

## Quimionucleólise cervical associada à espondilectomia ventral em cães: aspectos clínico-cirúrgicos, radiográficos e histológicos

[*Cervical chemonucleolysis associated to ventral slot in dogs: clinical-surgical, radiological, and histological aspects*]

A.P.F. Daibert<sup>1</sup>, R.J. Del Carlo<sup>2</sup>, B.S. Monteiro<sup>1</sup>, M.I.V. Vilorio<sup>2</sup>, A.C. Tsiomis<sup>1</sup>, L.C.P. Pinheiro<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Aluno de pós-graduação - UFV – Viçosa, MG

<sup>2</sup>Universidade Federal de Viçosa – Viçosa, MG

<sup>3</sup>Aluna de graduação - UFV – Viçosa, MG

### RESUMO

Foram avaliados aspectos clínico-cirúrgicos, radiográficos e histológicos de discos intervertebrais cervicais caninos após quimionucleólise com quimiopapaína associada à espondilectomia ventral em 24 cães. Em todos foi realizada a espondilectomia ventral na região do disco intervertebral C2-C3 e quimionucleólises nos demais discos cervicais. Os cães foram sacrificados às 24 horas, e aos 8, 30, 60, 90 e 120 dias após aplicação da enzima para a obtenção de cortes sagitais dos discos intervertebrais tratados e das estruturas cartilaginosas e ósseas adjacentes. Nos mesmos períodos, foram realizadas radiografias para monitoração da espessura dos espaços intervertebrais. Todos toleraram bem o procedimento cirúrgico e não apresentaram alterações clínicas significativas. Na avaliação radiográfica, observou-se marcada redução dos espaços intervertebrais 24 horas após o tratamento. Do oitavo ao 90º dia após aplicação da enzima, foi verificada ausência total de espaço intervertebral na região dos discos tratados. Aos 120 dias, as espessuras dos espaços intervertebrais corresponderam, em média, a 59,1% da espessura anterior ao procedimento. Na avaliação histológica, foram observadas digestão nuclear e redução da intensidade de coloração pela safranina-O 24 horas após a quimionucleólise. A partir do 60º dia, havia material amorfo no espaço nuclear, que, aos 120 dias, tinha aparência fibrocartilaginosa. A quimionucleólise associada à espondilectomia ventral determinou a lise dos discos intervertebrais e lesões nas estruturas cartilaginosas e ósseas adjacentes, com tendência à reparação por tecido fibrocartilaginoso ao longo do tempo.

Palavras-chave: cão, quimionucleólise, quimiopapaína, coluna cervical

### ABSTRACT

*The clinical-surgical, radiological, and histological aspects of chemonucleolysis with chymopapain in canine cervical intervertebral disks associated to ventral slot in 24 dogs were evaluated. The ventral slot was accomplished in the area of the intervertebral disks C2-C3 and chemonucleolysis in the other cervical disks. The dogs were clinically and radiographically monitored for up to 120 days. Each group of four animals was submitted to euthanasia with an anesthetic overdose at 24 hours, and at 8, 30, 60, 90, and 120 days after the enzyme injection for the acquisition of sagittal sections of the treated disks, as well as adjacent cartilaginous endplates and bony structures. In this study, all dogs tolerated the surgical procedure, without detectable postoperative pain or neurological deficit. In the radiographic evaluation, it was observed consistent disk space narrowing 24 hours after the procedure and total absence of space from the 8<sup>th</sup> to the 90<sup>th</sup> day of postoperative in the area of all treated disks. However, 120 days after treatment, there was an increase in disk height, corresponding on average to 59.1% of the preinjection value. In the histological evaluation, it was observed nuclear digestion and decrease of safranin-O*

---

Recebido em 21 de junho de 2007

Aceito em 28 de dezembro de 2007

Endereço para correspondência (*corresponding address*)

Rua Padre Frederico, 415 - Bairro Santa Catarina – 36036-150 – Juiz de Fora, MG

E-mail apdaibert@hotmail.com

*staining intensity 24 hours after disk injection. At eight days, the nuclear content was still vacuolated, but more fibrillar. An irregularly defined mass was observed in the nuclear space on days 60<sup>th</sup> and 90<sup>th</sup>, but it seemed fibrocartilaginous tissue on day 120<sup>th</sup>. Chemonucleolysis with chymopapain associated to the ventral slot in the cervical column of dogs determined lysis of intervertebral disks, cervical instability, and lesions of cartilaginous and bone adjacent structures that tend to repair with fibrocartilaginous tissue along the time.*

*Keywords: dog, chemonucleolysis, chymopapain, cervical column*

## INTRODUÇÃO

A quimionucleólise é uma técnica alternativa à cirurgia convencional para o tratamento de discopatias e determina a dissolução do núcleo pulposo de um disco intervertebral (Bradford et al., 1983). A quimiopapaína, principal enzima quimionucleolítica, cliva os proteoglicanos da matriz, que são responsáveis pela manutenção da pressão osmótica no interior do disco, resultando em perda do conteúdo de água e, conseqüentemente, em retração do núcleo pulposo com subsequente descompressão da medula e dos nervos espinhais (Kitchel e Brown, 1992).

Atualmente, preconiza-se a associação de procedimentos profiláticos e terapêuticos para o tratamento de discopatias cervicais em cães, sendo geralmente empregada a espondilectomia ventral terapêutica na região do disco intervertebral herniado associada à fenestração profilática dos discos intervertebrais adjacentes (Coates, 2000).

A espondilectomia ventral é considerada a técnica ideal por permitir a remoção de material discal do interior do canal vertebral, mas requer a identificação acurada do disco envolvido (Wheeler e Sharp, 1999; Coates, 2000). Além disso, está associada ao risco de instabilidade e ao colapso vertebral (Fitch et al., 2000; Chen et al., 2001). Segundo Coates (2000), a mínima dissecação muscular e a possibilidade de execução da fenestração profilática dos discos intervertebrais adjacentes são vantagens da técnica.

A fenestração é um procedimento cirúrgico controverso. Apesar de alguns autores reconhecerem sua utilidade no tratamento e na profilaxia de discopatias (Harari e Marks, 1992; Nakama et al., 1993), outros relatam piora do quadro neurológico após seu uso (Tomlinson, 1985; Macy et al., 1999). É unânime que a

fenestração não é capaz de remover o material discal presente no canal vertebral, contudo, permite a remoção do conteúdo do núcleo pulposo degenerado, impedindo sua futura herniação (Harari e Marks, 1992; Nakama et al., 1993). Segundo Bartels et al. (1983), existe risco de material proveniente do disco intervertebral ser forçado para o interior do canal medular durante a fenestração e causar compressão medular.

Tem sido demonstrado que a quimiopapaína degrada os proteoglicanos, mas possui pequeno ou nenhum efeito sobre o colágeno discal (Nitobe et al., 1988). Segundo Smith (1993), caso a enzima escape para o espaço epidural após sua administração no disco intervertebral, ela não penetra a dura-máter, que é colagenosa, e também não afeta as raízes nervosas cobertas por prolongamentos dessa meninge. De acordo com Pinkowski e Leeson (1990), a quimiopapaína é inativada por alfa-macroglobulinas, o que previne sua atividade proteolítica fora do disco intervertebral.

As principais contra-indicações da quimionucleólise são a existência de fragmento discal seqüestrado, pois a enzima não consegue atingi-lo por impedimento físico, os casos de o material herniado ser oriundo do anel fibroso, pois a enzima não degrada proteínas colágenas, e os casos de pacientes com estenose espinhal (Nordby et al., 1996).

O grau de destruição dos proteoglicanos do núcleo pulposo e a magnitude da redução da espessura do espaço intervertebral na avaliação radiográfica é dose dependente (Lü et al., 1997). De acordo com Nitobe et al. (1988), o efeito da quimiopapaína no núcleo pulposo é reversível, e o disco reconstituído restabelece sua função de absorção de choques, o que não ocorre após a cirurgia convencional. As características da biossíntese de proteoglicanos do núcleo pulposo

sugerem que o processo de regeneração é similar ao da cartilagem.

A quimiopapaína é ativa apenas durante as primeiras horas após administração no disco intervertebral (Fry e Jonhson, 1991). Na análise radiográfica, 24 horas após a quimionucleólise, verifica-se redução da espessura do espaço intervertebral, a qual atinge o máximo oito dias após a injeção. Posteriormente, a espessura gradualmente aumenta de acordo com a dose da enzima utilizada (Bradford et al., 1983; Atiola et al., 1988; Nitobe et al., 1988; Sugimura et al., 1996).

De acordo com Kudo et al. (1993), a dose terapêutica ideal da quimiopapaína para a redução da pressão intradiscal em cães é de 10,0mg (50U). Segundo Bradford et al. (1983), a dose de 5,3U é mais adequada por permitir o restabelecimento de 50 a 66% da espessura do espaço intervertebral, três meses após o tratamento.

O achado histológico mais evidente após a quimionucleólise é a perda de proteoglicanos, evidenciada pela redução da intensidade da coloração pela safranina-O no núcleo pulposo e no anel fibroso. Anormalidades dos tecidos adjacentes (ossos e placas terminais cartilaginosas) não foram evidenciadas no exame histológico de cães submetidos à quimionucleólise (Bradford et al., 1983). Contudo, Fry e Johnson (1991) relataram colapso do núcleo pulposo e numerosos defeitos na placa terminal cartilaginosa um mês após a realização da quimionucleólise em cães. Contudo, dois anos após o procedimento, os discos intervertebrais tratados apresentavam-se normais.

De acordo com Kudo et al. (1993), a quimiopapaína acarreta, inicialmente, perda de proteoglicanos associada à condensação dos componentes nucleares, denominada efeito halo. Segundo esses autores, após três meses, o centro do núcleo pulposo é preenchido por tecido fibrocartilaginoso associado à matriz homogênea contendo proteoglicanos. Quando foram utilizadas doses mais altas de quimiopapaína (50U), o núcleo pulposo foi totalmente substituído por tecido fibrocartilaginoso denso.

Bradford et al. (1983) observaram, após seis meses da quimionucleólise, retorno da intensa

coloração de safranina-o no anel fibroso, placas terminais cartilaginosas e núcleo pulposo neoformado, que se apresentou discretamente mais fibrilar que o normal e com celularidade esparsa, sugerindo regeneração. Os autores consideraram a quimionucleólise uma alternativa à excisão cirúrgica de um disco intervertebral, a qual resultou em diminuição brutal da síntese de proteoglicanos, fibrose e estreitamento irreversível do espaço intervertebral.

Este trabalho teve por objetivo avaliar os aspectos clínico-cirúrgicos, radiográficos e histológicos da quimionucleólise com quimiopapaína em discos intervertebrais cervicais caninos associada à espondilectomia ventral, caracterizando a associação de um procedimento profilático (quimionucleólise) com um terapêutico (espondilectomia ventral).

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 24 cães adultos, clinicamente saudáveis, sem raça definida, machos e fêmeas, com pesos entre 10 e 20kg.

Todos os animais foram submetidos a exame radiográfico da coluna cervical, que constou de radiografias simples nas projeções lateral e ventrodorsal e de mielografia, com a finalidade de descartar presença de compressão medular prévia. Para a realização da mielografia, foi utilizado como agente contrastante iohexol<sup>1</sup> na dose de 0,3ml/kg.

Os animais foram submetidos a jejum por 12 horas, anestesiados de forma rotineira e posicionados em decúbito dorsal sobre calha, com a região cervical média apoiada em almofada, o que permitiu o alinhamento das vértebras cervicais. Os membros torácicos foram tracionados caudalmente e fixados. Após preparo do campo cirúrgico, foi realizado o acesso aos discos intervertebrais cervicais, conforme estabelecido por Piermattei (1993). O processo ventral da vértebra C2 foi removido com uma pinça goiva, e uma falha óssea com, no máximo, 50% da largura e 33% do comprimento das vértebras C2 e C3 foi realizada com uma perfuratriz elétrica. A profundidade foi a espessura completa do corpo vertebral até

<sup>1</sup>Omnipaque 300 mg I/ml, Nycomed Ireland Ltd. – Dublin, Ireland.

possibilitar a visualização da medula espinhal no canal vertebral. Posteriormente, foram realizadas quimionucleólises nos demais discos intervertebrais cervicais (C3-C4 a C6-C7). Para tal, o músculo longo do pescoço foi afastado lateralmente na região dos discos intervertebrais, determinando mínima lesão ao restante da musculatura. As bordas ventrais dos discos intervertebrais foram visualizadas para permitir a inserção adequada das agulhas. Foram administrados em cada disco intervertebral exposto, 4,8mg (5,3U) de quimiopapaína<sup>2</sup> (1.1U/mg) reconstituída em 0,1ml de solução tampão, pH 6,5, contendo 0,10 molar de fosfato de sódio, 0,05 molar de EDTA e 0,01 molar de cisteína. Após a administração da enzima, a seringa foi mantida na posição de injeção por um minuto, e o conteúdo de refluxo foi reinjetado. Ao final dos procedimentos, os músculos longo do pescoço e esterno-hióideo foram aproximados com fio absorvível em pontos simples contínuos. O tecido subcutâneo e a pele foram suturados com fio inabsorvível, em pontos tipo Wolff.

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em seis grupos de quatro animais, sendo que cada grupo correspondeu a um período de avaliação pós-operatória. Dessa forma, os animais foram avaliados às 24 horas (G1), e aos 8 (G2), 30 (G3), 60 (G4), 90 (G5) e 120 dias (G6) após a cirurgia.

No período pós-operatório, guardadas as peculiaridades de cada grupo com relação ao tempo de observação, os cães foram mantidos em canis individuais por 10 dias e, ao final desse período, transferidos para canis coletivos (quatro cães/canil). Todos os animais foram medicados com enrofloxacina<sup>3</sup> (10mg/kg por via subcutânea) a cada 24 horas, durante cinco dias, e com cetoprofeno<sup>4</sup> (1,1mg/kg por via subcutânea) a cada 24 horas, durante três dias. Além disso, permaneceram com colar cervical confeccionado de espuma até a retirada dos pontos, que ocorreu no 10º dia de pós-operatório.

O exame clínico dos cães, realizado diariamente até o fim do período de observação de cada grupo, constou de avaliações do estado geral, da deambulação, da postura e da presença de dor à

palpação cervical e à flexão, extensão e lateralização do pescoço.

Os animais foram submetidos a exames radiográficos simples, nas projeções lateral e ventrodorsal, às 24 horas (G1, G2, G3, G4, G5 e G6), e aos oito (G2, G3, G4, G5 e G6), 30 (G3, G4, G5 e G6), 60 (G4, G5 e G6), 90 (G5 e G6) e 120 dias (G6) após o procedimento cirúrgico, com a finalidade de monitorar as variações da espessura dos espaços intervertebrais correspondentes aos discos submetidos à quimionucleólise bem como para a verificação de alterações nas estruturas adjacentes aos discos intervertebrais tratados.

Para fins de comparação e para evitar interferências do tamanho do animal na espessura do espaço intervertebral, foi estabelecido um índice de espessura do espaço intervertebral (EIV) por meio de medidas obtidas nas avaliações radiográficas de cada animal, calculadas e expressas da seguinte maneira:

Espessura do espaço intervertebral

$$(EIV) = \frac{BC + EF}{AB + DE} \text{ em que:}$$

BC e EF são as espessuras ventral e dorsal, respectivamente, do espaço intervertebral, e AB e DE os comprimentos ventral e dorsal, respectivamente, do corpo vertebral imediatamente cranial ao espaço intervertebral sob exame (Fig. 1); e

$$EIV = \frac{EIV \text{ após aquimionucleólise}}{EIV \text{ antes da quimionucleólise}} \times 100$$

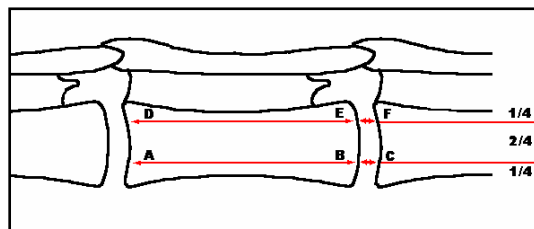


Figura 1. Modelo empregado na mensuração da espessura dos espaços intervertebrais nas radiografias dos animais submetidos à quimionucleólise. BC e EF são as espessuras ventral e dorsal do disco intervertebral, e AB e DE são os comprimentos ventral e dorsal do corpo vertebral imediatamente cranial ao disco examinado (adaptado de Lü et al., 1997).

<sup>2</sup>Chymopapain 250U, Sigma – St. Louis – EUA.

<sup>3</sup>Duotril 10%, Duprat – São Paulo, Brasil

<sup>4</sup>Profenid injetável – Aventis – São Paulo, Brasil.

Nas datas preestabelecidas, referentes ao período de observação pós-operatório de cada grupo, os cães foram sacrificados por sobredose anestésica. A coluna cervical (C1 a C7) foi removida após a desarticulação das articulações atlanto-occipital e C7-T1. Após a remoção de toda a musculatura cervical, foram obtidas cinco seções transversais da coluna cervical de cada animal, envolvendo discos intervertebrais tratados, placas terminais cartilaginosa e porções cranial e caudal dos corpos vertebrais adjacentes.

As amostras foram fixadas e processadas de maneira rotineira, e os cortes sagitais realizados em micrótomo e montados em lâmina de vidro. Os fragmentos, corados com hematoxilina e eosina (HE), para a análise da morfologia, e safranina-O (SO), para a avaliação do conteúdo de proteoglicanos disciais, foram analisados ao microscópio óptico.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram realizadas quimionucleólises em 96 discos intervertebrais cervicais (C3-C4 a C6-C7) e em todos os animais, na região do disco intervertebral C2-C3, foi feita a espondilectomia ventral (Fig. 2A e 2J). Este protocolo experimental foi adotado porque as lesões de disco cervical, em cães, ocorrem mais comumente em C2-C3 e a incidência decresce progressivamente de C3-C4 a C7-T1 (Wheeler e Sharp, 1999). Portanto, foi realizado o procedimento terapêutico mais freqüentemente preconizado (espondilectomia ventral) no disco intervertebral de maior incidência da doença associado à técnica profilática em estudo nos demais discos do segmento cervical.

Devido ao fato de a quimionucleólise ter sido realizada em discos intervertebrais radiograficamente normais, foi encontrada resistência à injeção da quimiopapaína, como também já relatado por Atiola et al. (1988). Após a administração da enzima, houve refluxo, para o interior da seringa, de um material branco e gelatinoso, que foi reinjetado, assegurando a administração da dose completa. Segundo Bradford et al. (1983), o conteúdo do refluxo é o núcleo pulposo, indicando que o disco tratado encontrava-se sob pressão normal (sem fissuras ou rupturas).

Neste estudo, a realização da espondilectomia ventral bem como das quimionucleólises nos discos intervertebrais cervicais determinaram complicações pós-operatórias insignificantes. Todos os cães toleraram bem o procedimento cirúrgico e não apresentaram déficit neurológico ou dor aparente na região cervical no pós-operatório. Foi possível flexionar e lateralizar o pescoço de todos os animais logo no primeiro dia de pós-cirúrgico sem a manifestação de dor, contudo dois animais não permitiram a extensão do pescoço nas primeiras 48 horas após o procedimento. Não foram observadas alterações na postura e deambulação nos primeiros 30 dias de pós-operatório. A partir daí, todos os animais apresentaram tendência a manter o pescoço discretamente flexionado, sem manifestação de dor durante a palpação e manipulação cervical. Observou-se também aumento progressivo da rigidez da região cervical, evidenciada pela menor amplitude de extensão, flexão e lateralização do pescoço.

Ao contrário do relatado por Atiola et al. (1988), todos os animais foram capazes de ingerir ração peletizada seca logo após o retorno anestésico. Também não apresentaram nenhuma alteração da ingestão hídrica, micção e defecação durante o período experimental.

Na análise radiográfica, observou-se uniformidade dos resultados após o tratamento. A EIV pré-operatória média, 0,069cm, 24 horas após a quimionucleólise, diminuiu para 0,0295cm, ou seja, a média dos IEIVs obtida após 24 horas foi 42,8%, indicando redução de 57,2% da espessura dos espaços intervertebrais (Tab. 1, Fig. 2C). Este resultado confirma o já relatado por Atiola et al. (1988), que observaram grande redução da espessura dos espaços intervertebrais logo nas primeiras 24 horas após a quimionucleólise.

Aos oito dias de pós-operatório, os espaços intervertebrais estavam ausentes em todas as avaliações radiográficas (Fig. 2D). Portanto, a EIV e o IEIV calculados foram iguais a zero, indicando 100% de redução da espessura dos espaços intervertebrais. Não há relatos de redução total da espessura de espaço intervertebral após quimionucleólise com quimiopapaína na literatura. Bradford et al. (1983), Atiola et al. (1988), Nitobe et al. (1988), Sugimura et al. (1996) mencionaram apenas

redução marcada da espessura entre uma e duas semanas após o procedimento. Segundo Nitobe et al. (1988), houve redução de 46,8% da espessura do espaço intervertebral após uma semana da realização da quimionucleólise. Isso sugere que a realização concomitante da espondilectomia ventral foi um fator de instabilidade importante que pode ter determinado maior degeneração discal.

Aos 30, 60 e 90 dias, a análise das radiografias indicou a manutenção da ausência de espaço intervertebral nas regiões dos discos tratados, de forma idêntica ao observado aos oito dias (Fig. 2E, 2F e 2G). Contudo, 120 dias após a quimionucleólise, observou-se discreto aumento da espessura dos espaços intervertebrais (Fig. 2H). Nas radiografias referentes a esse período de observação, a média dos EIV foi de 0,0408cm e dos IEIVs, 59,1%. Isso significa que, quatro meses após a realização da quimionucleólise, a espessura dos espaços intervertebrais correspondiam, em média, a 59,1% da espessura

anterior ao procedimento. Estes achados assemelham-se aos de Bradford et al. (1983), que concluíram ser o efeito da quimiopapaína parcialmente reversível e que a reconstituição do núcleo pulposo pode ocorrer com o tempo. A reconstituição dos núcleos pulposos, neste estudo, ocorreu de forma retardada em relação ao já descrito. Nitobe et al. (1988) relataram que a espessura dos espaços intervertebrais, 60 dias após a quimionucleólise, correspondia a 76,6% do pré-tratamento. De forma semelhante, Kudo et al. (1993) relataram recuperação de 61,1% da espessura dos espaços intervertebrais, três meses após a realização da quimionucleólise, ao utilizarem quimiopapaína na dose de 5,0U. O menor espaço intervertebral em relação ao tempo de observação, quando comparadas as análises desse experimento com os resultados dos autores citados, sugere que a instabilidade extra resultante da realização da espondilectomia ventral tenha causado maior degeneração discal e retardado o processo de reparação dos discos intervertebrais tratados.

Tabela 1. Média da espessura (cm) dos espaços intervertebrais (EIV) e do índice de espessura (%) dos espaços intervertebrais (IEIV) de cães submetidos à quimionucleólise com quimiopapaína, de acordo com o tempo decorrido do procedimento cirúrgico

	Antes	24h	8d	30d	60d	90d	120d
EIV	0,0691	0,00484	0	0	0	0	0,0408
IEIV	-	45,01	0	0	0	0	59,13

Fry e Johnson (1991) observaram numerosos defeitos nas placas terminais cartilaginosas um mês após a realização da quimionucleólise em cães. Na literatura não há relatos de alterações radiográficas nas estruturas ósseas adjacentes aos discos intervertebrais, diferente do encontrado no presente estudo. Em todos os animais tratados, foi observada, aos 30 dias de pós-operatório, absorção óssea de regiões dos corpos vertebrais adjacentes aos discos tratados (Fig. 2E). Essa absorção foi caracterizada, radiograficamente, por redução da radiopacidade. Aos 60 dias de pós-operatório, foi possível observar início do processo de reparação óssea, caracterizado por aumento da radiopacidade nas áreas afetadas, que foi além do contorno natural das vértebras (Fig. 2F). Aos 90 e 120 dias, verificou-se progressão da radiopacidade, de forma irregular, inclusive com evidências de fusão, o que pode

justificar a progressiva redução da amplitude dos movimentos do pescoço dos animais avaliados (Fig. 2G e 2H). Essas alterações sugerem que o atrito anormal entre os corpos vertebrais resultou na destruição das placas terminais cartilaginosas e conseqüente reação óssea. Cabe ressaltar que a recuperação da espessura dos espaços intervertebrais, observada radiograficamente 120 dias após a quimionucleólise, coincide com a fusão dos corpos vertebrais submetidos à espondilectomia ventral, proporcionando estabilidade e conseqüente reparação dos discos (Fig. 2K e 2L).

Na avaliação histológica, foi possível observar que todos os discos intervertebrais tratados com a quimiopapaína demonstraram sinais de digestão tecidual, confirmando a atividade da enzima.

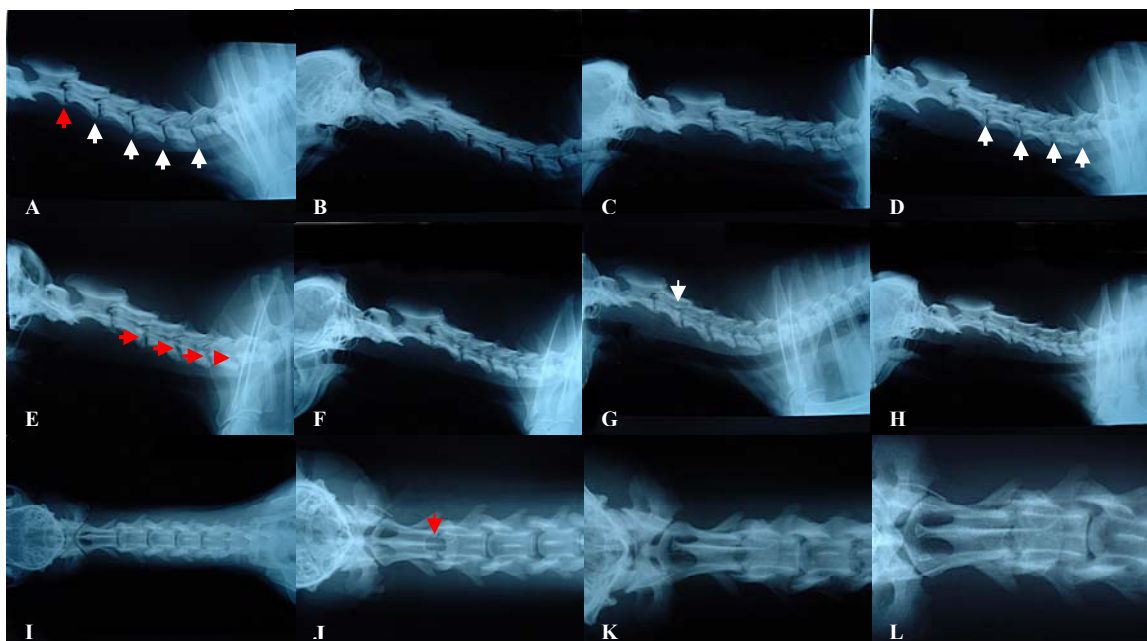


Figura 2. Cão. Radiografias da região cervical. A) Pré-operatório, espaço intervertebral C2-C3, correspondente à região onde foi realizada a fenda ventral (seta vermelha); espaços intervertebrais C3 a C7 correspondentes aos discos submetidos à quimionucleólise (setas brancas). B) Mielografia. C) 24 horas após a quimionucleólise; redução da espessura dos espaços intervertebrais correspondentes aos discos tratados. D) Oito dias após a quimionucleólise; ausência dos espaços intervertebrais correspondentes aos discos tratados (setas). E) 30 dias após a quimionucleólise; ausência dos espaços intervertebrais correspondentes aos discos tratados e absorção óssea de regiões dos corpos vertebrais adjacentes aos discos (setas). F) 60 dias após a quimionucleólise; início do processo de reparação óssea. G) 90 dias após a quimionucleólise; evidências de fusão (seta). H) 120 dias após a quimionucleólise; aumento da espessura dos espaços intervertebrais correspondentes aos discos tratados. I) Projeção ventrodorsal antes da quimionucleólise. J) Projeção ventrodorsal 24 horas após o procedimento; fenda ventral entre os corpos vertebrais C2-C3 (seta). K) Projeção ventrodorsal 60 dias após o procedimento. L) Projeção ventrodorsal 120 dias após o procedimento; fusão das vértebras C2 e C3.

Nas lâminas coradas com HE foi observado, 24 horas após a administração da quimiopapaína, digestão nuclear caracterizada por cavitações (matriz esponjiforme) (Fig. 3A, 3B e 3C). Estes achados confirmam os obtidos por Patt et al. (1993), que afirmaram ser imediata a ligação da enzima ao substrato, assim como seus efeitos. Roggendorf et al. (1984) já haviam relatado frouxidão das fibras colágenas do núcleo e das áreas microcísticas 24 horas após a realização da quimionucleólise. Semelhantemente, Atiola et al. (1988) observaram a dissolução do núcleo pulposo e de áreas perinucleares do anel fibroso, com fissuras e cavitações, a partir do primeiro dia após o tratamento enzimático de discos intervertebrais cervicais caninos. No mesmo período, não observaram nenhuma alteração óssea ou nas placas terminais cartilaginosas (PTCs), o que também não ocorreu neste estudo.

Como verificado por Roggendorf et al. (1984), ocorreu importante redução do volume tecidual do núcleo pulposo e, conseqüentemente, redução

da espessura do espaço intervertebral, que foram observadas histologicamente. Segundo Nitobe et al. (1988), isso é a manifestação física das perdas de água e proteoglicanos do núcleo, resultante da ação da quimiopapaína.

Após oito dias da aplicação da enzima, o núcleo pulposo estava ainda vacuolizado, contudo mais fibrilar (Fig. 3E), o que foi observado nos cortes histológicos das porções mais internas do anel fibroso. Além disso, algumas lâminas do anel deixaram de ser concêntricas, o que foi atribuído à perda de volume nuclear e ao achatamento do espaço intervertebral.

Após 30 dias da aplicação da enzima, ocorreu grande achatamento do espaço intervertebral, o que comprometeu a junção entre PTCs e anel fibroso, provavelmente em conseqüência da alteração da anatomia normal dessas estruturas. As PTCs continham lesões e áreas de hemorragia (Fig. 3G). Segundo Chen et al. (2003), a quimionucleólise com quimiopapaína pode ser

responsável por essas lesões. Uma vez que a enzima tem ação imediata sobre os proteoglicanos do disco intervertebral, sugere-se que as alterações observadas sejam consequência da instabilidade vertebral causada pelo tratamento, determinando atrito entre PTCs adjacentes, anteriormente impossibilitado pela presença do núcleo pulposo.

Aos 30 dias após a quimionucleólise, observaram-se, também linha de cimentação evidente, núcleo cartilaginoso de calcificação, semelhante à coração condróide, e hipervascularização nas áreas lesadas das PTCs. Segundo Roggendorf et al. (1984), pode ocorrer hipervascularização como reação local à enzima. Os achados histológicos observados aos 60 dias foram semelhantes, embora a redução da espessura do espaço intervertebral não seja mais tão evidente, devido à presença de material amorfo no espaço nuclear. O anel fibroso apresentou-se mais delgado, mantendo apenas as lâminas mais externas.

Aos 90 dias, ocorreu perda da arquitetura normal das estruturas ósseas adjacentes aos discos tratados. Foi observada a presença de microfraturas, osteonecrose e preenchimento com tecido cartilaginoso (Fig. 4B). As PTCs adjacentes aos discos tratados estavam ausentes, e o espaço nuclear apresentou-se parcialmente preenchido por matriz fibrosa amorfa (Fig. 4C). Bradford et al. (1983) utilizaram o mesmo protocolo de quimionucleólise cervical (dose e diluente) e relataram regeneração do núcleo pulposo, sem alteração de estruturas adjacentes. Pode-se inferir que possivelmente a realização da espondilectomia ventral ampliou a instabilidade local com consequente atrito excessivo, resultando nessas lesões.

Aos 120 dias, observou-se intensa vascularização na região do disco intervertebral, inclusive com presença de grandes túneis vasculares. As estruturas ósseas foram remodeladas de forma irregular, não apresentando mais os contornos naturais do corpo vertebral. O material presente no espaço nuclear tinha aparência de tecido

fibrocartilaginoso, mais fibroso que cartilaginoso, semelhante a tecido cicatricial (Fig. 4E). Estes achados são semelhantes aos descritos por Kudo et al. (1993), embora tenham utilizado dose de quimiopapaína 10 vezes maior que a deste estudo. Sabe-se que as ações da quimiopapaína são dose dependente (Lü et al. 1997), portanto, a ocorrência de resultados semelhantes, mesmo com o uso de dose muito menor, reforça a hipótese de instabilidade extra resultante da espondilectomia ventral.

As alterações da estrutura bioquímica do tecido discal, especialmente dos proteoglicanos, foram refletidas por um padrão de coloração pela SO alterado. Verificou-se intensa redução da intensidade de coloração do núcleo pulposo e das lâminas mais internas do anel fibroso 24 horas e oito dias após o procedimento (Fig. 3D). Ainda, aos oito dias, foi observada no núcleo a união de células degeneradas, formando linhas, que sugerem tentativa de sustentação (Fig. 3F). Segundo Bradford et al. (1983), o achado histológico mais evidente após a quimionucleólise é a perda de proteoglicanos, evidenciada pela redução da intensidade da coloração pela SO no núcleo pulposo e no anel fibroso.

Aos 30 dias após a aplicação da enzima, ocorreu redução da intensidade de coloração nas PTCs adjacentes aos discos tratados (Fig. 3H). Contudo, observou-se aumento da intensidade de coloração do material nuclear, o que não se repetiu aos 60 e 90 dias (Fig. 4A e 4D). Nesses tempos, o espaço nuclear estava preenchido por material amorfo, fibroso e acelular, sem afinidade tintorial alguma.

Aos 120 dias, novamente observou-se aumento da intensidade da coloração pela SO no núcleo, indicando a presença de proteoglicanos. O material presente no espaço nuclear ainda era amorfo, contudo continha células semelhantes a condrócitos, sugerindo fibrocartilagem (Fig. 4F). Ao contrário do citado por Bradford et al. (1983), não ocorreu regeneração do núcleo pulposo, mas sim reparação.



### Quimionucleólise cervical...

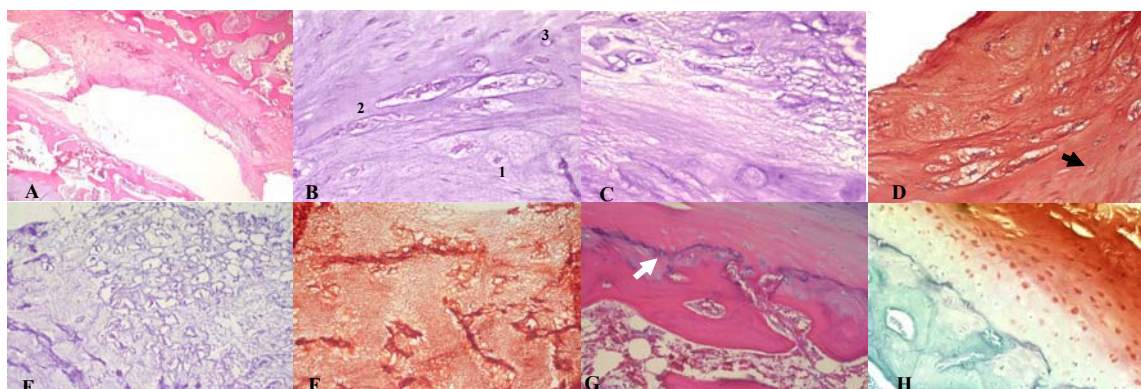


Figura 3. Cão. Avaliação histológica – aspectos microscópicos. A) Disco intervertebral 24 horas após a quimionucleólise com quimiopapaína (100X/HE); digestão nuclear com retração e perda de conteúdo. B) Junção entre núcleo pulposo (1), anel fibroso (2) e placa terminal cartilaginosa (3) 24 horas após a quimionucleólise com quimiopapaína (200X/HE); presença de cavitações e frouxidão de fibras colágenas, sem alterações na placa terminal. C) Núcleo pulposo 24 horas após a quimionucleólise com quimiopapaína (200X/SO); redução da intensidade de coloração do núcleo (seta branca) e das lâminas internas do anel fibroso (seta preta) pela SO. E) Núcleo pulposo oito dias após a quimionucleólise com quimiopapaína (400X/HE); núcleo vacuolizado e mais fibrilar. F) Núcleo pulposo oito dias após a quimionucleólise com quimiopapaína (200X/SO); redução da intensidade de coloração do núcleo pela SO e união de células degeneradas formando linhas (seta). G) Núcleo pulposo 30 dias após a quimionucleólise com quimiopapaína (200X/HE); lesão na placa terminal cartilaginosa e hemorragia (círculo) e presença de linha de cimentação (seta). H) Núcleo pulposo 30 dias após a quimionucleólise com quimiopapaína (200X/SO); redução da intensidade de coloração da placa terminal cartilaginosa pela SO (seta preta) e aumento da mesma no núcleo pulposo (seta branca).

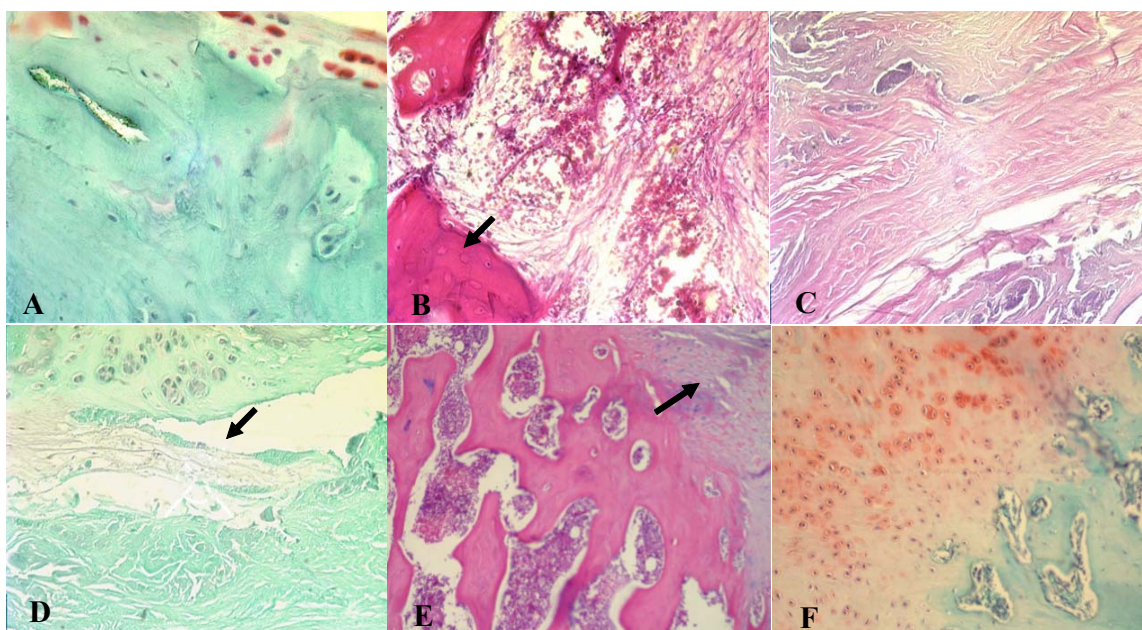


Figura 4. Cão. Avaliação histológica – aspectos microscópicos. A) Placa terminal cartilaginosa 60 dias após a quimionucleólise com quimiopapaína (400X/SO); placa terminal cartilaginosa estruturalmente alterada e com pouca afinidade pela SO. B) Porção do corpo vertebral adjacente a um disco tratado com quimiopapaína 90 dias após o procedimento (200X/HE); perda da arquitetura normal das estruturas ósseas, hemorragia e osteonecrose (seta). C) Material preenchendo o espaço nuclear 90 dias após a quimionucleólise com quimiopapaína (400X/HE); matriz fibrosa amorfa. D) Material preenchendo o núcleo 90 dias após a quimionucleólise com quimiopapaína (200X/SO); presença de material amorfo, fibroso e acelular, sem afinidade tintorial pela SO (seta). E) Região do disco intervertebral 120 dias após a quimionucleólise com quimiopapaína (200X/HE); estruturas ósseas remodeladas de forma irregular; ausência de placa terminal cartilaginosa; espaço nuclear preenchido por material fibrocartilaginoso (seta). F) Região do disco intervertebral 120 dias após a quimionucleólise com quimiopapaína (200X/SO); aumento da intensidade da coloração do espaço nuclear pela SO, indicando a presença de proteoglicanos; material nuclear amorfo, com células semelhantes a condrócitos, sugerindo origem fibrocartilaginosa.

## CONCLUSÃO

A quimionucleólise dos discos intervertebrais C3-C4 a C6-C7 concomitante à espondilectomia ventral de C2-C3 determina, além da lise dos discos intervertebrais tratados, instabilidade cervical, destruição das placas terminais cartilaginosas e das porções dos corpos vertebrais adjacentes, que tendem à reparação por tecido fibrocartilaginoso ao longo do tempo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ATIOLA, M.A.; BAILEY, C.S.; MORGAN, J.P. Cervical chemonucleolysis in the dog. A surgical technique. *Vet. Surg.*, v.17, p.135-140, 1988.
- BARTELS, K.E.; CREED, J.E.; YTURRASPE, D.J. Complications associated with the dorsolateral muscle separating approach for thoracolumbar disk fenestration in the dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.183, p.1081-1083, 1983.
- BRADFORD, D.S.; COOPER, K.M.; OEGEMA, T.R. Chymopapain, chemonucleolysis and nucleus pulposus regeneration. *J. Bone Joint Surg.*, v.65-A, p.1220-1231, 1983.
- CHEN, T.; CRAWFORD, N.R.; SONNTAG, V.K.H. et al. Biomechanical effects of progressive anterior cervical decompression. *Spine*, v.26, p.6-14, 2001.
- COATES, J.R. Intervertebral disk disease. *Vet. Clin. N. Am.: Small Anim. Pract.*, v.30, p.77-110, 2000.
- FITCH, R.B.; KERWIN, S.C.; HOSGOOD, G. Caudal cervical intervertebral disk disease in the small dog: Role of distraction and stabilization in ventral slot decompression. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, v.36, p.68-74, 2000.
- FRY, T.R.; JOHNSON, A.L. Chemonucleolysis for treatment of intervertebral disk disease. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.199, p.622-627, 1991.
- HARARI, J.; MARKS, S.L. Surgical treatments for intervertebral disc disease. *Vet. Clin. N. Am.: Small Anim. Pract.*, v.22, p.899-915, 1992.
- KITCHEL, S.H.; BROWN, M.D. Complications of chemonucleolysis. *Clin. Orthop.*, n.284, p.63-74, 1992.
- KUDO, T.; SUMI, A.; HASHIMOTO, A. Experimental chemonucleolysis with chymopapain in canine intervertebral disks. *J. Vet. Med. Sci.*, v.55, p.211-215, 1993.
- LÜ, D.S.; SHONO, Y.; ODA, I. et al. Effects of chondroitinase ABC and chymopapain on spinal motion segment biomechanics. An in vivo biomechanical, radiologic, and histologic canine study. *Spine*, v.22, p.1828-1834, 1997.
- MACY, N.B. CLIFFORD, M.L.; STOVER, S.M. et al. Effect of disk fenestration on saggital kinematics of the canine C5-C6 intervertebral space. *Vet. Surg.*, v.28, p.171-179, 1999.
- NAKAMA, S.; TAURA, Y.; TABARU, H. et al. A retrospective study of ventral fenestration for disk disease in dogs. *J. Vet. Sci.*, v.55, p.781-784, 1993.
- NITOBÉ, T.; HARATA, S.; OKAMOTO, Y. et al. Degradation and biosynthesis of proteoglycanos in the nucleus pulposus of canine intervertebral disc after chymopapain treatment. *Spine*, v.13, p.1332-1339, 1988.
- NORDBY, E.J.; FRASER, R.D.; FRACS, J. et al. Spine update chemonucleolysis. *Spine*, v.21, p.1102-1105, 1996.
- PATT, S.; BROCK, M.; MAYER, H.M. et al. Nucleus Pulposus Regeneration after chemonucleolysis with chymopapain? *Spine*, v.18, p.227-231, 1993.
- PIERMATTEI, D.L. The vertebral column. In: PIERMATTEI, D.L. *An atlas of surgical approaches to the bones and joints of the dog and cat*. 3.ed. Philadelphia: W.B. Saunders. 1993. p.54-59.
- PINKOWSKI, J.L.; LEESON, M.C. Anaphylactic shock associated with chymopapain skin test. *Clin. Orthop.*, n.260, p.186-190, 1990.
- ROGGENDORF, W.; BROCK, M.; GÖRGE, H. et al. Morphological alterations of degenerated lumbar disc following chemonucleolysis with chymopapain. *J. Neurosurg.*, v.60, p.518-522, 1984.
- SMITH, L. Chemonucleolysis – Personal history, trials and tribulations. *Clin. Orthop.*, n.287, p.117-124, 1993.
- SUGIMURA, T.; KATO, F.; MIMATSU, K. et al. Experimental chemonucleolysis with chondroitinase ABC in monkeys. *Spine*, v.21, p.161-165, 1996.
- TOMLINSON, J. Tetraparesis following cervical disk fenestration in two dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.187, p.76-77, 1985.
- WHEELER, S.J.; SHARP, N.J.H. *Diagnóstico e tratamento cirúrgico das afecções espinhais do cão e do gato*. São Paulo: Manole. 1999. p.68-84.