

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

ANÁLISE DO LÍQUIDO CEFALORRAQUIDIANO, TOMOGRAFIA
COMPUTADORIZADA CRANIANA E ANGIOTOMOGRAFIA
CEREBRAL DE *Alouatta guariba* – Geoffroy Saint-Hilaire, 1812
(BUGIO RUIVO)

MARCOS VINICIUS TRANQUILIM

BOTUCATU - SP
AGOSTO - 2012

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

ANÁLISE DO LÍQUIDO CEFALORRAQUIDIANO, TOMOGRAFIA
COMPUTADORIZADA CRANIANA E ANGIOTOMOGRAFIA
CEREBRAL DE *Alouatta guariba* – Geoffroy Saint-Hilaire, 1812
(BUGIO RUIVO)

TESE DE DOUTORADO

MARCOS VINICIUS TRANQUILIM

Tese apresentada junto ao Programa de
Pós-graduação em Medicina Veterinária,
área de Clínica Veterinária, para obtenção
do título de Doutor.

Orientador: Prof. Dr. Rogério Martins
Amorim

Co-orientador: Prof. Dr. Carlos Roberto
Teixeira

BOTUCATU - SP
AGOSTO - 2012

Nome do Autor: Marcos Vinicius Tranquilim

Título: ANÁLISE DO LÍQUIDO CEFALORRAQUIDIANO, TOMOGRAFIA COMPUTADORIZADA CRANIANA E ANGIOTOMOGRAFIA CEREBRAL DE *Alouatta guariba* – Geoffroy Saint-Hilaire, 1812 (BUGIO RUIVO).

COMPOSIÇÃO DA BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Rogério Martins Amorim

Presidente e Orientador

Departamento de Clínica Veterinária – DCV

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – FMVZ – UNESP – Botucatu

Prof. Dr. Luiz Carlos Vulcano

Membro

Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária - DRARV

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – FMVZ - UNESP – Botucatu

Prof. Dr. Alexandre Secorum Borges

Membro

Departamento de Clínica Veterinária – DCV

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – FMVZ – UNESP – Botucatu

Prof. Dr. Luiz Antonio de Lima Resende

Membro

Departamento de Neurologia, Psiquiatria e Psicologia Médica

Faculdade de Medicina de Botucatu - FMB – UNESP – Botucatu

Prof. Dr. Ricardo Coelho Lehmkuhl

Membro

Departamento de Medicina Veterinária – DEVET

Universidade Estadual do Centro-Oeste – UNICENTRO – Guarapuava - PR

Data da defesa: 10 de agosto de 2012.

Dedicatória

Dedico este trabalho a minha esposa, Liane Ziliotto, pelo companheirismo, amor e compreensão durante estes três anos e meio de viagens e ausências !

Obrigado.

Agradecimentos

Agradeço a Deus, pela vida, pela profissão que tenho e pelas pessoas que me cercam.

Agradeço as Famílias Tranquolim e Ziliotto, pelo amor, carinho e segurança que me passam.

Agradeço a Universidade Estadual do Centro-Oeste UNICENTRO, em especial aos professores, funcionários e estagiários do Departamento de Medicina Veterinária, que me proporcionaram a licença e o suporte para desenvolver este trabalho.

Agradeço ao professor Dr. Rogério Martins Amorim, que ao me aceitar como orientado, abriu as portas de um mundo novo e me deu a honra de fazer parte, mesmo que temporariamente, da Medicina Veterinária da UNESP de Botucatu. Obrigado pela sua ajuda, orientação e principalmente compreensão. O senhor é um grande exemplo.

Agradeço ao Dr. Luiz Antonio de Lima Resende e sua esposa, Dra. Lucilene, pelos auxílios na confecção deste trabalho, pelo equipamento utilizado na pesquisa com líquido e principalmente por sempre estarem dispostos a me ensinar. Muito obrigado mesmo.

Agradeço a Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP-Botucatu, nas pessoas de seus funcionários, professores, diretores, especialmente ao Laboratório Clínico e Setor de Diagnóstico por Imagem. Agora sei porque vocês são o que são.

Agradeço ao professor Dr. Raimundo Sousa Lopes, do Laboratório Clínico da FMVZ- UNESP – Botucatu. Sua ajuda foi muito importante durante essa caminhada. Muito obrigado.

Agradeço a professora Sheila Rahal, pela grande ajuda nestes anos de doutorado. A senhora é um exemplo de competência.

Agradeço imensamente aos funcionários, residentes e estagiários do CEMPAS, em especial ao Irineu e Renato. Agradeço por cuidarem com tanto carinho e incansavelmente dos nossos animais. Vocês são modelos de profissionais.

Agradeço muito ao casal Ricardo Coelho e Zara Bortolini, companheiros de república em Botucatu e grandes amigos. Obrigado pela ajuda, na tese e na vida.

Agradeço especialmente a Heraldo Catalan Rosa, técnico do Setor de Diagnóstico por Imagem da FMVZ e a Daniel Ornelas, responsável pelas fotos e filmagens dos procedimentos. Obrigado pela imensa ajuda e pela competência no trabalho de vocês.

Agradeço ao amigo Guilherme, pelas anestésias sempre num bom humor que trouxe paz e segurança ao nosso trabalho. Dedico a você este trabalho também!

Agradeço a Marta Heckler, grande amiga e uma ajuda inestimável na confecção dos trabalhos.

Agradeço ao professor Rodrigo de Souza Martins, anatomista da UNICENTRO, pela grande ajuda na conferência dos dados, a professora Giuliana Kasecker Botelho pela amizade e auxílio, e a professora Margarete Falbo, pela amizade e disponibilidade.

E finalmente, aos companheiros Dietrich, Carla Ulian, Gisele, Tais, Florzinha e Zulmira. Conviver com vocês foi uma força extra nos momentos difíceis.

Agradecimento Especial

Ao amigo, companheiro, irmão, professor e mestre Dr. Carlos Roberto Teixeira, e à sua linda família, por terem me acolhido e me ajudado enquanto estive longe de casa.

Minha casa sempre será a casa de vocês.

MUITO OBRIGADO

LISTA DE GRÁFICOS

	Página
GRÁFICO 1: Volumes retirados de fluído cerebroespinal (FCS).....	49
GRÁFICO 2: Valores individuais de pH das amostras de FCS.....	50
GRÁFICO 3: Valores determinado de glicose nas amostras do FCS.....	51
GRÁFICO 4: Valor de proteínas nas amostras de FCS.....	51
GRÁFICO 5: Quantidade de hemácias nas amostras de FCS.....	52
GRÁFICO 6: Quantidade de células nucleadas nas amostras de FCS	53
GRÁFICO 7: Valores de Pressão Liquórica Inicial (antes da retirada de FCS)...	53
GRÁFICO 8: Valores de Pressão Liquórica Final (após retirada de FCS).....	54

LISTA DE QUADROS

	Página
QUADRO 1: Descrição de sexo e idade dos <i>Alouatta guariba</i> (bugio ruivo) submetidos ao estudo.....	31
QUADRO 2: Valores das avaliações liquóricas realizadas no estudo.....	55
QUADRO 3: Medidas dos valores de atenuação do osso frontal em <i>Alouatta guariba</i>	62
QUADRO 4: Medidas dos valores de atenuação do osso parietal em <i>Alouatta guariba</i>	62
QUADRO 5: Medidas dos valores de atenuação do osso temporal em <i>Alouatta guariba</i>	62
QUADRO 6: Medidas dos valores de atenuação do córtex do lobo frontal encefálico em <i>Alouatta guariba</i>	63
QUADRO 7: Medidas dos valores de atenuação do córtex do lobo parietal encefálico em <i>Alouatta guariba</i>	63
QUADRO 8: Média e desvio padrão (em UH) dos valores de atenuação das diferentes regiões avaliadas em <i>Alouatta guariba</i>	63

LISTA DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1: Coleta de sangue pela veia braquial em <i>Alouatta guariba</i> para exames de sanidade.....	33
FIGURA 2: Realização de exame de tuberculinização em <i>Alouatta guariba</i>	33
FIGURA 3: <i>Alouatta guariba</i> sendo submetido à intubação orotraqueal.....	35
FIGURA 4: Acesso venoso (veia braquial) com o uso de cateter flexível.....	35
FIGURA 5: Área de preparo para punção da cisterna magna.....	36
FIGURA 6: Cateter para punção suboccipital. No destaque nota-se o tipo de bisel do cateter.....	36
FIGURA 7: Demonstração em esqueleto de <i>Alouatta guariba</i> da área de punção da cisterna magna. Observam-se as três primeiras vértebras cervicais (C1 – C2 – C3), a crista do osso occipital e a área de punção (seta vermelha). No detalhe, vista lateral da região.....	37
FIGURA 8: Radiografia de <i>Alouatta guariba</i> com cateter inserido na cisterna magna.....	37
FIGURA 9: Inserção de cateter em <i>Alouatta guariba</i> para punção de cisterna cerebelomedular.....	38
FIGURA 10: Punção de cisterna cerebelomedular.....	38
FIGURA 11: Medição da pressão do líquido cerebrospinal com o uso de manômetro analógico.....	40
FIGURA 12: Manômetro analógico para medição de pressão líquórica.....	40
FIGURA 13: Coleta de líquido cerebrospinal.....	41
FIGURA 14: Animal em decúbito esternal e apoio de queixo em almofada de espuma para realização de tomografia computadorizada.....	43
FIGURA 15: <i>Alouatta guariba</i> preparado para exame tomográfico.....	43
FIGURA 16: Vista do aparelho de tomografia da FMVZ- UNESP, Botucatu (<i>gantry</i> e mesa de exame). No destaque, parte do painel de controle do aparelho.....	44
FIGURA 17: <i>Scout</i> de tomografia de crânio e encéfalo de <i>Alouatta guariba</i> , mostrando o sentido e quantidades dos cortes tomográficos (plano coronal).....	44

FIGURA 18: <i>Scout</i> de tomografia de crânio e encéfalo de <i>Alouatta guariba</i> , mostrando o sentido dos cortes (plano coronal) e os limites da região examinada. Nesse caso, houve angulação do equipamento.....	45
FIGURA 19: <i>Scout</i> de tomografia de crânio e medições de dados em encéfalo de <i>Alouatta guariba</i>	45
FIGURA 20: Esquema demonstrando sequência de imagens tomográficas reconstruídas em 3D, com o uso da ferramenta VOXAR 3D, versão 6.3. A sequência mostra desde a imagem da cabeça de <i>Alouatta guariba</i> com a cobertura de pele e ossos (A, B, C) até a imagem dos vasos encefálicos contrastados na visualização lateral, dorsal e ventral (G, H, I). Em D e E, observa-se em azul o encéfalo e em F, o mesmo sem a cobertura óssea.....	47
FIGURA 21: Estudo de tomografia computadorizada de crânio e encéfalo de <i>Alouatta guariba</i> . Esta imagem ilustra a visibilização de algumas estruturas anatômicas nos nove primeiros cortes aplicados sobre a região. Na seta em A, visibiliza-se o olho e a órbita. Na seta em B, encontra-se o platô cribiforme do osso nasal. Na seta em C, observa-se o início do encéfalo (córtex pré-frontal). Na seta em D, observa-se o osso frontal, na seta em E, a região de córtex frontal e em F, o osso da mandíbula. As imagens G, H e I mostram grande área encefálica, mas sem destaque das estruturas.....	57
FIGURA 22: Estudo de tomografia computadorizada de crânio e encéfalo de <i>Alouatta guariba</i> . Esta imagem ilustra a visibilização de algumas estruturas anatômicas nos nove cortes intermediários aplicados sobre a região. Nas setas em A e B, observa-se a região de ventrículos laterais direito e esquerdo. Em C, a visibiliza-se o terceiro ventrículo e em D, osso do arco zigomático. Em E mostra-se a região transição entre o córtex frontal e o córtex parietal, não sendo possível a diferenciação dos mesmos. Em F, a seta mostra o tálamo e em G assinala-se o processo temporal do osso zigomático. Na imagem em I, a seta destaca a região de mesencéfalo.....	58
FIGURA 23: Tomografia computadorizada de crânio e encéfalo de <i>Alouatta guariba</i> . Em A, observa-se o osso temporal, e em B o osso parietal. Em C, observa-se o córtex encefálico na região parietal. Em D, visibiliza-se a orelha externa e em E, a bula timpânica. Em F, visibiliza-se as regiões do cerebelo. Em G destaca-se o córtex occipital e em H, destaca-se o cerebelo (seta vermelha), o quarto ventrículo (seta amarela) e a região da ponte (seta verde). Em I, observa-se a região de bulbo.....	59

FIGURA 24: Estudo de tomografia computadorizada de crânio e encéfalo de <i>Alouatta guariba</i> . Esta imagem ilustra a visualização dos quatro cortes finais, onde destaca-se o osso occipital (seta em C).....	60
FIGURA 25: Estudo de tomografia computadorizada de crânio (osso frontal) e encéfalo (córtex frontal) de <i>Alouatta guariba</i> (primeiro corte). Esta imagem ilustra a análise aplicada no osso do crânio e no córtex cerebral. Os círculos são as <i>ROIs</i> (regiões de interesse) e os retângulos demonstram os valores encontrados nos mesmos.....	60
FIGURA 26: Estudo de tomografia computadorizada de crânio (osso frontal) e encéfalo (córtex frontal) de <i>Alouatta guariba</i> (segundo corte). Esta imagem ilustra a análise aplicada no osso do crânio e no córtex cerebral. Os círculos são as <i>ROIs</i> (regiões de interesse) e os retângulos demonstram os valores encontrados nos mesmos.....	61
FIGURA 27: Estudo de tomografia computadorizada de crânio (ossos parietal e temporal) e encéfalo (córtex parietal) de <i>Alouatta guariba</i> (primeiro corte). Esta imagem ilustra a análise aplicada no osso do crânio e no córtex cerebral. Os círculos são as <i>ROIs</i> (regiões de interesse) e os retângulos demonstram os valores encontrados nos mesmos.....	61
FIGURA 28: Imagem de reconstrução em 3D de vascularização encefálica (vista lateral) em <i>Alouatta guariba</i> , onde se observa o Seio sagital dorsal (1), Seio sagital ventral (2) e Seio reto (3).....	65
FIGURA 29: Imagem de reconstrução em 3D de vascularização encefálica (vista caudal) em <i>Alouatta guariba</i> , onde se observa o Seio transversal direito e esquerdo (1) e o Seio reto (2).....	65
FIGURA 30: Imagem de reconstrução em 3D de vascularização encefálica (vista rostral) em <i>Alouatta guariba</i> , onde se observa a Veia cerebral dorsal direita (1), Veia cerebral dorsal esquerda (2) e Seio sagital dorsal (3).....	66
FIGURA 31: Imagem de reconstrução em 3D de vascularização encefálica (vista oblíqua ventral) em <i>Alouatta guariba</i> , onde se observa o seio basilar (no destaque).....	66
FIGURA 32: Imagem de reconstrução em 3D de vascularização encefálica (vista oblíqua rostral) em <i>Alouatta guariba</i> , onde se observa o seio cavernoso (no destaque).....	67

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	xv
ABSTRACT.....	xvi
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	05
2.1 Classificação dos Primatas Não Humanos.....	06
2.2 Contenção Química e Anestesia em Primatas Não Humanos.....	09
2.3 Vascularização Encefálica	11
2.4 Fluido Cerebroespinal.....	14
2.5 Tomografia Encefálica e Angiotomografia Cerebral.....	22
3. OBJETIVOS.....	28
4. MATERIAL E MÉTODO.....	30
4.1 Avaliações e Seleção dos Animais Submetidos à Pesquisa E Exames de Sanidade.....	31
4.2 Medições de Pressão, Coleta e Análise de Fluido Cerebroespinal...	34
4.3 Tomografias de Crânio e Encéfalo.....	41
4.4 Angiotomografia Contrastada e Reconstrução de Imagem em Três Dimensões.....	46
5. RESULTADOS.....	48
5.1 Fluido Cerebroespinal.....	49
5.1.1 Coletas das Amostras	49
5.1.2 Análise Física do Fluido Cerebroespinal.....	49
5.1.3 Análise Química do Fluido Cerebroespinal.....	50
5.1.4 Celularidade do Fluido Cerebroespinal.....	52
5.1.5 Pressão Liquórica.....	53
5.2 Tomografia Computadorizada de Crânio e Encéfalo sem Contraste.....	56
5.3 Angiotomografia Contrastada e Reconstrução de Imagem em Três Dimensões.....	64
6. DISCUSSÃO.....	68
7. CONCLUSÕES.....	76
REFERÊNCIAS.....	78

RESUMO/ABSTRACT

TRANQUILIM, M.V. **Análise do líquido cefalorraquidiano, tomografia computadorizada craniana e angiotomografia cerebral de *Alouatta guariba* – Geoffroy Saint-Hilaire, 1812 (bugio ruivo)**. Botucatu, 2012. 93p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

RESUMO

A presente pesquisa foi realizada com o objetivo de desenvolver e adaptar técnicas diagnósticas em neurologia para primatas não humanos, da espécie *Alouatta guariba* (bugio-ruivo) saudáveis e mantidos em cativeiro. Foram realizadas análises físico-químicas em fluido cerebroespinal, medição da pressão líquórica na cisterna magna, tomografia computadorizada de crânio e encéfalo, angiotomografia contrastada e reconstrução em três dimensões das imagens. Utilizou-se oito animais para as análises do líquido cerebroespinal e cinco animais para as imagens tomográficas. Em todos os procedimentos, utilizou-se contenção química e anestesia com associação de cetamina, xilazina e midazolam e anestesia inalatória com isoflurano para realização dos exames. Os resultados das análises do líquido cerebroespinal demonstraram os seguintes valores médios de: proteína (14,343 mg/dL \pm 9,2), glicorraquia (131,25 mg/dL \pm 106,7), pH (8,4 \pm 0,7), células nucleadas (0,5/mL \pm 0,7559), hemácias (49,374/mL \pm 111,76) e pressão líquórica cisternal de 7,375 cm H₂O \pm 1,767. A tomografia computadorizada de crânio e encéfalo não permitiu a visualização de muitas estruturas encefálicas, sendo possível a medição dos valores de atenuação dos ossos frontal, parietal e temporal, e dos córtex frontal e parietal encefálicos. Nas imagens em 3D obtidas na angiotomografia contrastada, observaram-se importantes seios venosos, não sendo observadas artérias. O trabalho demonstrou a segurança e eficácia da colheita de líquido cerebroespinal de *Alouatta guariba*, e seus valores. Além disso, concluiu-se que a tomografia computadorizada não permite uma visualização de estruturas encefálicas nesta espécie animal, e que as imagens em 3D dos vasos encefálicos pode ser uma importante ferramenta diagnóstica e de auxílio terapêutico.

Palavras-chave: *Alouatta guariba*, fluido cerebroespinal, tomografia, reconstrução 3D.

TRANQUILIM, M.V. **Analysis of cerebrospinal fluid, cranial computed tomography and angiotomography of the brain of *Alouatta guariba* - Geoffroy Saint-Hilaire, 1812 (red howler monkey)**. Botucatu, 2012. 93p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

ABSTRACT

This survey was conducted with the objective of developing and adapting diagnostic techniques in neurology for non-human primates, of the species *Alouatta guariba* (howler monkey) healthy and kept in captivity. Physical-chemical analyses were carried out in cerebrospinal fluid and its pressure measurement in the cisterna magna. Also was made a computed tomography of skull and brain, and a contrasted angiotomography reconstruction in three dimensions images. The eight animals were used for the analysis of cerebrospinal fluid and five animals for tomographic images. In all procedures, were used chemical restraint and anesthesia with ketamine, xylazine and association of midazolam and inhalational anesthesia with isoflurane for carrying out the examinations. The results of the analysis of cerebrospinal fluid showed average values: protein (14.343 mg/dL \pm 9.2), glucose (131.25 mg/dL \pm 106.7), pH (0.7 \pm 8.4), nucleated cells (0.5/mL \pm 0.7559), red blood cells (49.374/mL \pm 111.76) and CSF cisternal pressure 7.375 cm H₂O \pm 1.767. Computed tomography of skull and brain did not allow the viewing of many brain structures, however, was possible the measurement of the attenuation values of frontal parietal and temporal bones, and the frontal cortex and parietal brain. In 3D images obtained in contrasted angiotomography, was observed the venous sinuses, but not the arteries. This work demonstrated the safety and efficacy of cerebrospinal fluid collection of *Alouatta guariba*, and their values. In addition, it was concluded that CT does not allow a preview of intracranial structures in this animal species, and that the images in 3D brain vessel can be an important tool.

Key words: *Alouatta guariba*, cerebrospinal fluid, tomography, 3D reconstruction images

1. INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

Os primatas são seres vivos que apresentam características primitivas da classe *Mammalia*, como membros pentadáctilos e clavícula, mas em relação a outros mamíferos demonstram aumento do tamanho cerebral (principalmente da região do córtex), diferenciação na mobilidade dos dedos, aumento da importância da visão em relação ao olfato, dentre outras características. A diversidade morfológica (variedades de tamanhos e formas), comportamento e ecologia dos primatas são refletidos pelas diferenças de habitat, dieta, hábitos locomotores e organização social observados nessa ordem (BICCA-MARQUES et al., 2006).

Em geral, os primatas não humanos são considerados mamíferos inteligentes, com cérebro relativamente grande, embora o tamanho do cérebro por si só não seja uma medida adequada de inteligência devido à complexidade da relação entre tamanho cerebral e capacidade cognitiva, com o envolvimento de inúmeras variáveis (GODFREY, 2005).

Apesar da extensa quantidade de informações disponíveis sobre os primatas, ainda restam muitas lacunas de conhecimento sobre animais endêmicos ou raros, enquanto que com outras espécies obteve-se uma enorme quantidade de informações (NUNES e CATÃO-DIAS, 2006).

De acordo com a “Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora” – CITES, um acordo entre países que regula o comércio internacional de fauna e flora selvagens, as pesquisas experimentais com primatas mais evoluídos (chimpanzés e gorilas, por exemplo) são proibidas, exceto em raros casos. As famílias Cercopithecidae (macaco rhesus, mandril, por exemplo) e Cebidae (macaco prego, etc.) são as mais utilizadas em pesquisas. A grande similaridade entre primatas não humanos e o homem justifica o seu uso na pesquisa biomédica, sobretudo em estudos de hematologia, imunologia e virologia, assim como na avaliação da tolerância e eficácia terapêutica (PISSINATI e ANDRADE, 2010).

Os representantes do gênero *Alouatta*, popularmente chamados de bugios ou macacos gritadores ou roncadores, apresenta ampla distribuição geográfica na região neotropical, ocorrendo desde o México até o estado do Rio Grande do Sul, no Brasil (GREGORIN, 2006). Trata-se de animais

adaptados ao meio ambiente onde vivem, e que apresentam inúmeras diferenças fisiológicas, anatômicas e comportamentais de outros gêneros de primatas. O estudo da biologia desses indivíduos que já se encontram em cativeiro é de grande importância para o entendimento das espécies e conseqüentemente, o desenvolvimento de ações conservacionistas. Destaca-se que algumas espécies desse gênero são classificadas como ameaçadas de extinção, segundo a Lista Oficial das Espécies da Fauna Brasileira, emitida pelo IBAMA, além dos Livros Vermelhos de Fauna Ameaçada nos estados de São Paulo (BRESSAN et al., 2009) e Paraná (MIKICH e BÉRNILS, 2004).

As alterações no sistema nervoso são achados comuns nas diferentes espécies de vertebrados. A avaliação clínica de pacientes que apresentam suspeitas de doença neurológica requer um conhecimento fundamental de neuroanatomia e neurofisiologia, permitindo o entendimento de como elementos distintos dentro do sistema nervoso sensorial integram, inter-relacionam e interagem para o animal realizar várias funções normais através das vias eferentes somáticas e viscerais (BAGLEY e MAYHEW, 2002).

Rosato et al. (2006) citam que disfunções de sistema nervoso apresentam grande incidência na Medicina Veterinária, mas que existem poucos subsídios que auxiliam seu diagnóstico. Em animais selvagens, a determinação de alterações neurológicas é realizada principalmente por meio da inspeção, enfatizando-se a observação de alterações de consciência, comportamento, postura e marcha (ANDRADE NETO, 2006).

Outro importante exame para diagnóstico de afecções do sistema nervoso central é a análise físico-química do fluído cerebrospinal, apesar de ainda serem relativamente escassos os dados na literatura científica sobre parâmetros normais em primatas não humanos, possivelmente pelo grande número de espécies (356 aproximadamente) e pela pouca utilização desse tipo de procedimento na rotina clínica de animais selvagens. Bailey e Vernau (1997) descrevem que esse exame pode fornecer um índice geral de saúde do sistema nervoso central, podendo muitas vezes evidenciar doenças no mesmo, apresentando razoável sensibilidade e baixa especificidade.

Um processo mórbido do sistema nervoso central pode evoluir relativa ou completamente sem repercussão sobre o meio exterior (demonstração de sinais clínicos). Frequentemente uma doença inflamatória, tumoral, vascular ou

alérgica revela-se de um modo claro pelos exames do líquido cerebrospinal, enquanto que as demais pesquisas do laboratório clínico não permitem o diagnóstico. Por este motivo, a análise deste líquido é considerada em primeiro plano entre as provas laboratoriais para a determinação de enfermidades, neurológicas (REIS et al., 1980).

A colheita e análise do fluido cerebrospinal demonstram ser meios viáveis e eficazes de acesso e avaliação do sistema nervoso, no que diz respeito ao diagnóstico e prognóstico de suas enfermidades (GAMA et al., 2005).

As técnicas de diagnóstico são continuamente pesquisadas para auxiliar os clínicos na medicina de animais selvagens, facilitando a determinação de afecções, prognósticos e terapêuticas. Algumas dessas técnicas são copiadas da medicina de animais domésticos, sendo adaptadas à anatomia e fisiologia únicas em alguns grupos animais. Os exames de imagem como radiologia e ultrassonografia tornaram-se parte do protocolo de trabalho para muitas situações clínicas envolvendo pacientes não domésticos. Já a tomografia computadorizada (TC), a ressonância magnética (RM), a cintilografia nuclear dentre outras, são técnicas diagnósticas muito menos empregadas. Contudo, atualmente, vários estudos estão sendo realizados em animais selvagens, utilizando-se essas técnicas de imagem menos difundidas, contribuindo para a nossa compreensão da normalidade do organismo de inúmeras espécies animais e mostrando os benefícios do uso desses exames em conjunto com outras ferramentas de diagnóstico (MACKEY et al., 2008).

Dessa forma, este trabalho teve como finalidade o estudo e adaptação de técnicas diagnósticas aplicáveis à neurologia de animais domésticos para o uso em medicina de primatas não humanos, mais especificamente o *Alouatta guariba*, ou bugio ruivo.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Classificação dos Primatas Não Humanos

A ordem dos Primatas é considerada a primeira na escala zoológica por ser a mais evoluída do reino animal e é dividida em duas subordens: PROSIMII e ANTHROPOIDEA. A primeira inclui os prossímios (evolutivamente mais primitivos) e a segunda divide-se em dois grandes grupos: a infraordem CATARRHINI e a PLATHIRRINI. Ao todo essa ordem possui 13 famílias (KINDLOVITS e KINDLOVITS, 2009a).

Praticamente todos os primatas não humanos se encontram em áreas tropicais ou subtropicais, próximos à linha equatorial. O fato é que, ao longo da história da evolução das espécies, os primatas afro-asiáticos e os neotropicais seguiram caminhos diferentes, o que se expressa em diferentes características morfológicas, das quais talvez a mais típica seja a diferença na conformação das narinas. Muitos outros caracteres, como a cauda preênsil nos platirrinos e a calosidade isquiática nos catarrinos distinguem morfológicamente esses dois grandes grupos de primatas (DINIZ, 1997).

Os representantes da subordem Prosimii são encontrados na ilha de Madagascar, no continente africano, e em países e ilhas no sudeste asiático. Eles apresentam características morfológicas menos desenvolvidas que os antropoides (focinho alongado, melhor olfato e proporcionalmente cérebros menores). Durante seu processo evolutivo, os primatas não humanos gradualmente passaram a apresentar um refinamento das mãos e dos pés para segurarem objetos, associado ao encurtamento da face, fato ligado diretamente à perda da capacidade olfativa e ao aperfeiçoamento da resolução estereoscópica para visão colorida (LOPES et al., 2010).

De forma geral, os representantes da infraordem CATARRHINI (do grego *Kata* = inferior e *Rhinos* = nariz) são comumente designados como primatas do velho mundo e os PLATHYRRINI (*Platy* = achatado) como primatas do novo mundo (KINDLOVITS e KINDLOVITS, 2009a).

Dentre os mais conhecidos representantes dos primatas afro-asiáticos (ou do velho mundo), podemos citar os Gibões (*Hylobates sp.*), Orangotango (*Pongo pygmaeus*), Chimpanzé (*Pan troglodytes*), Gorila (*Gorilla gorilla*),

Mandril (*Mandrillus sphinx*), Babuíno (*Papio cynocephalus*) e o macaco Rhesus (*Macaca mulata*). Entre os primatas neotropicais (ou do novo mundo) pode-se destacar o Macaco-Prego (*Cebus sp*), o Macaco Aranha (*Ateles sp*), o Macaco Barrigudo (*Lagothrix sp*), Bugio (*Alouatta sp*), Muriqui (*Brachyteles arachnoides*) e o Sagui (*Callithrix sp*) (DINIZ, 1997).

O Brasil é considerado o detentor da maior diversidade de primatas não humanos do mundo. Somente na Floresta Atlântica ocorrem 24 espécies, sendo 17 endêmicas (MENDES et al., 2003). Reis et al. (2006) afirmam que a diversidade biológica do Brasil ainda é pouco conhecida, apesar de ser considerada a maior do planeta, e o estado de conhecimento sobre os mamíferos do Brasil segue essa mesma tendência.

Os primatas do gênero *Alouatta* pertencem a Família Cebidae, e são popularmente chamados de bugios, macacos gritadores ou roncadores, e apresentam ampla distribuição geográfica na região neotropical, ocorrendo desde parte do México, até o estado do Rio Grande do Sul, no Brasil. Com exceção do Equador e o oeste da Colômbia, não existe registro de qualquer população de *Alouatta* para a região transandina do Peru, Bolívia e Chile. Ao longo desta distribuição geográfica são observados diversos biomas e as diferentes formações vegetais do continente Sul-Americano (GREGORIN, 2006).

Segundo relatos de Bicca-Marques et al. (2006), no território brasileiro ocorrem seis das nove espécies conhecidas dos primatas do gênero *Alouatta*. São elas *Alouatta belzebul* (Linnaeus, 1766), *Alouatta caraya* (Humboldt, 1812), *Alouatta guariba* (Humboldt, 1812), *Alouatta nigerrima* (Lonnberg, 1941), *Alouatta sara* (Elliot, 1910) e *Alouatta seniculus* (Linnaeus, 1766). Esses mesmos autores citam que os representantes desse gênero são considerados folívoros/frugívoros, apresentam adaptações em seu comportamento que envolve uma gama de atividades diárias dominadas pelo descanso, padrão de deslocamento direcional entre as principais fontes de alimento, utilização de um modo de locomoção quadrúpede do tipo caminhada, baixa realização de movimentos bruscos ou deslocamentos rápidos que possam acarretar em aumento da temperatura corporal e o uso de posturas corporais que possam auxiliar na conservação de calor.

O peso médio desses primatas quando adulto é de sete quilogramas e a expectativa de vida é de 20 anos aproximadamente. As fêmeas atingem a maturidade sexual em 60 meses e os machos em 84, aproximadamente. A gestação se dá em até 190 dias, nascendo um único filhote (KINDLOVITS e KINDLOVITS, 2009a).

Os bugios são facilmente reconhecidos pela sua locomoção quadrúpede relativamente lenta, pelas potentes vocalizações territoriais (utilizando o aparato hióide que forma uma câmara oca ressonante) e pelo dimorfismo sexual, sendo o macho maior que a fêmea (RYLANDS et al., 2001). Esses animais apresentam corpo robusto e longa pelagem, mais volumosa na mandíbula e nos lados da face que forma uma vasta barba sob a face negra e que esconde o grande volume do osso hióide, também mais proeminente nos machos (KINDLOVITS e KINDLOVITS, 2009a).

O *Alouatta caraya* e o *Alouatta guariba* destacam-se ainda por outra forma de dimorfismo sexual – o dicromatismo sexual, fenômeno este muito raro entre os primatas. Os filhotes de ambos os sexos desses táxons nascem com uma pelagem com coloração semelhante à das fêmeas adultas e os machos mudam de cor ao longo do seu desenvolvimento. Enquanto os machos adultos de *Alouatta caraya* são completamente pretos, as fêmeas adultas são bege-acinzentadas, bege-amareladas ou marrom claras, representando os extremos de coloração. Já as fêmeas adultas de *Alouatta guariba* são marrons e os machos adultos se tornam avermelhados, em decorrência da liberação de um pigmento por glândulas apócrinas (BICCA-MARQUES et al., 2006).

Nas últimas décadas, ocorreu em todo mundo a transformação gradual e o desaparecimento de habitats de primatas, colocando um número crescente de espécies em perigo de extinção (GÓMEZ-MARIN et al., 2001). Ainda se conhece muito pouco a respeito da demografia das populações de *Alouatta guariba* e, como a destruição da Mata Atlântica continua em ritmo acelerado, a sobrevivência desta espécie nos próximos anos está em risco (STEINMETZ, 2001).

2.2 Contenção Química e Anestesia em Primatas Não Humanos

Antes de o animal ser submetido à contenção química, inevitavelmente o mesmo é submetido à contenção física (abolição mecânica dos movimentos, de modo que ele permaneça suficientemente contido para permitir a prática dos procedimentos). A escolha de ambos os métodos depende da espécie e do caso em questão, sendo importante salientar que a forma escolhida deve garantir a segurança para o animal e a equipe de trabalho. Na contenção física, podemos destacar o uso de luvas de couro (animais de pequeno porte), puçás (para animais de pequeno e até médio porte) e jaulas de contenção, apropriadas a quase todas as espécies, com exceção de gorilas e orangotangos (DINIZ, 1997).

Quando se selecionam protocolos para contenção química e anestesia de primatas não humanos, deve-se levar em consideração a grande diversidade da ordem Primata. A ampla variação no tamanho e no peso dos animais desempenha importante papel na escolha da anestesia apropriada, da via de administração e da dose do fármaco (FASANO, 2010).

Os primatas não humanos apresentam uma grande área de superfície corporal (principalmente os indivíduos de pequeno porte) em relação à sua massa, o que leva a rápida perda de temperatura corpórea durante a anestesia. Esta situação é agravada pelos fármacos anestésicos que suprimem os centros termorreguladores hipotalâmicos (OLBERG, 2007).

Assim como na anestesia de animais domésticos, a medicação pré-anestésica torna mais simples o acesso ao primata: tornando possível a canulação de vaso para administração de fármacos intravenosos e diminui a dose necessária do medicamento utilizado para promover a inconsciência. Como nem sempre esse procedimento é possível (no caso de animais de vida livre ou em pacientes onde a sedação e tranquilização não são suficientes para promover uma contenção livre de estresse) associam-se fármacos chamados de pré-anestésicos ao fármaco anestésico propriamente dito, sendo ambos aplicados simultaneamente no momento da indução (VILANI, 2009).

Algumas associações farmacológicas parenterais muito utilizadas na contenção de primatas não humanos são: cetamina e xilazina, cetamina e diazepam, cetamina e midazolam, e tiletamina e zolazepam (FASANO, 2010).

Vilani (2009) descreve que a cetamina e a tiletamina são fármacos pertencentes à classe dos ciclohexamínicos e promovem inconsciência por dissociação límbicotalâmica, o que normalmente é acompanhado por taquicardia, hipertensão, aumento da pressão intracraniana e pela produção de secreções como hipersalivação. Esta associação pode causar contração muscular às vezes evoluindo para convulsão. Há casos em que se observa uma recuperação tumultuada, comumente com períodos de excitação no período pós-anestésico. Mesmo com essas desvantagens, devido à viabilidade de aplicação intramuscular e a razoável estabilidade respiratória, essa classe de fármaco torna-se a mais utilizada para anestesia e contenção física de primatas não humanos.

Contudo, a vantagem significativa da cetamina é seu índice terapêutico elevado, podendo ser utilizada sozinha como agente anestésico (dose de 10 a 100 mg/kg) e podendo ser administrada de forma segura repetidas vezes, durante vários dias. Apesar de a cetamina causar imobilização de confiança, não existem antagonistas e esta é uma desvantagem significativa em caso de complicações durante o procedimento ou sobredosagem acidental (OLBERG, 2007).

Chagas et al. (2010) realizaram um estudo com 12 animais da espécie *Alouatta guariba*, onde foi utilizada a cetamina S (+), mais potente quando comparada à sua mistura racêmica, associada ao midazolam. Houve comparação entre as doses calculadas pelo método convencional e a extrapolação alométrica, concluindo-se que o cálculo por alometria foi melhor, pois promoveu maior grau de relaxamento e sedação nos animais. Ressalta-se nesta pesquisa que em nenhum caso, a combinação dos fármacos levou a alterações cardiorrespiratórias significativas, e as alterações hemogasométricas foram similares para ambos os grupos.

Outros autores como Braga et al. (2009) utilizaram com sucesso a anestesia balanceada em um exemplar de *Alouatta guariba* que foi submetido à osteossíntese de úmero e artrodese tibio tarsal. Foi administrado cetamina (15 mg/kg) associada a midazolam (0,5 mg/Kg) pela via intramuscular. Após o efeito dos fármacos, o paciente recebeu isoflurano por máscara anestésica sendo então entubado e mantido sob anestesia inalatória. Como complemento foi feita bloqueio regional com o uso de lidocaína e bupivacaína.

Na prática, utilizam-se outros fármacos associados à cetamina, para obtenção de um protocolo de contenção e anestesia adequadas. O uso de benzodiazepínicos (como diazepam e midazolam) em primatas chega a produzir sedação e sono leve, levando ao relaxamento muscular e causando mínimas alterações cardiovascular e respiratória, sendo então sempre empregados nos protocolos anestésicos e de contenção. Especificamente no gênero *Alouatta*, a aplicação intramuscular ou intravenosa exclusiva de midazolam (0,5 mg/Kg) é suficiente para a realização de procedimentos demorados, como fluidoterapia. Já no uso dos agonistas alfa-2 (xilazina e detomidina), não são observados efeitos cardiopulmonares negativos tão profundamente como em outras espécies de animais domésticos. Com seu uso observa-se boa sedação, relaxamento muscular e analgesia, reduzindo significativamente a dose necessária de anestésicos injetáveis ou inalatórios. Seus efeitos podem ser revertidos com o uso de ioimbina, atipamezole ou tolazoline (VILANI, 2009).

Por fim, destaca-se o uso de anestésicos gerais inalatórios, mais precisamente o isoflurano, que apresenta rápida indução e recuperação anestésicas e mantém melhor o débito cardíaco, quando comparado ao halotano. Apresenta ainda baixo poder depressivo na contratilidade do miocárdio. Além do mais, é pouco metabolizado, sendo aproximadamente 95% do fármaco recuperado nos gases expirados. É um fármaco seguro para primatas, inclusive na existência de doenças hepáticas e renais (FASANO, 2010). Em primatas de pequeno porte, é comum o uso de contenção física e indução com máscara para procedimentos que não acarretam dor e que sejam de curta duração.

2.3 Vascularização Encefálica

Em humanos, as doenças cérebro vasculares constituem as enfermidades mais frequentes no sistema nervoso. Uma razão para isso é que a principal fonte energética do sistema nervoso central é a glicose, e sem esta ou oxigênio, o mesmo apresenta danos consideráveis (MARTIN, 1998; MACHADO, 2006; MENESES e JACKOWSKI, 2006).

Os processos patológicos que envolvem os vasos cerebrais, tais como trombozes, embolias e hemorragias, ocorrem com uma frequência cada vez maior com o aumento da vida média do homem moderno. Há interrupção da circulação de determinadas áreas encefálicas, causando necrose e amolecimento do tecido nervoso, acompanhado de alterações motoras, sensoriais ou psíquicas, que podem ser características da área e da artéria lesada. A prevenção, diagnóstico e tratamento de todos estes processos exige um estudo da vascularização do sistema nervoso central, mais especificamente, do encéfalo (MACHADO, 2006).

O encéfalo recebe irrigação arterial por duas artérias carótidas interna e por duas artérias vertebrais que formam o sistema vértebro-basilar. As artérias carótidas internas são ramos das artérias carótidas comuns, esquerda e direita. As artérias carótidas comuns se bifurcam, em geral, ao nível da quarta vértebra cervical, em artérias carótidas externas e internas, e as internas, apresentam quatro segmentos com características diferentes: cervical, petroso, cavernoso e intracraniano (MENESES e JACKOWSKI, 2006).

Em seu trajeto, a artéria carótida interna dá origem a alguns ramos pré-terminais: artérias hipofisárias, artéria oftálmica, artéria coriídea anterior e artéria comunicante posterior. Lateralmente ao quiasma óptico, a artéria carótida interna se divide em seus dois ramos terminais, as artérias cerebrais anterior e média. A cerebral anterior tem um trajeto medial acima do quiasma óptico e depois entra na fissura longitudinal do cérebro entre os lobos frontais. Ao fazê-lo, une-se ao vaso correspondente do lado oposto pela curta artéria comunicante anterior. Dentro da fissura longitudinal do cérebro, a artéria cerebral anterior segue contornando o joelho do corpo caloso, ramificando-se sobre a face medial dos lobos frontal e parietal, os quais irriga. Portanto, o território cerebral irrigado pela artéria cerebral anterior inclui o córtex motor e sensitivo para os membros pélvicos e alguns ramos terminais finos dessa artéria também se estendem da fissura longitudinal do cérebro para irrigar uma estreita faixa lateral do córtex frontal e parietal (CROSSMAN e NEARY, 2007).

As artérias vertebrais tem origem na porção inicial das artérias subclávicas esquerda e direita, medialmente ao músculo escaleno anterior. Na maioria dos casos, a artéria subclávica esquerda é um ramo direto do arco da aorta e, a direita, é um ramo do tronco braquiocefálico direito. A artéria

vertebral pode ser dividida em quatro segmentos: cervical, vertebral, suboccipital e intracraniano. Neste último segmento, a artéria vertebral passa anteriormente ao bulbo, com direção superior e medial para se anastomosar à artéria vertebral contralateral e formar a artéria basilar. Nesse segmento, surge a artéria basilar (MENESES e JACKOWSKI, 2006).

A artéria basilar percorre o sulco basilar da ponte e termina anteriormente, bifurcando-se para formar as artérias cerebrais posteriores direita e esquerda. Nesse trajeto, a artéria basilar emite alguns ramos. Os mais importantes são a artéria cerebelar superior, distribuindo-se ao mesencéfalo e parte superior do cerebelo, a artéria cerebelar inferior anterior, que irriga a parte anterior da face inferior do cerebelo e a artéria do labirinto, responsável pelo suprimento sanguíneo para estruturas do ouvido interno (MACHADO, 2006; CROSSMAN e NEARY, 2007).

Na junção da ponte com o mesencéfalo, a artéria basilar se divide em dois pares de vasos, as artérias cerebelares superiores e artérias cerebrais posteriores (MACHADO, 2006; MENESES e JACKOWSKI, 2006; CROSSMAN e NEARY, 2007).

Os sistemas carótidos internos e vertebrobasilar são unidos por dois vasos finos, as artérias comunicantes posteriores. Isto completa uma anastomose de vasos na base do encéfalo que é conhecida por círculo arterial do cérebro, antigo círculo de Willis, o qual circunda o quiasma óptico e o assoalho do hipotálamo e do mesencéfalo. A partir das artérias que formam o círculo, numerosos e pequenos vasos penetram a superfície do encéfalo, chamadas de artérias perfurantes, que são classificadas como anteriores e posteriores (MACHADO, 2006; CROSSMAN e NEARY, 2007).

A drenagem venosa do encéfalo é realizada por veias profundas e superficiais que progressivamente levam o sangue venoso até os seios da dura-máter, para finalmente desembocarem nas veias jugulares internas (MENESES e JACKOWSKI, 2006; CROSSMAN e NEARY, 2007).

A drenagem venosa da substância branca e das estruturas cerebrais profundas se faz por pequenas veias que se dirigem aos ventrículos, desembocando nas veias sub-ependimárias. A veia tálamo-estriada, a veia septal e a veia coróidea se unem e formam a veia cerebral interna (que se origina no forame interventricular e se dirige posteriormente no teto do terceiro

ventrículo). A veia basal faz anastomose com o sistema venoso superficial pelas veias cerebrais médias, profunda e superficial, desemboca na veia cerebral magna (de Galeno) junto com a veia cerebral interna. Esta veia, formada por quatro vasos (duas cerebrais internas e duas basais) apresenta um calibre maior e situa-se na cisterna superior. Seu trajeto termina no seio reto (MENESES e JACKOWSKI, 2006).

Essas veias cerebrais drenam para os seios da dura-máter, que são canais formados entre as duas camadas da dura-máter. Os seios venosos maiores estão localizados nas bordas fixas da foice do cérebro e do tentório do cerebelo e no assoalho da cavidade craniana. Onde a foice do cérebro se fixa ao interior do crânio encontra-se o seio sagital superior, que recebe sangue das veias cerebrais superiores. A borda livre da foice contém o seio sagital inferior, para onde se direcionam as veias da face medial do hemisfério cerebral (CROSSMAN e NEARY, 2007).

O seio sagital superior e reto convergem na confluência dos seios, adjacente à protuberância occipital interna. Então, o sangue segue pelo fluxo lateral a cada lado do seio transversal, que se situa ao longo da linha de fixação do tentório do cerebelo ao osso occipital. Esse seio transversal é contínuo com o seio sigmóideo, que por sua vez, une-se à veia jugular interna, no forame jugular. Por fim, o seio cavernoso, recebe sangue da veia cerebral média e drena para a veia jugular interna e para o seio transversal. Ocorre então, conexão dos dois seios cavernosos, que se situam anterior e posteriormente à hipófise, formando um círculo venoso em torno dela. Os seios da dura-máter são conectados às veias extracranianas através de veias emissárias (MACHADO, 2006; MENESES e JACKOWSKI, 2006; CROSSMAN e NEARY, 2007).

2.4 Fluido Cerebroespinal

O líquido, ou líquido cerebroespinal ou fluido cerebroespinal é um líquido aquoso e incolor que ocupa o espaço subaracnóideo e as cavidades ventriculares. Sua função primordial é promover a proteção mecânica do sistema nervoso central, formando um verdadeiro coxim líquido, entre este o

estojo ósseo (MARTIN, 1998; MACHADO, 2006; MENESES e BACCHI, 2006; CROSSMAN E NEARY, 2007).

Desde o início do século sabe-se que o líquido é formado pelos plexos coróides, localizados nos ventrículos laterais, terceiro e quarto. Essa estrutura é formada pela invaginação da pia-máter vascularizada para dentro da luz ventricular, onde ela se torna altamente convoluta, produzindo uma aparência de esponja. O plexo coróide entra no terceiro e no quarto ventrículos através de seus tetos e no ventrículo lateral pela fissura coróidea, ao longo da linha de fimbria/fórnice (MACHADO, 2006; CROSSMAN E NEARY, 2007). Estudos mais recentes mostram que uma pequena parte desse líquido tem origem a partir do epêndima das paredes ventriculares e dos vasos da leptomeninge na chamada formação extracoroidal (MACHADO, 2006).

Durante muito tempo acreditou-se que o líquido resultaria apenas de um processo de filtração do plasma pelos plexos coróides. Sabe-se hoje que ele é ativamente secretado pelo epitélio ependimário (principalmente nos plexos coróides) e sua composição é determinada por mecanismos de transportes específicos (transporte ativo de íons sódio e cloro), além de água numa quantidade necessária para manutenção do equilíbrio osmótico (MACHADO, 2006).

Esta formação coroidal do líquido envolve dois processos que ocorrem em série: primeiro, ocorre filtração do sangue na parede do capilar e, em segundo, a secreção pelo epitélio coroidal. Dentro do plexo coróide, a pressão dos capilares inicia a transferência de água e íons para o líquido intersticial e depois para o epitélio. Água e íons são então transferidos para os ventrículos, seja por movimento intracelular nas membranas epiteliais ou por movimentos intercelulares nas junções celulares apicais do epitélio (VERNAU et al., 2008).

Esse líquido é produzido de forma contínua e numa velocidade suficiente para manter preenchido o espaço subaracnóideo e os ventrículos do sistema nervoso central. Isto por si só mostra um eficiente mecanismo de produção, circulação e absorção. Depois de formado (principalmente nos ventrículos laterais) ele segue para o terceiro ventrículo através do forame interventricular e, dessa forma, pela via do aqueduto mesencefálico para o quarto ventrículo. Então, o líquido deixa o sistema ventricular através das três aberturas do quarto ventrículo e, assim, entra no espaço subaracnóideo. A maior parte passa

através da abertura mediana para entrar na cisterna magna, localizada entre o bulbo e o cerebelo. Quantidades menores seguem através das aberturas laterais para entrar no espaço subaracnóideo na região do ângulo pontocerebelar (CROSSMAN E NEARY, 2007). A partir destes locais, a maior parte do líquido segue superiormente, em torno do encéfalo e da medula espinhal, chegando para os locais de reabsorção que ocorrem nos seios da dura-máter, principalmente no seio sagital superior (MACHADO, 2006; MENESES e BACCHI, 2006; CROSSMAN E NEARY, 2007;).

Ao longo do tempo, vários métodos foram utilizados para a determinação da taxa de produção do líquido cerebrospinal (fístula ou drenagem contínua, drenagem e controle manométrico e perfusão ventrículo cisternal) e todas elas são baseadas em técnicas experimentais que alteram a situação normal ou incluem mecanismos que perturbam a interpretação correta da experiência. Em condições normais deve prevalecer a hipótese que o líquido é lentamente produzido e lentamente reabsorvido (REIS et al, 1980).

Independentemente da quantidade de líquido originário da formação extracoroidal, a taxa de produção do líquido cerebrospinal está estreitamente correlacionado com o peso do plexo coróide e varia entre as espécies. Em cães, a produção é de 47 a 66 $\mu\text{L}/\text{minuto}$, nos gatos é de 20-22 $\mu\text{L}/\text{minuto}$, em macacos 28.6 a 41 $\mu\text{L}/\text{minuto}$, em camundongos 0,325 $\mu\text{L}/\text{minuto}$ e no humano, a taxa de formação líquórica é de 350 a 370 $\mu\text{L}/\text{minuto}$ (VERNAU et al., 2008). Em humanos, a renovação completa do líquido ocorre de três a quatro vezes ao dia (MENESES e BACCHI, 2006).

A circulação do líquido é extremamente lenta e são ainda discutidos os fatores que a determinam. Sem dúvida, a produção do líquido em uma extremidade e a sua absorção em outra já são suficientes para causar sua movimentação. Outro fator é a pulsação das artérias intracranianas que a cada sístole, aumenta a pressão líquórica, possivelmente contribuindo para empurrar o líquido através das granulações aracnóideas (MACHADO, 2006).

A reabsorção do líquido ocorre nas granulações aracnóideas, presentes nos seios da dura-máter porque, nestes locais, a pressão hidrostática no espaço subaracnóideo é maior que aquela na luz do seio e devido à pressão osmótica coloidal maior no sangue venoso comparado ao do líquido (CROSSMAN E NEARY, 2007).

A anatomia funcional das estruturas responsáveis pelo retorno do líquido cefalorraquidiano (LCR) para a circulação geral é baseada em evidências conflitantes quanto à sua localização, características anatômicas e capacidade funcional. A saída do fluido cefalorraquidiano do componente intracraniano é controlado por sistema de duplo fluxo que regula o balanço entre a produção e a drenagem do líquido e que por fim impacta na constância do ambiente cerebral. Esta informação é relevante para se entender as implicações clínicas e para a compreensão das consequências dos distúrbios no sistema de fluxo do líquido cefalorraquidiano (POLLAY, 2010).

Quanto à sua função, esse importante fluido serve pelo menos a três missões primordiais. Primeiro, ele fornece suporte físico para o encéfalo, o qual flutua dentro do líquido. Segundo, serve de função excretora e regula o meio químico do sistema nervoso central (basicamente porque o encéfalo não tem sistema linfático e, então, metabólitos solúveis em água com acesso limitado para ultrapassarem a barreira hemato-encefálica, difundem-se ao encéfalo pelo fluido cerebroespinal). Em terceiro lugar, ele atua como um canal de comunicação química dentro do sistema nervoso central, permitindo que alguns produtos neuroquímicos liberados pelos neurônios na adjacência dos ventrículos entrem no fluido cerebroespinal e possam ser captados em locais do assoalho e paredes ventriculares por células especializadas que forram as cavidades ventriculares (MARTIN, 1998).

Reis et al. (1980) citam que além das funções descritas acima, o fluido cerebroespinal permite que ocorra uma pequena movimentação dos órgãos nervosos centrais sem atrito (função lubrificante), tem importante função compensatória de regulação do volume intracraniano, função de defesa biológica e nutrição, dentre outras.

A manutenção de todas essas funções só é possível graças às trocas ativas que ocorrem continuamente e que conferem o dinamismo dos constituintes do líquido. Como consequência disso, os componentes liquóricos podem refletir tanto situações de normalidade quanto patológicas, visto que sua composição varia diretamente nestas diferentes situações (GAMA et al., 2005).

Em humanos, pode-se medir a pressão do fluido cerebroespinal ou colher certa quantidade do mesmo através de punções lombares, suboccipitais ou ventriculares, objetivando a análise de suas características citológicas e

físico-químicas. Tais estudos dão importantes informações sobre a fisiopatologia das doenças do sistema nervoso central e seus envoltórios, permitindo o diagnóstico (em algumas situações bastante preciso) de muitas afecções que acometem o sistema nervoso central, como hemorragias e infecções. A avaliação do fluido é especialmente valioso para o diagnóstico dos diversos tipos de meningites (MACHADO, 2006).

A coleta e análise do líquido estão indicadas em todos os casos em que surgem sinais ou sintomas neurológicos (ou comportamentais), ou até mesmo na simples suspeita clínica de doença neurológica. Essas indicações são relativas a alterações encefálicas, do cordão espinhal ou profilático, sendo essa última de grande importância, pois permite o diagnóstico precoce, determina a intervenção terapêutica na fase inicial da doença, com maiores possibilidades de cura sem sequelas (REIS et al., 1980).

A produção, absorção e o fluxo do fluido cerebrospinal desempenham papéis fundamentais na dinâmica da pressão intracraniana. Alterações nos valores dessa pressão levam a sinais neurológicos, sendo mais comum a dor de cabeça (LAY, 2002).

Essa pressão líquórica é o resultado da soma de duas forças: uma de origem mecânica e outra de origem vascular. A primeira é representada pela pressão hidrostática, a qual tem um valor muito pequeno quando o paciente adulto estiver em posição horizontal, aproximadamente cinco cm de água e, um valor apreciável de aproximadamente 30 cm de água na região lombar, quando em posição sentada. A segunda força é aquela realmente importante porque está relacionada aos problemas da fisiopatologia da pressão. Ela é representada pela pressão venosa existente nos espaços ocupados pelo fluido cerebrospinal e no sistema nervoso central, correspondendo a aproximadamente 10 cm de água no paciente em decúbito lateral. Entende-se que o fluido está contido dentro de um conjunto semi-rígido ao qual a elasticidade é fornecida pelo leito venoso em relação ao sistema nervoso central. Então, as flutuações da pressão em repouso são na verdade modificações volumétricas devidas ao maior ou menor preenchimento das veias, como ocorre durante os batimentos cardíacos, movimentos respiratórios ou outros movimentos que influem sobre a pressão intratorácica e/ou intra-abdominal. Essas variações de volume acontecem, então, porque as veias

subaracnóideas espinhais e cranianas drenam para a veia cava superior (REIS et al., 1980).

Nos seres humanos adultos a pressão do fluido cerebrospinal normal é cerca de 100 mm de H₂O. Essa pressão é ligeiramente mais elevada do que a pressão venosa nos seios da dura-máter, e tende a se manter estável quando a formação e reabsorção do líquido estão equilibradas (JOHANSON et al., 2008).

Os valores de pressão podem ser obtidos com o uso de manômetros de diversos tipos, sendo o manômetro de Claude um dos mais utilizados, e os valores são expressos em centímetros de água. Com o uso desse equipamento e algumas manobras de compressão de regiões corporais (jugulares e abdome, por exemplo) realizam-se as chamadas provas manométricas. Dentre algumas provas, podemos ressaltar as provas de Queckenstedt, Stookey, Kaplan-Kennedy, Índice de Ayala e Tobey- Queckenstedt. Estes exames auxiliam no diagnóstico de processos bloqueantes do espaço subaracnóideo, processos compressivos cervicais, tumores, etc. (REIS et al., 1980).

Quanto a sua composição celular, o líquido normal não contém eritrócitos e comumente a presença dessas células nas amostras é iatrogênica, causada por trauma involuntário associado com a colocação da agulha. No entanto, eritrócitos no líquido cerebrospinal também pode se originar a partir de hemorragia associada a doenças. A contagem normal de células nucleadas em animais domésticos varia conforme a espécie, mas é sempre em número reduzido em amostras sem alterações. Como exemplo, pode-se citar cães que apresentam até 3 células/ μ L, gatos de 0-2 células/ μ L, cavalos 0-5 células/ μ L e ovelhas de 0-5 células/ μ L (BAILEY E VERNAU, 1997). Para a contagem das células utiliza-se a câmara de Fuchs-Rosenthal, pela praticidade no uso diário e precisão adequada (REIS et a., 1980)

Algumas propriedades físico-químicas do líquido normal variam conforme o local de obtenção da amostra estudada, sendo ainda bastante diferente no recém-nascido. O líquido normal em humanos adultos é límpido e incolor, apresenta de zero a quatro leucócitos por mm^3 e uma pressão de 5 a 20 cm de água, obtida na região lombar com o paciente em decúbito lateral. Embora o líquido tenha mais cloretos que o sangue, a quantidade de proteínas é muito menor que aquela existente no plasma (REIS et al., 1980; MACHADO, 2006).

De forma objetiva, a análise física do líquido leva em conta o aspecto, a cor, a presença de retículos fibrinosos e concentração osmótica do fluido. Na normalidade, o aspecto da amostra deve ser límpido, transparente (comparável à água filtrada), incolor, sem a presença de fibrina e com concentração osmótica próxima ao do plasma, ou seja, aproximadamente 312 mOsm/litro em humanos (REIS et al., 1980).

Como o líquido cerebrospinal é um produto de filtração do plasma e secretado por uma membrana, a sua composição é diferente da do plasma. Em geral, é um líquido límpido, incolor, e quase acelular. Apresenta baixa proteína, vários íons, enzimas e outras substâncias, que são mantidas em valores relativamente constantes, apesar de ocorrerem algumas flutuações como ocorre com a do próprio plasma. A composição química do líquido varia entre as várias espécies de animais (BAILEY e VERNAU, 1997).

Para Oliver et al. (1997), a parte mais importante da análise do líquido em animais é a contagem total e diferencial de células nucleadas, determinando que a leitura das amostras deve ser realizada em até 30 minutos da coleta, caso não seja adicionado conservantes à amostra. Ainda deve ser observado o aspecto da amostra, a quantidade de hemácias, a coloração, a proteína e a globulina (este último pelo teste de Pandy). As dosagens de glicose, creatina quinase e lactato desidrogenase podem ser realizadas, mas a quantidade obtida na coleta em pequenos animais pode ser um limitante.

O aumento na concentração de proteína total do líquido foi reconhecido como um indicador de doença neurológica logo após a introdução da técnica de punção lombar na medicina humana. Uma série de testes foram desenvolvidos para avaliação da proteína no líquido, tais como o teste Nonne-Appelt, o de Pandy, dentre outros. Este teste consiste na adição de fenol ao líquido para determinação de globulinas, tornando a amostra turva (VERNAU et al., 2008).

Numa revisão dos trabalhos publicados sobre análise de líquido entre 2000 e 2007 e indexadas em algumas das principais bases de busca de pesquisas, Dimas e Puccioni-Sohler (2008) relataram que nos estudos da revisão foram analisados os seguintes constituintes do líquido cerebrospinal: número de células e sua morfologia, proteínas totais, glicose, lactato, aminoácidos, creatina, creatinina, atividade das enzimas creatinoquinase,

lactato desidrogenase e aspartato aminotransferase, além dos biomarcadores (proteínas beta-amilóide, *tau* e ENE). As autoras descreveram os métodos utilizados para a determinação desses constituintes que, de forma geral, incluíam espectrometria, teste de ELISA, fita reagente, imunoenensaio não radioativo, imunoblot/SDS-PAGE, microscopia e ressonância nuclear magnética (RMN), dependendo do tipo de substância a ser avaliada.

Romanelli et al. (2001) estudaram a utilidade das fitas reagentes para avaliação líquórica de pleocitose, glicorraquia e proteinorraquia no diagnóstico de meningites em 154 crianças. Os resultados sugeriram que o emprego de fitas reagentes pode se tornar um recurso auxiliar útil para o diagnóstico de meningites bacterianas, principalmente em casos de dificuldades para a obtenção de volume suficiente do líquido e/ou para direcionar a terapêutica inicial, ressaltando-se que a variação e subjetividade da avaliação na coloração da fita são aspectos que podem interferir na sua interpretação, sendo necessário o treinamento dos leitores.

Rand et al. (1994) analisaram o líquido cerebrospinal de 27 gatos com doença inflamatória do sistema nervoso central, onde 12 dos animais apresentavam Peritonite Infecciosa Felina (PIF) e outros 10 animais doenças infecciosas (que não PIF). Os resultados demonstraram que, no caso de animais com PIF, a concentração de proteína era maior que 200 mg/dL e a contagem de células nucleadas era maior que 100 células/L, que consistia predominantemente de neutrófilos. Em contraste, nos outros animais do estudo observou-se proteína menor que 100 mg/dL e uma contagem de células brancas menor que 50 células/L e assim, o exame do líquido demonstrou ser de grande valor na diferenciação de Peritonite Infecciosa Felina de outras doenças inflamatórias do sistema nervoso central.

Em outro estudo, Feitosa et al. (2005) avaliaram o líquido de cães naturalmente acometidos por leishmaniose visceral, com e sem sintomatologia neurológica. Determinou-se a proteína sérica total, a IgG sérica e os exames físico, citológico e a IgG no líquido. Não foram observadas diferenças significativas entre os dois grupos de cães na análise físico-química quanto ao aspecto, cor, densidade e pH do líquido. Contudo, nos cães sem e com sintomatologia neurológica observou-se uma contagem média de hemácias muito maior nos animais com sintomatologia nervosa. Ainda, os cães sem

sintomatologia neurológica apresentaram contagem total de leucócitos dentro dos limites de normalidade, enquanto os animais com sintomas neurológicos apresentaram uma elevação acentuada destas células, com predominância de linfócitos no exame citológico. Também foi observada grande elevação da proteína líquórica do grupo com sintomatologia nervosa, demonstrando que o exame do líquido cerebrospinal tem grande aplicabilidade no diagnóstico da afecção.

Gama et al. (2005) realizaram pesquisa envolvendo cães normais e outros acometidos por cinomose (enfermidade viral causadora de encefalite), e estes últimos divididos em grupos com e sem sinais clínicos neurológicos. Após as análises, a conclusão da pesquisa foi que as características físico-químicas do líquido tais como, coloração, aspecto, densidade, pH e glicose, não foram capazes de contribuir para indicar qualquer anormalidade líquórica, nas diferentes fases da cinomose canina. Por outro lado, o componente proteico e a celularidade do líquido cerebrospinal mostraram alterações importantes na presença de sinais neurológicos. Porém, a ausência destes não adicionavam informações capazes de levar à detecção precoce de lesões do sistema nervoso central, em colaboração ao diagnóstico da referida enfermidade.

Sem dúvida, por fornecer informações diagnósticas e, por vezes, informação prognóstica decisiva além da simplicidade e inocuidade da punção raquiana o exame do líquido cerebrospinal deve sempre preceder os processos semiológicos mais complicados utilizados na rotina do estudo do paciente neurológico. Deve-se ressaltar também que nos exames laboratoriais, quando a amostra orgânica é de fácil obtenção, as pesquisas podem ser repetidas ou ampliadas com a coleta de novas amostras. No caso do líquido, essas avaliações devem ser feitas de modo preciso e minucioso reunindo uma rotina mínima de investigações conforme a indicação clínica (REIS et al., 1980).

2.5 Tomografia Encefálica e Angiotomografia Cerebral

A Tomografia Computadorizada (TC) e a Ressonância Magnética (RM) são técnicas de diagnóstico por imagens não invasivas e utilizadas para o diagnóstico de doenças neurológicas em cérebro e medula espinal.

Especificamente, a TC é mais útil para identificação e caracterização de anormalidades ósseas de corpos vertebrais. Estas técnicas permitem o mapeamento topográfico preciso de lesões, o que as torna ferramentas muito valiosas na avaliação de lesões compressivas de cérebro, medula espinhal ou cauda equina (NELSON e COUTO, 2006).

De forma geral, a tomografia computadorizada é um método de exame radiodiagnóstico cujos princípios são os mesmos que fundamentam a radiologia convencional, baseando-se no fato de que tecidos com diferentes composições absorvem a radiação de maneira diferente (SANTOS et al., 2009).

Desde a sua descoberta no final do século 19, os raios X tem sido utilizados como método diagnóstico em medicina, através da radiografia e radioscopia. Com o passar dos anos, o diagnóstico radiológico passou por significativo avanço tecnológico e, um dos momentos mais importantes dessa evolução, foi a introdução do computador para realização de cálculos matemáticos a partir da densidade dos fótons de raio X. Em 1972, os pesquisadores Ambrose e Hounsfield tiveram papel fundamental nessa evolução criando um novo método de utilização da radiação para medir descontinuidade de densidades obtendo imagens com a finalidade diagnósticas, acreditando que um feixe de raio X continha mais informação do que a capturada em um filme radiográfico (CARVALHO, 2007). Ressalta-se que essa descoberta foi possível somente com a contribuição de Allan Cormack, que anos antes (entre 1963 e 1964) desenvolveu o modelo matemático aplicável à reconstrução das imagens (CARVALHO, 2009).

Essa técnica torna possível examinar, dentre outras partes corpóreas, o encéfalo. Com maior clareza, mostra os limites do sistema ventricular e as partes ósseas do crânio. O aparelho consiste em uma fonte de raios X que é acionada ao mesmo tempo em que realiza um movimento circular ao redor do paciente, emitindo um feixe destes raios em forma de leque. No lado oposto a essa fonte, está localizada uma série de detectores que transformam a radiação em um sinal elétrico que é convertido em imagem digital. Dessa forma, as imagens correspondem a secções (“fatias”) do corpo. A intensidade (brilho) reflete a absorção dos raios X e pode ser medida em uma escala, denominada em unidades Hounsfield (AMARO JÚNIOR E YAMASHITA, 2001).

O aparelho de tomografia é constituído de *gantry* ou pórtico (onde ficam os tubos emissores de radiação, os detectores e os sistemas de aquisição de dados), mesa de exame, computador (CPU), console, monitor e gerador. Existem vários tipos de aparelhos: convencional, helicoidal, multidetectores (*multislice*) e dual source (duas ampolas). No aparelho helicoidal, além do tubo de raio X e dos detectores girarem, a mesa também é deslocada e a trajetória do feixe de raio X ao redor do corpo é em hélice (ou espiral) e essa característica permite a reconstrução de imagens, inclusive em 3D (SANTOS et al., 2009).

Uma grande vantagem da TC sobre a radiografia simples é a capacidade de visualizar a anatomia interna sem sobreposição de estruturas adjacentes. Por exemplo, quando se avalia a cabeça, os resultados radiográficos sofrem sobreposição dos ossos do crânio, o que muitas vezes impede a avaliação dos dentes. O exame tomográfico permite a avaliação do crânio e dos dentes, sem sobreposição (MACKEY et al., 2008).

Segundo Santos et al. (2009), para a formação da imagem no tomógrafo, os detectores de fótons presentes no *gantry* transformam essas partículas em sinal analógico e, posteriormente, em sinal digital por conversão do sistema de computação, dispondo das imagens na tela da estação de trabalho. As reconstruções básicas obtidas são axiais, coronais e sagitais. Como esses sinais representam diferentes tecidos, com diferentes densidades, a chamada unidade Hounsfield (UH) é a forma que se dispõe para quantificar essas densidades. Essa escala varia em tonalidade de cor entre o branco, cinza e preto. Então, o valor da água é igual a zero UH, que é expresso em cinza, variando entre - 1.000 UH (ar, expresso na cor preta) a + 1.000 (cortical óssea, expresso na cor branca). Essa escala (HU) é denominada de coeficiente linear de atenuação, variando do hipoatenuante (preto) a hiperatenuante (branco) (TIDWELL, 2007).

Inúmeras vantagens são conseguidas com o uso desse exame na rotina médica veterinária. Por ser um procedimento não invasivo e de curta duração, pode ser empregado nos mais diversos casos clínicos, e nas mais diferentes espécies. Ressalta-se que é imperativo que o paciente permaneça imobilizado durante o período de exame e a anestesia geral é normalmente necessária para obtenção de um posicionamento adequado e restrição dos movimentos. A

escolha dos protocolos deve levar em conta se o paciente é um mamífero, uma ave ou um peixe, por exemplo (MACKEY et al., 2008).

A tomografia computadorizada representou também grande revolução nos exames de imagem do encéfalo, possibilitando a visão direta e o diagnóstico, com ampla implicação prognóstica e terapêutica de um grande número de doenças que afetam esta estrutura. A rotina básica para o exame do encéfalo inclui cortes de espessura entre dois e cinco milímetros da base do crânio até a região supra-selar, visando minimizar artefatos, e daí até a convexidade, com sete e 10 mm de espessura, podendo esta técnica sofrer modificações, como a aquisição helicoidal para posterior reconstrução. O uso de contraste venoso possibilita o estudo da integridade da barreira hemato-líquórica e da anatomia vascular, porém com acuidade menor que a Ressonância Magnética, e deve ser precedido por uma fase sem contraste venoso (MELO et al., 2009).

Apesar dos avanços, a tomografia computadorizada ainda é limitada na capacidade de diferenciação entre substância branca e cinzenta, notadamente na região do cerebelo e núcleos da base. A grande deficiência é vista nas doenças desmielinizantes ou em algumas lesões neoplásicas infiltrativas (AMARO JÚNIOR E YAMASHITA, 2001).

Nos exames tomográficos, o uso de contrastes tem os objetivos de ressaltar a vascularização e os tecidos de uma região anatômica, estudar as diferentes formas de impregnação do meio de contraste em diversas doenças e promover o reconhecimento de vasos, aumentar o detalhe estrutural e possibilitar melhor estudo angiográfico (NACIF et al., 2009).

Os meios de contraste radiológicos são compostos introduzidos no organismo por diferentes vias, que permitem aumentar a definição das imagens radiográficas, graças ao aumento de contraste provocado por eles, possibilitando, desse modo, a obtenção de imagens de alta definição e, com isso, maior precisão em exames de diagnóstico por imagem (PINHO et al., 2009).

Especificamente o contraste iodado é uma substância radiopaca empregada em exames radiológicos, como a tomografia computadorizada, amplamente utilizada para fins diagnósticos. Essa substância, apesar de melhorar a visualização das estruturas anatômicas durante o exame, pode

provocar reações adversas e indesejáveis que se devem, principalmente, à alta osmolaridade do contraste em relação ao sangue. O contraste iodado do tipo iônico dissocia-se em íons quando em solução e tem maior osmolaridade do que os compostos chamados não iônicos, que não se dissociam em partículas com carga elétrica. Por isso, o meio não iônico é mais seguro e tem melhor tolerabilidade (JUCHEN e DALL'AGNOL, 2007).

Segundo Yamamoto e colaboradores, citado por Andrade et al. (2003), a dose mínima de contraste iodado utilizada para a realização de angiogramografia cerebral é de 1 ml/kg, com velocidade de infusão de 2 ml/s, o que possibilita uma concentração de contraste sanguíneo na artéria carótida de mais de 15mg/ml, durante 20 segundos.

A realização de angiogramografia do sistema nervoso central e seus seguimentos funcionais se baseiam na inexistência e escassez de dados anatômicos deste tipo de vascularização em cérebro de *Alouatta guariba*. O melhor exame (*Gold standard*) para este tipo de estudo é a angiogramografia digital convencional, porém é um exame invasivo e de grande quantidade de radiação para o paciente (MERCHAK, 2008).

A angiogramografia tridimensional é um novo método diagnóstico que vem sendo utilizado nos últimos anos, trazendo novas informações na investigação das doenças intracranianas e tem como principais vantagens a rapidez, pouca invasividade, menor risco de complicações e menor custo; fornece ainda detalhes que não são vistos na angiogramografia digital, podendo diminuir os riscos de morbi-mortalidade inerentes à afecção (ANDRADE et. al., 2003). Estes mesmos autores ressaltam que as limitações do método são a não visualização de vasos com o diâmetro menor que um milímetro, a dificuldade na discriminação entre artéria e veia quando demonstradas simultaneamente e a não informação da dinâmica vascular.

Esse exame demonstrou-se tão sensível quanto à angiogramografia cerebral e tem sido utilizada no planejamento do acesso cirúrgico aos aneurismas cerebrais (ARAUJO, 1998).

Andrade (2005) demonstrou em estudo que a sensibilidade do exame angiográfico com auxílio da tomografia computadorizada, apresentou maior sensibilidade para o diagnóstico de aneurismas cerebrais, do que a angiogramografia digital convencional.

Villavicencio (2003) descreve que este procedimento permite a visualização de toda a anatomia vascular e principalmente a visualização de doenças devido à possibilidade de reconstruções da área cortada, fazendo-se correlação com as estruturas ósseas e dando ao clínico e ao cirurgião, uma melhor visualização da área afetada, concluindo assim sua grande valia por se tratar de um exame menos invasivo.

Por fim, a aplicabilidade desses exames na Medicina Veterinária é demonstrada em relatos de casos aplicando esse tipo de meio diagnóstico. Lehmkuhl et al. (2009) relataram um caso de utilização da tomografia computadorizada e reconstrução de imagens em 3D para o diagnóstico de lesão em parênquima pulmonar em *Geochelone carbonária* (jabuti) e concluíram que a tomografia computadorizada pode e deve ser utilizada na medicina veterinária para diagnósticos e planejamento clínico e cirúrgico e, Babiscak et al. (2011), relataram um caso de acidente vascular hemorrágico diagnosticado pela tomografia computadorizada em um exemplar de *Myrmecophaga tridactyla* (tamanduá-bandeira), visualizando área hiperdensa e bem definida de extravasamento de sangue na região de encéfalo (lobo parietal esquerdo) do animal.

3. OBJETIVOS

3. OBJETIVOS

O presente projeto de pesquisa foi realizado em animais da espécie *Alouatta guariba* – Geoffroy Saint-Hilaire, 1812, e teve por objetivo:

- Avaliar a viabilidade e a segurança da coleta do líquido cefalorraquidiano na cisterna magna em bugios (*Alouatta guariba* – Geoffroy Saint-Hilaire, 1812) em cativeiro e determinar os valores físico-químico, citológico e a pressão do fluido cerebrospinal;
- Descrever a imagem tomográfica do crânio e do encéfalo;
- Descrever a vascularização cerebral através da angiotomografia contrastada e reconstrução das imagens em 3D.

4. MATERIAL E MÉTODO

4. MATERIAL E MÉTODO

A pesquisa foi aprovada pela Câmara de Ética em Uso Animal (CEUA), da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP, campus Botucatu, sob número 170/2009 – CEUA, estando em acordo com os princípios éticos na experimentação animal. Como os estudos envolveram animais silvestres da fauna brasileira, também se obteve autorização do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade – ICMBio, através do Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade – SISBIO, sob numero 20.928-1.

4.1 Avaliações e Seleção dos Animais Submetidos à Pesquisa e Exames de Sanidade

As pesquisas foram realizadas em primatas do gênero *Alouatta guariba* (Geoffroy Saint-Hilaire, 1812), com média de idade de 6,5 anos (\pm 4,10) e diferentes sexos (Quadro 1). Foram utilizados oito animais do Centro de Medicina e Pesquisa em Animais Silvestres (CEMPAS), da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP, campus Botucatu. Os animais foram doados à instituição, oriundos do Centro de Manejo de Animas Silvestres de São Paulo (CEMAS-SP) e apresentar

QUADRO 1: Descrição de sexo e idade dos *Alouatta guariba* (bugio ruivo) submetidos ao estudo.

ANIMAL	IDADE APROXIMADA	SEXO
1	08 anos	M
2	04 anos	M
3	02 anos	M
4	12 anos	M
5	12 anos	F
6	08 anos	F
7	04 anos	F
8	02 anos	F

Antes dos trabalhos, os animais foram submetidos a exames de sanidade, constituindo-se dos seguintes procedimentos: anamnese com tratadores e veterinários responsáveis pelos primatas, exame físico completo

que consistiu de inspeção em pele, pelos, cavidade oral, mucosas, auscultação cardíaca e pulmonar, termometria retal, palpação dos membros, cauda e abdome. Também foi realizada a radiografia simples de tórax. Nenhum animal demonstrou alteração digna de nota nesses itens avaliados.

Foram coletados amostras de sangue venoso pela veia braquial ou safena (Figura 1), para realização de hemograma e análise de bioquímica sérica (uréia, creatinina e alanina amino transferase). Os valores obtidos nas análises estavam dentro dos padrões encontrados para a espécie. Por fim, os animais foram submetidos ao exame de inoculação intra-dérmica de tuberculina aviária e bovina (Figura 2), ou tuberculinização. Todos os animais foram negativos nesta prova também.

Ressalta-se que todos os procedimentos descritos acima foram realizados sob contenção física e química, com uso de puçá e administração intramuscular de cloridrato de cetamina¹ em solução a 10%, (dose de 8 mg/Kg) associado a midazolan² (dose de 0,5mg/Kg).

Com os resultados obtidos na avaliação de sanidade, todos os indivíduos foram considerados aptos para a pesquisa.

¹ Cetamin 10 %.Cloridrato de Cetamina. Frasco ampola 10 mL. Syntec do Brasil. Cotia - SP

² Dormire 5 mg. Frasco ampola 5mL. Cristália Produtos Químicos e Farmacêuticos Ltda. Itapira - SP

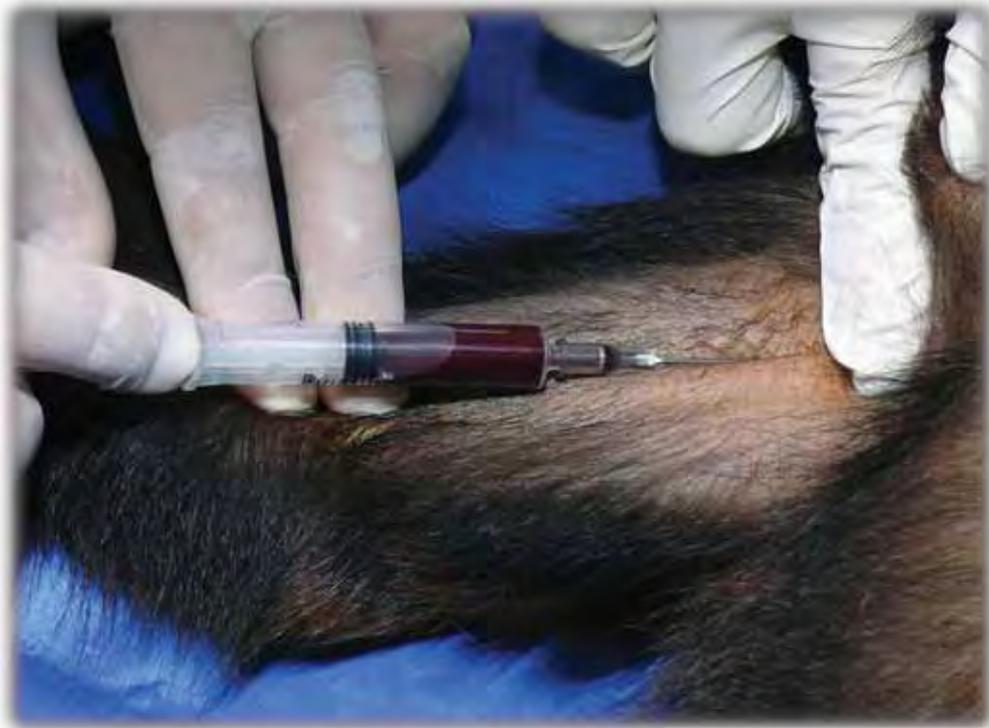


Foto: Daniel Ornelas

FIGURA 1: Coleta de sangue pela veia braquial em *Alouatta guariba* para exames de sanidade.



Foto: Daniel Ornelas

FIGURA 2: Realização de exame de tuberculinização em *Alouatta guariba*.

4.2 Medições de Pressão, Coleta e Análise de Flúido Cerebroespinal

No dia do procedimento, após restrição alimentar de 12 horas, os animais foram submetidos à contenção física com puçá e, imediatamente, receberam anestesia geral com cloridrato de cetamina (8 mg/Kg) associada a cloridrato de xilazina³ (1 mg/Kg) e midazolam (0,5 mg/kg), pela via intramuscular. Após anestesia, realizou-se a intubação com sonda orotraqueal número 5,5 (Figura 3) e foi inserido cateter flexível 20G na veia braquial (Figura 4). Os animais receberam infusão de solução de cloreto de sódio 0,9%, para manutenção de acesso venoso e passaram então, a receber anestesia inalatória com isoflurano⁴.

Para visualização da área a ser puncionada, realizou-se a tricotomia ampla da região cervical dorsal, tendo como limites craniais a protuberância externa do osso occipital e como limite caudal a terceira vértebra cervical (Figura 5). Posteriormente, foi realizada a antissepsia com solução de álcool a 70% e iodo polivinil pirrolidona. O animal foi então posicionado com a coluna vertebral paralela à borda da mesa de procedimento e teve sua cabeça flexionada ventralmente, promovendo a abertura do forame magno.

O operador, munido de luvas de procedimento estéreis e cateter para punção suboccipital⁵ (Figura 6), inseria o mesmo no plano mediano da região cervical dorsal, no espaço entre o crânio e a primeira vértebra cervical, para punção da cisterna cerebelomedular ou cisterna magna (Figuras 7 a 10).

³ Xilazin 2%. Cloridrato de xilazina. Frasco ampola 10 mL. Syntec do Brasil. Cotia - SP.

⁴ Isoforine. Frasco 240 mL. Cristália Produtos Químicos e Farmacêuticos Ltda. Itapira - SP

⁵ Cateter descartável para punção Suboccipital 60x30. BD Brasil. Becton, Dickson ad Company. São Paulo-SP



Foto: Daniel Ornelas

FIGURA 3: *Alouatta guariba* sendo submetido à intubação orotraqueal.

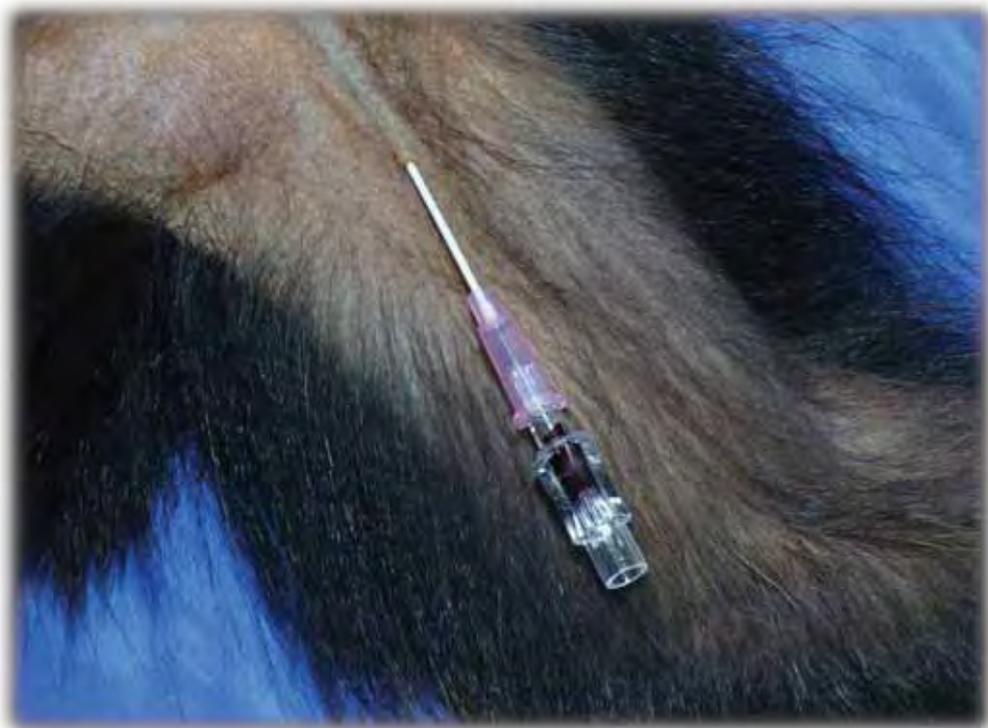


Foto: Daniel Ornelas

FIGURA 4: Acesso venoso (veia braquial) com o uso de cateter flexível.



Foto: Daniel Ornelas

FIGURA 5: Área de preparo para punção da cisterna magna.

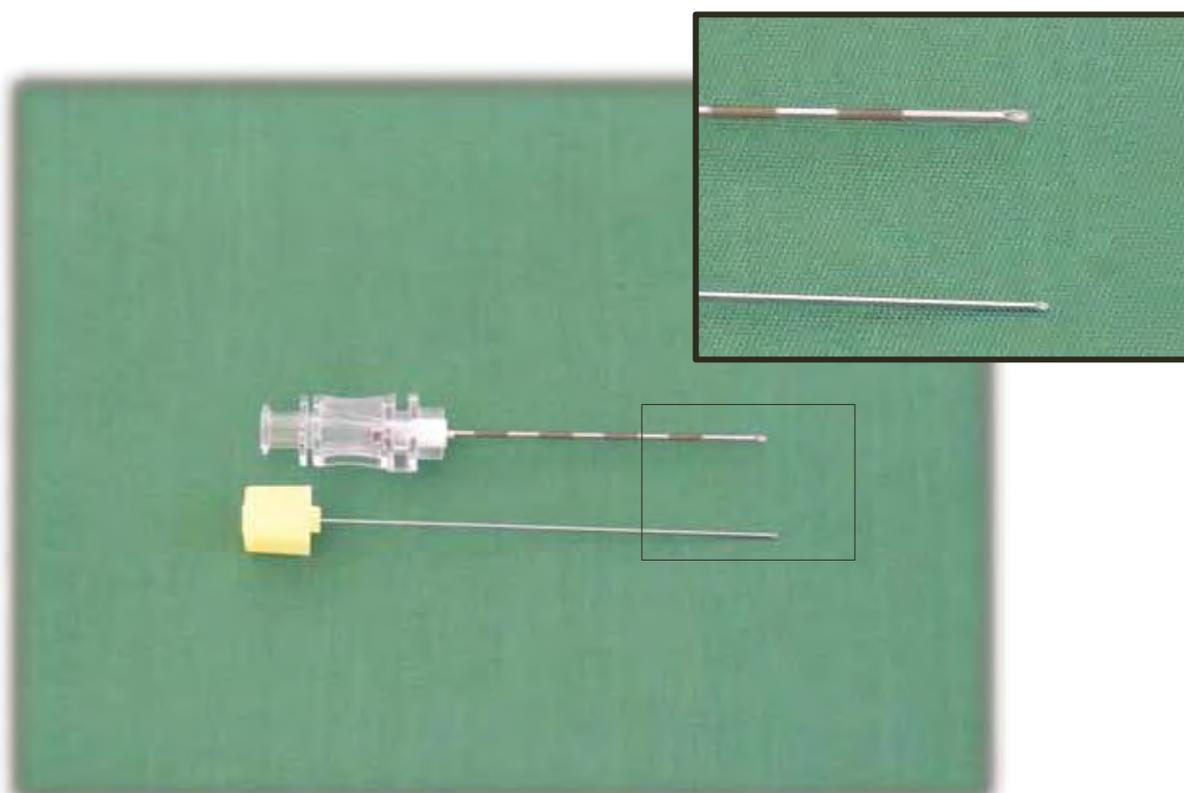


FIGURA 6: Cateter para punção suboccipital. No destaque nota-se o tipo de bisel do cateter.

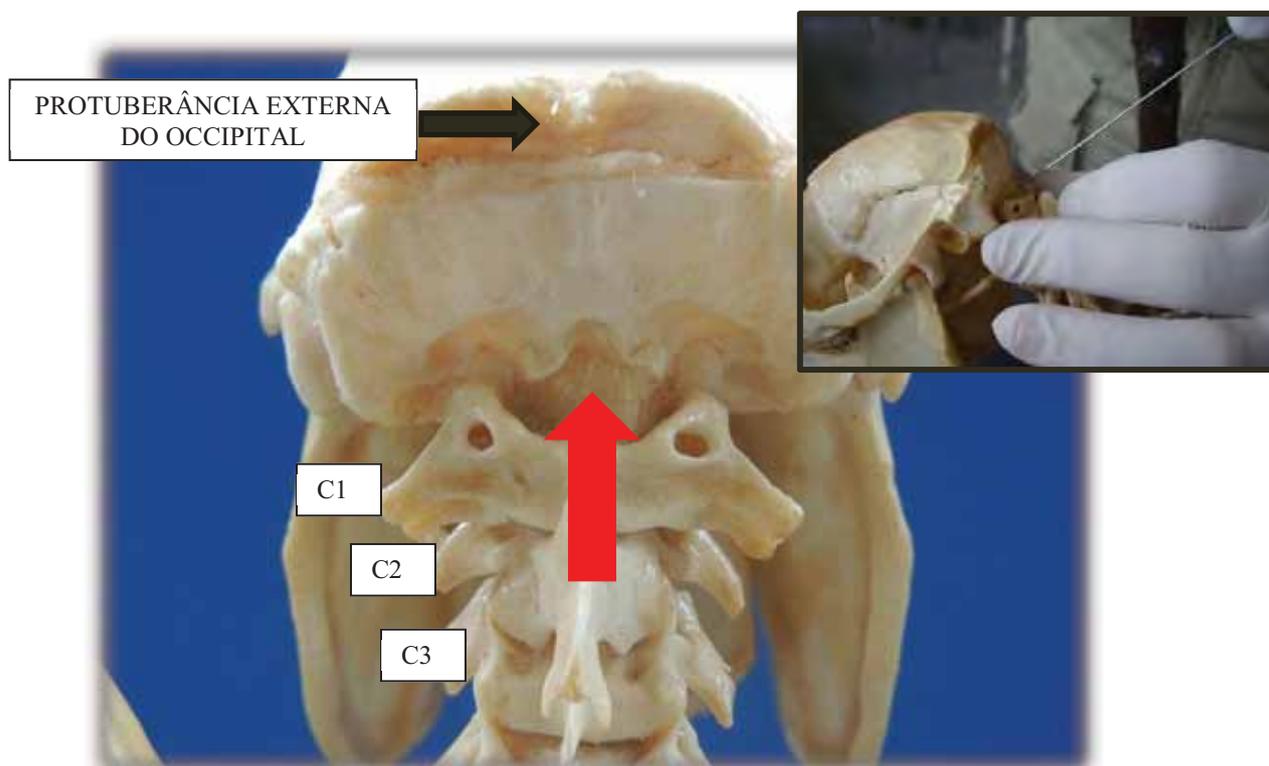


FIGURA 7: Demonstração em esqueleto de *Alouatta guariba* da área de punção da cisterna magna. Observam-se as três primeiras vértebras cervicais (C1 – C2 – C3), a crista do osso occipital e a área de punção (seta vermelha). No detalhe, vista lateral da região



Foto: Zara Bortolini

FIGURA 8: Radiografia de *Alouatta guariba* com cateter inserido na cisterna magna.



Foto: Daniel Ornelas

FIGURA 9: Inserção de cateter em *Alouatta guariba* para punção de cisterna cerebelomedular.



Foto: Daniel Ornelas

FIGURA 10: Punção de cisterna cerebelomedular.

Após a progressão lenta com o cateter, retirava-se o mandril e, caso o fluido cerebrospinal fosse observado gotejando do cateter, o manômetro era conectado e posicionado no mesmo nível do crânio (Figura 11). Seguida a observação da estabilização do ponteiro, era feita a leitura da pressão líquórica inicial. O manômetro⁶ utilizado para a captação das medidas foi do tipo analógico, com medidas mínima e máxima compreendidas entre zero e 100 cm de H₂O, graduado de uma a uma unidade (Figura 12).

Ao término da aferição da pressão inicial era realizada a coleta do fluido por gotejamento até que o mesmo cessasse (Figura 13). Nesse momento, o manômetro era novamente conectado ao cateter para nova leitura da pressão. Finalmente, o cateter era retirado e nova antissepsia era feita na pele, no local puncionado.

As amostras coletadas foram enviadas imediatamente ao Laboratório Clínico da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – FMVZ – UNESP – Botucatu e submetidas aos estudos, onde se realizou a análise física (volume, coloração, aspecto e densidade) e química (pH, proteína, coagulação, glicose, sangue oculto, hemácias e células nucleadas). Foi realizado também o Teste de Pandy (aplicação de índice colorimétrico para detecção de imunoglobulinas com a adição de composto fenólico à amostra de FSC). Os métodos aplicados nas análises foram fitas reagentes⁷, Microprote, refratômetro e câmara de Fuchs-Rosenthal após citocentrifugação das amostras. Os resultados obtidos foram tabulados e foram obtidos os valores estatísticos de média e desvio padrão dos parâmetros avaliados.

⁶ RUCKEN Instrumentação e Automação Industrial LTDA. São Paulo - SP

⁷ Combur¹⁰ Test™ UX. Roche Diagnostics GmbH. Mannheim, Germany



Foto: Daniel Ornelas

FIGURA 11: Medição da pressão do fluido cerebrospinal com o uso de manômetro analógico.



FIGURA 12: Manômetro analógico para medição de pressão liquórica.



Foto: Daniel Ornelas

FIGURA 13: Coleta de fluido cerebroespinal.

4.3 Tomografias de Crânio e Encéfalo

Para a realização das tomografias foram empregados os mesmo protocolos de preparo que os da colheita de fluido cerebroespinal, consistindo de contenção física com puçá anestesia geral com cloridrato de cetamina (8 mg/Kg) associada a cloridrato de xilazina (1,0 mg/Kg) e midazolam (0,5 mg/kg), pela via intramuscular. Depois de anestesiado, realizou-se a intubação orotraqueal e o acesso venoso (veia braquial). Da mesma forma que descrito anteriormente, a manutenção anestésica foi feita com isoflurano. Após anestesiados, os animais foram colocados em decúbito esternal, com o queixo apoiado em almofada de espuma (Figuras 14 e 15). O aparelho utilizado na obtenção das imagens foi um tomógrafo helicoidal de terceira geração da marca Shimadzu⁸, modelo SCT 7800 TC (Figura 16).

Foram realizados cortes no plano coronal, com espessura de 1mm e incremento de corte de também 1mm. A técnica utilizada foi de 120 KV e de 100 a 130 mA. A região avaliada foi o crânio e o encéfalo, tendo como limite rostral a concha nasal etmoidal (próximo ao início da órbita) e como limite

⁸ Shimadzu do Brasil Com. Ltda. – São Paulo – SP.

caudal a primeira vértebra cervical (Figura 17). Em alguns exames, houve a necessidade de angulação do equipamento ou “tilt” (Figura 18).

Foram realizados exames tomográficos em cinco animais, sem a utilização de contraste, para observações dos valores de atenuação da caixa craniana e do encéfalo.

Para a determinação desses valores nos diversos locais do crânio e do parênquima encefálico, foram escolhidas ROIs (“regions of interest”) circulares com abertura fixa de $0,1 \text{ cm}^2$, utilizando a ferramenta “ROI/densidade” que fornece o cálculo da área em centímetros quadrados, densidade média e desvio-padrão, sendo esta dada em Unidades Hounsfield (UH) da região de interesse escolhida.

Os locais escolhidos foram os ossos frontal, parietal e temporal, e as regiões de córtex dos lobos frontal e parietal. Foram analisados dois cortes de cada região. Em cada um desses cortes foram aferidas medições de dois locais diferentes em cada área estudada (ou seja, quatro aferições de cada área de interesse, por animal).

As referências anatômicas para as avaliações do córtex frontal e do osso frontal foram o final da órbita e o início do arco zigomático. Para avaliação da região temporal e parietal, os limites anatômicos foram o meato acústico externo e a bula timpânica, coincidente ao final do arco zigomático. Outro guia anatômico foi a imagem dos cortes obtidos no *scout*, onde relacionou-se o osso craniano e a área encefálica correspondente (Figura 19).

Os resultados foram tabulados e obteve-se a média e o desvio padrão dos valores obtidos.



Foto: Zara Bortolini

FIGURA 14: Animal em decúbito esternal e apoio de queixo em almofada de espuma para realização de tomografia computadorizada.



Foto: Zara Bortolini

FIGURA 15: *Alouatta guariba* preparado para exame tomográfico



FIGURA 16: Vista do aparelho de tomografia da FMVZ- UNESP - Botucatu (*gantry* e mesa de exame), No destaque, parte do painel de controle do aparelho.

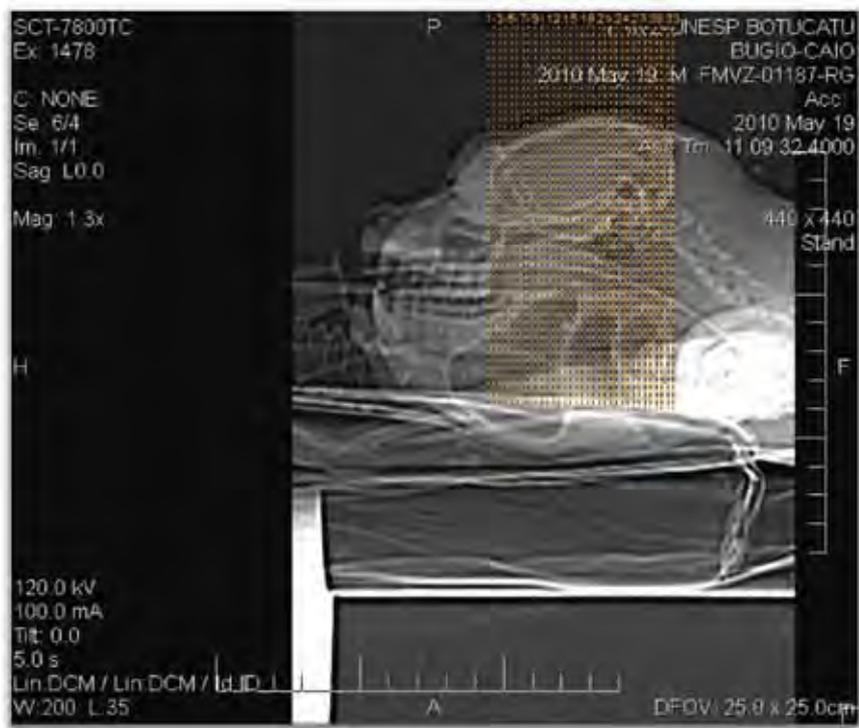


FIGURA 17: *Scout* de tomografia de crânio e encéfalo de *Alouatta guariba*, mostrando o sentido e quantidades dos cortes tomográficos (plano coronal).



FIGURA 18: *Scout* de tomografia de crânio e encéfalo de *Alouatta guariba*, mostrando o sentido dos cortes (plano coronal) e os limites da região examinada. Nesse caso, houve angulação do equipamento.

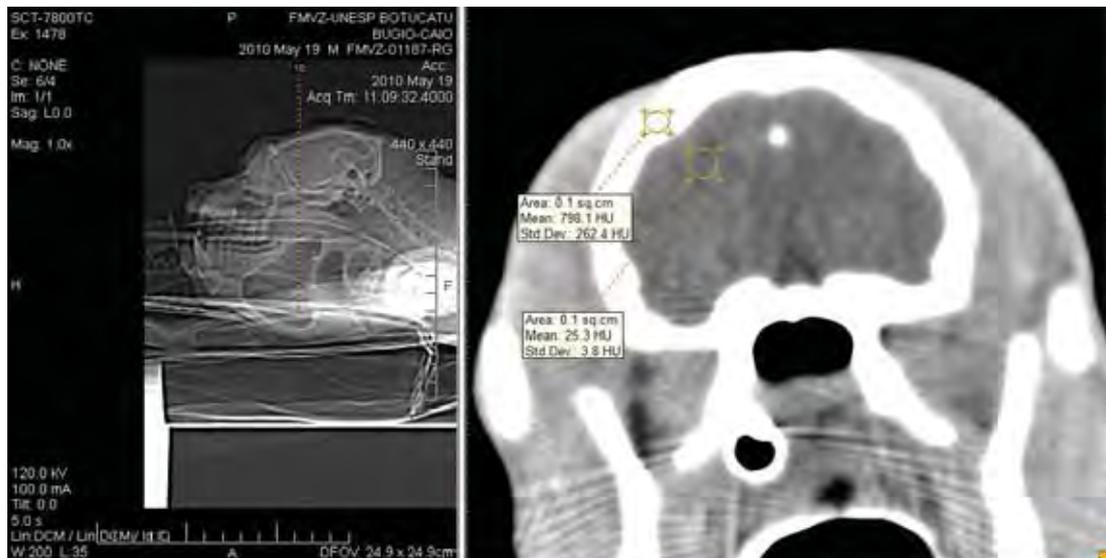


FIGURA 19: *Scout* de tomografia de crânio e medições de dados em encéfalo de *Alouatta guariba*.

4.4 Angiotomografia Contrastada e Reconstrução de Imagem em Três Dimensões

Foram realizados exames de angiotomografia contrastada em cinco animais, para observações das imagens em 3D dos vasos encefálicos.

Esta fase foi um terceiro momento do experimento e, após todos os procedimentos de preparação, contenção e anestesia descritas no exame tomográfico sem contraste e na colheita de fluido cerebroespinal, realizou-se o exame de angiotomografia contrastada. Utilizou-se contraste radiográfico⁹ à base de diatrizoato de meglumina (280mg de iodo por mL de solução), na dose de seis mL por quilograma de peso, pela via intravenosa, administrado na veia braquial. O contraste foi aplicado com a permanência do operador dentro da sala de tomografia, devidamente paramentado com proteção plumbífera (avental, luvas, protetores de tireóide e óculos). O contraste era injetado de forma contínua (bolus) e observou-se um *delay* de 20 segundos para o início dos cortes tomográficos, tempo este para a observação dos primeiros sinais de contraste nos vasos encefálicos.

Ao término da obtenção das imagens, utilizou-se o programa Voxar¹⁰ Workstation 3D, versão 6.3, para reconstrução das imagens tomográficas em três dimensões. Para isso, foi utilizado o algoritmo de reconstrução de imagem para tecido mole (RF 2 ou “filtro mole”).

Assim, formada a imagem em 3D, aplicaram-se os recursos do programa com o intuito de destacar os vasos encefálicos que foram contrastados. Para atingir esse objetivo, as camadas superficiais da cabeça (pele, musculatura, osso e tecido encefálico) foram retiradas individualmente, pois, apresentam diferentes densidades na sua construção gráfica (Figura 20). Ao final deste procedimento, foram obtidas as imagens objeto do estudo.

Os vasos foram identificados e descritos conforme sua localização anatômica (início, fim, forma e/ou anastomoses) e calibre, utilizando como parâmetro a vascularização do cérebro de outros mamíferos. Na ausência dessas informações não houve identificação do mesmo.

⁹ Reliev 60%. Diatrizoato de Meglumina, 60 gramas. Justesa Imagem do Brasil. Duque de Caxias. RJ

¹⁰

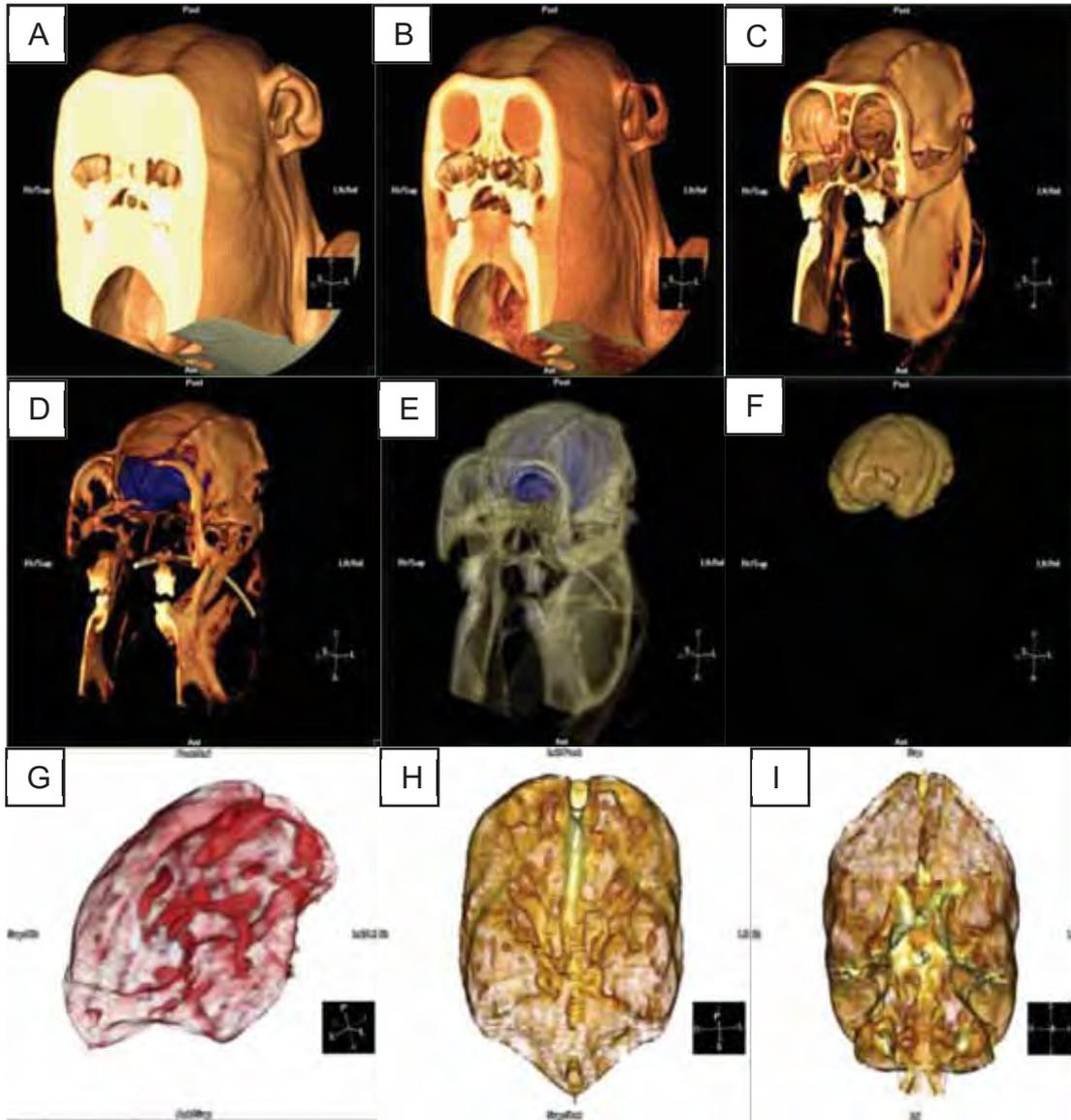


FIGURA 20: Esquema demonstrando sequência de imagens tomográficas reconstruídas em 3D, com o uso da ferramenta VOXAR 3D, versão 6.3. A sequência mostra desde a imagem da cabeça de *Alouatta guariba* com a cobertura de pele e ossos (A, B, C) até a imagem dos vasos encefálicos contrastados na visualização lateral, dorsal e ventral (G, H, I). Em D e E, observa-se em azul o encéfalo e em F, o mesmo sem a cobertura óssea.

5. Resultados

5. RESULTADOS

5.1 Flúido Cerebroespinal

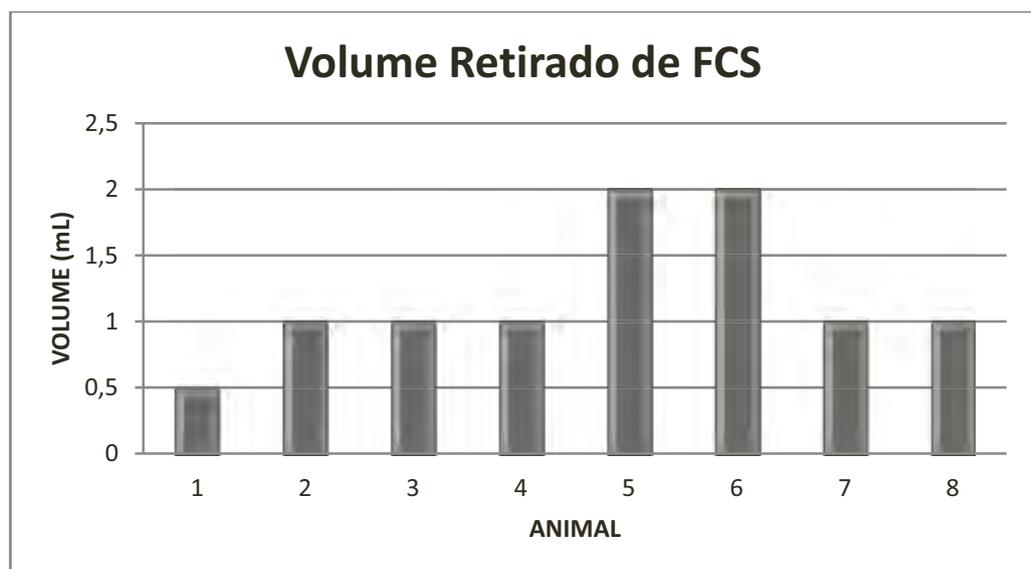
5.1.1 Coletas das Amostras

A metodologia empregada foi adequada para coleta das amostras na cisterna magna, e nenhum dos animais apresentou complicações durante o procedimento (cardiorrespiratórias ou neurológicas, por exemplo). O manuseio do cateter foi simples e o calibre mostrou-se adequado para os animais de maior massa corpórea. Nos dias posteriores ao procedimento, a inspeção dos animais demonstrou comportamento normal no recinto quanto à ingestão de alimentos, interação com o grupo, movimentação entre os poleiros do recinto, marcha e equilíbrio.

5.1.2 Análise Física do Flúido Cerebroespinal

O volume retirado dos animais foi medido com o auxílio de seringas e variou entre meio e dois mililitros (média de 1,1875 mL \pm 0,53 mL). Os valores individuais retirados de cada animal estão expressos no gráfico 1.

GRÁFICO 1: Volumes retirados de flúido cerebroespinal (FCS)

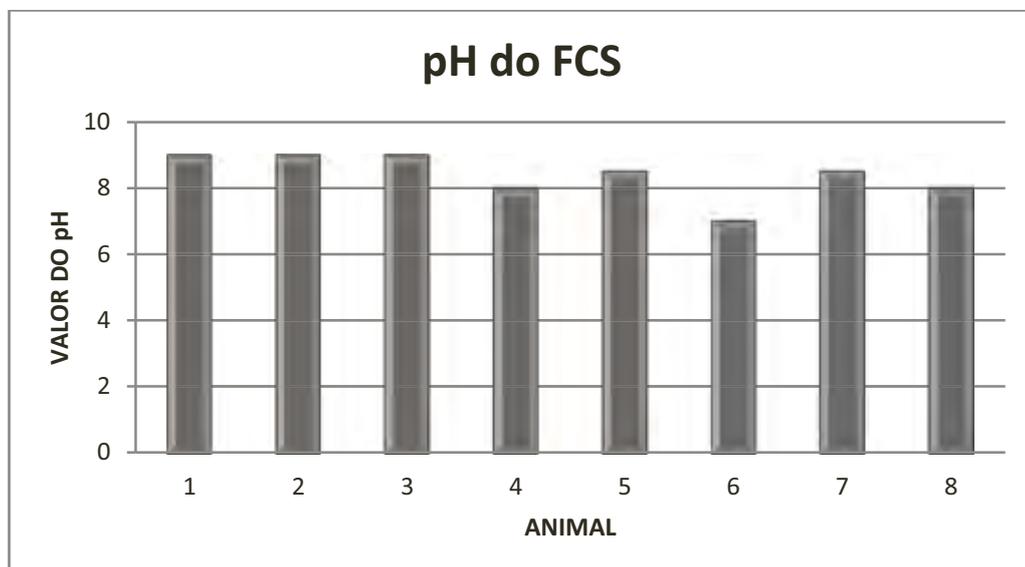


Os resultados de coloração do fluido demonstraram que sete (88%) das oito amostras apresentaram-se incolor e somente uma (12%) avermelhada. Os mesmos valores foram encontrados no aspecto das amostras (sete límpidas e uma turva). Todas as amostras avaliadas apresentaram densidade de 1,006.

5.1.3 Análise Química do Fluido Cerebroespinal

Os valores determinados de pH liquórico mostraram média de $8,4 \pm 0,7$. Os valores individuais de pH dos animais encontram-se no gráfico 2.

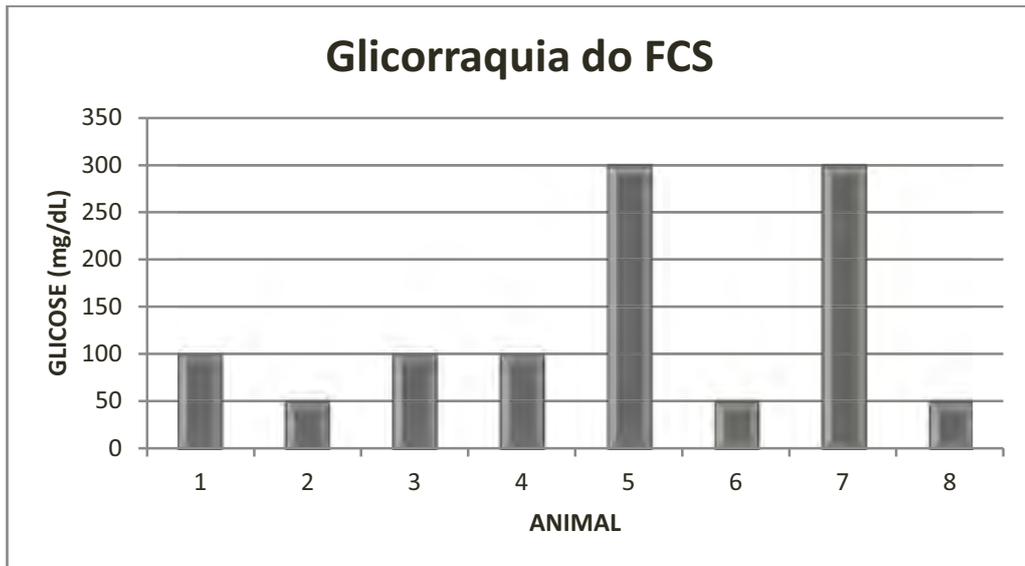
GRÁFICO 2: Valores individuais de pH das amostras de FCS.



O Teste de Pandy (reação de fenol a imunoglobulinas liquóricas) foi realizado em 3 das 8 amostras (38%) e destas, todas foram negativas, ou seja, não observou-se alteração na coloração e aspecto das amostras.

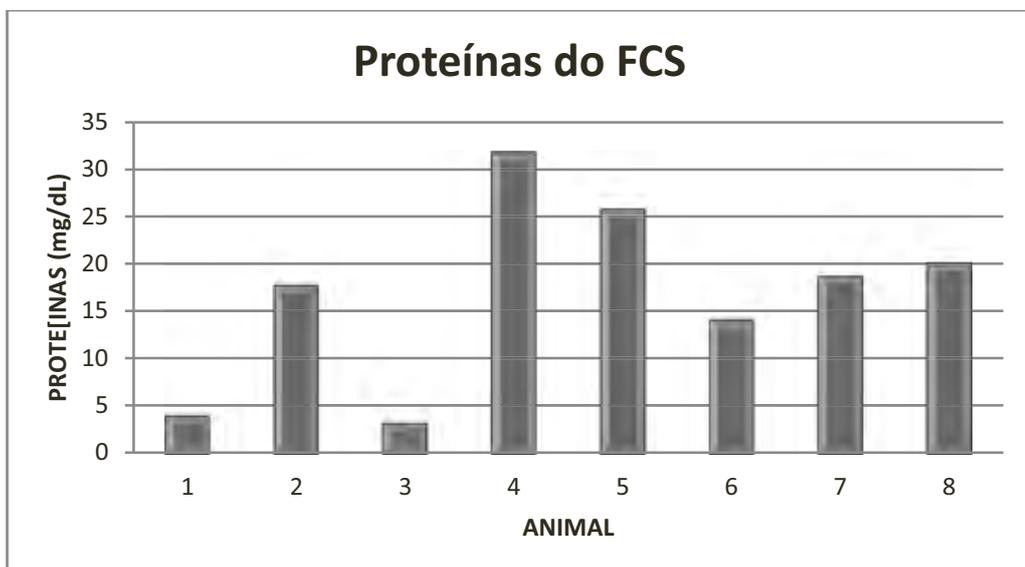
Os valores de glicose (glicorraquia) encontrado nas amostras apresentaram média de $131,25 \text{ mg/dL} \pm 106,7 \text{ mg/dL}$. Os valores individuais das medições encontram-se no gráfico 3.

GRÁFICO 3: Valores determinado de glicose nas amostras do FCS.



A média de proteína líquórica obtida) foi de 16,92 mg/dL \pm 9,84. Os valores individuais encontrado nas amostras estão expressos no gráfico 4.

GRÁFICO 4: Valor de proteínas nas amostras de FCS.



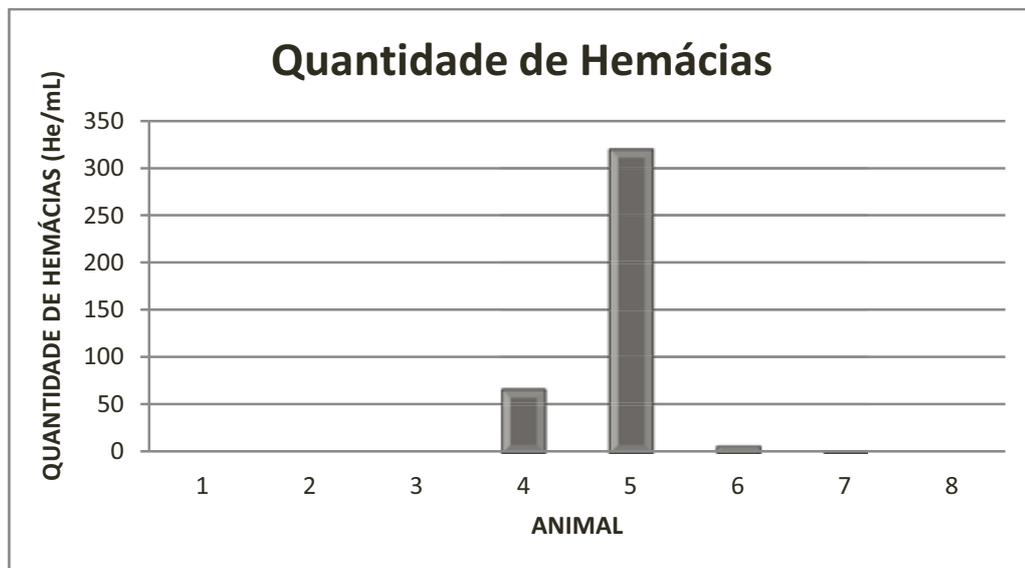
* No animal número 3 não foi realizada a dosagem de proteína.

5.1.4 Celularidade do Flúido Cerebrospinal

Nas análises citológicas, observou-se a presença de hemácias e células nucleadas nas amostras.

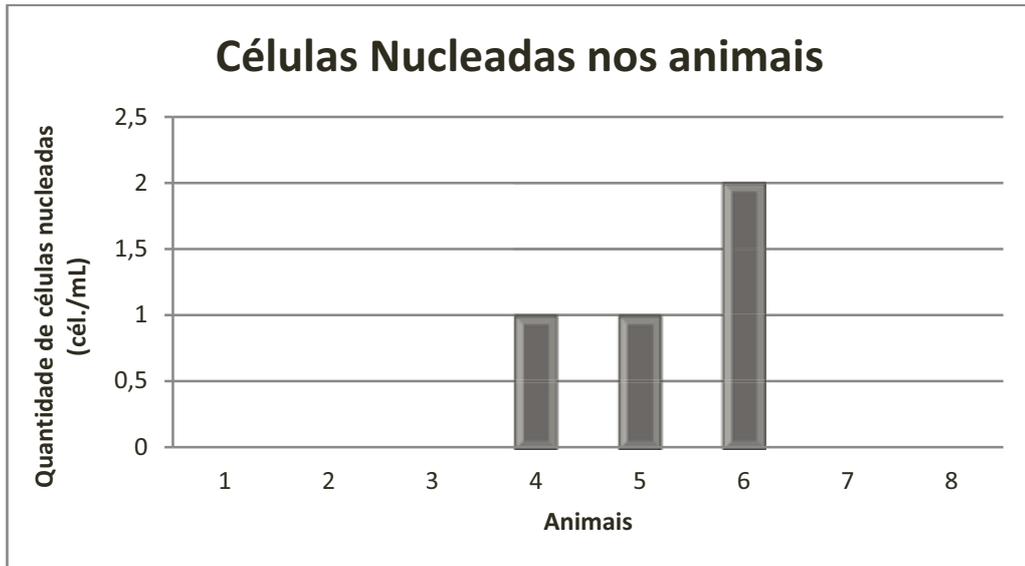
O número médio de hemácias constatadas foi de 49,374 hemácias/mL \pm 111,76. No gráfico 5 observa-se a contagem individual de hemácias nas amostras.

GRÁFICO 5: Quantidade de hemácias nas amostras de FCS.



A média de células nucleadas encontrada nas amostras foi de 0,5 célula/mL \pm 0,7559 células/mL. No gráfico 6 observa-se o resultado de cada amostra coletada.

GRÁFICO 6: Quantidade de células nucleadas nas amostras de FCS.



5.1.5 Pressão Liquórica

Conforme a metodologia empregada, registrou-se a pressão do FCS antes e após a retirada das amostras. O valor médio da pressão inicial foi $7,375 \text{ cm H}_2\text{O} \pm 1,767$ e da pressão final foi $0,625 \text{ cm H}_2\text{O} \pm 1,060$. Nos gráficos 7 e 8 encontram-se os resultados de cada medição.

GRÁFICO 7: Valores de Pressão Líquórica Inicial (antes da retirada de FCS).

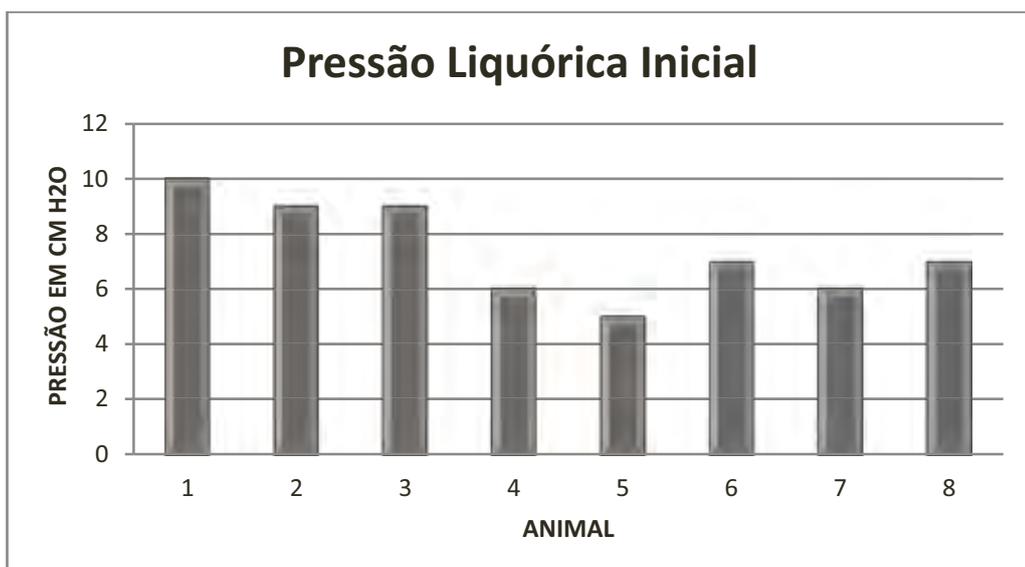
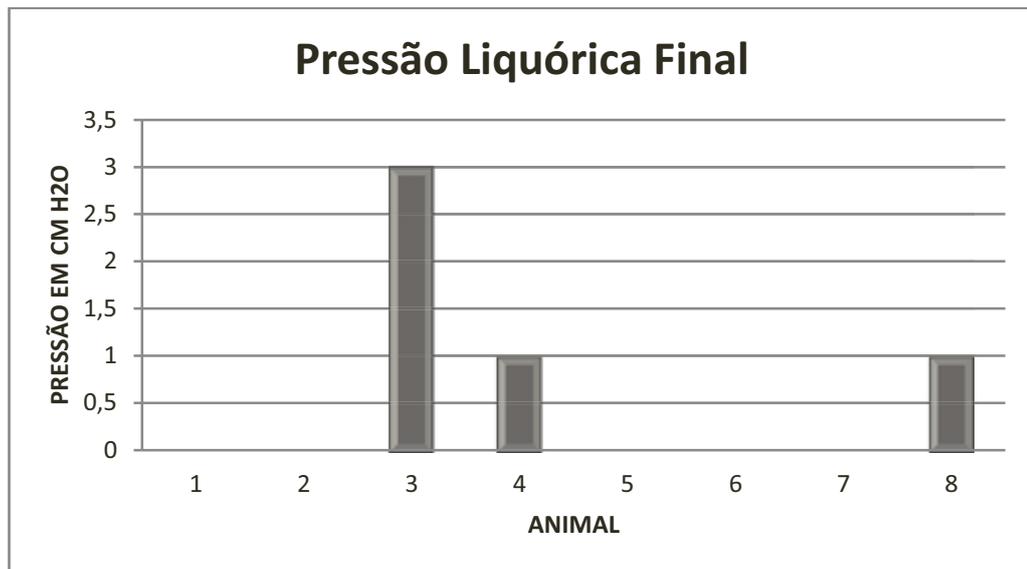


GRÁFICO 8: Valores de Pressão Líquórica Final (após retirada de FCS).



No quadro 2, encontram-se expressos todos os valores encontrados nas análises realizadas durante a pesquisa.

QUADRO 2: Valores das avaliações líquóricas realizadas no estudo. (NR – não realizado, NEG – negativo)

CARACTERÍSTICA	ANIMAL							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Sexo	M	F	M	M	F	M	F	F
Idade (anos)	8	4	2	12	12	8	4	2
Volume (mL)	0,5	1	1	1	2	2	1	1
Cor	averm.	incolor						
Aspecto	turvo	límpido						
Densidade	1,006	1,006	1,006	1,006	1,006	1,006	1,006	1,006
Coagulação	positivo	negativo						
pH	9	9	9	8	8,5	7	8,5	8
Proteína (mg/dL)	4	17,7	3,2	31,8	25,8	14,1	18,7	20,1
Glicose (mg/dL)	100	50	100	100	300	50	300	50
Pandy	NR	NEG	NR	NR	NR	NEG	NEG	NR
Hemáceas (cél/mL)	0	0	0	67	320	7	1	0
Células Nucleadas (cél/mL)	0	0	0	1	1	2	0	0
Pressão Inicial (cm H₂O)	10	9	9	6	5	7	6	7
Pressão Final (cm H₂O)	0	0	3	1	0	0	0	1

5.2 Tomografia Computadorizada de Crânio e Encéfalo sem Contraste

Nos exames tomográficos de crânio e encéfalo sem contraste, as imagens obtidas foram de boa qualidade, mas pelas limitações do próprio exame tornou-se difícil a diferenciação das estruturas encefálicas. Os ventrículos laterais não foram facilmente visualizados e, quando foram, não foi possível determinar a forma, o tamanho ou os limites dos mesmos. O cerebelo e as estruturas do tronco encefálico (ponte, bulbo, etc.), também não tiveram seus limites definidos. Em contrapartida, os ossos da caixa craniana foram muito destacados e, foi possível a visualização do córtex frontal e parietal, mas sem diferenciação entre substância branca e cinzenta. Na figura 21, 22, 23 e 24 encontram-se as sequências de cortes realizados em um dos animais.

A determinação dos valores de atenuação de crânio e encéfalo foi realizada em regiões onde, pela localização do corte tomográfico e pela anatomia de regiões ósseas próximas, era possível definir as estruturas sem risco de erro na análise (Figuras 25 a 27).

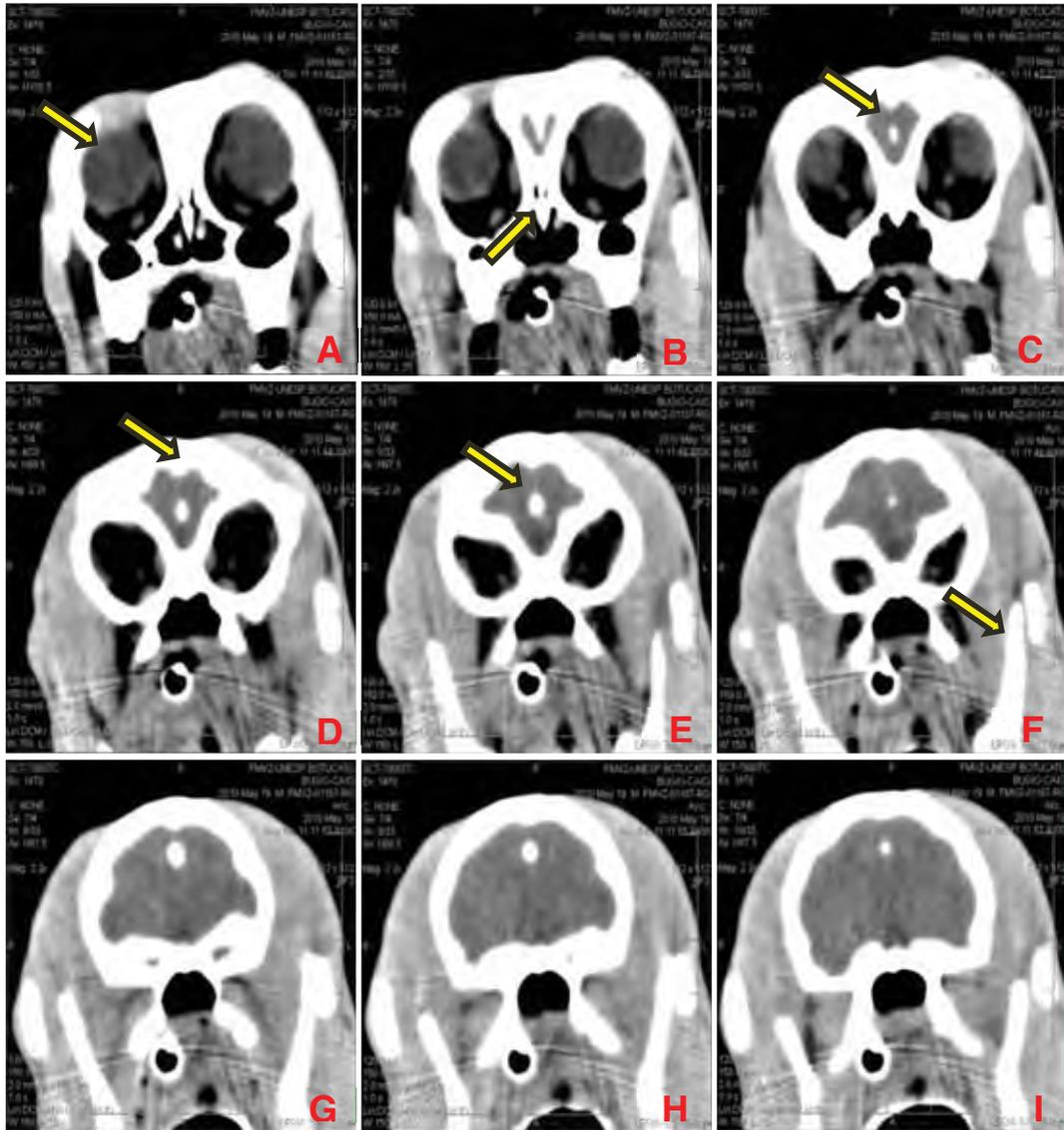


FIGURA 21: Estudo de tomografia computadorizada de crânio e encéfalo de *Alouatta guariba*. Esta imagem ilustra a visibilização de algumas estruturas anatômicas nos nove primeiros cortes aplicados sobre a região. Na seta em A, visibiliza-se o olho e a órbita. Na seta em B, encontra-se o platô cribiforme do osso nasal. Na seta em C, observa-se o início do encéfalo (córtex pré-frontal). Na seta em D, observa-se o osso frontal, na seta em E, a região de córtex frontal e em F, o osso da mandíbula. As imagens G, H e I mostram grande área encefálica, mas sem destaque das estruturas.

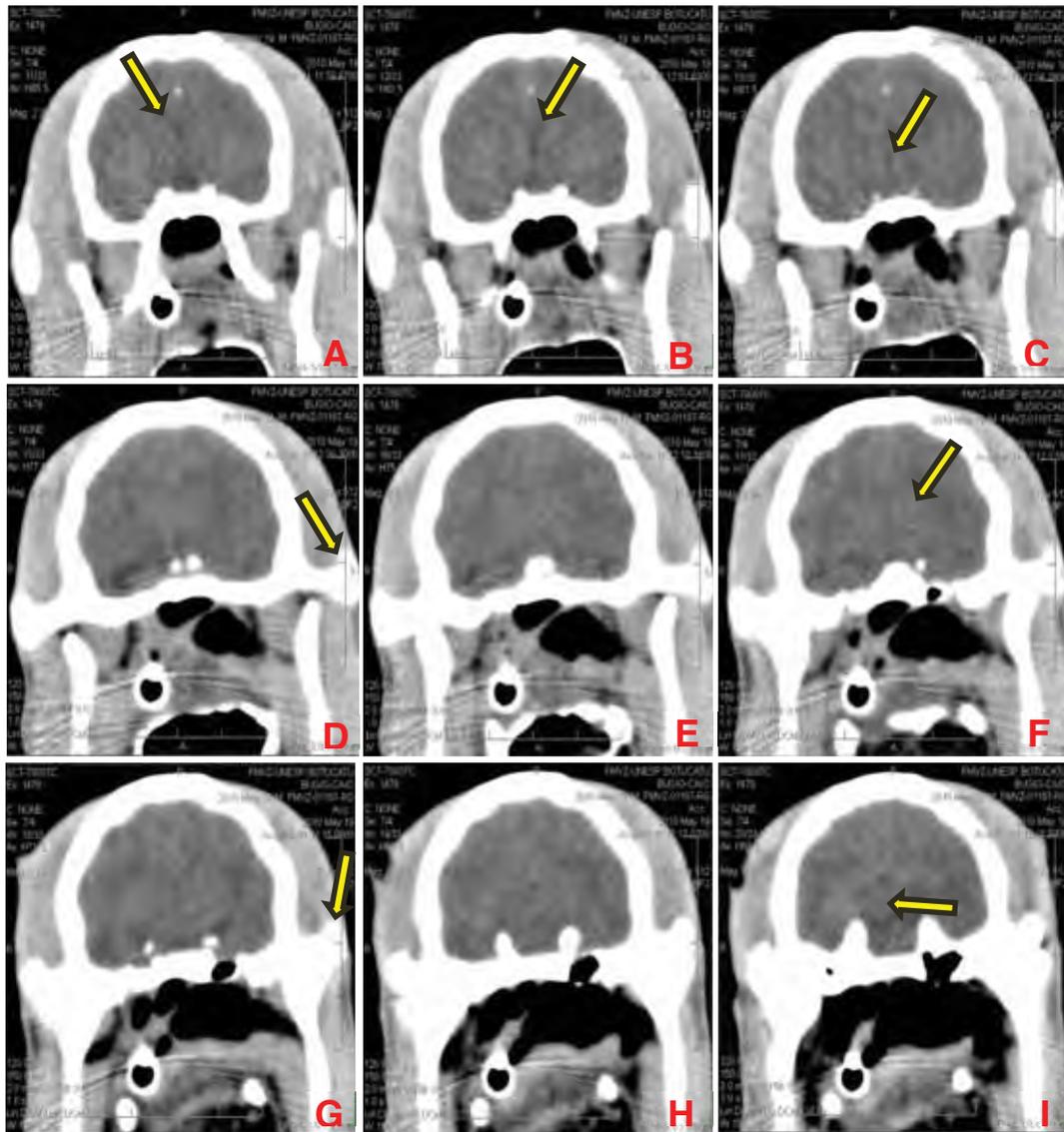


FIGURA 22: Estudo de tomografia computadorizada de crânio e encéfalo de *Alouatta guariba*. Esta imagem ilustra a visibilização de algumas estruturas anatómicas nos nove cortes intermediários aplicados sobre a região. Nas setas em A e B, observa-se a região de ventrículos laterais direito e esquerdo. Em C, a visibiliza-se o terceiro ventrículo e em D, osso do arco zigomático. Em E mostra-se a região transição entre o córtex frontal e o córtex parietal, não sendo possível a diferenciação dos mesmos. Em F, a seta mostra o tálamo e em G assinala-se o processo temporal do osso zigomático. Na imagem em I, a seta destaca a região de mesencéfalo.

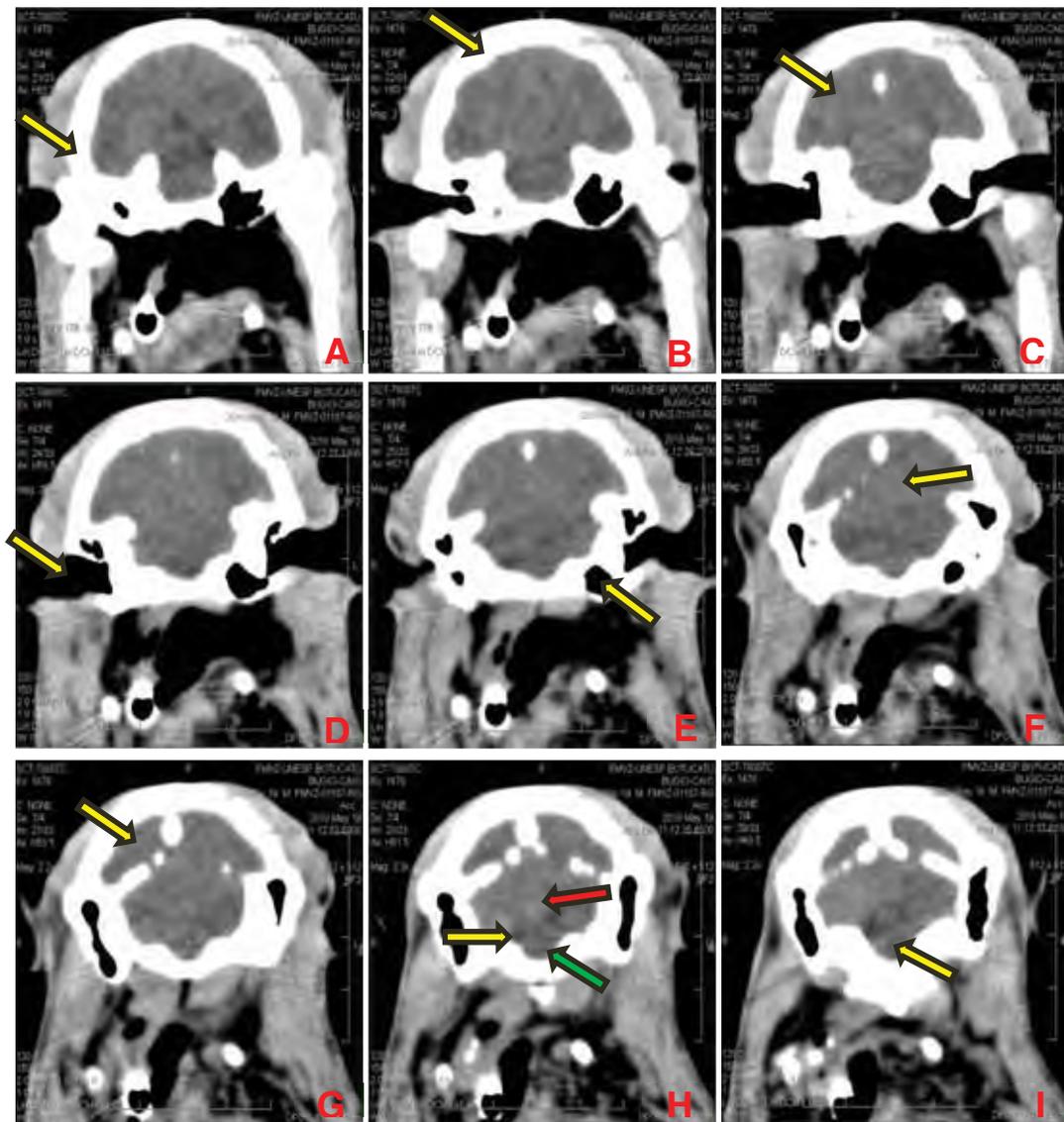


FIGURA 23: Tomografia computadorizada de crânio e encéfalo de *Alouatta guariba*. Em A, observa-se o osso temporal, e em B o osso parietal. Em C, observa-se o córtex encefálico na região parietal. Em D, visibiliza-se a orelha externa e em E, a bula timpânica. Em F, visibiliza-se as regiões do cerebelo. Em G destaca-se o córtex occipital e em H, destaca-se o cerebelo (seta vermelha), o quarto ventrículo (seta amarela) e a região da ponte (seta verde). Em I, observa-se a região de bulbo.

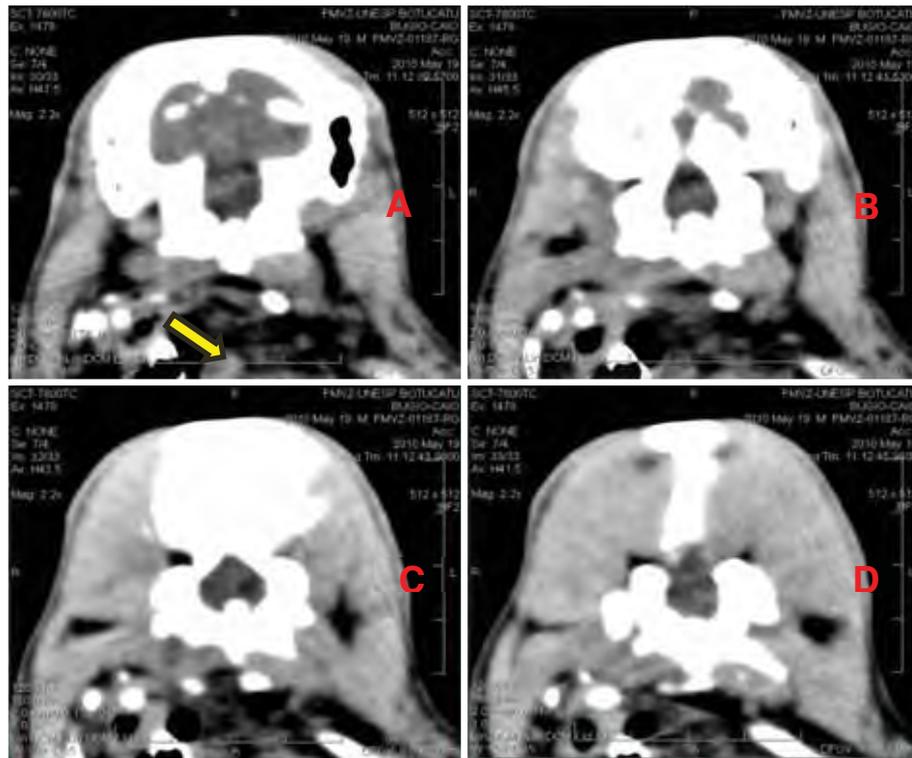


FIGURA 24: Estudo de tomografia computadorizada de crânio e encéfalo de *Alouatta guariba*. Esta imagem ilustra a visualização dos quatro cortes finais, onde destaca-se o osso occipital (seta em C).

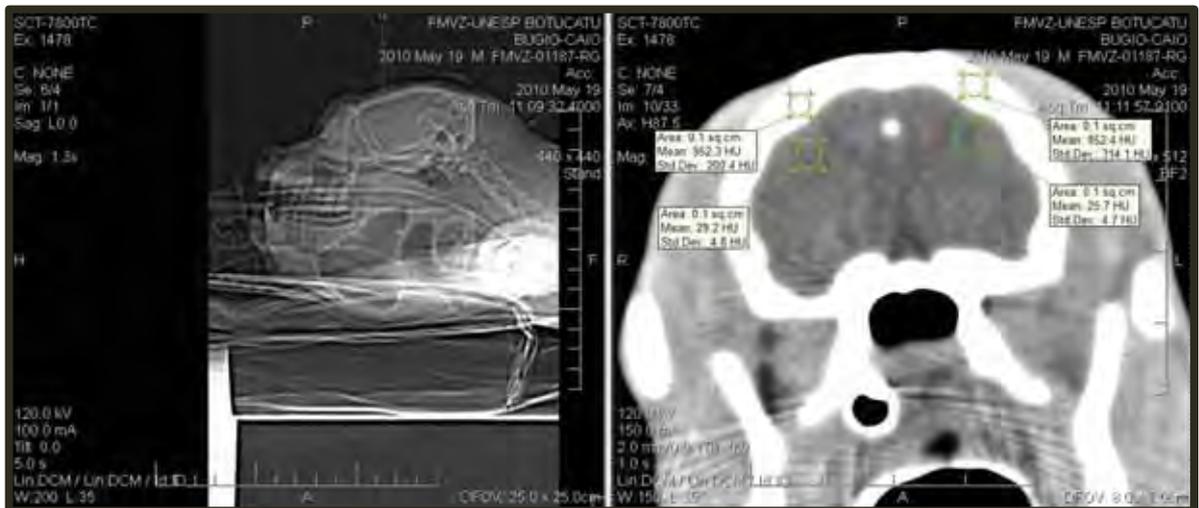


FIGURA 25: Estudo de tomografia computadorizada de crânio (osso frontal) e encéfalo (córtex frontal) de *Alouatta guariba* (primeiro corte). Esta imagem ilustra a análise aplicada no osso do crânio e no córtex cerebral. Os círculos são as ROIs (regiões de interesse) e os retângulos demonstram os valores encontrados nos mesmos.



FIGURA 26: Estudo de tomografia computadorizada de crânio (osso frontal) e encéfalo (córtex frontal) de *Alouatta guariba* (segundo corte). Esta imagem ilustra a análise aplicada no osso do crânio e no córtex cerebral. Os círculos são as *ROIs* (regiões de interesse) e os retângulos demonstram os valores encontrados nos mesmos.

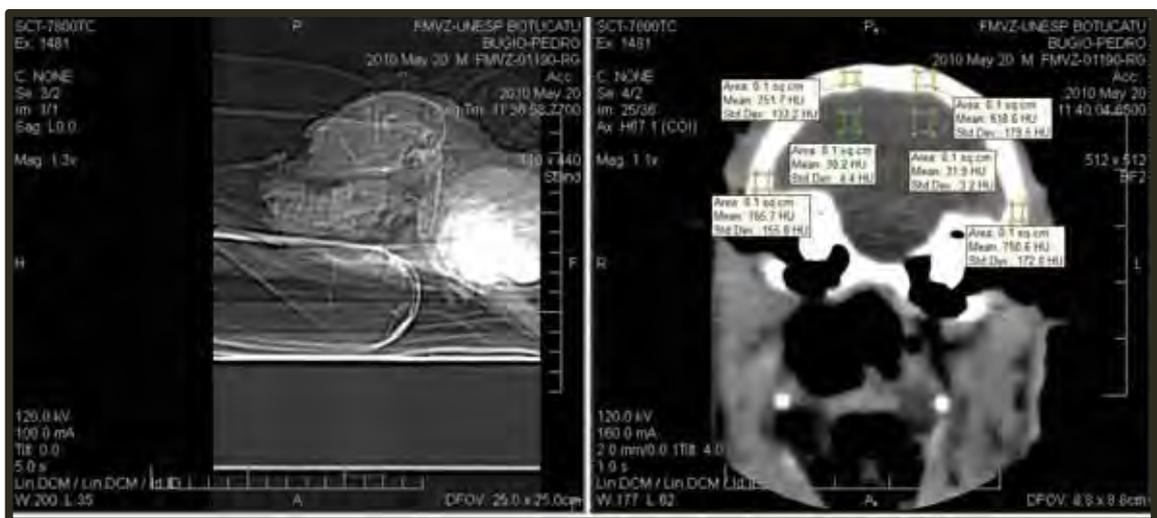


FIGURA 27: Estudo de tomografia computadorizada de crânio (ossos parietal e temporal) e encéfalo (córtex parietal) de *Alouatta guariba* (primeiro corte). Esta imagem ilustra a análise aplicada no osso do crânio e no córtex cerebral. Os círculos são as *ROIs* (regiões de interesse) e os retângulos demonstram os valores encontrados nos mesmos.

Os resultados obtidos foram tabulados (Quadros 3 a 7) e os valores de média e desvio padrão encontram-se no Quadros 8.

QUADRO 3: Medidas dos valores de atenuação do osso frontal em *Alouatta guariba*.

Aferições do osso frontal (UH)									
		1		2		3		4	
Animal	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	
1	852,4	314,1	952,3	200,4	800	207,4	695,5	314,4	
2	726	92,3	749	168,4	986,7	108	987,8	142,5	
3	1010,2	168,6	889,2	308,5	882,1	221,6	865,3	247,9	
4	803,1	164,8	815	165	813,5	183,8	860,8	229,8	
5	911,1	152,1	875,8	191,4	751,4	153,4	726,3	179,8	

QUADRO 4: Medidas dos valores de atenuação do osso parietal em *Alouatta guariba*.

Aferições do osso parietal (UH)									
		1		2		3		4	
Animal	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	
1	713,4	319,3	959,5	286,2	1052	126,4	1039,5	232,4	
2	845,3	330,1	778,7	284,2	1003,6	248	936,1	245,7	
3	961,5	158,9	784,9	217,1	882,1	253,9	665,5	328,5	
4	728,6	142,4	744,5	163,6	902,4	147,1	893,4	149,3	
5	700,3	214,4	734,8	157,2	751,7	133,2	618,6	179,5	

QUADRO 5: Medidas dos valores de atenuação do osso temporal em *Alouatta guariba*.

Aferições do osso temporal (UH)									
		1		2		3		4	
Animal	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	
1	926,6	320,1	986,7	269,4	979,7	304,2	884	261,8	
2	1014,3	125,9	843,1	216,7	952,5	125,8	940,3	118,4	
3	978,1	179	884,8	202,1	862,2	238,6	798,5	207,4	
4	887,7	113,5	836,6	191,4	898,6	147	829	188,7	
5	760,8	126,8	662,2	136,6	765,7	155,8	750,6	172	

QUADRO 6: Medidas dos valores de atenuação do córtex do lobo frontal encefálico em *Alouatta guariba*.

Animal	Aferições do córtex do lobo frontal (UH)							
	1		2		3		4	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
1	29,2	4,8	25,7	4,7	27,9	3,7	25,1	5,6
2	19,3	2,6	18,5	3,2	20,5	3,5	19,5	5,5
3	22,3	3,3	24,1	5,1	23	3	25,1	4,7
4	25,7	5,3	23,1	4,1	29,3	3	27,9	3,5
5	25	2,9	29,9	2,6	23,6	2,3	25,4	1,8

QUADRO 7: Medidas dos valores de atenuação do córtex do lobo parietal encefálico em *Alouatta guariba*.

Animal	Aferições do córtex do lobo parietal (UH)							
	1		2		3		4	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
1	32,2	3,3	34,1	4,8	29,7	3,1	33	5,1
2	28,3	2,6	21,9	3,7	27	3,2	25,7	2,3
3	28,6	2,9	27,7	3,6	29,6	3,5	28	3,2
4	23,6	4,2	27,1	4,8	28,1	1,5	31,3	3,8
5	32,7	3,7	29,3	3	30,2	4,4	31,9	3,2

QUADRO 8: Média e desvio padrão (em UH) dos valores de atenuação das diferentes regiões avaliadas em *Alouatta guariba*.

	ÁREA AVALIADA				
	Osso Frontal	Osso Parietal	Osso Temporal	Córtex de Lobo Frontal	Córtex de Lobo Parietal
Média (UH)	847,7	834,8	872,1	24,5	29,0
DP (UH)	92,6	129,8	92,8	3,4	3,1

5.3 Angiotomografia Contrastada e Reconstrução de Imagem em Três Dimensões

As imagens obtidas com os exames e, posteriormente com as reconstruções em 3D demonstraram claramente a formação dos principais seios venosos encefálicos, e não foram identificadas artérias.

Nos cinco animais estudados foi possível a identificação dos vasos descritos.

As formações venosas identificadas foram:

- Seio sagital dorsal;
- Seio sagital ventral;
- Seio reto;
- Seio transverso direito;
- Seio transverso esquerdo;
- Veia cerebral dorsal direita;
- Veia cerebral dorsal esquerda;
- Seio cavernoso;
- Seio basilar

Essas estruturas estão demonstradas nas Figuras 28 a 32.

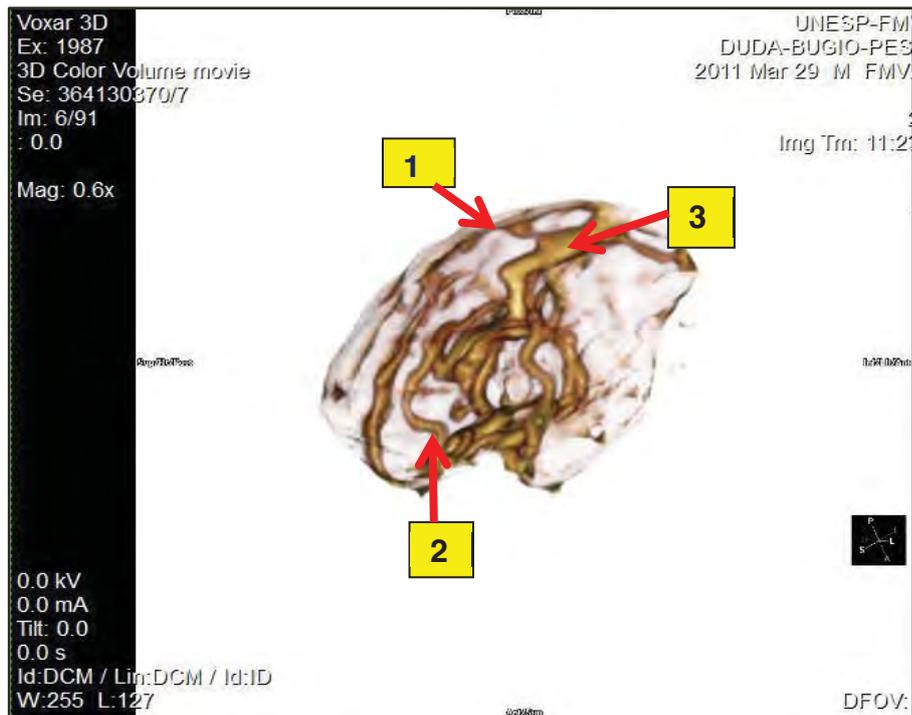


FIGURA 28: Imagem de reconstrução em 3D de vascularização encefálica (vista lateral) em *Alouatta guariba*, onde se observa o Seio sagital dorsal (1), Seio sagital ventral (2) e Seio reto (3).

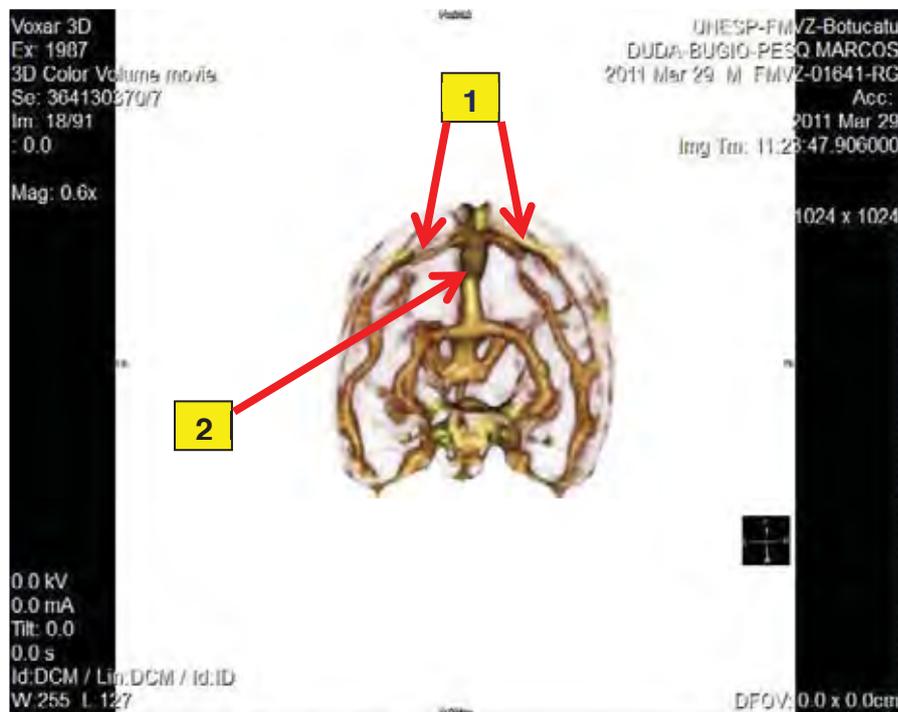


FIGURA 29: Imagem de reconstrução em 3D de vascularização encefálica (vista caudal) em *Alouatta guariba*, onde se observa o Seio transversal direito e esquerdo (1) e o Seio reto (2).

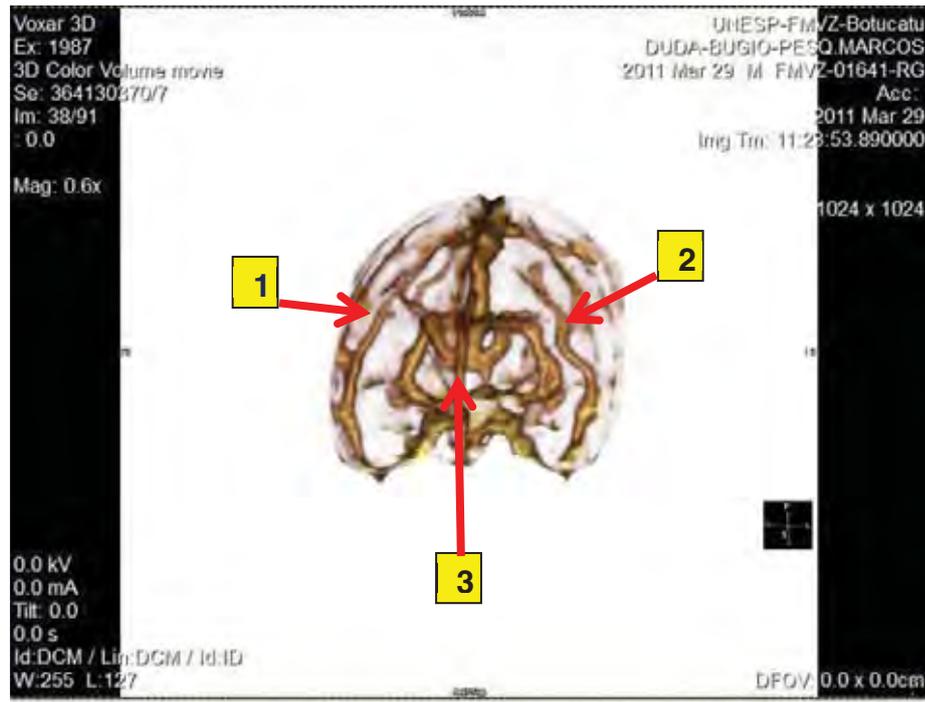


FIGURA 30: Imagem de reconstrução em 3D de vascularização encefálica (vista rostral) em *Aouatta guariba*, onde se observa a Veia cerebral dorsal direita (1), Veia cerebral dorsal esquerda (2) e Seio sagital dorsal (3).



FIGURA 31: Imagem de reconstrução em 3D de vascularização encefálica (vista oblíqua ventral) em *Aouatta guariba*, onde se observa o seio basilar (no destaque).

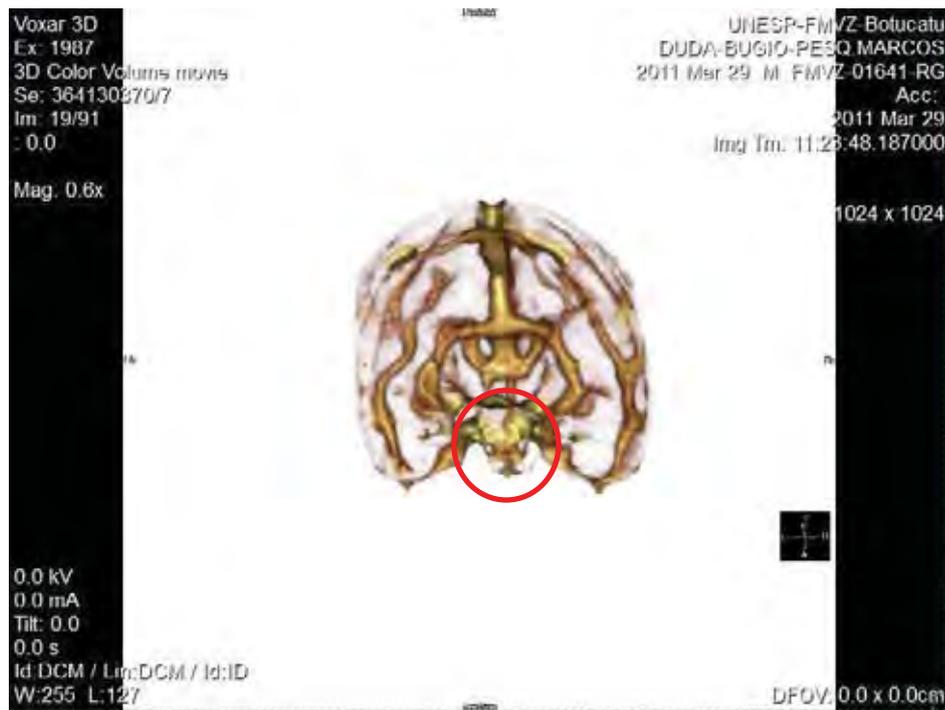


FIGURA 32: Imagem de reconstrução em 3D de vascularização encefálica (vista oblíqua rostral) em *Alouatta guariba*, onde se observa o seio cavernoso (no destaque).

6. DISCUSSÃO

6. DISCUSSÃO

As técnicas de diagnósticos são continuamente pesquisadas para auxiliar os clínicos na medicina de animais selvagens, facilitando a determinação de afecções, prognósticos e terapêuticas (MACKEY et al., 2008). Na medicina de primatas não humanos ainda existem muitas lacunas de conhecimento sobre animais endêmicos ou raros (NUNES e CATÃO-DIAS, 2006).

As alterações no sistema nervoso são achados comuns nas diferentes espécies de vertebrados e, nas avaliações desses pacientes, é crucial o conhecimento de neuroanatomia e neurofisiologia (BAGLEY E MAYHEW, 2002). Na rotina clínica em Medicina Veterinária, as disfunções do sistema nervoso apresentam grande incidência, mas existem poucos subsídios que auxiliam seu diagnóstico (ROSATO et al., 2006) e, em animais selvagens, o diagnóstico de alterações neurológicas é realizado principalmente por meio da inspeção (ANDRADE NETO, 2006).

A análise do líquido cerebrospinal é um exame que, muitas vezes, evidencia doenças no sistema nervoso central com razoável sensibilidade e baixa especificidade (BAILEY E VERNAU, 1997). A análise deste líquido é considerada em primeiro plano entre as provas laboratoriais para a determinação de enfermidades neurológicas (REIS et al., 1980; GAMA et al., 2005). Além disso, a Tomografia Computadorizada (TC) e a Ressonância Magnética (RM) são técnicas de diagnóstico por imagens não invasivas e utilizadas para o diagnóstico de doenças neurológicas em cérebro e medula espinhal (NELSON e COUTO, 2006) e vários estudos utilizando essa técnica de diagnóstico por imagem estão sendo realizados em animais selvagens, contribuindo para a nossa compreensão da normalidade do organismo de inúmeras espécies e mostrando os benefícios do uso desses exames em conjunto com outras ferramentas de diagnóstico (MACKEY et al., 2008).

A presente pesquisa foi realizada com o objetivo de desenvolver e adaptar técnicas diagnósticas em neurologia para primatas não humanos, da espécie *Alouatta guariba* (bugio-ruivo), pois ainda são escassos os dados na literatura científica sobre parâmetros normais de líquido cerebrospinal nesses animais e sobre a utilização de tomografias de crânio e encéfalo nos mesmos.

Nos trabalhos, foram utilizados oito primatas da espécie *Alouatta guariba*, pertencente à Família Cebidae e popularmente chamados de bugios. Dessa espécie, ainda se conhece pouco a respeito da demografia das populações e, como a destruição de habitats continua em ritmo acelerado, a sobrevivência da mesma está em risco (GÓMEZ-MARIN et al., 2001; STEINMETZ, 2001). Além disso, algumas espécies desse gênero de primata não humano estão classificadas como ameaçadas de extinção, segundo a Lista Oficial das Espécies da Fauna Brasileira, emitida pelo IBAMA, além dos Livros Vermelhos de Fauna Ameaçada nos estados de São Paulo e Paraná (MIKICH e BÉRNILS, 2004; BRESSAN et al., 2009). Esses fatores levam a pouca disponibilidade de indivíduos em cativeiro que possam ser submetidos a estudos, justificando o número reduzido de animais.

Os exames de sanidade realizados nos primatas utilizados nas pesquisas visaram à confiabilidade nos dados obtidos, a biossegurança para a equipe de trabalho e o bem estar dos animais (DINIZ, 1997; KINDLOVITS e KINDLOVITS, 2009b). Durante a pesquisa, nenhuma pessoa ou animal sofreu acidente relevante.

O método escolhido para contenção física (puçá) foi apropriado para o manejo dos animais, pois permitiu a abolição mecânica dos movimentos, mantendo-os contidos e permitindo a aplicação de fármaco anestésico para contenção química. Assim, o método adotado mostrou-se adequado (DINIZ, 1997; NUNES e CATÃO-DIAS, 2006; KINDLOVITS e KINDLOVITS, 2009b; FASANO, 2010). Da mesma forma, os protocolos de contenção química e de anestesia foram utilizados com sucesso, pois permitiram que todos os procedimentos delineados na metodologia fossem realizados, não tendo sido observada nenhuma intercorrência no período de pré, trans e pós anestesia. O uso de cloridrato de cetamina na dose de 8 mg/Kg, associada a cloridrato de xilazina na dose de 1 mg/Kg e midazolam (0,5 mg/kg), pela via intramuscular vem ao encontro do relatado por Vilani (2009) e Fasano (2010), que citam a associação de fármacos chamados de pré-anestésicos ao fármaco anestésico propriamente dito, sendo ambos aplicados simultaneamente no momento da indução. Mesmo com o risco de aumento da pressão intracraniana pelo uso da cetamina (VILANI, 2009), optou-se por este protocolo pela segurança e

facilidade de administração (OLBERG, 2007; VILANI, 2009; CHAGAS et al., 2010; FASANO, 2010).

A coleta do líquido cerebrospinal pela punção suboccipital demonstrou ser eficiente e segura. As coletas ocorreram sem intercorrências e o local escolhido foi apropriado, pois permitiu a inserção do cateter até a cisterna magna para coleta das amostras e medição da pressão líquórica corroborando os dados de literatura citados por Reis et al. (1980), Johanson et al. (2008) e Machado (2006).

A experiência do coletor também foi importante para a coleta da amostra, sendo observada alguma dificuldade nos primeiros procedimentos realizados. Este dado também está de acordo com o relatado por Reis et al. (1980).

O volume médio de líquido retirado foi de 1,1875 mL, com desvio padrão de 0,53 mL. Não foram encontrados valores comparativos na literatura. Os resultados de aspecto e coloração demonstraram que ocorreu um acidente na punção (animal um), ocorrendo contaminação da amostra com sangue apresentando coloração avermelhada e aspecto turvo (REIS et al., 1980; VERNAU et al., 2008). O valor da densidade aferida em todas as amostras foi 1,006, valor este compatível com a faixa de valores de densidade em animais domésticos, entre 1,003 a 1,012 conforme citam Feitosa et al. (2005) e Gama et al. (2005). As amostras coletadas foram processadas e analisadas logo após a coleta, não sendo armazenadas.

Os métodos empregados na análise das amostras do líquido cerebrospinal foram os mesmos descritos na literatura e estes já estão bem definidos e aplicados corriqueiramente na medicina de pacientes humanos e em animais domésticos (REIS et al., 1980; BAILEY E VERNAU, 1997; OLIVER et al., 1997; GAMA et al., 2005; VERNAU et al., 2008).

Os valores determinados de pH líquórico mostraram média de $8,4 \pm 0,7$ e estão muito acima dos citados por Gama (2005), para animais de laboratórios. O Teste de Pandy (reação de fenol a imunoglobulinas líquóricas) foi realizado em 3 amostras sendo todas negativas, não se observando alteração na coloração e aspecto das amostras.

Os valores de glicose (glicorraquia) encontrado nas amostras apresentaram média de 131,25 mg/dL com desvio padrão de 106,7 mg/dL. Quando se compara aos valores de glicorraquia descrito na literatura, observa-

se que nas amostras, esses valores estão elevados. Já é descrito que a relação dos valores de glicose no líquido cerebrospinal é proporcional aos encontrados no sangue, e esses valores podem aumentar em algumas situações específicas como traumas, lesões, diabetes melito, dentre outras causas (REIS et al., 1980). Na rotina de trabalho com primatas não humanos podemos ressaltar que o estresse pode elevar a glicemia (ALMOSNY, 2009), mas não foram encontradas referências que relacionassem estes achados. Como os animais utilizados no estudo vivem permanentemente em cativeiro e não apresentam sinais clínicos que possam sugerir uma doença hiperglicêmica, podemos sugerir que este valor encontrado pode estar relacionado com o estresse e manejo na contenção dos mesmos para coleta das amostras.

Na medição da proteína do líquido, os valores médios encontrados foi de 16,92 mg/dL com desvio padrão de $\pm 9,84$. Esta análise para a maioria dos autores consultados é uma das mais importantes no estudo do líquido (REIS et al., 1980; BAILEY e VERNAU, 1997; FEITOSA et al., 2005; GAMA et al., 2005) e os resultados deste trabalho encontraram-se dentro da faixa de normalidade para cães (BAILEY e VERNAU, 1997) e humanos (REIS et al., 1980) sugerindo normalidade também para estes indivíduos.

Quanto à celularidade, o número médio de hemácias encontradas nas análises foi de 49,374 hemácias/mL, com desvio padrão de 111,76. Observando individualmente os valores, verifica-se que cinco amostras não apresentaram estas células, e nas que continham hemácias possivelmente este dado foi resultante de lesão em vaso sanguíneo no momento da punção. Este tipo de ocorrência encontra-se descrito na literatura sendo que o líquido normal não apresenta hemácias (BAILEY E VERNAU, 1997; GAMA et al., 2005). A média de células nucleadas encontrada nas amostras foi de 0,5 célula/mL com desvio padrão de 0,7559 células/mL. Analisando-se os dados de forma individual, observamos que também em cinco animais (os mesmos das contagens de hemácias) não foram observadas células nucleadas. Os valores encontrados neste item estão próximos ao de outras espécies animais (REIS et al., 1980; BAILEY e VERNAU, 1997; GAMA et al., 2005).

Os registros de pressão líquórica inicial mostraram valor médio de 7,375 cm H₂O, com desvio padrão de 1,767. A pressão final foi 0,625 cm H₂O e

desvio padrão de 1,06. Os valores iniciais encontrados para medições realizadas na cisterna magna estão dentro dos valores referenciais para humanos, que variam entre cinco e 20 centímetros de água (REIS et al., 1980; MACHADO, 2006; JOHANSON et al., 2008). Não foram encontrados valores referenciais em primatas. Também não foram encontrados valores correspondentes à pressão final, uma vez que com a retirada da amostra, a pressão diminui e a reposição é muito mais lenta que a retirada. Ressalta-se neste resultado que mesmo com a pressão próxima a zero nenhuma alteração foi observada na frequência cardiorrespiratória do paciente. Este dado sugere que a retirada de fluido cerebrospinal até o fim do gotejamento espontâneo é uma manobra segura.

Foram realizados exames tomográficos em cinco animais, para as observações dos valores de atenuação da caixa craniana e do encéfalo. Os locais escolhidos foram os ossos frontal, parietal e temporal, e as regiões de córtex dos lobos frontal e parietal. Foram analisados dois cortes de cada região, e estas regiões foram escolhidas por apresentarem limites anatômicos ósseos seguros, uma vez que as imagens encefálicas não apresentaram qualidade adequada para análise. Esta baixa qualidade das imagens de encéfalo se deve pela formação de artefatos, possivelmente pela grande densidade observada nas medidas de atenuação dos ossos do crânio. Não foram encontrados dados relativos à aplicação da tomografia em encéfalo e crânio em *Alouatta*, mas os índices de atenuação encontrados nos ossos frontal e parietal dos animais estudados foram próximos ao máximo da escala Hounsfield (SANTOS et al., 2009). Os valores de atenuação encontrados foram de 847,7 UH (com desvio padrão de 92,6) para o osso frontal, 834,8 UH (com desvio padrão de 129,8) para o osso parietal e 872,1 UH (com desvio padrão de 92,8) para o osso temporal.

A tomografia computadorizada é mais útil para identificação e caracterização de anormalidades ósseas de corpos vertebrais, de lesões compressivas de cérebro, medula espinhal ou cauda equina, conforme citado por Nelson e Couto, 2006. Apesar dos avanços, a tomografia computadorizada ainda é limitada na capacidade de diferenciação entre substância branca e cinzenta, notadamente na região do cerebelo e núcleos da base (AMARO JÚNIOR E YAMASHITA, 2001). Estes mesmos autores afirmam que o exame

de ressonância magnética tem maior capacidade de descrever as estruturas do cérebro e regiões como hipocampo, núcleos da base e cerebelo (citando inclusive, que estes locais são de difícil visualização na tomografia computadorizada).

A região do córtex cerebral avaliada demonstrou valores de atenuação entre 24,5 UH (lobo frontal) e 29 UH (lobo parietal). Estes valores encontram-se próximo aos valores encontrados na literatura para substância cinzenta (entre 30 e 40 UH) e substância branca (35 a 45 UH), sendo expressos em escalas de cinza nas imagens formadas (SANTOS, et al., 2009).

A angiotomografia contrastada para confecção das imagens encefálicas em 3D não é realizada na rotina da medicina veterinária, ainda menos em avaliação de animais selvagens. Isto por si só dificulta a realização e a interpretação desse tipo de exame. O uso de contrastes ressalta a vascularização em tecidos, aumentando o detalhe estrutural desses vasos (NACIF et al., 2009; PINHO et al., 2009). Não foram encontrados relatos das doses de contrastes para a espécie estudada, sendo aplicado seis mililitros por quilograma de peso, o que demonstrou ser suficiente para ressaltar grandes vasos. Observou-se também segurança no uso dessa substância, que mesmo classificada como contraste iodado iônico, não causou reações imediatas ou tardias de sensibilidade ao produto. A possibilidade deste tipo de reação foi citado por Juchen e Dall’Agnol (2007). Outro dado obtido na prática da pesquisa foi o tempo de chegada do contraste no encéfalo, quando aplicado na veia braquial foi de aproximadamente 20 segundos. Assim, formada a imagem em 3D, aplicaram-se os recursos do programa com o intuito de destacar os vasos encefálicos que foram contrastados. Ao final deste procedimento, observaram-se os vasos encefálicos, que foram identificados e descritos conforme sua localização anatômica (início, fim, forma e/ou anastomoses) e calibre, utilizando como parâmetro a vascularização do cérebro de outros mamíferos. As dificuldades de observação da vascularização encefálica nos animais estudados, corroboram com as informações de Andrade et al., (2003), que citam a não visualização de vasos com o diâmetro menor que um milímetro e a dificuldade na discriminação entre artéria e veia quando demonstradas simultaneamente. Ainda, deve se ressaltar que o *Gold standard* para este tipo de estudo é a angiografia digital convencional, conforme descreve Merchak,

2008. Dessa forma, destaca-se que as imagens obtidas dos vasos encefálicos em 3D, com o uso de angiotomografia computadorizada tem importante aplicação na medicina de animais selvagens.

7. CONCLUSÕES

7. CONCLUSÕES

Considerando-se a metodologia utilizada e os resultados obtidos no presente estudo, pode-se concluir que:

- A coleta de fluido cerebrospinal e a medição da pressão liquórica na cisterna magna em *Alouatta guariba* é um método seguro e eficaz;
- Os valores obtidos nas análises do fluido cerebrospinal de *Alouatta guariba* em cativeiro se encontram dentro dos padrões de referência para outras espécies animais, com exceção da glicose;
- A tomografia computadorizada do encéfalo de *Alouatta guariba* apresenta boa visibilização do cérebro e limitada visibilização do cerebelo e do tronco encefálico, sendo indicado principalmente nas lesões cerebrais.
- A angiotomografia cerebral contrastadas com reconstrução de imagens em três dimensões é um exame seguro e viável para o diagnóstico de alterações vasculares, ainda que apresente limitações na interpretação das imagens.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

ALMOSNY, N.R.P. Patologia Clínica em Primatas. In: In: KINDLOVITS, A.; KINDLOVITS, L.M. **Clínica e Terapêutica em Primatas Neotropicais**. 2 ed. Rio de Janeiro: L.F. Livros, 2009. P.69-88

AMARO JÚNIOR, E.; YAMASHITA, H. Aspectos básicos de tomografia computadorizada e ressonância magnética. **Revista Brasileira de Psiquiatria**. v. 23 (Supl I), p. 2-3, 2001.

ANDRADE NETO, J.P. Neurologia. In: CUBAS, Z.S.; SILVA, J.C.R.; CATÃO-DIAS, J.L. **Tratado de Animais Selvagens – Medicina Veterinária**. São Paulo: Roca, 2006. p.1105-1127.

ANDRADE, G. C.; TEIXEIRA, P. A. D.; ALVES, H. F. P.; DONATO, E. E.; MOREIRA, C. A. A.; DE FARIA, R. C. S.; DIAS, L. A. A. Diagnóstico dos aneurismas cerebrais por angiotomografia tridimensional. **Arquivos de Neuropsiquiatria**. v. 61, n. 1, p. 74-78, 2003.

ANDRADE, G.C. The value of the three-dimensional angiotomography in diagnosis from the intracranial aneurysms, when compared at the standard method (digital subtraction angiography): Systematic review (abstract). **Arquivos de Neuropsiquiatria**. v. 63, n. 1, p. 188, 2005

ARAÚJO, I.S. Angiotomografia tridimensional como exame pré-operatório no tratamento dos aneurismas cerebrais. **Arquivos de Neuropsiquiatria**. v. 56, n.4, p. 798-802, 1998.

BABICSAK, V.R.; MAMPRIM, M.J.; VULCANO, L.C.; ZARDO, K.M.; SANTOS, D.R.; TRANQUILIM, M.V.; TEIXEIRA, C.R. Diagnóstico tomográfico de acidente vascular hemorrágico cerebral em *Myrmecophaga tridactyla*. In: Congresso das Especialidades, 2011, São Paulo. **Anais**. São Paulo: Centro de Convenções Expo Center Norte, 2011. p.17-18.

BAGLEY, R.S.; MAYHEW, I.G. Exame Clínico do Sistema Nervoso. In: RADOSTITS, O.M.; MAYHEW, I.G.J.; HOUSTON, D.M. **Exame Clínico e Diagnóstico em Veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p. 384-420.

BAILEY, C.S.; VERNAU, W. Cerebrospinal fluid. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. San Diego: Academic Press, 1997. p.785-827.

BICCA MARQUES, J.C.; SILVA, V.M.; GOMES, D.F. Ordem Primates. In: REIS, N.R.; PERACCHI, A.L.; PEDRO, W.A.; LIMA, I.P. **Mamíferos do Brasil**. Londrina: Eduel, 2006. p.102-148.

BRAGA, S.C.S.; FUTEMA, F.; TIBURCIO, I.; CAMPOS, M.A.R.; CAMARGO, J.P.; ESTRELLA, J.P.N.; CREDIE, L.F.G.A.; QUEIROZ, I.M.; FIGUEIREDO, A.V.; CASARA, N.B.; GIUFFRIDA, L.A. Balanced anesthesia in alouatta fusca submitted to humerus osteosynthesis. In: World Small Animal Veterinary Congress WSAVA, 34., 2009, São Paulo. **Proceedings of the 34th World Small Animal Veterinary Congress WSAVA 2009**. São Paulo: IVIS, 2009. Disponível em: <http://www.vin.com/proceedings/Proceedings.plx?CID=WSAVA2009&Category=8063&PID=53840&O=Generic>. Acesso em: 12 fev. 2011.

BRESSAN, P.M.; KIERULFF, M.C.; SUGIEDA, A.M. (coordenação). **Fauna Ameaçada de Extinção no Estado de São Paulo - Vertebrados**. São Paulo: Fundação Parque Zoológico de São Paulo: Secretaria do Meio Ambiente, 2009.

CARVALHO, A.C.P. História da Tomografia computadorizada. **Revista Imagem**. v. 29, n. 2, p. 61-66, 2007.

CARVALHO, A.C.P. História da Tomografia Computadorizada. In: SANTOS, E.S.; NACIF, M.S. **Manual de técnicas em tomografia computadorizada**. Rio de Janeiro: Editora Rubio, 2009. p. 7-23.

CHAGAS, J.A.B.; OLESKOVICZI, N.; MORAES, A.N.; FLÔRES, F.N.; CORRÊA, A.L.; SOUZA JÚNIOR, J.C.; SOARES, A.V.; COSTA, A. Associação de cetamina S(+) e midazolam pelo método convencional de cálculo e pela extrapolação alométrica em bugios-ruivo (*Alouatta guariba clamitans*): resposta clínica e cardiorrespiratória. **Ciência Rural**. v.40, n.1, p. 109-114, 2010.

CROSSMAN, A.; NEARY, D. **Neuroanatomia ilustrada**. 3. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007. 210p.

DIMAS, L.F.; PUCCIONI-SOHLER, M. Exame do líquido cefalorraquidiano: influência da temperatura, tempo e preparo da amostra na estabilidade analítica. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**. v. 44, n. 2, p. 97-106, 2008.

DINIZ, L.S.M. **Primatas em cativeiro: manejo e problemas veterinários: enfoque para espécies neotropicais**. São Paulo: Ícone, 1997. 196p.

FASANO, D.M. Anestesia e controle da dor. In: ANDRADE, A.; ANDRADE, M.C.R.; MARINHO, A.M.; FERREIRA FILHO, J. **Biologia, Manejo e Medicina de Primatas Não Humanos na Pesquisa Biomédica**. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2010. p. 365-383.

FEITOSA, M.M.; IKEDA, F.A.; BONELLO, F.L.; CIARLINI, P.C.; GONÇALVES, M.E.; LIMA, V.M.F.; PERRI, S.H.V. Avaliação líquórica de cães, com e sem sintomatologia neurológica, naturalmente acometidos por leishmaniose visceral. **Veterinária Notícias**. v. 11, n. 2, p. 61-69, 2005.

GAMA, F.G.; NISHIMORI, C.T.; SOBREIRA, M.R.; SANTANA, A.E. Caracteres físico-químicos e citológicos do liquor de cães em diferentes fases da cinomose. **Ciência Rural**. v.35, n.3, p. 596-601, 2005.

GODFREY, L.R. General Anatomy. In: WOLFE-COOTE, S. **The Handbook of Experimental Animals: The Laboratory Primates**. San Diego: Elsevier Academic Press, 2005. p. 29-43.

GÓMEZ-MARIN, F.; VEÁ, J.J.; RODRÍGUEZ-LUNA, E.; GARCÍA-ORDUÑA, F.; CANALES-ESPINOSA, D.; ESCOBAR, M.; ASENSIO, N. Food resources and the survival of a group of howler monkeys (*Alouatta palliata mexicana*) in disturbed and restricted habitat at Los Tuxtlas, Veracruz, Mexico. **Neotropical Primates**. v.9, n. 2, p. 60-67, 2001.

GREGORIN, R. Taxonomia e variação geográfica das espécies do gênero *Alouatta* Lacépède (Primates, Atelidae) no Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**. v. 23, n. 1, p. 64-144, 2006.

JOHANSON, C.E.; DUNCAN III, J.A.; KLINGE, P.M.; BRINKER, T.; STOPA, E.G.; SILVERBERG, G.D. Review: Multiplicity of cerebrospinal fluid functions: New challenges in health and disease. **Cerebrospinal Fluid Research**. v. 5, n. 10, maio. 2008. Disponível em: <http://www.fluidsbarrierscns.com/content/5/1/10> Acesso em: 20 de maio de 2012.

JUCHEM, B.C.; DALL'AGNOL, C.M. Reações adversas imediatas ao contraste iodado intravenoso em Tomografia computadorizada. **Revista Latino-americana de Enfermagem**. Ribeirão Preto. v. 15, n. 1, 2007. Disponível em: <http://www.sumarios.org/resumo/rea%C3%A7%C3%B5es-adversas-imediatas-ao-contraste-iodado-intravenoso-em-tomografia-computadorizada>. Acesso em: 15 de fevereiro de 2012.

KINDLOVITS, A.; KINDLOVITS, L.M. Primatas em cativeiro: classificação, descrição, biologia, comportamento e distribuição geográfica. In: KINDLOVITS, A.; KINDLOVITS, L.M. **Clínica e Terapêutica em Primatas Neotropicais**. 2 ed. Rio de Janeiro: L.F. Livros, 2009a. p.27-51.

KINDLOVITS, A.; KINDLOVITS, L.M. Reconhecimento Físico. In: KINDLOVITS, A.; KINDLOVITS, L.M. **Clínica e Terapêutica em Primatas Neotropicais**. 2 ed. Rio de Janeiro: L.F. Livros, 2009b. p.54-67

LAY, C. M. Low Cerebrospinal Fluid Pressure Headache. **Current Treatment Options in Neurology**. v. 4, p. 357-363, 2002.

LEHMKUHL, R.C.; BORTOLINI, Z.; LINARDI, J.L., TRANQUILIM, M.V.; FRAGA, M.B.; DIAS NETO, R.; TEIXEIRA, C.R.; VULCANO, L.C. Avaliação do parênquima pulmonar de *Geochelone carbonária* (Spix, 1824), através de tomografia computadorizada. In: Congresso da associação brasileira de veterinários de animais selvagens, 12., 2009, Águas de Lindóia. **Anais**. Águas de Lindóia: Hotel Majestic, 2009, p. 34-37.

LOPES, C.A.A.; FASANO, D.M.; BRAVIN, J.S.; CYSNE, L.B.; ANDRADE, M.C.R.; TANNOUZ, V.G.S. Clínica Aplicada. In: ANDRADE, A.; ANDRADE, M.C.R.; MARINHO, A.M.; FERREIRA FILHO, J. **Biologia, Manejo e Medicina de Primatas Não Humanos na Pesquisa Biomédica**. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2010. p. 315-350.

MACHADO, A. **Neuroanatomia Funcional**. São Paulo: Atheneu, 2006. 363 p.

MACKEY, E.B.; HERNANDEZ-DIVERS, S.J.; HOLLAND, M.; FRANK, P. Clinical Technique: Application of Computed Tomography in Zoological Medicine. **Journal of Exotic Pet Medicine**. v. 17, n. 3, p. 198–209, 2008.

MARTIN, J.H. **Neuroanatomia: texto e atlas**. 2.ed. Porto Alegre: Artes médicas, 1998. 574p.

MELO, A.S.; NACIF, M.S.; SANTOS, E.S.; CARVALHO, F.G. Protocolos. In: SANTOS, E.S.; NACIF, M.S. **Manual de técnicas em tomografia computadorizada**. Rio de Janeiro: Editora Rubio, 2009. p.169-206.

MENDES, S.L.; COUTINHO, B.R.; MOREIRA, D.O. Efetividade das unidades de conservação da Mata Atlântica para a proteção dos primatas ameaçados de extinção. In: Congresso de Ecologia do Brasil, 6., 2003, Fortaleza. **Anais de Trabalhos Completos**. Fortaleza: Editora da UFCE, 2003. p. 286–287.

MENESES, M.S.; BACCHI, A.P. Líquor. In: MENESES, M.S. **Neuroanatomia aplicada**. 2. ed. Rio de Janeiro: Ganabara Koogan, 2006. p.81-89.

MENESES, M.S.; JACKOWSKI, A.P. Vascularização do sistema nervoso central. In: MENESES, M.S. **Neuroanatomia aplicada**. 2. ed. Rio de Janeiro: Ganabara Koogan, 2006. p.320-345.

MERCHAK, A. Angiotomografia computada em pediatria: experiencia en un hospital pediátrico. **Revista Chilena de Radiología**. v.14, n. 2, p.73-79, 2008.

MIKICH, S.B.; BÉRNILS, R.S. **Livro Vermelho da Fauna Ameaçada no Estado do Paraná**. Curitiba: Instituto Ambiental do Paraná, 2004.

NACIF, M.S.; MELO, A.S.A.; SANTOS, E.S.; CARVALHO, F.G. Funções e ferramentas em aparelho de tomografia computadorizada (TC) ou estação de trabalho. In: SANTOS, E.S.; NACIF, M.S. **Manual de técnicas em tomografia computadorizada**. Rio de Janeiro: Editora Rubio, 2009. p. 131-148.

NELSON, R.W.; COUTO, C.G. **Medicina interna de pequenos animais**. 3. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006. p. 927-938.

NUNES, A.L.V.; CATÃO-DIAS, J.L. Primates - Primatas no Velho Mundo (Babuíno, mandril, chimpanzé, orangotango). In: CUBAS, Z.S.; SILVA, J.C.R.; CATÃO-DIAS, J.L. **Tratado de Animais Selvagens**. São Paulo: Roca, 2006. p. 378-401.

OLBERG, R. Monkeys and Gibbons. In: WEST, G.; HEARD, D.; CAULKETT, N. **Zoo animal and wildlife immobilization and anesthesia**. Ames: Blackwell Publishing Professional, 2007. p. 375-386.

OLIVER, J.E.; LORENZ, M.D.; KORNEGAY, J.N. **Handbook of Veterinary Neurology**. 3.ed. Philadelphia: Saunders, 1997. p. 89-108.

PINHO, K.E.P.; GEWEHR, P.M.; SILVA, C.W.P.; BARISON, A.; TILLY JÚNIOR, J.G.; SOBOLL, D.S. Avaliação de meios de contraste submetidos à radiação ionizante. **Radiologia Brasileira**. v. 42, n. 5, p. 309–313, 2009.

PISSINATI, A.; ANDRADE, M.C.R. Histórico. In: ANDRADE, A.; ANDRADE, M.C.R.; MARINHO, A.M.; FERREIRA FILHO, J. **Biologia, Manejo e Medicina de Primatas Não Humanos na Pesquisa Biomédica**. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2010. p. 21-40.

POLLAY, M. Review: The function and structure of the cerebrospinal fluid outflow system. **Cerebrospinal Fluid Research**. v.7, n.9, 2010. Disponível em <http://www.cerebrospinalfluidresearch.com/content/7/1/9>. Acesso em: 20 de maio de 2012.

RAND, J.S.; PARENT, J.; PERCY, D.; JACOBS, R. Clinical, cerebrospinal fluid, and histological data from twenty-seven cats with primary inflammatory disease of the central nervous system. **Canadian Veterinary Journal**. v. 35, p. 103-110, 1994.

REIS, J.B., BEI, A.; REIS FILHO, J.B. **Líquido Cefalorraquidiano**. São Paulo: Sarvier, 1980. 250 p.

REIS, N.R.; PERACCHI, A.L.; PEDRO, W.A.; LIMA, I.P. **Mamíferos do Brasil**. Londrina: Eduel, 2006. 437p.

ROMANELLI, R.M.C.; THOME, E.E.; DUARTE, F.M.C.; RODRIGO S. GOMES, R.S.; CAMARGOS, P.A.M.; FREIRE, H.B.M. Diagnóstico das meningites através de fitas reagentes. **Jornal de Pediatria**. v. 77, n. 3, p. 203-208, 2001.

ROSATO, P.N.; GAMA, F.G.V.; SANTANA, A.E. Physical-chemical analysis of the cerebrospinal fluid of healthy dogs submitted to different storage periods and temperaturis. **Ciência Rural**, v. 36, n. 6, p. 1806-1810, 2006.

RYLANDS, A.B.; VALLADARES-PÁDUA, C.; ROCHA E SILVA, R.; BOERE, V.; CATÃO-DIAS, J.L.; PISSINATTI, A.; VAZ GUIMARÃES, M.A.B. Ordem Primates (Primates). In: FOWLER, M.E.; CUBAS, Z.S. **Biology, Medicine, and Surgery of South American Wild Animals**. Ames: Iowa State University Press, 2001. p. 256-278.

SANTOS, E.S.; NACIF, M.S.; CARVALHO, F.G. Bases práticas. In: SANTOS, E.S.; NACIF, M.S. **Manual de técnicas em tomografia computadorizada**. Rio de Janeiro: Editora Rubio, 2009. p. 57-66.

STEINMETZ, S. Densidade e conservação do bugio (*Alouatta fusca*) no Parque Estadual Intervales. **Neotropical Primates**, v. 9, n. 2, p. 69-73, 2001.

TIDWELL, A.S. Principles of computed tomography and magnetic resonance imaging. In: THRALL, D.E. **Textbook of veterinary diagnostic radiology**. 5. ed. St. Louis: Saunders Elsevier, 2007. p. 50-56.

VERNAU, W.; VERNAU, K.A.; BAILEY, C.S. Cerebrospinal Fluid. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6. ed. San Diego: Elsevier, 2008. p. 768-819.

VILANI, R.G.D.C. Contenção química e anestesia em primatas não-humanos. In: KINDLOVITS, A.; KINDLOVITS, L.M. **Clínica e Terapêutica em Primatas Neotropicais**. 2 ed. Rio de Janeiro: L.F. Livros, 2009. p. 297-310.

VILLAVICENCIO, J.R. Angiotomografia-3D y la microcirugía de los aneurismas: Avance preliminar. **Anales de la Facultad de Medicina da Universidad Nacional Mayor de San Marcos**. v. 64, n. 2, p. 145-149, 2003.