

INFLUÊNCIA DO DIMETILSULFÓXIDO NO LÍQUIDO CEFALORRAQUIDIANO E NA BARREIRA HEMATOENCEFÁLICA DE BOVINOS

MOSCARDINI,¹ Augusto Ricardo Coelho; **MACHADO**,² Grazieli Marinheiro; **PEIXOTO**,² Rômulo Vitelli Rocha; **ARAÚJO**,³ Robério Antônio; **SILVA**,⁴ Luiz Antônio Franco; **FIORAVANTE**,⁴ Maria Clorinda Soares; **BORGES**,² José Renato Junqueira.

1. Mestrando Programa de Pós-graduação em Ciência Animal EV/UFG
augustomoscardini@hotmail.com

2. Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária UnB - jrborges@unb.br

3. Laboratório de Patologia Clínica HUB

4. Professor da Escola de Veterinária UFG

Palavras-chaves: Bovino, dimetilsulfóxido, barreira hematoencefálica, LCR.

Introdução

O tratamento de doenças do sistema nervoso apresenta algumas particularidades pelo fato do tecido encefálico e o da medula espinhal não se regenerarem, bem como pela impermeabilidade da barreira hematoencefálica (BHE) a muitas drogas (Radostits, 2002).

A BHE possui uma grande superfície e pequenas distâncias de difusão para os neurônios, isto é muito importante para regular a permeabilidade de drogas no sistema nervoso (Abbott, 2002). Muitas outras substâncias que precisam atravessar a BHE não são lipossolúveis e, portanto atravessam por intermédio de um transporte mediado (Lattera & Goldstein, 1991).

Os fármacos usualmente utilizados para o tratamento das injúrias do sistema nervoso em ruminantes muitas vezes não têm apresentado bons resultados. Apesar de ser uma droga ainda pouco estudada, o dimetilsulfóxido (DMSO) tem sido utilizado no tratamento dos traumas e quaisquer outras doenças que levem a inflamação no tecido nervoso dos grandes animais. O elevado potencial antiinflamatório e a capacidade de penetração no sistema nervoso central são justificativas para o seu uso freqüente. O estudo da ação do DMSO no sistema nervoso dos bovinos é de grande importância para justificar ou não sua utilização nos casos de injúria nesses tecidos. O dimetilsulfóxido (DMSO) é um subproduto do processamento da madeira e da destilação do petróleo. Foi inicialmente pregado como solvente industrial e agora vem sendo muito utilizado como veículo para diversos medicamentos. A ação antiinflamatória do DMSO e do seu metabólito, o dimetilsulfeto reside na propriedade de remover radicais livres, principalmente hidroxilas. Aumenta ainda a perfusão tecidual, melhora a ação estabilizadora de membranas realizadas pelos corticosesteróides, além de inibir a quimiotaxia de células inflamatórias e carrear substâncias de baixo peso molecular. Também é capaz de penetrar a BHE, diminuindo a produção de prostaglandinas no sistema nervoso central (Tasaka, 1999). Este trabalho demonstra resultados parciais e está verificando a influência do DMSO na permeabilidade da BHE através da avaliação de parâmetros bioquímicos do líquido cefalorraquidiano (LCR), como eletrólitos (sódio – Na⁺, cloro – Cl⁻, potássio K⁺), enzimas (lactatodesidrogenase – LDH, creatinaquinase – CK), celularidade e glicorraquia de bovinos.

Material e método

Foram utilizados 14 bovinos machos, sadios, mestiços de 10-12 meses. Dois grupos foram formados com sete animais: Grupo 1 – controle, onde foi realizada a administração intravenosa de um litro de solução fisiológica NaCl 0,9% com auxílio de equipo comum e um cateter n° 18 introduzido pela veia jugular; Grupo 2 – tratamento com DMSO, onde o DMSO foi administrado numa dose de 1g/kg a uma concentração de 99,5%. A droga foi veiculada em uma solução fisiológica NaCl 0,9%. A solução foi aplicada lentamente por via endovenosa da mesma forma que a administração no grupo controle.

Primeiramente, o LCR foi coletado para o controle em todos os grupos, antes da administração dos fármacos, e após sete dias foi realizada a veiculação dos medicamentos. A segunda coleta do LCR foi realizada após cinco horas da administração das soluções de NaCl 0,9% com ou sem DMSO. As amostras de LCR foram encaminhadas sob refrigeração ao laboratório para análise de eletrólitos (sódio – Na⁺, cloro – Cl⁻, potássio K⁺), enzimas (lactatodesidrogenase – LDH, creatinaquinase – CK), diferenciação e contagem de células (hemácias e células nucleadas) e glicorraquia. Após a coleta de LCR foi realizada a retirada amostra de sangue para determinação da glicemia.

Para a coleta de LCR foi necessária uma contenção física dos animais. Na região atlanto-occipital onde foi puncionado o LCR realizou-se a tricotomia local e assepsia com solução de álcool iodado. Flexionou-se a cabeça do bovino para facilitar o acesso no local da punção. Com o animal devidamente posicionado realizou-se a coleta com agulha especial metálica para punção n° 12. O sangue foi coletado através da veia jugular e encaminhado ao laboratório para verificar a glicemia nos animais dos dois grupos. As concentrações dos eletrólitos no LCR foram medidas pelo método do eletrodo seletivo em aparelho verificador de eletrólitos AVL 9180. Os níveis de CK e LDH foram analisados por espectrofotometria em aparelho Konelab 60i.

Resultados e discussão

Não houve diferença nas médias \pm desvio padrão (DP) de eletrólitos entre os grupos (135,3 \pm 2,14 milieq/L (Na⁺), 115,3 \pm 1,98 milieq/L (Cl⁻), 2,8 \pm 0,06 (K⁺) – grupo 1; 138 \pm 1,00 milieq/L (Na⁺), 117,4 \pm 0,79 milieq/L (Cl⁻), 2,9 \pm 0,07 (K⁺) – grupo 2 (Figura 1 e 2). Os níveis de cloreto no LCR em humanos são normalmente uma a duas vezes maior do que os séricos. Qualquer condição que afeta o nível sérico de cloro irá afetar também o nível de cloreto no LCR (Laboratório Diagnóstico da América, 2006). Este estudo verificou que o DMSO possivelmente não interferiu nos níveis de cloro sérico, e conseqüentemente, em níveis de LCR. Os valores de referência normais de cloretos no LCR de humanos é 680 a 750 milieq/L (Instituto Fleury, 2006). Para bovinos há poucos estudos que dosaram níveis de cloreto no LCR, Albuquerque et al. (2005) estudando valores em bovinos com encefalite por herpes-vírus tipo 5 encontraram aumento marcante de cloreto no LCR.

A média \pm DP da enzima LDH estava aumentada após o DMSO (23,3 \pm 5,8 UI/L) em relação ao grupo controle (14,7 \pm 2,69 UI/L). A enzima CK possivelmente não apresentou diferença entre os grupos (1,9 \pm 0,38 UI/L – grupo 1 e 2,4 \pm 0,98 UI/L – grupo 2) (Tabela 1 e 2). A determinação da atividade de algumas enzimas é útil, sobretudo na avaliação do comprometimento do parênquima cerebral. As atividades enzimáticas da LDH e CK estão aumentadas em períodos pós-

convulsivos e nas necroses de parênquima cerebral. Os valores de referência de normalidade no LCR para LDH em humanos é de até 35 UI/L (Instituto Fleury, 2006), porém para animais devido a poucos estudos do parâmetro bioquímico do LCR ainda não existe uma padrão. De acordo com este trabalho parece que o valor desta enzima no LCR de bovino é menor em relação aos humanos.

A média da concentração de glicose no sangue ($94,4 \pm 18,18$ mg/dl) e no LCR ($63,7 \pm 5,88$ mg/dl) estava aumentada após a administração de DMSO em relação ao grupo 1 ($85,7 \pm 21,15$ mg/dl – glicemia, $53,1 \pm 10,45$ mg/dl – glicorraquia), porém os valores estavam dentro dos padrões da normalidade nos dois grupos. A concentração de glicose no LCR se iguala aproximadamente 60 a 70% dos níveis desse açúcar no sangue. Em animais sadios, os valores de glicose no LCR oscilam entre 40 a 80 mg/dL (Colles, 1984). Este trabalho verificou que o aumento de glicose sanguínea proporcionou também o aumento da glicorraquia, segundo Colles (1984) a concentração de glicose no LCR depende da glicemia, da permeabilidade da BHE e da presença ou ausência de microorganismos glicolíticos. Após os tratamentos, nos dois grupos, grupo 1 – $85,71 \pm 21,15$ (glicemia) e $53,14 \pm 10,45$ (glicorraquia); grupo 2 – $94,4 \pm 18,18$ (glicemia) e $63,7 \pm 5,88$ (glicorraquia) observou o aumento da glicemia e glicorraquia quando comparado com os resultados obtidos no controle de cada grupo ($74,57 \pm 12,92$ (glicemia) e $43,86 \pm 7,88$ (glicorraquia) – grupo 1; $73,4 \pm 14,46$ (glicemia) e $47 \pm 8,56$ (glicorraquia) – grupo 2). Este aumento da glicemia e da glicorraquia pode ser explicado devido ao estresse nos animais causado pela contenção. Durante uma situação estressante ocorre uma necessidade orgânica de glicose que é satisfeita através da gliconeogênese resultante da secreção aumentada de corticoídes, elevando a glicemia (Dickson, 1996).

A celularidade do LCR dos 14 animais em todas as coletas estava dentro normalidade, média de $1,13 \pm 0,35$ hemácias/ μ l e $4,25 \pm 2,21$ células nucleadas/ μ l. Este resultado indica que não ocorreu lesão durante a coleta. O LCR normal contém menos que cinco leucócitos por microlitro. Um aumento no número de células nucleadas pode ser resultado de uma lesão ou irritação inflamatória das meninges, cérebro ou medula espinhal (Coles, 1984). Se houvesse uma contaminação sanguínea nas amostras o número de leucócitos estaria aumentado durante a contagem celular (Radostits et al., 1994).

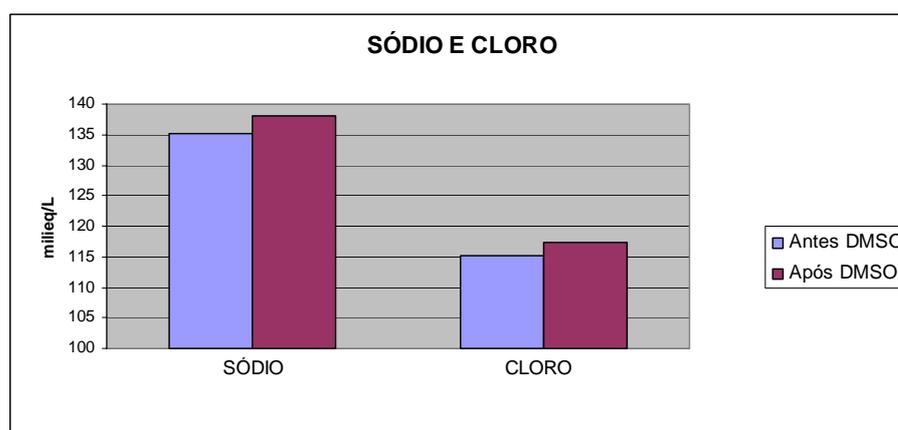


Figura 1 – Níveis de sódio e cloro no LCR de bovinos sadios antes e após a administração de DMSO.

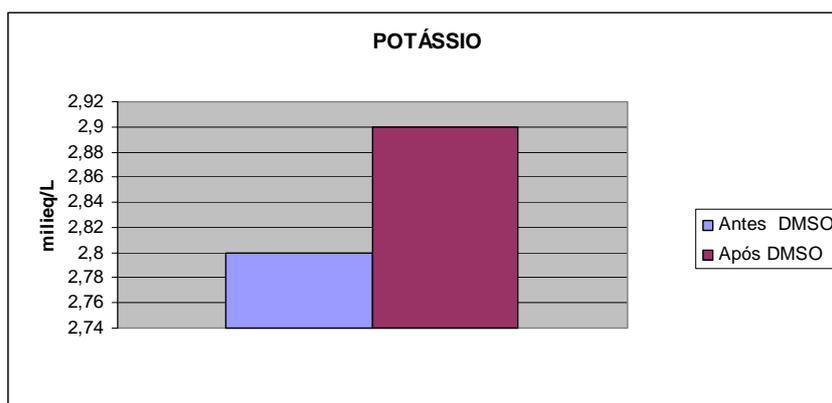


Figura 2 – Níveis de potássio no LCR de bovinos sadios antes e após a administração de DMSO.

Tabela 1 - Níveis de enzimas (LDH e CK) no LCR de bovinos sadios do grupo 1 após a administração de solução fisiológica NaCl 0,9%.

Animais	LDH (UI/L)	CK (UI/L)
O1	16	2
O2	17	2
O3	12	2
O4	12	2
O5	19	2
O6	14	2
O7	13	1
Média ± desvio padrão	14,7 ± 2,69	1,9 ± 0,38

Tabela 2 - Níveis de enzimas (LDH e CK) no LCR de bovinos sadios do grupo 2 após a administração de DMSO em solução fisiológica NaCl 0,9%.

Animais	LDH (UI/L)	CK (UI/L)
O8	18	2
O9	23	1
10	33	3
11	26	4
12	27	3
13	20	2
14	16	2
Média ± desvio padrão	23,3 ± 5,88	2,4 ± 0,98

Conclusões

Os estudos de fármacos, que podem provocar alterações na permeabilidade da BHE e conseguir penetrar no SNC, são importantes para que seja possível

aprimorar tratamentos para enfermidades neurológicas em bovinos. Este trabalho mostrou que somente estes parâmetros não foram capazes para determinar se ocorreu realmente uma alteração de permeabilidade no SNC. É necessário mais estudos, principalmente, na espécie bovina relacionados com a farmacodinâmica de medicamentos utilizados no tratamento doenças com sinais neurológicos.

Referências bibliográficas

Albuquerque, P. I.; Moscardini, A. R. C.; Giesel, T.; Coelho, M. M. S.; Júnior Reis, J.; Perecmanis, S.; Borges, J. R. J. Exame do líquido cefalorraquidiano em ruminantes. *Anais do XI Congresso de Iniciação Científica da UnB e 2º Congresso de Iniciação Científica do DF*, 2005.

Abbott, J. N. 2002. Prediction of blood - brain barrier permeation in drug discovery from *in vitro*, *in vivo* and *in silico* models. *Journal Anatomy*. v. 6 p.629-638.

Coles, E. H. 1984. *Patologia clínica veterinária*. 3 ed. São Paulo: Ed Manole,. 566p.

Dickson, W. M. 1996. Glândulas Endócrinas. *In: Swenson, M.J. & Reece, W.O. Fisiologia dos Animais Domésticos*. Editora Guanabara Koogan S.A, 11ª edição, p.571- 602.

Laterra, J.; Goldstein, G. W. 1991. Development of the blood-brain barrier. *In: Neonatal and fetal medicine – Physiology and pathophysiology*. Philadelphia: Saunders, p.1525-1531.

Radostits, O.M.; Blood, D.C.; Gay, C.C. 1994. Disease of the Nervous System. *In: Radostits, O.M.; Blood, D.C.; Gay, C.C. Veterinary Medicine: a textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses..* Baillière Tindall, 8ª edição, p. 458-505.

Radostits, O. M. 2002. Doenças do sistema nervoso central. *In: Radostits, O. M.; Gay, C. C.; Blood, D. C.; Hinchcliff, K. W. Medicina Veterinária: Um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos*. 9 ed. Rio de Janeiro:Guanabara Koogan, cap 12, p. 448-490.

Rosemblum, W. I. 2001 Dimethylsulfoxide and ethanol, commonly used diluents, prevent dilation of pial arterioles by openers of K (ATP) ion channels. *Journal pharmacology*. v. 26.

Tasaka, A. C. 1999. Antiinflamatórios não-esteróides. *In: Spinosa, H. S.; Górnaiak, S. L.; Bernardi, M. M. Farmacologia aplicada à medicina veterinária*. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 212-237.

www.diagnosticosdaamerica.com.br/exames/liquido_cefalorraquidiano acesso em 07/08/2006. Laboratório Diagnóstico da Américas.

www.institutofleury.org.br acesso em 07/08/2006. Manual de Neurodiagnóstico.