

CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DA PATOGENIA DA INTOXICAÇÃO POR PLANTAS QUE CONTÉM MONOFLUOROACETATO.

VIEIRA¹, Fabíola Cardoso; QUEVEDO², Pedro de Souza, ADRIEN², Maria de Lourdes, SOARES³, Mauro Pereira

¹Graduanda em Medicina Veterinária - UFPel, Bolsista PIBITI/FAPERGS –
fabiolavieiravet@gmail.com

²Programa de Pós-Graduação em Veterinária - UFPel

³Laboratório Regional de Diagnóstico – LRD – UFPel – gmpsoares@gmail.com

1 INTRODUÇÃO

Plantas que contêm monofluoroacetato (MFA) são muito importantes no Brasil em função do volume de perdas que causam por mortes no rebanho pecuário. Os animais intoxicados podem morrer sem mostrar qualquer sintomatologia prévia. Outros morrem rapidamente após uma rápida sintomatologia clínica que é manifestada quando os animais são submetidos ao exercício. Nestes casos ocorrem tremores musculares, andar cambaleante, dispnéia, ingurgitamento da jugular, opistótono, decúbito, e movimentos de pedaleio que ocorrem rapidamente antes da morte. Esta manifestação clínica é conhecida por muitos como “morte súbita”. Durante a necropsia são observadas alterações significativas e somente lesões microscópicas, estão presentes em aproximadamente um terço dos casos, conhecidas como degeneração hidropico vacuolar dos túbulos contorcidos distais (TOKARNIA et al. 1990; TOKARNIA et al. 2002).

Várias espécies de plantas no mundo contêm (MFA) e podem produzir intoxicação e morte súbita. Estas plantas no Brasil são as seguintes: *Palicourea marcgravii*, *P. aeneofusca* e *Tanaecium bilabiatum*, bem como espécies tradicionalmente conhecidas como *Mascagnia* mas agora apropriadamente chamadas como *Amorimia* entre elas: *Amorimia amazonica*, *A. camporum*, *A. exotropa*, *A. pubiflora*, *A. rigida* e *A. septentrionalis* (CUNHA et al. 2006; KREBS et al. 1994; LEE et al. 2012).

O uso de (MFA) é proibido no Brasil, por isso ocorre exclusivamente como um produto natural em plantas. O (MFA) foi introduzido como um raticida nos EUA em 1946. No entanto, a sua eficácia considerável contra as espécies alvo é compensada por uma toxicidade comparável em outros mamíferos e, em menor extensão, pássaros e, portanto, o seu uso como raticida geral foi severamente restringido em 1990. Atualmente, o fluoroacetato de sódio é licenciado nos EUA para uso contra os coiotes, que abatem ovelhas e cabras. Na Austrália, o composto é utilizado em bastões impregnados para controlar coelho, raposa, dingo, e outras populações de mamíferos (TWIGG et al., 1991, PROUDFOOT et al. 2006). O presente estudo relata as alterações histológicas e ultra-estruturais em coelhos experimentalmente intoxicado com *Amorimia exotropa* e sugere uma patogenia para a intoxicação.

2 METODOLOGIA

Foram utilizados quatro coelhos que receberam doses com intervalos de 3 a 4 horas perfazendo um total de 4 doses de 4,5g kg⁻¹ (total de 18 g kg⁻¹).

Após a morte espontânea foi realizado imediatamente a necropsia foram coletados fragmentos de órgãos em solução de formalina a 10%. O material foi

processado rotineiramente e corado por hematoxilina-eosina (HE). Coloração adicional pelo método de ácido periódico de Schiff (P.A.S.) também foi realizada.

Imediatamente após a morte dos coelhos fragmentos do ventrículo esquerdo, septo cardíaco e rim eram coletados 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

Os coelhos morreram espontaneamente após cerca de 11 a 14 horas de experimento. Os coelhos eram soltos das baias no chão da sala de experimento e ao se movimentarem davam um salto e caíam exibindo contrações involuntárias e morte. Neste momento os animais eram necropsiados.

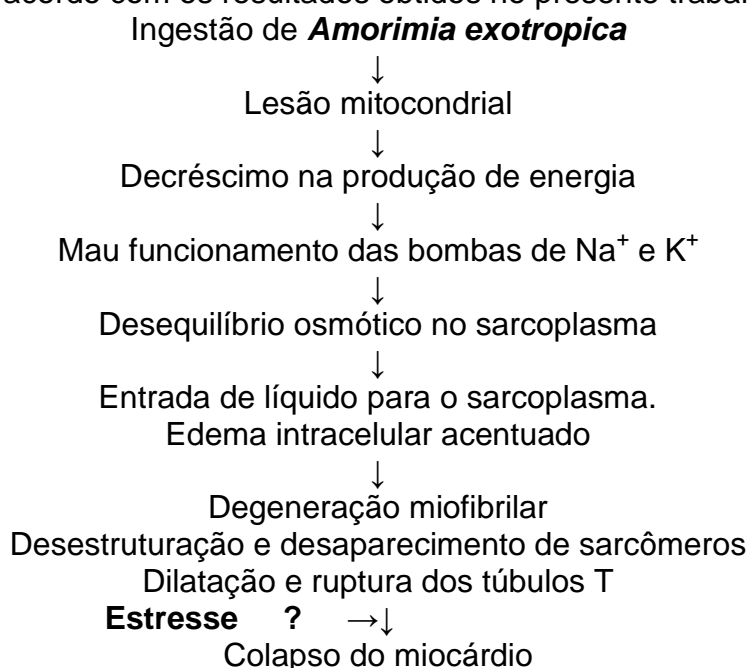
Macroscopicamente foi observado no fígado acentuação do padrão lobular. Histologicamente se observou principalmente, no septo cardíaco, dissociação das miofibrilas pelo acúmulo de fluido intracelular, podendo-se observar microvesículas intracelulares. Os cardiomiócitos estavam separados. O fígado apresentava os hepatócitos vacuolizados, principalmente nas regiões centrolobular a medizional. Na coloração de PAS, observou-se, nessas áreas, acúmulo de glicogênio. Os rins de um coelho apresentou degeneração hidrópico vacuolar dos túbulos contornados distais. Os demais órgãos não apresentaram alterações histológicas significativas.

Ultraestruturalmente os coelhos apresentaram acentuada tumefação dos cardiomiócitos, alguns com miofibrilas rompidas e grande quantidade de mitocôndrias com acentuada tumefação, desorganização, atrofia e ruptura das cristas e matriz acentuadamente eletrodensa. Muitas mitocôndrias exibiam projeções da membrana mitocondrial e ruptura inicial da membrana mitocondrial externa e posteriormente da membrana mitocondrial interna. A tumefação dos cardiomiócitos provoca inicialmente separação das miofibrilas com ruptura e desorganização dos sarcômeros, com permanência, em alguns locais, somente de fragmentos de linhas Z, algumas com restos de miofibrilas aderidas. O retículo sarcoplasmático não exibiu alterações notáveis, mas os sistemas T se mostravam dilatados e rompidos em alguns pontos. Não foi observado acúmulo de glicogênio no interior destas células. No rim do coelho que apresentou degeneração hidrópico vacuolar foi observado na rede de cisternas citocavitárias, ou seja no retículo endoplasmático, complexo de Golgi e envelope nuclear distensão pelo acúmulo de fluido. O acúmulo de fluídos causou marcada fragmentação da rede citocavitária. Remanescentes do citoplasma permaneceram ao redor do núcleo e áreas adjacentes da membrana plasmática. O núcleo estava pequeno e deslocado da sua posição central na célula.

Os achados da microscopia eletrônica sugerem que as alterações das células cardíacas possam estar ligadas às lesões mitocondriais induzidas pela planta, pois não estavam presentes nos coelhos controle. Não foi possível

determinar em que ponto do processo de glicogenólise houve interferência da toxina presente na *Amorimia exotropica*. O aumento do glicogênio encontrado nos cardiomiócitos dos coelhos e dos ratos que receberam a planta pode ser uma incapacidade das células cardíacas de utilizá-lo adequadamente, possivelmente por interferência nos sistemas enzimáticos responsáveis pela glicogenólise como acontece com a planta *Castanospermum australe* (REICHMANN *et al.*, 1987). O aumento do glicogênio sugere diminuição da atividade metabólica e da glicogenólise, fortalecendo a hipótese de um dano nos cardiomiócitos induzido pela ação da *Amorimia exotropica*. O acúmulo de glicogênio é mais um indicador de consumo celular deficiente que de aumento da atividade metabólica (GHADYALLY, 1997).

O quadro clínico de insuficiência cardíaca aguda provocando a morte sem lesões morfológicas macroscópicas na intoxicação por *A. exotropica* é, provavelmente, causado pela grave lesão mitocondrial. Muitas mitocôndrias exibem acentuada tumefação, desorganização, atrofia e ruptura das cristas e matriz acentuadamente eletrodensa. O acúmulo de fluido intracelular é consequência do dano mitocondrial com decréscimo na produção de energia, mau funcionamento das bombas iônicas, desequilíbrio osmótico e entrada de líquido no sarcoplasma. O acúmulo de fluido intracelular provoca inicialmente a separação das miofibrilas e posterior rompimento das mesmas, levando a ruptura desorganização e desaparecimento dos sarcômeros, permanecendo em alguns locais somente fragmentos de linhas Z, algumas com restos de miofibrilas aderidas e, finalmente colapso do miocárdio. O esquema a seguir resume a patogenia da morte sem lesões morfológicas macroscopicamente sugeridas de acordo com os resultados obtidos no presente trabalho:



4 CONCLUSÃO

A morte sem lesões morfológicas apreciáveis macroscopicamente causada pela intoxicação por *A. exotropica* é consequência da grave lesão das mitocôndrias e perda da produção de energia necessária ao funcionamento das bombas de sódio-potássio induzindo desequilíbrio eletrolítico e entrada de líquido para o sarcoplasma. O intenso edema intracelular produz separação e

ruptura das miofibrilas, desorganização, rompimento e desaparecimento de sarcômeros e finalmente colapso do miocárdio. A degeneração hidrópica vacuolar observada em alguns animais intoxicados se dá por acúmulo de água no interior das cisternas citocavitárias, ou seja no retículo endoplasmático, complexo de Golgi e envelope nuclear.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CUNHA, L.C., GORNIK, S.L., HARAGUCHI, M., RIET-CORREA, F., XAVIER, F.G., FLORIO, J.C., 2006. *Palicourea marcgravii* e *Mascagnia rigida*: um estudo por cromatografia em camada delgada (CCD). In: Resumo. II Simpósio de Pós-Graduação & XV Semana Científica Prof. Dr. Benjamin Eurico Malucelli, São Paulo, em CD-ROM.
- GHADYALLY, F.N. 1997. Ultrastructural Pathology of the Cell and Matrix. Vol. 2. 4th ed. Butterworth-Heinemann, USA, p.1013-1103.
- KREBS, H.C., KEMMERLING, W., HABERMEHL, G., 1994. Qualitative and quantitative determination of fluoroacetic acid in *Arrabidaea bilabiata* and *Palicourea marcgravii* by 19 F-NMR spectroscopy. *Toxicon* 32, 909–913.
- LEE, S.T., COOK, D., RIET-CORREA, F., PFISTER, J.A., ANDERSON, W.R., LIMA, F.G., GARDNER, D.R. 2012. Detection of monofluoroacetate in *Palicourea* and *Amorimia* species. *Toxicon*. 60, 791-6.
- PROUDFOOT, A.T., BRADBERRY, S.M., VALE, J.A. Sodium fluoroacetate poisoning. 2006. *Toxicol. Rev.* 25(4):213-9.
- REICHMANN, K.G., TWIST, J.O., MCKENZIE, R.A., ROWAN, K.J. Inhibition of bovine alpha-glucosidase by *Castanospermum austral* and its effect on the biochemical identification of heterozygotes for generalized glycogenosis type II (Pompe's disease in cattle. *Austr. Vet. J.* 64:274-76. 1987.
- TOKARNIA, C.H., PEIXOTO, P.V., DÖBEREINER, J., 1990. Poisonous plants affecting heart function of cattle in Brazil. *Pesq. Vet. Bras.* 10, 1-10.
- TOKARNIA, C.H., DÖBEREINER, J., PEIXOTO, P.V., 2002. Poisonous plants affecting livestock in Brazil. *Toxicon* 40, 1635-1660.
- TWIGG LE, KING DR. 1991. The impact of fluoroacetate-bearing vegetation on native Australian fauna: a review. *Oikos*;61(3):412–430.

Agradecimentos: FAPERGS