

UNIFEOB

8º ENCONTRO ACADÊMICO DE PRODUÇÃO CIENTÍFICA - MEDICINA VETERINÁRIA

PESQUISA CONCLUÍDA

PESQUISA EM ANDAMENTO

RELATO DE CASO

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

- 1 » Caracterização da morfologia externa de fetos de paca
- 2 » Análise comparativa do número de corpos de neurônios em área do córtex cerebral de diferentes raças de cães
- 3 » Estudo histológico da glândula pineal de *Nasua nasua* (Quati) empregando microscopia de luz
- 4 » Análise macroscópica do aparelho reprodutor masculino do ouriço-cacheiro (*Coendou villosus*)
- 5 » Características de células fibroblast-like derivados do cultivo do saco vitelino em diferentes períodos gestacionais
- 6 » Suspeita da produção de β -Lactamase de espectro estendido (ESBL) Enterobactérias isoladas em caso de mastite ambiental
- 7 » Qualidade do leite de acordo com a instrução normativa 51: Contagem de células somáticas em amostras de leite bovino
- 8 » Estudo da pluripotencialidade do fígado fetal canino nos diferentes períodos gestacionais
- 9 » Influência do estresse causado pela tosquia e aumento de peso ao nascer de cordeiros (*Ovis aries*) - Resultados parciais
- 10 » Morfologia e viabilidade de oócitos ovinos para produção de embriões em laboratório
- 11 » Avaliação do ganho de peso diário de cordeiros segundo o manejo de desmame
- 12 » Incidência de endoparasitoses em ovinos da raça Santa Inês em função do horário de pastejo
- 13 » Leucemia canina: Casos diagnosticados no período de 2003 a 2006
- 14 » Técnica para cateterização do espaço subaracnóideo em ovinos
- 15 » Avaliação da adaptação de ovelhas ao manejo de ordenha mecânica através do comportamento

TÉCNICA PARA CATETERIZAÇÃO DO ESPAÇO SUBARACNÓIDEO EM OVINOS¹

JOÃO CARLOS BOCHINI², JEFFERSON DOUGLAS SOARES ALVES³, ANGÉLICA DO ROCIO CARVALHO SILVA³,
 MARIANA SINTONI NABI⁴, ANTONIO CARLOS DEFAVARI JUNIOR⁵ LUCIANO FREITAS FELICIO⁶, JOÃO FLÁVIO
 PANATTONI³, ERICA ENGELBERG TEIXEIRA DA SILVA HUCKE³

¹Projeto de Pesquisa – Jovem Pesquisador FAPESP (Proc. N° 04/07676-0)

²Mestrando do Departamento de Patologia Experimental e Comparada, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. Av. Prof. Orlando Marques Paiva, 87, São Paulo/SP, 05508-900.

³Docente do Curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário da Fundação de Ensino Octávio Bastos. Av. Dr. Octávio da Silva Bastos s/n°, São João da Boa Vista/SP, 13874-159.

⁴Técnica do Laboratório de Fisiologia e Farmacologia Animal do Centro Universitário da Fundação de Ensino Octávio Bastos. Av. Dr. Octávio da Silva Bastos s/n°, São João da Boa Vista/SP, 13874-159.

⁵Graduando do Curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário da Fundação de Ensino Octávio Bastos. Av. Dr. Octávio da Silva Bastos, s/n°, São João da Boa Vista/SP, 13874-159.

⁶Docente do Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. Av. Prof. Orlando Marques Paiva, 87, São Paulo/SP, 05508-900.

RESUMO: Técnicas para coletar líquido cefalorraquidiano (LCR) em algumas espécies animais são utilizadas há algum tempo. Porém, as técnicas existentes apresentam restrições quer metodológicas quer para o bem-estar animal, as quais precisam ser minimizadas. Desta forma, foram utilizadas 6 ovelhas múltiparas (*Ovis aries*) da raça Santa Inês para a obtenção de LCR por meio de uma punção do espaço subaracnóideo com o auxílio de um cateter epidural entre as vértebras cervicais C1 e C2 fixado na epiderme. Após a recuperação anestésica dos animais, realizou-se a colheita de LCR por 5 dias consecutivos. Foram obtidos 3 ml de LCR por animal/dia. Durante todo o período experimental, as ovelhas não apresentaram alterações neurológicas e nem sinais de infecção, assim como não foram observadas alterações das características físicas do LCR. Conclui-se que o método para a cateterização do espaço subaracnóideo apresentado acima é viável e eficaz para obtenção contínua de LCR por períodos prolongados, evitando-se assim métodos mais invasivos com o mesmo objetivo.

PALAVRAS-CHAVE: líquido cefalorraquidiano, espaço subaracnóideo, ovinos

INTRODUÇÃO

Há algum tempo, várias técnicas têm sido utilizadas para colher o líquido cefalorraquidiano (LCR) quer através do acesso aos ventrículos cerebrais quer por outras vias (BALDWIN et al., 1985; KENDRICK et al., 1986; LIGNEREUX et al., 1991; YAKSH e RUDY, 1976). Usualmente, essas técnicas são utilizadas em pesquisas nas áreas de fisiologia e farmacologia em várias espécies animais como, por exemplo, bovinos, ovinos e roedores. Porém, muitas dificuldades podem ser encontradas dependendo da técnica escolhida, tanto no momento da implantação dos cateteres cirurgicamente, quanto na sua manutenção e viabilidade para as colheitas. Assim, o principal objetivo desse experimento foi padronizar uma técnica de cateterização do espaço subaracnóideo em ovinos para obtenção de líquido cefalorraquidiano, o qual será utilizado para quantificações hormonais em um modelo experimental "*in vivo*".

TÉCNICAS DE COLHEITA DE LÍQUIDO CEFALORRAQUIDIANO

Como já mencionado anteriormente, várias técnicas têm sido utilizadas para coletar LCR. Dentre essas técnicas pode-se citar a cateterização do recesso olfatório do ventrículo lateral (LIGNEREUX et al., 1991), a canulação do ventrículo lateral e cisterna magna (BALDWIN et al., 1985; KENDRICK et al., 1986) e ainda a implantação de um cateter epidural no ventrículo lateral (YAKSH e RUDY, 1976). De maneira geral, todas essas técnicas são eficazes para a colheita de LCR, porém são técnicas bastante invasivas e na maioria das vezes necessitam de um aparato técnico-cirúrgico relativamente sofisticado. Outra técnica bastante utilizada e menos invasiva é a punção do espaço subaracnóideo, que pode ser utilizada tanto a colheita de LCR para diagnóstico laboratorial (COWELL et al., 1999), como injeção de contraste radiográfico com fim diagnóstico, técnica esta conhecida como mielografia (SCHEBITZ e WILKENS, 1994).

LÍQUIDO CEFALORRAQUIDIANO

O LCR, límpido e incolor, é formado em grande parte a partir do plasma, por ultrafiltração através da barreira hematoencefálica, composta de células endoteliais vasculares. O LCR possui uma concentração mais elevada de íons potássio e cálcio e uma concentração mais baixa de íons sódio, magnésio e cloreto em comparação com o plasma; também é mais deficiente em glicose e, mais importante, contém pouca proteína, já que a barreira é impermeável a grandes moléculas, dentre as quais incluem-se aquelas de muitos antibióticos e outros fármacos. Além do seu papel mecânico, o LCR protege o encéfalo por sua capacidade de tamponamento químico, que proporciona um meio mais estável. Transporta, também, nutrientes, elimina produtos de degradação e serve como meio de difusão de substâncias neuroendócrinas e neurotransmissoras (DYCE et al., 1997; CUNNINGHAM, 1999; GOULD e ZINGG, 2003).

O LCR é produzido continuamente, numa velocidade de cerca de 30 ml por hora no cão, e circula primeiro pelo sistema ventricular, sendo levado adiante pela pressão de filtração e pela atividade ciliar do revestimento ependimário. Em seguida, escapa do interior do encéfalo através das aberturas laterais do quarto ventrículo. O LCR banha o encéfalo e a medula antes de retornar ao sangue, predominantemente através das granulações aracnóides (DYCE et al., 1997; GUYTON, 1992; CUNNINGHAM, 1999).

Através dos constituintes do LCR é possível detectar algumas patologias do sistema nervoso central. Os exames realizados com o LCR se baseiam tanto no seu aspecto físico (cor, coagulação, aspecto, pH, densidade e citologia) como no seu aspecto químico (proteína total, glicose, creatinafosfoquinase, aspartato amino transferase, lactato desidrogenase, uréia e eletrólitos de uma maneira geral) e os valores encontrados serão confrontados com os valores normais para cada espécie. Dentre as patologias que podem ser identificadas através do exame do LCR, podem-se citar alterações congênitas como a hidrocefalia, infecções como cinomose, peritonite infecciosa felina, criptococose, toxoplasmose, além de neoplasias cerebrais e da medula espinhal (COWELL et al., 1999). Experimentalmente, alguns pesquisadores têm utilizado o LCR para realizar quantificações de hormonais e de neurotransmissores (KENDRICK et al., 1986; GOULD e ZINGG, 2003).

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos nas dependências da do Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária do Centro Universitário da Fundação de Ensino Octávio Bastos (UNIFEOB) utilizando ovelhas (*Ovis aries*) leiteiras da raça Santa Inês com peso e número de lactações semelhantes. O protocolo experimental está de acordo com as Normas Éticas da UNIFEOB e da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP-SP.

PROTOCOLO ANESTÉSICO PARA CATETERIZAÇÃO DO ESPAÇO SUBARACNÓIDEO

As ovelhas que foram submetidas a cateterização do espaço subaracnóideo passaram por um jejum hídrico e alimentar obtido da seguinte maneira: três dias antes do procedimento anestésico, a alimentação foi reduzida pela metade e a água permaneceu à vontade. Dois dias antes do procedimento anestésico, a alimentação foi retirada totalmente e a água permaneceu à vontade. Um dia antes do procedimento anestésico, foi retirado o alimento e água.

Após a realização do jejum completo, foi realizado o protocolo anestésico composto por uma medicação pré-anestésica (MPA), contendo uma associação anestésica de acepromazina (Acepran 2%), na dose de 0,2 mg/Kg + meperidina (DolosalÒ), na dose de 2 mg/Kg, aplicada de forma intramuscular. Por volta de 20 minutos depois da MPA, foi realizado o procedimento de indução, através de uma associação anestésica contendo quetamina (VetasetÒ), na dose de 10 mg/Kg + xilazina (RompumÒ), na dose de 0,5 mg/Kg, aplicada de forma intramuscular. Assim que o animal apresentou perda do reflexo laringotraqueal, foi realizada a intubação com uma sonda endotraqueal número 10 possibilitando a manutenção anestésica inalatória através do uso do halotano (TanohaloÒ).

PROCEDIMENTO PARA CATETERIZAÇÃO DO ESPAÇO SUBARACNÓIDEO

Para a obtenção de LCR das ovelhas, foi necessária a introdução de um cateter epidural no espaço subaracnóideo. Após o animal apresentar um plano anestésico adequado, este foi posicionado em decúbito lateral direito, onde foi realizada a tricotomia e anti-sepsia da região cervical e posterior introdução do mandril de um cateter intravenoso (14G) entre as vértebras cervicais C1 e C2, até atingir-se o espaço subaracnóideo e observar-se a saída do LCR. Posteriormente foi introduzida parte do cateter epidural 16G (aproximadamente 12 cm) através do mandril do cateter intravenoso até o espaço acima citado. Em seguida fez-se a administração de contraste radiográfico positivo não iônico a base de iodixanol (Visipaque ®), e realizou-se um exame radiográfico da região cervical, para ter certeza da localização do cateter epidural. Após essa confirmação, retirou-se o cateter intravenoso do forame magno, deixando somente o cateter epidural no espaço subaracnóideo para se ter acesso de forma periódica ao LCR. O cateter foi preenchido com água deionizada.

Posteriormente realizou-se uma sutura tipo "sandália romana" (fio de nylon 2-0 agulhado), fixando-se o cateter epidural na epiderme, de forma a garantir que este não escape. Para proteger e alojar o cateter fixado no pescoço foi realizada uma bandagem com ataduras e esparadrapo em volta do pescoço do animal. Por se tratar de um procedimento invasivo, e que de certa forma, apresenta um risco de contaminação microbiana no espaço subaracnóideo, optou-se por utilizar-se da antibioticoterapia com benzilpenicilina benzatina - 1.200.000 U (BenzetacilÒ), aplicada de forma intramuscular profunda, a cada 24 horas, na dose de 40.000 UI/Kg, durante 3 dias.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi possível realizar a colheita de LCR em 4 dos 6 animais submetidos a cateterização do espaço subaracnóideo. Após a recuperação anestésica dos animais, as colheitas de LCR foram obtidas por 5 dias consecutivos, sendo colhidos 3 ml de LCR por animal/dia, quantidade suficiente para a realização de exames laboratoriais.

Durante todo período experimental, as ovelhas não apresentaram alterações neurológicas e nem sinais de infecção, assim como não foram observadas alterações das características físicas do LCR.

CONCLUSÕES

Os resultados encontrados permitiram concluir que o método para a cateterização do espaço subaracnóideo apresentado é viável e eficaz para obtenção contínua de LCR por períodos prolongados, evitando-se assim métodos mais invasivos com o mesmo objetivo. Garante-se desta forma, o bem-estar e a possibilidade de realizar colheitas de LCR *in vivo* por um período prolongado em ovelhas de maneira a interferir o menos possível na vida dos animais, uma vez que os mesmos ficam livres e não precisam ser separados do resto do rebanho.

REFERÊNCIAS

- BALDWIN, B.A.; HEAVENS, R.P.; KENDRICK, K.M.; PARROTT, R.F.; SHARMAN, D.F.; THORNTON, S.N. A method of withdrawal of c.s.f. or infusion of substances into the lateral cerebral ventricles of conscious pigs and sheep. *Journal of Physiology*, Proceedings of the Physiological Society, v. 371, p. 9P, 1985.
- COWELL, R.L.; TYLER, R.D.; MEINKOTH, J.H.; *Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat*. 2 ed. St Louis: Mosby, 1999. 125-141p.
- CUNNINGHAM, J.G.; *Tratado de Fisiologia Veterinária*. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1999.
- DYCE, K. M., SACK, W. O., WENSING, C. J. G. *Tratado de Anatomia Veterinária*. Rio de Janeiro: Guanabara Kooqan. 1997. 663 p.

- GOULD, B. R.; ZINGG, H. H. Mapping oxytocin receptor gene expression in the mouse brain and mammary gland using an oxytocin receptor – LacZ reporter mouse. **Neuroscience**, v. 122, n. 1, p. 155-167, 2003.
- GUYTON, A.C.; **Tratado de Fisiologia Medica**. 8 ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1992.
- KENDRICK, K.M.; KEVERNE, E.B.; BALDWIN, B.A.; SHARMAN, D.F. Cerebrospinal fluid levels of acetylcholinesterase, monoamines and oxytocin during labour, parturition, vaginocervical stimulation, lamb separation and suckling in sheep. **Neuroendocrinology**, v. 44, n. 2, p. 149-156, 1986.
- LIGNEREUX, Y.; REGODON, S.; MARTY, M.H.; FRANCO, A. Une nouvelle voie d'abord du ventricule latéral du cerveau chez la bebris (Ovies aries). **Canadian Journal of Veterinary Research**, 55: 382-383, 1991.
- SCHEBITZ, H.; WILKENS, H.; **Atlas de Anatomia Radiografica Canina Y Felina**. 4 ed. Barcelona:Grass-Iatros, 1994. 50-55p.
- YAKSH T.L.; RUDY T.A. Chronic catheterization of the spinal subarachnoid space. **Physiology and Behavior**; v.17, n.6, p.1031-6, 1976.