8	Fortaleza	SRD	3	F	Pequeno	Não	2
9	Faísca	Fox Paulistinha	8	M	Pequeno	Não	2
10	Nina	SRD	3	F	Médio	Não	2
11	Lola	Labrador	3	F	Grande	Sim	2
12	Brenda	SRD	4	F	Médio	Não	2
13	Bolt	SRD	1	M	Pequeno	Sim	2
14	Belinha2	Poodle	4	F	Pequeno	Não	6
15	Bolinha	Collie	6	F	Grande	Não	1
16	Leo	Poodle	6	M	Pequeno	Sim	2
17	Mio	Pinscher	7	M	Pequeno	Sim	5
18	Mel2	SRD	1,5	F	Pequeno	Não	3
19	Mike	Rott	4	M	Grande	Não	1
20	Pequena	Teckel	1,4	F	Pequeno	Não	2
21	Pililim	Poodle	4	M	Pequeno	Não	1
22	Rananka	SRD	3	F	Pequeno	Não	3
23	Paco	Teckel	5	M	Pequeno	Não	1
24	Nina2	SRD	4	F	Médio	Não	2
	Média		3,9				2,5
	Desvio Padrão		2,6				1,6

5.2. Escala de avaliação neurológica para cinomose

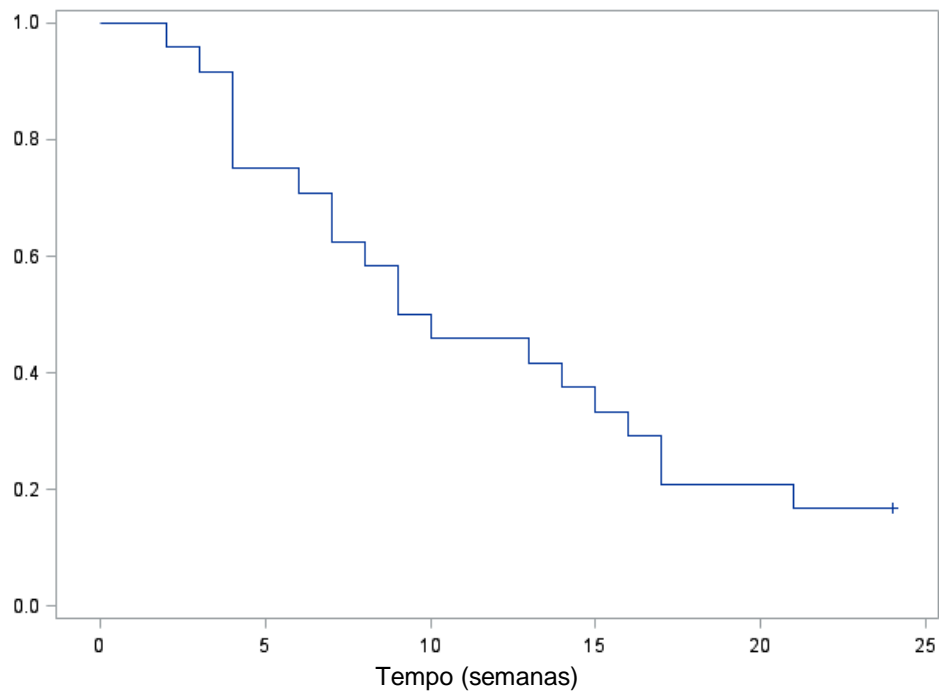
Considerou-se sucesso quando o animal apresentava-se em escore I (Anexo 1), em todas as variáveis, exceto mioclonia.

TABELA 2. Número de semanas para ocorrência de sucesso em 25%, 50%, 75% e 100% dos animais, nos parâmetros de deambulação, acometimento de nervos cranianos, função do SNC, movimentos involuntários (retorno ao escore I), movimentos involuntários (retorno ao escore I, II ou III) e função urinária, em cães portadores de cinomose e tratados com AP (n=24).

Porcentagem de animais com sucesso	25% (semanas)	50% (semanas)	75% (semanas)	100% (semanas)
Parâmetros				Semanas
Deambulação	4	9	16	-
Acometimento de Nervos Cranianos	3	4	5	10
Função do SNC	2	3	4	9
Movimentos involuntários (retorno ao escore I)	12	-	-	-
Movimentos involuntários (retorno ao escore I, II ou III)	2	5	9	14
Função Urinária	7	10	11	21

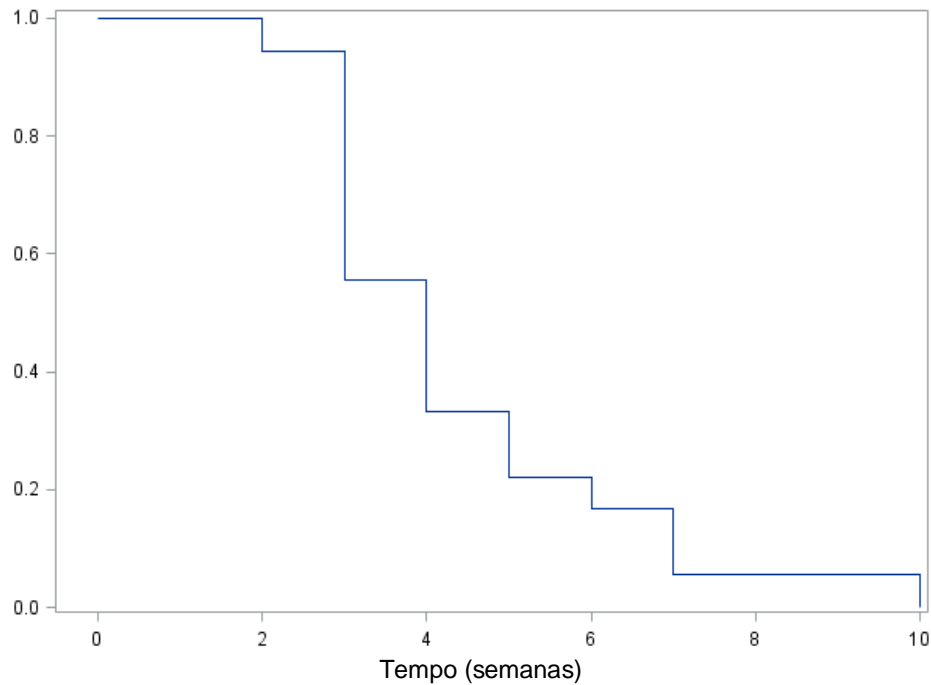
No que concerne a para ou tetraparesia ou plegia, observou-se retorno à deambulação funcional, ou escore I em 79,2% dos animais (Figura 1) ($p=0,0253$ McNemar). Ao se incluir o escore II, que foi de 8,3% ao final do tratamento, 87,5% dos animais voltaram a se locomover de forma independente. Partiu-se de um escore mediano de 4 antes do tratamento, para 1 no final do tratamento (Wilcoxon $p<0,0001$).

FIGURA 1 Curva de sucesso do grau de para ou tetraparesia ou plegia durante as 24 semanas de tratamento. Cada degrau representa a porcentagem dos animais que retornaram ao escore I ao longo do tempo.



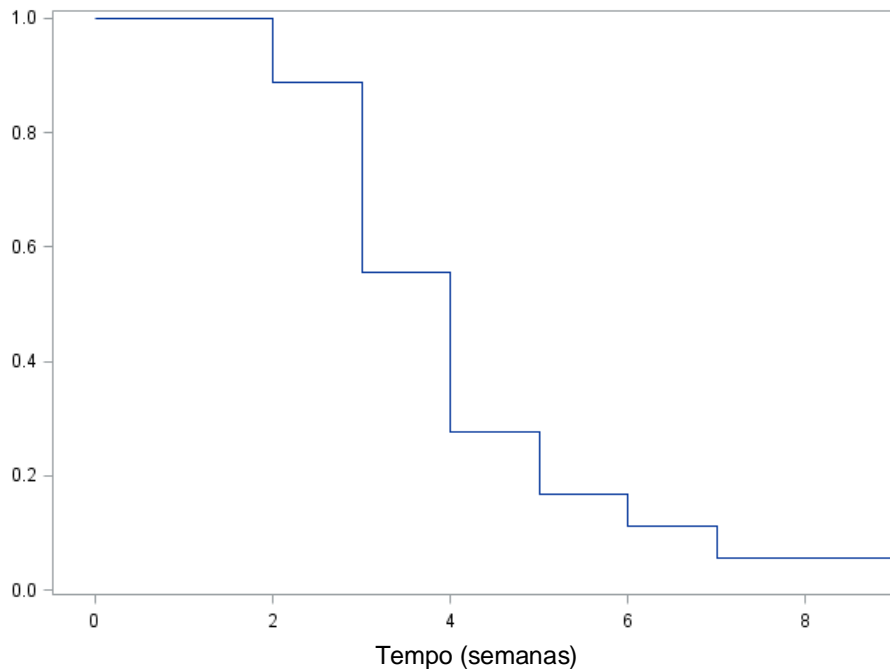
No item 2 (avaliação dos nervos cranianos), observou-se que 6 (25%) dos animais (Figura 2) não apresentavam déficits antes do início do tratamento e após o mesmo, nenhum animal apresentava déficit, onde $p= 0,0143$ (Mcnemar). Partiu-se de um escore mediano de 3 antes do tratamento, para 1 no final do tratamento ($p<0,0001$, Wilcoxon).

FIGURA 2 Curva de sucesso do grau de alteração de nervos cranianos durante as 24 semanas de tratamento. Cada degrau representa a porcentagem dos animais que retornaram ao escore I ao longo do tempo.



No item 3 (alteração em encéfalo), observou-se que nenhum animal apresentava crises convulsivas, mas 75% (Figura 3) apresentavam alteração de consciência, com pouca ou nenhuma interação com o meio ambiente ou proprietário e vocalização noturna, antes do tratamento. Após o tratamento todos os animais apresentavam nível normal de consciência, onde $p = 0,0143$ (McNemar). Partiu-se de um escore mediano de 2 antes do tratamento, para 1 no final do tratamento ($p < 0,0001$ Wilcoxon).

FIGURA 3 Curva de sucesso do grau de alteração encefálica durante as 24 semanas de tratamento. Cada degrau representa a porcentagem dos animais que retornaram ao escore I ao longo do tempo.



No item 4 (mioclonia), 50% (12) dos animais apresentavam mioclonia antes do início do tratamento. Após o tratamento, 9 animais, ou seja 37,5% ($p=0,5127$ McNemar) ainda apresentavam algum grau de mioclonia, ou seja 75% do total de animais que apresentavam mioclonia ao início do tratamento (Figura 4). Em 100% ($p= 0,0003$ McNemar) dos animais que apresentavam mioclonia, houve melhora no grau de severidade de grave ou moderado para leve ou presente, apenas em situações de estresse, desta forma considerou-se melhora deste sinal em 100% dos animais (Figura 5). Partiu-se de um escore mediano de 2 antes do tratamento, para 1 no final do tratamento ($p=0,0024$ Wilcoxon).

FIGURA 4 Curva de sucesso do grau de mioclonia durante as 24 semanas de tratamento. Cada degrau representa a porcentagem dos animais que retornaram ao escore I ao longo do tempo.

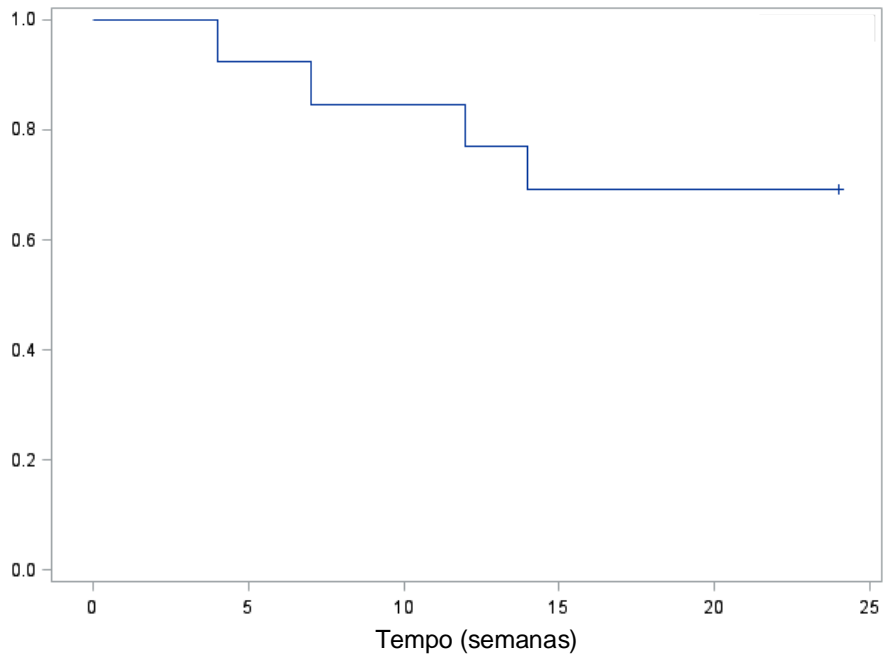
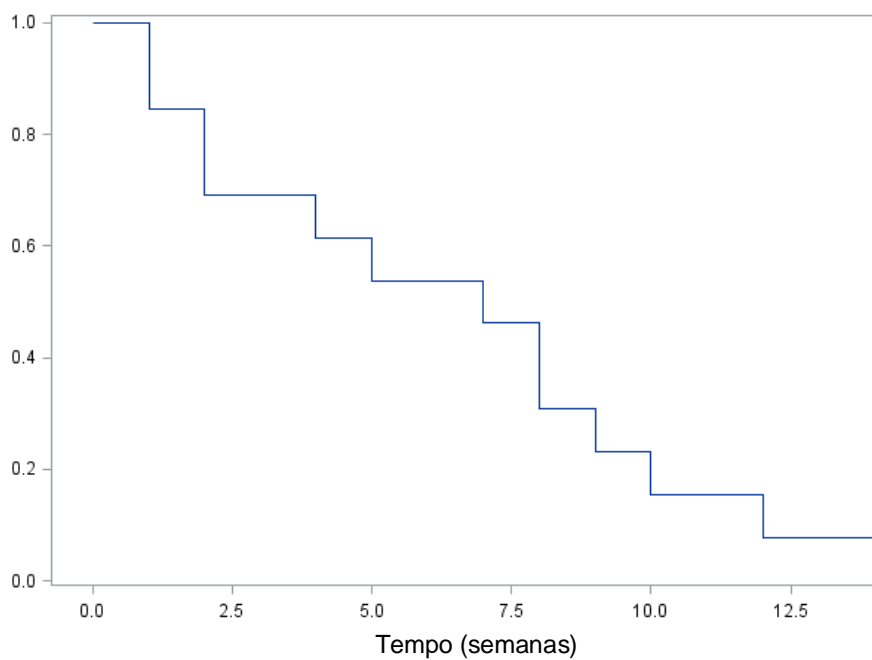
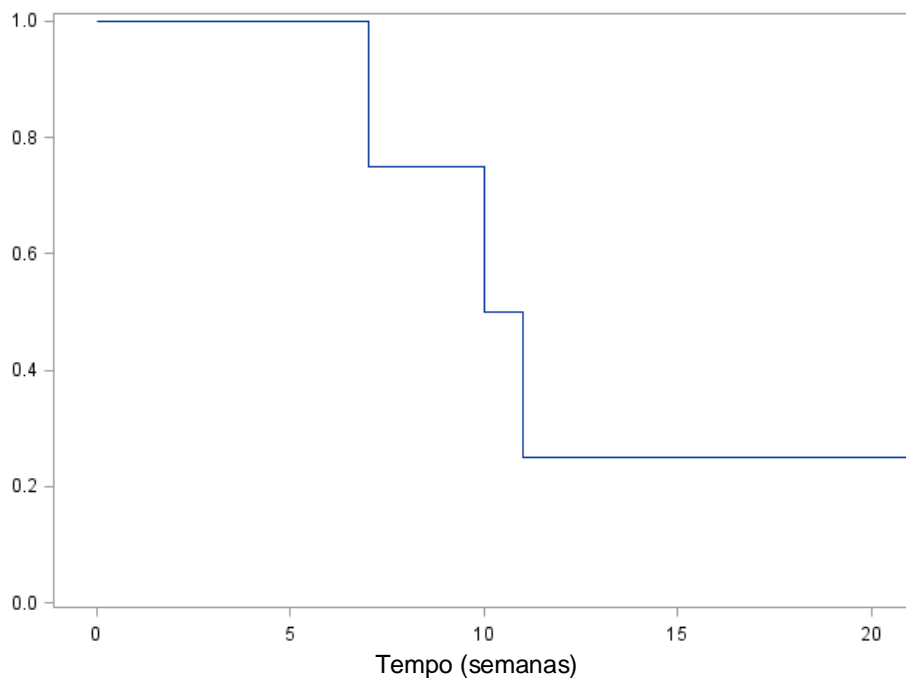


FIGURA 5 Curva de sucesso do grau de mioclonia durante as 24 semanas de tratamento. Cada degrau representa a porcentagem dos animais que retornaram ao escore I, II ou III ao longo do tempo.



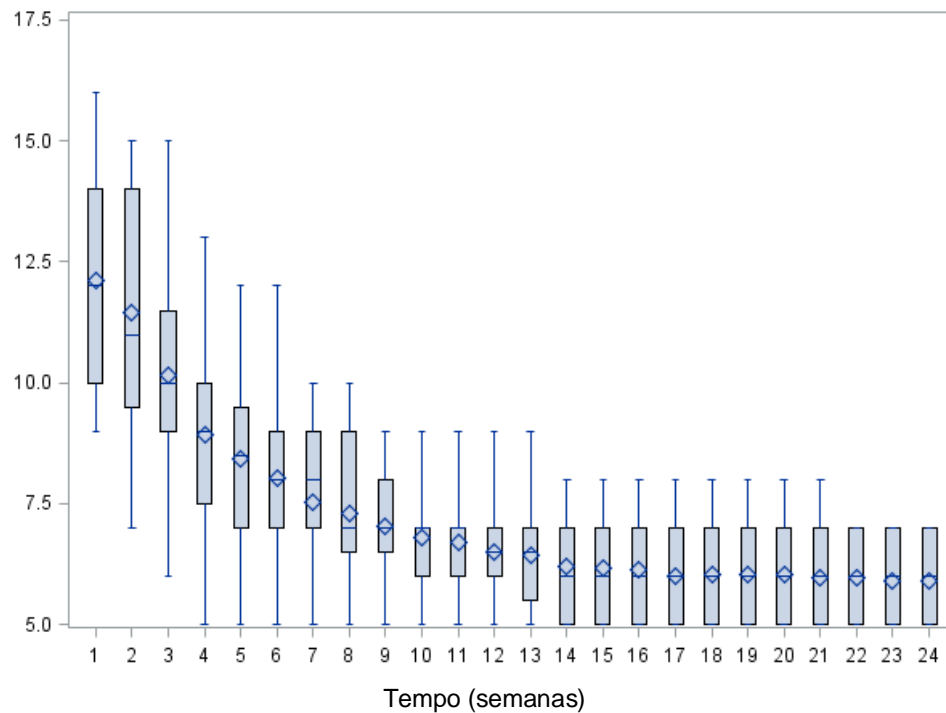
No item 5 (sistema urinário), observou-se que 20,8% dos animais apresentavam alteração de micção antes do tratamento. Após o tratamento, nenhum animal apresentava alteração na micção, onde $p < 0,0001$ (McNemar). Partiu-se de um escore mediano de 1 antes do tratamento, para 1 no final do tratamento ($p = 0,0625$ Wilcoxon).

FIGURA 6 Curva de sucesso do grau alteração do sistema urinário durante as 24 semanas de tratamento. Cada degrau representa a porcentagem dos animais que retornaram ao escore I ao longo do tempo.



Somando-se os escores, máximo 18 e mínimo 5, observou-se que a média e mediana, respectivamente, inicial foi de 12,1 e 12 ($\pm 1,98$) e final de 5,9 e 6 ($\pm 0,88$), onde $p < 0,0001$ (Wilcoxon).

FIGURA 7 Distribuição da soma, mediana, média, desvio padrão, máximo e mínimo dos escores durante as 24 semanas de tratamento.



Ao se comparar as avaliações dos vídeos entre os três avaliadores versus o avaliador padrão ouro (pesquisadora principal) não correram diferenças significativas nem por testes paramétricos ou não paramétricos. As medianas dos avaliadores 1, 2, 3 e ouro para deambulação foram iguais a 4 e 1 para todos os avaliadores e para mioclonia 4 e 1 para avaliadores A e C; 4,5 e 1 avaliador B e 4 e 2 padrão ouro, antes e após o tratamento, respectivamente.

5.3. Avaliação Neurológica

Dentre as alterações neurológicas apresentadas pelos animais, 100% apresentavam acometimento medular, com impotência funcional dos membros, na qual 41,7% apresentavam acometimento apenas dos membros pélvicos e 58,3% dos quatro membros. Paraplegia, paraparesia, tetraplegia e tetraparesia foram observadas em 20,8%, 20,8%, 20,8% e 37,5% respectivamente. Outros acometimentos medulares foram mioclonia em 50% dos casos e retenção urinária em 20,8%.

Observou-se que ao início do tratamento 68,75% dos animais não apresentavam propriocepção consciente nos membros torácicos. Ao final do tratamento apenas 4,2% continuavam a não apresentar este sinal ($p= 0,1436$). Aos exames da propriocepção tátil, carrinho de mão e saltitar lateral, 70,8% dos animais não conseguiam realizar o teste antes do tratamento, enquanto que 4,2% dos animais conseguiram realizar os testes após o término do tratamento ($p= 0,1797$).

A posição quadrupedal era assumida em 37,4% dos animais antes do tratamento. Ao término do tratamento, 4,2% dos animais ainda permaneciam sem conseguir assumir esta posição ($p=0,1797$).

Não houve diferença significativa nos reflexos bilaterais dos membros torácicos e pélvicos.

Enquanto a dor superficial foi avaliada em 100% dos animais, a dor profunda foi avaliada apenas nos animais que apresentaram ausência de dor superficial, tanto em membros torácicos, quanto nos pélvicos. Nenhum animal apresentou ausência de dor superficial nos membros torácicos. Para o exame de avaliação da dor superficial dos membros pélvicos, 18,75% dos animais apresentavam dor superficial ausente antes do tratamento e nenhum ao final ($p < 0,0001$). Dos animais que não apresentavam dor superficial, 6,25% não apresentavam dor profunda nos membros pélvicos antes do tratamento. Após o tratamento todos apresentavam dor profunda presente ($p < 0,0001$).

5.3.1. Avaliação dos Nervos Cranianos

Nos animais que apresentaram acometimento dos nervos cranianos, 44,4% apresentaram lesão concomitante nos pares III, IV, V e VI e 33,3% apresentaram lesão apenas no V par, de acordo com a tabela 2 ($p=0,0052$).

TABELA 3. Porcentagem de animais com acometimento nos pares de nervos cranianos

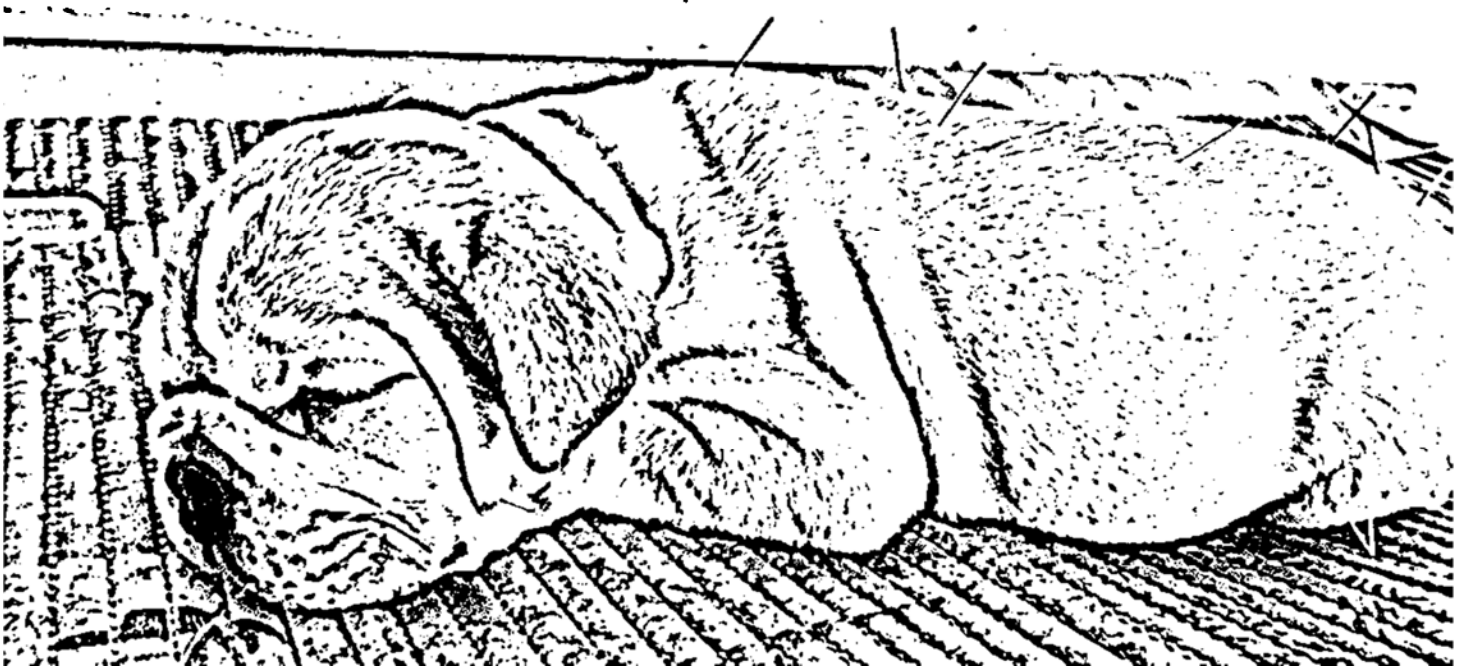
Pares de Nervos	Quantidade de Animais	Porcentagem (%)
II, III, V	1	5,56
II, IX, X	1	5,56
II, VII	1	5,56
III, IV, V, VI	8	44,44
V	6	33,33
V, VII	1	5,56

5.3.2. Localização da Lesão

Verificou-se que 87,5% dos animais apresentavam acometimento encefálico, 75% cerebelar e vestibular e 100% medular.

Ao se avaliar a interação entre os locais acometidos, observou-se que 28,6 % ($p=0,5464$) dos animais com acometimento encefálico apresentavam concomitantemente acometimento cerebelar ou vestibular e 100% medular. Dos animais com lesão cerebelar, 33,3% também apresentava alteração vestibular.

Discussão



6. DISCUSSÃO

A AP associada à EA reverteu as sequelas neurológicas produzidas pela cinomose em um período de 24 semanas, com retorno da deambulação funcional em 79,2% dos casos.

A maior incidência de casos crônicos de cinomose em cães Poodle, não necessariamente reflete uma maior predisposição desta raça, pois de acordo com os últimos dois anos de atendimento no ambulatório de moléstias infecciosas (MI) do Departamento de Higiene e Saúde Pública da FMVZ – UNESP – Botucatu, doravante denominado de ambulatório da MI, a fase aguda da doença predomina em cães sem raça definida. Provavelmente este achado está mais relacionado com os maiores cuidados dos proprietários, poder aquisitivo e adesão ao tratamento da cinomose na fase crônica em animais de raça.

A predominância da doença em animais adultos e idosos foi acima do reportado por Silva *et al.* (2007), cuja incidência de sinais clínicos neurológicos oriundos da doença, foi de 49,5% em filhotes e 2,5% em idosos. Na rotina do ambulatório da MI observou-se que a fase aguda da doença é observada em sua maioria em animais jovens. Em ambos os casos, a porcentagem se refere tanto à fase aguda quanto a crônica, de forma diversa deste trabalho que avaliou exclusivamente a fase crônica, o que impossibilita um melhor cotejamento dos dados.

Apesar da imperativa necessidade de profilaxia, observou-se que ao redor de 75% dos animais não apresentavam protocolo de imunização adequado, na região foco trabalho. Por outro lado observou-se que mesmo os animais submetidos a programa de imunização adequado, 25% foram acometidos pela doença, porcentagem maior que o relatado por Tudury *et al.* (1997), que foi de 18,52%.

Por se tratar de uma enfermidade neurológica de alto grau de mortalidade, tanto na fase aguda como crônica, as sequelas são consideradas irreversíveis e incapacitantes e de tratamento limitado na medicina

convencional (BIRCHARD, 2008). Desta forma a AP surge como uma robusta opção terapêutica nestas circunstâncias.

Considerando-se que diversas alterações hematológicas são observadas na fase aguda ou ativa da doença, tais como anemia, leucocitose, leucopenia, neutrofilia e linfopenia, esta última considerada característica da enfermidade (JAIN, 1993; SWANGO *et al.*, 1997; TUDURY *et al.*, 1997), utilizou-se nesse trabalho como critério de inclusão, a ausência de alterações hematológicas, para que os animais fossem considerados aptos para o início do tratamento, que ocorreu em média dois meses e meio após o princípio dos sinais clínicos neurológicos. Este critério se baseou no fato de que não há estudos que demonstrem a evolução hematológica nos animais doentes ao longo do tempo e, desta forma, a normalização do hemograma foi considerada como o ponto de transição entre o final da fase aguda e o início da crônica.

Os sinais neurológicos multifocais como paresias, ataxia, sinais vestibulares e cerebelares, alteração de nervos cranianos e mioclonia observados neste estudo coincidem com os descritos pela literatura (TIPOLD *et al.*, 1992; TUDURY *et al.*, 1997; AMUDE *et al.*, 2007), exceto que não foi observado sinais de convulsões, como reportado por Amude *et al.* (2007) em 25% dos casos. Desta forma salienta-se que os resultados positivos de melhora do quadro neurológico aqui apresentado, se limitam a animais desprovidos do sinal clínico de convulsão e que, portanto, futuros estudos seriam indicados para se avaliar o efeito da AP em animais com cinomose e portadores de quadro convulsivo.

No que concerne a deambulação, da mesma forma que neste estudo, predominam na literatura, casos de para ou tetraparesia ou plegia (TUDURY *et al.*, 1997; AMUDE *et al.*, 2007). A literatura é carente de informação a respeito da evolução dos déficits deambulatorios na fase crônica, já que se concentra mais especificamente nas lesões histopatológicas. No estudo de Vandeveld *et al.* (1980) que diferenciou a histologia de animais com “encefalite do cão idoso” *versus* fase crônica da cinomose, observou-se que os sinais neurológicos iniciais da primeira eram perda visual e da segunda, incoordenação e paraparesia.

A presença de 25% dos animais com déficit em nervos cranianos foi superior ao reportado por Amude *et al.* (2007), que observou este sinal em apenas 12,5% dos casos de cinomose, provavelmente pelo fato do estudo anterior se respaldar em casos tanto agudos como crônicos da doença. Já Vandeveld *et al.* (1980), ao avaliar apenas animais na fase crônica, reportaram diminuição no reflexo de ameaça e lesão de nervo facial, achado que foi observado em 17% e 89% dos nossos animais respectivamente, e cujos sinais regrediram em 100% em até dez semanas após o início do tratamento.

Dos sinais encefálicos relatados por Amude *et al.* (2007), como alteração de consciência, andar compulsivo e em círculo, mudanças de comportamento e pressionar a cabeça contra obstáculos, apenas o primeiro e a vocalização foram observados em 75% dos nossos casos, novamente com 100% de normalização no período de até nove semanas.

A mioclonia é um dos sinais mais limitante da doença e considerado irreversível (TIPOLD *et al.*, 1992). A incidência deste sinal varia entre 33% (VANDEVELDE e CACHIN, 1992), 38% (SILVA *et al.*, 2007), 40% (TIPOLD *et al.*, 1992), 50% (JONES e HUNT, 1983) e 75% (TUDURY *et al.*, 1997) dos casos, provavelmente dada a variação das cepas virais (DE LAHUNTA e GLASS, 2009). O tratamento farmacológico, como por exemplo, o uso de clonazepam não apresentou sucesso (TIPOLD *et al.*, 1992). Por outro lado, no estudo em pauta, dos 52% dos animais que apresentavam mioclonia, houve melhora do sinal em 100% dos casos e cura em 25%, o que altera o paradigma da irreversibilidade e demonstra que a AP é uma ferramenta importante para tratar mioclonia causada pela cinomose. Salienta-se que neste estudo associaram-se AP e EA e seria importante avaliar cientificamente o papel isolado de cada modalidade no tratamento de sinais neurológicos da cinomose, já que de acordo com a experiência clínica dos autores não há melhora da mioclonia apenas com o uso de AP.

A retenção ou incontinência urinária ou não é relatada ou é de pouca importância de acordo com a literatura, já que tal sinal é observado em apenas 1,4% dos animais (AMUDE *et al.*, 2007). Nossos resultados demonstraram que

a incidência deste sinal foi bem mais alta que a citada na literatura e novamente o tratamento foi inteiramente efetivo.

Como não há na literatura informação sobre exames neurológicos, como propriocepção, reflexos medulares e testes de carrinho de mão e saltitar lateral em animais com cinomose, não foi possível confrontar nossos dados com outros autores. O acometimento cerebelar neste estudo (74%) foi similar ao relatado por Amude *et al.* (2007), que foi de 63%. Em contrapartida, a associação deste sinal com o cometimento vestibular (26%), foi inferior ao reportado pelos autores em epígrafe (88%) e superior à Tudury *et al.* (1997), de 14%.

No que concerne a técnica de AP, a seleção dos pontos para tratar cinomose deve se correlacionar tanto com a MTO, como com a neurofisiologia da AP, do ponto de vista da neuroplasticidade. Na MTO a cinomose é uma enfermidade de “vento-calor”, com deficiência de *Yin*. O calor pode ser visualizado por meio de hiperqueratose nasal e de coxins, ceratoconjuntivite seca, secreção mucopurulenta ocular e nasal, urina concentrada e contratura de tendões e ligamentos. O vento é caracterizado pela ataxia, incoordenação, fraqueza, mioclonia e convulsões. A deficiência de *Yin* produz hipotrofia muscular progressiva. Neste sentido os pontos selecionados devem dispersar o calor (VG14), a eliminar o vento interno e externo (Si-sheng-cong, VG16, TA20, Be10, VB20 e VB30) e melhorar a imunidade do animal (VG14). Na MTO, o Be18 tonifica o *Yin* do fígado e nutre os tendões e ligamentos regidos pelo mesmo; o Be23 é o ponto de assentimento do rim, responsável pelos ossos, articulações, SN e medula óssea, nutre o *Yin* do rim e tonifica o *Yang* para circular o *Qi*; o Bai-hui tonifica o *Yang* e os membros pélvicos; o Be40 elimina o calor e também fortalece os membros pélvicos; o E36 promove o livre fluxo de *Qi*, fortalece a musculatura e melhora o apetite por remover o calor do estômago; o VB34 nutre os tendões e ligamentos e melhora as contraturas; o F3 remove a estagnação do fígado e melhora a circulação do sangue; o VB39, “mar da medula”, nutre o sangue e o SN e o R3 nutre o *Yin* do rim (SCHOEN, 2006; XIE e PREAST, 2011).

Do ponto de vista neurofisiológico, os pontos foram aqui selecionados de acordo com sua relação com o SN, tanto pela inervação cutânea, quanto pela origem da raiz nervosa medular. Quando um ponto do meridiano é estimulado ocorre o reflexo somatovisceral, devido a excitação de todo o meridiano e nervos correlacionados, os quais transmitem o impulso elétrico causado pela inserção da agulha de AP. A partir daí pode-se observar uma ação local, regional e sistêmica como descrito a seguir (DRAEHMPAEHL *et al.*, 1997).

O alívio da tensão muscular cervical observada neste estudo, provavelmente se relaciona ao estímulo dos pontos Be10, TA 20, VG16 e 20, que se encontram no trajeto do n. occipital, ramo dorsal de C1, que inerva a porção cranial da musculatura cervical, supre os pequenos músculos da cabeça e os fusos musculares tendíneos da musculatura dorsal do pescoço. Possivelmente estes pontos também afetam o ramo ventral do primeiro segmento da medula cervical, que inerva a porção ventral dos fusos anteriormente descritos e poderiam relaxar a tensão muscular observada nos casos de cinomose. Com a mesma função de alívio da tensão muscular cervical, o VB20 influencia o ramo sensitivo do n. occipital, o qual se conecta com a tireoide e o ramo motor do n. acessório, responsável pela inervação dos músculos trapézio e esterno-cleidomastóide, que apresentam rigidez nos animais com cinomose (DRAEHMPAEHL *et al.*, 1997; PELLEGRINO *et al.*, 2003).

O ponto IG 11 foi utilizado por se localizar próximo ao n. radial, principal nervo motor para extensão dos MTs. Adicionalmente o meridiano do IG segue parcialmente o trajeto do n. facial e ramos dos nervos cervicais que, quando afetados pela desmielinização causada pelo vírus da cinomose, ocasionam respectivamente diminuição do reflexo palpebral e da sensibilidade auricular e rigidez cervical (DRAEHMPAEHL *et al.*, 1997; PELLEGRINO *et al.*, 2003). A contratura muscular torácica e cervical, observada neste estudo nos animais tetraparéticos, foi revertida em 85% dos casos (11 dos 13 animais). Já o reflexo palpebral e a sensibilidade auricular retornou ao normal em 100% dos casos acometidos (2 animais), o que sugere o importante papel deste acuponto no tratamento da patologia.

O retorno da maioria dos animais em se manterem em posição quadrupedal e se locomoverem provavelmente se relaciona ao uso dos pontos Be40, E36, VB 30, VB34, F3 e VG 2. O primeiro situa-se próximo ao n. tibial e aos fusos musculares e tendíneos dos músculos bíceps femoral, semitendinoso, gastrocnêmio e abductor e sobre o n. ciático, o que poderia estimular as vias ascendentes do n. ciático até o segmento medular L6-S1. Os pontos E36, VB34 e F3 estão no trajeto do n. fibular, responsável pela inervação motora dos músculos extensores do tarso e flexores dos dígitos e região lombar, dada sua correlação com o n. cutâneo femoral lateral. Toda esta região é acometida pela enfermidade que se caracteriza por paresia, déficit proprioceptivo e atrofia muscular e foi claramente beneficiada pela AP, o que confirma as suas funções de tonificação de MPs descrita na MTO (DRAEHMPAEHL *et al.*, 1997; PELLEGRINO *et al.*, 2003).

Estudos com ressonância magnética funcional (RNMf) são muito úteis para avaliar a função específica de pontos de AP em tempo real. Por exemplo o ponto R3 estimula os lobos pré cortical dorsolateral, parietal e temporal, que se conectam com o lobo pré cortical ventrolateral, que por sua vez se conecta com o lobo occipital e tálamo. Chen *et al.* (2012), o que corrobora a função do rim na MTO, pois estas áreas são relacionadas com perda da memória recente e alteração cognitiva e visual, sinais também observados nos animais acometidos pela cinomose.

Ainda em se tratando de RNMf, uma metanálise com 40 estudos retrospectivos, correlacionou diversos pontos de AP com áreas encefálicas, o que confirma as funções neurofisiológicas dos pontos com a MTO. Por exemplo, o ponto F3 ativou a área visual encefálica e na MTO, tal órgão controla a visão. Observou-se que a AP falsa não estimulou as áreas encefálicas correlacionadas, como na AP verdadeira em 15 diferentes pontos, dentre eles R3, E36 e F3, também utilizados no presente estudo. Estes dados comprovam o efeito da AP não apenas diante do reflexo somato-visceral, mas também no SNC, interferindo nas funções cognitiva e emocional (HUANG *et al.*, 2012).

Com função similar à anteriormente descrita, o VB30, dada a sua localização, influencia o ramo sensitivo do nervo cutâneo femoral caudal e cluniocaudal dorsal, ramo sensitivo e motor do n. ciático e ramo motor do glúteo caudal, que inervam os músculos glúteo superficial, bíceps femoral e região adjacente e são responsáveis por manter o animal em posição quadrupedal. O BH apresenta ação direta nos nervos que emergem do plexo lombossacro (n. fibular, n. tibial, n. femoral e n. ciático) (DRAEHMPAEHL *et al.*, 1997; PELLEGRINO *et al.*, 2003).

Os nossos resultados de retorno a locomoção foram bem superiores ao reportado por Cole (1996) (80 versus 50% respectivamente), o que pode ser explicado pelo tempo de tratamento que foi superior (até seis meses versus um mês respectivamente), maior número de pontos utilizados e a associação de AP com EA, o que poderia promover um maior estímulo no SN.

A reversão das paresias e plegias demonstradas nesse trabalho com o uso de AP associada à EA pode ser explicada pela diferenciação das células do tronco e regeneração neuronal, por meio da indução da produção endógena de neurotrofina-3, como demonstrado em ratos submetidos à transecção iatrogênica de medula (LU *et al.*, 2004).

A melhora da retenção urinária em todos os casos tratados com AP, provavelmente se relaciona ao papel modulador do acuponto Be 23, localizado entre L2 e L3, onde emerge o n. hipogástrico. Este nervo impede o esvaziamento precoce da vesícula urinária, por inibir o n. pélvico e a consequente contração do m. detrusor. O n. hipogástrico também mantém o tônus dos esfíncteres uretrais internos e externos. Coincidentemente na MTO, o B23 é o ponto de assentimento do rim, órgão responsável pela manutenção do tônus dos esfíncteres caudais e parece ser importante para tratar a retenção urinária presente em animais com cinomose (DRAEHMPAEHL *et al.*, 1997; PELLEGRINO *et al.*, 2003).

Pacientes com esclerose múltipla, desmielinização semelhante à causada pela cinomose, apresentam alteração de micção (SOE *et al.*, 2009), como observado neste estudo, e necessitam de cateterização ou medicações convencionais com efeitos adversos intensos. Neste estudo em cães, assim

como em seres humanos (SOE *et al.*, 2009), a retenção ou incontinência urinária foi prontamente revertida pela AP/EA e não houveram recaídas, nem cistite, durante os períodos de avaliação.

A inclusão da técnica de EA em nosso protocolo de tratamento pode ter aprimorado os resultados em relação ao estudo de Cole (1996). Esta técnica é amplamente utilizada em diversas afecções neurológicas, por possivelmente promover neuroplasticidade, como em discopatias (JOAQUIM *et al.*, 2010) e minimizar a desmielinização, como demonstrado experimentalmente nos neurônios colinérgicos do hipocampo de ratos idosos acometidos com Alzheimer (TANG *et al.* 2005; ANGELI *et al.*, 2005). A EA parece ser relevante para proteção neuronal, uma vez que, como demonstrado por Zhu e Sun (2009), houve redução da ativação das células da glia no hipocampo, com melhora da memória e aprendizado em ratos acometidos por Alzheimer e submetidos à EA nos pontos VG20, R3 e E36. Por outro lado, em seres humanos, não se observou melhora com o uso isolado de AP (LEE *et al.*, 2009). Desta forma parece ser interessante a inclusão da técnica de EA em associação à AP em animais com degeneração neuronal produzida pela cinomose.

Os mecanismos neuroprotetores envolvidos no efeito da AP nas enfermidades neurológicas podem estar relacionados à inibição da ativação microglial e dos eventos inflamatórios, como demonstrado em ratos experimentalmente induzidos à doença de Parkinson, onde observou-se diminuição da tirosina hidroxilase e da imunorreatividade, o que gerou um efeito neuroprotetor no *striatum* e substância cinzenta, além de reduzir o aumento dos antígenos marcadores da ativação microglial nos macrófagos, o aumento da cicloxigenase-2 e a indução do óxido nítrico sintetase (KANG *et al.*, 2007).

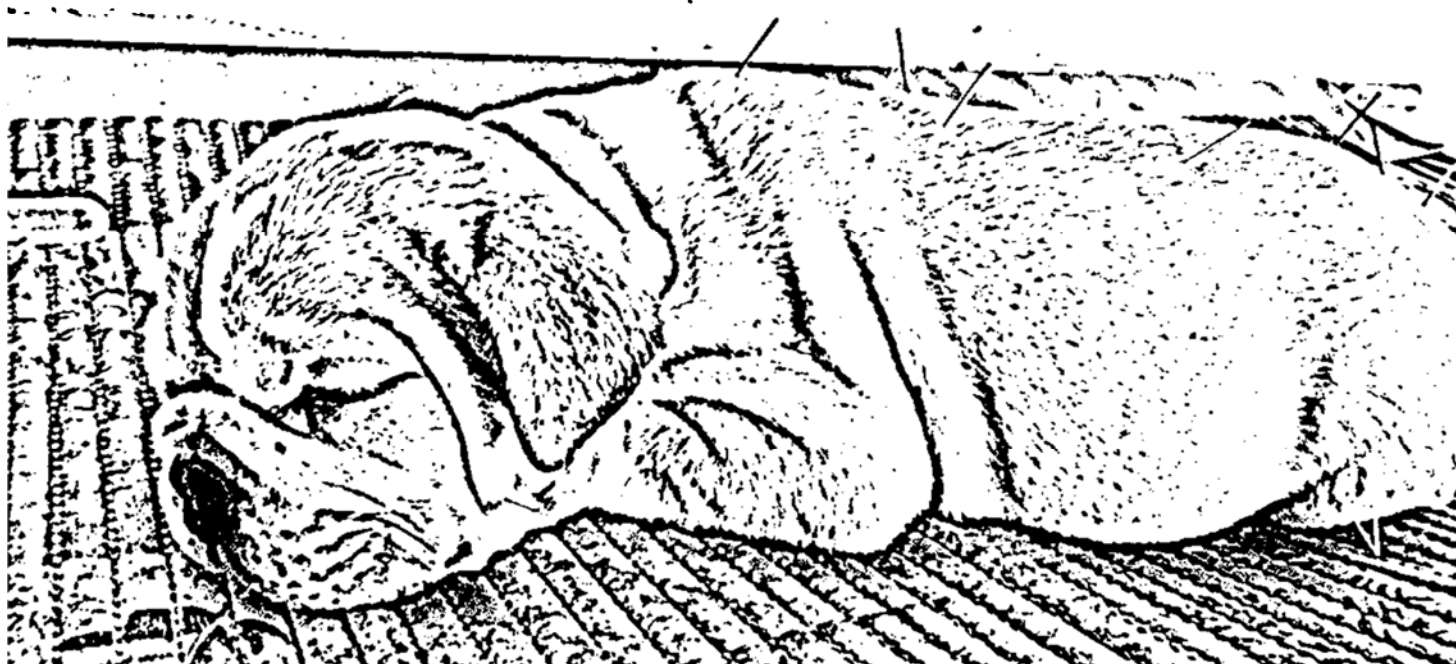
A cinomose é uma enfermidade que atinge o SNC de forma multifocal, e apesar de não acometer os nervos periféricos, podem-se observar sinais clínicos compatíveis com lesões nervosas periféricas, dada a lesões nos segmentos medulares emergentes dos nervos periféricos. A AP aparentemente reverte estes sinais, por aumentar a quantidade de células na região medular e

gânglio nervoso correspondente e recuperar a musculatura e a velocidade de condução motora, tal como descrito em ratos submetidos à lesão no nervo ciático e tratados com EA (SHAO *et al.*, 2000).

Do ponto de vista clínico, nosso estudo se reveste de importância no sentido de se evitar a eutanásia desnecessária da maioria de animais portadores de sinais neurológicos graves, já que de acordo com Fischer *et al.* (2012), de 84 cães acometidos por cinomose, 86% foram submetidos à eutanásia, porcentagem semelhante a que se observou retorno as funções neurológicas básicas observadas em nosso estudo.

Não há estudos com o tratamento das sequelas de cinomose por AP, dificultando a comparação dos resultados. Este trabalho demonstra resultados promissores, com alto índice de cura e inclusive uma opção para o tratamento da mioclonia, antes considerada sem cura. Adicionalmente apesar de poder ocorrer em casos excepcionais reversão parcial do quadro neurológico em animais não tratados (TIPOLD *et al.*, 1992; DE LAHUNTA e GLASS, 2009), a mioclonia é considerada incurável, paradigma que foi quebrado neste estudo.

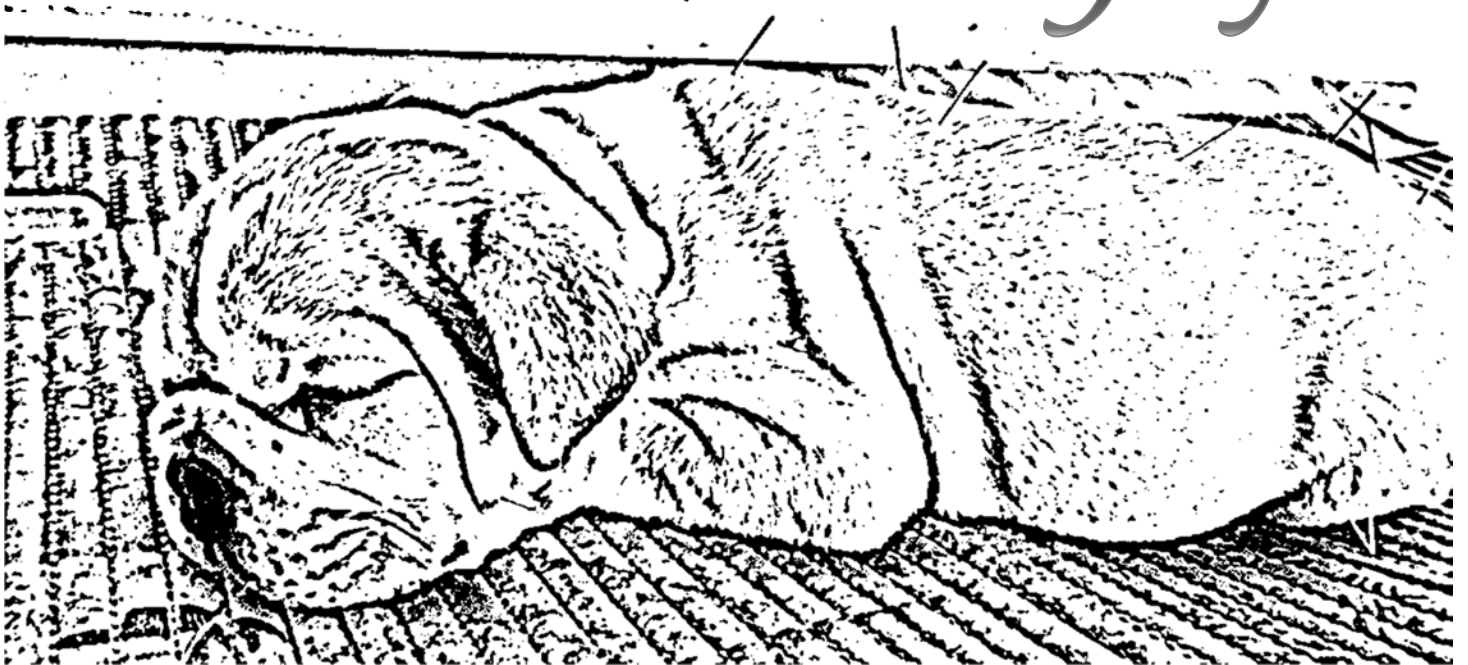
Conclusão



7. CONCLUSÃO

Conclui-se que a AP associada à EA é uma técnica eficaz e, até o momento a melhor opção terapêutica, se não a única, para tratar as sequelas neurológicas de cães portadores de cinomose, com resolução da para ou tetraparesia ou plegia na maioria dos animais, cura da retenção urinária e das alterações de nervos cranianos e do estado mental e melhora ou cura da mioclonia em todos os animais.

Bibliografia



8. BIBLIOGRAFIA

AMUDE, A. M.; ALFIERI, A. A.; ALFIERI, A. F. Antemortem Diagnosis of CDV Infection by RT-PCR in Distemper Dogs with Neurological Deficits without the Typical Clinical Presentation. *Veterinary Research Communications*, v. 30, n. 6, p. 679-687, 2006. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1007/s11259-006-3308-2> >.

AMUDE, A. M.; ALFIERI, A. F.; ALFIERI, A. A. Canine distemper virus and multiple sclerosis: a real or an anecdotal association? In: (Ed.). *Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology*. Badajoz, Spain: Formatex Research Center, v.1, 2010. p.737-745.

AMUDE, A. M. ; GARDINALI, N. R.; ABDULACK, F.; NEGRÃO, F. J.; ARIAS, M. V. B.; ALFIERI, A. A.; ALFIERI, A. F. Achados clínico-patológicos em cães com encefalomielite da cinomose apresentados sem sinais sistêmicos e mioclonia. *Acta Scientiae Veterinariae*. v.35, p.601-602. 2007.

ANGELI, A. L. ; JOAQUIM, J. G. F.; TAKAHIRA, R. K.; BULLA, C.; LUNA, S. P. L. Effect of acupuncture, electroacupuncture and Panax pseudoginseng on blood coagulation variables in horses. *Veterinary Record*, v. 157, n. 21, p. 662-664, 2005. Disponível em: < <http://veterinaryrecord.bmj.com/content/157/21/662.short> >.

BIRCHARD, S. J.; SHERDING, J. *Manual Saunders - Clínica de Pequenos Animais* 3.ed. São Paulo: Editora Roca, 2008. 2072p.

BREAZILE, J. E.; BLAUGH, B. S.; NAIL, N. Experimental study of canine distemper myoclonus. *Am J Vet Res*, v. 27, p. 1375-1379, 1966.

BRITO, H. F. V. ; SANTOS, M. R.; GILLIOLI, R.; LI, L. M.; PASSOS, L. A. C.; LANCELLOTTI, M.; FERREIRA, F.; CORAT, M. A. F. Tratamento de sequelas neurológicas em cães, causadas por infecção pelo vírus da cinomose, através do transplante alogênico de células mononucleares de medula óssea, 2013. Disponível em: http://www.eadveterinaria.com.br/material/270/2017/Paper_cinomose_MedVep.pdf

BÜRGE, T.; GRIOT, C.; VANDEVELDE, M.; PETERHANS, E. Antiviral antibodies stimulate production of reactive oxygen species in cultured canine brain cells infected with canine distemper virus. *Journal of virology*, v. 63, n. 6, p. 2790-2797, 1989.

CARNEIRO, N. M. *Fundamentos da acupuntura médica*. Florianópolis: Sistema, p. 393-496, 2001.

CHAN, W-W.; CHEN, K-Y.; LIU, H.; WU, L-S.; LIN, J-H. Acupuncture for general veterinary practice. *The Journal of veterinary medical science/the Japanese Society of Veterinary Science*, v. 63, n. 10, p. 1057, 2001.

CHEN, S.-J.; MENG, L.; YAN, H.; BAI, L. J.; WANG, F. HUANG, Y.; LI, J. P.; PENG, X. M.; SHI, X. M. Functional organization of complex brain networks modulated by acupuncture at different acupoints belonging to the same anatomic segment. *Chinese Medical Journal*, v. 125, n. 15, p. 2694-2700, 2012.

CHRISMAN, C; MARIANI, C.; PLATT, S.; CLEMMONS, R. *Neurologia para o clínico de pequenos animais*. São Paulo: Editora Roca, 2005. 333p.

COLE, E. F. *Avaliação dos efeitos terapêuticos obtidos com a alopatia ea AP no tratamento de distúrbios neurológicos decorrentes da cinomose canina*. 1996. 204f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE.

DE LAHUNTA, A.; GLASS, E. N. *Veterinary neuroanatomy and clinical neurology*. 3.ed. Missouri: Elsevier Health Sciences, 2009. 552p.

DEEM, S. L. ; SPELMAN, L. H.; YATES, R. A.; MONTALI, R. J. canine distemper in terrestrial carnivores: a review. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, v. 31, n. 4, p. 441-451, 2000. Disponível em: < [http://dx.doi.org/10.1638/1042-7260\(2000\)031\[0441:CDITCA\]2.0.CO](http://dx.doi.org/10.1638/1042-7260(2000)031[0441:CDITCA]2.0.CO) >.

DRAEHMPAEHL, D.; ZOHMANN, A.; HESS, T. M. *Acupuntura no cão e no gato: princípios básicos e prática científica*. São Paulo: Roca, 1997. 254p.

DUBOVI, E. J.; MACLACHLAN, N. J. *Fenner's Veterinary Virology*. Academic, 2011. ISBN 0123751586.

EK-KOMMONEN, C.; SIHCNEN, L.; PEKKANEN, K.; RIKULA, U.; NUOTIO, L. Outbreak of canine distemper in vaccinated dogs in Finland. *Veterinary Record*, v. 141, p. 380-382, 1997.

ELIA, G. ; BELLOLI, C.; CIRONE, F.; LUCENTE, M. S.; CARUSO, M.; MARTELLA, V.; DECARO, N.; BUONAVOGLIA, C.; ORMAS, P. In vitro efficacy of ribavirin against canine distemper virus. *Antiviral Research*, v. 77, n. 2, p. 108-113, 2008. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166354207004226> >.

ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. *Textbook of Veterinary Internal Medicine*. Missouri: Elsevier Health Sciences, 2009. 7.ed. 2208 ISBN 9781437702828. Disponível em: < <http://books.google.com.br/books?id=4Qzau1jagOYC> >.

FERNER, W. R. Moléstias do cérebro. In: ETTINGER S. J. e FELDMAN, E. C. *Tratado de Medicina Interna Veterinária*. 4.ed. São Paulo: Manole, 1997. cap. 82, p.819-889.

FERNÁNDEZ, V.; BERNARDINI, M. *Neurologia em cães e gatos*. São Paulo: Editora MedVet, 2010. 464p.

FISCHER, C. D. B.; PEREIRA, L. M.; XAVIER, C. B.; VAGNER, R. Avaliação clínica de cães com cinomose canina no estado do Rio Grande do Sul. *Archives of Veterinary Science*. v.17, p.221-223, 2012.

FUTAESAKU, Y.; ZHAI, N.; ONO, M.; WATANABE, M.; ZHAO, J.; ZHANG, C.; LI, L.; SHIM X. Brain activity of a rat reflects apparently the stimulation of acupuncture. A radioautography using 2-deoxyglucose. *Cellular and molecular biology (Noisy-le-Grand, France)*, v. 41, n. 1, p. 161, 1995.

GEBARA, C. M. S. Detecção do gene da nucleoproteína do vírus da cinomose canina por RT-PCR em urina de cães com sinais clínicos de cinomose. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária*, 2004. Disponível em: < <http://agris.fao.org/agris-search/search/display.do?f=2008%2FXS%2FXS0802.xml%3BXS2004040409> >.

GOIZ-MARQUEZ, G. ; CABALLERO, S.; SOLIS, H.; RODRIGUEZ, C.; SUMANO, H. Electroencephalographic evaluation of gold wire implants inserted in acupuncture points in dogs with epileptic seizures. *Research in Veterinary Science*, v. 86, n. 1, p. 152-161, 2009. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0034528808001215> >.

GOLDSTON, R. T.; HOSKINS, J. D. *Geriatrics e gerontologia do cão e do gato*. São Paulo: Roca, 1999. 448p.

GREENE, C. E.; APPEL, M. J. Canine Distemper In: GREENE, C. E. *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. 4th ed. Philadelphia: Elsevier, 2012. p.25-41.

GRÖNE, A.; ALLDINGER, S.; BAUMGÄRTNER, W. Interleukin-1 β , -6, -12 and tumor necrosis factor- α expression in brains of dogs with canine distemper virus infection. *Journal of Neuroimmunology*, v. 110, n. 1, p. 20-30, 2000.

HOSKINS, J. D. *Pediatria veterinária*, São Paulo: Manole, 1993. 605p.

HUANG, W. ; PACH, D.; NAPADOW, V.; PARK, K.; LONG, X.; NEUMANN, J.; MAEDA, Y.; NIERTHAUS, T.; LIANG, F.; WITT, C. M. Characterizing acupuncture stimuli using brain imaging with fMRI-a systematic review and meta-analysis of the literature. *PLoS One*, v. 7, n. 4, p. e32960, 2012.

INADA, S. Electromyographic analysis of canine distemper myoclonus. *Electromyogr Clin Neurophysiol*, v. 29, n. 6, p. 323-31, 1989.

INADA S FAU - NOMOTO, H.; NOMOTO H FAU - KAWASAKI, Y.; KAWASAKI, Y. Canine distemper myoclonus and sleep: observation of a case. *Electromyogr Clin Neuropsychiol*, v. 33, n. 3, p. 137-41, 1993.

INSTITUTE, S. SAS/STAT User's Guide, Version 9.2., SAS Cary, NC.2009.

JAIN, N. C. *Essentials of veterinary hematology*. 1.ed. Wiley-Blackwell. 1993. 417p.

JANSSENS, L. Acupuncture for the treatment of thoracolumbar and cervical disc disease in the dog. *Problems in veterinary medicine*, v. 4, n. 1, p. 107, 1992.

JOAQUIM, J. G. F.; LUNA, S. P. L.; BRONDANI, J. T.; TORELLI, S. R., RAHAL, S. C.; FREITAS, F. P. Comparison of decompressive surgery, electroacupuncture, and decompressive surgery followed by electroacupuncture for the treatment of dogs with intervertebral disk disease with long-standing severe neurologic deficits. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 236, n. 11, p. 1225-1229, 2010. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.2460/javma.236.11.1225> >

JOAQUIM, J. G. F.; LUNA, S. P. L.; TORELLI, S.; ANGELI, A. L.; GAMA, E. D. Study of 43 dogs with neurological disease: a western and eastern view of the neurological pattern of diseases. *Proceedings*, 2003. p.289-297.

JONES, T.; HUNT, R. *Veterinary pathology*. Philadelphia, Pennsylvania Lea & Febiger. Inc., p. 904-905, 1983.

KANG, J. M. ; PARK, H. J.; CHOI, Y. G.; CHOE, I. H.; PARK, J. H.; KIM, Y. S.; LIM, S. Acupuncture inhibits microglial activation and inflammatory events in the MPTP-induced mouse model. *Brain Research*, v. 1131, n. 0, p. 211-219, 2007. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006899306031933> >.

KLIDE, A. M.; FARNBACH, G. C.; GALLAGHER, S. M. Acupuncture therapy for the treatment of intractable, idiopathic epilepsy in five dogs. *Acupuncture & electro-therapeutics research*, v. 12, n. 1, p. 71-74, 1987. Disponível em: < <http://europepmc.org/abstract/MED/2883839> >.

LATHA, D. ; GEETHA, M.; RAMADASS, P.; NARAYANAN, R. B. Development of recombinant nucleocapsid protein based IgM-ELISA for the early detection of distemper infection in dogs. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, v. 119, n. 3-4, p. 278-286, 2007a. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165242707002061> >.

LATHA, D. ; GEETHA, M.; RAMADASS, P.; NARAYANAN, R. B. Evaluation of ELISA based on the conserved and functional middle region of nucleocapsid protein to detect distemper infection in dogs. *Veterinary Microbiology*, v. 120, n. 3-4, p. 251-260, 2007b. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378113506004573> >.

LEE, M. S.; SHIN, B. C.; ERNST, E. Acupuncture for Alzheimer's disease: a systematic review. *International Journal of Clinical Practice*, v. 63, n. 6, p. 874-879, 2009. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1111/j.1742-1241.2009.02043.x> >.

LIN, Y.-C. Perioperative usage of acupuncture. *Pediatric Anesthesia*, v. 16, n. 3, p. 231-235, 2006. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1111/j.1460-9592.2005.01829.x> >.

LORENZ, M. D.; KORNEGAY, J. N. *Neurologia Veterinária*, São Paulo: Manole, 2006. 480p.

LU, P. ; YANG, H.; JONES, L. L.; FILBIN, M. T.; TUSZYNSKI, M. H. Combinatorial therapy with neurotrophins and cAMP promotes axonal regeneration beyond sites of spinal cord injury. *The Journal of neuroscience*, v. 24, n. 28, p. 6402-6409, 2004.

LUNA, S. P. L. Emprego da AP em anestesia. In: FANTONI, DT; CORTOPASSI, SRG *Anestesia em cães e gatos*. São Paulo: Roca, p. 337-343, 2002.

LUNDEBERG, T. Peripheral effects of sensory nerve stimulation (acupuncture) in inflammation and ischemia. *Scandinavian journal of rehabilitation medicine. Supplement*, v. 29, p. 61, 1993.

MANGIA, S. H.; MEGID, J.; MARTINHO, A. P. V.; MOTTA, R. G.; APPOLINÁRIO, C. M.; SALCEDO, E. S.; TAKAHIRA, R. K.; PAES, A. C. Avaliação do perfil liquórico de caninos (*Canis lupus familiaris*) naturalmente infectados com o vírus da cinomose antes e após tratamento com ribavirina (Ribaviron C®). *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, v. 19, n. 2, 2012.

MANGIA, S. H.; PAES, A. C. Neuropatologia da cinomose. *Veterinária e Zootecnia*, v. 15, n. 3, p. 416-427, 2008.

MEGID, J.; NOZAKI, C. N.; FILHO, O. A. Positividade a imunofluorescência direta (IFD) em diferentes tecidos de cães clinicamente suspeitos de cinomose. *Rev. Bras. Ciên. Vet*, v. 7, p. 114, 2000.

MOORE, G. E.; HOGENESCH, H. Adverse vaccinal events in dogs and cats. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, v. 40, n. 3, p. 393-407, 2010.

MURPHY, F. A. E. A. *Veterinary virology*. California: Academic Press, 1999. 629p.

PELLEGRINO, F.; SURANITI, A.; GARIBALDI, L. *Síndromes neurológicas em cães e gatos*. São Caetano do Sul: Interbook, 2003. 376.

POZZA, M. Detecção e análise molecular do vírus da cinomose canina. 2005. xp. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2005.

PREVINAIRE, J.; SOLER, J. M.; PERRIGOT, M.; BOILEAU, G.; DELAHAYE, H.; SCHUMACKER, P.; VANVELCENAHNER, J.; VANHEEE, J. L. Short-term effect of pudendal nerve electrical stimulation on detrusor hyperreflexia in spinal cord injury patients: importance of current strength. *Spinal Cord*, v. 34, n. 2, p. 95-99, 1996.

RUDD, P. A.; CATTANEO, R.; VON MESSLING, V. Canine Distemper Virus Uses both the Anterograde and the Hematogenous Pathway for Neuroinvasion.

Journal of Virology, v. 80, n. 19, p. 9361-9370, 2006. Disponível em: < <http://jvi.asm.org/content/80/19/9361.abstract> >.

SAITO, T. B.; ALFIERI, A. A.; WOSIACKIM S. R.; NEGRÃO, F. J.; MORAIS, H. S. A.; ALFIERI, A. F. Detection of canine distemper virus by reverse transcriptase-polymerase chain reaction in the urine of dogs with clinical signs of distemper encephalitis. *Research in Veterinary Science*, v. 80, n. 1, p. 116-119, 2006. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0034528805000469> >.

SCHOEN, A. M. *Acupuntura Veterinária - Da Arte Antiga à Medicina Moderna*. São Paulo: Roca, 2006. 624p.

SHAO, S.-J.; SHAN, B.-Z.; YAN, Z.-G. Experimental study on electro-acupuncture therapy promoting the regeneration of the rat's injured sciatic nerve [J]. *Modern Rehabilitation*, v. 8, p. 043, 2000.

SHIN, Y. J.; CHO, K. O.; CHO, H. S.; KANG, S. K.; KIM, H. J.; PARK, H. S.; PARK, N. Y. Comparison of one-step RT-PCR and a nested PCR for the detection of canine distemper virus in clinical samples. *Australian Veterinary Journal*, v. 82, n. 1-2, p. 83-86, 2004. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1111/j.1751-0813.2004.tb14651.x> >.

SILVA, I. N. G. Perfil hematológico e avaliação eletroforética das proteínas séricas de cães com cinomose. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, 2005. Disponível em: < <http://agris.fao.org/agris-search/search/display.do?f=2008%2FXS%2FXS0802.xml%3BXS2005040119> >.

SILVA, M. C.; FIGHERA, R. A.; JULIANA, S.; GRAÇA, D. L.; KOMMERS, G. D.; IRIGOYEN, L. F.; BARROS, C. S. L. Aspectos clinicopatológicos de 620 casos neurológicos de cinomose em cães: Clinicopathological features in 620 neurological cases of canine distemper. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 27, n. 5, p. 215-220, 2007. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-736X2007000500006&nrm=iso >.

SMITH, F. W. Neurophysiologic basis of acupuncture. *Probl Vet Med*, v. 4, p. 34-52, 1992.

SOE, S. T. E.; KOPSKY, D. J.; JONGEN, P. J. H.; DE VET, H. C. W.; OEI-TAN, C. L. Multiple sclerosis patients with bladder dysfunction have decreased

symptoms after electro-acupuncture. *Multiple Sclerosis*, v. 15, n. 11, p. 1376-1377, 2009.

STEISS, J. Canine Rehabilitation In: BRAUND, K.G. *Clinical Neurology in Small Animals. Localization, Diagnosis and Treatment*. 2002. 32p

SUMMERS, B. A.; APPEL, M. J. G. Aspects of canine distemper virus and measles virus encephalomyelitis. *Neuropathology and Applied Neurobiology*, v. 20, n. 6, p. 525-534, 1994. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2990.1994.tb01006.x> >.

SUMMERS, B. A.; CUMMINGS, J. F.; DELAHUNTA, A. *Veterinary neuropathology*. Wiley-Blackwell. 1995. 210p.

SWANGO, L.; ETTINGER, S.; FELDMAN, E. Moléstias virais caninas. In: ETTINGER, S. e FELDMAN, E. *Tratado de Medicina Interna Veterinária: doenças do cão e do gato*. 4.ed. São Paulo: Manole, p. 573-588, 1997.

TANG, Y. F.-YIN, H.Y.; YIN H. F.-ZENG, F.; ZENG, F.F.-YU, S-G; YU, S. G. Pondering in-situ induction of endogenous neural stem cells in hippocampus of rats with Alzheimer disease by acupuncture. *Zhong Xi Yi Jie He Xue Bao*, v. 3, n. 5, p.351-4. 2005

TIPOLD, A.; VANDEVELDE, M.; JAGGY, A. Neurological manifestations of canine distemper virus infection. *Journal of Small Animal Practice*, v. 33, n. 10, p. 466-470, 1992. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1111/j.1748-5827.1992.tb01024.x> >.

TUDURY, E. A. ; ARIAS, M. V. B.; BRACARENSE, A. P. F. L.; MEGID, J; DIAS JUNIOR, R. F. Observações clínicas e laboratoriais em cães com cinomose nervosa. *Ciência Rural*, v. 27, p. 229-235, 1997. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84781997000200010&nrm=iso >.

UEDA, M. Y.; SCOGNAMILLO-SZABO, M. V. R.; LUNA, S. P. L. estudo retrospectivo de 1.137 animais submetidos à acupuntura na FMVZ-UNESP-Botucatu-SP. *Ars Veterinaria*, v. 26, n. 1, p. 006-010, 2010.

VANDEVELDE, M.; CACHIN, M. The neurological form of canine distemper. In: *Current veterinary therapy XI. Small animal practice*. Philadelphia: Saunders , 1992. p.1003-1007.

VANDEVELDE, M. , KRISTENSEN, B.; BRAUND, K. G.; GREENE, C. E.; SWANGO, L. J.; HOERLEIN, B. F. Chronic canine distemper virus encephalitis in mature dogs. *Veterinary Pathology Online*, v. 17, n. 1, p. 17-29, 1980.

VANDEVELDE, M.; ZURBRIGGEN, A. The neurobiology of canine distemper virus infection. *Veterinary Microbiology*, v. 44, n. 2-4, p. 271-280, 1995. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0378113595000212> >.

VANDEVELDE, M.; ZUBRIGGEN, A. Demyelination in canine distemper virus infection: a review. *Acta Neuropathologica*, v. 109, n. 1, p. 56-68, 2005. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1007/s00401-004-0958-4> >.

WALSH, D. Estimulação Nervosa elétrica transcutânea. *Acupuntura e técnicas relacionadas à fisioterapia*. São Paulo: Roca, p. 119-127, 2001.

WANG, F.; JIA, S. Effect of acupuncture on regional cerebral blood flow and cerebral functional activity evaluated with single-photon emission computed tomography. *Zhongguo Zhong xi yi jie he za zhi Zhongguo Zhongxiyi jiehe zazhi= Chinese journal of integrated traditional and Western medicine*, v. 16, n. 6, p. 340, 1996.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) *Acupuncture: review and analysis of reports on controlled clinical trials* ISBN 92 4 154543 7. Switzerland, 2003. 87p.

WILCOXON, F. Individual comparisons by ranking methods. *Biometrics bulletin*, v. 1, n. 6, p. 80-83, 1945.

WONG, R. H. L.; LEE, T. W.; SIHOE, A. D. L.; WAN, I. Y. P.; NG, C. S. H.; CHAN, S. K. C.; WONG, W. W. L.; LIANG, Y. M.; YIM, A. P. C. Analgesic Effect of Electroacupuncture in Postthoracotomy Pain: A Prospective Randomized Trial. *The Annals of Thoracic Surgery*, v. 81, n. 6, p. 2031-2036, 6// 2006. ISSN 0003-4975. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003497505023696> >.

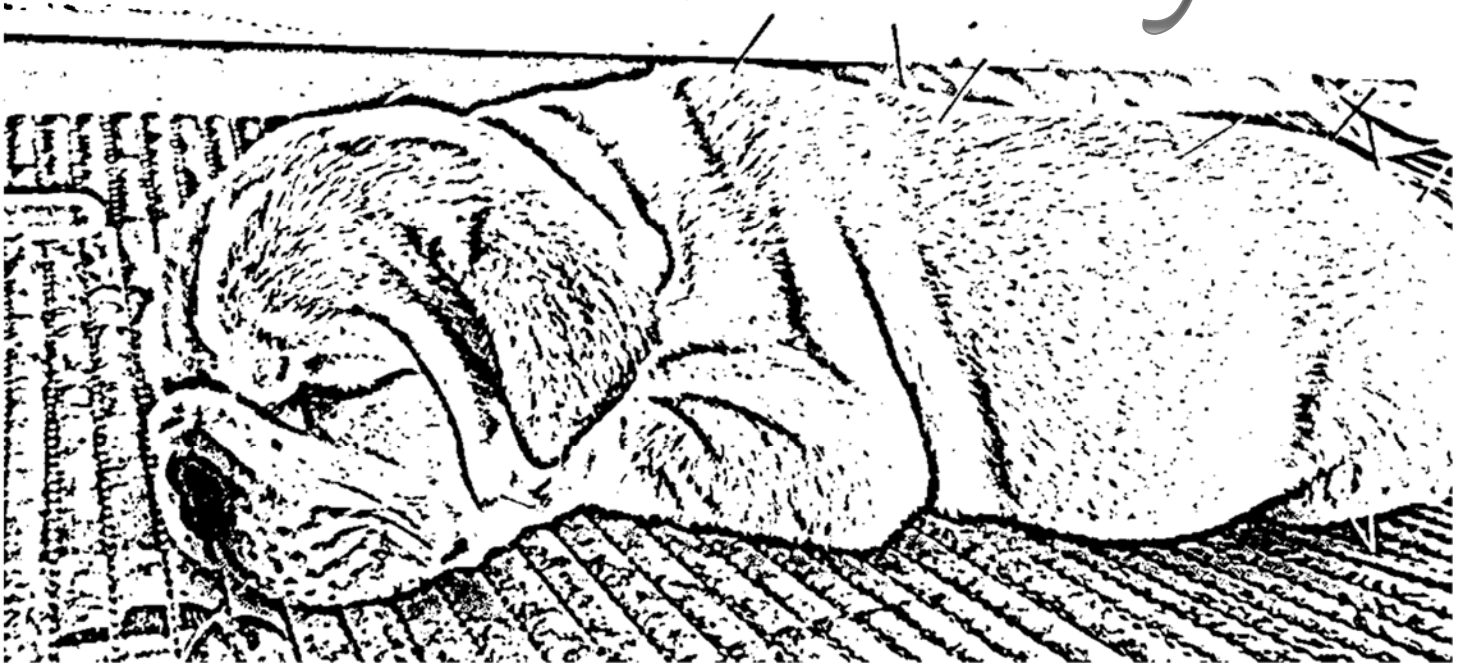
XIE, H.; PREAST, V. *Acupuntura Veterinária*. São Paulo: MedVet, 2011. 363p.

YANG, J.-W.; JEONG, S.-M.; SEO, K.-M.; NAM, T.-C. Effects of corticosteroid and electroacupuncture on experimental spinal cord injury in dogs. *Journal of veterinary science*, v. 4, n. 1, p. 97-102, 2003.

ZHU SX FAU - SUN, G.-J.; SUN, G. J. Effects of electroacupuncture on learning and memory ability and glial cells of the hippocampus in the rat of Alzheimer disease. *Zhongguo Zhen Jiu*. v.29, n.2, p.133-6. 2009.

ZURBRIGGEN, A.; GRABER, H. U.; VANDELDELDE, M. Selective spread and reduced virus release leads to canine distemper virus persistence in the nervous system. *Veterinary Microbiology*, v. 44, n. 2-4, p. 281-288, 1995.
Disponível em: <
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0378113595000223> >.

Trabalho Científico



1 **9. TRABALHO CIENTÍFICO**

2 **Trabalho a ser enviado para a revista Journal American Veterinary**
3 **Medicine Association (JAVMA)**

4 **Effects of acupuncture in the treatment of dogs with neurological sequels of**
5 **distemper virus**

6 Bianca P. C. R. Santos, DVM, MsC; Jean G. F. Joaquim, DVM, PhD; Stelio P. L. Luna,
7 DVM, PhD; José C. F. Pantoja, DVM, PhD

8 From the Departments of Veterinary Surgery and Anesthesiology (Santos and Luna)
9 and Veterinary Hygiene and Public Health (Pantoja), School of Veterinary Medicine
10 and Animal Science, UNESP (Univ Estadual Paulista), Botucatu, SP 18618970, Brazil;
11 and the Bioethicus Institute (Joaquim), R: Leopoldina Pinheiro Cintra, 1659, CEP:
12 18605-542, Botucatu, São Paulo, Brazil.

13 This manuscript represents a portion of a thesis submitted by Dr. Santos to the School
14 of Veterinary Medicine and Animal Science, UNESP, Department of Veterinary
15 Surgery and Anesthesiology, as partial fulfillment of the requirements for a Master of
16 Veterinary Medicine degree.

17 Supported in part by CNPq, process number 135647/2011-8.

18 The authors thank Dr. Alexandre Mendes Amude and Dr. Antônio Carlos Paes for their
19 contributions to the manuscript.

20 Address correspondence to Dr. Santos at biancapcrs@gmail.com.

21

22 **Abstract**

23 **Objective**—To investigate the effects of acupuncture in the treatment of neurological
24 sequels in dogs with clinical and laboratory diagnosis of canine distemper virus.

25 **Design**—Prospective clinical study.

26 **Animals**—Twenty-four dogs (eight males, 16 females) from 1 to 12 years of age,
27 without comorbidities, with canine distemper virus diagnosed by reverse transcription
28 polymerase chain reaction, and with neurological sequels for at least 15 days.

29 **Procedures**—Complete neurological exam was performed and neurological signs were
30 scored from 1 (no change) to 5 (severe changes) for locomotion and myoclonus
31 categories and from 1 (no change) to 3 (severe changes) for cranial nerves deficits,
32 encephalic changes, and urinary retention. All animals underwent acupuncture and
33 electroacupuncture for up to 6 months. Success was defined as a score of 1 in all
34 categories at the end of the treatment, except for myoclonus, where scores of 3, 2, or 1
35 were considered success.

36 **Results**—Independent locomotion was observed in 87.5% of the dogs (79.2%
37 functional, 8.3% ataxic locomotion) after treatment. Cranial nerve deficits, encephalic
38 changes, and urinary retention reversed in 100% of cases and myoclonus improved or
39 reversed in 37.5% of the animals.

40 **Conclusions and Clinical Relevance**—Acupuncture with electroacupuncture was an
41 effective technique and, at this point, is the only therapeutic option to treat the
42 neurological sequels of canine distemper virus.

43

44 **Abbreviations**

45 **AP** - acupuncture

46 **BL** –Bladder meridian

47 **CDV** – Canine distemper virus

48 **CNS** – Central nervous system

49 **EA** - electroacupuncture

50 **fMRI** –Functional magnetic resonance imaging

51 **GB** –Gall bladder meridian

52 **GV** –Governing vessel meridian

53 **KI** –Kidney meridian

54 **LI** –Large intestine meridian

55 **LV** –Liver meridian

56 **SP** –Spleen meridian

57 **ST** –Stomach meridian

58 **TH** –Triple heater meridian

59

60 Canine distemper virus (CDV) is a systemic infectious disease in dogs. The
61 incidence of CDV has fallen since the 1960s, yet areas persist where the disease remains
62 endemic, and it may be considered to be reemerging in the US and some European
63 countries, such as Germany and Denmark.^{1,2}

64 Approximately 50% of CDV cases occur with systemic signs, but without
65 neurological signs.^{3,4} However, over 30% of infected dogs show severe neurological
66 involvement.^{1,5} The viral infection in the central nervous system (CNS) may occur
67 before, simultaneously, or after the systemic stage, according to the virulence of the
68 strain and the age and immunocompetence of the animal.^{3,6}

69 The diverse clinical signs of CDV occur as a result of constant and multifocal viral
70 replication in different neuroanatomic compartments.^{3,7} As a consequence, in the acute
71 phase, also called distemper meningoencephalitis, multifocal lesions develop in both the
72 white matter, with demyelination due to viral replication in glial cells, and in the gray
73 matter, with neural infection and necrosis.^{1-3,7,8}

74 The chronic phase of CDV, also called multifocal distemper encephalomyelitis in
75 mature dogs,^{9,10} occurs when the immune system is slower than viral replication, which
76 enables the virus to persist outside of the inflammatory demyelinating lesions.^{2,7,11} In
77 these cases there is proliferation of astrocytes and glial cells in the white matter and
78 production of antimyelinic antibodies in response to the presence of the virus in myelin,
79 which causes destruction of oligodendrocytes and myelin sheath.^{1-3,7,8} The antibodies
80 stimulate the production of free radicals and degrade cortical phospholipids, which
81 destroys and prevents the production of myelin.¹²

82 Neurological signs of CDV include cranial nerve deficits, myoclonus, and sensory
83 and behavioral changes, which may present alone or in combination.^{1,3,4,13,14} When these
84 signs interfere with walking or feeding, euthanasia is usually recommended.^{3,15,16}

85 Currently the most effective *ante mortem* method for diagnosing CDV is reverse
86 transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR), which is considered fast, sensitive,
87 and specific.^{4,15,17} There is no treatment in conventional medicine for the neurological
88 sequels of CDV, but a small percentage of animals may spontaneously improve over
89 time.¹⁶

90 Acupuncture (AP), a complementary medical specialty recognized by the World
91 Health Organization, is indicated to treat various diseases in people and animals.^{18,19} By
92 stimulating the peripheral nervous system, AP can generate changes in sensory, motor,
93 autonomic, visceral, hormonal, immune, and brain functions, and its neurophysiologic
94 action has been well described.^{16,20-22}

95 Electroacupuncture (EA) is an important technique of AP to treat neuromuscular
96 diseases,^{23,24} specifically to reduce muscle atrophy and relieve contractures, spasms, and
97 pain.²⁵ According to computed tomography²⁶ and functional magnetic resonance
98 imaging (fMRI) studies,^{27,28} EA activates brain function and apparently maximizes
99 neuroplasticity and reduces inflammation, with a success rate of 79% in cases of severe
100 disc disease.^{24,29-33}

101 Although previous studies have supported the use of AP in diseases of the CNS,
102 there is no published study on the effects of AP in dogs with CDV sequels.

103 Based on the hypothesis that AP qualitatively and quantitatively improves or even
104 reverses the neurological sequels of CDV in dogs, the aim of this study was to evaluate
105 the effects of AP in treating neurological sequels in dogs with a clinical and laboratory
106 diagnosis of CDV.

107

108 **MATERIALS AND METHODS**

109 This study was approved by the Institutional Animal Research Ethics Committee
110 (protocol number: 1282012-CEUA). The informed consent of owners was obtained for
111 inclusion of their dogs in the study.

112

113 **Animals**—Between 2011 and 2013, 679 dogs with clinically suspected CDV were
114 referred to the Clinic of Infectious Diseases at our institution. Ninety-one of these were
115 initially selected for the study. Twenty-three animals died before diagnostic testing; the
116 remaining 68 underwent complete blood cell counts (CBC), urinalysis, and RT-PCR
117 testing. Of these 68 dogs, RT-PCR did not confirm CDV in 26, and 18 of the dogs that
118 tested positive by RT-PCR died before the start of treatment. The surviving 24 dogs that
119 tested positive on RT-PCR, 16 females and eight males, were included. The animals'
120 ages ranged from 1 to 12 years (mean: 3.9 ± 2.6 years), they were of various breeds (13
121 small, eight medium, and three large breeds), without comorbidities, and with
122 neurological signs consistent with changes caused by CDV.

123 The animals underwent conventional medical treatment with antibiotic therapy,
124 appetite stimulants,⁴ and fluid therapy when necessary. After 1 to 8 months of
125 conventional treatment and biweekly CBC counts, the animals that did not have CBC
126 changes, had normal appetite and defecation, were not taking any medication, and
127 whose neurological sequels were stable, i.e. that were in the chronic phase of multifocal
128 distemper encephalomyelitis in mature dogs, underwent weekly AP for 6 months.

129

130 **Evaluation**—Before the first AP treatment, a complete history was taken for each
131 animal, along with full clinical and neurological evaluations. Dogs were given scores
132 for neurological function ranging from 1 (no change) to 5 (severe changes) for

⁴Cobavital®, Solvay Farma, São Paulo, Brazil or Profol®, Medley, Campinas, SP, Brazil

133 locomotion and myoclonus and from 1 (no change) to 3 (severe changes) for cranial
134 nerve deficits, CNS function, and urinary retention. Neurological exam was performed
135 and scored weekly before each AP session to monitor clinical progress, until completion
136 of 6 months of treatment or until the animal scored 1 on all parameters, whichever came
137 first. For statistical analysis of the neurological exam, a zero (0) was assigned for
138 absence and a one (1) for presence of each evaluated signal. The treatment was
139 considered effective when the animal had a score of 1 at the end of treatment, except in
140 the case of myoclonus, where a reduction from grade 4 or 5 to grade 1, 2, or 3 was
141 considered a successful response.

142 The videos of 15 animals were evaluated by three veterinary neurologists, who
143 were not informed about whether the videos were taken before or after treatment. The
144 neurologists assigned scores for locomotion and myoclonus as described above.

145

146 **Treatment**—The AP points selected were based on their effects on the nervous
147 and locomotor systems,^{34,35} according to Xie & Preast.³⁵ Acupoints used in all cases
148 were: Bladder (BL) 10, Tian-zhu; BL-18, Gan-shu; BL-23, Shen-shu; BL-40, Wei-
149 zhong; Kidney (KD-3), Tai-xi; Gallbladder (GB) 20, Feng-chi; GB-30, Huan-tiao; GB-
150 34, Yang ling-quan; GB-39, Xuan-zhong; Liver (LV) 3, Tai-chong; Triple heater (TH)
151 20, Jiao-sun; Stomach (ST) 36, Hou-san-li; Large Intestine (LI) 10, Quian-san-li;
152 Governing vessel (GV) 14, Da-zhui; GV-16, Feng-fu; lumbosacral Bai-hui; and Si-
153 shen-cong. At the last AP point, four needles surrounding GV-20 at a distance of 1 cm³⁵
154 from the center were introduced.

155 Acupuncture was performed with stainless steel needles (Dong Bang ®), 0.25 × 30
156 mm or 0.15 × 30 mm, depending on the size of the animal. Electroacupuncture was
157 performed only at the Si-shen-cong points, using dense-disperse mixed frequency of 2

158 and 15 Hz, for 20 minutes.²⁹ The intensity of the electric current was adjusted according
159 to the individual sensitivity of the animals, starting at zero and gradually increasing, but
160 staying below a level that would cause observable muscle fasciculation.

161 Acupuncture sessions were conducted by two veterinarians with specialized
162 training and with at least 7 years of AP experience.

163 **Statistical analysis**—McNemar's and Wilcoxon's tests were used to compare the
164 proportions and medians, respectively, of neurological changes before and after
165 treatment. Fisher's exact test was applied to compare the percentage of animals showing
166 cranial nerve changes, localization of the lesions, and presence or absence of
167 neurological signs before and after treatment. Kaplan-Meier curves were used to
168 evaluate the percentage of reversal of each clinical sign during treatment. Differences
169 were considered significant at values of $p < 0.05$.^{36,37}

170

171 **RESULTS**

172 Treatment was initiated between 1 and 8 months (median, 2.5 ± 1.6 months) after
173 the onset of clinical signs. The majority (79.2%, 19 out of 24) of the animals were able
174 to start treatment after 2 or 3 months, three animals after 1 month, and two animals after
175 6 to 8 months.

176 All dogs had involvement of the medulla with decreased limb function. In 41.7%
177 only the hind limbs were affected and in 58.3% all four limbs were affected. Paralysis,
178 paraparesis, tetraparesis, and tetraparalysis were observed in 20.8%, 20.8%, 20.8%, and
179 37.5% of the dogs, respectively. Other medullary effects were myoclonus in 50% and
180 urinary retention in 20.8% of cases.

181 By the end of treatment dogs showed significant increases in the presence of
182 conscious and tactile proprioception, wheelbarrowing, hopping, standing position, and
183 superficial pain, compared with the beginning of treatment (Table 1).

184 In animals with cranial nerve involvement, 44.4% had concomitant deficits in pairs
185 III, IV, V, and VI, and 33.3% had deficits only in the V pair ($p = 0.0052$).

186 Involvement of the encephalum, cerebellum, central vestibular system, and medulla
187 were found in 87.5%, 75%, 75%, and 100% of dogs, respectively. When evaluating the
188 interaction between the affected sites, 28.6% ($p = 0.5464$) of animals with brain
189 involvement had concomitant cerebellar or vestibular involvement and 100% had
190 medullary involvement. Vestibular alteration was observed in 33.3% of the dogs with
191 cerebellar lesions.

192 Cranial nerve deficits, CNS changes, and urinary changes were reversed entirely in
193 all animals by 10, 9, and 21 weeks, respectively. There was complete reversal of
194 myoclonus in 25% of affected animals by 12 weeks. There was clinical improvement of
195 myoclonus in 100% of cases by 14 weeks. Locomotion was regained within 16 weeks in
196 75% of animals (Table 2).

197 With regard to para- or tetraparesis and para -or tetraparalysis (Figure 1), 79.2%
198 (19 of 24) of the animals regained functional ambulation ($p = 0.0253$). Cranial nerve
199 deficits were found in 75% (18 of 24) of the dogs before AP (Figure 2). There were no
200 cranial nerve deficits in any animal after AP ($p = 0.0143$).

201 Before AP none of the animals showed seizures, but 75% (18 of 24) had altered
202 consciousness, with nocturnal vocalization and little or no interaction with the
203 environment or owner. After AP, all animals had normal level of consciousness ($p =$
204 0.0143).

205 Myoclonus was present in 50% (12 of 24) of the dogs before AP. After treatment
206 nine animals (37.5%; $p = 0.5127$) still showed some degree of myoclonus (Figure 4).
207 Myoclonus improved from severe or moderate to mild or present only in situations of
208 stress in 100% of the animals ($p = 0.0003$) (Figure 5).

209 Regarding the urinary system, 20.8% of the dogs had abnormal voiding before AP
210 and none had this problem after treatment ($p < 0.0001$).

211 The maximum possible sum of neurological scores was 18 and the minimum was 5.
212 The median and mean \pm SD sum of scores before AP were 12 and 12.1 ± 1.98 ; after AP
213 the scores were and 6 and 6 ± 0.88 ($p < 0.0001$) (Figure 7).

214 When video scores were compared among the three evaluators versus the gold
215 standard evaluator (principal investigator) there were no significant differences using
216 either parametric or non-parametric statistical tests.

217

218 **DISCUSSION**

219 Acupuncture combined with EA reversed the neurological sequels of CDV within a
220 6-month period. Ambulation returned in 87.5% of cases, with 79.2% regaining
221 functional ambulation and 8.3% achieving ambulation with ataxia.

222 Epidemiological studies in dogs report that CDV results in the highest mortality
223 and indication for euthanasia among the infectious diseases, accounting for 35% of
224 deaths due to infection (602 out of 1695).^{42,38,39} Sequels are considered irreversible and
225 disabling in most cases, and no treatment exists in conventional medicine. The
226 normalization of neurological signs is very important, and under these circumstances
227 AP is a promising therapy to reverse or ameliorate neurological deficits, enabling
228 animals to perform the natural functions of walking, feeding, urinating, and defecating,
229 and thereby reducing the need for euthanasia.

230 Because several hematologic changes, including anemia, leukocytosis, leukopenia,
231 neutrophilia, and the characteristic lymphopenia,^{19,40,41} are observed in dogs with acute,
232 active CDV meningoencephalitis, the absence of hematologic changes was used as an
233 inclusion criterion, to ensure that animals were ready to undergo AP. Based on that
234 criterion, AP started an average of 2.5 months after the onset of neurological clinical
235 signs. This precaution was taken because in the authors' experience AP may worsen the
236 clinical profile and increase mortality when CDV is not yet stable.

237 The multifocal neurological signs observed here, including locomotor deficits,
238 ataxia, vestibular and cerebellar signs, cranial nerve deficits, and myoclonus, are
239 consistent with those described in the literature.^{1,41,42} Seizures were not observed in this
240 study, but have been reported previously in about 25% of CDV cases.⁴²

241 Myoclonus is one of the most limiting signs of CDV and is often considered
242 irreversible.¹ The reported incidence of myoclonus among CDV cases varies between
243 33% and 75%,^{1,41,43-44} a variability probably resulting from variations in viral strains.⁴⁵
244 Pharmacological treatment of myoclonus, such as the use of clonazepam, is
245 unsuccessful.¹ In this study, 100% of the dogs improved and 25% were cured. This
246 result changes the paradigm that treatment of myoclonus is impossible, and
247 demonstrates that AP is an important tool to treat myoclonus.

248 The reversal of 100% of the cognitive CNS changes in this study may be related to
249 the beneficial effects of the KI-3, ST-36, and LI-3 acupoints, among others. These
250 points influence the cognitive functions, the loss of which causes incapacitation of
251 animals affected by CDV. Our results are supported by studies using fMRI to assess the
252 specific function of AP points in real time. The acupoint KI-3 stimulates the
253 dorsolateral precortical, parietal, and temporal lobes, which connect with the
254 ventrolateral precortical lobe, which in turn connects to the occipital lobe and

255 thalamus.²⁷ This effect is consistent with the function of the kidney in Eastern medicine,
256 because these areas are related to memory loss and cognitive and visual changes, signs
257 also observed in animals affected by distemper. A meta-analysis of 40 retrospective
258 studies correlated several AP points with brain areas, and confirms the neurophysiologic
259 functions of the points used in this study. These data demonstrate the effect of AP not
260 only by somatovisceral reflex, but also in the CNS, where AP influences cognitive and
261 emotional functions.²⁸

262 The reversal of paresis and paralysis seen in this study may be supported by studies
263 demonstrating the differentiation of stem cells and neuronal regeneration induced by
264 production of neurotrophin-3, as observed in mice treated with AP and EA after
265 iatrogenic transection of the spinal cord.⁴⁶

266 Urinary retention and/or incontinence have previously been reported in only 1.4%
267 of dogs with CDV.⁴² In our study the incidence of urinary signs was much higher and
268 the treatment was fully effective. This success was probably related to the modulating
269 role of the BL-23 acupoint located between vertebrae L2 and L3, where the hypogastric
270 nerve emerges. This nerve prevents premature emptying of the urinary bladder by
271 inhibiting the pelvic nerve and consequent contraction of the detrusor muscle. The
272 hypogastric nerve also maintains the internal and external urethral sphincter tone. In
273 Eastern medicine, BL-23 is the association point of the kidney, the organ responsible for
274 maintaining the caudal sphincter tone, and this point seems to be important in treating
275 urinary retention in animals with CDV.⁴⁷⁻⁴⁹ Patients with multiple sclerosis, who have
276 similar demyelination to that caused by CDV, also experience bladder function
277 impairment,⁵⁰ and require catheterization or conventional medications with severe
278 adverse effects. In our study, as in studies in people,⁵⁰ urinary retention and

279 incontinence were promptly reversed by AP/EA, with no recurrence or cystitis during 6
280 months.

281 The inclusion of EA in our treatment protocol may have improved the results
282 compared to a previous unpublished study, where 50% of the animals return
283 ambulation⁵¹. This technique is widely used in various neurological diseases and
284 possibly promotes neuroplasticity, for example in disc diseases,²⁹ and minimizes
285 demyelination, as demonstrated experimentally in the cholinergic neurons of the
286 hippocampus of aged rats affected with Alzheimer disease.⁵² Electroacupuncture seems
287 to impart neuronal protection, because it reduces the activation of glial cells in the
288 hippocampus and improves memory and learning in mice suffering from Alzheimer
289 disease using the same GV-20, KI-3, and ST-36 acupoints employed here.⁵³
290 Electroacupuncture also decreases tyrosine hydroxylase and immunoreactivity by
291 inhibiting microglial activation and inflammation in rats with experimentally induced
292 Parkinson disease. This effect is based on neuroprotection in the striatum and gray
293 matter, inhibition of the marker antigens of macrophage microglial activation, and of
294 cyclooxygenase-2 and nitric oxide sintetase.⁵⁴ Based on these effects, it appears relevant
295 to include the technique of EA in association with AP in animals with neuronal
296 degeneration resulting from CDV.

297 Distemper is a disease that affects several areas of the CNS, and although the
298 peripheral nerves are not affected, clinical signs consistent with peripheral nerve
299 injuries may be observed, given the injuries in cell bodies. Acupuncture apparently
300 reverses these signs by increasing the number of cells in the spinal region and
301 corresponding ganglion and by restoring the muscular tonus and motor nerve
302 conduction velocity, as described in rats with sciatic nerve injury treated with EA.⁵⁵

303 From a clinical perspective, the results of this study are important to avoid the
304 unnecessary euthanasia of most animals with severe neurological signs after CDV.
305 According to Fischer *et al.*,⁵⁶ among 84 dogs suffering from distemper, 86% were
306 euthanized. In the present study, a similar percentage of animals recovered basic
307 neurological functions.

308 There are no published studies on AP treatment of the sequels of CDV, making it
309 difficult to compare results. This study demonstrated promising results, with a high
310 recovery rate. Although in exceptional cases partial reversal of neurological signs in
311 untreated animals may occur,^{1,45} myoclonus is considered incurable in the literature,
312 which is in conflict with the improvement obtained in cases of myoclonus treated in this
313 study.

314 A limitation of the study was the lack of comparison with a negative control group,
315 i.e. untreated animals, and a positive control group that received conventional treatment.
316 In the first case it may be argued that the animals served as their own controls, because
317 they were already in stable condition and it is well recognized that animals with CDV
318 sequels rarely experience spontaneous recovery.^{3,15,16,38,39,56} Regarding the positive
319 control group, there is no information in the literature about conventional treatment for
320 CDV sequels, precluding the inclusion of such a group.

321 We conclude that AP with EA is an effective technique, and so far the best, and
322 possibly the only, therapeutic option to treat the neurological sequels of CDV.
323 Acupuncture with EA resolved quadriplegia or paraplegia in most animals (87.5%),
324 cured urinary retention, cranial nerve deficits, and SNC function changes, and improved
325 myoclonus in all animals.

326

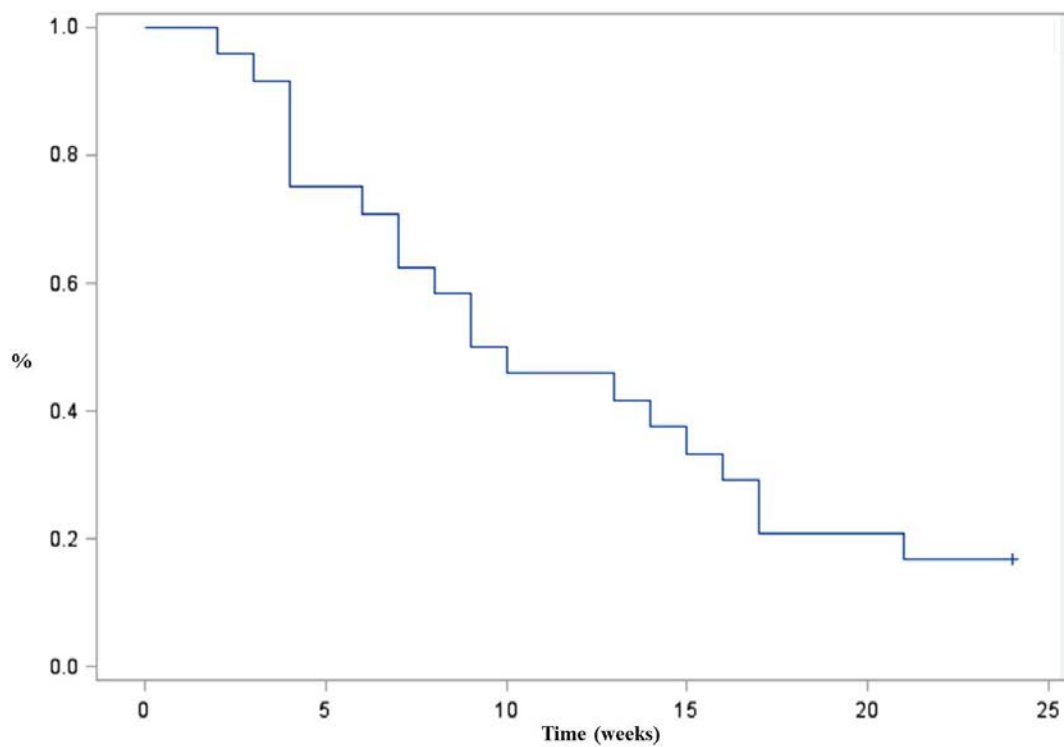
327

328 **Figure Legends**

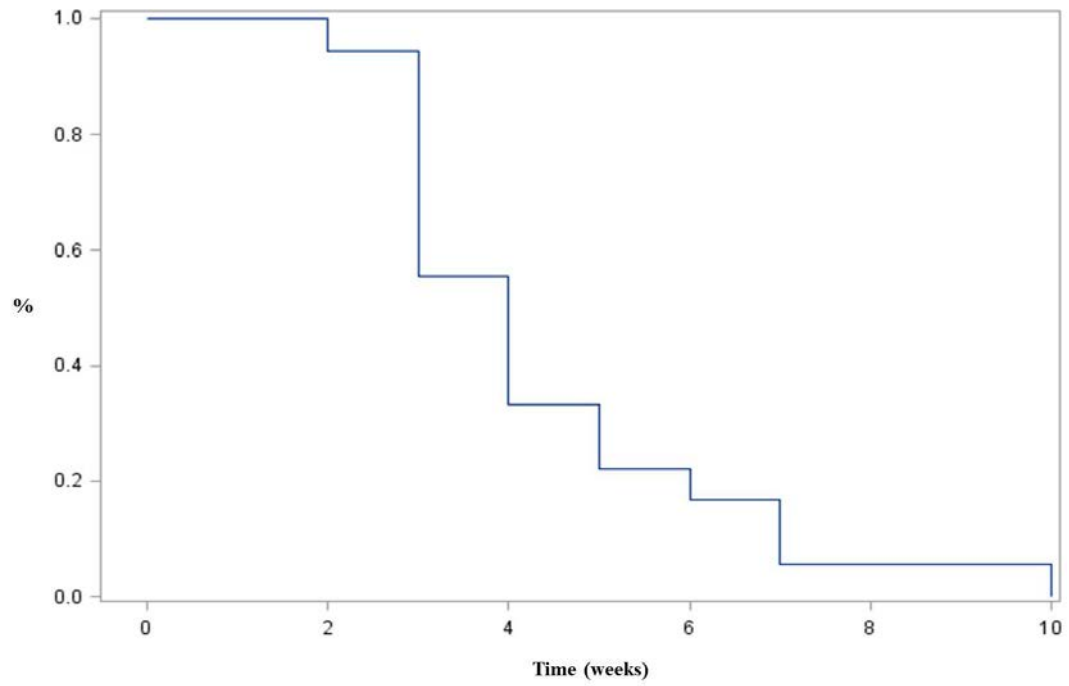
329

330 Figures 1–6—Survival curve of the degree of para- or tetraparesis and para- or
331 tetraparalysis (Figure 1); cranial nerve deficits (Figure 2); CNS function (Figure 3);
332 myoclonus, score 1 (Figure 4); myoclonus, scores 1, 2, or 3 (Figure 5); and urinary
333 function changes (Figure 6) in dogs with canine distemper virus treated with
334 acupuncture for 24 weeks. Each rung represents the percentage of animals that returned
335 to score 1 over time, except Figure 5, as described above.

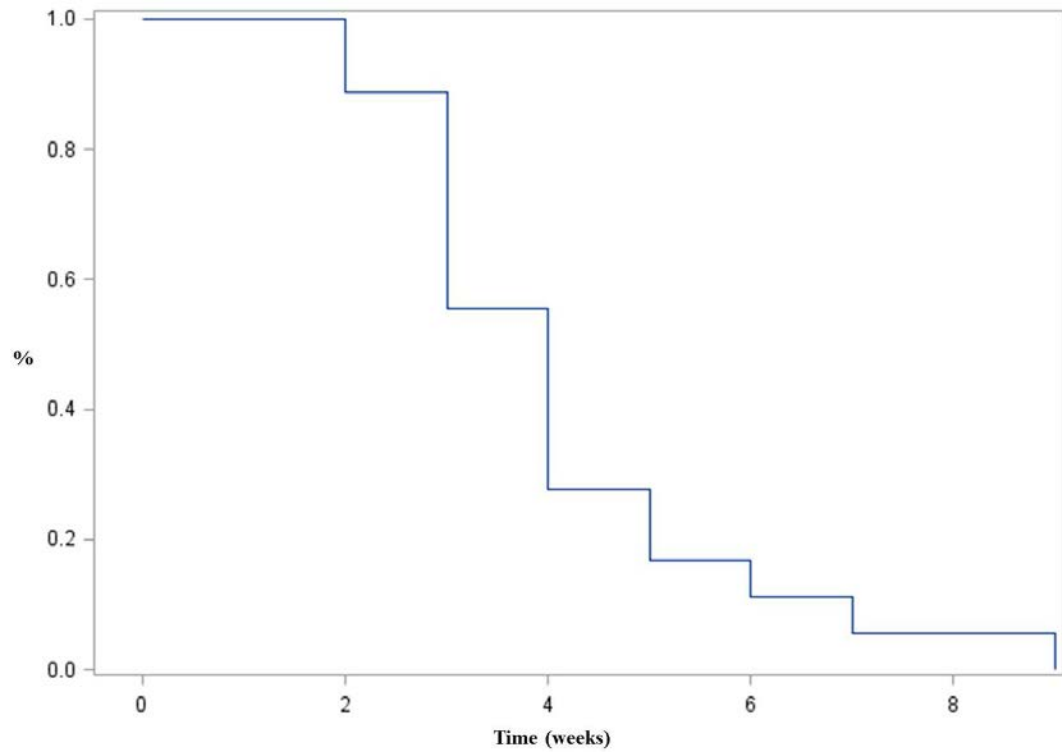
336 Figure 1.



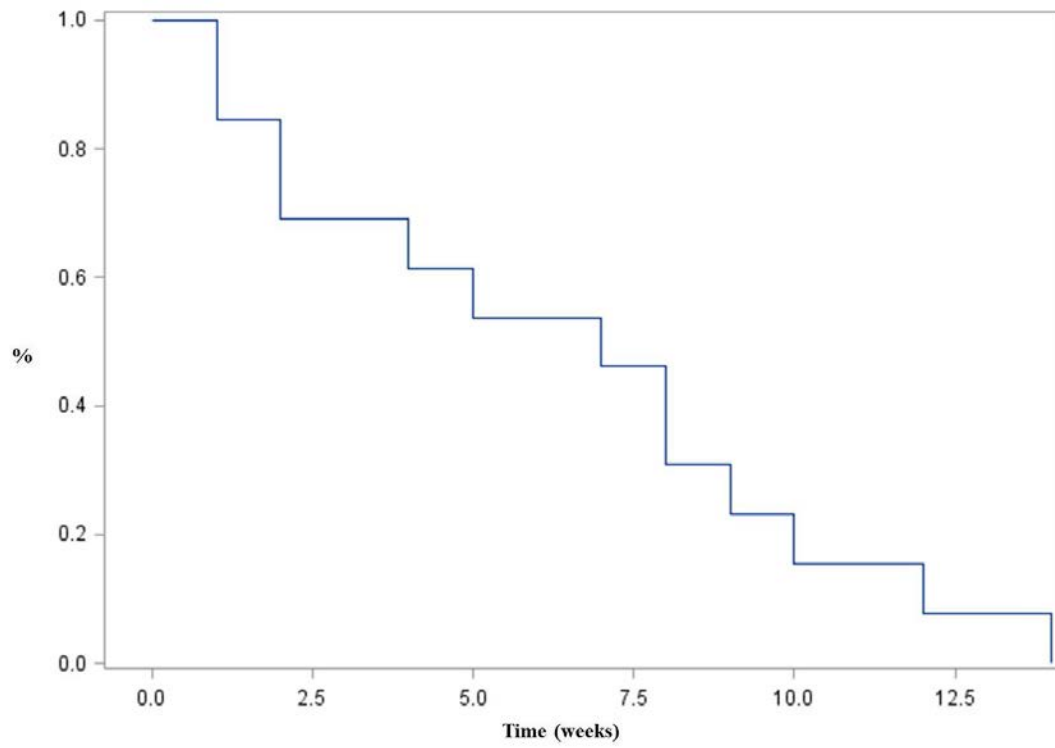
337 Figure 2.



338 Figure 3.

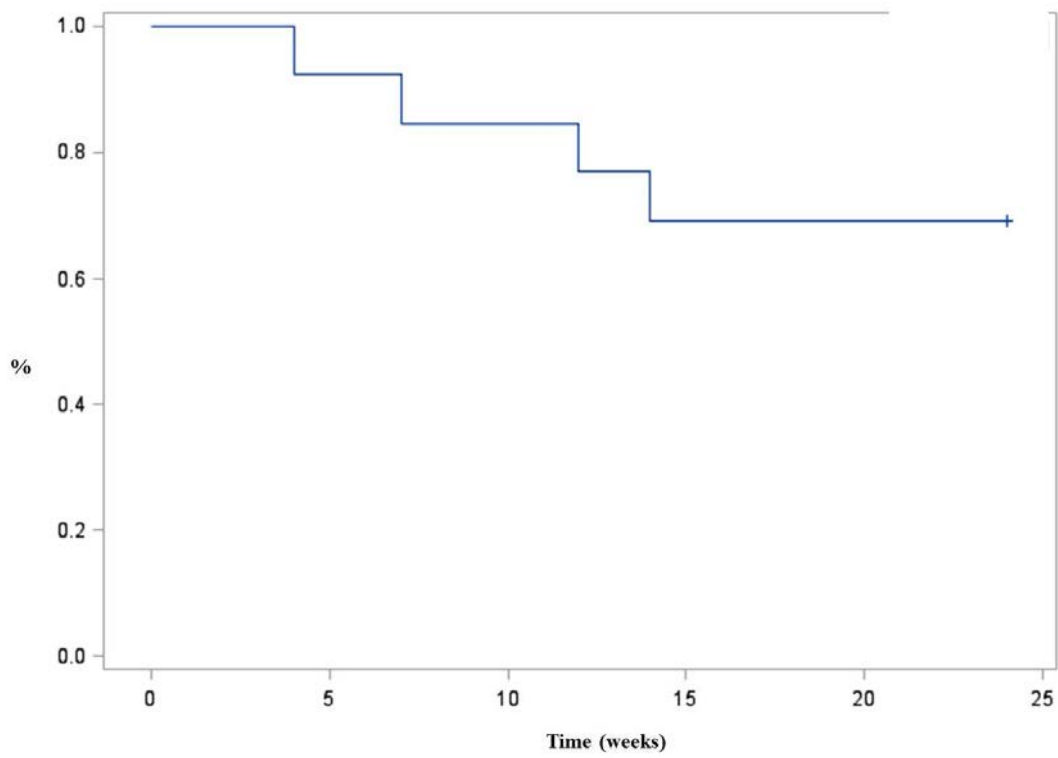


339 Figure 4.



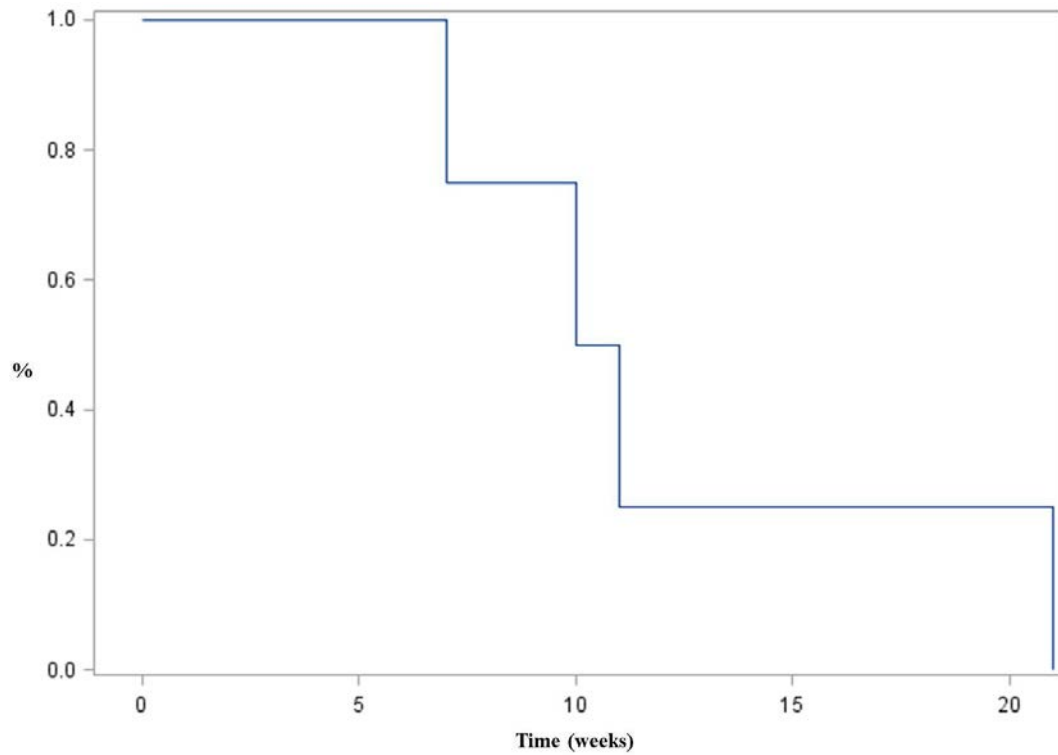
340

341 Figure 5.



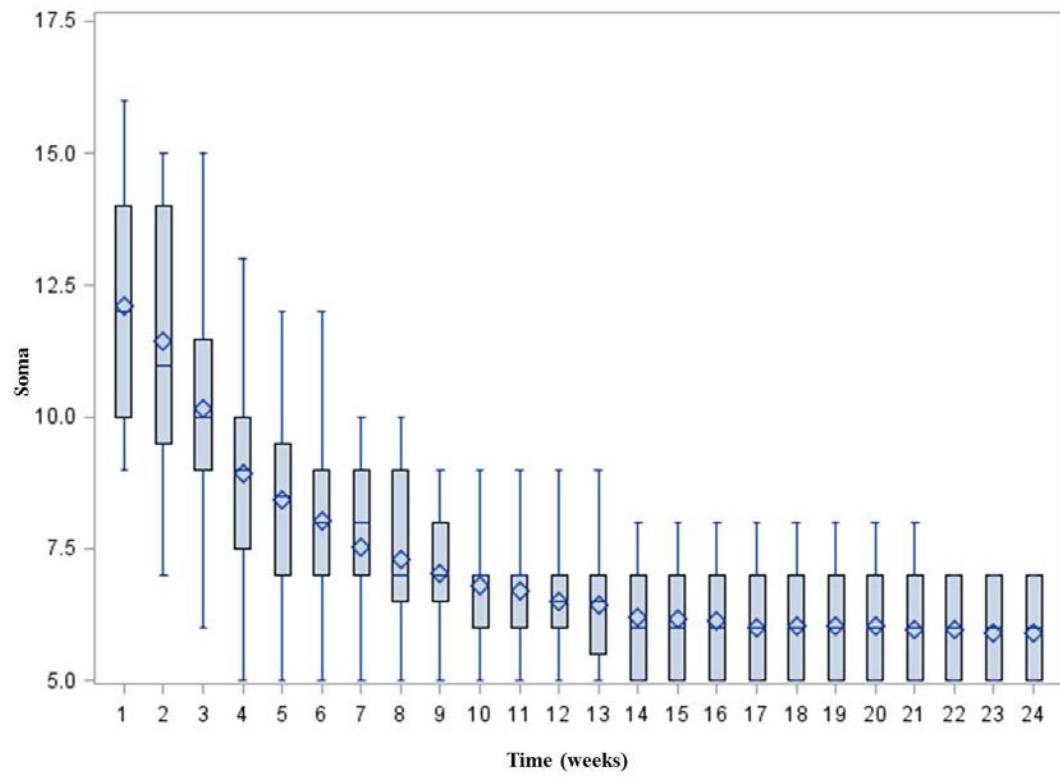
342 Figure 6.

343



344

345 Figure 7—Distribution of the sum, median, mean, standard deviation, maximum, and
346 minimum scores in dogs with canine distemper virus treated with acupuncture for 24
347 weeks.



348

349 **TABLES**

350

351 Table 1—Evaluation of the percentage of positive responses in the neurological
 352 examination of conscious and tactile proprioception, standing position, hopping, flexion
 353 reflexes, and superficial and deep pain in dogs suffering from canine distemper virus,
 354 before and after treatment with acupuncture (n = 24).

Neurological exam	Before AP		6 months after AP		Value of P
	Animals	%	Animals	%	
	Conscious proprioception	5	20.8	23	
Tactile proprioception	5	20.8	23	95.8	P<0.0001
Posture reaction	5	20.8	23	95.8	P<0.0001
Hopping	5	20.8	23	95.8	P<0.0001
Flexion reflexes	23	95.8	24	100	P=1
Superficial pain	16	66.7	24	100	P=0.0039
Deep pain	4	16.7	24	100	P=0.2340

355

356

357 Table 2—Number of weeks to successful treatment in 25%, 50%, 75%, and 100% of
 358 animals for locomotion, cranial nerve deficits, CNS function, myoclonus (return to
 359 score of 1), myoclonus (return to score of 1, 2 or 3), and urinary function in dogs with
 360 canine distemper virus treated with acupuncture (n = 24).

Percentage of animals with success in treatment	25%	50%	75%	100%
	Weeks			
Locomotion	4	9	16	-
Cranial nerves deficits	3	4	5	10
CNS function	2	3	4	9
Myoclonus (return to score 1)	12	-	-	-
Myoclonus (return to score 1, 2 or 3)	2	5	9	14
Urinary function	7	10	11	21

361

362 **REFERENCES**

- 363 1. Tipold A, Vandavelde M, Jaggy A. Neurological manifestations of
364 canine distemper virus infection. *Journal of Small Animal Practice* 1992;33:466-470.
- 365 2. Vandavelde M, Zurbriggen A. Demyelination in canine distemper virus
366 infection: a review. *Acta Neuropathologica* 2005;109:56-68.
- 367 3. Greene CE. *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. 4th ed. St. Louis:
368 Elsevier 2012;1376p.
- 369 4. Amude AM, Alfieri AA, Alfieri AF. Antemortem Diagnosis of CDV
370 Infection by RT-PCR in Distemper Dogs with Neurological Deficits without the Typical
371 Clinical Presentation. *Veterinary Research Communications* 2006;30:679-687.
- 372 5. Rudd PA, Cattaneo R, von Messling V. Canine Distemper Virus Uses
373 both the Anterograde and the Hematogenous Pathway for Neuroinvasion. *Journal of*
374 *Virology* 2006;80:9361-9370.
- 375 6. Amude AM, Alfieri AF, Alfieri AA. Clinical courses and neurological
376 signs of canine distemper virus infection in dogs In: Mendéz-Vilas A, *Current Research,*
377 *Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial*
378 *Biotechnology*. 2nd, ed. Badajoz, Spain: Formatex Research Center, 2010;723-728.
- 379 7. Vandavelde M, Zurbriggen A. The neurobiology of canine distemper
380 virus infection. *Veterinary Microbiology* 1995;44:271-280.
- 381 8. Summers BA, Appel MJG. Aspects of canine distemper virus and
382 measles virus encephalomyelitis. *Neuropathology and Applied Neurobiology*
383 1994;20:525-534.
- 384 9. Vandavelde M, Kristensen B, Braund K, et al. Chronic canine distemper
385 virus encephalitis in mature dogs. *Veterinary Pathology Online* 1980;17:17-29.

- 386 10. Amude AM, Alfieri AA, Arias MVB, et al. Clinical syndromes of
387 nervous distemper in dogs initially presented without conventional evidences of CDV
388 infection. *Semina: Ciências Agrárias* 2012;33:2347-2358.
- 389 11. Zurbriggen A, Graber HU, Vandeveldel M. Selective spread and reduced
390 virus release leads to canine distemper virus persistence in the nervous system.
391 *Veterinary Microbiology* 1995;44:281-288.
- 392 12. Bürge T, Griot C, Vandeveldel M, et al. Antiviral antibodies stimulate
393 production of reactive oxygen species in cultured canine brain cells infected with canine
394 distemper virus. *Journal of virology* 1989;63:2790-2797.
- 395 13. Breazile JE, Blaugh BS, Nail N. Experimental study of canine distemper
396 myoclonus. *Am J Vet Res* 1966;27:1375-1379.
- 397 14. Silva ING, Guedes MIF, Rocha MFG, et al. Hematological profile and
398 electrophoretic evaluation of serum proteins of dogs with canine distemper. *Arquivo*
399 *Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia* 2005; 57:136-139.
- 400 15. Gebara CMS, Wosiacki, SR, Negrão FJ, et al. **Detection of canine**
401 **distemper virus nucleoprotein gene by RT-PCR in urine of dogs with distemper clinical**
402 **signs.** *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia* 2004; 56:480-487.
- 403 16. Lorenz MD, Coates J R, Kent M. *Handbook of veterinary neurology.* 5th
404 ed. St. Louis: Elsevier Inc., 2011; 560p.
- 405 17. Saito TB, Alfieri AA, Wosiacki SR, et al. Detection of canine distemper
406 virus by reverse transcriptase-polymerase chain reaction in the urine of dogs with
407 clinical signs of distemper encephalitis. *Research in Veterinary Science* 2006;80:116-
408 119.
- 409 18. World Health Organization Staff (WHO). *Acupuncture: review and*
410 *analysis of reports on controlled clinical trials.* World Health Organization, 2002.

- 411 19. Ettinger SJ, Feldman EC. Textbook of Veterinary Internal Medicine. 7th
412 ed. St. Louis:Elsevier Health Sciences, 2009, 2208p.
- 413 20. Smith FW. Neurophysiologic basis of acupuncture. *Probl Vet Med*
414 1992;4:34-52.
- 415 21. Lundeberg T. Peripheral effects of sensory nerve stimulation
416 (acupuncture) in inflammation and ischemia. *Scandinavian journal of rehabilitation*
417 *medicine Supplement* 1993;29:61.
- 418 22. Futaesaku Y, Zhai N, Ono M, et al. Brain activity of a rat reflects
419 apparently the stimulation of acupuncture. A radioautography using 2-deoxyglucose.
420 *Cellular and molecular biology (Noisy-le-Grand, France)* 1995;41:161.
- 421 23. Wong RHL, Lee TW, Sihoe ADL, et al. Analgesic Effect of
422 Electroacupuncture in Postthoracotomy Pain: A Prospective Randomized Trial. *The*
423 *Annals of Thoracic Surgery* 2006;81:2031-2036.
- 424 24. Yang JW, Jeong SM, Seo KM, et al. Effects of corticosteroid and
425 electroacupuncture on experimental spinal cord injury in dogs. *Journal of veterinary*
426 *science* 2003;4:97-102.
- 427 25. Steiss J. Canine Rehabilitation . In: Braund KG. *Clinical Neurology in*
428 *Small Animals Localization, Diagnosis and Treatment*. New York: International
429 *Veterinary Information Service, Ithaca*. 2002; 145-157.
- 430 26. Wang F, Jia S. Effect of acupuncture on regional cerebral blood flow and
431 cerebral functional activity evaluated with single-photon emission computed
432 tomography. *Zhongguo Zhong xi yi jie he za zhi Zhongguo Zhongxiyi jiehe zazhi=*
433 *Chinese journal of integrated traditional and Western medicine/Zhongguo Zhong xi yi*
434 *jie he xue hui, Zhongguo Zhong yi yan jiu yuan zhu ban* 1996;16:340.

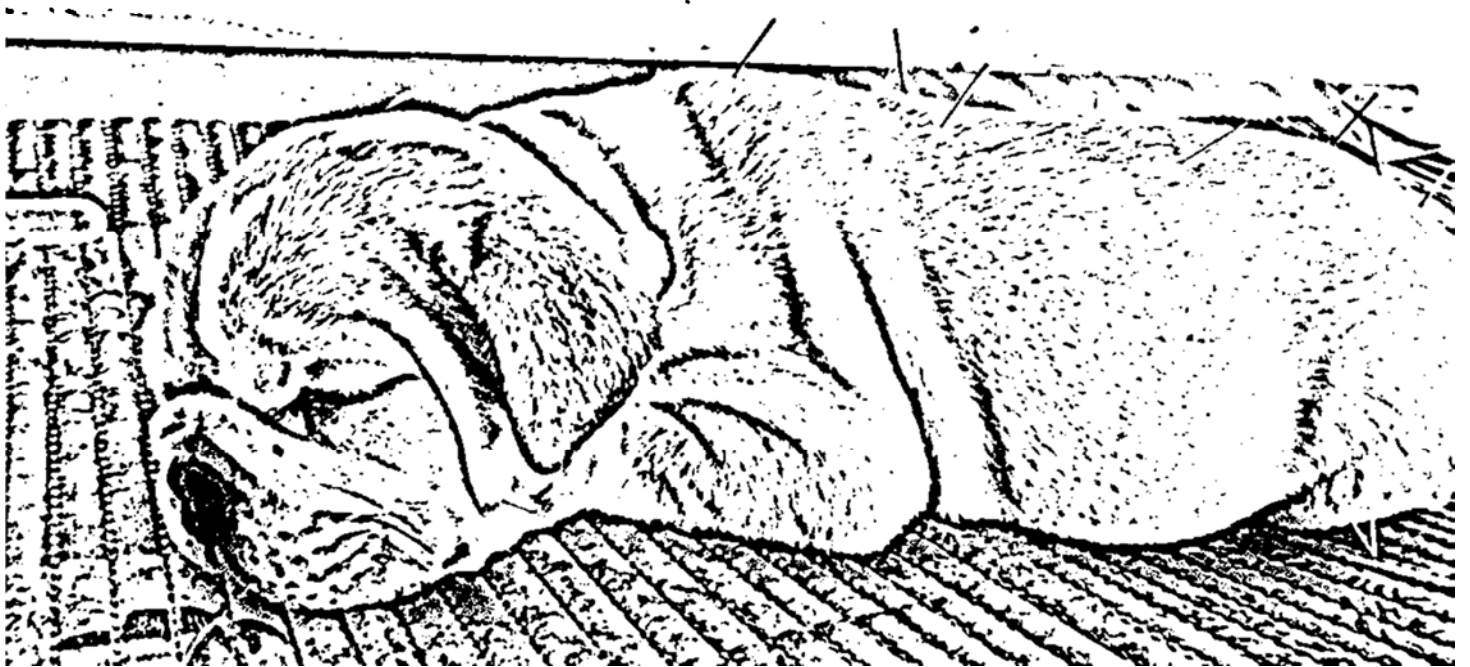
- 435 27. Chen SJ, Meng L, Yan H, et al. Functional organization of complex brain
436 networks modulated by acupuncture at different acupoints belonging to the same
437 anatomic segment. *Chinese Medical Journal* 2012;125:2694-2700.
- 438 28. Huang W, Pach D, Napadow V, et al. Characterizing acupuncture stimuli
439 using brain imaging with fMRI-a systematic review and meta-analysis of the literature.
440 *PLoS One* 2012;7:e32960.
- 441 29. Joaquim JGF, Luna SPL, Brondani JT, et al. Comparison of
442 decompressive surgery, electroacupuncture, and decompressive surgery followed by
443 electroacupuncture for the treatment of dogs with intervertebral disk disease with long-
444 standing severe neurologic deficits. *Journal of the American Veterinary Medical*
445 *Association* 2010;236:1225-1229.
- 446 30. Janssens L. Acupuncture for the treatment of thoracolumbar and cervical
447 disc disease in the dog. *Problems in veterinary medicine* 1992;4:107.
- 448 31. Hayashi A, Shiguihara C, Torro C. Acupuncture and Chinese herbs like
449 complementary medicine in locomotor changes in dogs. Three cases related. *Brazilian*
450 *Journal of Veterinary Research and Animal Science* 2003;40:200-201.
- 451 32. Hayashi AM, Matera JM, Da Silva TS, et al. Electro-acupuncture and
452 Chinese herbs for treatment of cervical intervertebral disk disease in a dog. *Journal of*
453 *veterinary science* 2007;8:95-98.
- 454 33. Hayashi AM, Matera JM, Fonseca ACBC. Evaluation of
455 electroacupuncture treatment for thoracolumbar intervertebral disk disease in dogs.
456 *Journal of the American Veterinary Medical Association* 2007;231:913-918.
- 457 34. Schoen AM. *Veterinary Acupuncture: ancient art to modern medicine.*
458 2nd ed. St. Louis: Mosby, 2002;648p.

- 459 35. Xie H, Preast V. Xie's Veterinary Acupuncture. Iowa:Blackwell
460 Publishing, 2007; 374p.
- 461 36. Wilcoxon F. Individual comparisons by ranking methods. Biometrics
462 bulletin 1945;1:80-83.
- 463 37. Institute S. SAS/STAT User's Guide, Version 9.2; 2009.
- 464 38. Fighera RA, Souza TM, Silva MC, et al. Causes of death and reasons for
465 euthanasia in dogs from the midland region of the Midwest of Rio Grande do Sul State,
466 Brazil (1965-2004). *Pesq Vet Bras* 2008;28:223-230.
- 467 39. Bentubo HDL, Tomaz MA, Bondan EF, et al. Life expectation and
468 causes of death in dogs in the metropolitan area of São Paulo (Brazil). *Ciência Rural*
469 2007;37:1021-1026.
- 470 40. Jain NC. Essentials of veterinary hematology. Philadelphia:Lea &
471 Febiger, 1993; 417p..
- 472 41. Tudury EA, Arias MVB, Bracarense APFL, et al. Clinical and laboratory
473 findings in dogs with distemper encephalomyelitis. *Ciência Rural* 1997;27:229-235.
- 474 42. Amude AM, Gardinali NR, Abdulack F, et al. Clinicopathological
475 findings in dogs with nervous distemper presented without conventional signs of CDV
476 infection. In: XVIII National Meeting of Virology, 2007, Búzios. *Virus Reviews and*
477 *Research*, 2007;12:114-114.
- 478 43. Vandavelde M, Cachin M. The neurological form of canine distemper In:
479 Saunders, ed. *Current veterinary therapy XI Small animal practice Philadelphia* ,
480 1992;1003-1007.
- 481 44. Jones T, Hunt R. *Veterinary pathology* Lea & Febiger. Inc, Philadelphia,
482 Pennsylvania 1983:904-905.

- 483 45. De Lahunta A, Glass EN. Veterinary neuroanatomy and clinical
484 neurology. 3rd ed. St. Louis:Elsevier Health Sciences, 2009; 552p.
- 485 46. Yan QIAO, Johnson EM. An Immunohistochemical study of the nerve
486 growth factor receptor in developing rats. The journal of neuroscience, 2011;8:3481-
487 3498.
- 488 47. Draehmpaehl D, Zohmann A, Hess TM. Acupuncture in dogs and cats.
489 Berlin:Die Deutsche Bibliothek, 1998; 207p.
- 490 48. Fernandéz V, Bernardini M. Neurology in dogs and cats. São Paulo:
491 Editora MedVet, 2010; 450p.
- 492 49. Pellegrino F, Suraniti A, Garibaldi L. Neurological syndromes in dogs
493 and cats. São Caetano do Sul: Interbook, 2003;376p.
- 494 50. Soe STE, Kopsky D, Jongen P, et al. Multiple sclerosis patients with
495 bladder dysfunction have decreased symptoms after electro-acupuncture. Multiple
496 Sclerosis 2009;15:1376-1377.
- 497 51. Cole, EF. Evaluation of the therapeutical effects obtained with
498 allopathic and acupuncture treatment in the treatment of neurological disturbances
499 caused by canine distemper. Unpublished master dissertation. Faculty of Veterinary
500 Medicine. Rural Federal University of Pernambuco, Recife, PE, 1996.
- 501 52. Tang Y, Yin HY, Zeng F, et al. Pondering in-situ induction of
502 endogenous neural stem cells in hippocampus of rats with Alzheimer disease by
503 acupuncture. Journal of Chinese integrative medicine 2005;3:351.
- 504 53. Zhu SX, Sun GJ. Effects of electroacupuncture on learning and memory
505 ability and glial cells of the hippocampus in the rat of Alzheimer disease. Chinese
506 acupuncture & moxibustion 2009;29:133.

- 507 54. Kang JM, Park HJ, Choi YG, et al. Acupuncture inhibits microglial
508 activation and inflammatory events in the MPTP-induced mouse model. *Brain Research*
509 2007;1131:211-219.
- 510 55. SHAO S-j, SHAN B-z, YAN Z-g. Experimental study on electro-
511 acupuncture therapy promoting the regeneration of the rat's injured sciatic nerve [J].
512 *Modern Rehabilitation* 2000;8:043.
- 513 56. Fischer CDB, Pereira LM, Xavier CB, et al. Avaliação clínica de cães
514 com cinomose canina no estado do Rio Grande do Sul. *Archives of Veterinary Science*,
515 2012;221-223.
- 516

Anejos



ANEXO 1

1. Paralisia/ Paraparesia

I Deambulação Funcional

II Animal atáxico – caminha com incoordenação;

III Animal parético – fica em estação, mas não caminha;

IV Animal parético – não fica em estação, nem se levanta;

V Animal paralítico – sem dor profunda e com os sinais do grau IV.

2. Tetraparesia/ Tetraparalisia

I Deambulação Funcional

II Animal atáxico – caminha com incoordenação;

III Animal tetraparético – fica em estação mas não caminha;

IV Animal tetraparético – não fica em estação, nem se levanta;

V Animal tetraplégico – sem dor profunda e com os sinais do grau IV;

3. Nervos cranianos

I Animal sem envolvimento de nervos cranianos

II Animal com envolvimento de um nervo craniano

III Animal com envolvimento de um ou mais nervos cranianos

4. Sistema Nervoso Encéfalo

I Normal

II Alteração comportamental

III Crises convulsivas

5. Mioclonia

I Ausente

II Apenas em momentos de agitação

III Presente – leve

IV Presente – moderada

V Presente – intensa

6. Sistema geniturinário

I Normal

II Retenção urinária ou Incontinência urinária com relaxamento de esfíncter

ANEXO 2

Nome do Animal: _____ RG: _____ Data: _____

Espécie: _____ Raça: _____ Cor: _____ Sexo: F M Idade: _____

Exame Neurológico

Estado Mental: normal/ anormal _____

Comportamento: normal/ anormal _____

Postura: normal/ anormal _____

Marcha: normal/ anormal _____

E	REAÇÕES POSTURAIS	D
	Propriocepção Consciente	
	Membros Torácicos	
	Membros Pélvicos	
	Carrinho de mão	
	Sem extensão cervical	
	Com extensão cervical	
	Sustenta o(s) membro(s) - extensor	
	Membros Torácicos	
	Membros Pélvicos	
	Saltitar	
	Membros Torácicos	
	Membros Pélvicos	
	Hemisaltitar	
	Reação Tátil	
	Com visão	
	Sem visão	
	Espasticidade cervical	

E	NERVOS CRANIANOS	D
	Visão (II)	
	Reflexo de Ameaça (II+VII)	
	Teste do algodão em narina	
	Tamanho pupila (II+III)	
	Estimulação esquerda	
	Estimulação direita	
	Estrabismo (III+IV+VI)	
	Nistagmo	
	Sensibilidade face (V)	
	Mastigação (V)	
	Reflexo Palpebral (V+VII)	
	Reflexo Corneal (V+VI/VII)	
	Torcicolo (VIII)	
	Deglutição (IX+X)	
	Sensibilidade auricular (X)	
	Músculos cervicais (XI)	
	Língua (XII)	

E	REFLEXOS ESPINHAIS	D
	Membros Pélvicos	
	Patelar (L4-5)	
	Tibial Cranial (L7-S1)	
	Flexor (L6-S2)	
	Membros Torácicos	
	Extensor Carpo Radial (C7-T1)	
	Flexor (C6-T1)	
	Perineal (S1-3)	
	Retobulbar/vulvar	
	Paniculo (T1-2)	

E	SENSIBILIDADE	D
	Dor Superficial	
	Hiperestesia	
	Hipoestesia	
	Dor Profunda	
	Membros Torácicos	
	Membros Pélvicos	
	Atrofia Muscular	
	Cabeça	
	Membros Torácicos	
	Membros Pélvicos	

OBS: _____

1- Estado Mental

Achado	Definição	Localização
Apatia	Diminuição do interesse a estímulos externos	Cérebro ou Tronco Encefálico
Estupor	Letargia, mas ainda responde à estímulo doloroso	Tronco Encefálico
Coma	Inconsciência, não responsivo à estímulo doloroso	Tronco Encefálico

2- Postura

Achado	Definição	Localização
Desvio Lateral de Cabeça (Headtilt)	Rotação da cabeça para lateral	Sistema Vestibular
Autoauscultação	A cabeça está direcionada para caudal, "olhando para trás"	Tronco Encefálico
Opistótono	A cabeça e o pescoço estão estendidos dorsalmente para trás	Tronco Encefálico ou Cerebelo
Ventroflexão cervical	A cabeça está fletida ventralmente, frequentemente tocando o esterno	-
Lordose	Curvatura ventral da coluna	Coluna
Cifose	Curvatura dorsal da coluna	Coluna ou Abdomen
Escoliose	Desvio lateral da coluna	Coluna ou Cerebelo

3- Marcha

Achado	Definição
Claudicação	Redução da habilidade de suportar o peso no membro devido à dor ou restrição
Paresia	Fraqueza devido à uma disfunção neurológica
Plegia	Total perda do movimento voluntário
Monoparesia	Perda parcial do movimento voluntário em um membro
Paraparesia	Perda parcial do movimento voluntário nos membros pélvicos
Hemiparesia	Perda parcial do movimento voluntário nos membros unilateralmente
Tetraparesia	Perda parcial do movimento voluntário nos 4 membros
Ataxia	Incoordenação
Ataxia Sensorial	Lesão na medula ou nervos periféricos (frequentemente ocorre com paresia)
Ataxia Vestibular	Lesão no sistema vestibular (frequentemente ocorre com desvio lateral da cabeça)
Ataxia Cerebelar	Lesão no cerebelo (hipermetria e tremor de intenção são frequentes)

4- Reflexos Espinhais

Reflexo	Nervo	Segmento Medular	Músculo
Patelar	n. femoral	L4-6	m. quadríceps femoral
Tibial Cranial	n. peroneo	L6-7	m. tibial cranial
Flexor (MP)	n. isquiático	L6-S1	Todos os flexores dos membros pélvicos
Extensor Carpo Radial	n. radial	C7-T1	m. extensor carpo radial
Flexor (MT)	nn. mediano, ulnar, musculocutâneo	C6-T1	Todos os flexores dos membros torácicos

5- Nervos Cranianos

Função	Nervo (s)	Teste	Anormalidades
Olfacção	I- n. olfatório	Teste da comida	Anosmia ou disnomia
Visão	II- n. óptico	Reação de Ameaça, Teste do algodão na narina e Percurso com obstáculos	Cegueira periférica ou cegueira central
Tamanho Pupilar	III. n. oculomotor	Reflexo pupilar por estímulo luminoso	Midríase ou miiose ou anisocoria
Movimentação ocular	III. n. oculomotor IV. n. troclear VI. n. abducente	Posicionamento ocular e Movimentação ocular	Estrabismo ou Nistagmo
Sensibilidade facial e Mastigação	V. n. trigêmio	Reflexo palpebral, reflexo corneal, tônus da mandíbula e força	Ausência de tônus mandibular
Expressão facial	VII. n. facial	Reflexo palpebral e Simetria facial	Assimetria facial
Equilíbrio e Audição	VIII. n. vestibulococlear	Postura, marcha, posicionamento ocular e audição	Posicionamento lateral da cabeça, ataxia, nistagmo, estrabismo ou surdez
Deglutição e Vocalização	IX. n. glossofaríngeo X. vago	Reflexo de deglutição, reflexo de vômito e laringoscópio	Inabilidade de deglutição, estridor, dispneia ou megaesôfago
Musculatura cervical	XI. n. acessório	Palpação	Atrofia do m. trapézio
Movimentação da língua	XII. n. hipoglosso	Retração da língua, ingestão de líquido	Desvio da língua ou atrofia

Figura 8 Correlação dos nervos cranianos com pontos de acupuntura (LORENZ e KORNEGAY - modificado, 2006)

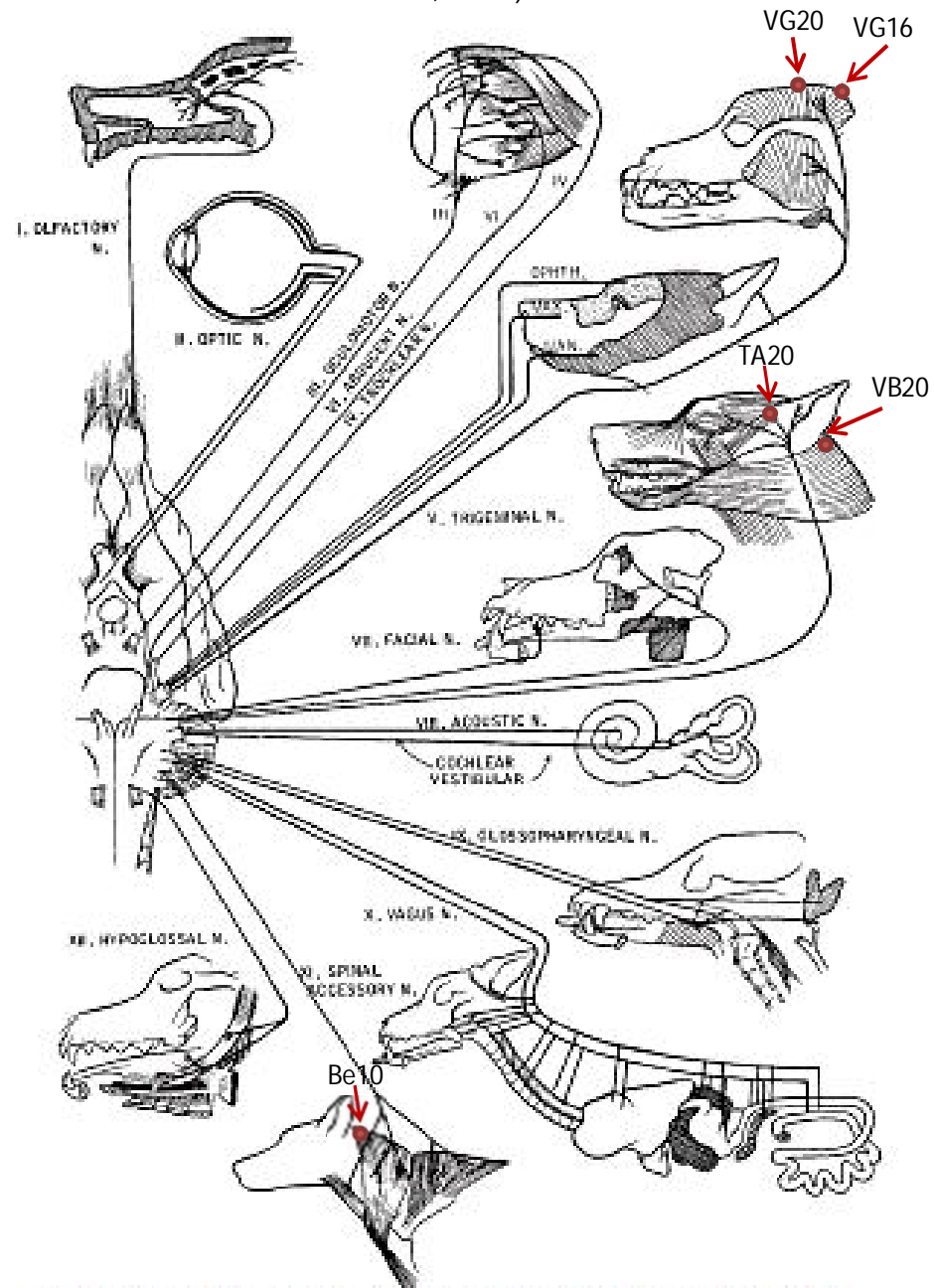


Figura 1-5 The origin and distribution of the cranial nerves in the dog. N, Nerve; OPHTH, ophthalmic nerve; MAX, maxillary nerve; MAN, mandibular nerve. (From Hoarlein BE: *Canine neurology*, ed 3, Philadelphia, 1978, WB Saunders.)

Figura 9 Correlação entre a saída de cada nervo do plexo braquial e a musculatura innervada (LORENZ et al, 2011)

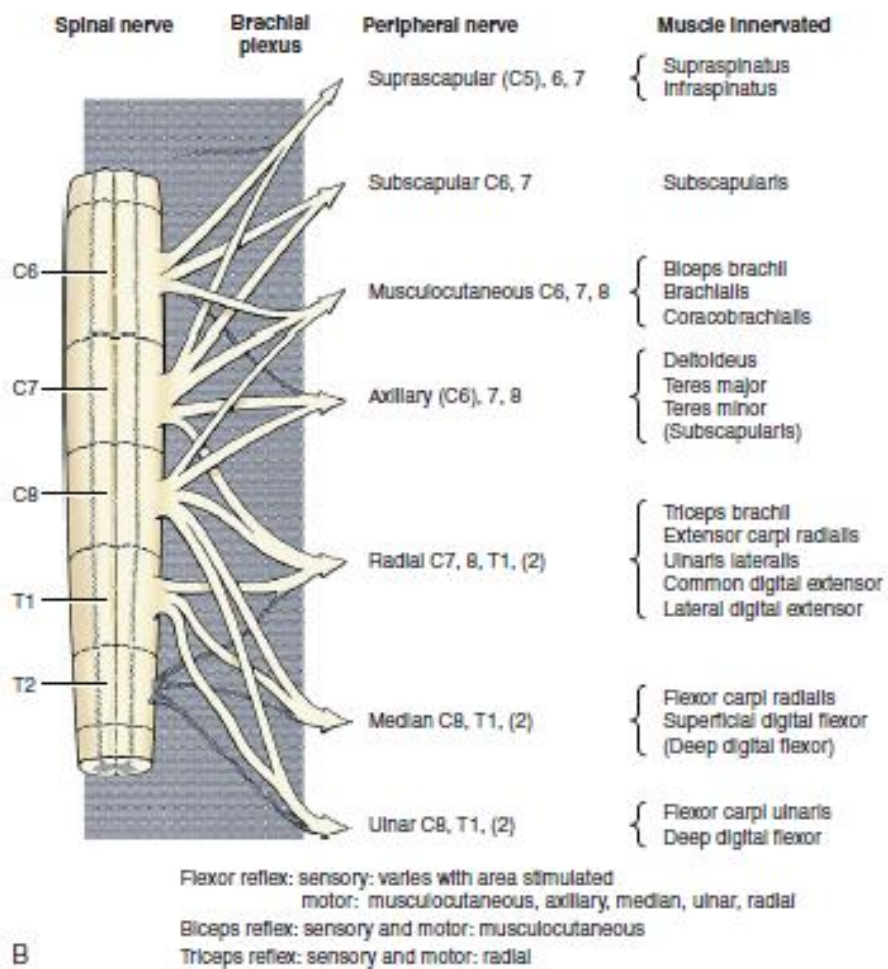


FIGURA 10 Dermátomos dos membros torácicos e pélvicos correlacionados com os pontos de acupuntura utilizados em animais portadores de cinomose (LORENZ et al. - modificado, 2011)

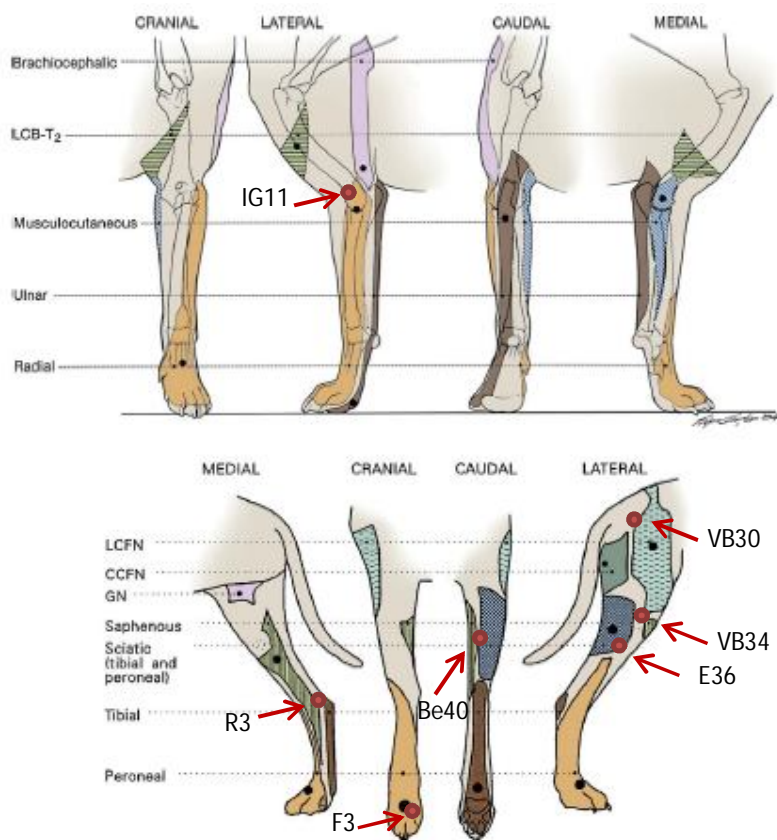


Figure 1-13 A, Cutaneous innervation of the left thoracic limb of the dog. Autonomous zones, innervated by only one nerve, are shown along with recommended sites for testing of sensation (dots). The median nerve does not have an autonomous zone. ICB-T₂, Lateral cutaneous branch of the second thoracic nerve. B, Cutaneous innervation of the right pelvic limb of the dog. Autonomous zones and testing sites are shown as in A. LCFN, Lateral cutaneous femoral nerve L3, L4 (L5); CCFN, caudal cutaneous femoral nerve (L7), S1-2; GN, genitofemoral nerve L(2), L3-4. (A is based on Kitchell RL, et al: Electrophysiological studies of cutaneous nerves of the thoracic limb of the dog, *Am J Vet Res* 41:61, 1980 and Bailey CS, Kitchell RL: Clinical evaluation of the cutaneous innervation of the canine thoracic limb, *J Am Anim Hosp Assoc* 20:939, 1984. B is based on Haghighi SS, et al: Electrophysiologic studies of cutaneous innervation of the pelvic limb of male dogs, *Am J Vet Res* 52:352, 1991 and Bailey CS, Kitchell RL: Cutaneous sensory testing in the dog, *J Vet Intern Med* 1:128, 1987.)

Figura 11 Correlação dos nervos do plexo lombossacro com os músculos inervados (LORENZ et al., 2011)

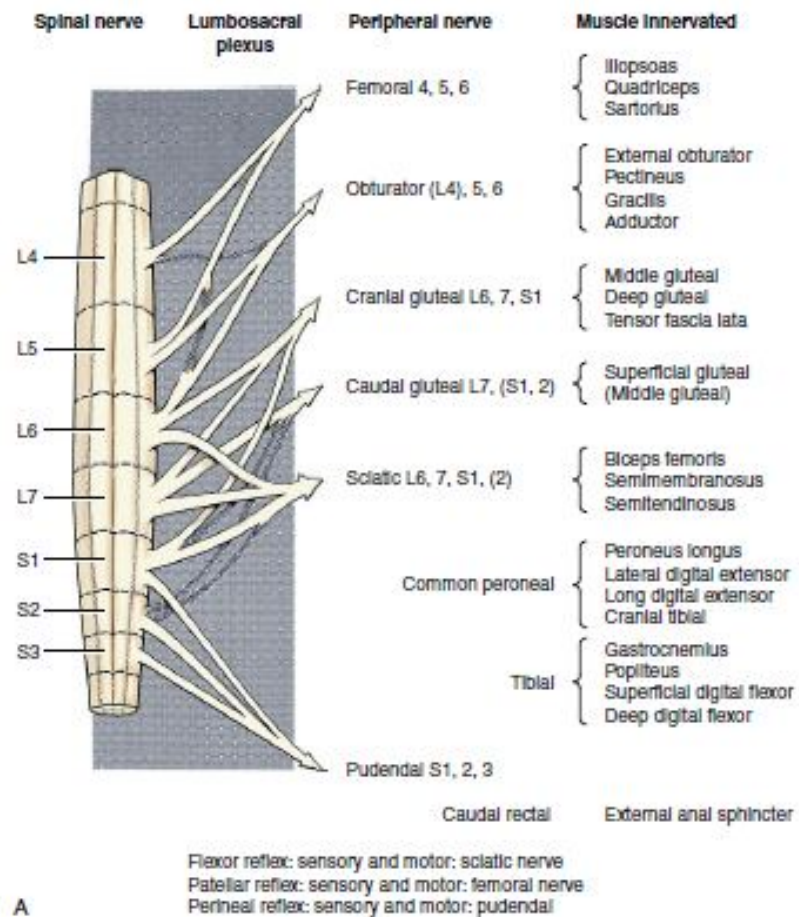


Figura 12 Correlação entre a inervação da bexiga e o ponto Be23 (LORENZ et al. - modificado, 2011)

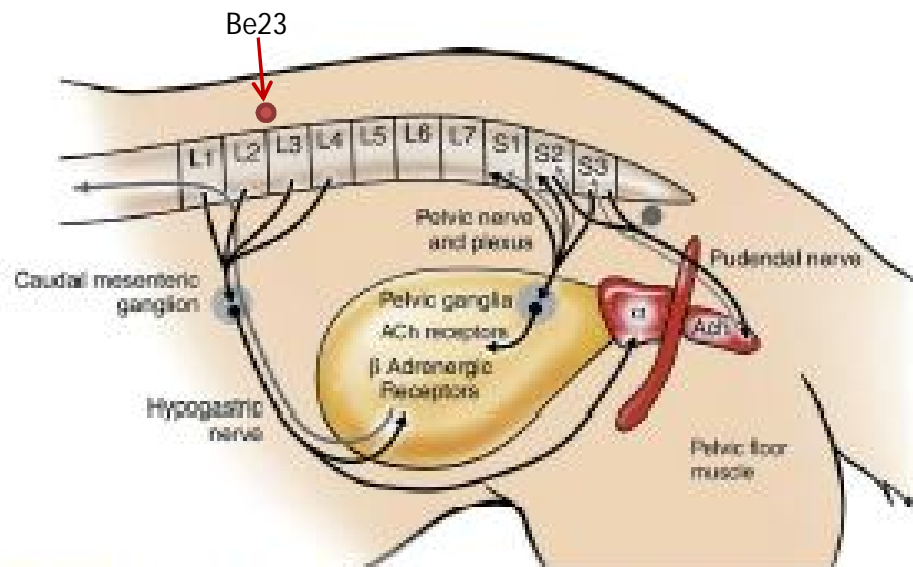


Figure 3-1 Anatomic organization of the local innervations of the bladder and urethra. Motor innervations are represented by the darker lines; sensory innervations are represented by the lighter lines. **Motor innervation**—The preganglionic neurons for the sympathetic innervation originate from L1-4 (dog) and L2-5 (cat) and leave the spinal cord as the splanchnic nerves to synapse in the caudal mesenteric ganglion. Postganglionic sympathetic fibers (hypogastric nerve) innervate the bladder wall (β -adrenergic receptors) and the proximal smooth muscle of the urethral sphincter (β -adrenergic receptors). These fibers are active during the storage phase of micturition. The preganglionic neurons for the parasympathetic innervation originate from S1-3 spinal cord segments. The preganglionic fibers from S1-3 leave the spinal cord as the pelvic (splanchnic) nerve to synapse in the pelvic ganglia located within the bladder wall and innervate the detrusor muscle via cholinergic synapses for bladder contraction during the voiding phase of micturition. The pudendal nerve arises from the ventral branches of the S1-3 sacral nerves to supply the striated external urethral sphincter muscle. **Sensory innervation**—Sensory fibers from the urinary bladder reach the cord via both pelvic (stretch receptors) and hypogastric (nociceptive receptors) nerves. Sensory input from the urethra reaches the cord via the pudendal nerve. These pathways ascend to the center for micturition located in the pons. (Courtesy Dennis P. O'Brien, DVM, PhD, University of Missouri.)

FIGURA 13 Correlação entre segmento medular e vertebral com pontos de acupuntura (LORENZ et al. - modificado, 2011)

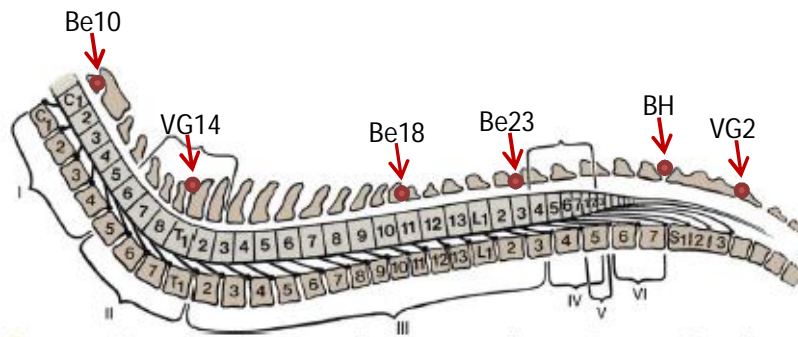


Figure 1-8 The spinal cord has a segmental arrangement; each segment has a pair of spinal nerves. The approximate relationship of spinal cord segments and vertebrae in the dog is illustrated here. Regions of the spinal cord that give rise to characteristic clinical signs when damaged are labeled. I, C1-5, Upper motor neuron (UMN) to all limbs; II, C6-T2, lower motor neuron (LMN) to thoracic, UMN to pelvic limbs; III, T3-L3, normal thoracic, UMN to pelvic limbs; IV, L4-S2, normal thoracic, LMN to pelvic limbs; V, S1-3, partial LMN to pelvic limbs, absent perineal reflex, atonic bladder; VI, caudal nerves, atonic tail.