



Vacuolización neuronal y cambio espongiiforme en la corteza cerebelosa de un perro Pastor Alemán joven

Alipio A. Hernández F. ¹ .

Ghislaine Céspedes C. ² .

Jorge I. Rivas S. ³ .

¹Médico Anatomopatólogo Servicio de Anatomía Patológica “Dr. Hans Doehnert”. Hospital Central Universitario “Dr. Antonio María Pineda”. Decanato de Ciencias de la Salud alipiohf@gmail.com

²Médico Anatomopatólogo Sección de Neuropatología del Instituto Anatomopatológico “Dr. José A. O’Daly”

³Médico Veterinario Facultad de Ciencias Veterinarias de la UCV. Caracas, Venezuela

Correspondencia: Instituto de Medicina Tropical - Facultad de Medicina - Universidad Central de Venezuela.

Consignado el 21 de Mayo del 2017 a la Revista Vitae Academia Biomédica Digital.

RESUMEN

Un perro Pastor Alemán de 12 semanas de edad fue sometido a eutanasia por enfermedad neurológica rápidamente progresiva consistente en ataxia cerebelosa, dismetría, tremor y déficit propioceptivo de todos los miembros. Los exámenes de laboratorio de rutina (incluidos líquido cefalorraquídeo, determinación de hemoparásitos y examen directo de heces) fueron normales. Las alteraciones neuropatológicas estuvieron confinadas a la corteza cerebelosa y comprendieron vacuolización de células de Purkinje y neuronas de la capa granulosa, cambio

espongiforme del neurópilo y astrocitosis reactiva asociada, así como áreas de degeneración Walleriana en la sustancia blanca de la folias cerebelosas. Los hallazgos histopatológicos plantearon un dilema diagnóstico al considerar la posibilidad de encefalopatía espongiforme transmisible (EET) en este caso. La determinación inmunohistoquímica de la proteína priónica del scrapie con el anticuerpo monoclonal F99/97.6.1 resultó negativa en este sentido y el cuadro clínico-patológico fue compatible con el síndrome de vacuolización neuronal y degeneración espinocerebelosa, una enfermedad neurodegenerativa reconocida fundamentalmente en perros Rottweilers jóvenes, de evolución clínica rápidamente progresiva y causa desconocida (no relacionada con EET). Resulta importante que el Neuropatólogo conozca las características de esta enfermedad en perros, en virtud del diagnóstico diferencial que plantea con una EET y el problema de salud pública que generaría el diagnóstico de EET en una especie animal en la que hasta ahora no ha sido reconocida la enfermedad priónica.

PALABRAS CLAVE: vacuolización neuronal, cambio espongiforme, degeneración cerebelosa, perro Pastor Alemán.

SUMMARY

A 12-week-old German Shepherd dog was euthanized by rapidly progressive neurological disease consisting of cerebellar ataxia, dysmetria, tremor, and proprioceptive deficit of all limbs. Routine laboratory tests (including cerebrospinal fluid, determination of hemoparasites and direct examination of feces) were normal. The neuropathological alterations were confined to the cerebellar cortex and included vacuolization of Purkinje cells and granular layer neurons, spongiform change in the neuropil and associated reactive astrocytosis, as well as areas of Wallerian degeneration in the white matter of cerebellar folds. The histopathological findings raised a diagnostic dilemma when considering the possibility of transmissible spongiform encephalopathy (TSE) in this case. The immunohistochemical determination of the scrapie prion protein with monoclonal antibody F99/97.6.1 was negative in this sense and the clinical-pathological picture was compatible with the neuronal vacuolization and spinocerebellar degeneration syndrome, a neurodegenerative disease recognized fundamentally in young Rottweiler dogs, with rapidly progressive clinical evolution and unknown cause (not related to TSE). It is important for the Neuropathologist to be aware of the characteristics of this disease in dogs, because of the differential diagnosis that it presents with a TSE and the public health problem that would generate the diagnosis of TSE in an animal species in which up to now the prion disease has not been recognized.

KEY WORDS: neuronal vacuolization, spongiform change, cerebellar degeneration, German Shepherd dog.

VACUOLIZACIÓN NEURONAL Y CAMBIO ESPONGIFORME EN LA CORTEZA CEREBELOSA DE UN PERRO PASTOR ALEMÁN JOVEN

INTRODUCCIÓN

Las encefalopatías espongiformes transmisibles (EET) son enfermedades neurodegenerativas en humanos y animales producidas por un metabolismo aberrante de la proteína priónica

(PrP) y caracterizadas por su elevado potencial infeccioso, período de incubación prolongado y evolución invariablemente fatal⁽¹⁻⁶⁾. Estas enfermedades se convirtieron en un problema de salud pública mundial a raíz de la epidemia de encefalopatía espongiforme bovina (EEB) o “*enfermedad de las vacas locas*” acaecida en el Reino Unido⁽⁷⁻¹²⁾ y la posterior aparición de nuevas formas de enfermedad priónica por consumo de tejido vacuno infectado, tales como la nueva variante de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (nvECJ) en humanos y las EET en nuevas especies animales como felinos (domésticos y salvajes en cautiverio) y ungulados exóticos de zoológicos (*gran kudu, nyala, oryx*)^(6,9,10,13).

En Venezuela se han confirmado algunos casos de humanos con la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob esporádica^(2,14-18) y familiar⁽¹⁹⁾, pero no se ha detectado ningún caso de la nvECJ ni EET animal alguna. No obstante, frente a la problemática mundial suscitada por la EEB como zoonosis, resulta importante que el neuropatólogo consultante esté familiarizado con estas enfermedades, especialmente ante la presencia de cambio espongiforme en especies animales en las que hasta ahora no se ha descrito la EET.

En este informe se presenta el caso de un perro Pastor Alemán joven que fue sometido a eutanasia por enfermedad neurológica rápidamente progresiva y cuyo examen neuropatológico fue llamativo por la presencia de vacuolización neuronal y cambio espongiforme prominentes en la sustancia gris de la corteza cerebelosa. A pesar del dilema diagnóstico generado por tales hallazgos, la edad del animal y la negatividad inmunohistoquímica para la PrP del *scrapie* descartaron EET. Una enfermedad neurodegenerativa de características similares y causa desconocida (no relacionada con EET) ha sido reconocida principalmente en perros Rottweilers como síndrome de vacuolización neuronal y degeneración espinocerebelosa⁽²⁰⁻²⁵⁾, la cual representa un diagnóstico diferencial importante y siembra dudas acerca de la especificidad del cambio espongiforme como criterio histopatológico diagnóstico de las EET.

CASO CLÍNICO

Se trató de un perro Pastor Alemán masculino de 12 semanas de edad procedente de la ciudad de Caracas (Distrito Capital, Venezuela), sin información disponible acerca del origen y estado de salud de los padres y del resto de su camada, quien fue llevado a una consulta veterinaria durante 1.999 por enfermedad neurológica rápidamente progresiva, consistente en dificultad para la marcha y mantenerse en pie de varias semanas de evolución. Al examen neurológico, el perro se encontró alerta y erguido con los 4 miembros separados (estación de base ancha), presentando además ataxia cerebelosa, dismetría y tremor. Se constató déficit propioceptivo de todos los miembros, así como una respuesta de salto lenta de pobre desempeño y déficit de los reflejos palpebral y de amenaza. Los reflejos espinales (miembros pelvianos) y perineal, sensibilidad superficial, actividad motora y función vesical fueron normales y no se encontraron otras alteraciones en el resto del examen físico general. Los exámenes de laboratorio de rutina, incluidos hematología completa, tiempos de coagulación, albúmina sérica y pruebas de funcionalismo hepático y renal fueron normales. El estudio bioquímico y citoquímico de líquido cefalorraquídeo no reveló anormalidades y la

determinación de parásitos en sangre y heces fue negativa. En vista de su estado crítico de salud y previo consentimiento de los dueños, el perro fue sometido a eutanasia con una sobredosis de pentotal sódico.

MATERIALES Y MÉTODOS

La autopsia fue realizada en la Sección de Neuropatología del Instituto Anatomopatológico “Dr. José A. O’Daly” de la Universidad Central de Venezuela. Múltiples muestras del sistema nervioso central y periférico, órganos internos y músculo esquelético de los miembros fueron fijadas en formol tamponado al 10%, deshidratadas en alcohol e incluidas en parafina. Todas las secciones histológicas fueron teñidas con hematoxilina y eosina. Cortes histológicos seriados de músculo esquelético y tejido nervioso también fueron teñidos con tricrómico de Gomori, crésil violeta, Spielmeyer-Woelcke para mielina y BGD para neurofibrillas y axones.

Para la detección inmunohistoquímica de **PrP** del *scrapie* en el tejido nervioso del perro, se emplearon el anticuerpo monoclonal F99/97.6.1 incluido en el kit Pullman TSE-IHC/99 (VMRD Inc.), el sistema de capilaridad *Microprobe* y el crógeno diaminobencidina (**DAB**) ⁽²⁶⁾. Un bloque de parafina con tallo encefálico incluido de una oveja con scrapie procedente de Estados Unidos sirvió como fuente de controles positivos. Todas las muestras de tejido nervioso fueron tratadas con ácido fórmico al 95-98% por una hora, seguido de fijación en formol tamponado al 10% por 48 horas y posterior procesamiento de rutina hasta la inclusión en parafina. Cortes histológicos de 4 mg/ml), seguido del anticuerpo secundario biotinilado (IgG anti-ratón biotinilado) por 10 minutos y el complejo estreptavidina-biotina-peroxidasa por 10 minutos, con lavados intermedios con **TBST** 3 veces por 20 segundos cada uno. Se utilizó la **DAB** como crógeno por 5 minutos, seguido de lavado con agua destilada y contratinción con hematoxilina de Mayer. Finalmente, las secciones histológicas fueron deshidratadas, pasadas por xilol y cubiertas con laminillas cubreobjetos.

RESULTADOS

No se observaron anormalidades macroscópicas en la autopsia. Las alteraciones histopatológicas estuvieron limitadas a la corteza del vermis y hemisferios cerebelosos. Se evidenció degeneración espongiiforme del neurópilo en todas las capas de la corteza cerebelosa, caracterizada por la presencia de vacuolas redondas de tamaño variable entre 1 a 50 μ m, ópticamente vacías, de aspecto opaco y bordes bien definidos (**figuras 1 y 2**).

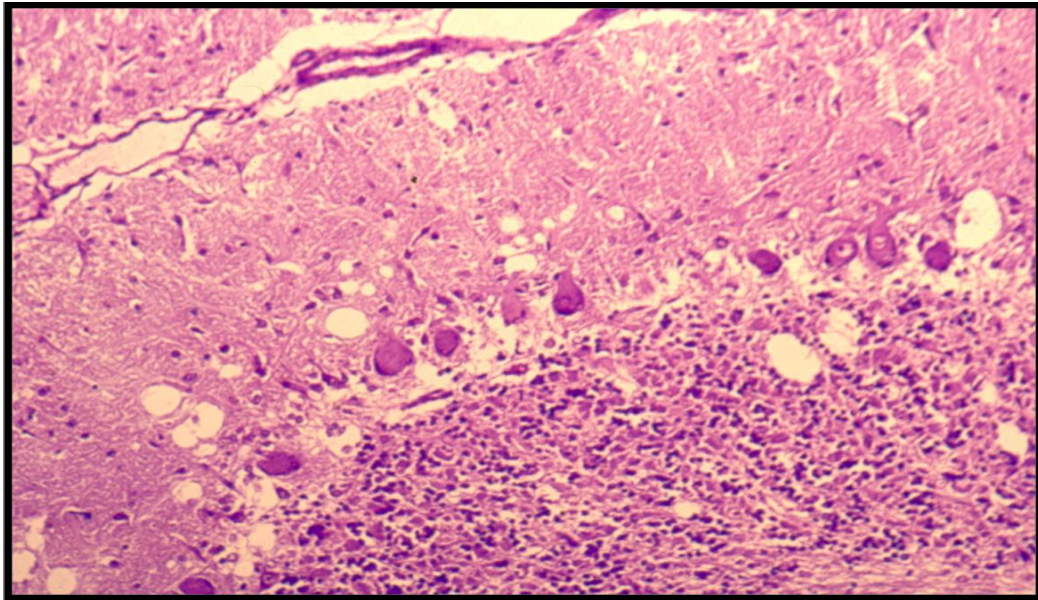


Figura 1. Sección histológica de la corteza cerebelosa del perro Pastor Alemán, donde se observa cambio esponjiforme del neurópilo, pérdida de células de Purkinje, proliferación de la glía de Bergmann y desorganización de la capa granulosa. (H&E, x125).

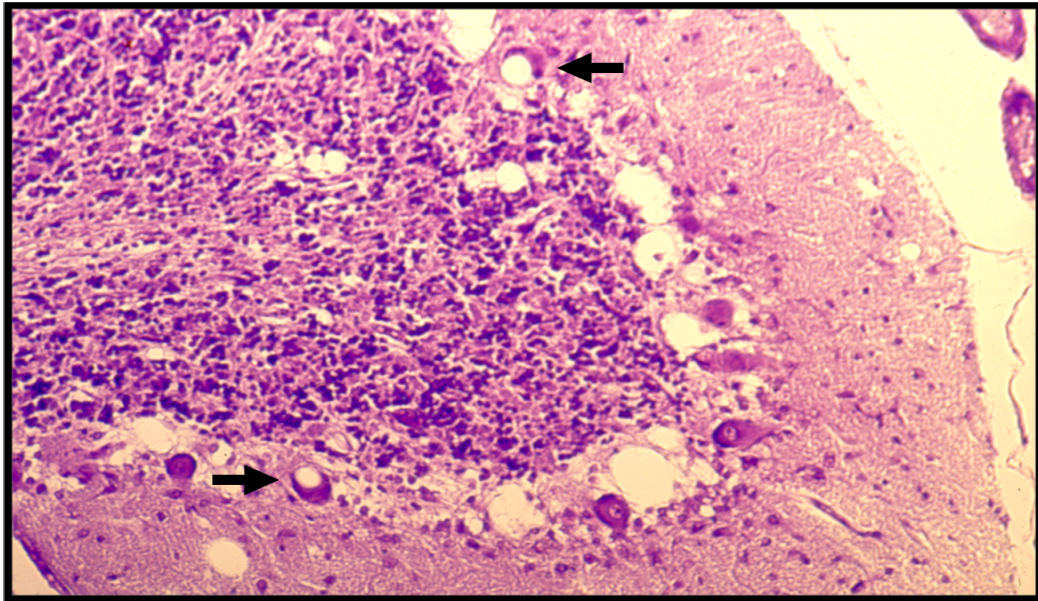


Figura 2. Sección histológica de la corteza cerebelosa del perro Pastor Alemán. El cambio esponjiforme y la pérdida neuronal son prominentes en la capa de células de Purkinje. Las flechas indican vacuolización neuronal. (H&E, x312).

En el interior de algunas vacuolas se observaron restos membranosos y la fusión ocasional de vacuolas adyacentes originó espacios quísticos grandes (**figura 3**).

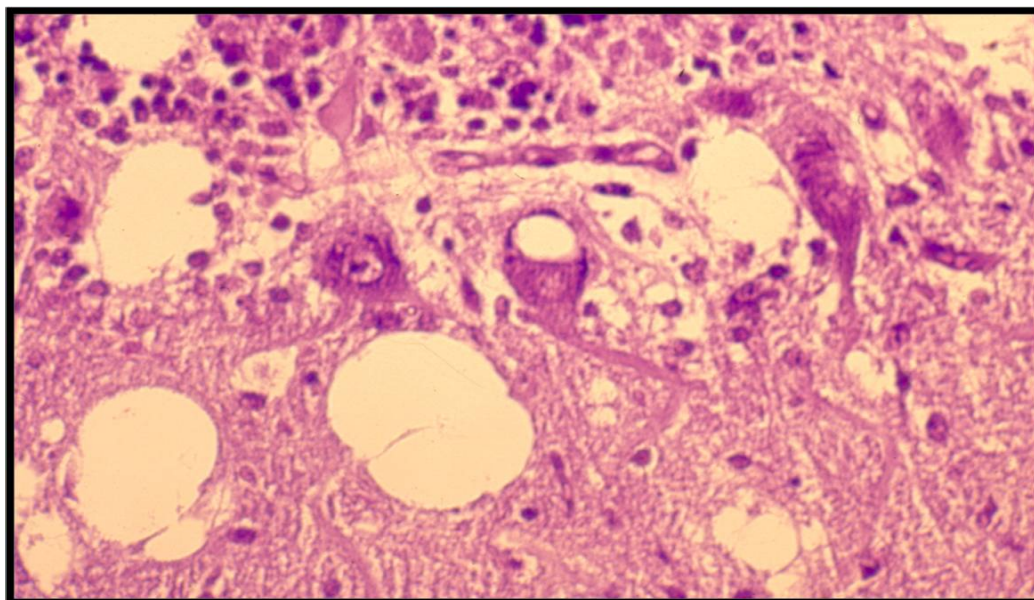


Figura 3. Detalle del cambio espongiiforme que afecta a todas las capas de la corteza cerebelosa. Se observan en el neurópilo vacuolas fusionadas de gran tamaño con restos de membranas en su interior, así como vacuolización citoplasmática de una neurona de Purkinje (*H&E, x500*).

La vacuolización del neurópilo fue más prominente en la capa de células de Purkinje, siendo su intensidad menor en las capas molecular y granulosa (**figuras 1 y 2**). En la capa de Purkinje se observó además proliferación de la glía de Bergmann, daño neuronal agudo y pérdida neuronal (**figuras 1 y 2**).

Algunas células de Purkinje mostraron vacuolas citoplasmáticas únicas (**figura 3**). En las capas molecular y granulosa se observaron además astrocitosis reactiva y desorganización estructural (**figuras 1 y 2**).

Las folias cerebelosas presentaron áreas de degeneración Walleriana en la sustancia blanca. Las olivas cerebelosas no mostraron alteraciones. No se evidenció infiltrado inflamatorio en ninguna de las estructuras cerebelosas afectadas por el cambio espongiiforme. No se encontraron anomalías en el estudio histológico del resto del sistema nervioso central, nervios periféricos, ganglios espinales, músculo esquelético de los miembros ni órganos viscerales. El estudio inmunohistoquímico para la **PrP** del *scrapie* resultó negativo en el caso (**figura 4**).

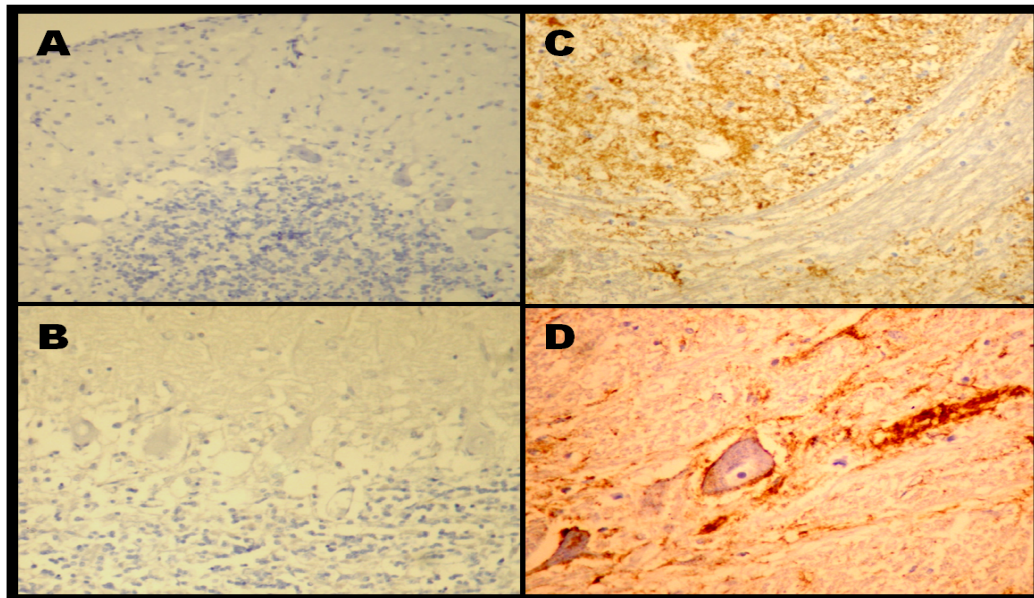


Figura 4. Demostración inmunohistoquímica de la PrP del *scrapie* con el anticuerpo monoclonal F99/97.6.1 y la técnica de la estreptavidina-biotina-peroxidasa. A-B) Resultado negativo en secciones histológicas de la corteza cerebelosa del perro Pastor Alemán (A, $\times 125$; B, $\times 312$). C-D) Resultado positivo de patrón granular en el neuropilo (C) y perineuronal (D) en secciones histológicas de tallo encefálico de una oveja con *scrapie* empleadas como control positivo (C, $\times 125$; D, $\times 500$).

DISCUSIÓN

El **síndrome de vacuolización neuronal y degeneración espinocerebelosa (VNDEC)** es una enfermedad neurodegenerativa multifocal y rápidamente progresiva, que ha sido reportada en al menos 27 perros Rottweilers (20-25,27-34), un Pastor Alemán cruzado con Rottweiler (20,35), un Sheltie (36), un mestizo dolicocefalo sin relación familiar con Rottweiler (20,32) y dos Boxer (20,37), procedentes desde diferentes países de Europa (España, Holanda, Bélgica, Italia y Suiza), Oceanía (Australia y Nueva Zelanda) y América (Estados Unidos y Brasil).

Los perros afectados por el síndrome de **VNDEC** inician la enfermedad entre las 6 a 32 semanas de edad, presentando típicamente debilidad generalizada, tetraparesia y ataxia de intensidad progresiva (20-25,28-34,37,38). Otras manifestaciones clínicas incluyen trastornos de visión, dificultad para tragar y ladrar, tos, disnea, propiocepción disminuida, exageración de reflejos espinales y comportamiento agresivo (20,21,23-25,28,30-34,36,37). Aunque no descrita en la totalidad de los casos, un hallazgo clínico consistente con la enfermedad es el estridor inspiratorio que se produce por parálisis laríngea secundaria a disfunción de los nervios laríngeos recurrentes (20,21,24,25,28,29,31,32,34,37). Algunos perros también han presentado anomalías oculares congénitas concurrentes, tales como membrana pupilar persistente, microftalmia, cataratas y displasia retiniana (20,31,37,38). Los perros afectados por el síndrome usualmente son sometidos a eutanasia luego de algunos meses de iniciada la enfermedad, por la gravedad que alcanza el cuadro clínico y la ausencia de un tratamiento específico (20,25).

Los hallazgos histopatológicos característicos del síndrome de **VNDEC** consisten en vacuolización neuronal, degeneración de la sustancia blanca espinocerebelosa y atrofia neurogénica de músculos intrínsecos de la laringe (20,24,32,37,38). Las vacuolas citoplasmáticas neuronales se observan en la sustancia gris del tallo cerebral, cerebelo y médula espinal (21-25,28,30-34,36-38). Como hallazgo adicional, la vacuolización de neuronas en ganglios autonómicos se ha reportado en algunos casos (21,23). La degeneración de la sustancia blanca es de tipo Walleriana y compromete tallo cerebral, pedúnculos cerebelosos y cordones dorsolateral y ventromedial de la médula espinal (20,21,23-25,30,33, 34,37,38). La atrofia neurogénica de los músculos intrínsecos de la laringe se produce por degeneración axonal de los nervios laríngeos recurrentes (20,24,28,31,32,37,38). También se ha descrito en algunos casos la degeneración axonal de nervios isquiáticos (25), ciático y plexo braquial (37), en tanto que en otros perros con el síndrome de **VNDEC** no se ha encontrado ninguna alteración del sistema nervioso periférico (30).

Aún cuando no se conoce a ciencia cierta la etiología del síndrome de **VNDEC**, se sospecha de un mecanismo hereditario subyacente debido a la predilección que ha mostrado la enfermedad por razas específicas de perros, la asociación familiar entre los casos (endogamia y afectación de hermanos) y la edad de inicio de la enfermedad (21,24,25,30,32,33,36,37). Además, recientemente se ha detectado la homocigocidad para un alelo variante del gen *RAB3GAP1*, el cual codifica una proteína involucrada en el tráfico de membrana y cuya mutación ha sido demostrada en perros Terriers Rusos Negros con una enfermedad neurológica muy similar (31).

En el caso del perro Pastor Alemán presentado en este informe, su edad, manifestaciones clínicas y hallazgos neuropatológicos fueron compatibles con el síndrome de **VNDEC**. Como en otros casos previamente publicados de la enfermedad (21,25,32,33,36), la inmunonegatividad para la *PrP^{sc}* de la scrapie, usando un anticuerpo monoclonal que reconoce un epítipo conservado de la *PrP^{sc}* en ovejas, vacas, gatos, ratones y ungulados exóticos (39), fue fundamental para descartar *EET* como diagnóstico diferencial.

Resulta importante que el Neuropatólogo conozca el síndrome de **VNDEC** como posibilidad diagnóstica ante perros jóvenes con enfermedad neurológica y vacuolización neuronal, en virtud del problema de salud pública que generaría el diagnóstico de una *EET* animal en nuestro país y por tratarse también de una especie animal en la que hasta ahora no se ha reconocido la enfermedad priónica.

REFERENCIAS

1. Hernández A, Céspedes G, González J. **Enfermedades priónicas en humanos**. Gac Méd Caracas 2002; 110 (1): 9-18.
2. Hernández A, Céspedes G, Larrea F, Querales J, Romero G, López N. **Encefalopatías espongiiformes transmisibles o enfermedades priónicas. Revisión general y casuística venezolana**. Organización Panamericana de la Salud y Facultad de Medicina de la Universidad Central de Venezuela: Caracas, 2002.

3. Ironside JW. **Prion diseases in man.** J Pathol 1998; 186: 227-34.
4. Prusiner SB. **The prion diseases.** Brain Pathol 1998; 8: 499-513.
5. Head MW, Ironside JW. **Review: Creutzfeldt-Jakob disease: prion protein type, disease phenotype and agent strain.** Neuropathol Appl Neurobiol 2012; 38: 296-310.
6. Wadsworth JDF, Collinge J. **Update on human prion disease.** [Biochim Biophys Acta](#) 2007; 1772 (6): 598-609.
7. Bradley R, Wilesmith JW. **Epidemiology and control of bovine encephalopathy (BSE).** Br Med Bull 1993; 49: 932-59.
8. Collee JG, Bradley R. **BSE: a decade on-part 1.** Lancet 1997; 349: 636-41.
9. Hernández A, Céspedes G, Romero S. **Encefalopatía espongiforme bovina o “enfermedad de las vacas locas”.** Gac Méd Caracas 2002; 110 (2): 151-65.
10. Sánchez-Juan P, Cousens SN, Will RG, van Duijn CM. **Source of variant Creutzfeldt-Jakob disease outside United Kingdom.** Emerg Infect Dis 2007; 13 (8): 1166-9.
11. Wells GAH, Wilesmith JW. **The neuropathology and epidemiology of bovine spongiform encephalopathy.** Brain Pathol 1995; 5: 91-103.
12. World Health Organization. **Public health issues and clinical and neurological characteristics of the new variant of Creutzfeldt-Jakob disease and other human and animal transmissible spongiform encephalopathies: memorandum from two WHO meetings.** Bull World Health Organ 1996; 74: 453-63.
13. Collinge J, Sidle KC, Meads J, Ironside J, Hill AF. **Molecular analysis of prion strain variation and the aetiology of “new variant” CJD.** Nature 1996; 383: 685-90.
14. Caraballo AJ. **Creutzfeldt-Jakob disease in Venezuela: a case report.** Arq Neuro-Psiquiat (São Paulo) 1991; 49: 218-21.
15. Faoro A, Filomena MV, de Pernía E, Borges J. **Importancia del EEG en el diagnóstico de la Enfermedad de Jakob-Creutzfeldt. A propósito de dos casos.** Rev Ven Neurol Neurocir 1987; 1: 17-20.
16. Hernández A, Céspedes G, González A, Álvarez A, Lara C, Soto A, y col. **Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob en Venezuela: informe de 10 casos y revisión de la literatura.** Rev Inst Nac Hig “Rafael Rangel” 1999; 30: 14-20.
17. Méndez O, Luzardo G, Molina O, Cardozo J. **Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob. Reporte de 2 casos.** Invest Clín 1995; 36: 23-30.
18. Postalían K, Mariño C, López J, Amundaray G. **Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob: a propósito de un caso con proteína 14-3-3 y resonancia magnética por difusión pesada.** Centro Médico 2004; 49 (2): 100-5.
19. Caruzo G, Díaz F, Bohórquez M, Rodríguez L, Gambetti P, Molina O, y col. **Encefalopatía**

priónica familiar. En: XLIII Jornadas Venezolanas de Anatomía Patológica. San Cristobal: Sociedad Venezolana de Anatomía Patológica; 1999. p.17.

20. Dewey CW. **A practical guide to canine & feline neurology.** Second edition. Iowa, USA: Blackwell Publishing; 2008.

21. [Kortz GD](#), [Meier WA](#), [Higgins RJ](#), [French RA](#), [McKiernan BC](#), [Fatzer R](#), et al. Neuronal vacuolation and spinocerebellar degeneration in young Rottweiler dogs. [Vet Pathol](#) 1997; 34 (4): 296-302.

22. Mandigers P, van der Ingh T, van Nes J, Poncelet L, van Ham L. **A neuron degenerative disease in young Rottweiler dogs. A new neurological disorder in Rottweiler dogs.** In: Proceedings of the 9th Annual Meeting of the European Society of Veterinary Neurology. Liege, Belgium: European Society of Veterinary Neurology; 1995. p. 63-64.

23. Pumarola M, Fondevila D, Borrás D, Majó N, Ferrer I. **Neuronal vacuolation in young Rottweiler dogs.** Acta Neuropathol (Berl) 1999; 97 (2): 192-5.

24. Salvadori C, Tartarelli CL, Baroni M, Mizisin A, Cantile C. **Peripheral nerve pathology in two Rottweilers with neuronal vacuolation and spinocerebellar degeneration.** Vet Pathol 2005; 42 (6): 852-855.

25. van den Ingh TS, Mandigers PJ, van Nes JJ. **A neuronal disorder in young rottweiler dogs.** Vet Rec 1998; 142: 245-7.

26. López JW. **Procedimientos operacionales estándares para detección de PrP-Sc en cerebro y tejido linfático usando un anticuerpo monoclonal, el kit Pullman TSE-IHC/99, el sistema de capilaridad Microprobe y el cromógeno DAB.** Río de Janeiro: PANAFTOSA; 2002.

27. Bennett PF, Clarke RE. **Laryngeal paralysis in a Rottweiler with neuroaxonal dystrophy.** Aust Vet J 1997; 75 (11): 784-6.

28. [Cowan AC](#), [Slanina M](#), [Ju Choi AE](#). **A case of neuronal vacuolation and spinocerebellar degeneration in a juvenile rottweiler.** Vet Rec Case Rep [internet] 2016 [citado 2017 dec 8]; 4 (2). Disponible en: <http://vetrecordcasereports.bmj.com/content/4/2/e000373.abstract>

29. Eger CE, Huxtable CRR, Chester ZC, Summers BA. **Progressive tetraparesis and laryngeal paralysis in a young Rottweiler with neuronal vacuolation and axonal degeneration: an Australian case.** Aust Vet J 1998; 76 (11): 733-7.

30. Jardim LS, Andrade-Neto JP, Alessi AC. **Neuronal vacuolation and spongiform lesions in young Rottweiler dogs.** Arq Bras Med Vet Zootec [internet] 1999 oct [citado 2017 dec 8]; 51 (5). Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09351999000500010>.

31. Mhlanga-Mutangadura T, Johnson GS, Ashwini A, Shelton GD, Wennogle SA, Johnson GC, et al. **A homozygous RAB3GAP1:c.743delC mutation in rottweilers with neuronal vacuolation and spinocerebellar degeneration.** J Vet Intern Med 2016; 30: 813-8.

32. Salvadori C, Tartarelli CL, Baroni M, Arispici m, Cantile C. **Neuronal vacuolation, myelopathy and laryngeal neuropathy in a mixed-breed dog.** J Vet Med 2007; 54: 445-8.

33. Summers B. Conference 24. In: Wednesday slide conference 2000-2001. New York; The Armed Forces Institute of Pathology, Department of Veterinary Pathology; 28 march 2001.
34. van Mameren AA. **Neuronal vacuolation and spinocerebellar degeneration in young Rottweiler dogs.** In: Abstracts European Veterinary Conference. Voorjaarsdagen: Royal Canin student award; 2010. Chapter 3, p. 1.
35. de Lahunta A, Summers BA. **The laryngeal lesion in young dogs with neuronal vacuolation and spinocerebellar degeneration.** Vet Pathol 1998; 35: 316-7.
36. Cooke MM, Johnstone AC, Wells GAH. **Spongiform polioencephalopathy in a dog.** Surveillance 1997; 24(2): 21.
37. Geiger DA, Miller AD, Cutter-Schatzberg K, Shelton GD, de Lahunta A, Schatzberg SJ. **Encephalomyelopathy and polyneuropathy associated with neuronal vacuolation in two Boxer littermates.** Vet Pathol 2009; 46 (6): 1160-5.
38. Lorenz MD, Coates JR, Kent M. **Handbook of veterinary neurology.** Fidth ed. St. Luis, Missouri: Elsevier Saunders; 2011. p. 291.
39. Spraker TR, O'Rourke KI, Balachandran A, Zink RR, Cummings BA, Miller MW, et al. **Validation of monoclonal antibody F99/97.6.1 for immunohistochemical staining of brain and tonsil in mule deer (*Odocoileus hemionus*) with chronic wasting disease.** J Vet Diagn Invest 2002; 14: 3-7.