



**Modalidade do trabalho:** Relatório técnico-científico

**Evento:** XX Seminário de Iniciação Científica

## MEDULA ÓSSEA: POR QUE, ONDE E COMO COLHER DE CÃES E GATOS?<sup>1</sup>

**Cláudia Medeiros Rodrigues<sup>2</sup>, Pamela de Lima Thomé da Cruz<sup>3</sup>, Pamela de Lima Thomé da Cruz<sup>4</sup>, Paula Cristina Basso<sup>5</sup>, Henrique Soares Fritzen<sup>6</sup>, Daniel Curvello de Mendonça Müller<sup>7</sup>.**

<sup>1</sup> Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica PROBIC/FAPERGS - 2011-2012

<sup>2</sup> CLÁUDIA MEDEIROS RODRIGUES

Aluna do Curso de Graduação em Medicina Veterinária da UNIJUI, bolsista PROBIC/FAPERGS, claudia.medeiros@unijui.edu.br

<sup>3</sup> PAMELA DE LIMA THOMÉ DA CRUZ

Aluna do Curso de Graduação em Medicina Veterinária da UNIJUI, bolsista PROBIC/FAPERGS, pamela\_ltc@yahoo.com.br

<sup>4</sup> PAMELA DE LIMA THOMÉ DA CRUZ

Aluna do Curso de Graduação em Medicina Veterinária da UNIJUI, bolsista PROBIC/FAPERGS, pamela\_ltc@yahoo.com.br

<sup>5</sup> PAULA CRISTINA BASSO

Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária da UFSM, basso.paula@gmail.com

<sup>6</sup> HENRIQUE SOARES FRITZEN

Aluno do curso de Medicina Veterinária da UNIJUI, bolsista PROBITI/FAPERGS, henrique\_fritzen@yahoo.com.br

<sup>7</sup> DANIEL CURVELLO DE MENDONÇA MÜLLER

Professor Doutor do Departamento de Estudos Agrários da UNIJUI, Orientador, cmdaniel@terra.com.br

**Resumo:** Atualmente, o incremento das pesquisas foca a medula óssea como potencial fonte para o tratamento de doenças, uma vez que seu uso como diagnóstico já é largamente empregado. O objetivo deste artigo é revisar, sobre os melhores acessos à medula óssea e a importância deste material como diagnóstico e tratamento de doenças. Aborda-se particularidades sobre as técnicas de colheita e complicações, observadas pelos autores, com o intuito de facilitar os procedimentos tornando-os mais seguros.

**Palavras-chave:** biópsia; punção; transplante.

### Introdução

A medula óssea (MO) tem como principal função, a hematopoeise de células eritróides, granulocíticas, megacariocíticas e linfocitárias. Nos animais em crescimento a hematopoeise ocorre no interior dos ossos longos e chatos. À medida que o animal envelhece, a região do canal medular é substituída por tecido adiposo, confinando a medula ativa nos locais onde há osso esponjoso, ou seja, epífises e metáfises ósseas (RASKIN, 1998).





**Modalidade do trabalho:** Relatório técnico-científico

**Evento:** XX Seminário de Iniciação Científica

A colheita de medula óssea é indicada visando o diagnóstico (DOMINIS et al., 2005) e a obtenção de células pluripotenciais para o tratamento de doenças (SILVA & MACEDO, 2006). De posse desta amostra de medula óssea, é possível a realização de diversos exames, como o mielograma, a partir da preparação em lâmina, citometria de fluxo, imunohistoquímica e ainda a citogenética convencional. Desta forma, a avaliação ideal da celularidade medular requer a integração das informações obtidas tanto do aspirado, quanto da biópsia, à luz dos achados da avaliação do sangue periférico (FLEURY, 2007). O uso de células tronco, obtidas a partir de aspirados de medula óssea é utilizado em pacientes portadores de leucemia e é cada vez mais explorado como terapia celular de recomposição da celularidade medular e do sangue periférico. Essas novas técnicas estão sendo aplicadas em um amplo espectro de doenças humanas, incluindo muitos tipos de câncer, doenças neurológicas, como Parkinson, diabetes e doenças cardíacas (SILVEIRA et al., 2005).

Em medicina veterinária, as pesquisas envolvendo transplante de células tronco hematopoiéticas vêm crescendo (OLIVEIRA, 2008; TOGNOLI et al., 2009). ZAMPROGNO (2007) demonstrou que a terapia autóloga com células tronco provenientes da medula óssea, foi efetiva para a estimulação osteogênica de não união de fraturas. BRUNELLI et al., (2007) avaliaram os efeitos do transplante de células tronco autógenas do limbo esclerocórneo de cães, sobre lesões córneo-limbais. Constataram que a vantagem do transplante está em possibilitar a melhoria da transparência córnea, sem intercorrências oculares.

Para a obtenção de células hematopoiéticas é necessária a sua colheita e para tanto, a aspiração intraóssea da medula, utilizando-se agulhas específicas em locais onde se obtêm maior abundância deste material. Habitualmente, as punções ocorrem na crista ilíaca, no trocanter maior do fêmur, na área trans-ilíaca e na região epifisária proximal do úmero. O material deve ser colhido em condições assépticas, com o paciente sob anestesia geral e devem ser utilizadas seringas contendo anticoagulantes para promover a sucção (RASKIN, 1998).

O objetivo deste artigo é realizar uma revisão sobre as técnicas e complicações durante a obtenção de medula óssea, abordando a importância do material colhido, os equipamentos utilizados habitualmente para essa colheita, bem como as principais vias de acesso, conforme a espécie do animal.

### Metodologia

Para o procedimento de colheita com vistas ao exame cito-histopatológico ou obtenção de células progenitoras da MO de cães, o animal deverá ser submetido à anestesia geral. O período pré-operatório deverá incluir jejum alimentar de 12 horas e restrição hídrica de seis horas, sendo realizada previamente a tricotomia do sítio de colheita (SALGADO, 2008). O paciente deve ser anestesiado e posicionado conforme o local escolhido para a colheita. Sugere-se o decúbito lateral (CASTANIA, 2007; ZAMPROGNO, 2007) se a colheita da medula óssea for realizada no osso femoral ou tibial e, o decúbito ventral se a escolha for a crista ilíaca (OLIVEIRA, 2008; TOGNOLI et al., 2009). Entretanto, na prática dos autores, prefere-se o decúbito lateral, pois com este posicionamento, se consegue acessar todos os locais anatômicos sugeridos anteriormente.

A precisão dos movimentos de introdução da agulha no canal medular pode determinar a rapidez e o sucesso do procedimento, garante os autores. Estes sugerem a seguir, algumas manobras que elevam a





**Modalidade do trabalho:** Relatório técnico-científico

**Evento:** XX Seminário de Iniciação Científica

eficiência da colheita. A empunhadura da agulha deve ser bem apoiada na palma da mão, para que o cirurgião consiga aplicar melhor a sua força. O dedo indicador deve ser colocado na porção final da agulha, ou seja, a cerca de 4cm do bisel e será o responsável tanto pelo movimento de pivô da mão do cirurgião, direcionando a perfuração e introdução da agulha, quanto pela limitação da introdução da mesma. Esta limitação é importante, pois assegura que somente a porção adiante do dedo seja introduzida. Este artifício oferece certo grau de segurança ao procedimento, uma vez que limita eventuais perfurações indesejadas, caso haja deslizamento da agulha.

A outra mão será utilizada para apreender e delimitar as extremidades do local a ser perfurado, garantindo assim, que a agulha seja introduzida na região desejada do osso. Para iniciar a perfuração, devem-se realizar movimentos de rotação com a mão (OLSSON et al., 2006), pulso e antebraço, simultaneamente, evitando a movimentação lateral da agulha. O cotovelo e o braço do cirurgião deverão permanecer imóveis, para garantir que o orifício de entrada da agulha seja o menor possível. Atenta-se ainda para que os movimentos de rotação sejam lentos e de grande amplitude, pois assim, aproveita-se melhor a superfície de corte da extremidade do bisel.

Os autores deste artigo recomendam que todas as agulhas sejam utilizadas com um mandril em seu interior, concordando com LARUE et al., (2005), que sugerem tal procedimento quando for utilizada a agulha Jamshidi. Isto evita a obstrução da sua luz por esquirolas ósseas. Após a introdução e estabilização da agulha, o mandril deve ser removido e acoplada uma seringa de 10mL, contendo anticoagulante. Discreta retração do êmbolo é suficiente para obtenção de vácuo e aquisição do material desejado. A amostra colhida deve ser encaminhada ao laboratório em seringa previamente anticoagulada, em temperatura ambiente ou ainda, pode-se confeccionar as lâminas, a partir de MO “in natura” para serem analisadas tão logo obtidas (OLSSON et al., 2006).

## Resultados e Discussão

**Complicações** - Algumas complicações eventualmente poderão ocorrer durante a colheita de medula óssea nos ossos longos, dentre elas as fraturas (LAREU et al., 2005). Estas se tornam iminentes quando são realizados movimentos de “alavanca” com a agulha, gerando força de separação dos fragmentos ósseos, conforme experiência dos autores. Estes afirmam que esta situação é evitada, toda vez que o cotovelo e o braço do cirurgião, permanecem imóveis, deixando a rotação exclusivamente para a mão, punho e antebraço. Contudo, alertam que fraturas podem ocorrer ainda, quando se realizam múltiplas perfurações em uma mesma região do osso. Isto é evitado, quando as sessões de biópsia aspirativa são feitas em ossos distintos.

Em ossos da pelve, alguns acidentes importantes poderão ocorrer caso não haja o cuidado de delimitar a agulha com o dedo indicador, conforme sugerido anteriormente pelos autores. Esta região se apresenta como uma “caixa” envolvendo as vísceras pélvicas (TARVIN & LENEHAN, 2005). Caso haja o deslizamento da agulha através do osso, como sugerido por RASKIN (1998), a extremidade cortante da agulha poderá ser projetada para o interior da pelve, perfurando vísceras, como reto ou próstata, ou um grande vaso, gerando hemorragia importante. Esta situação, certamente é uma emergência, que poderia colocar em risco a vida do paciente.



**Modalidade do trabalho:** Relatório técnico-científico

**Evento:** XX Seminário de Iniciação Científica

Incluem-se nas complicações deste procedimento, os danos às estruturas de tecidos moles, (LAREU et al., 2005) e a ausência de medula óssea durante a aspiração. Neste último caso, deve-se ter o cuidado de aspirar várias vezes o local puncionado com uma seringa de 10 ou 20mL, para que promova vácuo suficiente, antes de afirmar que a agulha não está no local correto. Permanecendo o insucesso de aspirado de MO, a perfuração poderá ter ultrapassado a cortical do osso e assim, a abertura da agulha não estará no canal medular. Os autores desta revisão sugerem que caso a suspeita seja esta, basta reintroduzir o mandril da agulha e recuá-la lentamente até que comece a refluir o sangue medular.

Existe ainda o risco de contaminação do canal medular, que pode evoluir para osteomielite. Cabe lembrar que mesmo tratando-se de um pequeno orifício, este se constitui numa porta de entrada de patógenos, sendo fundamental a realização de minuciosa antisepsia pré e pós-operatória (JUNIOR et al., 2008). Casos de osteomielite requerem cuidado minucioso de tratamento, sendo recomendada a realização de cultura e antibiograma do material obtido do foco infectado, e subsequentemente uso de antibioticoterapia adequada para o paciente (RAHAL et al., 2003).

Indicações de colheita da medula óssea - Normalmente a colheita de medula óssea é conduzida no sentido da obtenção de fragmentos para realização de mielograma, indicado em situações específicas. Este consiste no exame direto das células da MO, colhidas por punção aspirativa, e permite verificar a normalidade da produção sanguínea, alterações no aspecto celular e a presença de células neoplásicas (AQUINO et al., 2002). Geralmente é solicitado quando se encontram alterações no hemograma (GOSSET, 2000); tais como neutropenia persistente, trombocitopenia, leucocitose, morfologia anormal de células sanguíneas, a presença inexplicável de células imaturas no sangue, anemia arregenerativa ou ainda uma combinação destas enfermidades (GALE et al., 1981). Também pode ser usado subsequentemente a um quadro de hiperproteinemia quando há suspeita de mieloma múltiplo, alguns casos de linfoma, leishmaniose, brucelose, erliquiose e doenças sistêmicas de origem fúngica, entre outras (AQUINO et al., 2002). Pode-se ainda indicar a causa de hipercalcemia quando associada com neoplasmas (OLIVEIRA, 2008).

O mielograma é indispensável, por exemplo, para o diagnóstico e classificação das leucemias mielóides e linfóides agudas. Nesta doença, um grande número de células tumorais, chamadas blastos, é encontrado no interior da MO (LUND, 2000).

Diferentemente do exame anterior, que consiste em examinar as células medulares a partir de uma preparação citoscópica, a biópsia de MO (BMO) permite avaliar também toda a sua estrutura, pois é feita a partir de um fragmento compacto de osso. Este é um procedimento utilizado na prática médica, principalmente para o diagnóstico de doenças hematológicas ou metastáticas (AQUINO et al., 2002). Praticamente não existe contra-indicação, sendo esse procedimento realizado inclusive em animais portadores de doenças hemorrágicas sem observação de maiores danos (JAIN, 1993).

Embora a aspiração de MO seja um procedimento menos traumático do que a BMO, esta última fornece dados importantes como o grau de celularidade medular e o diagnóstico de enfermidades como mielofibrose, mioesclerose e focos de infecção, além de avaliar a quantidade de gordura presente no interior da medula (LUND, 2000). WIJEWARDANA et al., (2007) isolaram e caracterizaram células progenitoras da medula óssea de cães com diagnóstico de leucemia ou linfoma maligno.



**Modalidade do trabalho:** Relatório técnico-científico

**Evento:** XX Seminário de Iniciação Científica

Principais vias de acesso para colheita de células medulares hematopoiéticas - A medula óssea em cães e gatos pode ser obtida na epífise dos ossos longos e nas regiões do ílio, como crista ilíaca ou borda acetabular. RASKIN (1998) sugere a colheita na crista ilíaca de cães, pela facilidade de localização. Diversos autores utilizaram a referida via de acesso para colheita de medula óssea, tanto para obtenção de células mononucleares, quanto na aquisição de células medulares para exames cito-histopatológicos (ZAMPROGNO, 2007; SALGADO, 2008). Contudo, em cães de pequeno porte ou gatos, a colheita de amostras medulares é facilitada na região trans-ilíaca ou porção proximal do fêmur ou úmero. Punções trans-ilíacas reduzem o risco de lesões provocadas pelo deslizamento acidental da agulha pela crista ilíaca (RASKIN, 1998).

Para cães obesos ou musculosos, a porção crânio-lateral da tuberosidade maior do úmero é uma ótima opção para colheita de material (RASKIN, 1998; ZAMPROGNO, 2007). Os autores desta revisão sugerem também, a epífise proximal da tíbia, como sendo uma região para obtenção de grande quantidade de medula óssea, assim como na porção proximal do fêmur e tuberosidade maior do úmero, citados anteriormente.

### Conclusões

A medula óssea é uma fonte autóloga facilmente acessível de obtenção células progenitoras e é facilmente adquirida do interior dos ossos longos, como trocanter maior do fêmur e tuberosidade maior do úmero. As complicações que podem surgir durante o procedimento de colheita de medula óssea são importantes. Contudo, cuidados como correta orientação da agulha e acurada técnica de introdução da mesma, podem reduzir significativamente a ocorrência de lesões aos tecidos adjacentes ao foco de colheita.

### Referências

- AQUINO, L.P.C.T. et al. Hematological, biochemical and anatomopathological aspects of the experimental infection with *Trypanosoma evansi* in dogs. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.54, n.1, p.8-18, 2002. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-09352002000100002&script=sci\\_arttext&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-09352002000100002&script=sci_arttext&tlng=en)>. Acesso em 8 mar. 2009. doi: 10.1590/S0102-09352002000100002.
- BRUNELLI, A.T.J. et al. Transplante autólogo de células tronco do limbo esclerocorneal em cães. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, Belo Horizonte, v.59, n.5, p.1194-1204, 2007. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-09352007000500015&script=sci\\_abstract&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-09352007000500015&script=sci_abstract&tlng=pt)>. Acesso em 8 mar. 2009. doi: 10.1590/S0102-09352007000500015.
- CASTANIA, V.A. Enxerto corticoesponjoso homogêneo processado quimicamente, esterilizado em óxido de etileno e embebido em medula óssea autógena. 2007. 67f. Tese – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.
- DOMINIS, M. et al. Bone marrow lymphoid aggregates in malignant lymphomas. *Croat Med J*, v.3, n.46, p.410-416, 2005.



**Modalidade do trabalho:** Relatório técnico-científico

**Evento:** XX Seminário de Iniciação Científica

FLEURY, S.A. Biópsia de medula óssea (BMO) e sua relação com o aspirado de medula óssea (AMO). 2007. Acessado em 29 jul. 2008. Online. Disponível em: [http://www.fleury.com.br/Publico/LaboratorioReferencia/ManualHematologia/pages/Bi%C3%B3psia demedula%C3%B3sseaBMOeSuaRela%C3%A7%C3%A3o.aspx](http://www.fleury.com.br/Publico/LaboratorioReferencia/ManualHematologia/pages/Bi%C3%B3psia%20de%20medula%C3%B3sseaBMOeSuaRela%C3%A7%C3%A3o.aspx).

GALE, R.P. et al. Aplastic anemia: biology and treatment. *Ann Intern, Philadelphia*, v.95, n.4, p.477-94, 1981.

GOSSET, K.A. Anemias associated with drugs and chemicals. In: FELDMAN, B.F. et al. *Schalm's veterinary hematology*. Philadelphia : Lippincott Williams & Wilkins. 2000. p.185-189.

JAIN, N.C. Evaluation of anemias and polycythemia. In: \_\_\_\_\_. *Essentials of veterinary hematology*. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. Cap.8, p.159-168.

JUNIOR, I.F. et al. Punção e infusão intra-óssea. Acessado em 29 jul. 2008. Online. Disponível em: [www.uff.br/ph/artigos/intraossea.pdf](http://www.uff.br/ph/artigos/intraossea.pdf)

LARUE, S.M. et al. Biópsia óssea. In: BOJRAB, M.J. *Técnicas atuais em cirurgia de pequenos animais*. São Paulo: Roca, 2005, cap. 48, p.794-797.

LUND, J.E. Toxicologic effects on blood and bone marrow. In: FELDMAN, B.F. et al. *Schalm's veterinary hematology*. Philadelphia : Lippincott Williams & Wilkins, 2000. p.44-50.

OLIVEIRA, G.K. Células-tronco mononucleares autólogas na cicatrização de defeitos tibiais agudos experimentais de cão. 2008. 50f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2008.

OLSSON et al. Aspiração e quantificação da medula óssea em diferentes ossos para transplante de células-tronco mononucleares em cães. In: XII CICLO DE ATUALIZAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA, 2006, Lages – SC. Anais... Lages: Universidade do Estado de Santa Catarina, 2006, V.12. 154p. p.109.

RAHAL, S.C. et al. Osteomyelitis associated with an orthopedic implant. *The Canadian Veterinary Journal*, v.44, n.7, p.597-599, 2003

RASKIN, R. Medula óssea. In: SLATTER, D. *Manual de Cirurgia de Pequenos Animais*. São Paulo: Manole, 1998. cap.64, p.1135-1142.

SALGADO, V.R. Avaliação do cultivo microbiológico de aspirados de medula óssea e sangue no diagnóstico da brucelose canina. *Pubvet, Botucatu*, v.2, n.24, 2008.

SILVA, R.L.; MACEDO, M.C.M.A. Transplante autólogo de células-tronco hematopoéticas sem uso de hemocomponentes. *Revista Brasileira Hematologia e Hemoterapia*, Rio de Janeiro, v.2, n.28, p.153-156, 2006. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1516-84842006000200018](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-84842006000200018). Acesso em 8 mar. 2009. doi: 10.1590/S1516-84842006000200018.

SILVEIRA, C.D.; et al. Stemcell therapy for cardiology: a new path to humanity and a new care for nurses - a case report. *Online Braz J Nurs (OBJN-ISSN 1676-4285)*. Online, 2005 Abr. 4(1) Available in: [www.uff.br/nepae/objn401silveiraetal.htm](http://www.uff.br/nepae/objn401silveiraetal.htm)

TARVIN, G.B.; LENEHAN, T.M. Tratamento dos deslocamentos sacroilíacos e das fraturas ilíacas. In: BOJRAB, M.J. *Técnicas atuais em cirurgia de pequenos animais*. São Paulo: Roca, 2005, cap. 45, p.610-616.





**Modalidade do trabalho:** Relatório técnico-científico

**Evento:** XX Seminário de Iniciação Científica

TOGNOLI, G.K. et al. Transplante autólogo de células mononucleares da medula óssea em úlcera de córnea experimental em cães. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.39, n.1, 2009.

WIJewardana V, et al. Isolation and characterization of hematopoietic progenitor cells in canine bone marrow. *Veterinary Immunology Immunopathol.* v.15, n. 3-4, p.230-238, 2007.

ZAMPROGNO, H. Células tronco esqueléticas para o tratamento da não união de fraturas. *Acta Scientiae Veterinariae*, Porto Alegre, v.35, n.2, p.289-290, 2007.