

**UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOEXPERIMENTAÇÃO**

***STATUS OXIDATIVO DE CÃES COM COMPRESSÃO MEDULAR
TORACOLOMBAR TRAUMÁTICA***

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Ricardo Pimentel Oliveira

**Passo Fundo, RS, Brasil
2014**

**STATUS OXIDATIVO DE CÃES COM COMPRESSÃO MEDULAR
TORACOLOMBAR TRAUMÁTICA
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

Ricardo Pimentel Oliveira

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Bioexperimentação, Área de Concentração em Bioexperimentação, da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Passo Fundo (UPF), como requisito parcial para a obtenção do grau de **Mestre em Bioexperimentação**.

Orientador: Prof. Dr. Leonardo Jose Gil Barcellos

**Passo Fundo, Brasil
2014**

**UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOEXPERIMENTAÇÃO**

A comissão examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação de Mestrado

***Status* oxidativo de cães com compressão medular toracolombar traumática**

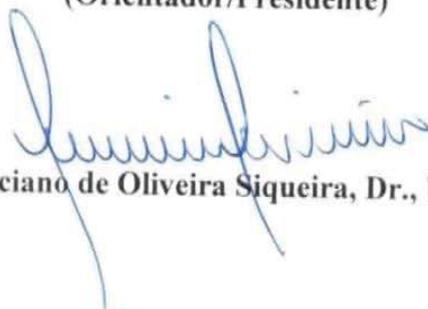
Elaborada por
Ricardo Pimentel Oliveira

Como requisito parcial para a obtenção do grau de
Mestre em Bioexperimentação

Comissão Examinadora



**Leonardo José Gil Barcellos, Dr., UPF
(Orientador/Presidente)**



Luciano de Oliveira Siqueira, Dr., UPF



Maurício Veloso Brun, Dr., UFSM

CIP – Catalogação na Publicação

O48s Oliveira, Ricardo Pimentel
Status oxidativo de cães com compressão medular
toracolombar traumática / Ricardo Pimentel Oliveira. –
2014.
51 f. : il., color. ; 30 cm.

Orientador: Prof. Dr. Leonardo José Gil Barcellos.
Dissertação (Mestrado em Bioexperimentação) –
Universidade de Passo Fundo, 2014.

1. Cão - Tratamento. 2. Medula espinhal - Ferimentos e
lesões. I. Barcellos, Leonardo José Gil, orientador. II.
Título.

CDU: 636.7

Catalogação: Bibliotecária Schirlei T. da Silva Vaz - CRB 10/1364

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela vida e família que tenho.

A minha esposa Luciane por todo amor, apoio e compreensão incondicional. Sem você não teria conseguido!

A minha filha Maria Luiza que foi fonte inspiradora em todos os momentos, seu sorriso foi meu alicerce para vencer as dificuldades.

Ao meu orientador, Prof. Leonardo Barcellos, pela receptividade, paciência, dedicação, disponibilidade e por acreditar num sonho. Um exemplo a ser seguido.

A Prof. Heloísa Barcellos pela amizade, conselhos e auxílios.

Agradeço a minha co-orientadora, Daiane Ferreira, pela amizade e disponibilidade em todos os momentos.

A Gessi Koakoski pela amizade, apoio e companheirismo dedicado a mim.

A toda equipe do Laboratório de Fisiologia de Peixes da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da UPF pela ajuda durante os processamentos das amostras.

Aos residentes do Hospital Veterinário da Universidade de Passo Fundo, Bianca Medeiros, Aparício de Mendes Quadros e Indáia Bisognin pelo apoio na seleção dos animais utilizados.

A Universidade de Passo Fundo pelo auxílio financeiro.

A todos que participaram desta caminhada e torceram pelo meu sucesso, muito obrigado!

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho para minha esposa Luciane e minha filha Maria Luiza
pelo apoio incondicional em todos os momentos!
Sem vocês duas não conseguiria alcançar este objetivo.
Amo vocês!!

EPIGRAFE

“Loucura? Sonho? Tudo é loucura ou sonho no começo.
Nada do que o homem fez no mundo teve início de outra maneira.
Mas já tantos sonhos se realizaram que não temos
o direito de duvidar de nenhum”

Monteiro Lobato

ÍNDICE

LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE TABELA	x
LISTA DE ABREVIATURAS	xi
RESUMO	xii
ABSTRACT	xiii
1. INTRODUÇÃO	14
2. REVISÃO DA LITERATURA	15
2.1 TRAUMA MEDULAR	15
2.2 DIAGNÓSTICO DA COMPRESSÃO MEDULAR	18
2.3 ESTRESSE OXIDATIVO	20
2.4 DEFESAS ANTIOXIDANTES	22
2.4.1 Componentes do sistema antioxidante	23
2.5 PROTEÍNAS DE FASE AGUDA	24
3. CAPÍTULO 1. <i>Status</i> oxidativo de cães com compressão medular toracolombar traumática	26
Resumo	27
Abstract	27
Introdução	28
Material e métodos	29
Resultados e discussões	31
4. CONCLUSÕES	36
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	37
6. REFERÊNCIAS	38
ANEXOS	42

LISTA DE FIGURAS

2 REVISÃO DA LITERATURA

FIGURA 1: Segmentos da medula espinhal e suas localizações em relação às vértebras em um cão.	15
FIGURA 2: Esquema do disco intervertebral normal, protuído e extrusado.	16
FIGURA 3: Principais eventos vasculares, bioquímicos e inflamatórios envolvidos no trauma agudo à medula espinhal.....	18
FIGURA 4: Mielografia lombar em um canino sem evidências de compressão medular.	19
FIGURA 5: Tomografia computadorizada da coluna lombar em um canino evidenciando compressão medular.....	19
FIGURA 6: Ressonância magnética lombar em um canino evidenciando compressão medular.	19
FIGURA 7: Formação de radicais livres e mecanismos antioxidantes biológicos.....	21
FIGURA 8: Esquema de produção das proteínas de fase aguda.....	25

3 CAPÍTULO 1

FIGURA 9: Mielografias dos cães lesionados, setas indicam as compressões medulares.....	32
FIGURA 10: Níveis de TBARS (nmol MDA mg ⁻¹ prot) dos animais lesionados e hígidos. Os valores foram comparados usando teste t de Student. Homogeneidade de variância determinada pelo teste de Hartley e normalidade pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Diferenças com valores de p<0,05 foram considerados estatisticamente significativos. A análise estatística foi realizada utilizando o programa estatístico GraphPad InStat (GraphPad Software, San Diego, CA, EUA).....	34
FIGURA 11: Atividade da Catalase (CAT) (K/gHb/min) dos animais do grupo de cães lesionados e controle. Os valores da atividade da CAT foram comparados usando teste de Mann-Whitney, uma vez que os dados não apresentaram distribuição normal pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. A homogeneidade de variância foi determinada pelo teste de Hartley. Diferenças com valores de p<0,05 foram considerados estatisticamente significativos. A análise estatística foi realizada utilizando o programa estatístico GraphPad InStat (GraphPad Software, San Diego, CA, EUA).	35
FIGURA 12: Conteúdo de Glutathiona reduzida (GSH) (µmol GSH/mg proteína) do grupo de cães lesionados e controle. Os valores de GSH foram comparados usando teste t de Student. A homogeneidade de variância foi determinada pelo teste de Hartley, e normalidade pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Diferenças com valores de p<0,05 foram considerados estatisticamente significativos. A análise estatística foi realizada utilizando o programa estatístico GraphPad InStat (GraphPad Software, San Diego, CA, EUA).	36

LISTA DE TABELA

TABELA 1: Resultados Proteína C reativa do grupo de cães lesionado e controle.....33

LISTA DE ABREVIATURAS

ALT	Alanina aminotransferase.
Ca	Cálcio.
CAT	Enzima catalase.
C1-C7	Primeira até sétima vértebra cervical.
C2-C3	Segunda até terceira vértebra cervical.
DNA	Ácido desoxirribonucleico.
EROs	Espécies reativas de oxigênio.
FA	Fosfatase alcalina.
GC	Grupo controle.
GL	Grupo cães lesionados.
GSH	Enzima glutathiona reduzida.
GSH-Px	Enzima glutathiona peroxidase.
GSH-Rd	Enzima glutathiona redutase.
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio.
HV	UPF - Hospital Veterinário da Universidade de Passo Fundo.
IL 1	Interleucina 1.
IL 6	Interleucina 6.
K	Potássio.
LCR	Líquido cerebroorraquidiano.
LL	Projeção latero-lateral.
L1-L7	Primeira até sétima vértebra lombar.
L4-L5	Quarta até quinta vértebra lombar.
L5-L6	Quinta até sexta vértebra lombar.
Na	Sódio.
MDA	Malondialdeido.
ml/Kg	Mililitro por quilograma.
NMDA	Receptor N-metil-D-aspartato.
OH	Radical hidroxil.
O ₂ ⁻	Ânion superóxido.
RM	Ressonância Magnética.
RNA	Ácido ribonucleico.
SNC	Sistema nervoso central.
SOD	Enzima superóxido dismutase.
SOD CuZn	Enzima superóxido dismutase formada por cobre e zinco.
SOD EC	Enzima superóxido dismutase formada por tetrâmero de zinco e cobre.
SOD Mn	Enzima superóxido dismutase formada por tetrâmero de manganês.
SOD1	Enzima superóxido dismutase um.
SOD2	Enzima superóxido dismutase dois.
SOD3	Enzima superóxido dismutase três.
S1-S3	Primeira até terceira vértebra sacral.
TBARS	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico.
TC	Tomografia computadorizada.
TNF	Fator de necrose tumoral.
T1-T13	Primeira até décima terceira vértebra torácica.
UPF	Universidade de Passo Fundo.
VD	Projeção ventrodorsal.

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Bioexperimentação
Universidade de Passo Fundo

STATUS OXIDATIVO DE CÃES COM COMPRESSÃO MEDULAR
TORACOLOMBAR TRAUMÁTICA
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Autor: Ricardo Pimentel Oliveira
Orientador: Leonardo José Gil Barcellos
Passo Fundo, 12 de Setembro de 2014

Com a crescente incidência de lesões neurológicas provocadas por traumatismos medulares, objetivou-se identificar o status oxidativo em cães com compressão medular toracolombar traumática e estabelecer se há um padrão em comum nas alterações avaliadas. Para tanto foram quantificados agentes pró-oxidantes, antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos em cães com lesão medular toracolombar traumática. A pesquisa foi desenvolvida no HV-UPF onde um grupo foi constituído de oito cães com lesão medular (GL), com histórico de ataxia, diminuição/perda proprioceptiva, paresia dos membros posteriores e compressão epaxial toracolombar positiva. Para a confirmação da compressão, todos os cães do GL foram submetidos à mielografia a partir da deposição de contraste não iônico no espaço subaracnóideo. O segundo grupo foi composto por oito cães hígidos (GC), clinicamente sadios com hemograma, perfil bioquímico renal e hepático dentro dos valores de referência para a espécie. Os cães dos dois grupos foram submetidos à coleta de sangue para quantificar o status oxidativo através da TBARS, CAT e GSH. Também foi mensurada uma proteína de fase aguda de caráter positivo. Os cães lesionados apresentaram valores superiores de TBARS quando comparados aos do grupo dos pacientes hígidos. Os valores encontrados da enzima CAT foram similares para os dois grupos e a GSH identificou resultados inferiores no grupo de cães com trauma medular agudo em relação aos hígidos. A proteína de fase aguda apresentou valores similares para os dois grupos. Assim, esta pesquisa identificou a ocorrência de estresse oxidativo, ocasionado por um aumento da lipoperoxidação e a atuação do sistema de defesa celular antioxidante no combate as EROs em cães com compressão medular toracolombar traumática.

Palavras-chave: estresse oxidativo, compressão medular, TBARS, catalase.

ABSTRACT

**Master's Dissertation
Programa de Pós-Graduação em Bioexperimentação
Universidade de Passo Fundo**

**OXIDATIVE STATUS OF DOGS WITH SPINAL CORD COMPRESSION
THORACOLUMBAR TRAUMATIC**

Author: Ricardo Pimentel Oliveira
Advisor: Leonardo Jose Gil Barcellos
Passo Fundo, September 12, 2014

With the increasing incidence of neurological injuries caused by spinal cord injuries, the aim of this study was to identify the oxidative status in dogs with spinal cord thoracolumbar trauma and establish if there is a pattern in common in the evaluated changes. To this end were quantified pro-oxidants agents, enzymatic antioxidants and non-enzymatic in injury dogs with thoracolumbar spinal cord acute. The research was developed in HV-UPF where a group was composed of eight dogs with spinal cord injury (IG), with a history of ataxia, decreased/proprioceptive loss, paresis of hind limbs and lumbar epaxial compression positive. For the confirmation of the compression, all dogs from the SCI were submitted to myelography from the deposition of non-ionic contrast in the subarachnoid space. The second group was composed of eight healthy dogs (CG), clinically healthy with blood count, renal biochemical profile and hepatic within the reference values for the species. The dogs of the two groups were submitted to blood sampling to quantify the oxidative status through the TBARS, CAT and GSH. It was also measured an acute-phase protein of positive character. The dogs injured showed higher values of TBARS when compared to the group of healthy patients. The values found by the CAT enzyme were similar for the two groups and the GSH identified lower results in the group of dogs with spinal cord trauma acute in relation to the healthy. The acute-phase protein showed similar values for the two groups. Thus, this research has identified the occurrence of oxidative stress, caused by an increase in lipid peroxidation and the activity of the defense system cellular antioxidant in the fight against the reactive oxygen species (ROS) in dogs with spinal cord compression thoracolumbar trauma.

Keywords: oxidative stress, compression of the spinal cord, TBARS, catalase.

1 INTRODUÇÃO

A casuística de cães com trauma medular agudo é cada vez maior, esse tipo de injúria pode causar lesões neurológicas de caráter irreversível e deixar grandes deficiências motoras que limitam a qualidade de vida dos indivíduos. Com a proximidade entre animais de companhia e humanos, algumas semelhanças entre as duas espécies são encontradas. Sedentarismo, sobrepeso, acidentes automobilísticos são alguns fatores em comum que podem causar danos compressivos à medula espinhal⁴².

O trauma medular pode ser causado por fatores: endógenos e exógenos. Dois eventos ocorrem na medula após o trauma, sendo primeiro o dano mecânico que causa compressão medular e desencadeia o segundo, que é responsável por alterações do leito vascular, inflamação e produção de radicais livres na medula iniciando o estresse oxidativo⁴.

A formação de radicais livres na medula é relacionada como a principal causa de degeneração do SNC em pacientes traumatizados⁹. A agilidade no diagnóstico das lesões medulares através da avaliação clínica e exames complementares são apoios importantes para localização precisa do trauma medular, minimizando as limitações oriundas das compressões medulares²².

Algumas das pesquisas realizadas para verificar o status oxidativo no trauma agudo de medula foi realizada pela mensuração de TBARS (Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico) e pela atividade da enzima catalase após compressão medular provocada cirurgicamente em camundongos com intuito de estabelecer se há estresse oxidativo em trauma agudo de medula e qual a resposta das alterações encontradas no balanço oxidativo a um determinado tratamento medicamentoso^{3,47,1}.

O objetivo do presente estudo foi identificar e localizar a compressão medular toracolombar aguda de cães, avaliar o status oxidativo e verificar se há um padrão comum nas alterações encontradas. O status oxidativo foi avaliado por: TBARS, catalase e GSH. Neste aspecto a pesquisa buscou a possibilidade de usar os resultados obtidos na tentativa de caracterizar a gravidade da lesão. Ainda, avaliou-se a resposta de fase aguda, através da quantificação de uma proteína C reativa.

Com base no exposto, esta pesquisa auxilia a compreender melhor os danos provocados pela liberação de radicais livres nas lesões compressivas da medula espinhal. Este conhecimento torna-se importante apoio na busca por métodos que auxiliem a recuperação de animais com lesões medulares para diminuir as limitações e melhorar a qualidade de vida.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 TRAUMA MEDULAR

A medula espinhal pode ser dividida em: cervical (C1-C7), torácica (T1-T13), lombar (L1-L7), sacral (S1-S3) e coccígea⁴² (figura 1). As compressões toracolombares representam 84 a 86% dos problemas de discos intervertebrais em cães⁵⁶. Os discos intervertebrais são amortecedores constituídos de tecido elástico entre os corpos vertebrais a partir de C2 e C3 até as vértebras coccígeas. Eles absorvem choques e facilitam a movimentação da coluna vertebral. Os discos possuem uma porção externa fibrosa, *annulus fibrosus*, formada por camadas fibrocartilaginosa e uma porção interna, o *nucleus pulposus*, constituída por proteoglicanos, colágeno, célula mesenquimais e água que sugere o aspecto de gelatina¹¹.

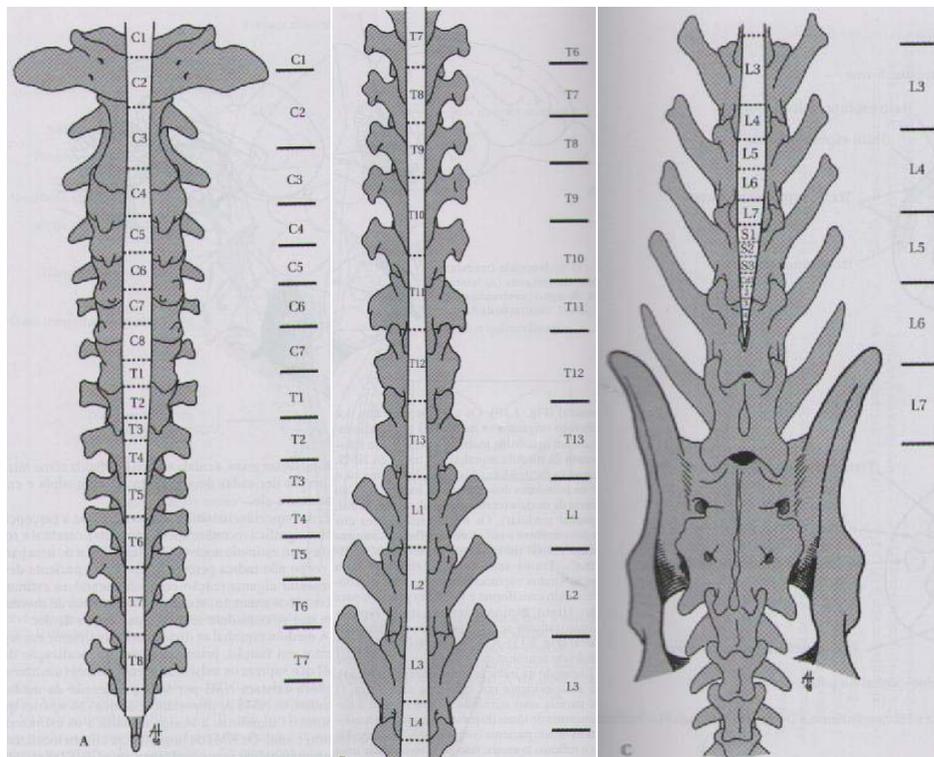


Figura 1: Segmentos da medula espinhal e suas localizações em relação às vértebras, em um cão. Fonte: Dewey, 2006.

O trauma agudo de medula em cães é uma patologia comum causada por fatores endógenos como protrusão, extrusão de disco (figura 2) e embolia fibrocartilaginosa; ou exógenos como fraturas, luxações e subluxações vertebrais provenientes de acidentes automobilísticos⁴². A concussão é o impacto agudo na medula espinhal, comumente provocada por extrusão de disco intervertebral, fraturas, luxações e subluxações vertebrais³⁴

iniciando a cascata de eventos que levam a degeneração da medula espinhal. A substância cinzenta é mais vulnerável a lesões concussivas em relação à branca, pois é mais rígida e frágil².

A doença do disco intervertebral é uma condição degenerativa de origem desconhecida que resulta no acúmulo de material discal no canal medular⁵⁵. A faixa etária de maior incidência está entre três e cinco anos de idade⁴², porém em raças condrodistróficas a degeneração pode iniciar antes do primeiro ano de vida⁵⁵. Hansen descreveu a ocorrência de dois tipos de hérnia de disco em cães (tipo I e II). A herniação de disco do tipo I ocorre com a degeneração e ruptura do anel fibroso dorsal e extrusão do núcleo pulposo no canal espinhal. A do tipo II caracteriza-se pela protrusão do disco intervertebral, sem que ocorra ruptura completa do anel fibroso³⁵. A embolia fibrocartilaginosa é causada pela embolização do suprimento arterial ou venoso, constituído de fibrocartilagem oriunda do núcleo pulposo para um segmento da medula espinhal¹⁵. A sintomatologia dos pacientes com doença de disco intervertebral aguda varia de dor em um determinado segmento da coluna até perda parcial ou total dos movimentos dos membros⁴². Geralmente em doenças degenerativas da medula espinhal, observa-se inicialmente déficit proprioceptivo, seguido de déficit motor, finalizando com ausência de nocicepção dos membros¹⁵.

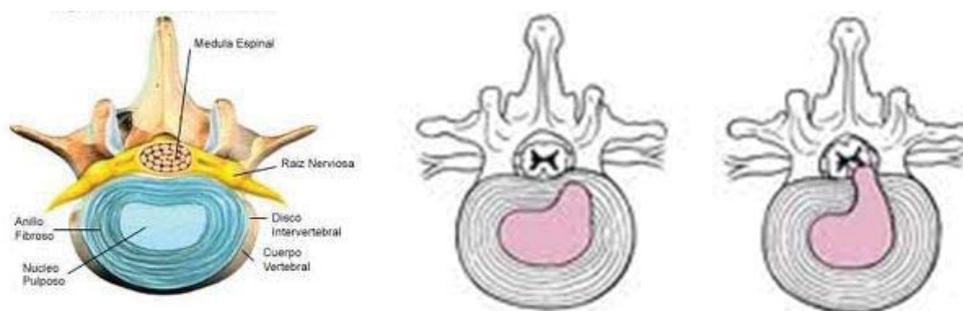


Figura 2: Esquema do disco intervertebral normal, protuído e extrusado. Fonte: wikneurocirurgia.com.

Os eventos subsequentes ao trauma inicial são divididos em primários e secundários (figura 3). Os eventos primários iniciam logo após a lesão e são aqueles decorridos pela compressão, laceração, tração mecânica da medula causando a destruição dos axônios, porém com muita frequência, estes insultos não são suficientemente fortes para causar injúrias permanentes, mas iniciam eventos secundários que agravam estas lesões⁴. Os eventos secundários iniciam minutos ou dias após o trauma e caracterizam-se por isquemia do leito

vascular da medula com posterior reperfusão tecidual, formação de radicais livres, aumento na concentração intracelular de Ca^{++} , inflamação, necrose e apoptose⁴⁷.

A isquemia no local lesado após o trauma é causada pela interrupção da irrigação sanguínea arterial para o parênquima medular pelo aumento da concentração de substâncias vasoconstritoras ($\text{PGF2}\alpha$ e tromboxano A2), somado a hipotensão sistêmica pode levar a isquemia neural¹⁵, afetando principalmente a substância cinzenta que é mais vascularizada quando comparada com a substância branca. Ocorre assim desequilíbrio na manutenção do gradiente iônico nas membranas das células afetadas, o que dificulta a obtenção de oxigênio e energia através das membranas e leva a necrose celular²⁷. A redução da perfusão do parênquima medular lesado diminui o aporte de oxigênio para os neurônios causando dano a membrana celular permitindo a entrada de substâncias destrutivas para essas células⁴⁶.

A reperfusão tecidual após a isquemia, conhecida como fenômeno isquemia-reperfusão, é formadora de radicais livres causando lesão das membranas celulares dos neurônios⁴⁹. Este fenômeno, provavelmente, é o mecanismo mais importante para a produção de radicais livres pelas células que sofreram isquemia⁶¹.

A despolarização das membranas celulares a partir do trauma mecânico libera grande quantidade de glutamato que é o principal neurotransmissor da sinapse excitatória do SNC. A comunicação do glutamato com o receptor N-metil-D-aspartato (NMDA) promove o influxo celular de Ca^{++} , Na^+ e K^+ , levando a morte celular principalmente pelo excesso de Ca^{++} que é ativador das proteases calpaína e caspase que iniciam a morte celular e a reação inflamatória pela ativação da fosfolipase A, desencadeando a produção de leucotrienos, prostaglandinas, tromboxanos e histamina³⁰.

Atualmente as lesões medulares em cães são frequentes fontes causadoras de incapacitações, restringindo a interação destes indivíduos no meio em que vivem⁴².

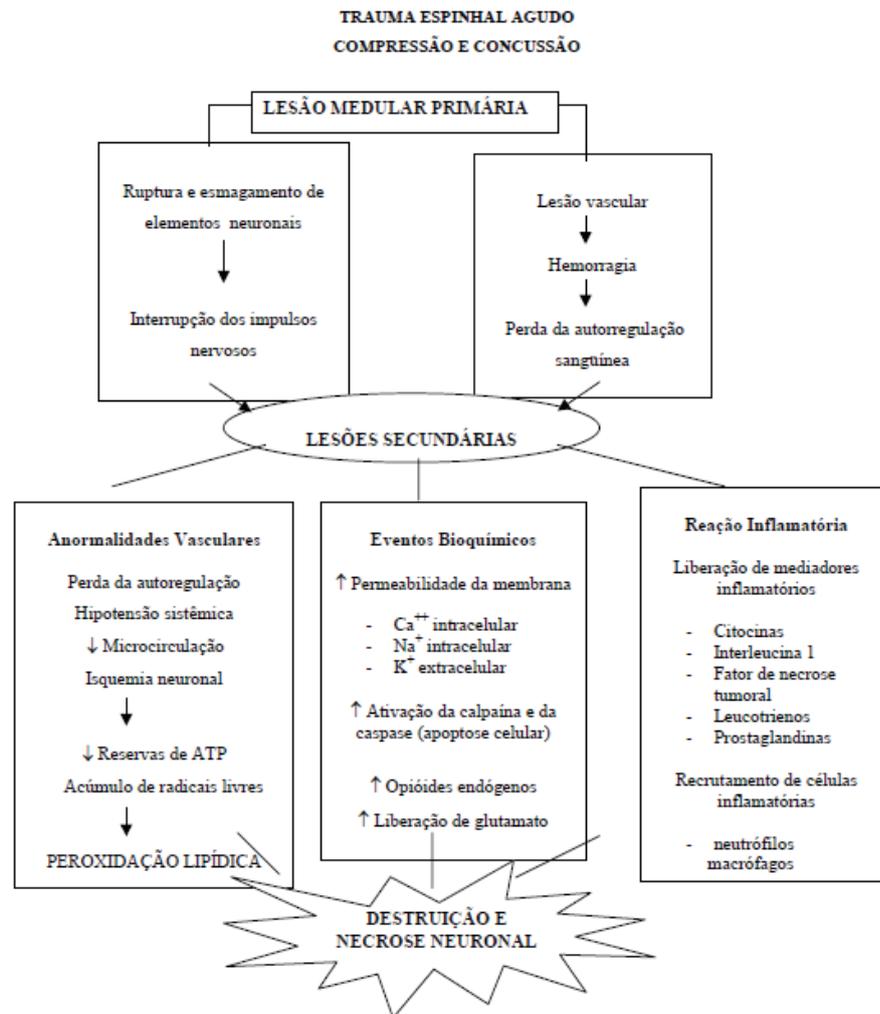


Figura3: Principais eventos vasculares, bioquímicos e inflamatórios envolvidos no trauma agudo à medula espinhal de cães e gatos. Fonte: Ciências Agrárias, Londrina, v. 28, n. 1, p. 121, jan./mar. 2007.

2.2 DIAGNÓSTICO DA COMPRESSÃO MEDULAR

O diagnóstico de um paciente com compressão medular é feito através da anamnese, avaliação clínica geral, exame neurológico e obtenção de imagens da coluna⁴².

A inspeção clínica serve para descartar moléstias que apresentem sintomas semelhantes a doenças medulares como rupturas de ligamento cruzado cranial e insuficiência cardíaca²².

O exame neurológico tem como função estabelecer e localizar a doença neurológica por meio da avaliação do estado mental, das reações posturais, dos reflexos espinhais associados aos membros torácicos e pélvicos¹¹.

Os exames de imagens são de grande valia para a localização exata da lesão. Os mais utilizados rotineiramente são o raio-x simples e a mielografia (figura 4). A radiografia simples

da coluna permite avaliar o alinhamento e a densidade dos corpos vertebrais, porém não permite avaliar a medula, o que é essencial para estabelecer o diagnóstico⁴⁸.

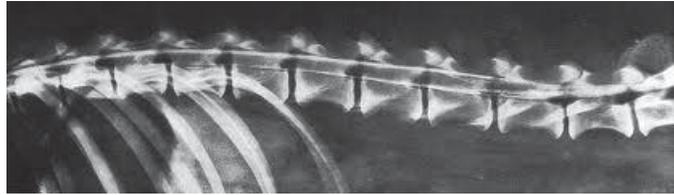


Figura 4: Mielografia lombar (LL) em um canino sem evidências de compressão medular. Fonte: Oliveira, R.P., 2014.

Por vários anos a mielografia foi considerada a melhor abordagem para a identificação das compressões medulares, porém na atualidade a tomografia computadorizada (TC) (figura 5) e a ressonância magnética (RM) (figura 6) são opções menos invasivas que proporcionam melhor identificação da lesão medular quando comparadas com a mielografia. Acesso restrito, técnicos em imagem especializados e elevado valor de manutenção dos equipamentos são as maiores desvantagem da TC e RM atualmente⁵⁵.

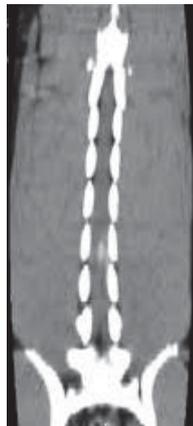


Figura 5: Tomografia computadorizada da coluna lombar (VD) em um canino evidenciando compressão medular em L4. Oliveira, R.P., 2014.

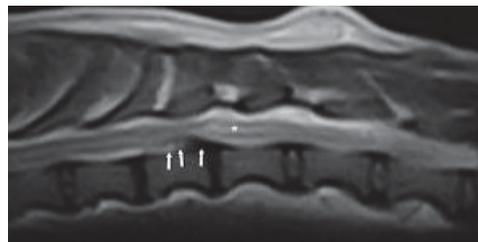


Figura 6: Ressonância magnética lombar (LL) em um canino evidenciando compressão medular. fisioanimal.com

A primeira mielografia em cães foi relatada em 1950, desde então, é realizada através da deposição de contraste radiopaco no espaço subaracnóideo com o paciente sob anestesia geral e em condições assépticas. Os contrastes utilizados devem ser atóxicos, radiopacos e miscíveis no líquido cefalorraquidiano⁵⁵. O Iopamidol e o Ioxol são os contrastes não iônicos mais utilizados na medicina veterinária por serem seguros e eficazes⁴⁸.

Para a injeção do contraste no espaço subaracnóideo existem dois locais preferenciais: a região cervical e a lombar. A punção da cisterna magna, no espaço atlanto-occipital, permite ótima visualização da região cervical, porém predispõe a episódios convulsivos com maior frequência, a distribuição do contraste para as demais regiões da coluna depende da gravidade e fluxo do LCR. Na região lombar, o espaço preferencial está situado entre L5-L6 ou L4-L5 (caso não seja possível à punção no espaço anterior). Por este acesso o fluxo de contraste para o cérebro é menor e cora mais facilmente toda a coluna permitindo ótima identificação das lesões em todos os segmentos⁵⁵.

O prognóstico é favorável para pacientes com lesão medular toracolombar que apresentam percepção dolorosa dos membros posteriores varia de 80-95%. Para os pacientes que apresentam perda da dor profunda, o prognóstico é caracterizado como reservado a desfavorável, estando relacionado diretamente com o tempo desde a perda da nocicepção até a descompressão cirúrgica da medula¹⁵.

O diagnóstico preciso com base na avaliação clínica e exames complementares auxiliam na identificação exata da lesão permitindo empregar o tratamento mais adequado conforme a severidade da compressão medular⁴².

2.3 ESTRESSE OXIDATIVO

Nas últimas décadas, foram realizadas numerosas pesquisas para esclarecer o papel dos radicais livres em processos fisiopatológicos. A oxidação é parte fundamental da vida aeróbica e do metabolismo de organismos vivos, assim os radicais livres são produzidos naturalmente ou por alguma disfunção biológica. O excesso de radicais livres no organismo é combatido por antioxidantes produzidos pelo corpo ou absorvidos da dieta⁵. Ao mesmo tempo, seu consumo é capaz de gerar substâncias tóxicas a nível intra e extracelular, devido ao desarranjo existente entre suas vantagens e desvantagens.

As reações metabólicas das células que utilizam oxigênio produzem radicais livres que são removidos por antioxidantes endógenos⁵⁰. Estresse oxidativo (figura 7) é um desequilíbrio entre agentes pró-oxidantes e antioxidantes em favor dos pró-oxidantes levando a formação excessiva de espécies reativas de oxigênio (EROs) como peróxido de hidrogênio (H₂O₂),

radical hidroxil (OH^\cdot) e ânion superóxido ($\text{O}_2^\cdot^-$), que ocorre em maior formação nas lesões medulares²⁶. É um desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) e sua eliminação através dos sistemas antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos⁶. Quando o organismo não consegue excluir o excesso de radicais livres eles se tornam nocivos¹², podendo atingir muitas moléculas como DNA/RNA, carboidratos, lipídios e proteínas²⁶.

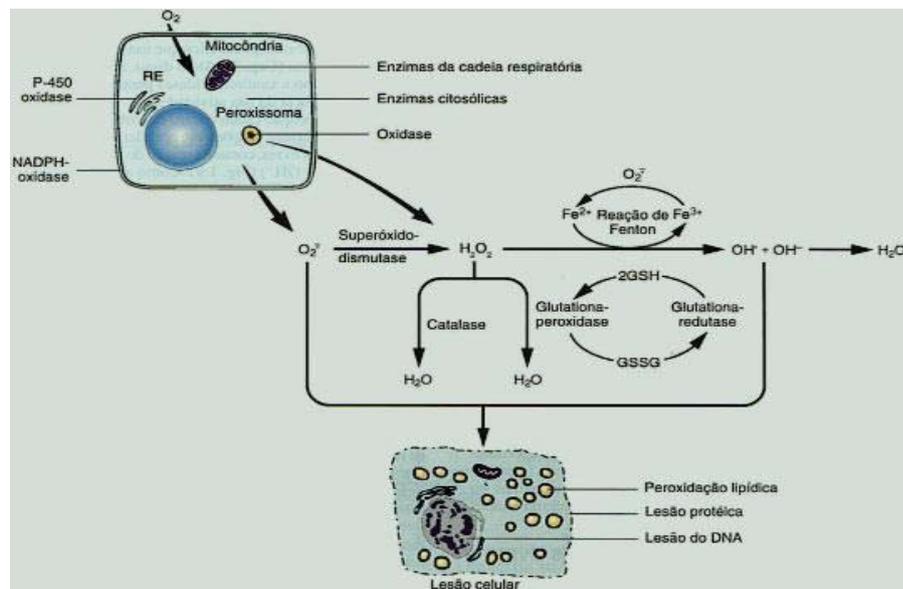


Figura 7: Formação de radicais livres (espécies reativas de oxigênio) e mecanismos antioxidantes biológicos. Fonte: Halliwell & Gutteridge, 1999.

Todos os componentes celulares são suscetíveis a ação de EROs, porém a membrana celular é um dos mais atingidos em decorrência da peroxidação lipídica, que é o processo de oxidação dos lipídeos insaturados, isso acarreta alterações na estrutura e na permeabilidade das membranas celulares visto que elas contêm grande quantidade de lipídeos em sua composição⁵⁷. Conseqüentemente, há aumento da permeabilidade que compromete a função, culminando com a morte celular. Há dois picos de peroxidação lipídica no trauma medular, o primeiro ocorre entre uma a seis horas e o segundo entre 24 a 120 horas após o insulto inicial¹².

Nem sempre os processos de lipoperoxidação são prejudiciais, pois seus produtos são importantes na reação em cascata a partir do ácido araquidônico, na formação da resposta inflamatória, porém o excesso de tais produtos pode ser lesivo²¹.

Todas as células aeróbicas podem sofrer lesões oxidativas, porém o sistema nervoso central é mais vulnerável devido o alto consumo de oxigênio e glicose, pois necessita de 20% do oxigênio corporal²⁶, apresenta altos níveis de ferro e grande concentração de lipídeos⁵⁹, baixos níveis de protetores antioxidantes e altas concentrações de neurotransmissores

oxidáveis⁵². A formação do tecido do SNC é basicamente de membranas e ácidos graxos o que maximiza a possibilidade de lesões oxidativas nas membranas celulares deste sistema³.

É sugerido que no traumatismo crânio-encefálico ocorra a formação de EROs e liberação do ferro intracelular, associada a baixa capacidade do líquido de ligar ferro-proteína e a deficiência de enzimas antioxidantes no sistema nervoso central ampliam os riscos de lesão induzida pelo trauma. O papel do ferro neste tipo de agressão é demonstrado pela diminuição da degeneração cerebral pós-trauma em animais experimentais que receberam quelante de ferro. É possível que a quelação do ferro liberado após o trauma iniba a formação de EROs catalisadas por este metal²¹.

Os sistemas biológicos oferecem condições favoráveis para ocorrência de reações de caráter oxidativo, devido à existência de lipídios insaturados nas membranas celulares, e pela abundância de reações oxidativas que ocorrem durante o metabolismo normal. A susceptibilidade de uma célula ou de um tecido ao estresse oxidativo depende de um grande número de fatores que incluem a disponibilidade de antioxidantes e a capacidade de inativação ou eliminação dos produtos oxidativos formados³².

2.4 DEFESAS ANTIOXIDANTES

Os organismos aeróbicos não conseguem sobreviver na presença de O₂ sem as defesas antioxidantes que são induzidas pela exposição do organismo as EROS. Um antioxidante é qualquer substância que mesmo presente em baixas concentrações comparadas com o oxidante, diminuiu ou impede a oxidação daquele substrato²⁶. A possibilidade de ocorrer estresse oxidativo em uma célula depende da disponibilidade de antioxidante e a capacidade de inativação ou eliminação dos produtos oxidativo formados³².

O estado redox das células é o equilíbrio entre os níveis de redutores e oxidantes, o aumento do nível de oxidantes além da capacidade redutora inicia o estresse oxidativo³². Em sistemas aeróbicos o equilíbrio entre agentes oxido-redutores e sistema de defesa antioxidante é essencial para o equilíbrio da célula. A célula possui um sistema de defesa que atua em duas linhas. A primeira linha atua como detoxificadora do agente antes que ele cause a lesão, esta linha é constituída pela glutathiona reduzida (GSH), pelas enzimas superóxido-dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathiona-peroxidase (GSH-Px). A segunda linha de defesa tem a função de reparar a lesão ocorrida, é composta pela glutathiona-redutase (GSH-Rd), GSH-Px e ácido ascórbico^{21,26} sinaliza que a célula possui um sistema de defesa com três níveis de proteção: 1) prevenção da formação de EROS, 2) interrupção da propagação de EROS, 3) reparação dos danos provocados por EROS.

Os métodos mais utilizados para a detecção laboratorial das lesões oxidativas são os espectrofotométricos e cromatométricos que medem a atividade da SOD, TBARS, catalase e GSH, dentre outras enzimas. Estas medidas podem ser quantificadas através de tecidos, sangue e outros fluidos²¹.

2.4.1 Componentes do sistema antioxidante

As células possuem sistemas de defesa enzimáticos e não enzimáticos para proteger seus constituintes e manter seu estado redox. Sob condições fisiológicas normais, os efeitos nocivos das EROs são efetivamente neutralizados pelo sistema celular de defesa antioxidante, que geralmente consiste de enzimas e de pequenas moléculas antioxidantes¹⁴. Uma substância antioxidante, por definição, é aquela capaz de inibir a oxidação ou, então, qualquer substância que, mesmo presente em baixa concentração, comparada ao seu substrato oxidável, diminui ou inibe a oxidação daquele substrato. Podem teoricamente prolongar a fase de iniciação ou inibir a fase de propagação, mas não podem prevenir completamente a oxidação³².

Dentro dos componentes do sistema antioxidante, destacam-se neste trabalho a Catalase (CAT) que catalisa a redução do H_2O_2 em H_2O e O_2 e, por isso, é considerado um dos maiores componentes da defesa antioxidante primária²³. A glutathiona reduzida (GSH) é um antioxidante hidrossolúvel, reconhecido como o tiol não proteico mais importante nos sistemas vivos. Trata-se de um tripeptídeo linear, constituído por três aminoácidos: ácido glutâmico, cisteína e glicina, sendo o grupo tiol da cisteína o responsável pelas suas propriedades bioquímicas, que se liga aos radicais livres formando conjugados solúveis em água, reduzindo sua toxicidade e facilitando sua excreção^{60,58}.

As substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) é um pró-oxidante usada para avaliar quando ocorre a lipoperoxidação, ou seja, quando os lipídeos de membranas sofrem ação dos radicais livres. As substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico são marcadores biológicos de lesões nas membranas celulares¹⁶. Vários estudos têm demonstrado que o malondialdeído (MDA), produto da peroxidação lipídica, está aumentado durante dano oxidativo. TBARS reflete a quantidade de MDA formado, produto final da peroxidação de ácidos graxos da membrana²⁶.

2.5 PROTEÍNAS DE FASE AGUDA

A identificação da resposta inflamatória é um desafio, pois nem sempre os sinais se manifestam de forma clara, com isso a determinação de proteínas de fase aguda (figura 8) vem se tornando uma ferramenta valiosa no diagnóstico e prognóstico de doenças inflamatórias, pois apresentam alterações em seus valores previamente a outros exames rotineiramente utilizados^{44,20}. As proteínas de fase aguda permitem estabelecer a resposta inata do sistema imunológico frente a uma determinada lesão tecidual²⁰.

As proteínas de fase aguda podem ser classificadas como negativas ou positivas quando consideradas as concentrações plasmáticas⁴⁰.

As proteínas negativas são caracterizadas como tais, devido apresentarem decréscimos em seus valores durante a evolução do processo inflamatório, como por exemplo: a albumina e a transferrina. As proteínas positivas apresentam elevação de seus valores durante a evolução do processo inflamatório, dentre estas se destacam a proteína C reativa, fibrinogênio, protrombina²⁹.

A resposta de fase aguda é uma reação sistêmica do organismo e tem origem em um processo traumático, infeccioso, neoplásico ou imunológico que se inicia algumas horas após o trauma e perdura por 24-48 horas^{40,54}. Neste período as células hepáticas sintetizam e secretam proteínas sob a influência das interleucinas (IL 1 e 6) e do fator de necrose para tumores (TNF) em resposta a um estímulo¹⁰. No local lesado há liberação de mediadores da inflamação como aminas vasoativas e citocinas pró-inflamatórias que passam para corrente sanguínea atuam em diferentes células. Ainda, estes mediadores iniciam reações locais e sistêmicas como aumento da permeabilidade capilar e migração local de neutrófilos regulada pela adesão ao endotélio, fazendo com que as reações locais influenciem diretamente nas reações sistêmicas²⁴. O objetivo desta resposta é controlar o desenvolvimento da lesão no tecido acometido acelerando o retorno a sua função normal⁸.

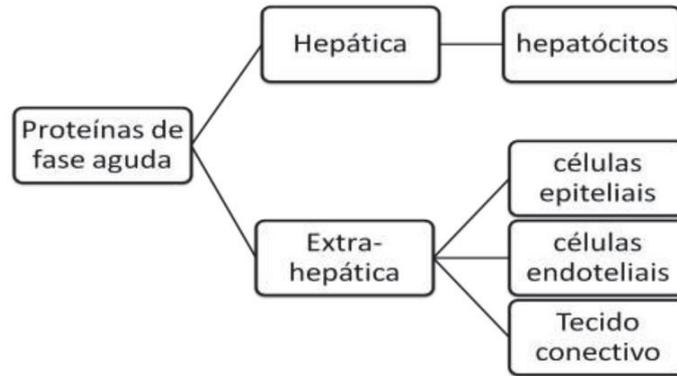


Figura 8. Esquema de produção das proteínas de fase aguda. Fonte: Jain, 2011.

A proteína C reativa foi a primeira proteína de fase aguda descoberta e descrita na literatura humana por Tillet e Francis em 1930. Durante um estudo, observou-se que pacientes infectados por *Streptococcus pneumoniae* apresentava uma substância que precipitava o polissacarídeo C da parede celular do pneumococo. Após alguns estudos identificou-se que esta substância não era detectável em pacientes saudáveis, mas atingia altos níveis em indivíduos com infecções^{36,10}.

A inflamação envolve vários tipos de células que podem contribuir com a progressão ou a estagnação do processo inflamatório. A proteína C reativa interage com a resposta imune inata e específica regulando a resposta inflamatória através da opsonização, fomentando a fagocitose de partículas estranhas através ativação da via clássica do sistema do complemento e estimulando a medula óssea a produzir células de defesa a partir da síntese de citocinas^{17,29}.

Apesar da proteína c reativa ter maior significado diagnóstico no cão e no homem, ela também é utilizada como referência em vários mamíferos, aves e peixes, por isso tem sido utilizada na Medicina Veterinária como indicadora de inflamação ou infecção, pois seus valores aumentam antes de qualquer alteração leucocitária^{41,13}. Atualmente no Brasil vem sendo utilizados kits de aglutinação em látex de humanos para detecção da proteína C reativa em cães, pois não existem kits específicos para esta espécie³⁹.

3 CAPÍTULO 1

Status oxidativo de cães com compressão medular toracolombar traumática

Oxidative status of dogs with spinal cord compression thoracolumbar traumatic

Ricardo Pimentel Oliveira^I, Daiane Ferreira,^{II} Gessi Koakoski^{II} e
Leonardo José Gil Barcellos^{III}

(Artigo submetido para publicação na Revista Ciência Rural)

^I Programa de Pós-Graduação em Bioexperimentação, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, RS, Brasil.
^{II} Programa de Pós-Graduação em Bioexperimentação, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Passo Fundo. Campus I, Bairro São José. 99052-900 – Passo Fundo, RS, Brasil. Telefone 54 3316 8103. E-mail: lbarcellos@upf.br. Autor para correspondência.
^{III} Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

Resumo

Com a crescente incidência de lesões neurológicas provocadas por traumatismos medulares, objetivou-se identificar o status oxidativo em cães com compressão medular toracolombar traumática e estabelecer se há um padrão em comum nas alterações avaliadas. Para tanto foram quantificados agentes pró-oxidantes, antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos em cães com lesão medular toracolombar traumática. A pesquisa foi desenvolvida no HV-UPF onde um grupo foi constituído de oito cães com lesão medular (GL), com histórico de ataxia, diminuição/perda proprioceptiva, paresia dos membros posteriores e compressão epaxial toracolombar positiva. Para a confirmação da compressão, todos os cães do grupo GL foram submetidos à mielografia a partir da deposição de contraste não iônico no espaço subaracnóideo. O segundo grupo foi composto por oito cães hígidos (GC), clinicamente sadios com hemograma, perfil bioquímico renal e hepático dentro dos valores de referência para a espécie. Os cães dos dois grupos foram submetidos à coleta de sangue para quantificar o status oxidativo através da TBARS, CAT e GSH. Também foi mensurada uma proteína de fase aguda de caráter positivo. Os cães lesionados apresentaram valores superiores de TBARS quando comparados aos do grupo dos pacientes hígidos. Os valores encontrados da enzima CAT foram similares para os dois grupos e a GSH identificou resultados inferiores no grupo de cães com trauma medular agudo em relação aos hígidos. A proteína de fase aguda apresentou valores similares para os dois grupos. Assim, esta pesquisa identificou a ocorrência de estresse oxidativo, ocasionado por um aumento da lipoperoxidação e a atuação do sistema de defesa celular antioxidante no combate as EROs em cães com compressão medular toracolombar traumática.

Palavras-chave: estresse oxidativo, compressão medular, TBARS, catalase.

Abstract

With the increasing incidence of neurological injuries caused by spinal cord injuries, the aim of this study was to identify the oxidative status in dogs with spinal cord thoracolumbar trauma and establish if there is a pattern in common in the evaluated changes. To this end were quantified pro-oxidants agents, enzymatic antioxidants and non-enzymatic in injury dogs with thoracolumbar spinal cord acute. The research was developed in HV-UPF where a group was composed of eight dogs with spinal cord injury (IG), with a history of ataxia, decreased/proprioceptive loss, paresis of hind limbs and lumbar epaxial compression positive. For the confirmation of the compression, all dogs from the SCI were submitted to myelography from the deposition of non-ionic contrast in the subarachnoid space. The second group was composed of eight healthy dogs (CG), clinically healthy with blood count, renal biochemical profile and hepatic within the reference values for the species. The dogs of the two groups were submitted to blood sampling to quantify the oxidative status through the TBARS, CAT and GSH. It was also measured an acute-phase protein of positive character. The dogs injured showed higher values of TBARS when compared to the group of healthy patients. The values found by the CAT enzyme were similar for the two groups and the GSH identified lower results in the group of dogs with spinal cord trauma acute in relation to the healthy. The acute-phase protein showed similar values for the two groups. Thus, this research has identified the occurrence of oxidative stress, caused by an increase in lipid peroxidation and the activity of the defense system cellular antioxidant in the fight against the reactive oxygen species (ROS) in dogs with spinal cord compression thoracolumbar trauma.

Keywords: oxidative stress, compression of the spinal cord, TBARS, catalase.

Introdução

A casuística de cães com trauma medular agudo é cada vez maior, esse tipo de moléstia pode causar lesões neurológicas de caráter irreversível e deixar grandes deficiências motoras que limitam a qualidade de vida dos indivíduos. Com a proximidade entre animais de companhia e humanos, algumas semelhanças entre as duas espécies são encontradas. Sedentarismo, sobrepeso, acidentes automobilísticos são alguns fatores em comum que podem causar danos compressivos à medula espinhal⁴².

O trauma agudo de medula em cães é uma doença comum causada por fatores endógenos como protrusão/extrusão de disco e embolia fibrocartilaginosa; ou exógenos como fraturas, luxações e subluxações vertebrais provenientes de acidentes automobilísticos. A sintomatologia dos pacientes com doença de disco intervertebral aguda varia de dor em um determinado segmento da coluna até perda parcial ou total dos movimentos dos membros causando importantes limitações nos indivíduos acometidos⁴².

O diagnóstico de pacientes com compressão medular é feito por meio da anamnese, avaliação clínica geral, exame neurológico e obtenção de imagens da coluna. A agilidade e precisão no diagnóstico permite empregar adequado tratamento minimizando as limitações decorrentes da lesão medular²².

A mielografia é o exame contrastado da medula espinhal realizado através da deposição de contraste radiopaco no espaço subaracnóideo com o paciente sob anestesia geral e em condições assépticas. O contraste pode ser aplicado na cisterna magna ou, preferencialmente, entre L5-L6⁵⁵.

Dois eventos ocorrem na medula após o trauma, sendo primeiro o dano mecânico que causa compressão medular e desencadeia o segundo, que é responsável por alterações do leito vascular, inflamação e produção de radicais livres na medula iniciando o estresse oxidativo⁴.

A formação de radicais livres na medula é relacionada como a principal causa de degeneração do SNC em pacientes traumatizados⁹. Estresse oxidativo é um desequilíbrio entre agentes pró-oxidantes e antioxidantes em favor dos pró-oxidantes, levando a formação excessiva de espécies reativas de oxigênio (EROs). Quando o organismo não exclui o excesso de radicais livres eles se tornam nocivos¹². Os sistemas aeróbicos não conseguem sobreviver na presença de O₂ sem as defesas antioxidantes que são induzidas pela exposição do organismo as EROS²⁶.

Sob condições fisiológicas normais, os efeitos nocivos das EROS são efetivamente neutralizados pelo sistema celular de defesa antioxidante, que geralmente consiste de enzimas

e de pequenas moléculas antioxidantes¹⁴. Dentro dos componentes do sistema antioxidante, destacam-se neste estudo a Catalase (CAT) que catalisa a redução do H_2O_2 em H_2O e O_2 ²³, glutathiona reduzida (GSH) é um antioxidante hidrossolúvel, reconhecido como o tiol não proteico mais importante nos sistemas vivos^{60,58} e TBARS, usada para avaliar quando ocorre a lipoperoxidação, ou seja, quando os lipídeos de membranas sofrem ação dos radicais livres¹⁶.

A identificação da resposta inflamatória é um desafio, pois nem sempre os sinais se manifestam de forma clara, com isso a determinação de proteínas de fase aguda vem se tornando uma ferramenta valiosa no diagnóstico e prognóstico de doenças inflamatórias, pois apresentam alterações em seus valores previamente a outros exames rotineiramente utilizados^{44,20}. A proteína C reativa é uma proteína de fase aguda de caráter positivo que interage com a resposta imune inata e específica, regulando a resposta inflamatória e estimulando a medula óssea a produzir células de defesa^{17,29}.

O objetivo do presente estudo foi identificar e localizar a compressão medular toracolombar traumática em cães, avaliar o status oxidativo e verificar se há um padrão comum nas alterações encontradas. O status oxidativo foi avaliado por: TBARS, catalase e GSH. Neste aspecto a pesquisa buscou a possibilidade de usar os resultados obtidos na tentativa de caracterizar a gravidade da lesão. Ainda, avaliou-se a resposta de fase aguda, através da quantificação da proteína C reativa.

Com base no exposto, esta pesquisa auxilia a compreender melhor os danos provocados pela liberação de radicais livres nas lesões compressivas da medula espinhal. Este conhecimento se torna importante apoio na busca por métodos que auxiliem a recuperação de animais com lesões medulares, buscando diminuir suas limitações e melhorar a qualidade de vida.

Material e métodos

O estudo foi desenvolvido no Hospital Veterinário e no Laboratório de Fisiologia de Peixes da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Passo Fundo.

Os animais foram separados em dois grupos. O primeiro foi formado por oito cães hípidos (GC), sem predisposição de sexo, raça, idade e peso, provenientes da disciplina de Controle de Natalidade de Cães e Gatos do Programa de Residência Multiprofissional da Universidade de Passo Fundo. Estes indivíduos foram aceitos neste grupo somente após a avaliação dos parâmetros clínicos e laboratoriais encontrarem-se dentro dos valores de

referência para a espécie. A inspeção clínica verificou a coloração das mucosas, tempo de perfusão capilar, ausculta cardíaca e pulmonar, frequência cardíaca, palpação abdominal, pulso periférico, hidratação e temperatura retal. A avaliação hematológica foi realizada através de hemograma, contagem de plaquetas, albumina, ALT, FA, uréia, creatinina e proteína C reativa. O segundo grupo foi constituído por oito cães com sinais de lesão medular (GL) que durante avaliação clínica apresentaram sintomas de discopatia toracolombar e que não haviam recebido nenhum tratamento medicamentoso ou fisioterápico. Os principais sinais neurológicos observados foram: compressão epaxial toracolombar positiva, perda da sensibilidade do pânículo toracolombar, déficits proprioceptivos, ataxia, paraparesia ou paraplegia e ainda diminuição ou ausência à dor profunda nos membros posteriores. Os indivíduos deste grupo também foram avaliados laboratorialmente com os mesmo exames do grupo GC.

A escolha dos animais hígidos que formaram o GC motivou-se devido à possibilidade de utilizar cães selecionados para a disciplina de Controle de Natalidade do Programa de Residência Multiprofissional da UPF, pois todos os pacientes que participaram desta disciplina estão aptos para o procedimento cirúrgico somente após criteriosa avaliação clínica e os exames complementares estarem dentro dos valores para a espécie, diminuindo com isso a interferência de alterações oxidativas secundárias ao objetivo do trabalho. A seleção dos indivíduos que formaram o segundo grupo (GL) foi fundamentada no crescente número de cães com compressão medular atendidos no HV-UPF, com objetivo de diminuir a utilização de animais sadios em experimentos científicos.

Para confirmação e localização da compressão medular dois animais do grupo GL foram submetidos à mielografia através da deposição de 0,45ml/kg de contraste não iônico no espaço subaracnóideo da cisterna magna e seis na região lombar (L5-L6) posteriormente a tricotomia da região e antisepsia local com clorexidina 0,5% em veículo alcóolico. O protocolo anestésico para este exame constou da aplicação de medicação pré-anestésica (MPA) com a associação de Diazepam (0,5mg/kg, IV) e Cloridrato de Tramadol (2mg/kg, IV), decorridos 15 minutos da MPA a indução anestésica foi com Propofol (3mg/kg, IV) e a manutenção com isofluorano vaporizado em oxigênio a 100% através de intubação orotraqueal. Após a injeção do contraste todos os pacientes permaneceram com a cabeça elevada por um período de 30 minutos.

Conforme Fossum²² indica para a confirmação das compressões medulares, a mielografia foi realizada através da deposição de 0,45ml/Kg de contraste não iônico no espaço subaracnóideo em todos os animais do grupo GL. Thrall & Widmer⁵⁵, relatam que

exames mais apurados e menos invasivos com RM e TC ainda são restritos a grandes centros o que dificulta o uso dessas tecnologias na rotina médico-veterinária, fazendo com que a mielografia continue sendo utilizada rotineiramente em pacientes com trauma medular.

Para evitar convulsões durante ou após as mielografias deu-se preferência pela punção lombar (L5-L6), uso de benzodiazepínico na MPA, monitoração e manutenção da cabeça elevada em 10° por 30 minutos posteriormente ao término do exame.

Para avaliar o status oxidativo dos cães com compressão medular toracolombar aguda foi coletado sangue da veia jugular externa após antissepsia local com álcool 70% e mensurados os valores séricos da TBARS através do soro, determinando a presença de MDA na amostra³¹; CAT através de sangue total, pela decomposição do peróxido de hidrogênio⁴³; GSH através de sangue total, pela inibição da reação do radical superóxido com adrenalina³⁸. Tanto no grupo GL como no GC as coletas foram feitas logo após a indução anestésica.

Os valores de TBARS e GSH foram comparados usando o teste t de Student. Os valores da atividade da CAT foram comparados usando o teste Mann-Whitney, uma vez que os dados não apresentaram distribuição normal pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Para os três parâmetros avaliados a homogeneidade de variância foi determinada pelo teste de Hartley, e normalidade pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Diferenças com valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos. A análise estatística foi realizada utilizando o programa estatístico GraphPad Instant (GraphPad software, San Diego, California, USA).

Resultados e discussões

Nesse estudo os cães com compressão medular toracolombar, identificadas por mielografia, apresentaram valores superiores de TBARS, similares de CAT e inferiores de GSH indicando alteração no status oxidativo em decorrência da ocorrência da lesão traumática na coluna.

A formação de radicais livres depende de vários fatores³⁷ e está associada a diversos estados de morbidade como: desnutrição, envelhecimento, neoplasias, exposição a xenobióticos⁵¹, processos inflamatórios e neurodegenerativos²⁸. Frente a isso estão se concentrando esforços em novos experimentos que contribuam para a busca de novas terapias para combater o estresse oxidativo nas mais variadas patologias²⁸.

A utilização de pacientes naturalmente acometidos por lesões medulares no segmento toracolombar para formar o grupo GL trouxe fielmente as consequências das lesões compressivas da medula espinhal e se mostrou efetivo para estudar os danos causados pelo

estresse oxidativo nestes indivíduos. Corroborando com Nelson e Couto, 2006, os sinais neurológicos mais comumente encontrados no grupo GL foram: compressão epaxial positiva e ausência do reflexo panicular na região toracolombar, perda da propriocepção, ataxia, paraparesia ou paraplegia nos membros posteriores.

As compressões medulares foram identificadas em todos os animais do grupo GL a partir da mielografia (figura 9).

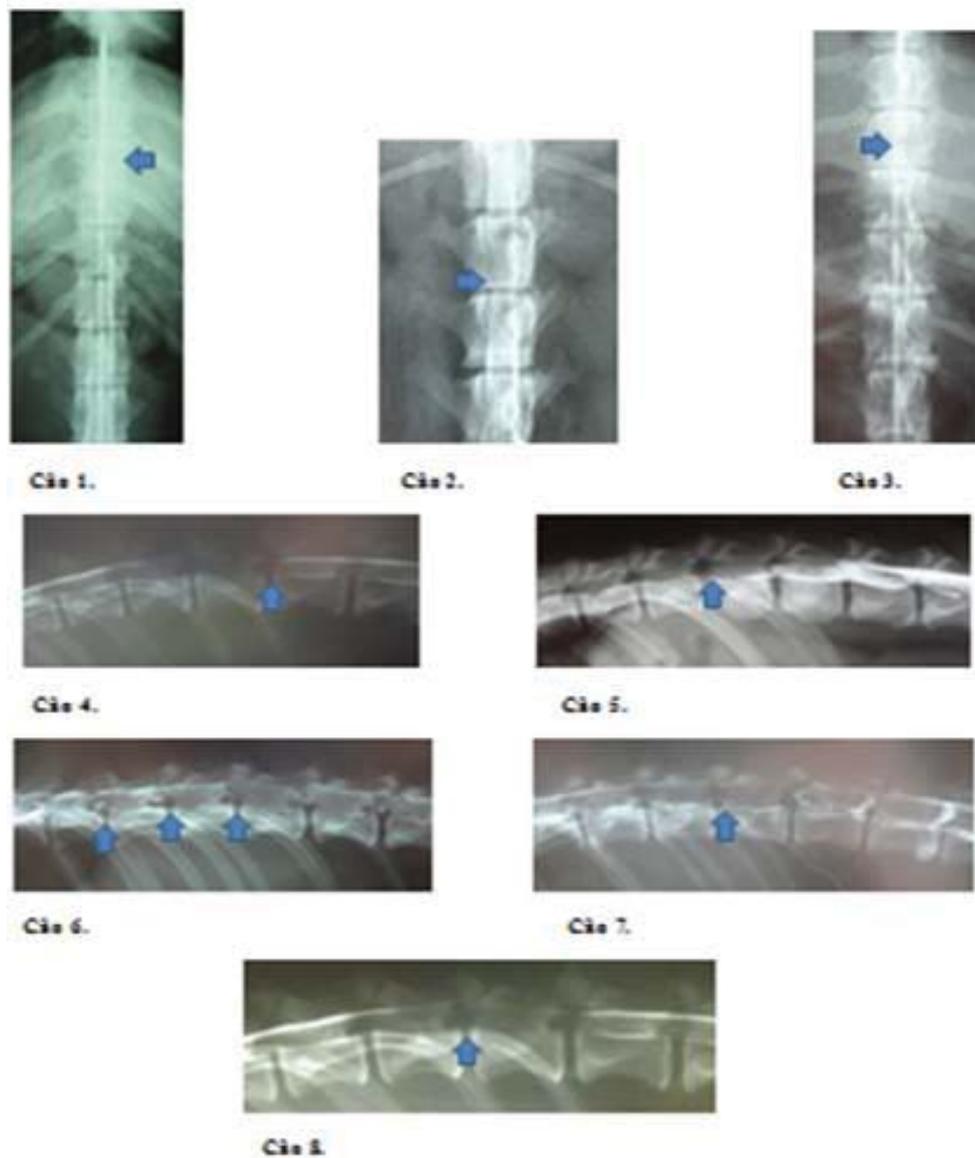


Figura 9: Mielografias dos cães lesionados do grupo GL, setas indicam as compressões medulares. Fonte: Oliveira, R.P., 2014.

No presente estudo não foram observadas alterações significativas nos valores da proteína C reativa, analisadas por aglutinação em látex (tabela 1) nos indivíduos do grupo GL em relação aos cães do grupo GC. Somente três cães do grupo GL apresentaram valores compatíveis com resposta de fase aguda, sugerindo que as compressões medulares haviam ocorrido há mais de 48 horas conforme Murata et al. comenta.⁴⁰

Tabela 1: Resultados Proteína C reativa do grupo GL e GC (Valor de referência >6mg/l).

GL	mg/l	GC	mg/l
Canino 1	6	Canino 1	<6
Canino 2	<6	Canino 2	6
Canino 3	<6	Canino 3	6
Canino 4	<6	Canino 4	<6
Canino 5	24	Canino 5	<6
Canino 6	<6	Canino 6	<6
Canino 7	6	Canino 7	<6
Canino 8	<6	Canino 8	<6

Fonte: Oliveira, R.P., 2014.

No presente estudo os animais do grupo GL apresentaram valores superiores de TBARS quando comparados à média dos cães do grupo GC ($P = 0,0003$, $t = 5,044$ com 12 graus de liberdade), (figura 10). Valores elevados de TBARS indicam a quantidade de MDA formado durante o dano oxidativo²⁶. Conforme Draper & Hadley¹⁶, as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico são importantes marcadores biológicos das lesões nas membranas celulares indicando a ocorrência da lipoperoxidação, que por sua vez, depende de vários fatores como comentado anteriormente.

Estudos envolvendo a mensuração da lipoperoxidação frente a traumas medulares são limitados^{1,47,3}. Os valores elevados de TBARS encontrados no grupo GL evidenciam a ação dos radicais livres nas membranas celulares dos cães com compressão medular toracolombar. Corroborando com este achado, Aiello,¹ também identificou o aumento das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico em um modelo experimental com ratos submetidos ao trauma agudo de medula.

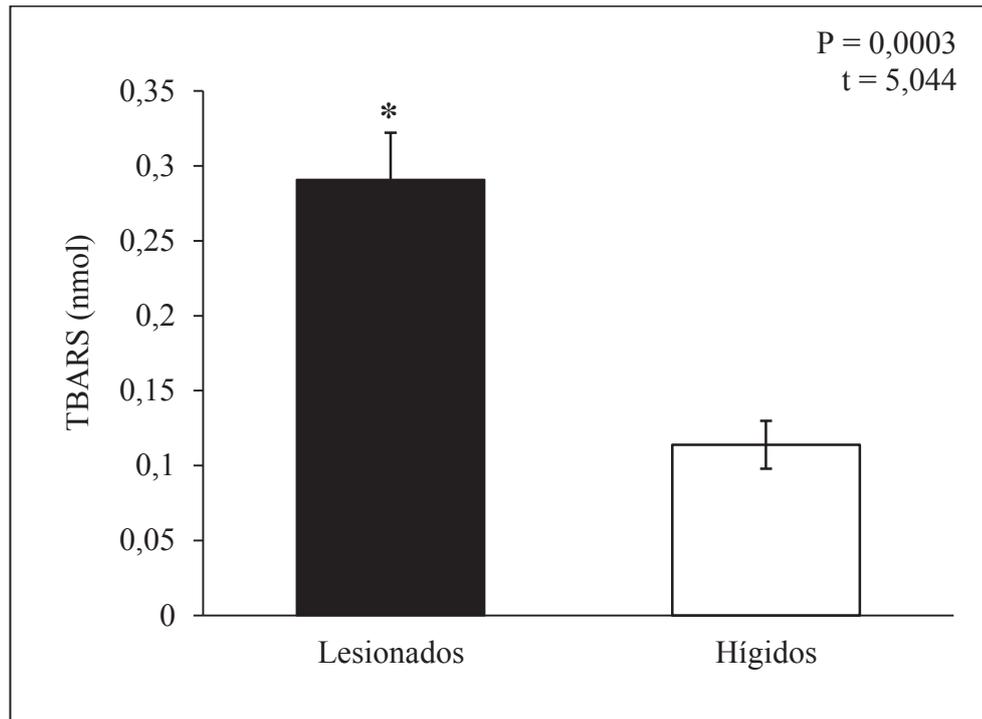


Figura 10: Níveis de TBARS (nmol MDA mg-1 prot) dos animais lesionados (GL) e hígidos (GC). Os valores foram comparados usando teste t de Student. Homogeneidade de variância determinada pelo teste de Hartley e normalidade pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Diferenças com valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos. A análise estatística foi realizada utilizando o programa estatístico GraphPad Instat (GraphPad Software, San Diego, CA, EUA). Fonte: Oliveira, R.P., 2014.

Dentro dos componentes do sistema antioxidante enzimático, destaca-se a Catalase. Níveis elevados desta enzima indicam que ela está catalisando e reduzindo componentes formados pelo estresse oxidativo. Por isso é considerada um dos principais componentes da defesa antioxidante primária²³. Neste trabalho, os cães com trauma medular (GL) e os hígidos (GC) apresentaram valores similares da atividade da CAT, ($p = 0,9551$ com 13 graus de liberdade), (figura 11), isso indica que a CAT agiu na redução H_2O_2 em H_2O e O_2 para facilitar sua excreção minimizando a formação de radicais livres nos animais do grupo GL. Aiello¹, também detectou valores elevados da enzima catalase em ratos submetidos ao trauma agudo de medula. A associação dos resultados obtidos nesses dois estudos sugere que indivíduos acometidos por trauma medular tem a atividade da enzima catalase aumentada, porém não indentificamos a razão pela qual os animais do grupo GC também apresentaram valores elevados da enzima catalase, insinuando que novos estudos sejam realizados.

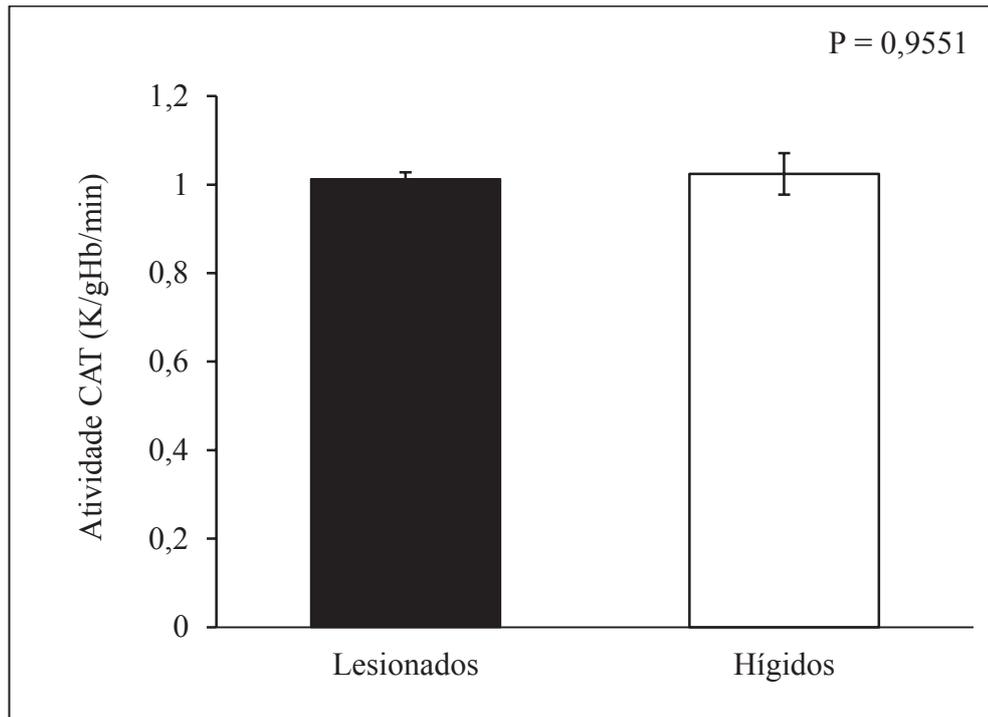


Figura 11: Atividade da Catalase (CAT) (K/gHb/min) dos animais dos grupos GL e GC. Os valores da atividade da CAT foram comparados usando teste de Mann-Whitney, uma vez que os dados não apresentaram distribuição normal pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. A homogeneidade de variância foi determinada pelo teste de Hartley. Diferenças com valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos. A análise estatística foi realizada utilizando o programa estatístico GraphPad InStat (GraphPad Software, San Diego, CA, EUA). Fonte: Oliveira, R.P., 2014.

A GSH é fundamental na proteção celular do sistema de defesa antioxidante protegendo a célula dos danos resultantes a exposição aos radicais livres⁴⁵. Nesta pesquisa, o grupo GL apresentou valores inferiores de GSH quando comparados à média dos animais do grupo GC ($p < 0,0001$, $t = 13,284$ com 11 graus de liberdade), (figura 12). Nossa hipótese para explicar os valores encontrados se deve a utilização desta enzima como substrato na catalização do H_2O_2 em H_2O e O_2 e também porque a GSH está constantemente ligando-se aos radicais livres para transformá-los em uma molécula hidrossolúvel, para serem mais facilmente excretados. Guedes et al., 2007 encontrou baixos níveis de GSH na medula lombossacra de ratos que tiveram a transecção experimental do nervo ciático, além deste trabalho não foram encontrados dados na literatura que corroborem ou neguem nossa hipótese, evidenciando oportunidade para novos estudos no tema.

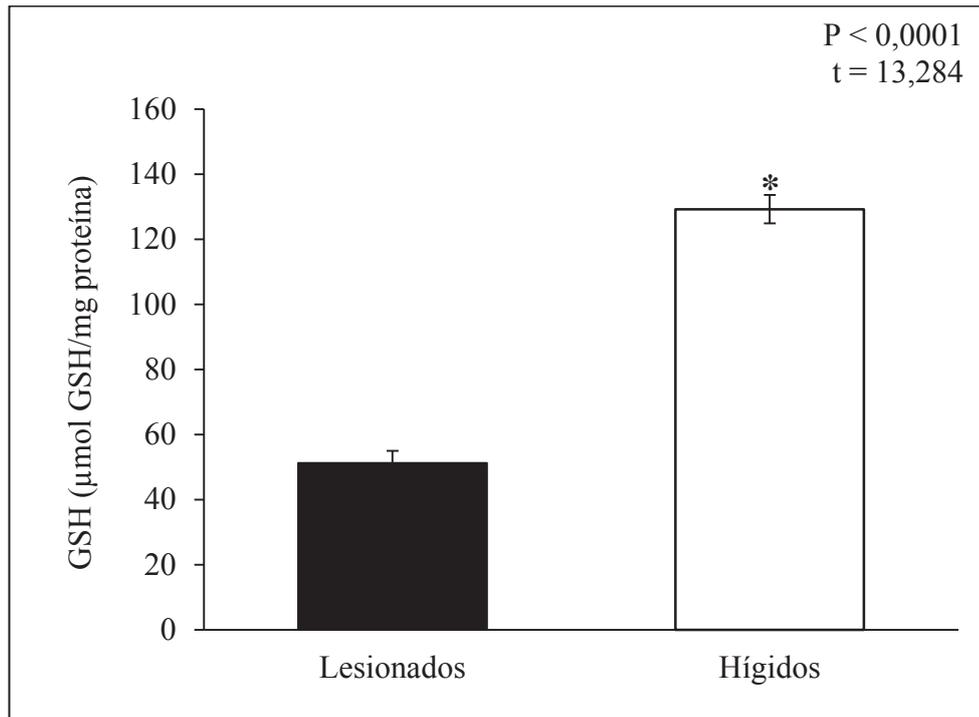


Figura 12: Conte\u00fado de Glutathiona reduzida (GSH) ($\mu\text{mol GSH/mg prote\u00edna}$) nos dos grupos GL e GC. Os valores de GSH foram comparados usando teste t de Student. A homogeneidade de vari\u00e2ncia foi determinada pelo teste de Hartley, e normalidade pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Diferen\u00e7as com valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos. A an\u00e1lise estat\u00edstica foi realizada utilizando o programa estat\u00edstico GraphPad Instat (GraphPad Software, San Diego, CA, EUA). Fonte: Oliveira, R.P., 2014.

4. CONCLUSÕES

Com base nos dados obtidos neste trabalho, pode-se concluir que cães com compressão medular toracolombar traumática apresentam dano oxidativo, ocasionado por um aumento da lipoperoxidação e a atuação do sistema de defesa celular antioxidante no combate as EROs. Novos estudos são necessários para verificar se o dano oxidativo correlaciona-se com diferentes prognósticos em cães com esse tipo de trauma.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nas últimas décadas várias pesquisas foram desenvolvidas para compreender melhor a função do estresse oxidativo em pacientes com trauma medular. Vários modelos experimentais foram utilizados, porém com a crescente comoção social a cerca da utilização de algumas espécies animais em experimentos científicos vem restringindo o desenvolvimento de estudos com este tema devido às limitações físicas provocadas pelas lesões geradas nos indivíduos testados. Com isso, o uso de pacientes naturalmente acometidos por lesões medulares traumáticas torna-se uma opção factível.

Novos estudos envolvendo maior número de animais e enzimas testadas permitirá entender melhor o estresse oxidativo em pacientes com lesão medular traumática e, quiçá caracterizar a gravidade da lesão, indicar tratamento, auxiliar no prognóstico e acompanhamento das lesões medulares.

6. REFERÊNCIAS

- 1 Aiello, G., Mazzanti, A. Prednisona e meloxicam no tratamento de ratos submetidos ao trauma agudo da medula espinhal [monografia]. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria – UFSM, 2012.
- 2 Amsellem P.M., Toombs J.P., Laverty P.H. & Breur G.J. 2003. Loss of deep pain perception following thoracolumbar intervertebral disk herniation in dogs: treatment and prognosis. *Comp. Cont. Educ. Pract. Vet.* 25:266-274.
- 3 Araujo, I.S., Prandini, M.N. Presença de radicais livres na lesão medular traumática. *J Bras Neurocirurg.* 2005; 12(1): 16-25.
- 4 Bagley, R.S. Spinal fracture or luxation. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal.* 2000. *Practice.* 30(1):133-153.
- 5 Barreiros, A.L.B.S; David, J.M. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Quim. Nova*, V.29, p.113-123, 2006.
- 6 Barata, C.; Varo, I.; Navarro, J.C.; Arun, S.; Porte, C. Antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in the freshwater cladoceran *Daphnia magna* exposed to redox cycling compounds. *Comp Biochem Physiol C*, v. 140, p. 175-186, 2005.
- 7 Basso, P. C., Raiser, A. G., Brun, M. V., Mazantti, C. M., Costa, M. M., Wolkmer, P., Dutra, L. H., Müller, D. C. M., Silva, C. B. Biomarcadores inflamatórios e indicadores de estresse oxidativo em cadelas submetidas à ovariossalpingohisterectomia convencional, por NOTES híbrida e NOTES total. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.44, n.5, p.884-890, mai, 2014.
- 8 Baumann H, Gauldie J. The acute phase response. *Immunol Today* 1994; 15:74-80.
- 9 Brown, S.A., Hall, E.D., Role of oxygen-derived free radicals in the pathogenesis of shock and trauma , with focus on central nervous system injuries. *The Journal of Americam Veterinary Medical Association*, v. 200, n. 12, p. 1226, 2000.
- 10 Cerón, J. J.; Eckersall, P. D.; Martinez-Subiela, S. Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. *Veterinary Clinical Pathology*, Santa Barbara, v. 34, p. 85-99, 2005.
- 11 Chrisman, Cherry. L. *Neurologia dos Pequenos Animais.* 2 ed São Paulo: Roca 2005 Cap 16, p. 295-340. cap. 17, p.341-370.
- 12 Christie, S.D.; Comeau, B.; Myers, T.; et al. Duration of lipid peroxidation after acute spinal cord injury in rats and the effect of methylprednisolone. *Neurosurg. Focus.*, v.25, n.5, p. 1-6, 2008.
- 13 Cray, C., Zaias, J., Altman, N. H. Acute phase response in animals: A review. *Comparative Medicine*, Memphis, v. 59, n. 6, p. 517-526, 2009.
- 14 Dandapt, J., G. B. N. Chainy & K. J. Rao. Dietary vitamin-E modulates antioxidant defence system in giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. *Comp. Biochem. Phys.* V. 127, p. 101-115. 2000.

- 15 Dewey, Curtis, W. Neurologia de Cães e Gatos: Guia Prático. 1 ed. São Paulo: Roca 2006, p. 1-198.
- 16 Draper, H.H. & Hadley, M. 1990. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods in Enzymology*. 186: 421-431.
- 17 Du Clos, T.W.; Mold, C. The role of C-reactive protein in the resolution of bacterial infection. *Current Opinion in Infectious Diseases*, v.14, p.289-293, 2001.
- 18 Eckersall P. D. (2006b). Acute phase proteins: form, function and analysis. *Proceedings of the Annual Meeting of the American College of Veterinary Pathologists and American Society for Veterinary Clinical Pathology*, Tucson, Arizona, 2-6 December.
- 20 Eckersall, P. D.; Bell, R. Acute phase proteins: biomarkers of infection and inflammation in veterinary medicine. *The Veterinary Journal*, London, v.185, p. 23-27, 2010.
- 21 Ferreira ALA, Matsubara LS. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. *Rev Assoc Med Bras*, v.43, p.1-16, 1997.
- 22 Fossum, T. W. *Cirurgia de pequenos animais*. 2 ed São Paulo: Roca 2005. cap. 38, p 1197-1202.
- 23 Gaetani, G.F., S. Galiano, L. Canepa, A.M. Ferraris and H.N. Kirkman, 1989. Catalase and glutathione peroxidase are equally effective in detoxification of hydrogen peroxide in human erythrocytes. *Blood*, 73: 334-339.
- 24 Gruys, E., Toussaint, M. J. M., Neiwold, T. A., Koopmans, S. J. Acute phase reaction and acute phase proteins. *Journal Zhejiang University Science*, New York, v. 6, p. 1045-1056, 2005.
- 25 Guedes, R.P., Partata, W. A., Ribeiro, M. F. M. *Sciatic nerve transection changes antioxidant activity and nNOS expression in spinal cord [monografia]*. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2007.
- 26 Halliwell, B; and Gutteridge, J. M. C. Cellular responses to oxidative stress: adaptation, damage, repair, senescence and death. In (Halliwell, B. and Gutteridge, J. M. C. *Free radicals in Biology and Medicine*, Oxford University Press Inc, p. 187-267. 2007.
- 27 Hamann, K.; Shi, R. Acrolein scavenging: a potential novel mechanism of attenuating oxidative stress following spinal cord injury. *J. Neurochem.*, v.111, p.1348-1356, 2009.
- 28 Hayes, J. D., Macmahon, M. Molecular basis for contribution of the antioxidant responsive element to cancer chemoprevention. *Cancer letters*. v. 174, p. 103-113; 2001.
- 29 Jain, S.; Gautman, V.; Nasseem, S. Acute-phase proteins: as diagnostic tool. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, v. 3, p.118-127, 2011.
- 30 Janssens, L. A. A. Mechanical and pathophysiological aspects of acute spinal cord trauma. *Journal of Small Animal Practice*, Oxford, v.32, p. 527-579, 1991.

- 31 Jentsch, A.M., Improved analysis of malondialdehyde in human body fluids. *Free Radical Biology and Medicine*, v. 20,p. 251–256, 1996.
- 32 Jordão-Junior, Afonso, A., Silveira, S., Figueredo, J. F. C. & Vannucchi, H. Urinary excretion and plasma vitamin E levels in patients with AIDS. *Nutrit.* v. 14, p. 423-426. 1998.
- 33 Kinnula VL, Crapo JD. Superoxide dismutases in malignant cells and human tumors. *Free Radic Biol Med* 36:718–744, 2004.
- 34 Kraus, K. H. Medical management of acute spinal cord disease. In: KIRK, R. W. *Current veterinary therapy XIII:small animal practice*. Philadelphia: Saunders, 2000. p.186-190.
- 35 Lecouteur, R. A., Child, G. Moléstias da medula espinhal. in: Ettinger, S.J. *Tratado de medicina veterinária: Mmoléstias do cão e do gato*. 3 ed. São Paulo: Manole, 1997. cap.62, p.655-736.
- 36 Marnell, L., Mold, C., Du Clos T.W.C-reactive protein: ligands, receptors and role in inflammation. *Clin Immunol.* 2005, 117(2): 104-111.
- 37 Mataix, J.; Quiles, J.L.; Huertas, J.R.; Battino, M.; Manas, M. Tissue specific interactions of exercise, dietary fatty acids, and vitamin E in lipidperoxidation. *Free Radic. Biol. Med.* v. 24, p.511-21, 1998.
- 38 McCord, J.M., Fridovich, I. *Superoxide dismutase*. An enzymic function for erythrocyte (hemocuprein). *J Biol Chem*, 244:6049 –55, 1969.
- 39 Munhoz, T.D.; Faria, J.L.M.; Hernandez, G.V.; João, C.F.; Pereira, W.A.B.; André, M.R.; Machado,R.Z.; Tinucci-Costa, M. Mensuração da proteína c-reativa na infecção experimental por *Ehrlichia canis* (amostra Jaboticabal) e após o tratamento com cloridrato de doxiciclina em cães. *Veterinária Notícias*, v.15, p.65-79, 2009.
- 40 Murata, H.; Shimada, N.; Yoshioka, M. Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview. *Veterinary Journal*. London, v. 168, n. 1, p. 28-40, 2004.
- 41 Nakamura M., Takahashi M., Ohno K., Koshino A., Nakashima K., Setoguchi A., Fujina Y.,Tsujiimoto H. (2008). C-reactive protein concentration on dogs with various diseases. *Journal of Veterinary Medical Science*, 70, 127-131.
- 42 Nelson, R,W; Couto,C,G *et al.* *Medicina Interna de Pequenos Animais*. 2 ed Rio de Janeiro: Guanabara 2001.cap. 72, p.797-809.
- 43 Nelson, D.L.; Kiesow, L.A. Entalpy of the composition of hydrogen peroxide by catalase at 25°C. *Analytical Biochemistry*, v.49, p.474-479, 1972.
- 44 Nogueira, A. F. S. Proteínas de fase aguda no soro sanguíneo e no líquido peritoneal de equinos submetidos à obstrução intestinal experimental [monografia]. Jaboticabal: Universidade Estadual de São Paulo, 2010.
- 45 Nordberg J, Arner, ES. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radic Biol Med* v. 31, p. 1287–1312. 2001

- 46 Olby, N.; JeferrY, N. Pathogenesis of diseases of the central nervous system. In: SLATTER, D. Textbook of small animal surgery. 3.ed. Philadelphia: Saunders, 2003. p.1132-1147.
- 47 Rosado, I.R., Melo, E. G. Efeitos do dantrolene sódico e succinato de metilprednisolona na neuroproteção e morte celular, na medula espinhal de ratos submetidos a trauma compressivo agudo [monografia]. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG, 2011.
- 48 Roscamp, M. Discopatia em cães [monografia]. Curitiba: Faculdade Federal do Paraná. Curitiba, 2007.
- 49 Sakurai, M., Nagata, T.; Abe, K.; et al. Oxidative damage and reduction of redox factor-1 expression after transient spinal cord ischemia in rabbits. *J. Vasc. Surg.*, v.37, p.446-452, 2003.
- 50 Shan, L., Ma, S., Qiu, X., et al. Hydroxysafflor Yellow A protects spinal cords from ischemia/reperfusion injury in rabbits. *Neurosci.*, v.11, n.8, p.1-8, 2010.
- 51 Shan, X. A.W., T.Y., Jones, D. P. Glutathione-dependent protection against oxidative injury. *Pharmacol Ther.* v. 47, p. 61-71, 1990.
- 52 Smith D.G. et al. The redox chemistry of the Alzheimer's disease amyloid beta peptide. *Biochim Biophys Acta*, v.1768, p.1976-1990, 2007.
- 53 Ticer, J.W. Radiographic technique in small animalpractice. 2.ed. Pliladelphia : Saunders, 1987. p.218-224.
- 54 Tizard, I.R. *Imunologia Veterinária: uma Introdução*, 8ª Ed. Roca, São Paulo-SP, 2008.
- 55 Thrall, D. E., Widmer, W. R. *Diagnóstico de radiologia Veterinária*. 2 ed. Rio de Janeiro: Elsevier 2010. p. 196-216.
- 56 Toombs, J.P., Bauer, M.S. Afecção do disco intervertebral. In: Slatter, D., *Manual de cirurgia de pequenos animais*. Manole: São Paulo, 1998. p. 1298-1305.
- 57 Urso, M.L., Clarkson, P.M., Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. *Toxicology*, 2003. 189: 41-54.
- 58 Van Der Oost, R., Beyer, J., Vermeulen, N.P.E. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environ. Toxicol Pharmacol.* v. 13, p. 57–149. 2003.
- 59 Wagner, M. et al. The role of oxidative damage in the neurophalogy of organic acidurias: insights from animal studies. *Journal Inherited Metabolic Disease*, v.27, p.427-448, 2004.
- 60 Wilce, M. C.; PARKER, M. W. Structure and function of glutathione Stransferases. *Biochim. Biophys. Acta*, v. 1205, p. 1-18. 1994.
- 61 Wu S, Tamaki N, Nagashima T, Yamaguchi M: Reactive oxygen species in reoxygenation injury of rat brain capillary endothelial cells. *Neurosurgery*, 43: 577-84, 1998.

ANEXOS

Laudos mielografias dos cães do grupo GL



Nome do Animal: **Canino 1**
 Número da Ficha:
 Espécie: Canina
 Raça: Pastoreira
 Sexo: Feminino
 Idade: 04 anos
 Data: 20/12/2014
 Proprietário:
 Região radiografada: Mielografia
 Médico Veterinário: Bianca Medeiros
 Resumo Clínico: Não informado
 Suspeita Clínica: Não informado

LAUDO RADIOLÓGICO

O presente estudo radiográfico demonstra:

- Raio-X Simplex
 - o Diminuição de espaço intervertebral em T10-T11, sugerindo hérnia de disco intervertebral.
 - o Canal medular alinhado.
 - o Para devida avaliação da integridade medular sugere-se mielografia/ tomografia computadorizada.
 - o Presença de significativa quantidade de fezes em cólon descendente e reto.
- Mielografia
 - o Compressão da coluna esquerda do meio de contraste no corpo de T10.
 - o Adelgaçamento da coluna central do meio de contraste de T10-T12. Evidência medular?

Nome do Animal: **Canino 2**
 Número da Ficha:
 Espécie: Canina
 Raça: Bulldog Inglês
 Sexo: Feminino
 Idade: Não informada
 Data: 23/09/2013
 Proprietário:
 Região radiografada: Mielografia
 Médico Veterinário: Bianca Medeiros
 Resumo Clínico: Incoordenação Motora
 Suspeita Clínica: Compressão medular.

LAUDO RADIOLÓGICO

O presente estudo radiográfico demonstra:

- Processos espinhosos, transversos, corpos vertebrais, fasetas articulares craniais e caudais preservados.
- Diminuição de espaço intervertebral em L1-2, sugerindo hérnia de disco intervertebral.
- Espondiloses deformante no bordo caudal de L2 e no bordo cranial de L3.
- Canal medular alinhado.
- Para devida avaliação da integridade medular sugere-se mielografia/ tomografia computadorizada.
- Presença de moderada quantidade de fezes em cólon descendente e reto.
- Mielografia
 - o Elevação dorsal da coluna ventral do meio de contraste (projecção lateral) e deslocamento medial da coluna de contraste direita (projecção ventro-dorsal) em L1-2. Imagens compatíveis com hérnia de disco intervertebral.

Nome do Animal:
 Número da Ficha: **Canino 3**
 Espécie: Canina
 Raça: Dachshund
 Sexo: Masculino
 Idade: 07 anos
 Data: 02/05/2014
 Proprietário:
 Região radiografada: Mielografia
 Médico Veterinário: Veridiane Gomes
 Resumo Clínico: Não informado.
 Suspeita Clínica: Não informada.

LAUDO RADIOLÓGICO

O presente estudo radiográfico demonstra:

- Raio-X Simples:
 - o Diminuição de espaço intervertebral em T10-11, sugerindo hérnia de disco intervertebral.
 - o Calcificação de disco intervertebral *in situ* em T10-11.
 - o Imagem sugestiva de material calcificado no canal em T10-11.
 - o Para devida avaliação da integridade medular sugere-se mielografia/ tomografia computadorizada.
 - o Moderada repleção vesical.
 - o Presença de significativa quantidade de fezes em cólon descendente e reto.
- Mielografia
 - o Ausência da coluna de contraste central em T10-11.

Nome do Animal:
 Número da Ficha: **Canino 4**
 Espécie: Canina
 Raça: Dachshund
 Sexo: Feminino
 Idade: 07 anos
 Data: 16/10/2014
 Proprietário:
 Região radiografada: Mielografia
 Médico Veterinário: Ricardo Oliveira
 Resumo Clínico: Paralisia MPs
 Suspeita Clínica: Não informada.

LAUDO RADIOLÓGICO

O presente estudo radiográfico demonstra:

- Exame Simples:
 - o Espondilose anquilosante significativa em T12-13.
 - o Canal medular alinhado.
 - o Calcificação de disco intervertebral *in situ* em T11-12, L1-2 e L4-5.
 - o Imagem sugestiva de material calcificado no canal em L1-2.
 - o Moderada repleção vesical.
 - o Presença de significativa quantidade de fezes em cólon descendente e reto.
- Mielografia:
 - o Elevação dorsal da coluna ventral do contraste em L1-2 e discretamente em L2-5, compatível com compressão medular, sugerindo hérnia de disco intervertebral.

Nome do Animal: **Canino 5**
Número da Ficha:
Espécie: Canina
Raça: Rottweiler
Sexo: Masculino
Idade: 08 anos
Data: 23/09/2014
Proprietário:
Região radiografada: Mielografia
Médico Veterinário: Veridiane da Rosa Gomes
Resumo Clínico: Não informado.
Suspeita Clínica: Compressão em L2-3.

LAUDO RADIOLÓGICO

O presente estudo radiográfico demonstra:

- Raio-X Simples:
 - o Processos espinhosos, transversos, corpos vertebrais, facetas articulares craniais e caudais preservados.
 - o Espaços intervertebrais preservados.
 - o Canal medular alinhado.
 - o Calcificação parcial de disco intervertebral *in situ* em T13-L1.
 - o Para devida avaliação da integridade medular sugere-se mielografia/ tomografia computadorizada.
 - o Presença de significativa quantidade de fezes em cólon descendente e reto.
 - o Presença de neoformação óssea, homogênea e bem delimitada, ventral aos corpos vertebrais de L1-2. Trauma antigo? Alteração congênita?
- Mielografia
 - o Não evolução da coluna ventral e dorsal do meio de contraste a partir de T13-L1.

Nome do Animal: **Canino 6**
Número da Ficha:
Espécie: Canina
Raça: Lhasa Apso
Sexo: Feminino
Idade: 03 anos
Data: 26/02/2014
Proprietário:
Região radiografada: Mielografia
Médico Veterinário: Leticia Lehmann
Resumo Clínico: Não informado.
Suspeita Clínica: Não informada.

LAUDO RADIOLÓGICO

O presente estudo radiográfico demonstra:

- Raio-X Simples:
 - o Processos espinhosos, transversos, corpos vertebrais, facetas articulares craniais e caudais preservados.
 - o Diminuição de espaço intervertebral T10-T11 e T11-12, sugerindo hérnia de disco intervertebral.
 - o Canal medular alinhado.
 - o Calcificação de disco intervertebral *in situ* em T8-9.
 - o Para devida avaliação da integridade medular sugere-se mielografia/ tomografia computadorizada.
- Mielografia
 - o Ausência da coluna ventral do meio de contraste de T10-T13.

Nome do Animal: **Canino 7**
 Número da Ficha:
 Espécie: Canina
 Raça: Poodle
 Sexo: Feminino
 Idade: 06 anos
 Data: 18/12/2014
 Proprietário:
 Região radiografada: Mielografia
 Médico Veterinário: Bianca Medeiros
 Resumo Clínico: Não informado.
 Suspeita Clínica: Não informado.

LAUDO RADIOLÓGICO

O presente estudo radiográfico demonstra:

- Raio-X Simples:
 - o Fratura completa da 7ª, 8ª, 9ª e 10ª costela direita, com conseqüente redução das mesmas com fios de cerclagem.
 - o Processos espinhosos, transversos, corpos vertebrais, fâcetias articulares craniais e caudais preservados.
 - o Diminuição de espaço intervertebral T13-L1 e L1-2, sugerindo hérnia de disco intervertebral.
 - o Canal medular alinhado.
 - o Para devida avaliação da integridade medular sugere-se mielografia/ tomografia computadorizada.
 - o Presença de significativa quantidade de fezes em cólon descendente e reto.
- Mielografia
 - o Discreta elevação da coluna ventral do meio de contraste em T13-L1.

Nome do Animal:
 Número da Ficha: **Canino 8**
 Espécie: Canina
 Raça: Dachshund
 Sexo: Masculino
 Idade: 08 anos
 Data: 30/09/2014
 Proprietário:
 Região radiografada: Mielografia
 Médico Veterinário: Felipe Gavioli
 Resumo Clínico: Não informado.
 Suspeita Clínica: Não informada.

LAUDO RADIOLÓGICO

O presente estudo radiográfico demonstra:

- Exame Simples:
 - o Segmento T1-T12 preservado.
 - o Espaço intervertebral em cunha em T13-L1, sugerindo hérnia de disco intervertebral.
- Mielografia:
 - o Falha de preenchimento bilateral da coluna ventral e dorsal do meio de contraste sob o corpo da T13 e da L1.
 - o *Imagens compatíveis com compressão medular.*


 Taiane Carnevali
 CRMV/RS 10415

Resultados Proteína C

Grupo GL


LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS ESCOLA
CURSO DE FARMÁCIA
UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO


CAMPUS I - Km 171 - BR 285, Bairro São José,
 Caixa Postal 611
 CEP 99001-970 Passo Fundo/RS
 FONE: (54) 3316-8499 Ramal: 8602

Canino 1

Nome :
 Médico : RICARDO PIMENTEL OLIVEIRA
 Data : 03/07/2014
 Convênio: PROJETOS DE PESQUISA E EXTENSÃO

IMUNOLOGIA

PROTEINA C REATIVA: 6,0 mg/l
 MÉTODO: Aglutinação em látex

V.R.: Inferior a 6 mg/l

Canino 2

Nome :
 Médico : RICARDO PIMENTEL OLIVEIRA
 Data : 03/07/2014
 Convênio: PROJETOS DE PESQUISA E EXTENSÃO

IMUNOLOGIA

PROTEINA C REATIVA: Inferior a 6 mg/l
 MÉTODO: Aglutinação em látex

V.R.: Inferior a 6 mg/l

Canino 3

Nome :
 Médico : RICARDO PIMENTEL OLIVEIRA
 Data : 03/07/2014
 Convênio: PROJETOS DE PESQUISA E EXTENSÃO

IMUNOLOGIA

PROTEINA C REATIVA: Inferior a 6 mg/l
 MÉTODO: Aglutinação em látex

V.R.: Inferior a 6 mg/l

Nome : Canino 4
 Médico : RICARDO PIMENTEL OLIVEIRA
 Data : 04/07/2014
 Convênio: PROJETOS DE PESQUISA E EXTENSÃO

IMUNOLOGIA

PROTEINA C REATIVA: Inferior a 6 mg/l V.R.:Inferior a 6 mg/l
 MÉTODO: Aglutinação em látex

Nome : Canino 5
 Médico : RICARDO PIMENTEL OLIVEIRA
 Data : 03/07/2014
 Convênio: PROJETOS DE PESQUISA E EXTENSÃO

IMUNOLOGIA

PROTEINA C REATIVA: 24 mg/l V.R.:Inferior a 6 mg/l
 MÉTODO: Aglutinação em látex

Nome : Canino 6
 Médico : RICARDO PIMENTEL OLIVEIRA
 Data : 03/07/2014
 Convênio: PROJETOS DE PESQUISA E EXTENSÃO

IMUNOLOGIA

PROTEINA C REATIVA: Inferior a 6 mg/l V.R.:Inferior a 6 mg/l
 MÉTODO: Aglutinação em látex

Nome : Canino 7
 Médico : RICARDO PIMENTEL OLIVEIRA
 Data : 03/07/2014
 Convênio: PROJETOS DE PESQUISA E EXTENSÃO

IMUNOLOGIA

PROTEINA C REATIVA: 6,0 mg/l V.R.:Inferior a 6 mg/l
 MÉTODO: Aglutinação em látex

Nome : Canino 8
 Médico : RICARDO PIMENTEL OLIVEIRA
 Data : 03/07/2014
 Convênio: PROJETOS DE PESQUISA E EXTENSÃO

IMUNOLOGIA

PROTEINA C REATIVA: Inferior a 6 mg/l V.R.:Inferior a 6 mg/l
 MÉTODO: Aglutinação em látex



Grupo GC



LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS ESCOLA
CURSO DE FARMÁCIA
UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO



CAMPUS I - Km 171 - BR 285, Bairro São José,
 Caixa Postal 611
 CEP 99001-970 Passo Fundo/RS
 FONE: (54) 3316-8499 Ramal: 8602

Nome :
 Médico : RICARDO PIMENTEL OLIVEIRA
 Data : 03/07/2014
 Convênio: PROJETOS DE PESQUISA E EXTENSÃO

Canino 1

IMUNOLOGIA

PROTEINA C REATIVA: Inferior a 6 mg/l
 MÉTODO: Aglutinação em látex

V.R.: Inferior a 6 mg/l

Nome :
 Médico : RICARDO PIMENTEL OLIVEIRA
 Data : 03/07/2014
 Convênio: PROJETOS DE PESQUISA E EXTENSÃO

Canino 2

IMUNOLOGIA

PROTEINA C REATIVA: 6,0 mg/l
 MÉTODO: Aglutinação em látex

V.R.: Inferior a 6 mg/l

Nome :
 Médico : RICARDO PIMENTEL OLIVEIRA
 Data : 03/07/2014
 Convênio: PROJETOS DE PESQUISA E EXTENSÃO

Canino 3

IMUNOLOGIA

PROTEINA C REATIVA: 6,0 mg/l
 MÉTODO: Aglutinação em látex

V.R.: Inferior a 6 mg/l

Nome : Canino 4
 Médico : RICARDO PIMENTEL OLIVEIRA
 Data : 03/07/2014
 Convênio: PROJETOS DE PESQUISA E EXTENSÃO

IMUNOLOGIA

PROTEINA C REATIVA: Inferior a 6 mg/l V.R.:Inferior a 6 mg/l
 MÉTODO: Aglutinação em látex

Nome : Canino 5
 Médico : RICARDO PIMENTEL OLIVEIRA
 Data : 03/07/2014
 Convênio: PROJETOS DE PESQUISA E EXTENSÃO

IMUNOLOGIA

PROTEINA C REATIVA: Inferior a 6 mg/l V.R.:Inferior a 6 mg/l
 MÉTODO: Aglutinação em látex

Nome : Canino 6
 Médico : RICARDO PIMENTEL OLIVEIRA
 Data : 03/07/2014
 Convênio: PROJETOS DE PESQUISA E EXTENSÃO

IMUNOLOGIA

PROTEINA C REATIVA: Inferior a 6 mg/l V.R.:Inferior a 6 mg/l
 MÉTODO: Aglutinação em látex

Nome : Canino 7
 Médico : RICARDO PIMENTEL OLIVEIRA
 Data : 03/07/2014
 Convênio: PROJETOS DE PESQUISA E EXTENSÃO

IMUNOLOGIA

PROTEINA C REATIVA: Inferior a 6 mg/l V.R.:Inferior a 6 mg/l
 MÉTODO: Aglutinação em látex

Nome : Canino 8
 Médico : RICARDO PIMENTEL OLIVEIRA
 Data : 03/07/2014
 Convênio: PROJETOS DE PESQUISA E EXTENSÃO

IMUNOLOGIA

PROTEINA C REATIVA: Inferior a 6 mg/l V.R.:Inferior a 6 mg/l
 MÉTODO: Aglutinação em látex

Salyon
 Salyon
 Salua Bonnes
 Farmacêutica Bioquímica
 CRF-RS 4213