

CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E CITOLÓGICAS DO LÍQUIDO CEREBROESPINHAL DE CÃES SUBMETIDOS À MIELOGRAFIA COM IOHEXOL

*Fábio Di Lauro Rigueira¹, Andrea Pacheco Batista Borges², Marcelo Emílio Beletti³,
Aécio B. de Oliveira⁴, Luciana Maia Lana⁵*

RESUMO

O iohexol é um meio de contraste bastante utilizado em mielografia que, apesar de seguro, pode provocar efeitos colaterais e alterar a composição do líquido cerebroespinal em cães. Este trabalho teve por objetivo verificar as alterações físico-químicas e citológicas do líquido cerebroespinal (LCE) de cães submetidos à mielografia com o meio de contraste iohexol. Para isso foi utilizado o iohexol a 300mg de iodo/mL que foi administrado pelo espaço subaracnóide cerebelomedular na dose de 0,3 mL/Kg em 8 cães saudáveis. Três coletas de LCE de cada animal foram realizadas em momentos diferentes e estas divididas em três grupos. O Grupo I (grupo controle) representou as amostras coletadas antes da mielografia e os grupos II e III as amostras coletadas 24 e 48 horas após a mielografia, respectivamente. Realizaram-se exames físico-químicos e citológicos de todas as amostras. Os resultados mostraram que três amostras ficaram turvas, mas nenhuma coagulou. A densidade aumentou no grupo II, com subsequente diminuição no grupo III. Nos grupos II e III, houve aumento ($p < 0,05$) na proteína em relação ao grupo I e notou-se um aumento dos leucócitos totais, mas sem haver diferença significativa. Na contagem diferencial os valores relativos de polimorfonucleares e pequenos mononucleares aumentaram nos grupos II e III ($p < 0,05$), entretanto, os valores se mantiveram normais para a espécie. Pode-se concluir que o iohexol 300 mg/ml, na dose de 0,3 mL/Kg provocou alterações físico-

químicas e citológicas do líquido cerebroespinal em cães submetidos a mielografia.

Palavras-chave: Análise, líquido cerebroespinal, mielografia, iohexol, cães.

INTRODUÇÃO

O líquido cerebroespinal (LCE) é produzido principalmente pelos plexos coróides como resultado de um ultrafiltrado plasmático (WHEELER; SHARP, 1999). Tem a função de proteção contra impactos mecânicos e regula as variações na pressão intracraniana, tendendo a ser mais estável a alterações químicas quando comparado ao plasma sanguíneo. O LCE normal é incolor, límpido e praticamente acelular (COLES, 1986).

De acordo com Cook Júnior; DeNicola (1988) algumas doenças do Sistema Nervoso Central (SNC) ou das meninges podem alterar a composição do LCE. Sua análise pode fornecer dados úteis como o aumento do número de leucócitos (pleocitose), das proteínas, além da presença de células anormais, caracterizando a natureza da afecção (JAMISON; LUMSDEN, 1988). Para Oliver Júnior; Lorenz (1983), a citologia é o exame mais importante a ser realizado no LCE, contudo Chrisman (1992) ressalva ser a análise da proteína total o exame químico de maior relevância.

A mielografia é uma técnica radiográfica contrastada utilizada para demonstrar lesões compressivas da medula espinhal. Para realização

¹ Médico Veterinário, Pós-graduando em Ciências Veterinárias. Faculdade de Medicina Veterinária-FAMEV, Universidade Federal de Uberlândia-UFU.

² Médica Veterinária, Professora Adjunta. Doutora. Departamento de Veterinária-DVT. Universidade Federal de Viçosa-UFV.

³ Médico Veterinário, Professor Titular. Doutor Associado. ICBIM/UFU. Av. Pará 1720, Campus Umuarama. 38400-902. Uberlândia, MG. mebeletti@ufu.br

⁴ Farmacêutico. Técnico nível superior. Mestrando/DVT/UFV. Av. Ph Holfs, s/n. Viçosa, MG.

⁵ Médica Veterinária, Sadia S/A, Uberlândia-MG.

deste exame, devem ser levados em consideração os possíveis efeitos colaterais provocados pelos contrastes (SANDE, 1992).

O iohexol é um dos contrastes mais utilizados em mielografias (ALLAN; WOOD, 1988), pois suas propriedades renderam-lhe características menos tóxicas, com menores índices de complicações e alterações neurológicas (HOLLAND, 1993 e ROBERTS; SELCER, 1993), entretanto, meningites assépticas agudas e altos índices de efeitos colaterais foram atribuídos a esse contraste (LEWIS; HOSGOOD, 1992 e VULCANO et al., 2002).

Poucos autores relatam as alterações agudas do LCE frente ao uso de contrastes não-iônicos (WIDMER et al., 1992) e mais raros são àqueles que relatam sua análise dentro das primeiras 48 horas. O objetivo deste trabalho foi verificar as alterações físico-químicas e citológicas do líquido cerebrospinal (LCE), nas primeiras 48 horas, em cães submetidos a mielografia iohexol a 300 mg de iodo/ml (mg/ml).

MATERIAL E MÉTODOS

Participaram do experimento oito cães adultos, machos e fêmeas, clinicamente sadios, pesando em média 10,8 Kg, oriundos do canil experimental da Universidade Federal de Viçosa. Selecionaram-se os animais após a exclusão de doenças neurológicas, através de exame clínico sendo utilizados somente animais cujos hemogramas apresentaram valores dentro dos limites fisiológicos para a espécie.

Cada animal foi submetido à mielografia e a três coletas de líquido cerebrospinal (LCE), perfazendo um total de 24 amostras coletadas. As amostras foram distribuídas em três grupos: grupo I (controle) constituído pelas amostras coletadas antes da mielografia e os grupos II e III, pelas amostras coletadas 24 e 48 horas após a mielografia, respectivamente.

Na véspera da mielografia, os animais passaram por um jejum alimentar de dez horas e hídrico de quatro horas. Um acesso venoso foi instituído e os animais receberam a anestesia com diazepam¹(0,5mg/Kg) e tiopental²(12,5mg/Kg), conforme recomendado por McKelvey; Hollingshead (2000). Os animais foram posicionados e o

local da punção identificado segundo orientações de Jamison; Lumsden (1988). Inseriram-se as agulhas através do forame magno e introduziram-se até o ponto onde houvesse extravasamento do LCE, como recomendado por Cook Júnior; DeNicola (1988). O iohexol³ 300mg de iodo/mL foi injetado na dose de 0,3mL/Kg. Em seguida realizou-se à radiografia da coluna vertebral cervical para confirmar a presença do contraste no espaço subaracnóideo.

O volume das amostras de LCE coletadas do grupo I se igualou ao do contraste a ser injetado (0,3mL/Kg), já o volume retirado dos grupos II e III totalizou 2 mL para cada animal. Antes de cada coleta, as três primeiras gotas de LCE foram descartadas e o restante coletado em tubos de vidro transparentes, sem anticoagulantes. Levaram-se as amostras imediatamente ao laboratório onde cada uma delas passaram por exames físico-químicos e citológicos, incluindo contagens total e diferencial de leucócitos. A cor e a turbidez foram analisadas macroscopicamente, a densidade foi determinada por refratometria e o pH pela fita reagente de urinálise⁴.

A análise quantitativa da proteína teve sua execução através da utilização de kit comercial⁵ a base de vermelho de pirogalol que reage com o molibdato de sódio formando um complexo que, quando combinado com a proteína em meio ácido, desenvolve um cromóforo de cor azul. Realizou-se a leitura em espectrofotômetro com 600nm de absorvância conforme recomenda o fabricante. A fita reagente para urinálise também foi utilizada para avaliar a sua eficácia e sensibilidade. A análise qualitativa, para determinar a presença de globulinas no LCE foi realizada pela prova de Nonne-Apelt segundo Coles (1986). O resultado teve a sua classificação em positivo (+) ou negativo (-) de acordo com a presença de globulinas no LCE.

Para a contagem total de leucócitos utilizou-se a câmara de Fuchs-Rosenthal de acordo com o método descrito por Wright (1978), já a contagem diferencial foi realizada após centrifugação a 1000g por 10 minutos. O sedimento foi ressuspenso e misturado a 5 µL de plasma. Em seguida colocou-se uma gota da mistura na lâmina que, após estar seca foi corada pelo método panótico de coloração rápida para hematologia. Contou-se um número total de 50 células por lâmina

¹ Diazepam 5mg/ml, G medicamento genérico, Brasil.

² Thiopental 2,5%, Cristália, Brasil.

³ Omnipaque 300 mg/ml, Nycomed, Ireland Ltda., Cork, Irlanda

⁴ Urinalysis 100, USA.

⁵ Sensiprot, Labtest, Lagoa Santa – MG, Brasil.

foram contadas e classificaram-se estas em pequenos mononucleares (linfócitos e monócitos), grandes mononucleares (macrófagos) e polimorfonucleares (neutrófilos, eosinófilos e basófilos).

A análise estatística utilizou o teste "t" de student para dados pareados, onde cada grupo foi analisado entre si para as sete variáveis analisadas neste experimento: proteína, pH, densidade, leucócitos totais e tipos de leucócitos encontrados, classificados como pequenos e grandes mononucleares e polimorfonucleares. O grau de significância foi de 5%.

RESULTADOS

As amostras do grupo I apresentaram-se límpidas e incolores. Apenas uma amostra do grupo II e duas do grupo III turvaram, sendo que uma do

grupo III contaminou com sangue (>500 hemácias/mm³). Apesar dos achados, não houve coagulação das amostras em nenhum dos grupos.

A densidade aumentou significativamente ($p < 0,05$) nas amostras do grupo II, diminuindo em seguida no grupo III (Tabela 1). Não houve grandes alterações no pH, permanecendo estes entre 8 e 9. Apesar do resultado, houve diferença ($p < 0,05$) entre os grupos II e III (Tabela 1).

O valor médio da concentração de proteína aumentou significativamente ($p < 0,05$) das amostras do grupo I (20,32 mg/dL), para as do grupo II (32,34 mg/dL) e III (33,74 mg/dL) respectivamente (Tabela 1). A fita registrou valores menores que 30 mg/dL e somente 4 das 24 amostras, apresentaram valores maiores que 30mg/dL. A prova de Nonne-Apelt foi subjetiva e das 24 amostras analisadas 6 tiveram resultados positivos e 18 negativos.

Tabela 1. Médias e desvios padrão (parênteses) da densidade, pH e proteína nas amostras de líquido cerebrospinal de cães submetidos à mielografia com iohexol. Viçosa-MG, 2004.

GRUPOS	DENSIDADE	pH	PROTEÍNA (mg/dL)
I (controle)	1004,12(a) (0,64)	8,62(a) (0,51)	20,32(a) (5,63)
II (24 horas)	1006,50(b) (0,75)	8,87(a) (0,35)	32,34(b) (17,75)
III (48 horas)	1005,12(c) (0,35)	8,50(b) (0,53)	33,74(b) (13,94)

Para cada variável, médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem significativamente ($p > 0,05$).

O Grupo I teve a média da contagem total de leucócitos de 9,12 células/mm³, oscilando entre 2 e 21 células/mm³. Nos grupos II e III, os números de leucócitos tiveram aumentos expressivos em suas médias (1576 e 429 células/mm³, respectivamente), entretanto não houve diferença estatística significativa em relação ao grupo I.

Os pequenos mononucleares predomi-

naram em 22 das 24 amostras, sendo observada diferença significativa ($p < 0,05$) entre os grupos I e II. Os grandes mononucleares (GM) apareceram como menos freqüente nos três grupos de amostras e um aumento significativo dos seus valores foi evidenciado nas amostras do grupo III. Por fim, os polimorfonucleares tiveram aumentos significativos nos grupos II e III em relação ao grupo I (tabela 2)

Tabela 2. Médias e desvios padrão (parênteses) do número total de leucócitos (LE), de pequenos mononucleares (PM), grandes mononucleares (GM) e polimorfonucleares (PLM) das amostras de líquido cerebrospinal de cães submetidos à mielografia com iohexol. Viçosa-MG, 2004.

GRUPOS	PM(%)	GM(%)	PLM(%)	LE (cels/mm ³)
I (controle)	92,12(a) (3,72)	3,37(a) (1,76)	4,75(a) (1,98)	9,12(a) (6,79)
II (24 horas)	72,87(b) (26,97)	3,62(a) (1,30)	23,50(b) (26,19)	1576,00(a) (4212,98)
III (48 horas)	76,12(ab) (29,65)	6,00(b) (3,07)	27,50(b) (26,44)	429,25(a) (853,29)

Para cada variável, médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem significativamente ($p > 0,05$).

No retorno anestésico, cinco animais apresentaram mioclonias, ataxia e vocalizaram após a mielografia, entretanto nenhum animal teve convulsões durante o período de observação.

DISCUSSÃO

No exame físico, a turbidez das amostras foi atribuída ao aumento do número de células nas mesmas, estando de acordo com Coles (1986) que declara ser a turbidez em consequência do aumento no número de células no LCE. Segundo Jamison; Lumsden (1988) e Chrisman (1992), quando há contaminação sanguínea do LCE este fica turvo e avermelhado, o que explica a coloração da amostra do grupo III. Nenhuma amostra coagulou pelo baixo nível de proteína encontrado nas amostras que, como descrito por Coles (1986) é um dos fatores relacionados à coagulação.

A densidade do LCE também está relacionada ao aumento de proteína, conforme citado por Oliver Júnior; Lorenz (1983) e Cook Júnior; DeNicola (1988), mas de acordo com os resultados, este não é o único fator responsável, pois no grupo III a proteína aumentou e a densidade diminuiu. Apesar da diferença significativa na densidade, suas médias permaneceram dentro dos valores fisiológicos padronizados por Chrisman (1992) e foram semelhantes aos valores obtidos por Bree et al. (1991). Em relação ao pH, a diferença significativa não foi de grande importância, pois todas as amostras permaneceram com valores normais estipulados por Chrisman (1985).

Todos os valores médios encontrados para a concentração de proteína do LCE estão dentro dos valores considerados normais, menos de 40mg/dL (DeLAHUNTA, 1983). No entanto, o aumento nos grupos II e III pode ser consequência da pleocitose, sustentando a opinião de Cook Júnior; DeNicola (1988) de que o aumento protéico pode ou não estar relacionado com a pleocitose e essa por sua vez tem relação com reações do SNC. O aumento da proteína líquórica ligado a pleocitose sugere inflamação (OLIVER JÚNIOR; LORENZ, 1983 e COLES 1986), ou lesões da barreira hematoencefálica (CHRISMAN, 1992), o que explica os resultados positivos da prova de Nonne-Apelt nos grupos II e III.

A fita foi útil para a determinação da proteína, como descrito por Cook Júnior; DeNicola (1988), no entanto, a sua determinação foi imprecisa. Ela detectou valores a partir de 12 mg/dL, contrapondo Chrisman (1992), que declara que esta só detecta valores maiores que 30mg/dL.

O valor normal de leucócitos menor que 5 células/mm³ (COLES, 1986), não condiz com o valor encontrado no grupo I (9,12 células/mm³). Já nos demais grupos, o aumento das médias foi claramente observado, mas não foi estatisticamente significativo em função dos desvios padrão terem sido muito grandes. Esses achados sugerem uma reação inflamatória aguda das meninges que segundo Oliver Júnior; Lorenz (1983), Cook Júnior; DeNicola (1988) e Chrisman (1992) pode ser provocada pelo contraste. Resultados semelhantes foram encontrados por Wheeler; Sharp (1999) após mielografia com iohexol em cães e gatos.

Os pequenos mononucleares são as células predominantes no LCE normal (CHRISMAN, 1992), o que corrobora com os achados deste estudo. Apesar da contagem relativa ter permanecido dentro da normalidade segundo Coles (1986), houve uma diminuição significativa na média percentual dos pequenos mononucleares. Da mesma forma que os grandes mononucleares os polimorfonucleares tiveram aumentos estatísticos significativos. Duas amostras que apresentaram pleocitose neutrofílica explicam esses aumentos e reforçam ainda mais a possibilidade de reação inflamatória de meninges, uma vez que estas não tiveram contaminação sanguínea que justificassem esse resultado.

CONCLUSÃO

No presente trabalho conclui-se que o iohexol 300 mg/ml é capaz de provocar alterações agudas significativas nas características físico-químicas e celulares do LCE em cães submetidos a mielografia.

Physical chemical and cytological characteristics of cerebrospinal fluid in dogs submitted to myelography with iohexol

ABSTRACT

Iohexol is a contrast medium widely used in myelography that despite being safe, may cause adverse effects and change the composition of the cerebrospinal liquid in dogs. The objective of this work was to verify the physical-chemical and cytological alterations of the cerebrospinal fluid (CSF) of dogs submitted to myelography with iohexol contrast medium. Thus, iohexol was used to 300 mg of iodine/mL that was injected into the cerebello-medullary cistern at the dose of 0.3 mL/Kg in 8 healthy

dogs. Three CSF collections from each animal were performed at distinct moments and allocated into three groups: Group I (control group) was represented by samples collected before myelography and groups II and III by samples collected 24 and 48 hours after myelography, respectively. Physical-chemical and cytological exams of all samples were performed. The results showed that three samples became dim but none of them coagulated. The density was increased in group II with subsequent decrease in group III. An increase on the protein content was verified in groups II and III ($p < 0.05$) in relation to group I, and an increase on the total leucocytes was verified but with no significant difference. In the differential counting, a difference ($p < 0.05$) of proportion between polymorphonuclear and small mononuclear cells was observed; however, values remained normal for the species. One may conclude that iohexol 300 mg/mL at dose of 0.3 mL/Kg caused physical-chemical and cytological alterations of the cerebrospinal fluid (CSF) of dogs submitted to myelography.

Keywords: Analysis, cerebrospinal fluid, myelography, iohexol, dogs.

REFERÊNCIAS

- ALLAN, G.S.; WOOD, A.K.W. Iohexol myelography in the dog. **Veterinary Radiology**, v.29, n.2, p.78-82, 1988.
- BREE, H.V.; RIJSSEN, B.V.; HAM, L.V. Comparison of non-ionic contrast agents Iohexol and Iotrolan for cisternal myelography in dogs. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v.52, n.6, p.926-932, 1991.
- CHRISMAN, C.L. Investigações auxiliares especiais. In: **Neurologia de pequenos animais**. São Paulo: Roca, 1985. p.63-96.
- CHRISMAN, C.L. Cerebrospinal fluid analysis. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v.22, n.4, p.781-809, 1992.
- COLES, E.H. Fluido cerebrospinal In: **Patologia clínica veterinária**. 4 ed. Rio de Janeiro: Manole, 1986. p.267-278.
- COOK JÚNIOR, J.R.; DeNICOLA, D.B. Cerebrospinal fluid. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v.18, n.3, p.475-499, 1988.
- DeLAHUNTA, A. **Veterinary neuroanatomy and clinical neurology**. 2 ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1983. 263p.
- HOLLAND, M. Contrast agents. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v.23, n.2, p.269-279, 1993.
- JAMISON, E.M.; LUMSDEN, J.H. Cerebrospinal fluid analysis in the dog: methodology and interpretation. **Seminars in Veterinary Medical Surgery**, v.3, n.2, p.122-132, 1988.
- LEWIS, D.D; HOSGOOD, G. Complication associated with the use of iohexol myelography of the cervical columns in dogs: 66 cases (1988-1990). **Journal of American Veterinary Medical Association**, v.200, n.9, p.1381-1384, 1992.
- McKELVEY, D.; HOLLINGSHEAD, K.W. **Small animal anesthesia e analgesia**. 2.ed. StLouis, 2000. 334p.
- OLIVER JÚNIOR, J.E.; LORENZ, M.D. Confirming a diagnosis. In: **Handbook of veterinary Neurologic Diagnosis**. Philadelphia: Saunders, 1983. p.106-121.
- ROBERTS, R.E.; SELCER, B.A. Myelography and epidurography. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v.23, n.2, p.307-329, 1993.
- SANDE, R.D. Radiography, myelography, computed tomography, and, magnetic resonance imaging of the spine. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v.22, n.4, p.811-831, 1992.
- VULCANO, L.C.; SANTOS, F.A.M.; MANNARINO, R.; CRUZ, M.L. Estudo das alterações neurológicas em cães submetidos à mielografia, utilizando os meios de contrastes iopamidol e iohexol. **Revista Educação Continuada**, v.5, n.3, p.253-258, 2002.
- WHEELER, S.J.; SHARP, N.J.H. Auxílio diagnóstico. **Diagnóstico e tratamento das afecções espiniais do cão e do gato**. São Paulo: Manole, 1999. p.34-56.
- WIDMER, W.R.; DeNICOLA, D.B.; BLEVINS, W.E.; COOK JÚNIOR, J.R.; CANTWELL, H.D.; TECLAW, R.F. Cerebrospinal fluid changes after iopamidol and metrizamide myelography in clinically

normal dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v.53, n.3, p.396-401, 1992.

WRIGHT, J.A. Evaluation of cerebrospinal fluid in the dog. **Veterinary Record**, v.103, n.3, p.48-51, 1978.