

UFRRJ
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA
VETERINÁRIA

TESE

TROPONINA C NA DETECÇÃO IMUNO-HISTOQUÍMICA DE
ALTERAÇÕES REGRESSIVAS PRECOSES NO MIOCÁRDIO DE
OVINOS INTOXICADOS NATURALMENTE POR *Amaranthus*
spinosos (AMARANTHACEAE)

Samay Zillmann Rocha Costa

2015



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
PATOLOGIA / CIÊNCIAS CLÍNICAS

TROPONINA C NA DETECÇÃO IMUNO-HISTOQUÍMICA DE
ALTERAÇÕES REGRESSIVAS PRECOSES NO MIOCÁRDIO DE OVINOS
INTOXICADOS NATURALMENTE POR *Amaranthus spinosus*
(AMARANTHACEAE)

Samay Zillmann Rocha Costa

Sob a orientação da professora
Ticiania do Nascimento França

e co-orientação dos professores
Vivian de Assunção Nogueira
Paulo Vargas Peixoto

Tese submetida como requisito parcial
para obtenção do grau de Doutor em
Medicina Veterinária no Programa de
Pós-graduação em Medicina
Veterinária, Área de concentração em
Patologia Animal

Seropédica, RJ
Fevereiro 2015

636.308959

C837t

T

Costa, Samay Zillmann Rocha, 1988-
Troponina C na detecção imuno-
histoquímica de alterações
regressivas precoces no miocárdio
de ovinos intoxicados naturalmente
por *Amaranthus spinosus*
(Amaranthaceae) / Samay Zillmann
Rocha Costa - 2015.
57 f.: il.

Orientador: Ticiania do
Nascimento França.

Tese (doutorado) - Universidade
Federal Rural do Rio de Janeiro,
Curso de Pós-Graduação em Medicina
Veterinária - Patologia e Ciências
Clínicas.

Bibliografia: f. 49-57.

1. Ovino - Toxicologia - Teses.
2. Amaranthaceae - Toxicologia -
Teses. 3. Plantas venenosas -
Teses. 4. Toxicologia veterinária -
Teses. I. França, Ticiania do
Nascimento, 1974-. II. Universidade
Federal Rural do Rio de Janeiro.
Curso de Pós-Graduação em Medicina
Veterinária - Patologia e Ciências
Clínicas. III. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

SAMAY ZILLMANN ROCHA COSTA

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Medicina Veterinária no Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, área de concentração em Patologia Animal.

TESE APROVADA EM 26/02/2015.

Paulo Vargas Peixoto, MV, Dr..UFRRJ
Presidente da banca

Marilene de Farias Brito Queiroz, MV, Dra. UFRRJ

Valéria Duarte Cerqueira, MV, Dr. UFPA

Pedro Soares Bezerra Junior, MV, Dr. UFPA

Tiago da Cunha Peixoto, MV, Dr. UFBA

AGRADECIMENTOS

À Deus pela minha família e amigos e por me permitir tantas realizações.

Aos meus pais, Andréa Zillmann Rocha e Ademilson Costa, por me proporcionarem educação, além do sempre incondicional, amor, apoio e carinho. Sem vocês nada disso teria sido possível.

À minha irmã, Sammyta Zillmann Rocha Costa, por todo o incentivo, estando comigo em todos os momentos. Te amo muito.

Aos meus avós, Zuila Zillmann Rocha e Artur de Almeida Rocha, por todo amor e apoio, por me acompanharem em todas as minhas escolhas.

À toda minha família por acreditarem em mim sempre.

Ao meu marido, Petterson Luis Borges de Amorim, pelo amor incondicional, por ser mais que meu marido, ser meu grande amigo, pelo apoio em todas as minhas decisões, por me alegrar nos momentos mais difíceis e por viver comigo os felizes.

À professora Ticiano do Nascimento França, profissional que admiro, pelas oportunidades desde a graduação, pela confiança, pela paciência, por todos os ensinamentos e pelo apoio em diversos momentos, não só relacionados à tese.

Ao Professor Paulo Vargas Peixoto, um patologista de extrema competência, por toda a ajuda na elaboração da tese, por todo o ensinamento passado, por estar sempre presente, mesmo em momentos difíceis.

À professora Vivian de Assunção Nogueira, por ser muito mais que minha co-orientadora, ser minha grande amiga, minha madrinha, obrigada por cada ensinamento na patologia e na vida, por cada conselho, levarei cada um comigo.

À professora Marilene de Farias Brito, por me orientar ainda na graduação, pela paciência e por me ajudar a dar os primeiros passos na patologia.

Ao professor Carlos Hubinger Tokarnia, grande cientista e maior pesquisador que tive a oportunidade de conhecer, pelos ensinamentos e exemplo profissional.

Ao Dr. Jürgen Dobereiner, por estar sempre disponível.

Aos meus queridos amigos e companheiros de laboratório, Ana Paula Castro, Mariana d'Avila, Mariana Bezerra, Ileana Miranda, Gabriela Cid, André Marandola, Rhudson Vilarino e Letícia Pinto, pelos momentos felizes, por tornar qualquer situação, por mais complicada e difícil, em momentos divertidos, pela ajuda na imuno e na confecção de lâminas, pela amizade sincera. Levarei cada um no meu coração.

Aos meus amigos, Patricia, Dani, Fabricia, Izabele, Luciana e Calver, que mesmo um pouco distantes e com todas as atribuições do dia a dia, nunca deixaram de me apoiar. Amo vocês.

À Amanda e Ricardo, pela ajuda na confecção das lâminas.

À CAPES, pelo apoio financeiro.

Por fim, agradeço a todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

RESUMO

COSTA, Samay Zillmann Rocha Costa. **Troponina C na detecção imuno-histoquímica de alterações regressivas precoces no miocárdio de ovinos intoxicados naturalmente por *Amaranthus spinosus***. 2015. 57p. Tese (Doutorado em Patologia Animal). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2015.

Amaranthus spp. são plantas nefrotóxicas popularmente conhecidas como “caruru”. Na intoxicação por estas plantas a principal alteração histopatológica está presente no rim, sob forma de nefrose tubular tóxica, porém em alguns casos pode haver alterações cardíacas relacionadas. Alterações no eletrocardiograma, compatíveis com quadros de hipercalemia, foram descritas em suínos intoxicados por *Amaranthus retroflexus* e lesões como degeneração e necrose de miócitos cardíacos descritas em suínos intoxicados por *A. caudatus* e ovinos intoxicados por *A. spinosus*. No entanto, há dúvidas com relação às alterações cardíacas, que, na maioria dos casos, são incipientes (ou não apresentam reação inflamatória), o que pode levar a erros de interpretação. Para a realização do trabalho foram utilizados blocos parafinados oriundos de um surto natural de intoxicação por *A. spinosus* no sudeste do Brasil. Esse estudo teve como objetivo detectar a presença de alterações regressivas incipientes no miocárdio de ovinos intoxicados por *A. spinosus*, através da utilização imuno-histoquímica do anticorpo anti-troponina C. Foram utilizados fragmentos de coração de 8 ovinos adultos e 2 fetos, intoxicados naturalmente por *A. spinosus*. Estes fragmentos foram submetidos à técnica de imuno-histoquímica com a utilização do anticorpo anti-troponina C. Na avaliação imuno-histoquímica do coração dos oito ovinos adultos observaram-se diversos grupos de miócitos com diminuição significativa ou ausência de imunorreatividade para o anticorpo anti-troponina C, essas áreas (via de regra), correspondiam, em grande parte, aos mesmos grupos de miócitos no que apresentavam, pela coloração de Hematoxilina e Eosina (H.E.) alterações que variavam de leve tumefação celular a aumento da eosinofilia, perda de estriação, lise celular e cariólise, por vezes, acompanhadas de infiltrado inflamatório misto. Em quatro casos foi possível notar que diversos pequenos grupos de miócitos que tinham marcada diminuição de imunorreatividade, correspondiam a células com alterações imperceptíveis ou muito discretas no H.E. Nos corações dos dois fetos não houve áreas com perda ou diminuição de imunorreatividade para o anticorpo anti-troponina C. Os resultados da avaliação imuno-histoquímica confirmaram a presença tanto de alterações regressivas incipientes, quanto ratificaram a ocorrência de lesões necróticas já bem instaladas no miocárdio de ovinos intoxicados por *Amaranthus spinosus*. Verificou-se correspondência entre as áreas com ausência de imunorreatividade à troponina com as áreas de lesões mais marcadas no H.E.. Adicionalmente, a técnica foi capaz de detectar lesões muito precoces (locais do miocárdio sem sinais morfológicos de agressão), e demonstrou que as áreas agredidas/lesadas eram maiores que o evidenciado no H.E.. Esse estudo demonstra a necessidade de melhor se investigar a possível participação da hipercalemia e de outras alterações metabólicas presentes na lesão renal aguda, na gênese das lesões cardíacas de rápida instalação, ou seja, aquelas não correlacionadas às lesões vasculares determinadas pela uremia de longa duração.

Palavras-chaves: anticorpo anti-troponina C, “caruru”, alterações miocárdicas regressivas precoces, insuficiência renal

ABSTRACT

COSTA, Samay Zillmann Rocha. **Troponin C immunohistochemistry for the detection of early regressive myocardial changes in sheep naturally poisoned by *Amaranthus spinosus***. 57p. Thesis (Doctorate in Animal Pathology). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2015.

Amaranthus spp. are nephrotoxic plants popularly known as “pigweed”. When there is poisoning by these plants, the main histopathological alteration is found in the kidneys as toxic tubular nephrosis; however, in some cases, there may be related cardiac changes. ECG changes associated with hyperkalemia have been described in pigs poisoned by *Amaranthus retroflexus*. Degeneration and necrosis of myocytes have been described in pigs poisoned by *A. caudatus* and sheep poisoned by *A. spinosus*. However, there are doubts regarding cardiac changes, since in most cases they are incipient and don't exhibit inflammatory reaction, which can lead to misinterpretation. For this study, paraffin blocks with tissues from a poisoning outbreak by *A. spinosus* in southeastern Brazil were used. The objective of the study was to detect the presence of incipient regressive changes in the myocardium of sheep poisoned by *A. spinosus* using anti-troponin C antibody-based immunohistochemistry. Fragments of hearts from 8 adult sheep and 2 fetuses naturally poisoned by *A. spinosus* were used. In the immunohistochemistry evaluation of the hearts of the eight adult sheep there were several groups of myocytes with significant decrease or absence of immunoreactivity for anti-troponin C antibody. In most cases, these same areas on Hematoxylin and Eosin (HE) staining exhibited changes that varied from mild cellular tumefaction to increased eosinophilia, as well as loss of striation, cell lysis and karyolysis, sometimes accompanied by mixed inflammatory infiltrate. In four cases, it was possible to notice that several small groups of myocytes exhibiting decreased immunoreactivity corresponded to cells with undetectable or very subtle alterations on HE staining. The hearts of both fetuses did not exhibit areas with loss or decreased immunoreactivity for the anti-troponin C antibody. The results of this immunohistochemical evaluation confirmed the presence of incipient regressive changes and confirmed the occurrence of well-established necrotic lesions in the myocardium of sheep poisoned by *Amaranthus spinosus*. There was correspondence between areas where immunostaining for troponin was absent and areas with the most marked lesions observed after HE staining. Additionally, the technique was able to detect lesions at a very early stage (myocardial areas with no morphological signs of insult), and demonstrated that the most insulted/injured areas were larger than estimated by observation of HE-stained samples. This study demonstrates the need to better investigate the possible participation of hyperkalemia and other metabolic alterations present in acute renal lesion in the genesis of rapid-onset cardiac lesions, i.e. those not related to vascular lesions caused by long-term uremia.

Keywords: anti-troponin C antibody, pigweed, early regressive alterations of the myocardium, renal failure

LISTA DE FIGURAS

		PÁGINA
Figura 1	A. Aspecto botânico de <i>Amaranthus spinosus</i> (arquivo pessoal) B. Detalhe da inflorescência (Cortesia Dr. Saulo Caldas)	2
Figura 2	Aspecto botânico de <i>Thiloa glaucocarpa</i> em floração (Cortesia Dr. Saulo Caldas)	15
Figura 3	Aspecto botânico de <i>Metternichia princeps</i> em floração (Cortesia Dr. Saulo Caldas)	16
Figura 4	Principais alterações do eletrocardiograma na hipercalemia	26
Figura 5	Desenho esquemático mostrando as 3 principais proteínas (actina, tropomiosina e troponina) dos filamentos finos e a estrutura desses filamentos	27
Figura 6	Coração do feto (Ovino 2) de uma ovelha (Ovino 1) intoxicada espontaneamente por <i>A. spinosus</i> . Miócitos cardíacos sem alteração. *Tecido conjuntivo. Obj. 10x. H.E. (SAP 28357)	37
Figura 7	Coração do feto (Ovino 2) de uma ovelha (Ovino 1) intoxicada espontaneamente por <i>A. spinosus</i> . Imunorreatividade marcada e difusa ao anticorpo anti-troponina C. *Notar o tecido conjuntivo sem marcação. Obj. 10x (SAP 28357)	37
Figura 8	Coração do Ovino 4 intoxicado espontaneamente por <i>A. spinosus</i> . Diversas áreas com necrose de coagulação (asteriscos, detalhes na figura 10). Obj. 4x. H.E. (SAP 28359)	38
Figura 9	Coração do Ovino 4 intoxicado espontaneamente por <i>A. spinosus</i> . Marcada diminuição da imunorreatividade ao anticorpo anti-troponina C nas áreas de necrose observadas na foto anterior (asteriscos). Obj. 4x. (SAP 28359)	38
Figura 10	Coração do Ovino 4 intoxicado espontaneamente por <i>A. spinosus</i> . Maior aumento da Figura 8, notar que neste campo existem células com diferentes alterações degenerativo-necróticas, infiltração discreta de células inflamatórias. Obj. 20x. H.E. (SAP 28359)	39
Figura 11	Coração do Ovino 4 intoxicado espontaneamente por <i>A. spinosus</i> . Maior aumento da Figura 9, notar variação na reatividade ao anticorpo anti-troponina C de acordo com a evolução da lesão. Obj. 20x. (SAP 28359)	39
Figura 12	Coração do Ovino 6 intoxicado espontaneamente por <i>A. spinosus</i> . Grupos de miócitos cardíacos com aumento da eosinofilia, citoplasma de aspecto homogêneo e picnose nuclear. Obj. 10x. H.E. (SAP 28365)	40
Figura 13	Coração do Ovino 6 intoxicado espontaneamente por <i>A. spinosus</i> . Mesmo campo da Figura 12 com significativa perda de imunorreatividade nos cardiomiócitos que apresentavam lesão. Obj. 10x. (SAP 28365)	40

Figura 14	Coração do Ovino 7 intoxicado espontaneamente por <i>A. spinosus</i> . Pequenos grupos de fibras cardíacas apresentando discreto aumento de eosinofilia. Obj. 10x. H.E. (SAP 28366A)	41
Figura 15	Coração do Ovino 7 intoxicado espontaneamente por <i>A. spinosus</i> . Mesma localização da Figura 14, notar que os pequenos grupos com aumento de eosinofilia correspondem aos miócitos com significativa perda de reatividade. Obj. 10x. (SAP 28366A)	41
Figura 16	Coração do Ovino 7 intoxicado espontaneamente por <i>A. spinosus</i> . Maior aumento da Figura 10, além do aumento da eosinofilia há também perda de estriação. Obj. 40x. H.E. (SAP 28366A)	42
Figura 17	Coração do Ovino 7 intoxicado espontaneamente por <i>A. spinosus</i> . Maior aumento da Figura 16, notar a drástica perda de reatividade e por vezes ausência de marcação em grupos de cardiomiócitos lesados. Obj. 40x. (SAP 28366A)	42
Figura 18	Coração do Ovino 9 intoxicado espontaneamente por <i>A. spinosus</i> . Grupos de miócitos cardíacos aparentemente sem lesão. Obj. 10x. H.E. (SAP 28510)	43
Figura 19	Coração do Ovino 9 intoxicado espontaneamente por <i>A. spinosus</i> . Mesma localização da Figura 18, evidente diminuição de reatividade em alguns miócitos cardíacos que aparentemente não apresentavam lesão no H.E.. Obj. 10x. (SAP 28510)	43
Figura 20	Coração do Ovino 10 intoxicado espontaneamente por <i>A. spinosus</i> . Cardiomiócitos sem alterações perceptíveis neste aumento. Obj. 10x. H. E. (SAP 28513)	44
Figura 21	Coração do Ovino 10 intoxicado espontaneamente por <i>A. spinosus</i> . Mesma localização da Figura 16, marcada diminuição da imunoreatividade ao anticorpo anti-troponina C em alguns cardiomiócitos. Obj. 10x. (SAP 28513)	44

LISTA DE TABELAS

PÁGINA

Tabela 1 Características eletrocardiográficas da hipercalemia

25

LISTA DE QUADROS

		PÁGINA
Quadro 1	Sinais clínicos e quadro anatomopatológico de ovinos intoxicados por <i>Amaranthus</i> spp.	10
Quadro 2	Sinais clínicos e quadro anatomopatológico de bovinos intoxicados naturalmente por <i>Amaranthus</i> spp.	11
Quadro 3	Sinais clínicos e quadro anatomopatológico de suínos intoxicados por <i>Amaranthus</i> spp.	13
Quadro 4	Sinais clínicos e quadro anatomopatológico de animais intoxicados por <i>Metternichia princeps</i> .	19
Quadro 5	Alguns antígenos, sua origem e o tipo de marcação celular	30
Quadro 6	Resultados histopatológicos e imuno-histoquímicos	35

SUMÁRIO

	PÁGINA
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	2
2.1 Plantas Nefrotóxicas	2
2.1.1 <i>Amaranthus</i> spp.	2
2.1.1.1 Princípios tóxicos de <i>Amaranthus</i> spp.	4
2.1.1.2 Quadro clínico-patológico da intoxicação por <i>Amaranthus</i> spp.	4
2.1.1.2.1 Nefrose tubular tóxica	4
2.1.1.2.2 Intoxicação por nitrito	14
2.1.1.2.3 Intoxicação por oxalato	14
2.1.2 <i>Thiloa glaucocarpa</i>	14
2.1.2.1 Quadro clínico-patológico	15
2.1.2.2 Princípio tóxico	16
2.1.3 <i>Metternichia princeps</i>	16
2.1.3.1 Quadro clínico-patológico da intoxicação natural	17
2.1.3.2 Quadro clínico-patológico da intoxicação experimental	17
2.2 Necrose tubular	21
2.3 Uremia	22
2.4 Síndrome Cardiorrenal	23
2.5 Hipercalemia	25
2.6 Troponina	27
2.6.1 Troponina como marcador imuno-histoquímico	28
2.7 Outros Marcadores Imuno-histoquímicos de Lesão Cardíaca	30
3 MATERIAL E MÉTODOS	32
3.1 Local	32
3.2 Amostras de Tecidos	32
3.3 Anticorpo Anti-troponina C	32
4 RESULTADOS	33
4.1 Análise Comparativa dos Resultados Imuno-histoquímicos e Histopatológicos	33
5 DISCUSSÃO	45
6 CONCLUSÕES	48
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49

1 INTRODUÇÃO

Amaranthus spp. são plantas nefrotóxicas popularmente conhecidas como “caruru”. A principal alteração histopatológica, na intoxicação por estas plantas, está presente no rim, sob forma de nefrose tubular tóxica, porém em alguns casos pode haver alterações cardíacas relacionadas (OSWEILER; BUCK; BICKNELL, 1969; TAKKEN; CONNOR, 1984; PEIXOTO et al., 2003; TOKARNIA et al., 2012).

Alterações no eletrocardiograma, compatíveis com quadros de hipercalemia, foram descritas em suínos intoxicados por *Amaranthus retroflexus* (OSWEILER; BUCK; BICKNELL, 1969) e lesões como degeneração e necrose de miócitos cardíacos em suínos intoxicados por *A. caudatus* (TAKKEN; CONNOR, 1984) e em ovinos intoxicados por *A. spinosus* (PEIXOTO et al., 2003). No entanto, há dúvidas com relação às alterações cardíacas, que, na maioria dos casos, são incipientes ou não apresentam reação inflamatória, o que pode levar a erros de interpretação.

Hipercalemia pode ser uma complicação séria na insuficiência renal em humanos e constitui uma das principais causas de astenia miocárdica e insuficiência cardíaca fatal, decorrentes da uremia (RADOSTITS et al., 2002).

Em humanos, não foram encontrados, na literatura consultada, relatos de lesões como degeneração e necrose em células cardíacas associadas à hipercalemia, apenas foram descritas alterações no eletrocardiograma (ECG) (CHAWLA et al., 1978; PASTOR et al., 2001).

A lesão renal aguda pode afetar o coração por diversas vias; através da sobrecarga de líquidos, da uremia não tratada, da hipercalemia (BLAKE et al., 1996) e da acidose metabólica (FIGUERAS et al., 1976).

Em pacientes humanos há algum tempo já se utiliza dosagem sérica de componentes celulares, como a creatinoquinase e as troponinas, para tentar diagnosticar lesão miocárdica incipiente (GODOY; BRAILE; NETO, 1998). Isto porque, quando estes pacientes morrem precocemente, muitas vezes apenas a coloração rotineira com hematoxilina e eosina, de fragmentos cardíacos, não é suficiente para evidenciar a necrose das células cardíacas e estabelecer o diagnóstico (OFFERMAN et al., 2000).

Diversas técnicas imuno-histoquímicas com alta especificidade e sensibilidade têm sido empregadas no intuito de se detectar dano precoce ao miocárdio. A imuno-histoquímica com o anticorpo anti-troponina tem sido utilizada por ser um componente estrutural da célula cardíaca que é liberado na circulação por volta de 3 a 4 horas após a lesão celular (AIRES et al., 1999; JENKINS et al., 2010); os miócitos afetados apresentam uma marcação negativa, enquanto os miócitos não-necróticos são positivos para a troponina (JENKINS et al., 2010).

Dessa forma, esse estudo teve como intuito detectar a presença de alterações regressivas incipientes no miocárdio de ovinos intoxicados por *A. spinosus*, através da utilização imuno-histoquímica com anticorpo anti-troponina C.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Plantas Nefrotóxicas

No Brasil foram descritas três plantas nefrotóxicas de interesse pecuário que causam intoxicação sob condições naturais: *Thiloa glaucocarpa*, *Amaranthus* spp. e mais recentemente *Metternichia princeps*. Dessas, *Thiloa glaucocarpa* é a mais importante. As plantas desse grupo também causam, secundariamente, perturbações digestivas (TOKARNIA et al., 2012).

2.1.1 *Amaranthus* spp.

Amaranthus spp. são plantas herbáceas (Figura 1A e B) pertencentes à família Amaranthaceae, conhecidas pelo nome popular “caruru” (TOKARNIA et al., 2012).

É importante ressaltar que esse gênero pode causar dois tipos diferentes de intoxicação: nefrose tóxica e intoxicação por nitratos e nitritos (SCHILD et al., 1996).

Diversas espécies de *Amaranthus* spp. têm sido descritas ao longo dos anos como tóxicas, causando um dos dois quadros clínicos, mas nunca os dois simultaneamente, no Brasil ou no exterior. Dentre elas podemos citar *A. retroflexus* (BRAKENRIDGE, 1956; DODD; COUP, 1957, EGYED; MILLER, 1963; JEPPESEN, 1966; MARSHALL; BUCK; BELL, 1967; STROM, 1967; OSWEILER; BUCK; BICKNELL, 1969; STUART; NICHOLSON; SMITH, 1975; SANKO, 1975; CASTEEL et al., 1994; RAE; BINNINGTON, 1995; TORRES et al., 1997; KERR; KELCH, 1998), *A. quitensis* (RIVERA et al., 1984; DUFFY et al., 1985; ARMESTO et al., 1989), *A. hybridus* (DUCKWORTH, 1975; FERREIRA et al., 1991), *A. blitum* (FERREIRA et al., 1991), *A. spinosus* (LEMOS et al., 1993; PEIXOTO et al., 2003), *A. viridis* (RIVERA et al., 1984; KOMMERS et al., 1996), *A. hybridus* subsp. *incurvatus* (MUGERWA; STAFFORD, 1976), *A. hybridus* subsp. *hybridus* (MUGERWA; STAFFORD, 1976) e *A. caudatus* (TAKKEN; CONNOR, 1984).



Figura 1 – **A.** Aspecto botânico de *Amaranthus spinosus* (arquivo pessoal) **B.** Detalhe da inflorescência (Cortesia Dr. Saulo Caldas)

A ocorrência de intoxicações por *Amaranthus* spp. parece estar relacionada à introdução de animais em pastos em desuso severamente invadidos pela planta (JEPPESEN, 1966; CURSACK; ROMANO, 1967; STUART et al., 1975; DUFFY et al., 1985; TORRES et al., 1997; KERR; KELCH, 1998). No caso dos suínos, alguns

autores sugerem haver uma susceptibilidade entre animais mais jovens (SANKO, 1975; KOMMERS et al., 1996) ou suínos que viviam confinados e foram colocados em pastos com grande quantidade de *Amaranthus* spp. (BUCK et al., 1966). Há ainda relatos de intoxicações de bovinos associadas à introdução de animais em plantações de culturas diversas, entre elas soja, sorgo, milho ou trigo que, em virtude da estiagem não foram colhidas e/ou estavam muito invadidas pela planta (DUCKWORTH, 1975; RIVERA et al., 1984; DUFFY et al., 1985; ARMESTO et al., 1989; FERREIRA et al., 1991; LEMOS et al., 1993; SCHILD et al., 1996). Em bovinos, foi descrito um surto de intoxicação após os animais serem colocados em uma área de cultivo de melancia que estava severamente invadida por *Amaranthus* spp (SCHILD et al., 1996).

Em um relato de intoxicação em **ovinos**, animais recém-desmamados foram colocados em pastagem intensamente invadida por *A. retroflexus*, a qual foi consumida em grande quantidade durante os 10 dias de permanência nesse piquete (RAE; BINNINGTON, 1995). Já no surto descrito por Peixoto et al. (2003), 50 ovelhas prenhes foram colocadas em um piquete invadido por grande quantidade de *A. spinosus* e após cinco dias 12 animais adoeceram e desses oito morreram com tempo de evolução que variou de dois a quatro dias.

Em alguns casos o que determina a intoxicação é a falta de alimento (TORRES et al., 1997), porém suínos comem a planta espontaneamente (OSWEILER; BUCK; BICKNELL, 1969).

A planta madura, em frutificação e com sementes, parece ser mais tóxica, uma vez que diversos surtos já foram relatados com a planta nesse estágio (JEPPESEN, 1966; OSWEILER; BUCK; BICKNELL, 1969; SALLES et al., 1991; KOMMERS et al., 1996) ou foram encontradas grandes quantidades de sementes no conteúdo ruminal de animais que morrem intoxicados por *Amaranthus* spp. (CURSACK; ROMANO 1967; DUFFY et al., 1985; ARMESTO et al., 1989).

Muitos casos de intoxicação ocorrem, principalmente, no verão e início do outono, período que coincide com a fase de maior crescimento da planta (BUCK et al., 1965; BUCK et al., 1966; JEPPESEN, 1966; OSWEILER; BUCK; BICKNELL, 1969; SANKO, 1975; DUFFY et al., 1985; SALLES et al., 1991).

Em experimentos com *Amaranthus retroflexus* dessecados em suínos (OSWEILER; BUCK; BICKNELL, 1969), as lesões histológicas eram bem menos graves do que na intoxicação com a planta verde. Da mesma maneira *A. hybridus* e *A. blitum* estocados em refrigerador não produziram a doença clínica; causaram apenas lesões leves no rim (FERREIRA et al., 1991).

Baseado nos dados de Osweiler, Buck e Bicknell (1969), Ferreira et al. (1991) sugerem como medida profilática, que áreas severamente invadidas por *Amaranthus* spp. sejam roçadas antes de soltar os animais, o que, baseado nas observações epidemiológicas do referido trabalho, evitaria a ocorrência da enfermidade.

Em um estudo experimental com grãos de *A. caudatus*, Takken e Connor (1984) restringiram a alimentação de suínos exclusivamente para dietas com diferentes proporções de grãos crus e em *pellets* cozidos. Dos 64 suínos 10 morreram, e desses, nove, apresentavam degeneração miocárdica que variava de leve a severa, além de grande quantidade de líquido nas cavidades corporais.

Ainda não foi esclarecido o motivo pelo qual apenas alguns animais se intoxicam. Fatores como desenvolvimento de tolerância à planta por um ajuste da flora gastrointestinal, ciclo da planta ou ainda, alelogênese química com outros organismos (fungos, por exemplo) que tornam a planta tóxica em determinadas ocasiões foram sugeridos por Lemos et al. (1993) como possíveis causas para esta situação.

No caso das intoxicações por nitratos e nitritos, o crescimento em solos ricos em nitrato, ou altamente fertilizados, ou ainda o uso de herbicidas, potencializam o acúmulo de tais substâncias nas plantas, tornando-as tóxicas para os animais que as ingerem (RIVERA et al., 1984).

2.1.1.1 Princípios tóxicos de *Amaranthus* spp.

O princípio tóxico que causa a necrose tubular e a insuficiência renal nas intoxicações por *Amaranthus* spp. ainda é desconhecido (TOKARNIA et al., 2012).

Marshall e colaboradores (1967) demonstraram que as folhas de *A. retroflexus* podem ter altas concentrações de oxalato, expresso na forma de ácido oxálico, de 12 a 30%. Por outro lado, um estudo foi realizado com *A. hybridus* subsp. *incurvatus* e *A. hybridus* subsp. *hybridus* demonstrando que menos de 30% do oxalato total ingerido por ovinos é excretado nas fezes, indicando que a maior parte é destruída durante a passagem no trato gastrointestinal (MUGERWA; STAFFORD, 1976).

De todos os artigos consultados nesta revisão, apenas González (1983) observou grandes quantidades de cristais de oxalato nos rins de ovinos e caprinos intoxicados por *Amaranthus* spp.; o autor concluiu que esta tenha sido a causa da enfermidade e da morte dos animais. Em outros poucos estudos, quantidades mínimas de cristais de oxalato foram vistas nos rins de animais intoxicados por *Amaranthus* spp. e os autores não associaram essa discreta quantidade de cristais como a causa das lesões observadas macro e microscopicamente (BUCK et al., 1966; FERREIRA et al., 1991; KOMMERS et al., 1996).

Foi demonstrado que algumas espécies de *Amaranthus* sp. são capazes de acumular nitrato em níveis tóxicos para animais. Em casos de intoxicação por nitrato/nitrito em **bovinos**, Brakenridge (1956), Dood e Coup (1957) e Egyed e Miller (1963) demonstraram níveis elevados de nitrato em *A. retroflexus*, Rivera et al. (1984) em *A. viridis* e Duckworth (1975) em *A. hybridus*. Em um surto de intoxicação por *Amaranthus* sp. em ovinos a planta também foi positiva para nitrato (STROM, 1967).

Em herbívoros, nitratos são reduzidos a nitritos e depois à amônia no trato gastrintestinal. Dependendo de alguns fatores como concentração inicial do nitrato, flora do rúmen e dieta do animal, a conversão do nitrito em amônia pode ser inadequada o que acarreta seu acúmulo e posterior absorção para a corrente sanguínea (VALLI; PARRY, 1992). A consequência principal do acúmulo de nitrito é a formação de metemoglobinemia (VALLI; PARRY, 1992; JONES; HUNT; KING, 1996). Na molécula de hemoglobina, o processo envolve a transformação do ferro férrico (Fe^{2+}), em ferro ferroso (Fe^{3+}); a hemoglobina alterada perde então sua capacidade de carrear oxigênio (VALLI; PARRY, 1992, JONES; HUNT; KING, 1996).

2.1.1.2 Quadro clínico-patológico da intoxicação por *Amaranthus* spp.

2.1.1.2.1 Nefrose tubular tóxica

Relatos sobre manifestações clínicas em **ovinos** intoxicados com *Amaranthus* spp são escassos (Quadro 1). Fraqueza, depressão, diarreia foram os únicos sinais clínicos observados em animais que ingeriram *A. retroflexus*; o período de evolução variou em até 7 dias (RAE; BINNINGTON, 1995). Já em 12 ovelhas intoxicadas por *A. spinosus* foram observados dispneia, hálito urêmico e decúbito. Dessas 12 ovelhas, duas foram examinadas de forma mais detalhada, os animais evidenciavam hálito urêmico, ausência de movimentos ruminais, dispneia, espuma esbranquiçada pelas narinas, mucosas oral, vaginal e ocular congestas, vasos episclerais ingurgitados e na fase final, diminuição ou ausência dos reflexos pupilar, palpebral, auricular e anal e menor

sensibilidade nos membros de um dos animais. A evolução foi de 2 a 4 dias (PEIXOTO et al., 2003).

Nos casos de intoxicação natural por diferentes espécies de *Amaranthus* em **bovinos** (Quadro 2), os principais sinais clínicos caracterizam-se por depressão (DUFFY et al., 1985; FERREIRA et al., 1991; LEMOS et al., 1993; SCHILD et al., 1996; TORRES et al., 1997; KERR; KELCH, 1998), fraqueza (STUART et al., 1975), anorexia (FERREIRA et al., 1991; LEMOS, 1993), enoftalmia (DUFFY et al., 1985; ARMESTO et al., 1989), desidratação (CASTEEL et al., 1994). Há ainda edema de pálpebra, face (ARMESTO et al., 1989), região ventral (CASTEEL et al., 1994), submandibular, barbela (LEMOS et al., 1993) e região posterior da coxa (LEMOS et al., 1993; TORRES et al., 1997). Na cavidade nasal pode ser observada rinorreia aquosa, espumosa de cor branco-rósea, (ARMESTO et al., 1989) ou sanguinolenta (FERREIRA et al., 1991; TORRES et al., 1997). Outros achados são taquipneia e taquicardia (ARMESTO et al., 1989; KERR; KELCH, 1998), com pulso imperceptível, além de odor “urinoso” no ar expirado (ARMESTO et al., 1989). Os movimentos ruminais encontram-se diminuídos (STUART et al., 1975; FERREIRA et al., 1991; LEMOS et al., 1993) ou ausentes (STUART et al., 1975; ARMESTO et al., 1989; FERREIRA et al., 1991). São descritos ainda coprostasia (DUFFY et al., 1985; ARMESTO et al., 1989) ou diarreia (FERREIRA et al., 1991; LEMOS et al., 1993; CASTEEL et al., 1994; SCHILD et al., 1996; TORRES et al., 1997) negra e fétida (ARMESTO et al., 1989; LEMOS et al. 1993), em alguns casos hemorrágica (FERREIRA et al., 1991; SCHILD et al., 1996; TORRES et al., 1997), ou misturada ao sangue digerido (LEMOS et al., 1993), abdômen abaulado (DUFFY et al., 1985; ARMESTO et al., 1989; LEMOS et al., 1993; SCHILD et al., 1996) polaquíúria ou oligúria (ARMESTO et al., 1989).

Sinais relacionados ao sistema locomotor também são descritos, como tremores musculares (STUART et al., 1975; ARMESTO et al., 1989; KERR; KELCH, 1998), principalmente nos membros posteriores (STUART et al. 1975, ARMESTO et al. 1989) e região do ancôneo (ARMESTO et al., 1989), andar incoordenado (FERREIRA et al., 1991; SCHILD et al., 1996; TORRES et al., 1997), paresia nos membros posteriores com evidente obnubilação do sensório (ARMESTO et al., 1989), membros posteriores “entrevados” (DUFFY et al., 1985) e decúbito esterno-costal (ARMESTO et al., 1989). Em casos com curso prolongado, os animais apresentam polidipsia (FERREIRA et al., 1991), emagrecimento progressivo (FERREIRA et al., 1991; LEMOS et al., 1993; CASTEEL et al., 1994), lentidão nos movimentos (JEPPESEN, 1966; FERREIRA et al., 1991), dificuldade de locomoção (LEMOS et al., 1993), relutância em ficar de pé (STUART et al., 1975) e permanência em decúbito por muito tempo (FERREIRA et al., 1991, LEMOS et al., 1993). Pode haver desprendimento dos cascos em alguns animais (LEMOS et al., 1993). O curso clínico da doença nos diversos relatos é muito semelhante, de 3 a 10 dias nas intoxicações por *A. hybridus* e *A. blitum* (FERREIRA et al., 1991), de 3 a 7 dias com *A. spinosus* (LEMOS et al., 1993) e com *A. retroflexus* (TORRES et al., 1997). Evoluções clínicas mais curtas foram relatadas por Duffy et al. (1985) e Armesto et al. (1989) nas intoxicações por *A. quitensis*, que tiveram desfecho, respectivamente, em 3 e 5 dias e em 2 a 3 dias após início dos sinais clínicos. Por sua vez, intoxicações com *A. retroflexus* e *Amaranthus* sp cursaram com evolução mais longa, de até 14 (CASTEEL et al., 1994) ou 15 dias (SCHILD et al., 1996).

Em **suínos** (Quadro 3), nos casos de nefrose tubular tóxica, a **sintomatologia** caracteriza-se inicialmente por fraqueza (BUCK et al., 1965; BUCK et al., 1966; SALLES et al., 1991), tremores (BUCK et al., 1965; BUCK et al., 1966; SALLES et al., 1991), ataxia (SANKO, 1975), incoordenação dos membros posteriores (BUCK et al.,

1965; BUCK et al., 1966; SANKO, 1975; SALLES et al., 1991), articulações posteriores flexionadas (BUCK et al., 1965; BUCK et al., 1966), e finalmente, paralisia quase completa dos membros posteriores (BUCK et al., 1966). Nos suínos incapacitados de se levantar (SANKO, 1975), a fraqueza progride para decúbito esternal (BUCK et al., 1965; BUCK et al., 1966; SANKO, 1975), seguindo-se coma (BUCK et al., 1965; BUCK et al., 1966) e morte em até 24 h (BUCK et al., 1965; BUCK et al., 1966) e 48 h (SALLES et al., 1991). Quando em decúbito esternal, alguns animais tentam caminhar arrastando-se sobre os membros posteriores voltados para trás (BUCK et al., 1966). Algumas vezes, áreas ventro-caudais do abdômen apresentam-se tumefeitas (BUCK et al., 1966). Em surtos causados por *Amaranthus* spp. e *A. viridis*, Kommers et al. (1996) observaram anorexia, apatia, andar incoordenado, rigidez muscular, decúbito lateral e morte.

Quadro similar foi observado por Osweiler et al. (1969) na intoxicação experimental de **suínos** por *A. retroflexus*; os animais demonstraram fraqueza, tremores, depressão, incoordenação dos membros posteriores com progressão para paresia, “andar agachado peculiar”, e depois paresia flácida generalizada e paralisia. Antes do início das alterações locomotoras, os animais diminuíram a quantidade de ingestão da planta.

Em experimentos com *A. caudatus*, suínos morreram subitamente, sem demonstrar qualquer sintomatologia (TAKKEN; CONNOR, 1984).

Avaliações bioquímicas foram realizadas em diversos trabalhos durante surtos de intoxicação por *Amaranthus* spp., na forma de nefrose tubular tóxica. Em **bovinos** foram observados aumentos nos níveis de ureia e creatinina (STUART et al., 1975; ARMESTO et al., 1989; FERREIRA et al., 1991; SCHILD et al., 1996), hipercalcemia (FERREIRA et al., 1991), hipocalcemia (DUFFY et al., 1985; ARMESTO et al., 1989; FERREIRA et al., 1991), hiperfosfatemia (ARMESTO et al., 1989; FERREIRA et al., 1991), hipomagnesemia (DUFFY et al., 1985) e hipoproteinemia (DUFFY et al., 1985; ARMESTO et al., 1989). Em **suínos** evidenciou-se elevação dos níveis de ureia e creatinina (BUCK et al., 1966; OSWEILER; BUCK; BICKNELL, 1969), hipercalcemia (OSWEILER; BUCK; BICKNELL, 1969), hipocalcemia e hiperfosfatemia (BUCK et al., 1966).

Foram realizadas ainda análise da urina de **bovinos** (STUART et al., 1975; ARMESTO et al., 1989) e **suínos** (BUCK et al., 1966) que revelaram proteinúria. E em suínos ainda foi possível observar cristais de oxalato na urina e traços de glicose (BUCK et al., 1966).

Na literatura consultada não há relatos de análises bioquímicas ou urinálise de **ovinos** intoxicados por *Amaranthus* spp.

Descrições macroscópicas das lesões observadas em **ovinos** intoxicados por *A. retroflexus* consistiram apenas em efusão torácica serossanguinolenta, ascite e hemorragias perirrenais (RAE; BINNINGTON, 1995). Nos ovinos intoxicados por *A. spinosus* as alterações mais frequentes foram rins pálidos, estriações esbranquiçadas que afetam desde a região cortical até a medular, avermelhamento da mucosa do intestino delgado e evidenciação da lobulação do fígado (PEIXOTO et al., 2003).

À **necropsia**, os principais achados referentes à intoxicação espontânea por plantas desse gênero em **bovinos** incluem edema perirrenal (JEPPESEN, 1966; DUFFY et al., 1985; ARMESTO et al., 1989; LEMOS et al., 1993; CASTEEL et al., 1994; TORRES et al., 1997), caracterizado por grande volume de fluido gelatinoso de coloração palha em torno dos rins, em alguns casos envolvendo também ureteres, bexiga e outros órgãos pélvicos (STUART et al., 1975). Hemorragia, sob a forma de grande hematoma subcapsular bilateral, é relatada na região perirrenal de um animal

(TORRES et al., 1997). Outros achados frequentes incluem ascite (JEPPESEN, 1966; DUFFY et al., 1985; ARMESTO et al., 1989; FERREIRA et al., 1991; LEMOS et al., 1993; CASTEEL et al., 1994; TORRES et al., 1997; KERR; KELCH, 1998), hidrotórax (DUFFY et al., 1985; ARMESTO et al., 1989; FERREIRA et al., 1991; LEMOS et al., 1993; CASTEEL et al., 1994; TORRES et al., 1997) e hidropericárdio (DUFFY et al., 1985; ARMESTO et al., 1989; LEMOS et al., 1993; TORRES et al., 1997). Os rins encontram-se tumefeitos (STUART et al., 1975; FERREIRA et al., 1991; LEMOS et al., 1993; TORRES et al., 1997; KERR; KELCH, 1998), pálidos (LEMOS et al., 1993; TORRES et al., 1997), amarelados (STUART et al., 1975; ARMESTO et al., 1989; FERREIRA et al., 1991), ou bronzeados (STUART et al., 1975), com petéquias (STUART et al., 1975; ARMESTO et al., 1989; KERR; KELCH, 1998) e equimoses (ARMESTO et al., 1989). O córtex renal apresenta-se pálido (DUFFY et al., 1985), ou branco-amarelado (ARMESTO et al., 1989), com petéquias (STUART et al., 1975; ARMESTO et al., 1989) e, em alguns casos, com linhas esbranquiçadas em forma de raio (STUART et al., 1975; DUFFY et al., 1985) que estendem-se à medular. Esta por vezes, está hiperêmica (ARMESTO et al., 1989) ou arroxeadada (DUFFY et al., 1985). Adicionalmente, descreve-se discreto edema da pelve renal (SCHILD et al., 1996).

No trato gastrointestinal, erosões (SCHILD et al., 1996) e úlceras (FERREIRA et al., 1991; LEMOS et al., 1993; TORRES et al., 1997) são encontradas em toda a extensão da mucosa do esôfago. Estas ulcerações são lineares, arredondadas ou irregulares, recobertas por exsudato amarelado ou marrom, podem ser vistas também na mucosa da língua (LEMOS et al., 1993; TORRES et al., 1997), faringe (LEMOS et al., 1993), pulvino dentário e bochechas (TORRES et al., 1997). No rúmen pode haver marcado edema de parede (TORRES et al., 1997), grande quantidade de líquido (DUFFY et al., 1985; ARMESTO et al., 1989; SCHILD et al., 1996) e sementes de *Amaranthus* spp. (DUFFY et al., 1985; ARMESTO et al., 1989; SCHILD et al., 1996). Por vezes, há ulcerações (TORRES et al., 1997), assim como petéquias e sufusões nos pilares desse órgão (DUFFY et al., 1985). Hiperemia, além de petéquias, equimoses e sufusões podem ser vistas nas folhas do omaso, cujo conteúdo apresenta-se desidratado, fétido e com sementes (ARMESTO et al., 1989); úlceras são observadas na junção omaso-abomasal (TORRES et al., 1997). No abomaso, além de edema da mucosa (DUFFY et al., 1985; TORRES et al., 1997) ou da submucosa, particularmente evidente nas dobras (ARMESTO et al., 1989; LEMOS et al., 1993), verificam-se hiperemia, petéquias, equimoses e sufusões (ARMESTO et al., 1989) e abundante conteúdo pastoso com grande número de sementes (FERREIRA et al., 1991). Relatam-se também, erosões na mucosa (FERREIRA et al., 1991) e ulcerações focais, lineares, avermelhadas, ao longo das faces laterais das dobras do abomaso (LEMOS et al., 1993). Edema das paredes do íleo e do cólon, congestão e úlceras botonosas na mucosa do cólon e do ceco, e conteúdo sanguinolento no íleo, no cólon e no reto podem ser observados (LEMOS et al., 1993). DUFFY et al. (1985) descrevem material fecal duro e recoberto de muco no cólon e no reto, além de prolapso retal. No mesentério podem ser encontrados edema (LEMOS et al., 1993; TORRES et al., 1997), petéquias e sufusões coalescentes, formando, por vezes, grandes hematomas (LEMOS et al., 1993). O fígado pode apresentar-se congesto e com bordos arredondados (DUFFY et al., 1985; ARMESTO et al., 1989), enquanto a vesícula biliar, além de escasso conteúdo verde-claro, evidencia petéquias na serosa, e em alguns casos, úlceras e erosões na mucosa (ARMESTO et al., 1989).

Em **suínos**, tanto nas intoxicações naturais quanto nas experimentais com *Amaranthus* spp., os **achados macroscópicos** são semelhantes e invariavelmente incluem edema perirrenal (BUCK et al., 1965; BUCK et al., 1966; OSWEILER;

BUCK; BICKNELL, 1969; SANKO, 1975; SALLES et al., 1991; KOMMERS et al., 1996), em alguns casos, com volume de líquido gelatinoso ocupando grande porção da cavidade abdominal (BUCK et al., 1966). Em animais com curso clínico mais longo, podem ser vistas uma grande quantidade de sangue no fluido edematoso (BUCK et al., 1966). Os rins têm tamanho normal (BUCK et al., 1965; BUCK et al., 1966; SALLES et al., 1991), são pálidos (BUCK et al., 1965; BUCK et al., 1966; OSWEILER; BUCK; BICKNELL, 1969; KOMMERS et al., 1996) ou bronzeados (SALLES et al., 1991), com áreas de hiperemia (BUCK et al., 1965; SANKO, 1975) que se estendem no córtex (BUCK et al., 1966); ocasionalmente os rins estão aumentados, congestos e contendo equimoses no córtex (BUCK et al., 1965; BUCK et al., 1966). A cápsula renal pode ser facilmente removida (SALLES et al., 1991). Petéquias (OSWEILER; BUCK; BICKNELL, 1969; KOMMERS et al., 1996) e equimoses (OSWEILER; BUCK; BICKNELL, 1969) podem ser vistas na superfície subcapsular. Em um caso, havia marcado edema das papilas renais (KOMMERS et al., 1996). Outros achados comuns incluem edema retroperitoneal (BUCK et al., 1965; SALLES et al., 1991; KOMMERS et al., 1996) e perirretal (BUCK et al., 1965; BUCK et al., 1966), ascite (BUCK et al., 1965; BUCK et al., 1966; OSWEILER; BUCK; BICKNELL, 1969; SANKO, 1975; SALLES et al., 1991; KOMMERS et al., 1996), hidrotórax (BUCK et al., 1965; BUCK et al., 1966; OSWEILER; BUCK; BICKNELL, 1969; SALLES et al., 1991; KOMMERS et al., 1996), hidropericárdio (SALLES et al., 1991; KOMMERS et al., 1996) e edema da parede abdominal ventral (BUCK et al., 1965; BUCK et al., 1966; OSWEILER; BUCK; BICKNELL, 1969; SALLES et al., 1991; KOMMERS et al., 1996). Com menos frequência, foram observados também edemas de mesentério, linfonodos da cavidade abdominal (KOMMERS et al., 1996), estômago (BUCK et al., 1966) e testículo (SANKO, 1975).

Na histopatologia Rae e Binnington (1995) observaram marcada nefrose tubular aguda (caracterizada por necrose de coagulação) com cilindros hialinos intratubulares nos **ovinos** intoxicados com *A. retroflexus* e Peixoto et al. (2003) descrevem além da nefrose tubular tóxica e “degeneração em gotas hialinas” das células epiteliais dos túbulos contornados. Lesões extrarrenais incluíam microfocos de necrose coagulativa distribuídos aleatoriamente no fígado, pneumonia intersticial incipiente, áreas de broncopneumonia exsudativa secundária e importantes alterações no coração sob forma de focos ou áreas relativamente extensas de necrose de coagulação.

Em **bovinos** intoxicados com *Amaranthus* spp., as **lesões histológicas** consistem de necrose do epitélio dos túbulos contorcidos, com formação de cilindros hialinos intratubulares (STUART et al., 1975; ARMESTO et al., 1989; FERREIRA et al., 1991; LEMOS et al., 1993; CASTEEL et al., 1994; KERR; KELCH, 1998). São descritos também, regeneração do epitélio tubular, fibrose intersticial e espessamento da cápsula de Bowman (STUART et al., 1975; FERREIRA et al., 1991; LEMOS et al., 1993). Em um surto, Ferreira et al. (1991) observaram cristais semelhantes aos de oxalato nos túbulos renais de um único animal e lesões degenerativas e necróticas na mucosa esofágica em todos os bovinos necropsiados. No abomaso havia áreas de necrose do epitélio superficial, com congestão e hemorragia na lâmina própria. Alterações vasculares caracterizadas por espessamento da parede de arteríolas, com proliferação de células endoteliais e, em alguns casos, com destruição total do endotélio e infiltrado inflamatório foram observadas no rim, intestino grosso e rúmen (DUFFY et al., 1985).

Stuart et al. (1975) descrevem intoxicação por *A. retroflexus* em novilhas que apresentavam microscopicamente, além da nefrose tubular tóxica, moderada hialinização de arteríolas do pulmão e coração e moderada necrose fibrinóide de alguns vasos da submucosa do trato gastrointestinal.

Em **suínos**, os relatos referentes aos **achados histopatológicos** nas intoxicações por *Amaranthus* spp., incluem degeneração e necrose dos túbulos contorcidos renais, cujo lúmen contém cilindros hialinos, dilatação do espaço urinário, retração e aumento da celularidade do tufo glomerular (BUCK et al., 1966; OSWEILER; BUCK; BICKNELL, 1969; SALLES et al., 1991). Raros cristais refringentes foram observados no interior de túbulos da camada cortical (KOMMERS et al., 1996).

Quadro 1 – Sinais clínicos e quadro anatomopatológico de ovinos intoxicados por *Amaranthus* spp.

Referência	Sinais clínicos	Alterações macroscópicas	Alterações microscópicas
RAE, BINNINGTON, 1995 (<i>A. retroflexus</i> , intox. natural)	Fraqueza, depressão e diarreia	Hemorragias perirrenais, efusão torácica sero-sanguinolenta e ascite	Nefrose tubular aguda com cilindro hialinos intratubulares
PEIXOTO et al., 2003 (<i>A. spinosus</i> , intox. natural)	Hálito urêmico, ausência de movimentos ruminais, dispneia, espuma esbranquiçada nas narinas, mucosa oral, vaginal e ocular congestas, vasos episclerais ingurgitados e na fase final, diminuição ou ausência de reflexo pupilar, palpebral, auricular e anal e menor sensibilidade nos membros de um dos animais	Rins pálidos, estriações esbranquiçadas que iam desde o córtex até a medular, avermelhamento da mucosa do intestino delgado e evidenciação da lobulação hepática	Nefrose tubular tóxica, caracterizada por necrose de coagulação e degeneração em gotas hialinas das células epiteliais dos túbulos contornados, microfocos de necrose coagulativa distribuídos aleatoriamente no fígado, pneumonia intersticial incipiente, áreas de broncopneumonia exsudativa secundária e importantes alterações no coração sob forma de focos ou áreas relativamente extensas de necrose de coagulação

Quadro 2 – Sinais clínicos e quadro anatomopatológico de bovinos intoxicados naturalmente por *Amaranthus* spp.

Referência	Sinais clínicos	Alterações macroscópicas	Alterações microscópicas
DUFFY et al., 1985 (<i>A. quitensis</i> , intox. natural)	Depressão, abdômen abaulado, enoftalmia, coprostasia, membros posteriores “entrevados” e prolapso retal.	Edema perirrenal, rins tumefeitos, pálidos ou bronzeados com petéquias, córtex renal pálido, em alguns casos com linhas brancas em forma de raio, medular arroxeadada, ascite, hidrotórax, hidropéricárdio, rúmen destendido com grande quantidade de líquido e pouco material sólido com muitas sementes pequenas, petéquias e sufusões nos pilares, fígado congesto com bordos arredondados e pulmões congestos.	Alguns glomerúlos com aumento de celularidade, outros muito pequenos, túbulos proximais com epitélio aplainado e numerosos grânulos eosinofílicos no citoplasma, quase todos os túbulos do córtex com alterações degenerativas e núcleos picnóticos com a luz muito dilatada, na medula quase todos os túbulos continham grande quantidade de material proteináceo, as arteíolas renais levemente espessadas. No intestino grosso havia necrose, erosão, infiltrado inflamatório superficial e na submucosa, hiperplasia dos folículos linfoides e espessamentos das arteríolas. No rúmen múltiplos hematomas entre as fibras musculares da parede, junto a focos de necrose com abundante polimorfonucleares, destruição total do endotélio vascular.
FERREIRA et al., 1991 (<i>Amaranthus</i> spp., intox. natural)	Depressão, anorexia, rinorréia sanguinolenta, movimentos ruminais diminuídos ou ausentes, diarreia por vezes hemorrágica, incoordenação. Casos com curso prolongado – polidipsia, emagressimento progressivo, lentidão nos movimentos e decúbito prolongado.	Rins tumefeitos e amarelados, petéquias no tecido subcutâneo e serosas, ascite, hidrotórax, úlceras na mucosa do esôfago; as mucosas do abomaso, intestino, laringe e traqueia congestas, erosões no epitélio do abomaso e laringe e conteúdo pastoso ou líquido no abomaso com grande quantidade de sementes de <i>Amaranthus</i> spp.	Nefrose tubular tóxica com vacuolização, picnose, cariorrexia e posterior descamação do epitélio tubular, “degeneração em gotas hialinas”, raras ocasiões de necrose de coagulação dos túbulos. acantose, paraqueratose, vacuolização e infiltrado inflamatório nas camadas superficiais do esôfago e áreas de ulceração, congestão e hemorragia no abomaso.
LEMOS et al., 1993 (<i>A. spinosus</i> , intox. natural)	Depressão, anorexia, edema submandibular, de barbel e na região posterior da coxa, movimentos ruminais diminuídos, diarreia negra e fétida, por vezes hemorrágica ou misturada ao sangue digerido, abdômen abaulado. Casos com curso prolongado – emagrecimento progressivo, dificuldade de locomoção, decúbito prolongado e desprendimento de cascos de alguns animais	Edema perirrenal, rins tumefeitos e pálidos, ascite, hidrotórax, hidropéricárdio, edema subcutâneo de declive, petéquias no subcutâneo intramuscular, ulcerações na língua, faringe, esôfago, abomaso, cólon e ceco, edema da mucosa do abomaso e da parede do íleo e cólon, edema, sufusões e hematoma no mesentério, congestão da mucosa do cólon e ceco e broncopneumonia abscedativa multifocal.	Acentuada nefrose, na língua, faringe e esôfago havia destruição completa do epitélio, nas áreas de necrose, substituído por exsudato espesso, eosinofílico com infiltrado inflamatório e colônias bacterianas, no intestino grosso, observou-se edema da parede e submucosa, com necrose focal da mucosa e presença de bactérias, necrose hialina e trombose em pequenas artérias da submucosa, tumefação hepatocelular difusa e necrose individual de hepatócitos.
SCHILD et al., 1996 (<i>Amaranthus</i> spp., intox. natural)	Depressão, diarreia por vezes hemorrágica, abdômen abaulado e incoordenação.	Discreto edema hemorrágico da pelve renal, erosões da mucosa do esôfago, petéquias discretas no peritônio, conteúdo líquido do rúmen, com numerosas sementes de caruru.	Nefrose tubular tóxica.
TORRES et al., 1997 (<i>A. retroflexus</i> , intox. natural)	Depressão, edema na região posterior da coxa, rinorréia sanguinolenta, diarreia por vezes hemorrágica e incoordenação	Edema perirrenal, rins tumefeitos e pálidos, hemorragia subcapsular perirrenal (1 caso), ascite, hidrotórax, hidropéricárdio, edema subcutâneo, hemorragias no epi e endocárdio, úlceras no pulvino dentário, mucosa das bochechas e na junção do omaso com o abomaso.	Nefrose tóxica caracterizada por marcada degeneração e necrose tubular, associada com dilatação tubular, regeneração epitelial e proteinose. Rinite fibrino-necrótica multifocal, glossite aguda superficial, estomatite fibrino-necrótica aguda multifocal e extensa esofagite fibrino-necrótica.

Quadro 2 – Continuação

Referência	Sinais clínicos	Alterações macroscópicas	Alterações microscópicas
KERR; KELCH, 1998 (<i>A. retroflexus</i> , intox. natural)	Depressão, taquipnéia, taquicardia, tremores musculares.	Rins tumefeitos e com petéquias e ascite.	Necrose do epitélio dos túbulos contorcidos, com formação de cilindros hialinos intratubulares.
STUART et al., 1975 (<i>A. retroflexus</i> , intox. natural)	Fraqueza, movimentos ruminais diminuídos ou ausentes, tremores musculares. Casos com curso prolongado – relutância em manter-se em estação.	Edema perirrenal, rins tumefeitos, pálidos ou bronzeados com petéquias e ascite.	Extensa necrose do epitélio tubular, com debris nucleares e material granular eosinofílico no lúmen, cilindros hialinos, regeneração epitelial e moderada fibroplasia intersticial. Moderada hialinização de arteríolas do pulmão e do coração, necrose fibrinoide moderada de alguns vasos da submucosa do trato gastrointestinal e miopatia degenerativa.
ARMESTO et al., 1989 (<i>A. quitensis</i> , intox. natural)	Enoftalmia, edema de pálpebra e face, rinorréia aquosa, taquipnéia, taquicardia, pulso imperceptível, odor “urinoso” no ar expirado, movimentos ruminais ausentes, coprostasia, diarreia negra e fétida, abdômen abaulado, polaquiúria, oligúria, tremores musculares, paresia de posterior com obnubilação do sensório e decúbito esterno-costal.	Edema perirrenal, rins amarelados com petéquias e equimoses, córtex renal branco-amarelado, com petéquias e equimoses, medular, por vezes hiperêmica, ascite, hidrotórax, hidropericárdio, ureteres com marcada hipertrofia com edema do tipo concêntrico, edema subcutâneo, material marcadamente desidratado, follhas com hiperemia, petéquias, equimoses e sufusões, assim como no abomaso. Fígado congesto e pulmão com ligeiro edema intersticial e alveolar.	Túbulos renais com necrose epitelial, outros com epitélio atrófico e dilatação cística, muitos com cilindros hialinos e celulares, edema de submucosa e mucosa dos ureteres. Edema de mucosa e submucosa, além de marcada paraqueratose no rúmen, congestão intersticial com infiltrado mononuclear, áreas de enfisema, edema interlobular e pleural no pulmão, edema interfibrilar no miocárdio e leve tumefação hepatocelular.
CASTEEL et al., 1994 (<i>A. retroflexus</i> , intox. natural)	Desidratação, edema na região ventral, diarreia. Casos com curso prolongado – emagrecimento progressivo.	Edema perirrenal, ascite e hidrotórax.	Necrose do epitélio dos túbulos contorcidos, com formação de cilindros hialinos intratubulares.
JEPPESEN, 1996 (<i>Amaranthus</i> spp., intox. natural)	Lentidão nos movimentos.	Edema perirrenal e cavitário.	Não relatado.

Quadro 3 – Sinais clínicos e quadro anatomopatológico de suínos intoxicados por *Amaranthus* spp.

Referência	Sinais clínicos	Alterações macroscópicas	Alterações microscópicas
BUCKK et al., 1965 (<i>Amaranthus</i> spp., intox. natural)	Fraqueza, tremores, incoordenação dos membros posteriores, articulações posteriores flexionadas, decúbito esternal, coma e morte dentro de 24 horas.	Edema perirrenal, rins pálidos com áreas de hiperemia, ocasionalmente os rins estão aumentados, congestos e contendo hemorragias equimóticas no córtex, edema retroperitoneal e perirrteal, ascite, hidrotórax e edema da parede abdominal ventral.	Não relatado.
BUCK et al., 1966 (<i>Amaranthus</i> spp., intox. natural)	Fraqueza, tremores, incoordenação dos membros posteriores, articulações posteriores flexionadas que evoluía para paresia quase completa dos membros posteriores, decúbito esternal, algumas vezes as áreas ventro-caudais do abdômen apresentavam-se tumefeitas, a fraqueza evoluía para coma e morte dentro de 24 horas.	Edema perirrenal com líquido gelatinoso ocupando grande porção da cavidade abdominal, rins pálidos com áreas de hiperemia que se estendem no córtex, ocasionalmente os rins estão aumentados, congestos e contendo hemorragias equimóticas no córtex, edema perirrteal, ascite, hidrotórax, edema da parede abdominal ventral e estômago.	Nefrose tubular tóxica, os túbulos proximais eram os mais severamente afetados, os túbulos estavam tumefeitos, com degeneração em gotas hialinas e necrose; alguns túbulos continham cilindros proteicos. A maioria das lesões localizavam-se no córtex renal. Outra lesão constante incluía cristais semelhantes a oxalato, focos de hemorragia, áreas de infiltração leucocítica e alterações como hiper celularidade glomerular. Lesões não específicas como degeneração neuronal, neuroniofagia, cromatólise central, formação de nódulos gliais e edema perineural.
SALLES et al., 1991 (<i>Amaranthus</i> spp., intox. natural)	Fraqueza, tremores, incoordenação dos membros posteriores, coma e morte dentro de 48 horas.	Edema perirrenal, rins bronzeados, edema retroperitoneal, ascite, hidrotórax, hidropericárdio e edema da parede abdominal ventral.	Lesão tubular aguda, degeneração hidrópica e balonosa marcada no epitélio tubular, abundantes cilindros tubulares, leve aumento da celulares glomerular e marcada atelectasia nos pulmões.
SANKO, 1975 (<i>A. retroflexus</i> , intox. natural)	Ataxia, incoordenação dos membros posteriores, incapacidade de se levantar e decúbito esternal.	Edema perirrenal, rins com áreas de hiperemia, ascite e edema testicular.	Não relatado.
KOMMERS et al., 1996 (<i>Amaranthus</i> spp., intox. natural)	Anorexia, apatia, andar incoordenado, rigidez muscular, decúbito lateral e morte.	Edema perirrenal, rins pálidos, petéquias na superfície subcapsular, em um caso marcado edema das papilas renais, edema retroperitoneal, ascite, hidrotórax, hidropericárdio, edema da parede abdominal ventral e edemas de mesentério e linfonodos da cavidade abdominal.	Nefrose tubular tóxica, afetando principalmente os túbulos contornados proximais, alguns túbulos estavam dilatados e outros continham cilindros hialinos ou granuloses. Raros cristais refringentes foram observados no interior de túbulos da cortical. Glossite e esofagite fibrinonecroticas também foram observadas.
OSWEILER, BUCK; BICKNELL, 1969 (<i>A. retroflexus</i> , intox. natural)	Fraqueza, tremores, depressão, incoordenação dos membros posteriores com progressão para paresia, “andar agachado peculiar”, depois paresia flácida generalizada e paralisia.	Edema perirrenal, rins pálidos, petéquias e equimoses na superfície subcapsular, ascite, hidrotórax e edema da parede abdominal ventral.	Degeneração hidrópica e necrose coagulativa dos túbulos contorcidos proximais e distais, aumento da celularidade glomerular, dilatação da capsula de Bowman e diversos cilindros tubulares.
TAKKEN; CONNOR, 1984 (<i>A. caudatus</i> , intox. natural)	Morte súbita, sem sintomatologia clínica.	Quantidades variáveis de líquido de coloração avermelhada com filamentos de fibrina no tórax, saco pericárdico e cavidade abdominal.	Degeneração miocárdica que variava de leve a severa.

2.1.1.2.2 Intoxicação por nitrito

Casos naturais de intoxicação por nitratos/nitritos contidos em *Amaranthus* spp. em **ruminantes** cursam com evolução aguda (BRAKENRIDGE, 1956; DOOD; COUP, 1957, EGYED; MILLER, 1963; RIVERA et al., 1984) ou superaguda (STROM, 1967; DUCKWORTH, 1975); neste último caso, os animais morrem ou são encontrados mortos entre 4 e 12 horas após iniciarem a ingestão da planta. Metemoglobinemia é o principal achado na patologia clínica na maioria dos casos e o sangue exibe cor achocolatada (BRAKENRIDGE, 1956; EGYED; MILLER, 1963; STROM, 1967) ou marrom-escuro (DOOD; COUP, 1957; DUCKWORTH, 1975). Outros sinais clínicos consistem em mucosas cianóticas, (BRAKENRIDGE, 1956; STROM, 1967) ou com coloração marrom-chocolate (EGYED; MILLER, 1963), dispneia (EGYED; MILLER, 1963), apatia (BRAKENRIDGE, 1956), tremores musculares (BRAKENRIDGE, 1956; DUCKWORTH, 1975) e incoordenação (BRAKENRIDGE, 1956; DOOD; COUP, 1957; EGYED; MILLER, 1963; STROM, 1967). Adicionalmente, são descritos, regurgitação (STROM, 1967) imobilidade, com a cabeça baixa forçando contra obstáculos (BRAKENRIDGE, 1956) e tendência à agressividade (DUCKWORTH, 1975).

À **necropsia**, **bovinos** e **ovinos** revelam poucas alterações. O sangue apresenta-se de cor chocolate (DODD; COUP, 1957; RIVERA et al., 1984), há congestão do fígado, baço e rins, petéquias e equimoses na traqueia e epicárdio, congestão e edema pulmonar e distensão do rúmen com abundante quantidade de *Amaranthus* spp. (RIVERA et al., 1984).

Nas descrições de intoxicação por *Amaranthus* spp. em **bovinos** e **ovinos** atribuídas aos nitratos/nitritos, não há menção quanto a **exames histopatológicos**.

2.1.1.2.3 Intoxicação por oxalato

González (1983) descreve os achados macro e microscópicos, além dos sinais clínicos de seis casos de intoxicação por oxalatos em ovinos e caprinos associados à ingestão de plantas do gênero *Amaranthus* spp.

Os sinais clínicos apresentados pelos animais são ataxia, tremores musculares, debilidade e hiperexcitabilidade. O exame necroscópico revela rins com colorações que variavam de âmbar à verde amarelado, a superfície de corte mostra uma clara demarcação da zona cortical, edema da pelve renal e fluí um líquido seroso transparente do parênquima renal (GONZÁLEZ, 1983).

Microscopicamente, há degeneração albuminosa e vacuolização das células epiteliais dos túbulos contorcidos e das alças de Henle; depósitos de cristais poliédricos, refringentes, transparentes, por vezes, amarelados que ocluíam total ou parcialmente a luz dos túbulos, pode haver picnose e diminuição do citoplasma das células epiteliais tubulares devido à pressão dos cristais e em outros casos observa-se unicamente a necrose do epitélio (GONZÁLEZ, 1983).

As avaliações bioquímicas de alguns animais revelaram hipocalcemia, hiperfosfatemia e hipermagnesemia (GONZÁLEZ, 1983).

2.1.2 *Thiloa glaucocarpa*

Thiloa glaucocarpa é uma árvore arbustiva pertencente à família Combretaceae (Figura 2), característica da caatinga, conhecida pelos nomes “sipaúba” e “vaqueta”, também tem sido observada em áreas do litoral nordeste, principalmente, nos estados do Piauí e do Ceará, bem como no oeste da Bahia e nordeste de Minas Gerais (TOKARNIA et al., 1981; TOKARNIA et al., 2012).



Figura 2 – Aspecto botânico de *Thiloa glaucocarpa* em floração (Cortesia Dr. Saulo Caldas)

A doença causada por esta planta é conhecida popularmente como “popa-inchada”, “venta-seca”, “mal-da-rama” e “mal-da-rama-murcha” (TOKARNIA et al., 1981; TOKARNIA et al., 2012).

Os casos de intoxicação ocorrem sob forma de surtos e principalmente no inverno, logo após a primeira chuva (TOKARNIA et al., 2012).

2.1.2.1 Quadro clínico-patológico

A evolução da doença é subaguda entre 5 e 20 dias, com alguns casos de evolução menor do que 5 dias. Os sinais clínicos na intoxicação por *T. glaucocarpa* são caracterizados por edemas subcutâneos, principalmente na parte posterior da coxa (daí o nome “popa-inchada”), períneo, região supra-mamária, prepúcio e escroto, parede látero-inferior do abdômen, que se estendem, também, à parte inferior da barbela e à região da escápula (TOKARNIA et al., 1981; TOKARNIA et al., 2012), há casos em que observa-se, principalmente, aumento do volume do abdômen por acúmulo de líquido na cavidade abdominal (TOKARNIA et al., 1981). Em alguns bovinos não há de edemas (“venta seca”), porém outras manifestações semelhantes a da “popa-inchada” ocorrem. Estas manifestações são principalmente digestivas, como por exemplo, anorexia, parada da ruminação, parada dos movimentos ruminais, fezes ressequidas e sob forma de esferas, passando a pastosas, sempre com muito muco. Além desses sinais clínicos os animais apresentam ainda, focinho seco, corrimento catarral, por vezes sanguinolento, com formação de crostas nas narinas, tendência à hipotermia, emagrecimento progressivo, pêlo áspero e andar lento e arrastado (TOKARNIA et al., 1981). Pode haver também aumento nos níveis de ureia e creatinina (MIRANDA NETO et al., 2009).

Os achados de necropsia incluem edemas subcutâneos em graus e extensões variáveis (nos casos de popa-inchada), derrames serosos nas cavidades abdominal e torácica e no saco pericárdio, edemas no mesentério, perirrenal (principalmente rim esquerdo) e nas dobras do abomaso. Rins pálidos, petéquias, equimoses e sufusões no epi e endocárdio, nas mucosas da traqueia, do abomaso e do intestino grosso (TOKARNIA et al., 1981; TOKARNIA et al., 2012). Úlceras e necroses difteróides nas mucosas das narinas, laringe, traqueia, faringe e do esôfago, palidez e evidenciação da lobulação hepática, conteúdo avermelhado no intestino e ressequido e com muco no cólon e por vezes hepatização de lobos na parte anterior do pulmão unilateralmente (MIRANDA NETO et al., 2009; TOKARNIA et al., 1981).

No exame histopatológico as alterações mais significativas são encontradas no rim sob forma de necrose tubular tóxica (TOKARNIA et al., 2012), caracterizada por degeneração e necrose coagulativa das células epiteliais de grande parte dos túbulos do córtex renal, principalmente os túbulos proximais, com formação de cilindros hialinos, dilatação de alguns

túbulos (MIRANDA NETO et al., 2009; TOKARNIA et al., 1981). As células epiteliais necróticas se transformam em massas eosinofílicas amorfas que preenchem todo o túbulo, externamente delimitadas pela membrana basal (TOKARNIA et al., 1981).

Outros órgãos podem apresentar alterações como o fígado, o pulmão e as vias digestivas. No fígado, há relato de necrose hepática, em parte do tipo coagulativa, em parte do tipo fibrinoide e vacuolização celular. No pulmão, pode-se observar edema interlobular e nas vias digestivas áreas de necrose fibrinoide (TOKARNIA et al., 1981).

2.1.2.2 Princípio tóxico

Itakura, Habermehl e Mebs (1987) isolaram quatro taninos como princípios tóxicos da planta. Esses taninos foram identificados como vescalagina, castalagina, stachyurina e casuarinina.

Foram realizados experimentos com as folhas ou brotação de *Thiloa glaucocarpa* e com os extratos de vescalagina e castalagina em coelhos (TOKARNIA; PEIXOTO; DÖBEREINER, 1988). Tanto nos experimentos com a planta como nos experimentos com os extratos predominavam alterações hepáticas e, em bem menor intensidade, lesões renais. As lesões histológicas do fígado se caracterizam, principalmente, por tumefação de hepatócitos. Morfologicamente, os hepatócitos apresentam grande aumento de volume, citoplasma de aspecto espumoso, muito rarefeito, núcleos vesiculosos, também aumentados de volume e com cromatina marginada, alguns com picnose nuclear (TOKARNIA; PEIXOTO; DÖBEREINER, 1988).

2.1.3 *Metternichia princeps*

Metternichia princeps planta recentemente descrita como tóxica é uma árvore da família Solanaceae (Figura 3), conhecida popularmente como “café-do-mato”, “trombeteira” e “jasmin-do-morro”. A planta foi responsável pela intoxicação natural e a morte de caprinos no município de Itaguaí no Estado do Rio de Janeiro. Apesar da ampla distribuição da planta na mata atlântica, do Rio de Janeiro até a Bahia, há apenas um único caso de intoxicação relatado (PRADO et al., 2012).

O princípio tóxico de *M. princeps* ainda é desconhecido. Em caprinos, ovinos e bovinos predominam alterações renais, enquanto que nos coelhos observam-se alterações cardíacas e hepáticas; pode ser que os princípios tóxicos responsáveis pela intoxicação nos ruminantes não sejam os mesmos para coelhos, ou o coelho reaja aos princípios de maneira diferente dos ruminantes (TOKARNIA et al., 2012).



Figura 3 – Aspecto botânico de *Metternichia princeps* em floração (Cortesia Dr. Saulo Caldas)

2.1.3.1 Quadro clínico-patológico da intoxicação natural

Na intoxicação natural pela *M. princeps* (Quadro 4) em **caprinos**, a partir do sétimo dia após a introdução dos animais no pasto em que havia a planta, pelo menos 15 de um total de 70 caprinos morreram. Os principais **sinais clínicos** iniciavam-se de dois a três dias após os caprinos serem introduzidos ao pasto com a planta, que se caracterizavam por apatia, emagrecimento progressivo, fraqueza muscular até acentuada atrofia muscular, relutância ao movimento, decúbito esternal e, posteriormente, decúbito lateral. Ao serem colocados em estação mantinham os membros anteriores flexionados e apoiavam apenas os posteriores no chão, até evoluírem para flexão dos quatro membros. O apetite, temperatura, movimentos ruminais, frequência cardíaca e respiratória, permaneciam normais até próximo à morte (PRADO et al., 2012).

À **necropsia** se destacavam em todos os caprinos afetados pela doença, caquexia, edema de tecido adiposo perirrenal, rins pálidos com estriações esbranquiçadas do córtex até a medular, evidênciação do padrão lobular do fígado e, ocasionalmente, ulceração na língua, faringe e no esôfago (PRADO et al., 2012).

Ao exame **histopatológico** a principal lesão observada nos rins de 4 dos 10 caprinos necropsiados que morreram naturalmente foi necrose tubular tóxica, caracterizada por necrose coagulativa de grupos de túbulos uriníferos no córtex renal, havia ainda cilindros hialinos e precipitados de albumina e, menos frequentemente, neutrófilos e detritos celulares. No fígado, havia leve vacuolização e necrose incipiente de hepatócitos. Nos outros órgãos, não havia lesões significativas (PRADO et al., 2012).

2.1.3.2 Quadro clínico-patológico da intoxicação experimental

Nos casos experimentais (Quadro 4) em **caprinos** os animais morreram com doses de 30g/kg em cinco dias, 15g/kg em três dias, doses únicas de 10g/kg e 5g/kg. Os **ovinos** morreram com doses de 20g/kg em dois dias, dose única de 10g/kg e a dose de 5g/kg causou a morte de apenas um de três ovinos. Em relação aos **bovinos** verificou-se que a dose 40g/kg causou a morte de dois bovinos, a de 20g/kg foi letal em um de três bovinos e a de 15g/kg não causou morte (CALDAS et al., 2012, PRADO et al., 2012).

Em **caprinos** intoxicados experimentalmente o início dos **sinais clínicos** após a ingestão da planta variou de 7h a 46h45min. O quadro clínico se caracterizava principalmente por inapetência, adipsia, apatia, relutância ao movimento, evoluindo para decúbito esternal, flexão dos membros e decúbito lateral (PRADO et al., 2012).

Os primeiros **sinais clínicos** do experimento com **ovinos** foram observados entre 20 a 30 horas após o início da administração da planta. Em todos os ovinos que morreram foram observados principalmente apatia, anorexia, redução na quantidade e intensidade dos movimentos ruminais, até atonia, acabavam por assumir um decúbito esterno-abdominal, depois lateral e seguia-se a morte (CALDAS et al., 2012).

Nos experimentos com **bovinos** os **sinais clínicos** se iniciaram entre 9 e 61 horas após o início da administração da *M. princeps*. Os animais que morreram mostravam inapetência até anorexia, diminuição da frequência e intensidade dos movimentos ruminais até atonia, andar incoordenado, decúbito esternal com a cabeça encostada no flanco, respiração lenta e profunda, decúbito lateral e morte (CALDAS et al., 2012).

Ao exame **necroscópico** dos **caprinos** intoxicados experimentalmente destacaram-se edema de tecido adiposo perirrenal, rins pálidos com estriações esbranquiçadas desde o córtex até a medular, e fígado com evidênciação do padrão lobular (PRADO et al., 2012). Já nos **ovinos**, havia líquido citrino nas cavidades epicárdicas e abdominal, edema perirrenal, edema do mesentério envolvendo diversos órgãos, líquido espumoso na traqueia, fígado com evidênciação da lobulação e fígado pálido (CALDAS et al., 2012). Nos **bovinos** os achados

de necropsia se resumiam a líquido citrino no saco pericárdico e edema perirrenal (CALDAS et al., 2012).

Os achados **histopatológicos** dos **caprinos** intoxicados experimentalmente são muito semelhantes aos observados nos casos de intoxicação natural. As principais lesões encontravam-se no rim, sob forma de necrose tubular tóxica, caracterizada por necrose de coagulação dos túbulos uriníferos no córtex renal, as células epiteliais estavam transformadas em massas eosinofílicas amorfas, que preenchiam a luz dos túbulos, externamente delimitadas apenas pela membrana basal, além de cilindros hialinos e precipitados albuminosos. Observou-se ainda vacuolização, em grandes vacúolos, de intensidade leve a moderada e vacuolização em vacúolos pequenos, em outros casos. Em partes dos casos, os hepatócitos assumiam aspecto de célula vegetal devido à tumefação (PRADO et al., 2012).

Nos **ovinos**, as principais **alterações histológicas** também são observadas principalmente nos rins que apresentavam acentuada necrose de coagulação dos túbulos renais no córtex. Cilindros hialinos e precipitados de albumina também foram vistos na medula do rim. No fígado, havia os hepatócitos estavam, de maneira difusa, com aspecto de célula vegetal (CALDAS et al., 2012).

Os **bovinos** intoxicados experimentalmente apresentam na **histopatologia**, assim como os ovinos e caprinos, necrose tubular tóxica, Há também alterações hepáticas (CALDAS et al., 2012).

Nos **coelhos**, o quadro clínico-patológico da intoxicação por *M. princeps* é bem diferente do apresentado pelos ruminantes, nesta espécie as alterações se concentram no coração e no fígado (TOKARNIA et al., 2012).

Na intoxicação experimental, os coelhos receberam a planta dessecada, dessecada e armazenada por seis meses e a planta fresca. Dos 21 coelhos que receberam a planta 14 morreram e três se recuperaram (MARAN et al., 2012).

Na administração das folhas maduras dessecadas as doses que causaram morte variaram de 0,5 g/kg a 0,125 g/kg. Com as folhas maduras dessecadas e armazenadas por seis meses apenas o coelho que recebeu dose única de 1 g/kg morreu. No experimento com brotos frescos da planta as doses letais foram 3 g/kg, 1,55 g/kg e 2,4 g/kg, enquanto que com as folhas maduras frescas da planta no período de dois dias apenas o coelho que ingeriu 2 g/kg, adoeceu e morreu (MARAN et al., 2012).

Em todos os experimentos realizados com os **coelhos** os **sinais clínicos** foram bastante uniforme. Os animais apresentaram inicialmente letargia e estavam apáticos na gaiola, aos poucos, adotavam posturas anormais, com a cabeça apoiada no solo, orelhas caídas e as pernas abertas, havia palidez de mucosas, extremidades frias, até que subitamente, iniciava-se um intenso quadro convulsivo; os coelhos ficavam em decúbito lateral e apresentavam fortes movimentos de pedalagem, tremores musculares, opistótono, fortes contrações abdominais e vocalização. Esse quadro era alternado com momentos de dispneia intensa e respiração predominantemente abdominal. Por fim retornavam para o quadro descrito anteriormente, relaxavam e morriam (MARAN et al., 2012).

Os achados **macroscópicos** consistiam em palidez e cianose acentuada das mucosas, os vasos estavam dilatados e repletos de sangue, o coração apresentava os vasos epicárdicos ingurgitados e aurícula dilatada. O fígado estava pálido com evidência da lobulação hepática e os rins apresentavam congestão córtico-medular (MARAN et al., 2012).

No **exame histopatológico** observou-se congestão no pulmão, coração, fígado, baço, bexiga e sistema nervoso central. No coração, além da congestão havia vacuolização de algumas fibras isoladas ou de pequenos grupos de fibras, além de necrose de miócitos isolados e em grupos. No fígado, a lesão mais significativa foi a tumefação de hepatócitos. No rim, além da congestão os autores observaram também, em parte dos casos, proteína na luz dos túbulos renais (MARAN et al., 2012).

Quadro 4 – Sinais clínicos e quadro anatomopatológico de animais intoxicados por *Metternichia princeps*

Referência	Espécie animal	Sinais clínicos	Alterações macroscópicas	Alterações microscópicas
PRADO et al., 2012 (Natural)	Caprinos	Apatia, emagrecimento progressivo, fraqueza muscular até acentuada atrofia, relutância ao movimento, decúbito esternal e posteriormente decúbito lateral. Ao serem colocados em estação mantinham os membros anteriores flexionados e apoiavam apenas os posteriores no chão, até evoluírem para flexão dos quatro membros.	Edema do tecido adiposo perirrenal, rins pálidos com estriações esbranquiçadas do córtex até a região medular, evidenciação do padrão lobular do fígado, ocasionalmente ulceração na língua, faringe e no esôfago e caquexia.	Necrose tubular tóxica, caracterizada por necrose coagulativa de grupos de túbulos uriníferos no córtex renal. As células epiteliais estavam transformadas em massas eosinofílicas amorfas, que preenchiavam a luz dos túbulos, externamente delimitadas apenas pela membrana basal. Havia cilindros hialinos na luz dos túbulos no córtex e medular, dilatação da luz de alguns túbulos, principalmente no córtex. No fígado foi constatada vacuolização em vacúolos grandes, em graus discreto a leve. Em alguns casos os hepatócitos assumiam aspecto de célula vegetal e havia necrose incipiente dos hepatócitos de distribuição aleatória.
PRADO et al., 2012 (Experimental)	Caprinos	Inicialmente inapetência, adipsia, apatia e relutância ao movimento. Posteriormente adotavam decúbito esternal e ao serem colocados em estação, mantinham os membros anteriores flexionados, apoiavam apenas os posteriores no chão até evolução para flexão dos quatro membros e seguia-se o decúbito lateral. Movimentos ruminiais diminuídos e alguns animais apresentaram atonia próximo à morte.	Edema de tecido adiposo perirrenal, rins pálidos com estriação esbranquiçada desde o córtex até a região medular, e fígado com evidenciação do padrão lobular.	Necrose tubular tóxica, caracterizada por necrose coagulativa de grupos de túbulos uriníferos no córtex renal. As células epiteliais estavam transformadas em massas eosinofílicas amorfas, que preenchiavam a luz dos túbulos, externamente delimitadas apenas pela membrana basal. Havia cilindros hialinos e precipitados de albumina na luz dos túbulos no córtex e medular, dilatação da luz de alguns túbulos, principalmente no córtex, picnose das células epiteliais tubulares com vacuolização do citoplasma também foi observado. No fígado foi constatada vacuolização, de intensidade leve a moderada e em parte dos casos os hepatócitos tinham aspecto de célula vegetal.
CALDAS et al., 2012 (Experimental)	Ovinos	Apatia, anorexia, redução na quantidade e intensidade dos movimentos ruminiais, até atonia. Segue-se para decúbito esterno-abdominal, depois lateral e morte.	Edema perirrenal, líquido citrino nas cavidades epicárdica e abdominal, edema do mesentério envolvendo diversos órgãos, líquido espumoso na traqueia, fígado com evidenciação da lobulação e pálido.	Acentuada necrose coagulativa dos túbulos renais no córtex, pela qual as células epiteliais transformam-se em massas eosinofílicas amorfas, delimitadas externamente pela membrana basal, precipitados albuminosos e cilindros hialinos na medula do rim, e em menor grau, dilatação de túbulos uriníferos no córtex. No fígado os hepatócitos apresentavam-se de maneira difusa com aspecto de célula vegetal, devido a tumefação.

Quadro 4 – Continuação

Referência	Espécie animal	Sinais clínicos	Alterações Macroscópicas	Alterações Microscópicas
CALDAS et al., 2012 (Experimental)	Bovinos	Inapetência até anorexia, diminuição da frequência e intensidade dos movimentos ruminais até atonia, andar incoordenado, decúbito esternal com cabeça encostada no flanco, respiração lenta e profunda, decúbito lateral e morte.	Edema perirrenal e líquido citrino no saco pericárdico.	Acentuada necrose coagulativa dos túbulos renais no córtex, pela qual as células epiteliais transformam-se em massas eosinofílicas amorfas, delimitadas externamente pela membrana basal, precipitados albuminosos e cilindros hialinos na medula do rim, e em menor grau, dilatação de túbulos uriníferos no córtex; em outros túbulos as células epiteliais mostravam sinais de necrose sob forma de picnose de seus núcleos ou através de lise em menor ou maior grau.
MARAN et al., 2012 (Experimental)	Coelho	Inicialmente letargia e apatia, sem interação com o ambiente, aos poucos, adotavam posturas anormais, com a cabeça apoiada no solo, orelhas caídas e pernas abertas. Palidez de mucosas e cianose das orelhas e do focinho, congestão severa de vasos episclerais e das orelhas. Subitamente iniciava-se um quadro convulsivo intenso; os coelhos ficavam em decúbito lateral e faziam fortes movimentos de pedalagem com todos os membros e tinham tremores musculares generalizados, acentuado opistótomo, esticavam todo o corpo e os membros, apresentavam fortes contrações abdominais e vocalizavam muito alto. Esse quadro era alternado com momentos de dispneia intensa e respiração predominantemente abdominal.	Congestão da região cortiço-medular no rim. No coração, vasos epicárdicos congestos e ingurgitados e a aurícula dilatada e repleta de sangue. Fígado pálido com evidencição da lobulação.	Congestão em pulmão, coração, fígado, baço, bexiga e sistema nervoso central. No rim, além da congestão havia proteína na luz dos túbulos renais e em alguns casos ocorreu tumefação das células tubulares. No coração, além da congestão, foi observada vacuolização de algumas fibras isoladas ou de pequenos grupos de fibras. Também havia necrose de miócitos isolados e em grupos; as células afetadas apresentavam-se mais eosinofílicas, homogêneas e com os núcleos picnóticos ou ausentes. No fígado, congestão predominantemente centrolobular, artérias e veias porta, dilatadas e repletas de sangue, tumefação de hepatócitos, como lesão mais significativa, havia também necrose incipiente focal de hepatócitos ou necrose de pequenos grupos de hepatócitos ou de hepatócitos isolados.

2.2 Necrose Tubular

A necrose tubular aguda (NTA), muitas vezes é denominada por nefrose renal (CONFER; PANCIEIRA, 1998; MAXIE, 1992; DIVERS, 1993) é determinada por insultos isquêmico ou tóxico às células epiteliais dos túbulos renais (MAXIE, 1992; DIVERS, 1993; CONFER; PANCIEIRA, 1998; COTRAN; KUMAR; COLLINS, 2000; RADOSTITS et al., 2002) e é a causa mais comum de insuficiência renal aguda (COTRAN; KUMAR; COLLINS, 2000); essa condição. Independentemente do insulto ser isquêmico ou tóxico, os eventos cursam com lesão tubular acompanhados por graves e persistentes distúrbios do fluxo sanguíneo (COTRAN; KUMAR; COLLINS, 2000). Os túbulos renais, principalmente os proximais e os ramos ascendentes espessos, por serem metabolicamente muito ativos são mais susceptíveis à isquemia e a ação de nefrotoxinas (MAXIE, 1992; CONFER; PANCIEIRA, 1998; COTRAN; KUMAR; COLLINS, 2000). Em resposta às agressões, as células epiteliais tubulares sofrem degeneração, necrose e, posteriormente, descamam para a luz tubular (CONFER; PANCIEIRA, 1998).

Apesar da semelhança entre a necrose tubular tóxica e isquêmica podemos distingui-las brevemente do ponto de vista histológico. Na necrose tubular tóxica há necrose das células epiteliais tubulares que são reduzidas a detritos celulares que preenchem a luz tubular que apresenta uma membrana basal intacta, diferente da necrose tubular isquêmica onde a necrose das células epiteliais tubulares frequentemente vem acompanhada de ruptura de membrana basal (OLIVER; MacDOWELL; TRACY, 1951).

Diversas substâncias, incluindo alguns medicamentos podem ter ação nefrotóxica e levar à necrose tubular aguda. Os antibióticos do grupo dos aminoglicosídeos são amplamente utilizados na rotina clínica (LAURENT; KISHORE; TULKENS, 1990). Em um estudo experimental envolvendo 11 cães, foram administradas doses de 10 mg/Kg três vezes ao dia; posteriormente os cães foram eutanasiados em intervalos que variavam do 11º ao 37º dia. Dez desses cães apresentaram necrose tubular aguda tóxica apenas nos túbulos contorcidos proximais, que variou de discreta a acentuada. Em todos os cães havia algum grau de regeneração das células epiteliais dos túbulos contorcidos proximais (DANTAS; KOMMERS; HENNEMANN, 1997).

Outro grupo de medicamentos de uso frequente na medicina e veterinária são os anti-inflamatórios não esteroidais (AINES). Os AINESs inibem a síntese de prostaglandinas e podem ocasionar isquemia renal reversível, declínio da pressão hidrostática glomerular, necrose da papila renal e insuficiência renal aguda (BRICKS; SILVA, 2005), principalmente em indivíduos de risco, ou seja, aqueles com redução da perfusão renal pré-existente (MELGAÇO et al., 2010).

Ainda são relatados vários casos de necrose tubular aguda associada a diversas substâncias ou como consequência de outras doenças. A necrose tubular já foi descrita em casos de intoxicação experimental por ocratoxina-A e citrinina em cães (KITCHEN; TUIE, 1977), intoxicação natural e experimental por fluorsilicato de sódio em bovinos (LUCIOLI et al., 2007) e como consequência da hemoglobinúria em casos de envenenamento provocado por picadas de abelhas (FIGHERA; SOUZA; BARROS, 2007) e na anemia hemolítica (FIGHERA, 2007).

A necrose tubular isquêmica (NTI), resultante da redução do fluxo sanguíneo nos rins, em geral decorre de insuficiência circulatória sistêmica (MAXIE, 1992; CONFER; PANCIEIRA, 1998; COTRAN; KUMAR; COLLINS, 2000; RADOSTITS et al., 2002). A vasoconstrição compensatória dos vasos sanguíneos renais, em resposta a uma redução do débito cardíaco, resulta em queda da pressão arterial, diminuição da filtração glomerular e acúmulo de metabólitos no sangue (RADOSTITS et al., 2002). A isquemia renal pode ser aguda ou crônica. Choque, desidratação, anemia hemorrágica aguda e insuficiência cardíaca aguda estão entre as principais causas de isquemia aguda dos rins; qualquer condição que

predisponha o animal à hipotensão marcada e liberação de agentes vasopressores endógenos pode, em teoria, iniciar isquemia renal aguda mediada por fatores hemodinâmicos e induzir à falência renal. Na isquemia renal crônica, a insuficiência cardíaca congestiva é a condição mais frequente (RADOSTITS et al., 2002).

2.3 Uremia

A uremia é uma toxicose resultante da insuficiência renal. Desta forma, pode ser definida como uma síndrome associada com lesões multissistêmicas e sinais clínicos decorrentes da insuficiência renal (NEWMAN, CONFER, PANCIERA, 2009).

Uremia e azotemia são termos muitas vezes utilizados, de maneira incorreta, como sinônimos. Uremia é uma síndrome clínica da falência renal, causada por distúrbios bioquímicos muitas vezes acompanhada de lesões extra-renais. Já a azotemia é uma anormalidade bioquímica caracterizada pelo aumento de ureia e creatinina no sangue, que não obrigatoriamente apresenta sinais clínicos. A azotemia pode ter uma origem renal ou extra-renal (MAXIE, NEWMAN, 2007).

A azotemia pré-renal pode ocorrer em casos de hipoperfusão renal, como por exemplo, na hemorragia, no choque, na depleção de volume circulante e na insuficiência cardíaca congestiva, prejudicando a função renal na ausência de lesão parenquimatosa (ALPERS, 2005). Da mesma forma, quando o fluxo de urina é obstruído abaixo do nível do rim, pode haver azotemia pós-renal, normalmente com a resolução da obstrução, os valores de ureia e creatinina se normalizam (ALPERS, 2005).

A progressão da função renal normal até a uremia evolui através de quatro estágios que se fundem, apesar de haver diversas exceções. Inicialmente há uma diminuição na reserva renal, neste caso a taxa de filtração glomerular está em torno de 50% do normal, os valores de ureia e creatinina estão normais, os pacientes estão assintomáticos, porém há uma maior susceptibilidade ao desenvolvimento de azotemia caso haja uma agressão renal adicional. Na fase de insuficiência renal a taxa de filtração glomerular está entre 20 e 50% do normal, o paciente já apresenta azotemia e se torna poliúrico. Na fase seguinte, já no estágio de falência renal, a taxa de filtração glomerular é de apenas 20 a 25% do normal, os rins não podem mais manter a homeostase, os pacientes desenvolvem edema, acidose metabólica e hipocalcemia; pode ocorrer uremia franca com complicações neurológicas, gastrointestinais e cardiovasculares. Na doença renal terminal, a taxa de filtração glomerular é menor do que 5% do normal e esse é o estágio final da uremia (MAXIE; NEWMAN, 2007; ALPERS, 2005).

Diversas lesões não renais podem ocorrer durante a uremia, a gravidade é dependente do tempo de sobrevivência do animal no estado urêmico, ou seja, na insuficiência renal aguda, as lesões extrarrenais são poucas, enquanto que na insuficiência renal crônica podem estar presentes múltiplas lesões (NEWMAN; CONFER; PANCIERA, 2009).

Dentre uma grande variedade de lesões sistêmicas da uremia, podemos citar algumas, como estomatite necrótica e ulcerativa, gastrite ulcerativa hemorrágica em cães e gatos, geralmente com mineralização secundária na zona intermediária da mucosa gástrica, colite hemorrágica ulcerativa em cavalos e bovinos, pericardite fibrinosa, edema pulmonar difuso e mineralização de tecidos moles (NEWMAN; CONFER; PANCIERA, 2009).

Distúrbios no balanço eletrolítico também são frequentes na insuficiência renal e incluem deficiência ou aumento plasmático de cálcio, potássio e sódio. O excesso plasmático de sódio, potássio e cálcio contribuem para anasarca, cardiotoxicidade e nefropatia hipercalcêmica respectivamente, enquanto que a deficiência pode causar desidratação, tremor muscular, tetania e osteodistrofia (MAXIE; NEWMAN, 2007).

A hipercalemia pode ser uma séria complicação da insuficiência renal em seres humanos, e é a principal causa de astenia miocárdica e falência cardíaca fatal que ocorre na uremia nessa espécie (RADOSTITS et al., 2002).

Diversos aspectos da síndrome urêmica contribuem para um desequilíbrio ácido-básico e acidose metabólica. Dentre os principais fatores que levam à acidose na uremia destacam-se a diminuição na capacidade dos túbulos distais e coletores em produzir amônia, o aumento na retenção de íons sódio e o aumento na utilização, com impedimento de reabsorção de íons HCO₃ (bicarbonato); o termo acidose urêmica encerra com simultânea azotemia, retenção de ânions e acidose (MAXIE; NEWMAN, 2007).

O estágio terminal da insuficiência renal (falência renal) é o resultado acumulativo do comprometimento das funções excretoras e homeostáticas renais. Perdas contínuas de grandes volumes de urina diluída levam à desidratação. Hipoproteinemia prolongada resulta em rápida perda de condição corporal e tremores musculares; a acidose metabólica também pode contribuir com os tremores musculares. A hipocalcemia pode ser suficiente para levar a uma falência circulatória e sinais nervosos. Todos esses fatores desempenham um papel na produção dos sinais clínicos na falência renal, que se manifestam principalmente por fraqueza, letargia, inapetência e, associada a uma lesão glomerular extensa, edema devido à hipoproteinemia. Os sinais clínicos da síndrome urêmica são variáveis, uma vez que a gravidade dos sintomas pode variar entre os indivíduos (RADOSTITS et al., 2002).

2.4 Síndrome Cardiorrenal

Em uma visão bem simplificada, a síndrome cardiorrenal (SCR) ocorre quando a função de um rim relativamente normal é afetada devido a uma doença cardíaca, com a suposição de que, na presença de um coração saudável, o mesmo rim funcionaria normalmente (BONGARTZ et al., 2005). Contudo, é importante ressaltar que ambos os órgãos são reguladores de funções vitais como, por exemplo, pressão arterial, tônus vascular, diurese, natriurese, volume circulante, perfusão periférica e oxigenação dos tecidos. Ambos têm função endócrina e são capazes de sinalizar respostas celulares e humorais. A interação entre esses órgãos é clara em muitas instâncias, e a disfunção de um pode levar a disfunção do outro. De maneira geral existe uma relação bidirecional, física, química e biológica entre esses órgãos (RONCO et al., 2008a).

Ronco et al. (2008a) propõem uma redefinição desse conceito e definem síndrome cardiorrenal como “desordem fisiopatológica do coração e do rim, onde uma disfunção crônica ou aguda de um órgão pode induzir uma disfunção crônica ou aguda do outro órgão” e classificam em 5 tipos diferentes a síndrome cardiorrenal: **tipo 1** (síndrome cardiorrenal aguda) caracterizada por uma piora abrupta da função cardíaca levando a uma lesão renal aguda; **tipo 2** (síndrome cardiorrenal crônica) uma anormalidade crônica na função cardíaca, causando uma doença progressiva crônica e potencialmente permanente no rim; **tipo 3** (síndrome renocárdica aguda) uma piora aguda na função renal, levando a uma desordem cardíaca aguda; **tipo 4** (síndrome renocárdica crônica) doença renal crônica, contribuindo para uma diminuição da função cardíaca, hipertrofia cardíaca e/ou aumento do risco de eventos cardiovasculares adversos e **tipo 5** (síndrome cardiorrenal secundária), ocorre devido a uma condição sistêmica, causando uma disfunção tanto cardíaca, quanto renal.

O tipo 1 é frequente (RONCO et al., 2008b), pacientes que dão entrada no hospital apresentando falência cardíaca comumente apresentam insuficiência renal, e está associado com prognóstico extremamente desfavorável (HEYWOOD, 2004). A insuficiência cardíaca aguda causa impacto no débito cardíaco e leva a um aumento da pressão venosa, redução na taxa de filtração glomerular e, como consequência, a uma lesão renal aguda (BONGARTZ et al., 2005; DOMANOVITS et al., 2001). Embora o volume extracelular esteja expandido, o volume sanguíneo, propriamente dito (intravascular), está diminuído, especialmente quando há o uso de diuréticos, comprometendo ainda mais o fluxo sanguíneo renal. Na tentativa de neutralizar estas alterações, sistemas, como o renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) são ativados. O aumento da angiotensina II, estimula a expressão de endotelina-1 (ET-1) no rim.

ET-1 é um potente peptídeo vasoconstritor pró-inflamatório e pró-fibrótico; tem sido sugerido que este peptídeo desempenhe um importante papel em muitas das condições patológicas encontradas durante a lesão renal aguda (NEUHOFER; PITTRROW, 2006). A ET-1 pode ser responsável, em parte, por mediar a cascata isquêmica que ocorre durante a lesão renal aguda, secundária a insuficiência cardíaca congestiva, e é capaz de reduzir, ainda mais, o fluxo sanguíneo e a taxa de filtração glomerular renal (RONCO et al., 2008a).

Com relação à SCR tipo 2 a prevalência de disfunção renal em pacientes com insuficiência cardíaca crônica é de aproximadamente 25% (HILLEGE et al., 2006). Mesmo pequenas diminuições na taxa de filtração glomerular pode significar um aumento significativo no risco de morte (HILLEGE et al., 2006) e são consideradas um marcador da severidade da doença vascular (BHATIA et al., 2006). Na insuficiência cardíaca crônica, com baixo débito cardíaco e hipóxia, há um aumento da atividade do sistema nervoso simpático, ativação do SRAA, aumento do estresse oxidativo no rim e diminuição da ação do óxido nítrico no endotélio vascular (BONGARTZ et al., 2005). Com o aumento dos níveis de aldosterona no rim, ocorre um pronunciado estresse oxidativo, com a regulação positiva do fator de transformação do crescimento beta (TGF- β), uma proteína intimamente relacionada com o SRAA. Este, por sua vez, é seguido por aumentos na fibronectina, levando a fibrose renal e glomerulosclerose (ONozATO et al., 2007). Entende-se que na insuficiência cardíaca congestiva crônica também há um estágio inflamatório, com liberação de citocinas, como o fator de necrose tumoral α e interleucinas 1 e 6. Este estado inflamatório pode contribuir para um dano tóxico gradual das células renais, o que leva a uma lesão renal crônica estável e perda de função (BONGARTZ et al., 2005).

A SCR tipo 3 é menos comum do que a tipo 1, porém isso pode ser devido a falta de um estudo mais sistemático (RONCO et al., 2008b). Em humanos, a insuficiência renal aguda é uma desordem crescente em hospitais e pacientes de Unidades de Tratamento Intensivo (UTI), tem sido identificada em pelo menos 9% dos pacientes hospitalizados (UCHINO et al., 2006). A lesão renal aguda pode afetar o coração por diversas vias. A sobrecarga de líquidos pode contribuir no desenvolvimento de edema pulmonar. A hipercalemia pode estar envolvida com arritmias e parada cardíaca. A uremia não tratada afeta a contratilidade miocárdica devido ao acúmulo de fatores depressores do miocárdio (BLAKE et al., 1996) e pode causar pericardite (MEYER; HOSTETTER, 2007). A acidose metabólica produz vasoconstrição pulmonar (FIGUERAS et al., 1976) o que contribui significativamente para insuficiência cardíaca direita. E a isquemia renal por si só pode precipitar a ativação da inflamação e da apoptose ao nível cardíaco (BERL; HENRICH, 2006).

Na SCR tipo 4 há uma disfunção crônica primária do rim. Indivíduos com insuficiência renal crônica (IRC) têm um risco cardiovascular altíssimo (FOLEY; PARFREY; SARNAK, 1998). Mais de 50% dos pacientes com IRC em estágio final morrem por causas atribuídas às doenças cardiovasculares (HERZOG, 2002). Quando a função renal diminui ao ponto em que o indivíduo entra em um estado urêmico, os níveis de toxinas conhecidas e desconhecidas, peptídeos e inibidores, hormônios da paratireoide e citocinas pró-inflamatórias aumentam (FORT, 2005; SCHIFFRIN, LIPMAN; MANN, 2007; MEYER; HOSTETTER, 2007). O resultado é um ambiente hostil, que leva a um maior estresse oxidativo, inflamação, aterosclerose acelerada e provavelmente contribui para um maior risco de eventos cardiovasculares adversos enfrentados pelos pacientes em diálise (MOVILLI et al., 2005).

As informações a respeito da SCR tipo 5 são limitadas. No entanto, está claro que doenças crônicas ou agudas graves podem afetar os dois órgãos simultaneamente e que a doença induzida em um pode afetar o outro. Exemplos incluem sepse, diabetes, amiloidose, lúpus eritematoso sistêmico e sarcoidose (RONCO et al., 2008b).

2.5 Hipercalemia

O potássio é o principal cátion intracelular. A manutenção da sua concentração é essencial para a diferença de potencial através da membrana celular e, desta maneira, determinante na excitabilidade neuromuscular e contratilidade muscular. Esta manutenção é feita, em parte, pelo rim (AIRES et al., 1999).

Dois mecanismos normalmente regulam os níveis de potássio em resposta a uma variação do potássio ingerido. Primeiro, o potássio ingerido ganha rapidamente a circulação e estimula o pâncreas a liberar insulina, o aumento da insulina induz o transporte do potássio extracelular para dentro das células através de uma sódio-potássio adenosina trifosfatase. Segundo, o aumento do potássio na circulação leva a uma liberação de renina pelas células justaglomerulares renais, isto estimula a ativação de angiotensina I no fígado e posteriormente a conversão em angiotensina II nos pulmões. A angiotensina II estimula a zona glomerulosa da adrenal a secretar aldosterona, que por sua vez faz com que os ductos coletores da cortical renal excretem potássio e retenham sódio (GENNARI, 2002).

Deve-se considerar algumas causas para hipercalemia como, efeitos de medicamentos, comprometimento na distribuição do potássio entre os meios intra e extracelular e excreção renal do potássio diminuída (HOLLANDER-RODRIGUEZ; CALVERT, 2006).

Efetivamente a excreção do potássio depende da aldosterona e do fornecimento distal suficiente de água e sódio para o néfron. A hipercalemia pode ocorrer quando um destes mecanismos é prejudicado devido à insuficiência renal, hipoperfusão renal ou hipoaldosteronismo (HOLLANDER-RODRIGUEZ; CALVERT, 2006).

Alguns medicamentos podem induzir à hipercalemia. Pacientes que combinam inibidores da enzima conversora de angiotensina e espironolactona são propensos à hipercalemia (JUURLINK et al., 2004), anti-inflamatórios não-esteroidais diminuem a secreção de renina, e em consequência a excreção de potássio declina. O uso de AINEs deve ser feito com cautela em pacientes com diabetes ou insuficiência renal (ADHIYAMAN et al., 2001; PERAZELLA; TRAY, 2001).

O aumento no potássio total do corpo pode causar alterações dramáticas no eletrocardiograma. As alterações mais comuns são picos altos da onda T, redução da amplitude e eventualmente perda da onda P e um marcado aumento da largura do complexo QRS (Figura 4) (SLOVIS; JENKINS, 2005). Dependendo do quão aumentado está o potássio algumas alterações são mais evidentes (Tabela 1). Quando os níveis de potássio atingem concentrações entre 7.0-8.0 mmol/l observa-se um alargamento do complexo QRS, com este aumento de largura, o complexo QRS pode se fundir com a onda T e criar um padrão semelhante a uma onda senoidal, um ritmo pré-terminal (SLOVIS; JENKINS, 2005).

Tabela 1 – Características eletrocardiográficas da hipercalemia*

Potássio sérico (mmol/l)	Alterações importantes
5.5-6.5	Pico alto da onda T
6.5-7.5	Perda da onda P
7.0-8.0	Alargamento do complexo QRS
9.0-10	Onda senoidal, arritmia ventricular, assistolia

*Slovis; Jenkins, 2005

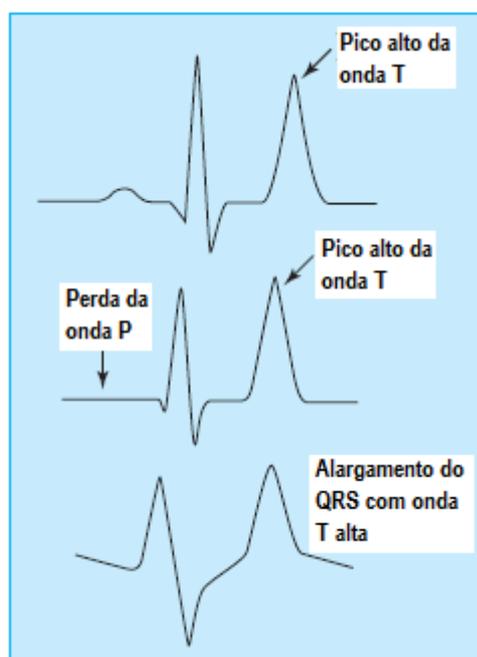


Figura 4 – Principais alterações do eletrocardiograma na hipercalemia (Slovis; Jenkins, 2005).

Em bezerros com hipercalemia relacionada à diarreia neonatal, observou-se que a amplitude e a duração do complexo QRS e das ondas T estavam marcadamente aumentados quando comparados com os animais controle. As concentrações de troponina T e I e de creatina quinase-MB séricas também foram avaliadas, porém não houveram alterações significativas (ÖZKAN et al., 2011).

Apesar de uma parte dos pacientes apresentarem alterações no ECG, este teste tem uma sensibilidade e uma especificidade muito baixa para identificar quadros de hipercalemia (MONTAGUE; OUELLET; BULLER, 2008).

Nos quadros de hipercalemia (quando a concentração de potássio é maior que 5,5 mEq/l) o potencial de repouso da membrana celular é reduzido e há um aumento da excitabilidade dos neurônios, das células cardíacas e musculares (AIRES et al., 1999).

Em pacientes no ambiente hospitalar a hipercalemia é um distúrbio eletrolítico comum e potencialmente fatal (MONTAGUE; OUELLET; BULLER, 2008). Frequentemente os sintomas são inespecíficos e incluem vômitos, náuseas, contrações musculares e dor abdominal (WRENN; SLOVIS; SLOVIS, 1991).

A insuficiência renal aguda e crônica é um dos diagnósticos mais frequentes nos pacientes com hipercalemia, e a mesma também tem sido associada à utilização de medicamentos como β bloqueadores, inibidores da enzima conversora de angiotensina, diuréticos poupadores de potássio e AINEs, principalmente em pacientes de risco, como os hipertensos, os diabéticos e os hipovolêmicos (LEHNHARDT; KEMPER, 2011; MELGAÇO et al., 2010; MONTAGUE; OUELLET; BULLER, 2008).

Dentre as causas de insuficiência renal não-obstrutivas podemos citar as intoxicações por plantas nefrotóxicas como *Amaranthus* spp. (OSWEILER; BUCK; BICKNELL, 1969; TAKKEN; CONNOR, 1984; FERREIRA et al., 1991; PEIXOTO et al., 2003) e *Thiloa glaucocarpa* (TOKARNIA et al., 2012); nessas intoxicações o principal achado histopatológico é a necrose das células epiteliais dos túbulos uriníferos (OSWEILER; BUCK; BICKNELL, 1969; TAKKEN; CONNOR, 1984; FERREIRA et al., 1991; PEIXOTO et al., 2003; TOKARNIA et al., 2012), porém observou-se em ovinos intoxicados por *Amaranthus spinosus* e suínos intoxicados por *A. caudatus* alterações histológicas, como necrose e

degeneração em fibras cardíacas, e esses autores atribuíram este fato à hipercalemia (TAKKEN; CONNOR, 1984; PEIXOTO et al., 2003). Além disso, Osweiler, Buck e Bicknell (1969) já haviam descrito alterações no ECG de suínos intoxicados por *A. retroflexus* e o mesmo distúrbio eletrolítico foi apontado como o responsável por tais alterações.

2.6 Troponina

Troponinas são proteínas presentes na musculatura esquelética e cardíaca com 3 subunidades, troponina I (TnI), troponina C (TnC) e troponina T (TnT), que formam um complexo que regula a interação cálcio-dependente da miosina com a actina (Figura 5). Os genes codificadores da troponina C são idênticos no músculo cardíaco e esquelético, porém os que codificam as troponinas T e I são diferentes, o que facilitou o diagnóstico do infarto agudo do miocárdio (IAM) devido a utilização de anticorpos monoclonais de reatividade cruzada extremamente baixa (GODOY; BRAILE; NETO, 1998).

A troponina T se liga a um complexo de três proteínas com a tropomiosina, a troponina I inibe o engate da actina com a miosina e a troponina C se liga ao cálcio induzindo a uma mudança e invertendo a atividade inibitória da troponina I (ADAMS; ABENDSCHEIN; JAFFE, 1993).

A troponina, assim como a tropomiosina está envolvida na contratilidade como proteína moduladora, pois quem realmente exerce atividade contrátil são a actina e a miosina (AIRES et al., 1999).

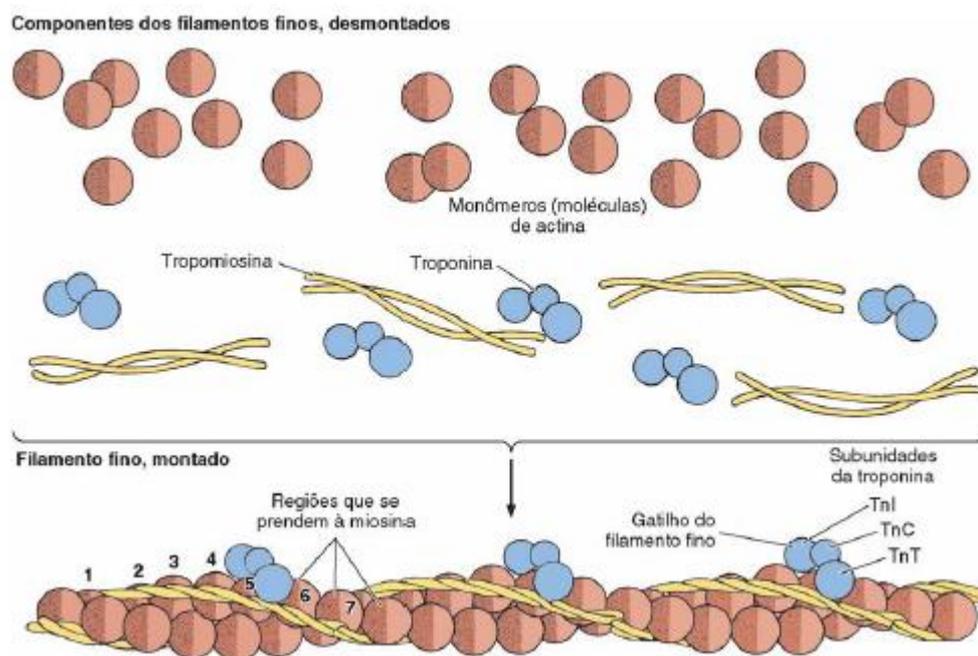


Figura 5 – Desenho esquemático mostrando as 3 principais proteínas (actina, tropomiosina e troponina) dos filamentos finos e a estrutura desses filamentos - Em cima, as três proteínas isoladas e, embaixo, depois de polimerizadas. As moléculas (monômeros) de actina são polarizadas e polimerizam em uma direção certa. Observe que cada molécula de tropomiosina ocupa o sulco que corresponde a sete moléculas de actina. Para cada molécula de tropomiosina existe uma de troponina composta de três polipeptídeos globosos (TnI, TnC e TnT) (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

Em condições fisiológicas as troponinas não são detectáveis no sangue, porém quando mensuradas no sangue, troponina T e I são considerados marcadores altamente específicos para danos reversíveis ou irreversíveis nos cardiomiócitos (LAZZERI et al., 2008)

Por volta de 4 a 6 horas após lesão ou necrose aguda do miocárdio há um aumento das concentrações séricas de cTnI e cTnT (NELSON; COUTO, 2006; JENKINS et al., 2010). Nessas primeiras horas há uma pequena liberação da troponina no sangue, que provém do reservatório citosólico; o pico ocorre por volta de 48-72 horas no caso de infarto do miocárdio e corresponde à troponina do reservatório estrutural devido à destruição das miofibrilas (MARTINS, 2009). Em casos de isquemia do miocárdio, sem infarto há uma subida e descida rápidas da troponina plasmática (MARTINS, 2009).

Os níveis de creatinoquinase no soro de pacientes com infarto agudo do miocárdio (IAM) demoram a ficar elevados, isso só ocorre algumas horas após o aparecimento da dor, e o diagnóstico passa a depender de alterações eletrocardiográficas que são inconclusivas em até 40% dos pacientes (GODOY; BRAILE; NETO, 1998).

Estudos demonstraram que a cTnT, assim como a creatinoquinase, podem estar aumentadas em pacientes com lesões musculares, sem evidências de lesão cardíacas, porém a troponina I não aumenta nesses casos, o que torna esta troponina um marcador de alta especificidade cardíaca nos casos de lesões miocárdicas (BODOR et al., 1997; AGGARWAL et al., 2009).

Não há uma utilidade clínica na dosagem sérica da troponina C, uma vez que o músculo cardíaco e o músculo liso partilham a mesma isoforma (MARTINS, 2009), diferente da troponina I que possui três isoformas específicas: cardíaca, esquelética lenta e esquelética rápida (CUMMINS; PERRY, 1978).

Em seres humanos grande parte dos trabalhos com troponinas, seja na dosagem sérica ou na imuno-histoquímica, buscam o diagnóstico de lesões isquêmicas associadas ou não a infarto do miocárdio. Porém o aumento dos níveis sanguíneos das troponinas pode estar relacionado com outras doenças, como nas doenças pulmonares, na sépsis, em doenças cardíacas não isquêmicas (ex: cardiomiopatia dilatada), na insuficiência renal, na infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), no hipotireoidismo, no lúpus eritematoso sistêmico e em certas doenças musculares e do sistema nervoso central. Especula-se que a etiologia dessa troponinemia resulte de necrose miocárdica ao nível das miofibrilas (MARTINS, 2009).

Em se tratando especificamente de pacientes portadores de insuficiência renal com ausência de doença cardíaca efetiva ou suspeita clínica de isquemia, a prevalência no aumento dos valores de troponina pode ser maior do que 53% (FREDA et al., 2002); isso pode ser devido à necrose de pequenas áreas cardíacas clinicamente silenciosas, mas também é proposto que possa ocorrer devido a um aumento da massa ventricular esquerda ou a uma dificuldade de excreção renal da troponina (LAZZERI et al., 2008). Independente da causa, um aumento na concentração de troponina identifica um paciente com maior risco de mortalidade, enquanto que um resultado negativo para troponina se revela como um bom prognóstico (LAZZERI et al., 2008).

2.6.1 Troponina como marcador imuno-histoquímico

Anticorpos anti-troponina C, T e I têm sido utilizados por diversos autores na tentativa de identificar lesões precoces ao miocárdio (HANSEN; ROSSEN, 1999; ORTMANN; PFEIFFER; BRINKMANN, 2000a e 2000b; RIBEIRO-SILVA; MARTIN; ROSSI, 2002; MARTÍNEZ-DÍAS et al., 2005; CAMPOBASSO et al., 2008; TUNCA et al., 2008; JENKINS et al., 2010; CARRETÓN et al., 2012).

Um estudo comparou o uso da troponina C e T em 50 fragmentos de corações humanos; as causas das mortes incluíam infarto miocárdico, asfixia, trauma múltiplo e morte

natural, excluindo-se dos casos de morte natural os indivíduos que morreram devido à infarto miocárdico. Desses, em 86% dos casos houve uma forte e difusa imunorreatividade para o anticorpo anti-troponina C, com exceção das extensas áreas de infarto, onde a marcação foi fraca e por vezes desaparecia, enquanto que para o anticorpo anti-troponina T a sua detecção foi bem menos frequente, 46% dos casos. Os autores ainda acrescentam que há uma expressão mais intensa da troponina C principalmente nas bandas de contração e em algumas células isoladas que apresentam fenômenos necróticos e sugerem que em células apoptóticas possa haver uma maior concentração de troponina devido à condensação, enquanto que em áreas onde a necrose é claramente isquêmica (zona de infarto) os antígenos estão severamente diminuídos (MARTÍNEZ-DÍAS et al., 2005).

Ribeiro-Silva et al. (2002) utilizaram anticorpos contra troponina T, mioglobina, actina e fibronectina em 19 fragmentos de corações humanos que morreram devido a um infarto miocárdico resultante de trombose coronariana oclusiva e puderam concluir que o uso dessa técnica é útil para confirmar casos suspeitos de infarto miocárdico nos casos em que não há alterações macro ou microscópicas detectáveis através das técnicas tradicionais.

Outros estudos recentes têm demonstrado a eficácia do uso da imuno-histoquímica utilizando anticorpos contra troponina C (ORTMANN; PFEIFFER; BRINKMANN, 2000a), troponina T (JENKINS et al., 2010; ORTMANN; PFEIFFER; BRINKMANN, 2000a) e troponina I (CAMPOBASSO et al., 2008; HASEN; ROSSEN, 1999) na identificação de lesões precoces ao miocárdio, principalmente de causa isquêmica.

Nos animais as lesões isquêmicas cardíacas, como o infarto do miocárdio, são raras uma vez que a aterosclerose, doença vascular de maior importância nos seres humanos, ocorre esporadicamente nos animais e raramente leva a doença clínica (McGAVIN; ZACHARY, 2009).

Apesar de a grande maioria dos artigos publicados relacionados ao homem com imuno-histoquímica e troponinas tratarem de lesões cardíacas isquêmicas, na veterinária esta mesma técnica tem sido utilizada para demonstrar danos aos cardiomiócitos causados por diferentes doenças.

Tunca et al. (2008) trabalharam com a determinação de troponina cardíaca I no sangue e no coração de bezerras com febre-aftosa. Todos os animais apresentavam aumento da troponina sérica. Na imuno-histoquímica os fragmentos de coração revelaram uma marcada depleção de troponina I em todos os bezerras, particularmente nos cardiomiócitos com alterações microscópicas de degeneração e necrose, enquanto que no animal controle foi observada uma marcada e difusa reatividade citoplasmática ao mesmo anticorpo.

Fragmentos de coração de cães portadores de dirofilariose, positivos para antígenos circulantes de *Dirofilaria immitis* foram avaliados através da técnica de imuno-histoquímica utilizando-se os anticorpos contra mioglobina e troponina I. Em 37.5% dos tecidos de cães com níveis detectáveis e/ou patológicos de mioglobina e troponina I, não foi possível observar uma diminuição na marcação para estes anticorpos. Os autores sugerem que estes resultados possam estar relacionados ao processamento de apenas um pequeno fragmento de coração, que foi coletado sempre do mesmo local em todos os cães (CARRETÓN et al., 2012).

Parvarini et al. (2012) demonstraram a presença de lesões cardíacas em bovinos intoxicados por *Amorimia exotropa* através da imuno-histoquímica pra troponina cardíaca C. Os fragmentos de coração dos nove bovinos testados apresentavam grupos de cardiomiócitos com diminuição acentuada da imunorreatividade ao anticorpo anti-troponina C, que correspondiam principalmente, aos grupos de cardiomiócitos com características microscópicas de degeneração e necrose.

2.7 Outros marcadores imuno-histoquímicos de lesão cardíaca

Dentre os principais marcadores de lesão ao miocárdio, com exceção das troponinas, podemos citar como marcadores de origem plasmáticos **C5b-9** (CAMPOBASSO et al., 2008; ORTMANN; PFEIFFER; BRINKMANN, 2000), **C4d** (JENKINS et al., 2010; CHANTRANUWAT et al., 2004), **C9** (JENKINS et al., 2010; OFFERMAN et al., 2000; SILVA; MARTIN; ROSSI, 2002; DORAN et al., 1996) e **fibronectina** (CAMPOBASSO et al., 2008; SILVA; MARTIN; ROSSI, 2002; ORTMANN; PFEIFFER; BRINKMANN, 2000; ORTMANN; PFEIFFER; BRINKMANN, 2000b; HU; CHEN; ZHU, 1996) e como marcador de origem celular a **mioglobina** (CAMPOBASSO et al., 2008; SILVA; MARTIN; ROSSI, 2002; ORTMANN; PFEIFFER; BRINKMANN, 2000; ORTMANN, PFEIFFER; BRINKMANN, 2000b) (Quadro 5).

Quadro 5 - Alguns antígenos, sua origem e o tipo de marcação celular

ANTÍGENO	ORIGEM	TIPO DE MARCAÇÃO NA LESÃO CELULAR
C5b-9	Plasmática	Positiva
C4d	Plasmática	Positiva
C9	Plasmática	Positiva
Fibronectina	Plasmática	Positiva
Mioglobina	Celular/estrutural	Negativa
Troponina I	Celular/estrutural	Negativa
Troponina T	Celular/estrutural	Negativa
Troponina C	Celular/estrutural	Negativa

Tem sido sugerido que a proteína C-reativa poderia ativar o sistema complemento em humanos com infarto agudo do miocárdio (LAGRAND et al., 1997). C4d e C5b-9 são alguns dos produtos desta ativação do complemento (YASOJIMA; SCHWAB; McGEER, 1998).

Na patogênese da resposta inflamatória ao dano tecidual o sistema complemento tem duas funções, formação de anafilatoxinas e substâncias quimiostáticas, que causam contração, vazamento e exocitose do endotélio vascular, promovendo assim a adesão de neutrófilos. A segunda função é mediar a lise celular, opsonização, e, assim, promoção da fagocitose (ENTMAN et al., 1992).

Além de dar início à fagocitose o sistema complemento exerce uma atividade lítica direta através do fator C9 (ABBAS; LICHTMAN; POBER, 1994), que é parte do complexo de ataque à membrana (YASOJIMA; SCHWAB; McGEER, 1998), formando poros transmembrana, que conduzirão a célula alvo à lise osmótica (ABBAS; LICHTMAN; POBER, 1994).

Em muitos casos em que o infarto agudo do miocárdio ocorre de maneira muito precoce, avaliar os danos ao miocárdio apenas com a coloração rotineira de hematoxilina e eosina pode se tornar uma tarefa difícil para os patologistas. Desta maneira muitos trabalhos têm sugerido a utilização desses fatores do sistema complemento, assim como os marcadores celulares para a identificação de necrose celular nos casos em que a morte do paciente ocorreu antes da ocorrência de infiltração inflamatória no local da lesão.

A fibronectina é uma glicoproteína presente no plasma e na matriz extracelular que tende a se acumular em células cardíacas lesionadas. Durante a isquemia ela extravasa dos capilares e da matriz extracelular para dentro dos miócitos lesados. Experimentalmente

observou-se que 30 a 60 minutos após oclusão coronária já havia reação positiva para fibronectina (HU; CHEN; ZHU, 1996). A fibronectina não é afetada pela autólise (CAMPOBASSO et al., 2008).

A mioglobina é uma proteína que transporta oxigênio e está presente no músculo esquelético e cardíaco, e por isso a sua quantidade é abundante em todas as fibras musculares, incluindo musculatura lisa, esquelética e cardíaca. Desta maneira caso ocorra algum dano muscular ou, mesmo, insuficiência renal crônica, os níveis de mioglobina no soro podem estar aumentados. Contudo devido à sua inespecificidade cardíaca o diagnóstico diferencial torna-se um problema (KENT, 1982). Ortmann, Pfeiffer e Brinkmann (2000) descrevem que a detecção da depleção dos antígenos celulares começa antes da deposição de antígenos plasmáticos.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local

O estudo foi realizado no Laboratório de Histopatologia do Setor de Anatomia Patológica, localizado no Anexo I do Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Km 7, BR 465, Seropédica.

3.2 Amostras de Tecidos

Fragmentos de coração de 10 ovinos, provenientes do trabalho prévio intitulado “Intoxicação natural por *Amaranthus spinosus* (Amaranthaceae) em ovinos no sudeste do Brasil” (PEIXOTO et al., 2003), sendo 8 fêmeas adultas e 2 fetos, intoxicados naturalmente por *Amaranthus spinosus* no ano de 1997 no município de Paraíba do Sul, no Estado do Rio de Janeiro, fixados em formalina a 10% e emblocados em parafina, foram submetidos à coloração pela Hematoxilina e Eosina (H.E.) e à técnica de imuno-histoquímica com a utilização do anticorpo anti-troponina C. Como controle positivo, foi utilizado fragmento de coração de um ovino intoxicado por monensina.

3.3 Anticorpo Anti-troponina C

Seções histológicas do coração foram desparafinadas, hidratadas, e incubadas por 30 minutos em peróxido de hidrogênio a 3% em água destilada, para bloqueio de peroxidases endógenas. Após a lavagem com água destilada, as lâminas ficaram submersas em tampão citrato pH 6.0 por 15 minutos em banho-maria a 96° C para recuperação antigênica. As lâminas foram novamente lavadas em água destilada e seguiu-se o bloqueio de reações inespecíficas com leite desnatado a 5 % (Molico® - Indústria Brasileira) por 30 minutos. Os cortes foram incubados “overnight” com o anticorpo monoclonal anti-troponina C cardíaca humana (Novocastra, clone 1A2) na proporção de 1:100 (1µl de anticorpo para 100µl de PBS). Entre o bloqueio de reações inespecíficas e a incubação com o anticorpo as lâminas não foram lavadas. Foi utilizado um sistema de detecção REVEAL polímero-HRP, livre de biotina (Spring), conforme especificado pelo fabricante e como cromógeno a Diaminobenzidina (DAB). Todas as seções foram contra-coradas com hematoxilina de Harris, avaliadas em microscópio óptico (Nikon – Eclipse E200) e fotografadas (Moticam 2500, 5.0 M Pixel).

4 RESULTADOS

4.1 Análise Comparativa dos Resultados Imuno-histoquímicos e Histopatológicos

Os resultados estão expressos no Quadro 6.

Ovino 1 (SAP 28356)

Observaram-se numerosas pequenas áreas com ausência ou fraca imunorreatividade ao anticorpo anti-troponina C entremeadas por células que apresentavam forte imunomarcção. Essas áreas correspondiam nos cortes corados pela H.E. a cardiomiócitos com alterações como perda da estriação e discreto aumento da eosinofilia, algumas células apresentavam o citoplasma com aspecto homogêneo.

Ovino 2 (SAP 28357 – Feto do ovino 1)

A reatividade ao anticorpo anti-troponina C foi marcada e difusa, não foram observadas áreas com perda ou diminuição de marcação, assim como não havia sinais de alterações nos cardiomiócitos nos cortes corados pela H.E. (Figuras 6, 7).

Ovino 3 (SAP 28358)

Em algumas áreas havia fibras individuais com marcada diminuição da imunorreatividade ao anticorpo anti-troponina C que correspondiam, nos cortes corados pela H.E., a cardiomiócitos com apenas leve aumento da eosinofilia.

Ovino 4 (SAP 28359)

Havia pequenas e extensas áreas com significativa diminuição de reatividade ao anticorpo anti-troponina C, passando por áreas sem marcação (Figuras 8 e 10). Nas áreas mais extensas pôde-se observar, nos cortes corados pela H.E., correlação com grupos de miócitos cardíacos que apresentavam aumento da eosinofilia, perda de estriação, citoplasma de aspecto homogêneo e vítreo, lise celular, cariólise e desaparecimento do núcleo, além de infiltrado inflamatório misto (Figuras 9, 11). Já nas áreas menores, praticamente não foi possível identificar alterações regressivas nos cardiomiócitos. A avaliação imuno-histoquímica demonstrou lesão maior e mais significativa do que a observada nos cortes corados pela H.E.

Ovino 5 (SAP 28360)

Inúmeras pequenas áreas com drástica diminuição ou, até mesmo, perda completa da imunorreatividade ao anticorpo anti-troponina C, que correspondiam a grupos de miócitos cardíacos tumefeitos, com perda de estriação nos cortes corados pela H.E.

Ovino 6 (SAP 28365)

Fragmento 1 – extensas áreas com ausência de imunorreatividade ao anticorpo anti-troponina C que se correlacionavam no H.E. com áreas de necrose cardíaca, as células destas áreas apresentavam perda de estriação, citoplasma de aspecto homogêneo e vítreo, fragmentação celular, perda dos núcleos e moderado infiltrado inflamatório misto. Ainda neste mesmo fragmento havia algumas áreas com importante diminuição da reatividade, contudo, nos cortes corados pela H.E. havia apenas discretas alterações como tumefação celular dos cardiomiócitos. Neste caso também foi possível identificar que a lesão cardíaca era maior e mais significativa do que aquela identificada pela coloração de H.E.

Fragmentos 2 e 3 – extensas áreas com significativa perda de reatividade ao anticorpo anti-troponina C, que correspondiam nos cortes corados pela H.E. a grupos de miócitos cardíacos com perda de estriação e citoplasma de aspecto homogêneo; cardiomiócitos individuais apresentavam forte marcação (Figuras 12, 13).

Ovino 7 (SAP 28366 A)

Algumas áreas com significativa perda de marcação ao anticorpo anti-troponina C, passando por locais com ausência de reatividade que correspondiam no H.E. a pequenos grupos de cardiomiócitos que exibiam apenas leve aumento da eosinofilia e por vezes perda de estriação e citoplasma de aspecto homogêneo (Figuras 14- 17).

Ovino 8 (SAP 28366 B – Feto do ovino 7)

A reatividade ao anticorpo anti-troponina C foi marcada e difusa; não foram observadas áreas com perda ou diminuição de marcação, assim como não havia sinais de alterações nos cardiomiócitos no H.E.

Ovino 9 (SAP 28510)

Fragmento 1 – uma pequena área com ausência de imunorreatividade ao anticorpo anti-troponina C correspondia a uma pequena área de necrose com presença de moderado infiltrado inflamatório misto no H.E.. Havia ainda, algumas pequenas áreas com significativa diminuição da reatividade correspondente a grupos de cardiomiócitos que apresentam alterações extremamente discretas e até mesmo imperceptíveis no H.E. (Figuras 18 e 19).

Fragmento 2 – uma área focalmente extensa com ausência de imunorreatividade que se correlacionava no H.E. com uma área de necrose com presença de moderado infiltrado inflamatório misto.

Fragmento 3 - algumas áreas com marcada diminuição da reatividade, essas áreas correspondiam no H.E. a grupos de cardiomiócitos que apresentavam discreto aumento da eosinofilia, perda de estriação, citoplasma de aspecto homogêneo e fragmentação de algumas células.

Ovino 10 (SAP 28513)

Havia áreas com ausência de imunorreatividade que correspondiam no H.E. a áreas de necrose de cardiomiócitos, as células perderam as estriações, o citoplasma exibia aspecto vítreo, havia fragmentação de algumas células e moderado infiltrado inflamatório misto. Em alguns outros locais, com significativa perda de reatividade havia apenas uma discreta tumefação celular e aspecto homogêneo do citoplasma no H.E. (Figuras 20, 21).

Ovino controle (Intoxicado por monensina)

Nos cortes histológicos corados pela H.E. observou-se acentuada hipereosinofilia em diversos cardiomiócitos acompanhada de marcado infiltrado inflamatório composto predominantemente por macrófagos e poucos linfócitos e plasmócitos, havia ainda picnose, carólise e lise celular. Essas lesões correspondiam na imuno-histoquímica a áreas com acentuada depleção na imunomarcção de fibras cardíacas em meio a outras com expressão normal para troponina C.

Quadro 6 – Alterações histológicas evidenciadas pela H.E. e resultado da imuno-histoquímica com o anticorpo anti-troponina C no miocárdio de ovinos intoxicados naturalmente por *A. spinosus*

IDENTIFICAÇÃO	H.E.	TROPONINA
OVINO 1 (SAP 28356)	Pequenos grupos de cardiomiócitos que apresentavam alterações como perda da estriação e discreto aumento da eosinofilia, algumas células apresentavam o citoplasma com aspecto homogêneo.	Numerosas pequenas áreas com fraca ou ausência de imunorreatividade ao anticorpo anti-troponina C entremeadas por células que apresentavam forte coloração.
OVINO 2 (SAP 28357) FETO	Sem sinais de alterações nos cardiomiócitos perceptíveis nos cortes corados pela H.E.	A reatividade ao anticorpo anti-troponina C foi marcada e difusa, não foram observadas áreas com perda ou diminuição de marcação.
OVINO 3 (SAP 28358)	Fibras individuais de cardiomiócitos com apenas leve aumento da eosinofilia.	Em algumas áreas havia fibras individuais com marcada diminuição da imunorreatividade ao anticorpo anti-troponina C.
OVINO 4 (SAP 28359)	Extensas áreas com aumento da eosinofilia, perda de estriação, citoplasma de aspecto homogêneo e vítreo, lise celular, cariólise e desaparecimento do núcleo, além de infiltrado inflamatório misto.	Havia pequenas e extensas áreas de significativa diminuição de reatividade ao anticorpo anti-troponina C, passando por áreas sem marcação. A avaliação imuno-histoquímica demonstrou uma lesão maior e mais significativa do que a observada nos cortes corados pela H.E.
OVINO 5 (SAP 28360)	Grupos de miócitos cardíacos tumefeitos, com perda de estriação e sem infiltrado inflamatório nos cortes corados pela H.E.	Inúmeras pequenas áreas com drástica diminuição ou até mesmo perda completa da imunorreatividade ao anticorpo anti-troponina C.
OVINO 6 (SAP 28365)	Fragmento 1 - Áreas de necrose cardíaca, as células destas áreas apresentavam perda de estriação, citoplasma de aspecto homogêneo e vítreo, fragmentação celular, perda dos núcleos e moderado infiltrado inflamatório misto. Havia ainda, pequenos grupos de cardiomiócitos com apenas discretas alterações como tumefação celular. Fragmento 2 e 3 - Grupos de miócitos cardíacos com perda de estriação e citoplasma de aspecto homogêneo.	Fragmento 1 - Extensas áreas com ausência de imunorreatividade ao anticorpo anti-troponina C. Ainda neste mesmo fragmento, havia algumas áreas com importante diminuição da reatividade. Neste caso, também foi possível identificar que a lesão cardíaca era maior e mais significativa do que a coloração apenas pela H.E. permitia identificar. Fragmento 2 e 3 - Extensas áreas com significativa perda de reatividade entremeadas por cardiomiócitos individuais que apresentavam forte marcação.
OVINO 7 (SAP 28366 A)	Pequenos grupos de cardiomiócitos que exibiam apenas leve aumento da eosinofilia e por vezes perda de estriação e citoplasma de aspecto homogêneo.	Algumas áreas com significativa perda de marcação, passando por locais com ausência de reatividade.
OVINO 8 (SAP 28366 B) FETO	Sem sinais de alterações nos cardiomiócitos perceptíveis nos cortes corados pela H.E.	A reatividade ao anticorpo anti-troponina C foi marcada e difusa; não foram observadas áreas com perda ou diminuição de marcação.

Quadro 6 - Continuação

OVINO/SAP	H.E.	TROPONINA
OVINO 9 (SAP 28510) FRAGMENTO 1	<p>Fragmento 1 - Pequena área de necrose com moderado infiltrado inflamatório misto. Grupos de cardiomiócitos que apresentavam alterações extremamente discretas e até mesmo imperceptíveis no H.E.</p> <p>Fragmento 2 - Área de necrose com moderado infiltrado inflamatório misto.</p> <p>Fragmento 3 - Grupos de cardiomiócitos que apresentavam discreto aumento da eosinofilia, perda de estriação, citoplasma de aspecto homogêneo e fragmentação de algumas células, sem infiltrado inflamatório.</p>	<p>Fragmento 1 - Pequena área com ausência de imunorreatividade. Havia ainda algumas pequenas áreas com significativa diminuição da reatividade.</p> <p>Fragmento 2 - Uma área focalmente extensa com ausência de imunorreatividade.</p> <p>Fragmento 3 - Áreas com marcada diminuição da reatividade.</p>
OVINO 10 (SAP 28513)	<p>Áreas de necrose de cardiomiócitos, as células perderam as estriações, o citoplasma tinha aspecto vítreo, havia fragmentação de algumas células e moderado infiltrado inflamatório misto. Em outros locais havia apenas uma discreta tumefação celular e aspecto homogêneo do citoplasma dos miócitos cardíacos.</p>	<p>Áreas com ausência de imunorreatividade e alguns outros locais com significativa perda de reatividade ao anticorpo anti-troponina C.</p>
OVINO CONTROLE	<p>Acentuada hipereosinofilia em diversos cardiomiócitos acompanhada de marcado infiltrado inflamatório composto predominantemente por macrófagos e poucos linfócitos e plasmócitos, havia ainda picnose, cariólise e lise celular.</p>	<p>Áreas com acentuada depleção na imunomarcção de fibras cardíacas em meio a outras com expressão normal para troponina C.</p>

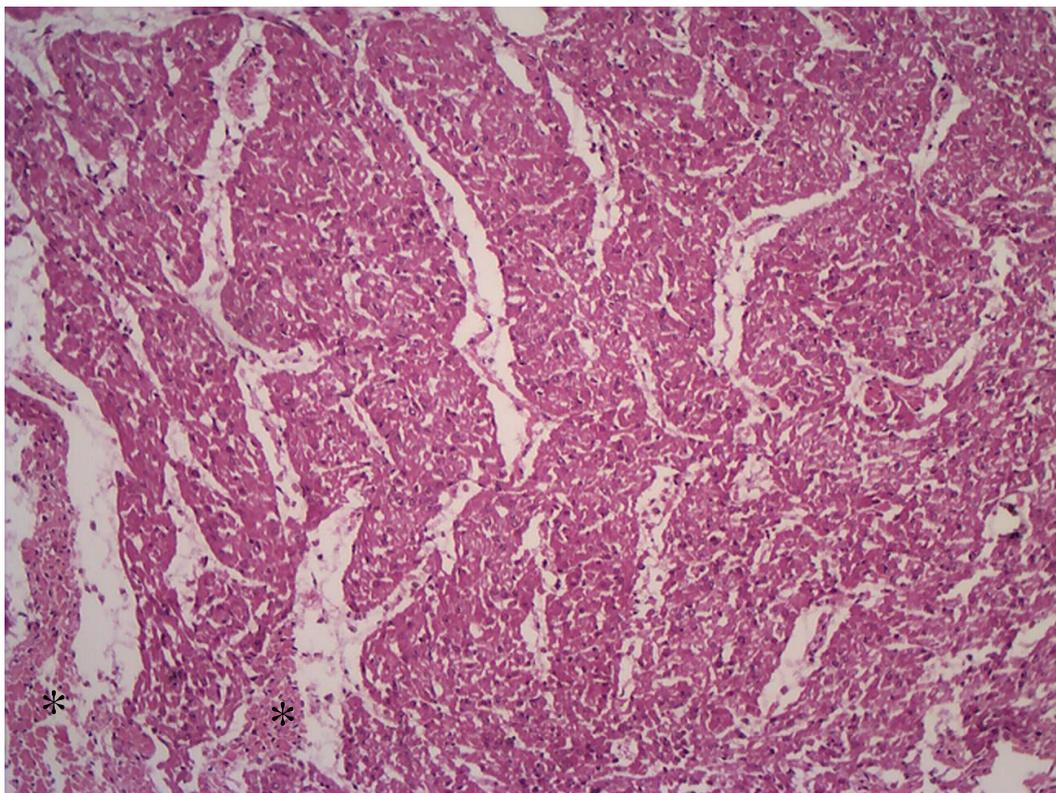


Figura 6. Coração do feto (Ovino 2) de uma ovelha (Ovino 1) intoxicada espontaneamente por *A. spinosus*. Miócitos cardíacos sem alteração. *Tecido conjuntivo. Obj. 10x. H.E. (SAP 28357)

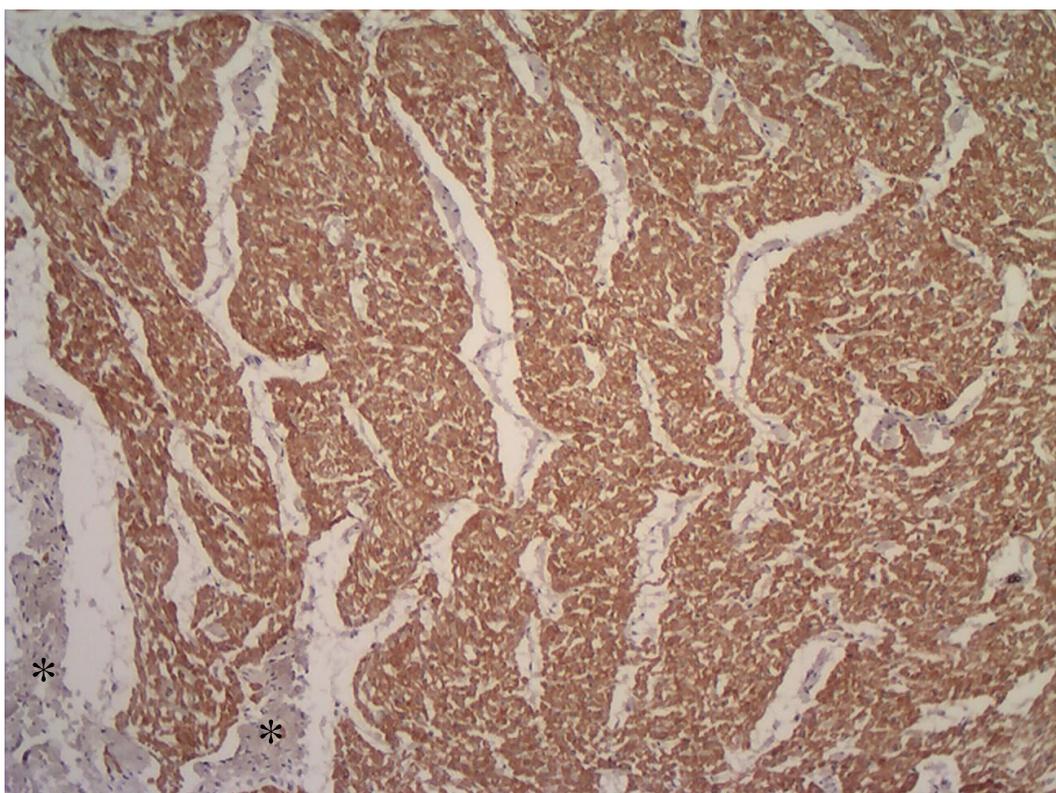


Figura 7. Coração do feto (Ovino 2) de uma ovelha (Ovino 1) intoxicada espontaneamente por *A. spinosus*. Imunorreatividade marcada e difusa ao anticorpo anti-troponina C. *Notar o tecido conjuntivo sem marcação. Obj. 10x (SAP 28357)

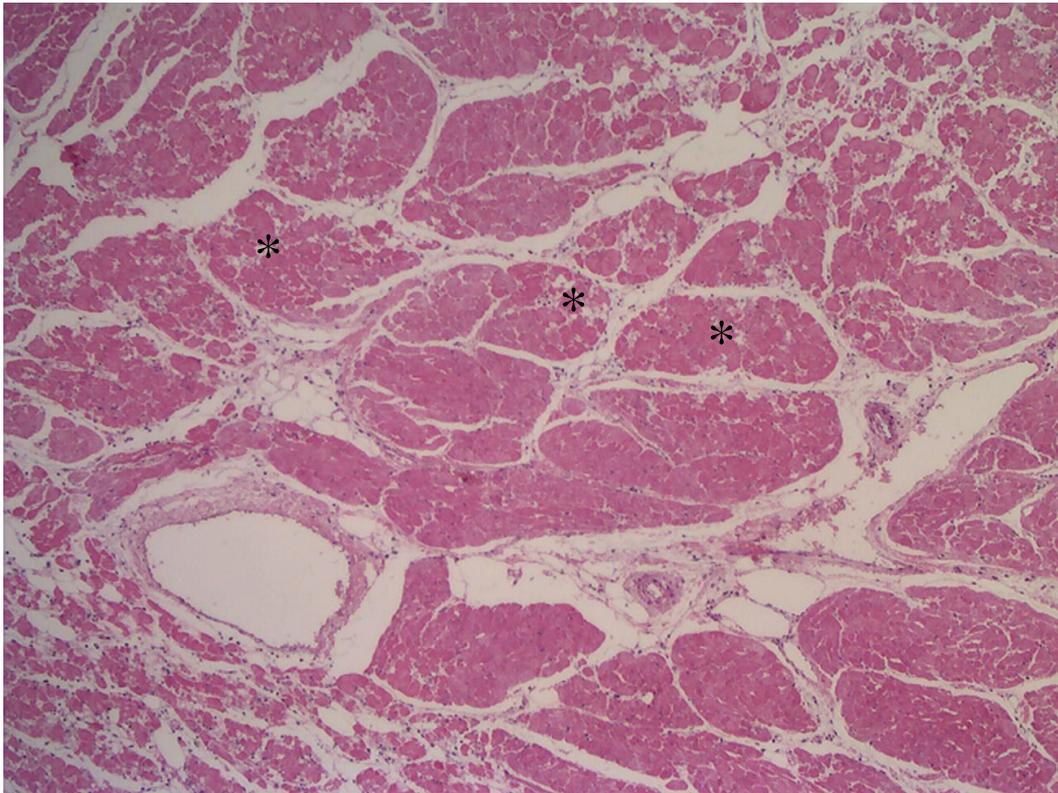


Figura 8. Coração do Ovino 4 intoxicado espontaneamente por *A. spinosus*. Diversas áreas com necrose de coagulação (asteriscos, detalhes na figura 10). Obj. 4x. H.E. (SAP 28359)

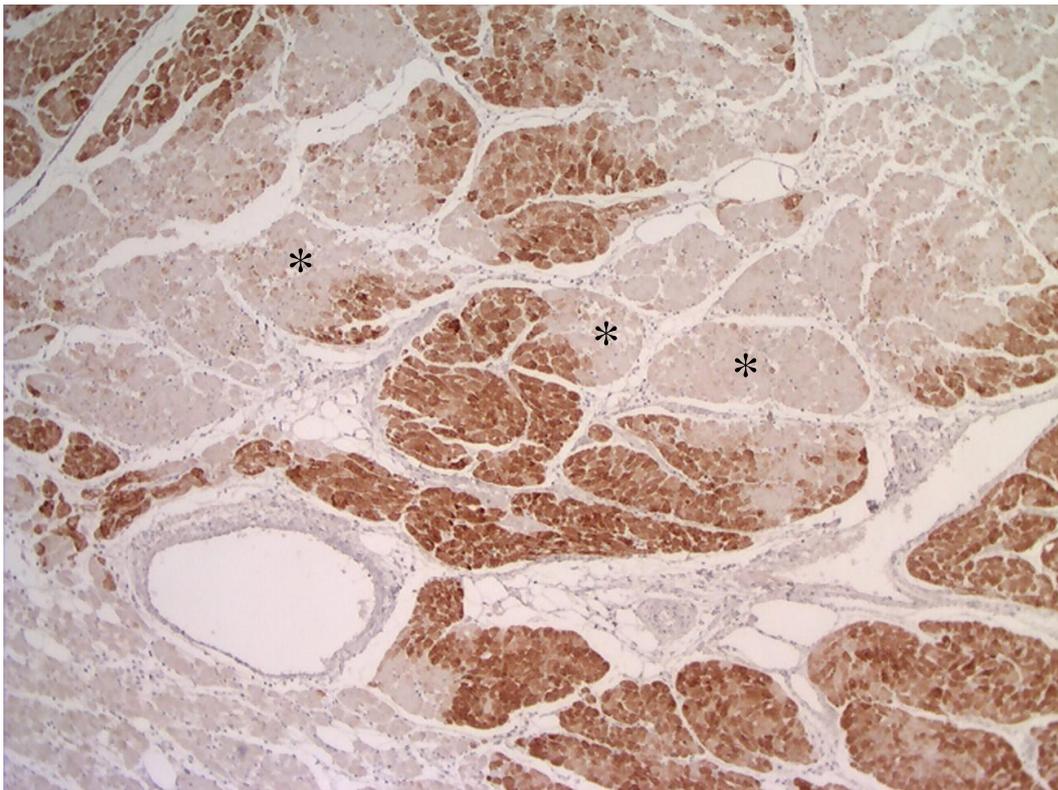


Figura 9. Coração do Ovino 4 intoxicado espontaneamente por *A. spinosus*. Marcada diminuição da imunorreatividade ao anticorpo anti-troponina C nas áreas de necrose observadas na foto anterior (asteriscos). Obj. 4x. (SAP 28359)

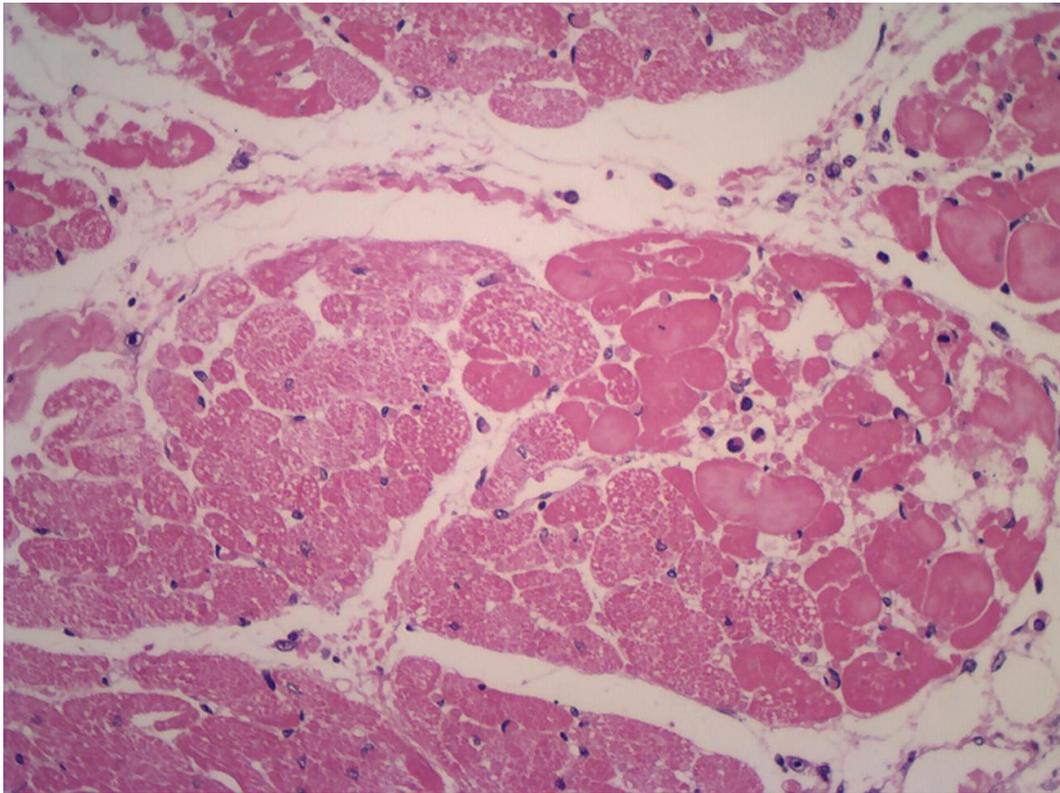


Figura 10. Coração do Ovino 4 intoxicado espontaneamente por *A. spinosus*. Maior aumento da Figura 8, notar que neste campo existem células com diferentes alterações degenerativo-necróticas, infiltração discreta de células inflamatórias. Obj. 20x. H.E. (SAP 28359)

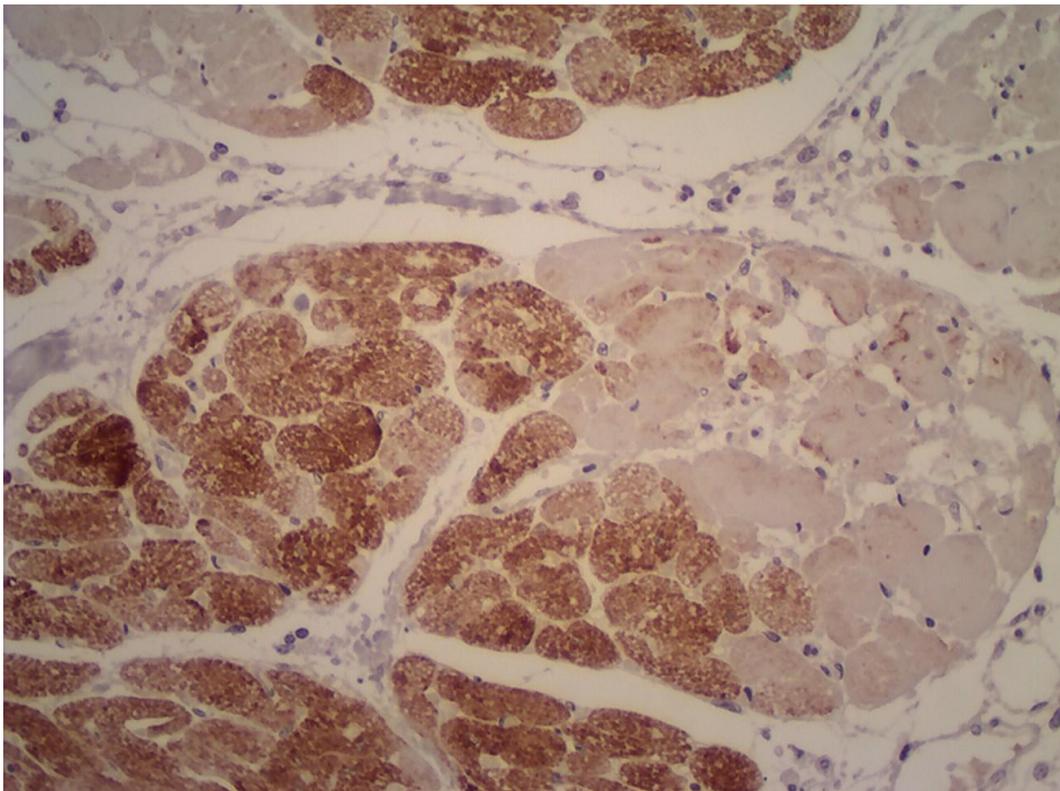


Figura 11. Coração do Ovino 4 intoxicado espontaneamente por *A. spinosus*. Maior aumento da Figura 9, notar variação na reatividade ao anticorpo anti-troponina C de acordo com a evolução da lesão. Obj. 20x. (SAP 28359)

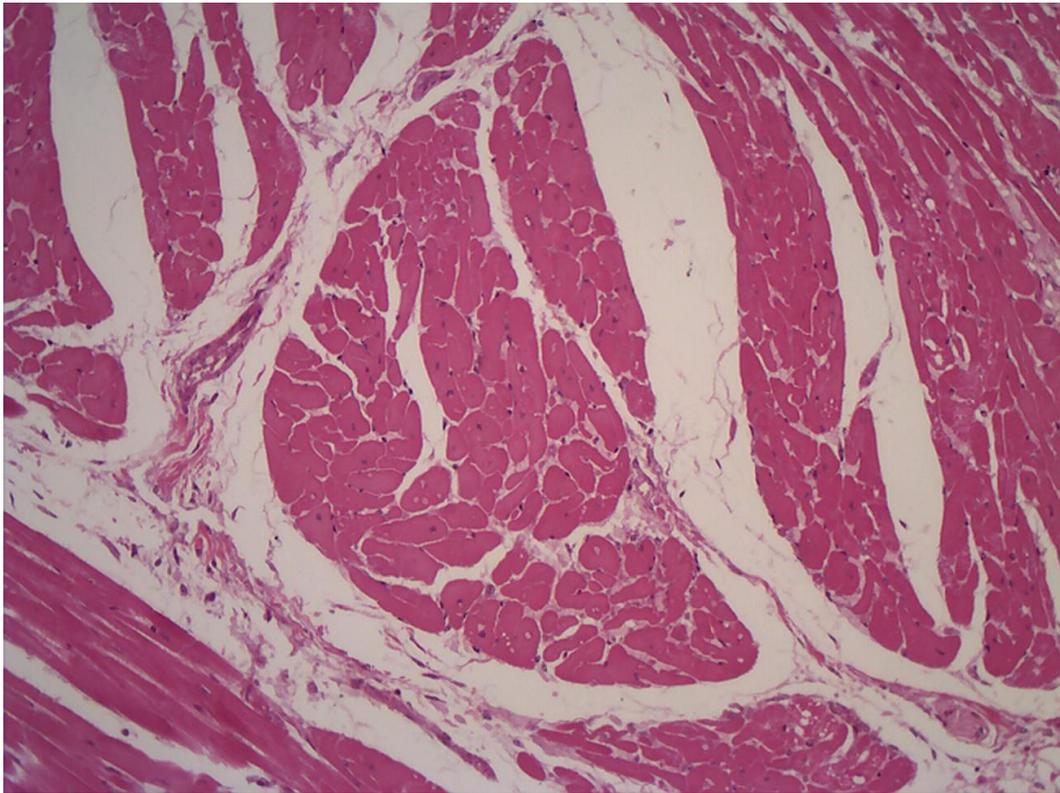


Figura 12. Coração do Ovino 6 intoxicado espontaneamente por *A. spinosus*. Grupos de miócitos cardíacos com aumento da eosinofilia, citoplasma de aspecto homogêneo e picnose nuclear. Obj. 10x. H.E. (SAP 28365)

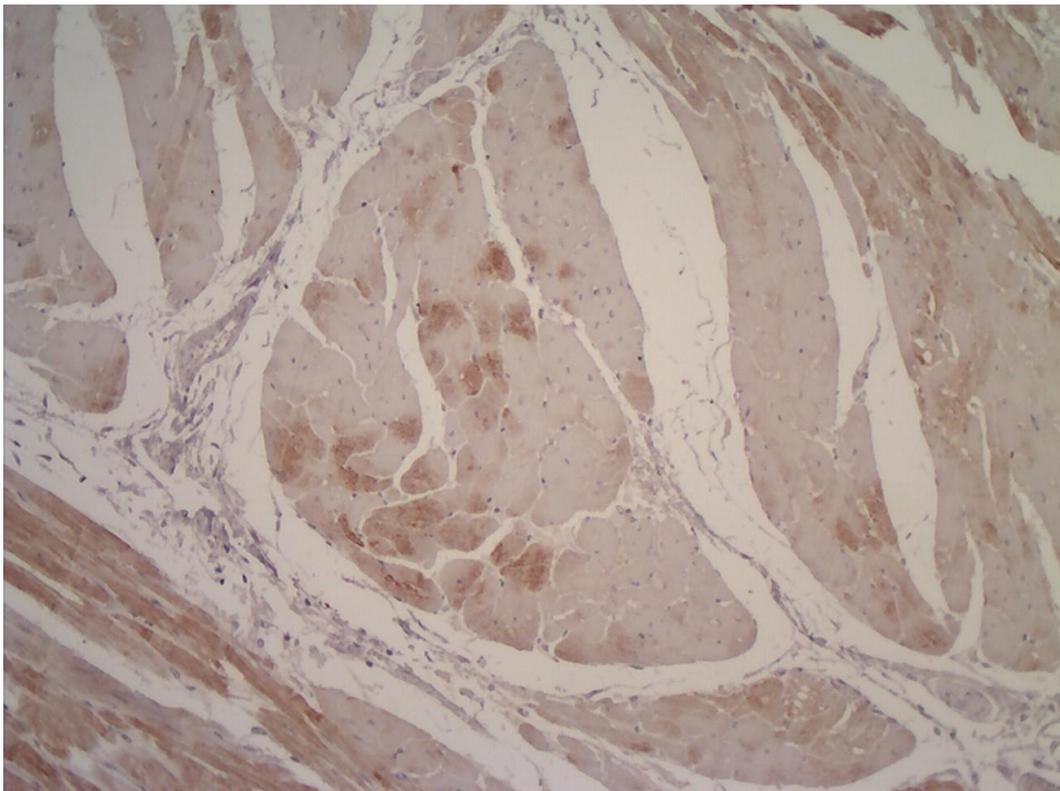


Figura 13. Coração do Ovino 6 intoxicado espontaneamente por *A. spinosus*. Mesmo campo da Figura 12 com significativa perda de imunoreatividade nos cardiomiócitos que apresentavam lesão. Obj. 10x. (SAP 28365)

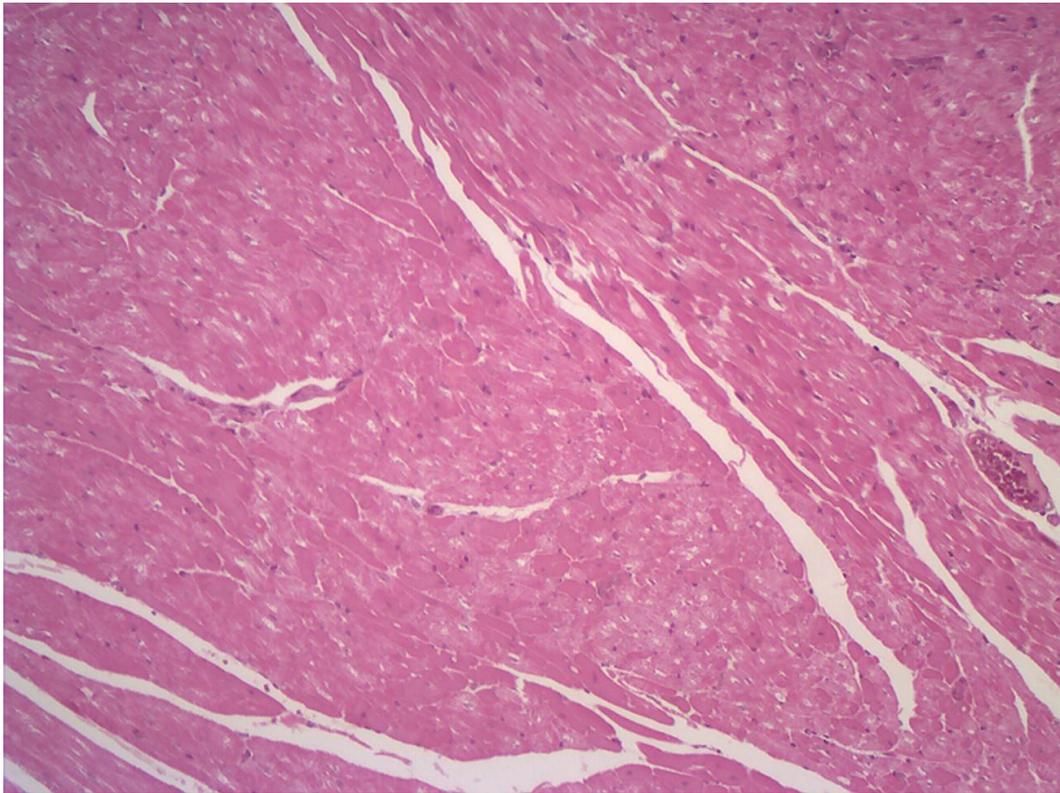


Figura 14. Coração do Ovino 7 intoxicado espontaneamente por *A. spinosus*. Pequenos grupos de fibras cardíacas apresentando discreto aumento de eosinofilia. Obj. 10x. H.E. (SAP 28366A)

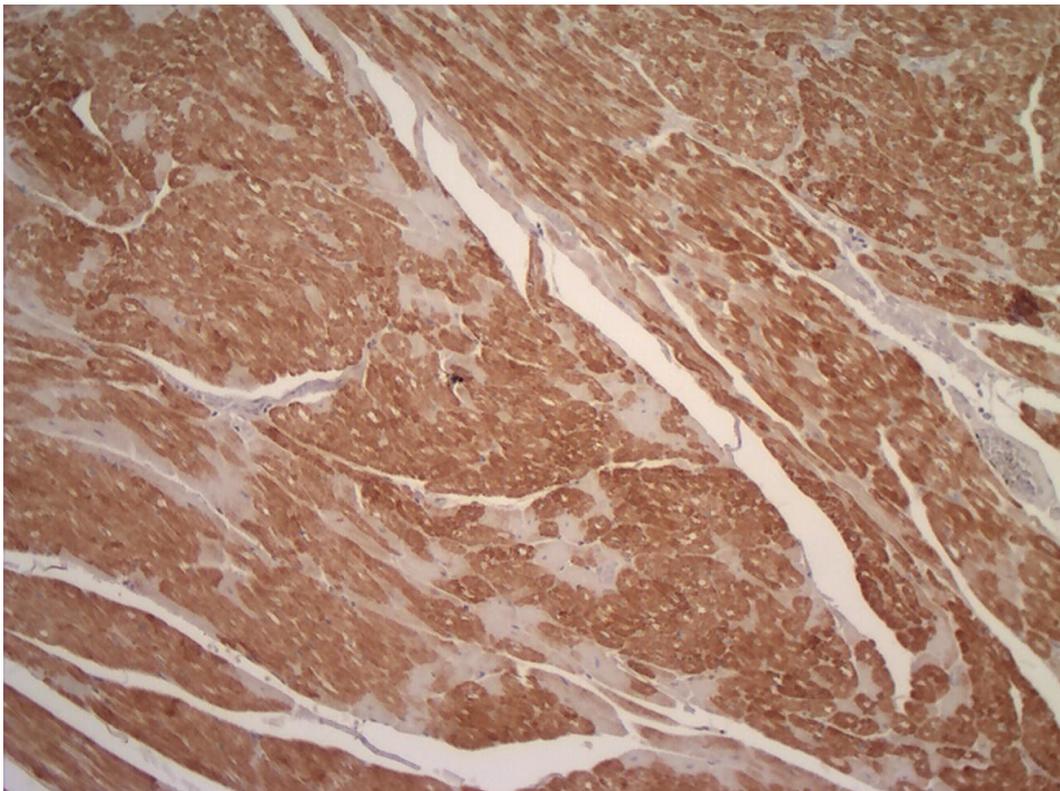


Figura 15. Coração do Ovino 7 intoxicado espontaneamente por *A. spinosus*. Mesma localização da Figura 14, notar que os pequenos grupos com aumento de eosinofilia correspondem aos miócitos com significativa perda de reatividade. Obj. 10x. (SAP 28366A)

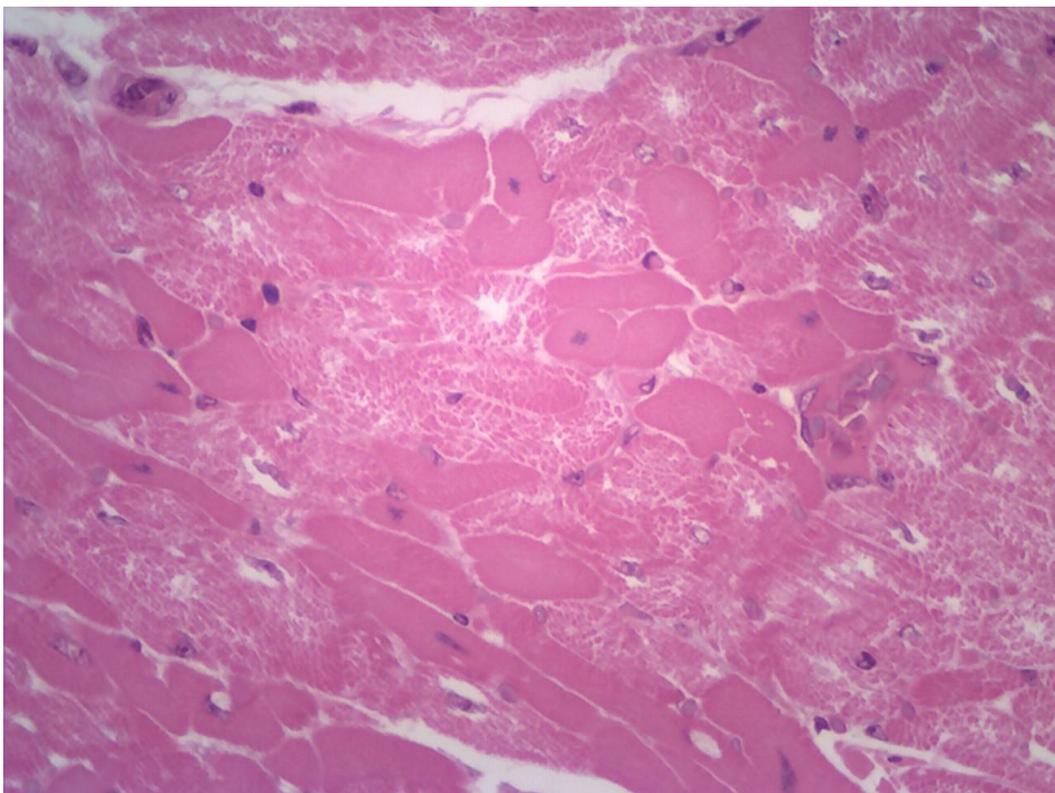


Figura 16. Coração do Ovino 7 intoxicado espontaneamente por *A. spinosus*. Maior aumento da Figura 10, além do aumento da eosinofilia há também perda de estriação. Obj. 40x. H.E. (SAP 28366A)

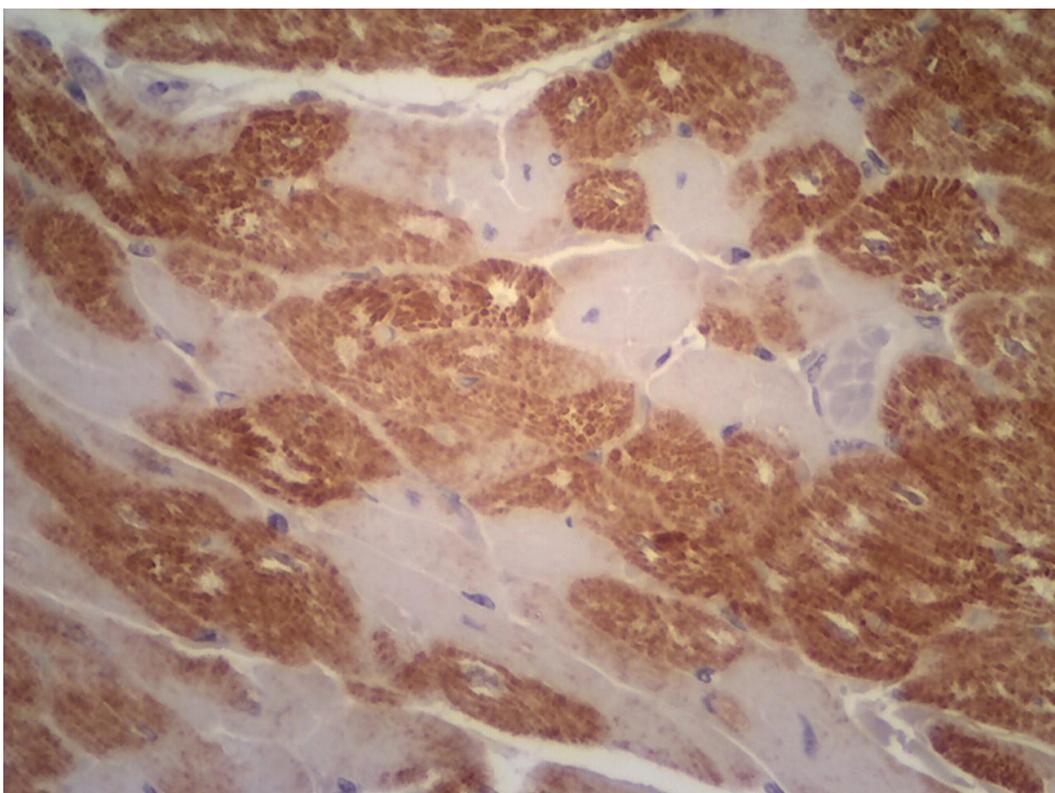


Figura 17. Coração do Ovino 7 intoxicado espontaneamente por *A. spinosus*. Maior aumento da Figura 16, notar a drástica perda de reatividade e por vezes ausência de marcação em grupos de cardiomiócitos lesados. Obj. 40x. (SAP 28366A)

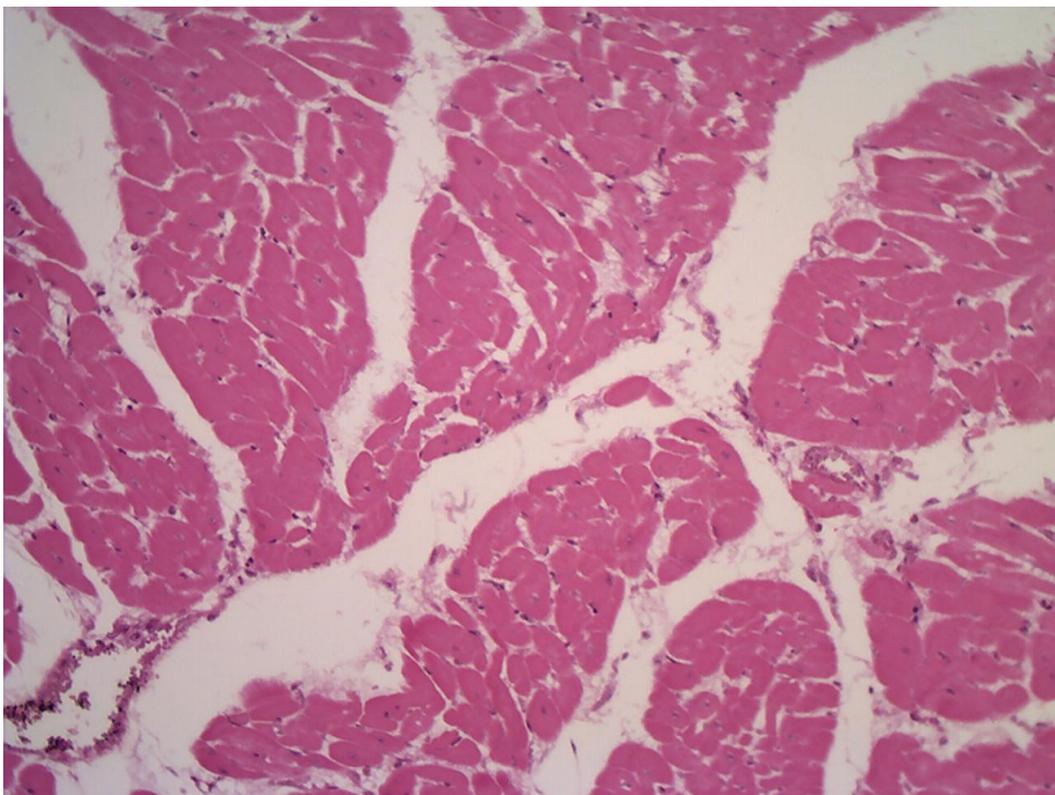


Figura 18. Coração do Ovino 9 intoxicado espontaneamente por *A. spinosus*. Grupos de miócitos cardíacos aparentemente sem lesão. Obj. 10x. H.E. (SAP 28510)

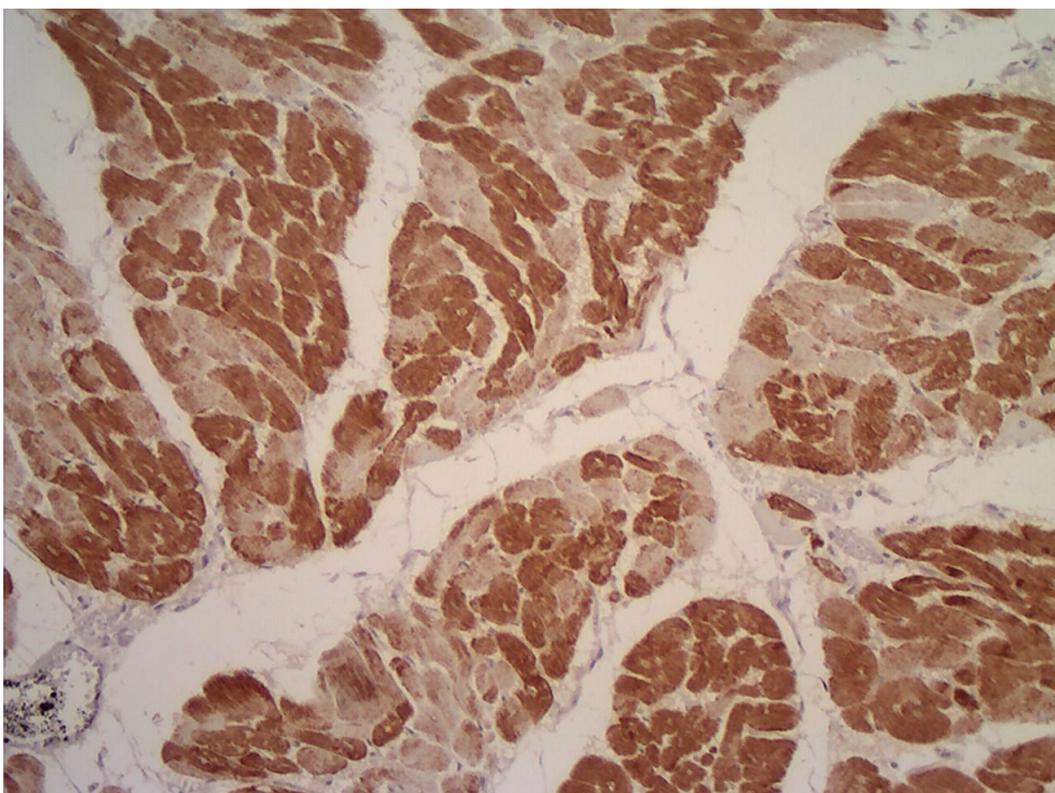


Figura 19. Coração do Ovino 9 intoxicado espontaneamente por *A. spinosus*. Mesma localização da Figura 18, evidente diminuição de reatividade em alguns miócitos cardíacos que aparentemente não apresentavam lesão no H.E.. Obj. 10x. (SAP 28510)

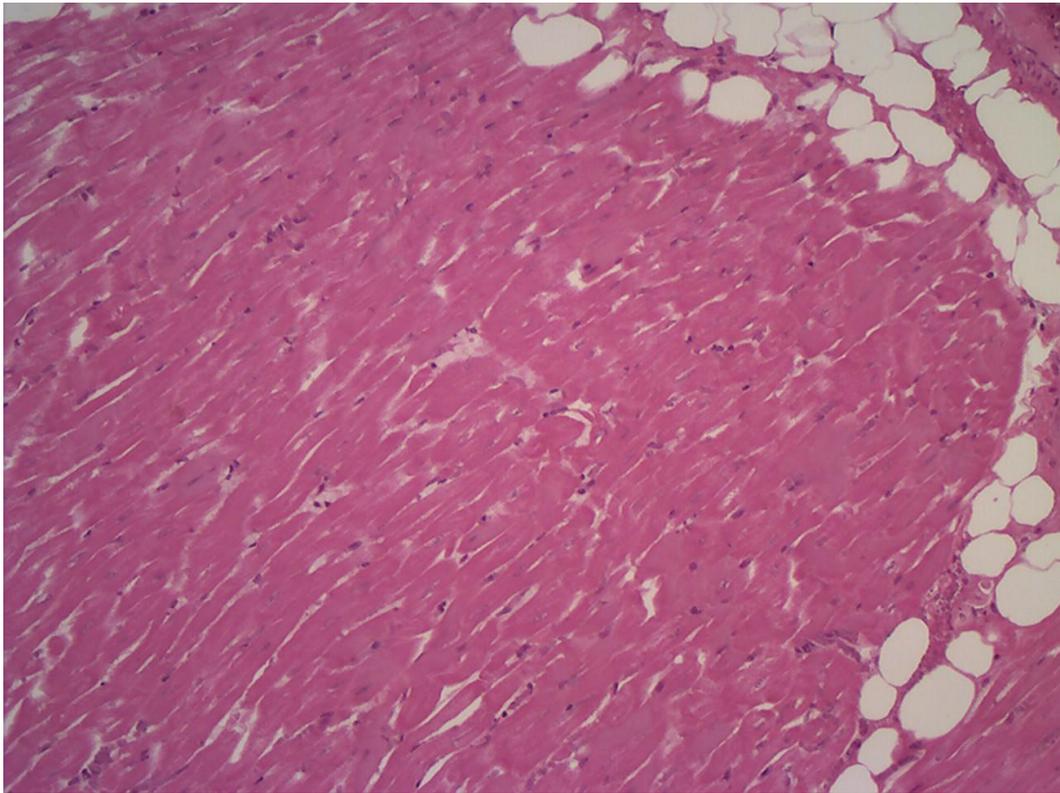


Figura 20. Coração do Ovino 10 intoxicado espontaneamente por *A. spinosus*. Cardiomiócitos sem alterações perceptíveis neste aumento. Obj. 10x. H. E. (SAP 28513)

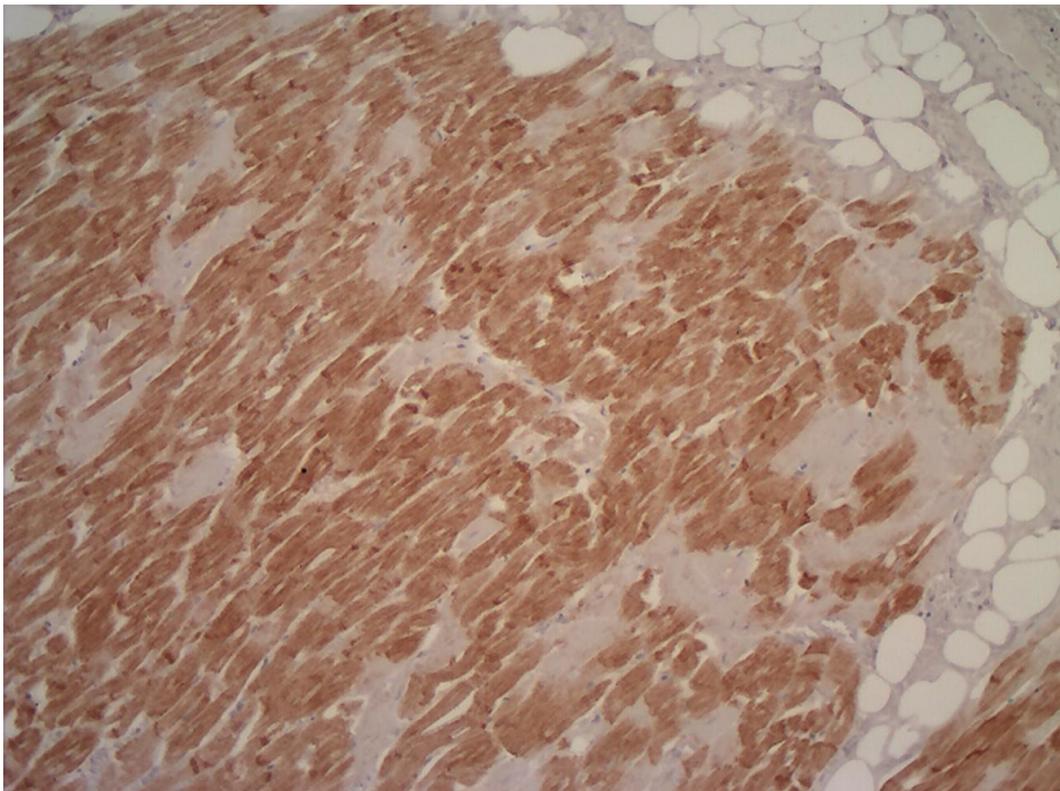


Figura 21. Coração do Ovino 10 intoxicado espontaneamente por *A. spinosus*. Mesma localização da Figura 16, marcada diminuição da imunorreatividade ao anticorpo anti-troponina C em alguns cardiomiócitos. Obj. 10x. (SAP 28513)

5 DISCUSSÃO

A alteração morfológica que caracteriza as intoxicações por diferentes espécies de *Amaranthus* sp. é a necrose de coagulação das células epiteliais dos túbulos contorcidos além de alterações extra-renais, muitas vezes associada à uremia (BUCK et al., 1966; OSWEILER; BUCK; BICKNELL, 1969; STUART et al., 1975; ARMESTO et al., 1989; FERREIRA et al., 1991; SALLES et al., 1991; LEMOS et al., 1993; CASTEEL et al., 1994; KERR; KELCH, 1998; PEIXOTO et al., 2003).

Peixoto et al. (2003) descreveram um surto de intoxicação natural por *Amaranthus spinosus* em ovinos, que apresentavam, além das alterações renais características do quadro de nefrose tubular tóxica, áreas de necrose de coagulação no coração, lesão esta que só havia sido observada por Takken e Connor (1984) em suínos intoxicados experimentalmente por *A. caudatus*. Takken e Connor (1984) descrevem, ainda, que as únicas alterações encontradas foram degeneração miocárdica de leve a severa e quantidades variáveis de líquido no tórax, saco pericárdico e cavidade abdominal. Tanto Peixoto et al. (2003), quanto Takken e Connor (1984) sugerem que a hipercalemia seria a possível causa destas lesões no coração.

Aumento nos níveis de potássio e alterações eletrocardiográficas compatíveis com hipercalemia foram demonstrados por Osweiler, Buck e Bincknell (1969) em suínos intoxicados experimentalmente por *A. retroflexus*, que apresentavam nefrose tóxica, porém não havia lesão detectável em células cardíacas.

Apesar de descrever moderada hialinização de arteríolas do pulmão e do coração de bovinos intoxicados por *Amaranthus* sp., Stuart et al. (1975) não relatam alterações degenerativas/necróticas nos miócitos cardíacos, enquanto que no coração de parte dos ovinos deste estudo existiam áreas de necrose evidente, porém não há, em nenhum dos casos, alterações, mesmo que discretas nos vasos do coração.

Neste estudo avaliou-se através da técnica de imuno-histoquímica, utilizando o anticorpo anti-troponina C, fragmentos de coração dos ovinos intoxicados por *A. spinosus* do estudo realizado por Peixoto et al. (2003), com o objetivo de confirmar as lesões regressivas e detectar a presença e amplitude de alterações regressivas incipientes ou não perceptíveis no miocárdio desses animais pela técnica de rotina (H.E).

As troponinas cardíacas T e I têm sido utilizadas como marcadores séricos para demonstrar lesões cardíacas em seres humanos (BADUIN; JAFFE, 2005), devido ao aumento das concentrações séricas 4 a 6 horas após lesão ou necrose aguda do miocárdio (NELSON; COUTO, 2006; JENKINS et al., 2010). Não há uma utilidade clínica na dosagem sérica da troponina C, uma vez que o músculo cardíaco e o músculo liso partilham a mesma isoforma (MARTINS, 2009).

Em estudos imuno-histoquímicos no coração de seres humanos que morreram por infarto do miocárdio, asfixia, trauma múltiplo e causas naturais (com exceção de infarto do miocárdio), verificou-se em miócitos não lesados reatividade difusa e acentuada à troponina C em 86% dos casos de forma; nas áreas de infarto a marcação era fraca e por vezes ausente. Por outro lado a imunorreatividade à troponina T, nos miócitos saudáveis, foi menos intensa (46% dos casos) (MARTÍNEZ-DÍAZ et al., 2005). No presente estudo também havia imunorreatividade intensa e difusa no coração dos dois fetos e nos miócitos cardíacos que não apresentavam lesão nos cortes corados pela H.E., servindo como controle interno positivo para o anticorpo anti-troponina C.

Análises bioquímicas, entre elas potássio, ureia, creatinina, sódio, cloro, magnésio, fósforo e troponinas I e T, do sangue de bezerros com diarreia neonatal, demonstraram marcado distúrbio hidroeletrolítico (hipercalemia, hiponatremia, hipocloremia, hipermagnesemia e hiperfosfatemia), além de um provável quadro de insuficiência renal devido aos altos valores de ureia e creatinina e proteinúria. Foram realizados

eletrocardiogramas nos bezerros hipercalêmicos e com diarreia, que comparados ao eletrocardiograma dos animais controle, apresentaram um marcado aumento da amplitude e da duração do complexo QRS e da onda T. Apesar das alterações eletrolíticas e eletrocardiográficas, não foram detectados aumentos nos níveis séricos de troponina. Todos os animais foram tratados após os primeiros exames (ÖZKAN et al., 2011). Acreditamos que as concentrações séricas de troponina poderiam ainda não estar aumentadas devido ao tempo de evolução da doença, provavelmente se os animais não fossem tratados e morressem com este quadro de marcada alteração eletrolítica, principalmente pela hipercalemia e insuficiência renal aguda, lesões cardíacas com conseqüente aumento das troponinas poderiam ocorrer.

Como observado em outros estudos relacionados a outras causas de lesão cardíaca (MARTÍNEZ-DÍAZ et al., 2005; PARVARINI et al., 2012) as áreas que apresentavam marcada necrose coagulativa no H.E. no miocárdio dos ovinos intoxicados, correlacionavam-se com a drástica diminuição de imunorreatividade e, por vezes, ausência de reatividade ao anticorpo anti-troponina C. Foi possível estabelecer estreita relação das áreas onde não havia marcação pelo anticorpo com as áreas de necrose mais evidentes que estavam presentes no miocárdio de quatro ovinos deste estudo.

Outra importante observação é que em quatro casos (Ovinos 4, 6, 7 e 10) identificou-se que as áreas com marcada diminuição da expressão imuno-histoquímica da troponina C eram maiores e mais significativas do que os grupos de cardiomiócitos que apresentavam, ao menos, algum grau de alteração no H.E. Este achado imuno-histoquímico foi observado, inclusive, em miócitos cardíacos que estavam apenas tumefeitos. Esta redução na marcação provavelmente está relacionada ao aumento nos níveis séricos das troponinas cardíacas que ocorre mesmo a partir de danos reversíveis nos cardiomiócitos como descrito em seres humanos (LAZZERI et al., 2008).

Em muitas áreas do miocárdio dos ovinos foi observada uma marcada diminuição e até ausência de reatividade ao anticorpo anti-troponina C em locais onde as alterações regressivas eram incipientes em cortes corados pela H.E.

Em pelo menos metade dos casos as alterações histológicas cardíacas dos ovinos foram mais evidentes no presente estudo imuno-histoquímico, do que as descritas por Peixoto et al. (2003). Provavelmente esta diferença se deve ao fato de que lesões muito discretas e incipientes, que por vezes poderiam ser confundidas até mesmo com artefatos, foram mais facilmente visualizadas e identificadas realmente como lesões devido à comparação do H.E com a imuno-histoquímica, o que reforça a importância da utilização da técnica na avaliação da real gravidade da lesão cardíaca em ovinos intoxicados por *A. spinosus*.

Estes achados corroboram com o observado por outros autores (RIBEIRO-SILVA et al., 2002; JENKINS et al., 2010; CARRETÓN et al., 2012) em que alterações regressivas extremamente precoces podem ser identificadas através da técnica de imuno-histoquímica utilizando-se o anticorpo anti-troponina C e que as lesões cardíacas podem ser maiores e mais significativas do que, muitas vezes, é possível avaliar apenas pela coloração de rotina.

Peixoto et al. (2003) ressaltam que não há evidências de lesões determinadas diretamente pela planta nos fetos. É possível que o princípio tóxico de *Amaranthus* sp. não atravesse a barreira placentária, uma vez que a placenta de ruminantes é do tipo sindesmocorial o que impede a passagem de anticorpos e outras substâncias para o feto por via transplacentária durante a gestação (TIZARD, 2014). O achado de corpúsculos de choque nos vasos de alguns fetos (PEIXOTO et al., 2003) e a imunorreatividade de forma intensa e difusa para o anticorpo anti-troponina C no coração dos fetos analisados reforçam esta hipótese.

De todas as estruturas cardíacas, apenas os cardiomiócitos expressaram reatividade para o anticorpo anti-troponina C. Tunca et al. (2008) obtiveram resultados semelhantes neste ponto, porém alguns macrófagos e neutrófilos contendo substâncias necróticas exibiram

intensa reatividade citoplasmática para o anticorpo anti-troponina I. No presente estudo, nas áreas de necrose onde havia infiltrado inflamatório, não foi observada reatividade das células inflamatórias ao anticorpo anti-troponina C.

A variação da intensidade da marcação do anticorpo anti-troponina C, observada no presente estudo, talvez possa estar relacionada ao fato de que nas primeiras horas após a lesão (4-6 horas) ocorre a liberação de uma pequena quantidade de troponina, que provém do reservatório citosólico e o pico da concentração sanguínea é verificado 48-72 horas após a lesão, correspondendo à troponina do reservatório estrutural, que começa a ser liberada para o plasma graças à destruição das miofibrilas, quando da necrose dos miocardiócitos (MARTINS, 2009).

Aumento nos valores de troponina em pacientes em estágio final de insuficiência renal tem sido descrito (FREDA et al., 2002; LAZZERI et al., 2008). Os autores têm levantado hipóteses como aumento da massa ventricular esquerda, dificuldade de excreção renal da troponina, reexpressão da isoforma cardíaca da troponina T no músculo esquelético em pacientes com miopatia urêmica, maior propensão de sustentar repetidos episódios de microinfartos clinicamente silenciosos, porém o real motivo permanece desconhecido. Na literatura consultada, não foram encontrados trabalhos que estudassem uma possível correlação entre a hipercalemia ou outros distúrbios eletrolíticos da insuficiência renal com alterações morfológicas do coração ou mesmo com os aumentos nas concentrações das troponinas cardíacas.

Em humanos já se sabe que quadros agudos de insuficiência renal podem levar a desordens cardíacas agudas (síndrome renocárdica aguda – tipo 3) (RONCO et al., 2008a), porém pouco se sabe sobre estas associações em animais, principalmente em ruminantes. É possível que nos animais, assim como em humanos as alterações relacionadas com a insuficiência renal aguda, como, por exemplo, a hipercalemia, a acidose metabólica e a ativação da inflamação e da apoptose ao nível cardíaco, possa estar envolvida com as alterações no eletrocardiograma descritas por Osweiler, Buck e Bincknell (1969) e com a presença das alterações histológicas observadas por Takken e Connor (1984), Peixoto et al. (2003) e no presente estudo.

Os resultados da avaliação imuno-histoquímica confirmaram a presença tanto de alterações regressivas incipientes, quanto ratificaram a ocorrência de lesões necróticas já bem instaladas no miocárdio de ovinos intoxicados por *Amaranthus spinosus*. Esse estudo demonstra necessidade de melhor investigar a possível participação da hipercalemia e de outras alterações metabólicas presentes na lesão renal aguda, na gênese das lesões cardíacas de rápida instalação, ou seja, àquelas não correlacionadas às lesões vasculares determinadas pela uremia de longa duração.

6 CONCLUSÕES

- A avaliação imuno-histoquímica confirmou a presença tanto de alterações regressivas incipientes, quanto ratificou a ocorrência de lesões necróticas já bem instaladas no miocárdio dos oito ovinos intoxicados por *Amaranthus spinosus*.
- A técnica foi capaz de detectar tanto lesões muito precoces (locais do miocárdio sem sinais morfológicos de agressão), como demonstrou que as áreas agredidas/lesadas eram maiores que o evidenciado através da coloração de H.E.
- Através da utilização do anticorpo anti-troponina C foi possível confirmar a ausência de lesões nos corações dos fetos.
- O anticorpo anti-troponina C cardíaca humano pode ser utilizado no miocárdio de ovinos.
- O método se adéqua perfeitamente à realização de estudos retrospectivos que abordem enfermidades com alterações regressivas ao miocárdio de ovinos, uma vez que o material utilizado havia sido fixado e emblocado a mais de 15 anos.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; POBER, J. S. The complement system. Em *Celular and Molecular Immunology*. Philadelphia, 2^o edição, p. 295-316, 1994.
- ADAMS, J. E.; ABENDSCHEIN, D. R.; JAFFE, A. S. Biochemical markers of myocardial injury. Is MB creatine kinase the choice for the 1990s? *Circulation*, V. 88, p.750-763, 1993.
- ADHIYAMAN, V.; ASGHAR, M.; OKE, A.; WHITE, A. D.; SAH, I. U. Nephrotoxicity in the elderly due to co-prescription of angiotensin converting enzyme inhibitors nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *J. R. Soc. Med.*, v. 94, p.512-514, 2001.
- AGGARWAL, R.; LEBIEDZ-ODROBINA, O.; SINHA, A.; MANADAN, A.; CASE, J. P. *The Journal of Rheumatology*, V. 36, n.12, p.2711-2714, 2009.
- AIRES, M. M. *Fisiologia*. Rio de Janeiro, 934p., 1999.
- ALPERS, C. E. O rim. In: KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; FAUSTO, N. *Bases patológicas das doenças Robins & Cotran Patologia*. 7^o Ed. Rio de Janeiro, Elsevier, p.999-1066, 2005.
- ARMESTO, R. R.; GRANDE, H. A.; BARONI, A. C.; BARONI, E. E.; BOGGIO, J. Intoxicacion por *Amaranthus quitensis* en vaquillonas holando argentino. *Veterinaria Argentina.*, v. 6, n 60, p.692-700, 1989.
- BABUIN, L.; JAFFE, A. S. Troponin: the biomarker of choice for the detection of cardiac injury. *Canadian Medical Association Journal*. v. 173, n. 10, p.1191-1202, 2005.
- BHATIA, H. L.; TU, J. V.; LEE, D. S.; et al. Outcome of heart failure with preserved ejection fraction in a population-based study. *New England Journal of Medicine*, v.355, p.260-269, 2006.
- BLAKE, P.; HASEGAWA, Y.; KHOSLA, M. C.; FOUAD-TARAZI, F.; SAKURA, N.; PAGANINI, E. P. Isolation of “myocardial depressant factor(s)” from the ultrafiltrate of heart failure patients with acute renal failure. *ASAIO Journal*, v.42,p.M911-915, 1996.
- BERL, T.; HENRICH, W. Kidney-heart interactions: epidemiology, pathogenesis, and treatment. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, v.1, p.8-18, 2006.
- BODOR, G. S.; SURVANT, L.; VOSS, E. M.; SMITH, S.; PORTERFIELD, D.; APLE, F. S. Cardiac troponin T composition in normal and regenerating human skeletal muscle. *Clinical Chemistry*, v. 43, n. 3, p.476-484, 1997.
- BONGARTZ, L. G.; CRAMER, M. J.; DOEVENDANS, P. A.; JOLLES, J. A.; BRAAM, B. The severe cardiorenal syndrome: “guyton revisited”. *European Heart Journal*, v.26, p.11-17, 2005.
- BRAKENRIDGE, D. T. Nitrate poisoning caused by turnips and redroot. *The New Zealand Veterinary Journal*, v. 4, p.165-166, 1956.

- BRICKS, L. F.; SILVA, C. A. A. Toxicidade dos antiinflamatórios não-hormonais. *Pediatrics (São Paulo)*, v. 27, n. 3, p. 181-193, 2005.
- BUCK, W. B.; PRESTON, K. S.; ABEL, M. Common weeds as a cause of perirenal edema in swine. *Iowa State Univ. Vet.*, v. 27, p.105-108, 1965.
- BUCK, W. B.; PRESTON, K. S.; ABEL, M.; MARSHALL, V. L. Perirenal edema in swine: a disease caused by common weeds. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 148, n. 12, p.1525-1531, 1966.
- CALDAS, S. A.; BRITO, M. F.; PRADO, J. S.; MIYUKI, E.; VERONEZI, L.; JÖNCK, F.; MAIA, D. S.; TOKARNIA, C. H. Intoxicação experimental por *Metternichia princeps* (Solanaceae) em ovinos e bovinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.32, n.10, p.1023-1029, 2012
- CAMPOBASSO, C. P.; DELL'ERBA, A. S.; ADDANTE, A.; ZOTTI, F.; MARZULLO, A.; COLONNA, M. F. Sudden cardiac death and myocardial ischemia indicators a comparative study of four immunohistochemical markers. *The American Journal of Forensic Medicine and Pathology*, v. 29, n. 2, p.154-161, 2008.
- CARRETÓN, E.; GRANDI, G.; MORCHÓN, R.; SIMÓN, F.; PASSERI, B.; CANTONI, A. M.; KRAMER, L.; MONTAYA-ALONSO, J. A. Myocardial damage in dogs affected by heartworm disease (*Dirofilaria immitis*): Immunohistochemical study of cardiac myoglobin and troponin I in naturally infected dogs. *Veterinary Parasitology*, v. 189, p. 390-393, 2012.
- CASTEEL, S. W.; JOHNSON, G. C.; MILLER, M. A.; CHUDOMELKA, H. J.; CUPPS, D. E.; HASKINS, H. E.; GOSSER, H. S. *Amaranthus retroflexus* (redroot pigweed) poisoning in cattle. *Journal of the American Veterinary Medical Association* v. 204, n. 7, p.1068-1070, 1994. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*, v. 12, n. 2, p.166-171, 2004.
- CHAWLA, K. K.; CRUZ, J.; KREMER, N. E.; TOWNE, W. D. Electrocardiographic changes simulating acute myocardial infarction caused by hyperkalemia: Report of a patient with normal coronary arteriograms. *American Heart Journal*, v.95, n.5, p.637-640, 1978.
- CONFER, A. W.; PANCIERA, R. J. Sistema Urinário. In: CARLTON, W. W.; McGAVIN, M. D.; *Patologia Veterinária Especial de Thomson*. 2 ed. Porto Alegre. Artmed. cap. 5, p. 228 – 265, 1998.
- COTRAN, R. S.; KUMAR, V.; COLLINS, T. Rim. In: *Robbins Patologia Estrutural e Funcional*. 6 ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan S.A., cap.21, p. 834 – 894, 2000.
- CUMMINS, P.; PERRY, V. Troponin I from human skeletal and cardiac muscles. *Biochem, J.*, v. 171, p.251-259, 1978.
- CURSACK, H. A.; ROMANO, L. A. Posible intoxicacion sub-aguda con nitratos y nitritos. *Gaceta Vet.*, v. 29, p.69-74, 1967.

- DANTAS, A. F. M.; KOMMERS, G. D.; HENNEMANN, C. R. A. Intoxicação experimental por gentamicina em cães. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 27, n. 3, p.451-456, 1997.
- DIVERS, T. J. Moléstias do sistema renal. In: SMITH, B. P.; *Tratado de Medicina Interna de Grandes Animais. Moléstia de equinos, bovinos, ovinos e caprinos*. 1 ed. São Paulo. Manole. cap. 32, v.1, p.873-900, 1993.
- DODD, D. C.; COUP, M. R. Poisoning of cattle by certain nitrate-containing plants. *The New Zealand Veterinary Journal.*, v. 5, p.51-54, 1957.
- DOMANOVITS, H.; SCHILLINGER, M.; MÜLLNER, M.; THOENNISSSEN, J.; STERZ, F.; ZEINER, A.; DRUML, W. Acute renal failure after successful cardiopulmonary resuscitation. *Intensive care medicine*, v.27, n.7, p.1194-1199, 2001.
- DORAN, J. P.; HOWIE, A. J.; TOWNEND, J. N.; BONSER, R. S. Detection of myocardial infarction by immunohistological staining for C9 on formalin fixed, paraffin wax embedded sections. *Journal of Clinical Pathology*, v. 49, p.34-37, 1996.
- DUCKWORTH, R. H. Poisoning of cattle by *Amaranthus*. *New Zealand Veterinary Journal*. v. 23, p.154-155, 1975.
- DUFFY, S. J.; LEÓN, E. A.; GAVIER, M. D.; BLANCO VIERA, F. J.; CORBELLINI, C. N.; MORRA, M. Intoxicacion por *Amaranthus quitensis* (Yuyo colorado) en bovinos. *Veterinária Argentina* v. 2, n. 20, p.942-949, 1985.
- EGYED, M.; MILLER, A. Nitrate poisoning in cattle due to feeding on *Amaranthus retroflexus*. *Refuah Veterinarith*. v. 20, p.167-169, 1963.
- ENTMAN, M. L.; YOUKER, K.; SHOJI, T.; KUKIELKA, G.; HAPPELL, S. B.; TAYLOR, A. A.; SMITH, C. W. Neutrophil Induced Oxidative Injury of Cardiac Myocytes a Compartmented System Requiring CD11b/CD18-ICAM-1 Adherence. *Journal of Clinical Investigation*, v. 90, p.1335-1345, 1992.
- FERREIRA, J. L. M.; RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L.; MÉNDEZ, M. C. Intoxicação por *Amaranthus* spp (Amaranthaceae) em bovinos no Rio Grande do Sul. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 11, n. 3/4, p.49-54, 1991.
- FIGHERA, R. A. Anemia hemolítica em cães e gatos. *Acta Scientiae Veterinariae*. v.35, supl. 2, p.s264-s266, 2007.
- FIGHERA, R. A.; SOUZA, T. M.; BARROS, C. S. L. Acidente provocado por picada de abelhas como causa de morte de cães. *Ciência Rural*. v. 37, n. 2, p.590-593, 2007.
- FIGUERAS, J.; STEIN, L.; DIEZ, V.; WEIL, M. H.; SHUBIN, H. Relationship between pulmonary hemodynamics and arterial Ph and carbón dioxide tensión on critically ill patients. *Chest*, v.70, p.466-472, 1976.
- FOLEY, R. N.; PARFREY, P. S.; SARNAK, M. J. Clinical epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal disease. *American Journal of Kidney Diseases*, v.32, p.S112-119, 2002.

FORT, J. Chronic renal failure: a cardiovascular risk factor. *Kidney International*, v.68, p.S25-S29, 2005.

FREDA, B. J.; TANG, W. H. W.; LENTE, F. V.; PEACOCK, W. F.; FRANCIS, G. S. Cardiac troponins in Renal Insufficiency. Review and clinical implications. *Journal of the American College of Cardiology*, v. 40, n. 12, p.2065-2071, 2002.

GENNARI, F. J. Disorders of potassium homeostasis: Hypokalemia and hyperkalemia. *Clinical Care Clinics*, v. 18, n. 2, p.273-288, 2002.

GODOY, M. F.; BRAILE, D. M.; NETO, J. P. A troponina como marcador de injúria celular miocárdica. *Arquivo Brasileiro de Cardiologia*, v. 71, n. 4, p.629-633, 1998.

GONZÁLEZ, C. S. Nefrosis tubular tóxica en ovinos y caprinos asociada a la ingestión de plantas del género *Amaranthus* spp. *Veterinaria Mexicana*, v. 14, n. 4, p.247-251, 1983.

HANSEN, S. H.; ROSSEN, K. Evaluation of cardiac troponin I immunoreactions in autopsy hearts: a possible marker of early myocardial infarction. *Forensic Science International*, v.99, p.189-196, 1999.

HERZOG, C. A. Dismal long-term survival of dialysis patients after acute myocardial infarction: can we alter the outcome? *Nephrology Dialysis Transplantation*, v.17, p.7-10, 2002.

HEYWOOD, J.T. The cardiorenal syndrome: lessons from the ADHERE database and treatment options. *Heart Failure Reviews*, v.9, p.195-201, 2004.

HILLEGE, H. L.; NITSCH, D.; PFEFFER, M. A. et al. Renal function as a predictor of outcome in a broad spectrum of patients with heart failure. *Circulation*, v.113, p.671-678, 2006.

HOLLANDER-RODRIGUEZ, J. C.; CALVERT, J. F. Hyperkalemia. *American Family Physician*, v. 73, n. 2, p.283-290, 2006.

HU, B. J.; CHEN, Y. C.; ZHU, J. Z. Immunohistochemical study of fibronectin for postmortem diagnosis of early myocardial infarction. *Forensic Science International*, v.78, p.209-217, 1996.

ITAKURA Y.; HABERMEHL, G.; MEBS, D. Tannins occurring in the toxic brazilian plant *Thiloa glaucocarpa*. *Toxicon*, v.25, n.12, p.1291-1300, 1987.

JENKINS, C. P.; CARDONA, D. M.; BOWERS, J. N.; OLIAI, B. R.; ALLAN, R. W.; NORMANN, S. J. The utility of C4d, C9, and troponin T immunohistochemistry in acute myocardial infarction. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine.*, v. 134, p.256-263, 2010.

JEPPESEN, Q. E. Bovine perirenal disease associated with pigweed. *Journal of American Medicine Veterinary Association*, v. 149, n. 1, p.22, 1966.

JONES, T. C.; HUNT, R. D.; KING, N. W. Patologia veterinária. 6º Ed. São Paulo, Manole, 1415p., 2000.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. Tecido muscular. In: Histologia básica. 10ª edição. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, capt.10, p.184-205, 2004.

JUURLINK, D. N.; MANDANI, M. M.; LEE, D. S.; KOPP, A.; AUSTIN, P. C.; LAUPACIS, A.; REDELMEIER, D. A. Rates of hyperkalemia after publication of the randomized aldactone evaluation study. The New England Journal of Medicine, v. 351, p. 543-551, 2004.

KENT, S. P. Diffusion of myoglobin in the diagnosis of early myocardial ischemia. Laboratory Investigation, v. 46, p.265-270, 1982.

KERR, L. A.; KELCH, W. J. Pigweed (*Amaranthus retroflexus*) toxicosis in cattle. Veterinary and Human Toxicology. v. 40, n. 4, p.216-218, 1998.

KITCHEN, D. N.; CARLTON, W. W.; TUIITE, J. Ochratoxin A and Citrinin Induced Nephrosis in Beagle Dogs II. Pathology. Veterinary. Pathology. v. 14, p.261-272, 1977.

KOMMERS, G. D.; TORRES, M. B.; DANTAS, A. F.; BARROS C. S. L. Intoxicação por *Amaranthus* spp. (Amaranthaceae) em suínos no Rio Grande do Sul. Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 16, n.4, p.121-125, 1996.

LAURENT, G.; BELLAMKONDA, K.; TULKENS, P. M. Aminoglycoside-induced renal phospholipidosis and nephrotoxicity. Biochemical Pharmacology. V. 40, n.11, p.2383-2392, 1990.

LAGRAND, W. K.; NIESSEN, H. W.; WOLBINK, G. J.; JASPARS, L. H.; VISSER, C. A.; VERHEUGT, F. W. A.; MEIJER, C. J. L. M.; HACK, C. E. C-Reactive Protein Colocalizes With Complement in Human Hearts During Acute Myocardial Infarction. Circulation, v. 95, p.97-103, 1997.

LAZZERI, C.; BONIZZOLI, M.; CIANCHI, G.; GENSINI, G. F.; PERIS, A. troponin I in the intensive care unit setting: from the heart to the heart. Internal and Emergency Medicine, v.3, p.9-16, 2008.

LEHNHARDT, A.; KEMPER, M. J. Pathogenesis, diagnosis and management of hyperkalemia. Pediatric Nephrology, v. 26, p.377-384, 2011.

LEMOES, R. A.; BARROS, C. S. L.; SALLES, M. S.; BARROS, S. S.; PEIXOTO, P.V. Intoxicação espontânea por *Amaranthus spinosus* (Amaranthaceae) em bovinos. Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 13, n. ½, p.25-34, 1993.

LUCIOLI, J.; FURLAN, F. H.; MEZARROBA, S.; RAYMUNDO, D. L.; BECHTOLD, S. L.; TRAVESO, S. D.; GAVA, A. Intoxicação aguda por fluorsilicato de sódio em bovinos no Estado de Santa Catarina. Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 27, n. 1, p.49-52, 2007.

MARAN, N. B.; CALDAS, S. A.; PRADO, J. S.; GOMES, A. D.; TOKARNIA, C. H.; BRITO, M. F. Intoxicação experimental por *Metternichia princeps* (Solanaceae) em coelhos. Pesquisa Veterinária Brasileira, v.32, n.9, p.872-880, 2012.

MARSHALL, V. L.; BUCK, W. B; BELL, G. L. Pigweed (*Amaranthus retroflexus*): an oxalate-containing plant. American Journal of Veterinary. Research, v. 28, n. 124, p.888-889, 1967.

MARTÍNEZ DÍAZ, F.; RODRÍGUEZ-MORLENSÍN, M.; PÉREZ-CÁRCELES, M. D.; NOGUERA, J.; LUNA, A.; OSUNA, E. Biochemical analysis and immunohistochemical determination of cardiac troponin for the postmortem diagnosis of myocardial damage. Histology and Histopathology, v.20, p.475-481, 2005.

MARTINS, C. S. Troponina. Estrutura, fisiopatologia e importância clínica para além da isquemia miocárdica. Arquivo de Medicina, v.23, n.6, p.221-240, 2009.

MAXIE , M. G. The urinary system. In: JUBB, K. V .F., KENNEDY, P. C.; PALMER, N. Pathology of Domestic Animals. 4 ed. Academic Press, California,. v.2 . p. 447-699, 1992.

MAXIE , M. G.; NEWMAN S.J. The urinary system. In: JUBB, K. V .F.; KENNEDY, P. C.; PALMER, N. Pathology of Domestic Animals. 5 ed. Academic Press, California, p. 432-433, 2007.

MEYER, T. W.; HOSTETTER, T. H. Uremia. New England Journal of Medicine, v.357, p.1316-1325, 2007.

MIRANDA NETO, E. G.; PEREIRA, A. L. L.; SOUZA, J. C. A.; MENDONÇA, C. L.; RIET-CORREA, F.; DANTAS, A. F. M.; COSTA, N. A.; REGO, R. O.; SILVA FILHO, A. P.; AFONSO, J. A. B. Toxic nephrosis in cattle from Pernambuco State, Northeastern Brazil associated with the ingestion of *Thiloa glaucocarpa*. In: Poisoning by plants, mycotoxins and related toxins. 8th International Symposium on Poisonous, 2009.

McGAVIN, M. D.; ZACHARY, J. F.. Bases da patologia em veterinária. 4º Ed. Rio de Janeiro, Elsevier, 1476p. 2009.

MELGAÇO, S. S. C.; SARAIVA, M. I. R.; LIMA, T. T. C.; JÚNIOR, G. B. S.; DAHER, E. F. Nefrotoxicidade dos anti-inflamatórios não esteroidais. Medicina (Ribeirão Preto), v. 43, n. 4, p.382-90, 2010.

MONTAGUE, B. T.; OUELLETTE, J. R.; BULLER, G. K. Retrospective review of the frequency of ECG changes in hyperkalemia. Clinical Journal of the American Society of Nephrology, v. 3, p.324-330, 2008.

MOVILLI, E.; FELICIANI, A.; CAMERINI, C.; BRUNORI, G.; ZUBANI, R.; SCOLARI, F.; CANCARINI, G. C. A high calcium-phosphate product is associated with high C-reactive protein concentrations in hemodialysis patients. Nephron. Clinical Practice, v.101, n.4, p.c161-7, 2004.

MUGERWA, J. S.; STAFFORD, W. Effect of feeding oxalate-rich *Amaranthus* on ovine serum, calcium and oxalate levels. East African Agricultural and Forestry Journal, v. 42, n. 1, p.71-75, 1976.

NELSON, R. W.; COUTO, C. G. Exames diagnósticos do sistema cardiovascular. Medicina interna de pequenos animais. Tradução da 3º edição. Cap. 2, 1324p., 2006.

NEUHOFER, W.; PITTRROW, D. Role of endothelin and endothelin receptor antagonists in renal disease. *European Journal of Clinical Investigation*, v.36, n.3, p.78-88, 2006.

NEWMAN, S. J.; CONFER, A. W.; PANCIEIRA, R. J. Sistema urinário. In: McGAVIN, M. D.; ZACHARY, J. F.. *Bases da patologia em veterinária*. 4º Ed. Rio de Janeiro, Elsevier, 1476p. 2009.

OFFERMAN, S. R. R.; LEERS, M. P. G.; SUYLEN, R. J. V.; NAP, M.; DAEMEN, M. J. A. P.; THEUNISSEN, P. H. M. H. Evaluation of the membrane attack complex of complement for the detection of a recent myocardial infarction in man. *The Journal of Pathology*, v. 191, p.48-53, 2000.

OLIVER, J.; MacDOWELL, M.; TRACY, A. The pathogenesis of acute renal failure associated with traumatic and toxic injury, renal ischemia, nephrotic damage, and the ischemic episode. *Journal of Clinical Investigation*, v. 30, p.1307-1439, 1951.

ONozATO, M. L.; TOJO, A.; KOBAYASHI, N.; GOTO, A.; MATSUOKA, H.; FUJITA, T. Dual blockade of aldosterone and angiotensin II additively suppresses TGF- β and NADPH oxidase in the hypertensive kidney. *Nephrology Dialysis Transplantation*, v.22, n.5, p.1314-1322, 2007.

ORTMANN, C.; PFEIFFER, H.; BRINKMANN, B. A comparative study on the immunohistochemical detection of early myocardial damage. *Internal Journal of Legal Medicine*, v. 113, p.215-220, 2000.

ORTMANN, C.; PFEIFFER, H.; BRINKMANN, B. Demonstration of myocardial necrosis in the presence of advanced putrefaction. *Internal Journal of Legal Medicine*, v. 113, p.215-220, 2000 (b).

OSWEILER, G. D.; BUCK, W. B.; BICKNELL, E. J. Production of perirenal edema in swine with *Amaranthus retroflexus*. *American Journal of Veterinary Research*, v. 30, n. 4, p.557-566, 1969.

ÖZKAN, C.; ALTUG, N.; YÜKSEN, N.; KAYA, A.; AKGÜL, Y. Assessment of electrocardiographic findings, serum nitric oxide, cardiac troponins and some enzymes in calves with hyperkalemia related to neonatal diarrhea. *Revue de Médecine Vétérinaire*, v. 162, n. 4, p.171-176, 2011.

PASTOR, J. A.; CASTELLANOS, A.; MOLEIRO, F.; MYERBURG, R. J. Patterns of Acute Inferior Wall Myocardial Infarction Caused by Hyperkalemia. *Journal of Electrocardiology*, v.34, n.1, p.53-58, 2001.

PEIXOTO, P. V.; BRUST, L. A. C.; BRITO, M. F.; FRANÇA, T. N.; CUNHA, B. R. M.; ANDRADE, G. B. Intoxicação natural por *Amaranthus spinosus* (Amaranthaceae) em ovinos no sudeste do Brasil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 23, n. 4, p.179-184, 2003.

PERAZELLA, M. A.; TRAY, K. Selective cyclooxygenase-2 inhibitors: a pattern of nephrotoxicity similar to traditional nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *The American Journal of Medicine*, v. 111, n. 1, p.64-67, 2001.

PRADO, J. S.; MARILENE, F. B.; CALDAS, S. A.; MIYUKI, Y.; BARBOSA, J. D.; MAIA, D. S.; TOKARNIA, C. H. Intoxicação natural e experimental por *Metternichia princeps* (Solanaceae) em caprinos. Pesquisa Veterinária Brasileira, v.32, n. 9, p.903-911, 2012.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHCLIFF, K. W. Clínica Veterinária. Um Tratado de Doenças dos Bovinos, Ovinos, Suínos, Caprinos e Equinos. 9 ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 1770p., 2002.

RAE, C. A.; BINNINGTON, B. D. *Amaranthus retroflexus* (redroot pigweed) poisoning in lambs. Canadian Veterinary Journal, v. 36, p.446, 1995.

RIBEIRO-SILVA, A.; MARTIN, C.; ROSSI, M. A. Is immunohistochemistry a useful tool in the postmortem recognition of myocardial hypoxia in human tissue with no morphological evidence of necrosis? The American Journal of Forensic Medicine and Pathology, v. 23, n. 1, p.72-77, 2002.

RIVERA, M.; AGUILO, R.; LORENZO, M.; FERRO, M.; VILLALON, J. Reporte de intoxicación en bovinos jóvenes por el *Amaranthus viridis* (bledo blanco). Revista Cubana de Ciência Veterinária, v. 15, n. ¾, p.335-338, 1984.

RONCO, C.; HOUSE, A. A.; HAAPIO, M. Cardiorenal síndrome: refining the definition of a complex symbiosis gone wrong. Intensive Care Medicine, v.34, p.957-962, 2008a.

RONCO, C.; HAAPIO, M.; HOUSE, A. A.; ANAVEKAR, N.; BELLOMO, R. Cardiorenal síndrome. Journal of the American College of Cardiology, v.52, n.19, 2008b.

SALLES, M. S.; BARROS, C. S. L.; LEMOS, R. A.; PILATI, C. Perirenal edema associated with *Amaranthus* spp poisoning in Brazilian swine. Veterinary and Human Toxicology. v. 33, n. 6, p.616-617, 1991.

SANKO, R. E. Perirenal edema in swine - caused by ingestion of *Amaranthus retroflexus* (pigweed). Veterinary Medicine & Small Animal Clinician., v. 70, n. 1, p.42-43, 1975.

SCHILD, A. L.; RIET-CORREA, F.; RUAS, J. L.; RIVERO, G. R. C.; FERNANDES, C. G.; MOTTA, A.; MÉNDEZ, M.C.; SOARES, M.; TIMM, C. Doenças diagnosticadas pelo Laboratório Regional de Diagnóstico no ano 1995 In: SCHILD, A. L.; RIET-CORREA, F.; FERREIRA J. L.M., MÉNDEZ, M.C.; FERNANDES, C.G. Boletim do Laboratório Regional de Diagnóstico, UFPEL. Ed. e Gráfica Universitária v. 16, p.23-25, 1996.

SCHIFFRIN, E. L.; LIPMAN, M. L.; MANN, J. F. E. Chronic kidney disease effects on the cardiovascular system. Circulation, v.116, n.1, p.85-97, 2007.

SILVA, A. R.; MARTIN, C. C. S.; ROSSI, M. A. Is immunohistochemistry a useful in the postmortem recognition of myocardial hypoxia in human tissue with no morphological evidence of necrosis? The American Journal of Forensic Medicine and Pathology, v. 23, n. 1, 2002.

SLOVIS, C.; JENKINS, R. ABC of clinical eletrocardiography. Conditions not primaly affecting the heart. Bmj, v. 324, p.1320-1323, 2005.

STROM, C. G. Lush plants can kill. Queensland Agricultural Journal v. 93, n. 8, p.498-499, 1967.

STUART, B. P.; NICHOLSON, S. S.; SMITH, J. B. Perirenal edema and toxic nephrosis in cattle, associated with ingestion of pigweed. Journal of American Veterinary Medical Association, v. 167, n. 10, p.949-950, 1975.

TAKKEN, A.; CONNOR, J. K. Some toxicological aspects of grain Amaranth for pigs In: SEAWRIGHT, A. A. ; HEGARTY, M. P.; JAMES, L. F.; KEELER, R. F. Plant Toxicology Proc. Australia-USA Poisonous Plants Symposium, Queensland Poisonous Plant Committee, Brisbane, Australia, p.170-177, 1984.

TIZARD, I. R. Imunologia Veterinária: uma introdução. 9ª Ed. Elsevier. 568p. 2014.

TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J.; CANELLA, C. F. C.; COUCEIRO, J. E. M.; SILVA, A. C. C.; ARAÚJO, F. V. Intoxicação de bovinos por *Thiloa glaucocarpa* (Combretaceae), no Nordeste do Brasil. Pesquisa Veterinária Brasileira, v.1, n.4, p.111-132, 1981.

TOKARNIA, C. H.; PEIXOTO, P. V.; DÖBEREINER, J. Intoxicação experimental pelas folhas e extratos de *Thiloa glaucocarpa* (Combretaceae) em coelhos. Pesquisa veterinária Brasileira, v.14, n.4, p.111-122, 1988.

TOKARNIA, C. H.; BRITO, M. F.; BARBOSA, J. D.; PEIXOTO, P. V.; DÖBEREINER, J. Plantas tóxicas do Brasil para animais de produção. 2ª ed. Helianthus. 586p. 2012.

TORRES, M. B.; KOMMERS, G. D.; DANTAS, A. F. M.; BARROS, C. S. L. Redroot pigweed (*Amaranthus retroflexus*) poisoning of cattle in Southern Brazil. Veterinary and Human Toxicology, v. 39, n. 2, p.94-96, 1997.

TUNCA, R.; SOZMEN, M.; ERDOGAN, H.; CITIL, M.; UZLU, E.; OZEN, H.; GOKÇE, E. Determination of cardiac troponin I in the blood and the heart of calves with foot-and-mouth disease. Journal of Veterinary Investigation., v. 20, p.598-605, 2008.

UCHINO, S.; BELLOMO, R.; GOLDSMITH, D.; BATES, S.; RONCO, C. An assessment of the RIFLE criteria for acute renal failure in hospitalized patients. Critical Care Medicine, v.34, p.1913-1917, 2006.

VALLI, V. E. O.; PARRY, B. W. The hematopoietic system. In: JUBB, K. F. V., KENNEDY, P. C.; PALMER, N. Pathology of Domestic Animals. 4 ed.. Academic Press. California, v. 3, p. 101-265, 1992.

WRENN, K. D.; SLOVIS, C. M.; SLOVIS, B. S. The Ability of Physicians to Predict Hyperkalemia From the ECG. Annals of Emergency Medicine, v.20, n.11, p.1229-1232, 1991.

YASOJIMA, K.; SCHWAB, C.; McGEER, P. L. Human heart generates complement proteins that are upregulated and activated after myocardial infarction. Circulation Research, v. 83, n. 8, p.860-869, 1998.