

## CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DA PATOGENIA DA FIBROSE CARDÍACA INDUZIDA POR PLANTAS QUE CONTÉM MONOFLUOROACETATO.

SCHROEDER, Tiago<sup>1</sup>; VIEIRA, Fabíola C.<sup>2</sup>; QUEVEDO, Pedro de Souza<sup>3</sup>; ADRIEN, Maria de Lourdes<sup>3</sup>, SOARES, Mauro P.<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Graduando em Medicina Veterinária/UFPel, Bolsista CNPq/PIBIC – tiagosul@gmail.com

<sup>2</sup>Graduanda em Medicina Veterinária/UFPel - biolavieira@yahoo.com.br

<sup>3</sup>Programa de Pós-Graduação em Veterinária – UFPel – pedrosquevedo@hotmail.com; lourdesadrien@gmail.com

<sup>4</sup>Laboratório Regional de Diagnóstico – LRD – UFPel – gmpsoares@gmail.com

### 1. INTRODUÇÃO

No Brasil, o grupo das plantas que causam insuficiência cardíaca crônica devido à indução de fibrose cardíaca é composto pelas plantas *Tetrapteryx acutifolia*, *Tetrapteryx multiglandulosa* (TOKARNIA et al., 1989; PEIXOTO et al., 1995) e *Ateleia glazioviana* (GAVA & BARROS, 2001, GAVA et al., 2001).

Clinicamente os animais afetados apresentam insuficiência cardíaca congestiva caracterizada por edema de barbela, veia jugular ingurgitada, pulso jugular e arritmia cardíaca. Os animais morrem após um curso subagudo ou crônico, mas pode ocorrer morte sem a observação de sinais clínicos. As lesões mais importantes são fibrose cardíaca, ascite, hidrotórax, hidropericárdio e fígado com congestão passiva crônica, caracterizada macroscopicamente por aumento do padrão lobular ou aspecto de noz-moscada. Alguns animais apresentam alterações na marcha e lerdeza. No sistema nervoso central, histologicamente, pode-se observar espongiose, por vezes acentuada, atingindo principalmente a junção entre a substância branca e a substância cinzenta (TOKARNIA et al., 1989; CARVALHO et al., 2006).

Abortos também são associados às intoxicações por *T. acutifolia*, *T. multiglandulosa* e *A. glazioviana* (TOKARNIA et al., 1989) e na intoxicação por *A. glazioviana* também ocorre um quadro neurológico caracterizado, principalmente, por apatia e cegueira (GAVA & BARROS, 2001).

Frequentemente têm sido diagnosticados casos de fibrose cardíaca em bovinos da região nordeste do Rio Grande do Sul. Entretanto, as plantas que causam fibrose cardíaca tais como *Ateleia glazioviana* e *Tetrapteryx spp* (*T. acutifolia* e *T. multiglandulosa*) não ocorrem nessa área geográfica (TOKARNIA et al., 2000). Este trabalho foi conduzido com o objetivo de reproduzir a fibrose cardíaca em coelhos e testar a sensibilidade dos ovinos como modelo experimental para bovinos.

### 2. METODOLOGIA

A planta madura foi coletada no mês de abril no município de Taquara, em uma propriedade com histórico de fibrose cardíaca. A planta foi secada à sombra e moída inicialmente em desintegrador forrageiro e posteriormente em Moinho Wiley com malha 60. Após serem moídas, as plantas foram acondicionadas em vidros hermeticamente fechados à temperatura ambiente e na sombra.

Foram utilizados 10 coelhos da raça Nova Zelândia com pesos entre 2.100g e 3.730g e identificados com números de 1 a 10 e dois ovinos. Os coelhos utilizados nunca foram submetidos previamente à coleta de sangue por punção cardíaca. A determinação da dose tóxica letal foi realizada em outro experimento prévio em coelhos. A mesma dose letal dos coelhos foi utilizada para os ovinos.

Após a determinação da dose tóxica letal que foi de  $18 \text{ g kg}^{-1}$ , utilizaram-se as seguintes doses:

- dose letal fracionada em três vezes a cada 4 dias, Coelhos 1 e 2 e ovino 1 e 2;
- dose letal fracionada em cinco vezes a cada 3 dias Coelho 3;
- o dobro da dose letal fracionada em 6 vezes a cada 4 dias Coelhos 4, 5 e 6;
- o dobro da dose letal fracionada em 10 vezes a cada 4 dias Coelho 7.

Um experimento adicional foi realizado com doses diárias de  $2 \text{ g kg}^{-1}$  até alcançar a dose tóxica letal, Coelho 8.

Dois coelhos (9 e 10) foram utilizados como controle e eutanasiados no final do experimento.

Os coelhos e os ovinos foram mantidos em box individual com água à vontade. Aproximadamente 12 horas antes da administração da planta os animais eram pesados deixados em jejum e as doses eram calculadas. No momento do fornecimento da planta, a mesma era misturada em água e administrada imediatamente. A dosagem da planta era realizada com sondagem esofágica.

Imediatamente após a morte dos coelhos e dos ovinos ou imediatamente após a eutanásia eram coletados fragmentos do ventrículo esquerdo e septo cardíaco para a microscopia eletrônica de transmissão. Este material foi fixado em solução de glutaraldeído 2% e paraformaldeído 2% em tampão cacodilato de sódio, desidratados em uma série crescente de etanóis e incluídos em resina Epon 812. Os cortes semi-finos foram corados por azul de metileno. Em áreas selecionadas dos blocos foram feitos cortes ultrafinos que foram contrastados por acetato de uranila e citrato de chumbo e observados em microscópio eletrônico de transmissão a 80 Kilovolts.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Histologicamente foram encontrados no coração, focos de fibrose com predomínio de colágeno principalmente na musculatura adjacente aos pontos de inserção das cordas tendíneas do ventrículo esquerdo e de forma multifocal no septo cardíaco. No ventrículo direito, observou-se aumento do espaço intercelular evidenciado pelo afastamento entre os cardiomiócitos e o colágeno proliferado. Nessas áreas havia cardiomiócitos hipercontraídos ao lado de células hipereosinofílicas e de células tumefeitas com vacúolos intrasarcoplásmicos. Discreto infiltrado inflamatório mononuclear estava presente em algumas dessas áreas.

Os coelhos que receberam a planta com intervalos de 4 dias apresentaram as mitocôndrias tumefeitas, com as cristas rompidas e a membrana mitocondrial com projeções das membranas delimitantes. As miofibrilas dos sarcômeros se apresentavam rompidas e o sarcoplasma mostrava acúmulo de fluido e de grânulos de glicogênio sob a forma monoparticulada. Em todos os coelhos que receberam a planta com intervalos de 4 dias, foi observado acúmulo de glicogênio no sarcoplasma. O retículo sarcoplasmático não exibia alterações notáveis, mas os sistemas T se mostravam dilatados e rompidos em alguns pontos. O padrão de lesão celular não era uniforme, observando-se em um campo algumas células com graves alterações e outras, praticamente normais. Algumas células apresentavam perda de miofibrilas ao redor do núcleo, resultando em acúmulo de fluido na região perinuclear. No interstício, foi observado deposição de colágeno que aparecia em maior quantidade ao redor de capilares. O colágeno era observado geralmente formando septos entre um vaso e outro. O aumento da

fibrose no endomísio cria pontes conjuntivas com o colágeno perivascular. Os vacúolos intracitoplasmáticos observados mais nitidamente no coelho 3 continham fluido e granulações grosseiras, provavelmente restos de miofibrilas degeneradas. Restos de membranas puderam também ser observados. Esses vacúolos não eram delimitados por membrana.

Os resultados deste estudo sugerem que os casos de fibrose em bovinos oriundos da região nordeste do Rio Grande do Sul são causados pela ingestão de pequenas doses de *Amorimia exotropica* durante longos períodos de tempo. Embora experimentalmente não se tenha reproduzido a fibrose em bovinos, coelhos tem sido utilizados como modelo experimental para intoxicação por diversas plantas que causam morte sem lesões morfológicas macroscopicamente incluindo o gênero *Amorimia* (TOKARNIA *et al.*, 1998).

Neste experimento, as lesões histológicas observadas no coração dos coelhos e dos ovinos intoxicados permitiram concluir que *A. exotropica* produz fibrose cardíaca, quando a dose tóxica letal ( $18 \text{ g kg}^{-1}$ ) é fracionada em doses de 3,6g e 6g e administrada com intervalo de 4 dias até alcançar o dobro da dose tóxica letal. Dosagens de 6g administrada com intervalo de 4 dias até alcançar a dose tóxica letal induzem alterações celulares e deposição discreta de colágeno no interstício.

As lesões microscópicas observadas no miocárdio dos coelhos e dos ovinos experimentais são qualitativamente as mesmas encontradas em outras cardiomiopatias tóxicas induzidas em ruminantes domésticos por plantas como *A. glazioviana* em bovinos (GAVA & BARROS 2001), *Tetrapteryx acutifolia* e *T. multiglandulosa* (TOKARNIA *et al.*, 1990; PEIXOTO *et al.*, 1995) *Acacia georginae* (WHITTEM & MURRAY 1963) *Pachystigma pygmaeum*, *P. thamnus*, *P. latifolium*, *Pavetta harborii*, *P. schumanniana*, *Fadogia monticola* e *F. homblei* (HUNTER *et al.*, 1972, KELLERMAN *et al.*, 1988, FOURIE *et al.*, 1995).

Até o momento, no Brasil, as únicas plantas capazes de induzir doença espontânea com fibrose cardíaca em bovinos eram *Tetrapteryx acutifolia*, *T. multiglandulosa* (TOKARNIA *et al.*, 1990; PEIXOTO *et al.*, 1995) e *A. glazioviana* (GAVA & BARROS 2001). *Amorimia exotropica* só era reconhecida como causadora de morte sem lesões morfológicas apreciáveis macroscopicamente (GAVA *et al.*, 1998). Os resultados deste experimento permitem afirmar que a *A. exotropica* pode causar dois quadros clínicos: um com morte sem lesões morfológicas apreciáveis macroscopicamente já descrito anteriormente (GAVA *et al.*, 1998) e outro com fibrose cardíaca, quando pequenas doses de planta são ingeridas por um período prolongado de tempo.

#### 4. CONCLUSÕES

O experimento em coelhos e ovinos sugere que a fibrose que ocorre espontaneamente nos bovinos seja causada pela ingestão de pequenas quantidades de *A. exotropica* por período prolongado de tempo. Os ovinos são sensíveis a intoxicação pela planta e podem ser utilizados como modelo experimental para bovinos.

#### 5. AGRADECIMENTO

Ao CNPq pelo auxílio no desenvolvimento de pesquisa e suporte financeiro.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CARVALHO, N.M., ALONSO, L.A., CUNHA, T.G., RAVEDUTTI, J., BARROS, C.S.L., LEMOS, R.A.A. Intoxicação de bovinos por *Tetrapteryx multiglandulosa* (Malpighiaceae) em Mato Grosso do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. 26:139-46. 2006.

FOURIE N., ERASMUS G.L., SCHULTZ R.A., PROZESKY L. Isolation of the toxin responsible for gousiekte, a plant-induced cardiomyopathy of ruminants in Southern Africa. **Onderstepoort Journal of Veterinary Research**. 62:77-87. 1995.

GAVA A., BARROS C.S.L. Field observations of *Ateleia glazioviana* poisoning in cattle in southern Brazil. **Veterinary and Human Toxicology**. 43:37-41. 2001.

GAVA, A., BARROS, C.S.L., PILATI, C., BARROS, S.S., MORI, A.M., Intoxicação por *Ateleia glazioviana*, (Leg. Papilionoideae) em bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. 21:49-59. 2001.

HUNTER L.R., NAUDÉ T.W., ADELAAR T.F., SMIT J.D., CODD L.E. Ingestion of the plant *Fadogia monticola* Robins as an additional cause of gousiekte in ruminants. **Onderstepoort Journal of Veterinary Research**. 39 (1):71-83. 1972.

KELLERMAN T.S., COETZER J.A., NAUDÉ T.W. Plant Poisonings and Mycotoxicoses of Livestock in Southern Africa. **Oxford University Press**, Cape Town, p.83-130. 1988.

PEIXOTO P.V., LORETTI A.P., TOKARNIA C.H. Doença do peito inchado, *Tetrapteryx* spp poisoning, brisket disease and St. George disease: a comparative study. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. 15:43-50. 1995.

TOKARNIA, C.H., PEIXOTO, P.V., DÖBEREINER, J. CONSORTE, L.B., GAVA, A. *Tetrapteryx* spp. (Malpighiaceae), a causa de mortandades em bovinos caracterizadas por alterações cardíacas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. 9:23-44. 1989.

TOKARNIA, C.H., PEIXOTO, P.V., DÖBEREINER, J. Poisonous plants affecting heart function of cattle in Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. 10:1-10. 1990.

TOKARNIA C.H., DÖBEREINER J., PEIXOTO P.V. **Plantas Tóxicas do Brasil**. Editora Helianthus, Rio de Janeiro. 2000.

WHITTEM, J.H., MURRAY, L.R. The chemistry and pathology of Georgina river poisoning. **Australian Veterinary Journal**. 39:168-73. 1963.