



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**  
**FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**CARACTERIZAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA, CLÍNICA E ANATOMOPATOLÓGICA  
DA CALCINOSE ENZOÓTICA EM RUMINANTES NO BRASIL CENTRAL**

**KARLA MORAES ROCHA GUEDES**

**TESE DE DOUTORADO EM CIÊNCIAS ANIMAIS**

**BRASÍLIA/DF**  
**JANEIRO DE 2011**



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**CARACTERIZAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA, CLÍNICA E ANATOMOPATOLÓGICA  
DA CALCINOSE ENZOÓTICA EM RUMINANTES NO BRASIL CENTRAL**

**KARLA MORAES ROCHA GUEDES**

**ORIENTADOR: PROF. DR. MÁRCIO BOTELHO DE CASTRO**

**TESE DE DOUTORADO EM CIÊNCIAS ANIMAIS**

**PUBLICAÇÃO: 40D/2011**

**BRASÍLIA/DF  
24 DE JANEIRO DE 2011**

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**CARACTERIZAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA, CLÍNICA E ANATOMOPATOLÓGICA  
DA CALCINOSE ENZOÓTICA EM RUMINANTES NO BRASIL CENTRAL**

**KARLA MORAES ROCHA GUEDES  
TESE DE DOUTORADO SUBMETIDA AO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
CIÊNCIAS ANIMAIS, COMO PARTE DOS  
REQUISITOS NECESSÁRIOS À OBTENÇÃO  
DO GRAU DE DOUTOR EM CIÊNCIAS  
ANIMAIS.**

**APROVADA POR:**

---

**MÁRCIO BOTELHO DE CASTRO, DR. (PRESIDENTE-UNIVERSIDADE DE  
BRASÍLIA)**

---

**GIANE REGINA PALUDO, DRª (1º MEMBRO – UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA)**

---

**EDSON MOLETA COLODEL, DR. (2º MEMBRO – UNIVERSIDADE FEDERAL DO  
MATO GROSSO)**

---

**JOSÉ RENATO JUNQUEIRA BORGES, DR. (3º MEMBRO – UNIVERSIDADE DE  
BRASÍLIA)**

---

**SÉRGIO LÚCIO SALOMOM CABRAL FILHO, DR. (4º MEMBRO –  
UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA)**

**BRASÍLIA/DF, 24 DE JANEIRO DE 2011.**

## REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA E CATALOGAÇÃO

GUEDES, K.M.R. **Caracterização epidemiológica, clínica e anatomopatológica da calcinose enzoótica em ruminantes no Brasil Central**. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2011, 86 p. Tese de Doutorado.

Documento formal, autorizando a reprodução desta tese de doutorado para empréstimo ou comercialização, exclusivamente para fins acadêmicos, foi passado pelo autor à Universidade de Brasília e acha-se arquivado na Secretaria do Programa. O autor e seu orientador reservam para si os outros direitos autorais, de publicação. Nenhuma parte desta tese de doutorado pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor ou seu orientador. Citações são estimuladas, desde que citada a fonte.

### FICHA CATALOGRÁFICA

GUEDES, KARLA MORAES ROCHA. **Caracterização epidemiológica, clínica e anatomopatológica da calcinose enzoótica em ruminantes no Brasil Central**. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2011, 86 p. Tese (Doutorado em Ciências Animais) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2011.

1. Calcinose enzoótica.
2. Mineralização arterial.
3. Plantas tóxicas.
4. Bovino.
5. Pequenos ruminantes.

***DEDICATÓRIA***

*À minha família, que sempre me apoiou,  
e aos meus professores Ivon, Riet, Flávio  
e Rosane, que me incentivaram para  
chegar até aqui.*

## AGRADECIMENTOS

Ao Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia para o Controle das Intoxicações por Plantas (CNPq. Proc.573534/2008-0) na pessoa do professor Franklin Riet-Correa, pelo apoio financeiro.

Ao professor Dr. Márcio Botelho de Castro, por ter me orientado nesses quatro anos de doutorado.

À Universidade de Brasília e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Animais, pela possibilidade de desenvolver minhas atividades como doutoranda.

À Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, que me deu suporte financeiro nesses quatro anos, nos primeiros dois anos como professora substituta e posteriormente como Estagiária Técnica do Laboratório de Patologia Veterinária da UnB.

A todos os meus amigos e colegas do laboratório e da universidade, e a todos os meus alunos, que demonstraram confiança no meu trabalho e me ajudaram durante todo esse tempo.

A toda a família Torres, que me apoiou durante meus quatro anos em Brasília, tornando todo o trabalho mais fácil, ou pelo menos, menos difícil. Em especial um enorme agradecimento a Ítalo, Henrique e Dodô, que me proporcionaram, de todas as formas, a tranquilidade e o amor que eu precisava para seguir em frente.

Aos proprietários de todos os rebanhos que visitamos e que me ajudaram a desenvolver meu trabalho.

À professora Rosane Medeiros, que durante um daqueles momentos em que todos nós pensamos em desistir, segurou minhas mãos e me disse que esse era apenas mais um passo a dar no caminho que eu vinha construindo. Mesmo ela não imaginando, essas palavras se tornaram meu guia para todos os passos que darei nos caminhos que escolhi.

Finalmente, mas não menos importante, vão os meus agradecimentos ao professor Franklin Riet-Correa, que há dez anos entrou na minha vida e que, querendo ou não, mudou meu destino. Por sua causa segui os caminhos que me trouxeram até aqui, e por essa razão serei eternamente grata. São poucas as palavras que posso usar para demonstrar o quanto ele foi e continua sendo importante na minha vida, mas mesmo assim não posso deixar de expressá-las. Riet, obrigada por tudo que fez por mim e pelo que me ensinou como Patologista, como professor e como pessoa. Obrigada por achar que tudo que faz por nós “não é mais do que sua obrigação”, como me disse um dia.

## ÍNDICE

LISTA DE FIGURAS.....	viii
LISTA DE TABELAS.....	ix
CAPÍTULO 1	
1 INTRODUÇÃO.....	01
2 OBJETIVOS.....	05
3 REVISÃO DE LITERATURA	
3.1 Cálcio, Fósforo e Vitamina D.....	06
3.2 Calcificações.....	10
a) Calcificação metastática.....	12
b) Calcificação distrófica.....	12
3.3 Calcínose Enzoótica.....	13
4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	20
CAPÍTULO 2 - Caracterização epidemiológica, clínica e anatomopatológica da calcínose enzoótica em ruminantes no Brasil Central	
RESUMO.....	26
ABSTRACT.....	28
1 INTRODUÇÃO.....	29
2 MATERIAL E MÉTODOS	
2.1 Estudo da Doença.....	31
2.1.1 Identificação.....	31
2.1.2 Investigação dos surtos.....	32
2.1.3 Níveis Pluviométricos.....	32
2.1.4 Avaliação clínica.....	33
2.1.5 Análise de Ca e P.....	33
2.1.6 Achados macroscópicos e histológicos.....	34
2.2 Identificação Botânica.....	35
2.3 Experimentação piloto para identificação de planta calcinogênica.....	35
3 RESULTADOS	
3.1 Estudo da Doença.....	37
3.1.1 Identificação e investigação de surtos.....	37
3.1.2 Níveis pluviométricos.....	41
3.1.3 Avaliação Clínica.....	43
3.1.4 Análise de Ca e P sérico.....	46
3.1.5 Achados macroscópicos.....	49
3.1.6 Achados microscópicos.....	56
3.2 Identificação Botânica.....	64
3.3 Experimentação piloto para identificação de planta calcinogênica.....	66
4 DISCUSSÃO.....	69
5 CONCLUSÕES.....	82
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	83
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	84

**LISTA DE FIGURAS**

Figura 1 – Distribuição espacial.....	03
Figura 2 – Distribuição geográfica.....	40
Figura 3 – Demonstração do número de surtos.....	42
Figura 4 – Pasto acentuadamente degradado.....	42
Figura 5 – Ovinos da propriedade 21.....	43
Figura 6 – Rebanho da propriedade 06.....	45
Figura 7 – Ovino da propriedade 20.....	45
Figura 8 – Representação gráfica.....	47
Figura 9 – Representação gráfica.....	47
Figura 10 – Representação gráfica dos níveis de Ca.....	48
Figura 11 – Representação gráfica dos níveis de P.....	48
Figura 12 – Coração. Ovino.....	53
Figura 13 – Artéria média aorta.....	53
Figura 14 – Pulmão. Caprino.....	55
Figura 15 – Rim. Ovino.....	55
Figura 16 – Artéria aorta. Ovino.....	60
Figura 17 – Artéria aorta. Ovino.....	60
Figura 18 – Pulmão. Ovino.....	62
Figura 19 – Pulmão. Ovino.....	62
Figura 20 – Rim. Zona cortical. Ovino.....	63
Figura 21 – Glândula tireóide. Ovino.....	63
Figura 22 – Plantas que foram testadas.....	65
Figura 23 – Artéria aorta. Coelho.....	68
Figura 24 – Artéria aorta. Coelho.....	68

**LISTA DE TABELAS**

Tabela 1- Dados epidemiológicos.....	38
Tabela 2- Caracterização dos principais sinais.....	44
Tabela 3- Distribuição das alterações macroscópicas.....	50
Tabela 4- Distribuição das alterações macroscópicas.....	52
Tabela 5- Distribuição histológica.....	58
Tabela 6- Descrição das plantas testadas.....	66

## **CAPÍTULO 1**

### **1 INTRODUÇÃO**

A ocupação lenta e contínua do Brasil Central teve início no final dos anos 30, resultado da política governamental de integração nacional, que culminou com a construção de Brasília (Brossard & Barcellos 2005). A partir da década de 1960 o governo tinha planos de ocupar rapidamente grandes áreas do território nacional, entre elas o Cerrado. Para isso estimulou a pecuária, lançando mão da formação de pastagens como uma ferramenta fácil e rápida de avanço naquelas áreas (Braz et al. 2004).

A abertura de áreas de pastagem para a criação de gado de corte foi, provavelmente, a principal causa do desmatamento e ocupação do Cerrado, bioma que possui aproximadamente 2.045.064 km<sup>2</sup> (Machado et al. 2004). Ao todo 11 Estados são cobertos por áreas de Cerrado (Fig. 1A), sendo eles o Distrito Federal (100%), e partes de Goiás (97%), Maranhão (65%), Mato Grosso do Sul (61%), Minas Gerais (57%), Mato Grosso (39%), Piauí (37%), São Paulo (32%), Bahia (27%) e Paraná (2%) (Sano et al. 2008).

A região Centro-Oeste, que tem grande parte dos seus três Estados (Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Goiás) e o Distrito Federal contidos no Bioma Cerrado (Machado et al. 2004) representa 18,86% do território brasileiro (Michels 2006) e possui um rebanho de 70 milhões de bovinos. Isso corresponde a 34,80% do rebanho bovino do Brasil, que já ultrapassa 204 milhões de cabeças (IBGE 2005). Esse rebanho é responsável pela produção de aproximadamente 50% da carne brasileira (Macedo 2009). Já o rebanho ovino no Brasil passa das 15 milhões de cabeças, sendo o rebanho do Centro-Oeste estimado em 937 mil cabeças (IBGE 2005).

Para incrementar a produção de carne bovina, a vegetação nativa foi substituída por pastagens cultivadas, principalmente com a introdução de forrageiras de origem africana, que possuem grande capacidade de adaptação aos solos e variações climáticas (Brossard & Barcellos 2005). Essas forrageiras são principalmente dos gêneros *Brachiaria*, *Panicum* e *Andropogon* (Brossard & Barcellos 2005, Macedo 2009). Na década de 1970, as áreas ocupadas por pastagens no Cerrado chegavam a aproximadamente 10 milhões de hectares (ha) (Sano et al. 2002), mas atualmente são 49,5 milhões de ha de pastagens cultivadas (Fig. 1B) (Macedo 2009). Estima-se que cerca de 80% dos quase 50 milhões de ha de pastagem cultivada no Cerrado, apresentem algum grau de degradação, que é considerado um dos seus principais problemas (Kichel et al. 1999).

A calcinose enzoótica já identificada no Brasil é caracterizada por hipercalcemia, calcificação dos tecidos moles e redução na produtividade dos rebanhos. No Brasil, é conhecida popularmente como “espichamento” e na Argentina como “enteque seco”, sendo causada pela ingestão de plantas tóxicas (Riet-Correa & Mendez 2007, Gimeno 2001). Atualmente são conhecidas apenas duas plantas que causam calcinose enzoótica espontaneamente em ovinos e bovinos no país. *Nierembergia veitchii* possui distribuição restrita ao sul do Rio Grande do Sul, e *Solanum glaucophyllum*, na região Sul e no Pantanal matogrossense (Döbereiner et al. 1971, Riet-Correa et al. 1987). Recentemente foram descritos casos de calcinose enzoótica em búfalos do Pantanal matogrossense provocadas pela ingestão de *S. glaucophyllum* (Santos et al. 2009).

A importância das plantas tóxicas para ruminantes já é bem conhecida em biomas como o Pantanal (Afonso & Pott 2002), e em alguns Estados, como Rio Grande do Sul (Rissi et al. 2007a), Paraíba (Assis et al. 2010) e algumas áreas do Rio Grande do Norte (Silva et al. 2006) e Piauí (Mello et al. 2010), mas ainda há uma grande lacuna sobre o assunto no Bioma Cerrado e na Região Centro-Oeste como um todo.

Desde 2004, vem sendo diagnosticada no Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade de Brasília (LPV/UnB) uma doença que acomete ruminantes, caracterizada por calcificação de artérias e tecidos moles. São acometidos animais mantidos em pastagens degradadas e invadidas por plantas daninhas. As características clínico-epidemiológicas observadas desde o início apontam para a ingestão de plantas tóxicas como a causa mais provável da doença. Os animais acometidos apresentam um quadro de emagrecimento progressivo, que não regride mesmo quando o rebanho recebe suplementação. Em algumas propriedades onde a doença foi diagnosticada, há relatos de lotes inteiros em excelente estado corporal, que ao serem introduzidos nas pastagens degradadas, apresentavam cerca de dois

meses após quadro de emagrecimento progressivo e morte de alguns animais. Um estudo da prevalência de mineralização aórtica em bovinos de abate no estado de MG encontrou 298 casos de mineralização em 783 aortas avaliadas. Este levantamento descarta a intoxicação por *Solanum glaucophyllum* (=malacoxylon) ou *Nierembergia veitchii*, plantas inexistentes no estado, mas não afasta a possibilidade da existência de uma planta calcinogênica ainda não conhecida (Silva & Guedes 2007). As alterações arteriais são semelhantes as observadas nos animais diagnosticados no LPV/UnB, o que suporta à possibilidade da existência de uma planta calcinogênica não conhecida no Brasil Central.

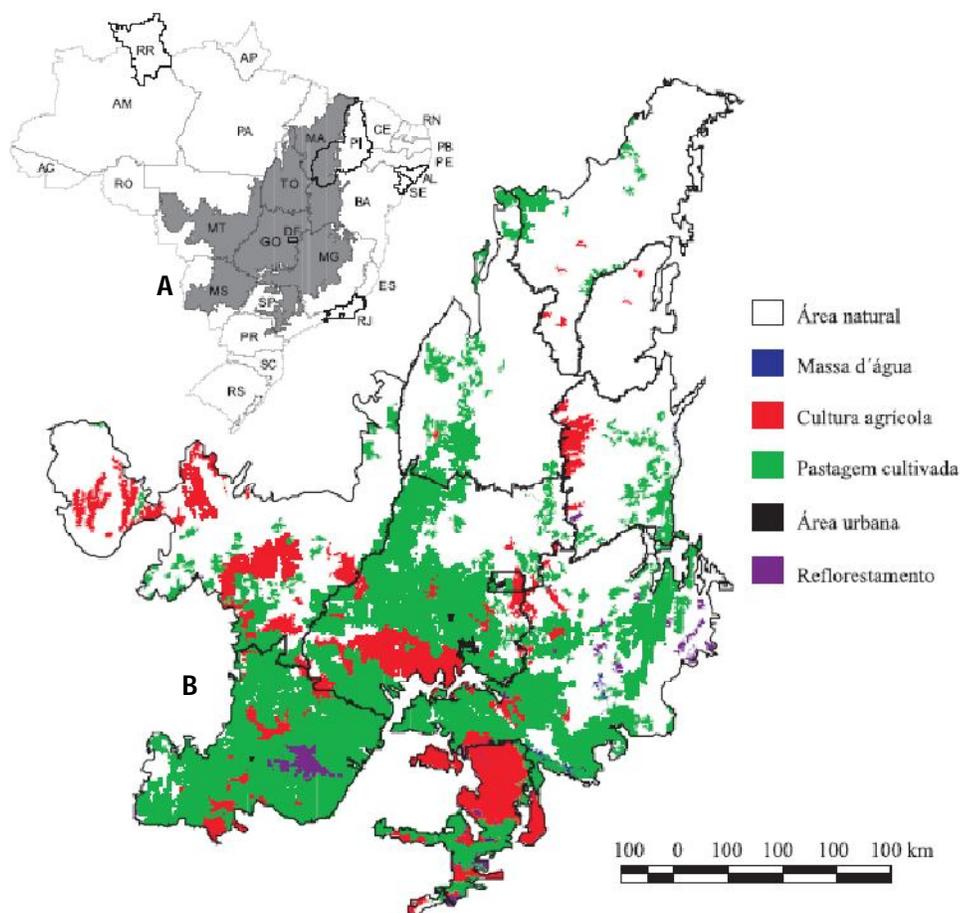


Figura 1- (A) Distribuição do Bioma Cerrado nos Estados brasileiros; (B) Distribuição espacial das classes de uso da terra no Bioma Cerrado no ano de 2002. Adaptado de: Sano et al. 2008).

É desconhecido o impacto econômico que a intoxicação por plantas e, mais especificamente, a calcinose enzoótica tem provocado no rebanho de ruminantes do Brasil Central, mas levando-se em consideração o tamanho dos rebanhos e a importância para a indústria de produção de carne, milhões de reais podem estar sendo perdidos anualmente. Conhecer essas informações e implantar formas adequadas de controle e profilaxia é uma ferramenta importante para minimizar as perdas econômicas causadas por essa nova doença, que vem se mostrando de grande importância em áreas de pastagens degradadas.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

- Estudar casos de calcinose enzoótica em ruminantes no Brasil Central

### **2.2 Objetivos específicos**

- Caracterizar os aspectos epidemiológicos, sinais clínicos e características anatomopatológicas da calcinose enzoótica;
- Determinar a provável etiologia da enfermidade no Brasil Central;
- Propor medidas de manejo para o controle e a prevenção da doença.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

A calcinose enzoótica é uma enfermidade que afeta principalmente ruminantes, caracterizada por mineralização de artérias e outros tecidos moles, como coração, pulmões e rins, aumento da massa óssea, hiperplasia das células C da tireóide, e também quadro de hipercalcemia e hiperfosfatemia (Gimeno 2001). Dentre as principais causas da doença no mundo, a ingestão das plantas tóxicas calcinogênicas *Solanum glaucophyllum* e *Cestrum diurnum*, é considerada uma das mais importantes. O princípio ativo destas plantas provoca aumento na absorção intestinal de Ca por ser um glicosídeo com ação semelhante à vitamina D<sub>3</sub> (Mello 2003). Como as alterações clínico-patológicas observadas nos casos de calcinose enzoótica no Brasil Central são semelhantes às observadas na intoxicação provocada por plantas calcinogênicas, investigar a doença é premente para minimizar as perdas econômicas na pecuária nacional. Entretanto, como uma das características fisiopatológicas da doença é provocar distúrbios nos mecanismos homeostáticos de minerais, é importante compreender a interação entre os elementos cálcio (Ca), fósforo (P) e a vitamina D, para compreender o desenvolvimento das alterações observadas na enfermidade.

#### 3.1 Cálcio, fósforo e vitamina D

Enquanto cerca de 0,1% do Ca está no meio extracelular e aproximadamente 1% está no interior das células, o restante do Ca corpóreo é encontrado nos ossos, de onde é liberado quando seus níveis séricos estão baixos (Guyton & Hall 2006). O Ca extracelular é essencial para a formação dos tecidos esqueléticos, transmissão dos impulsos nervosos,

excitação das contrações musculares esqueléticas e cardíacas, coagulação sanguínea e como componente do leite. O Ca intracelular é importante para uma série de enzimas e para sinalização intracelular, transportando informação da superfície para o interior celular (Porth 2003, Goff 2006). Ele é o único mineral com ação de segundo mensageiro, facilitando vários processos celulares. Sua ação é disparada por primeiros mensageiros, tais como hormônios hidrofílicos, neurotransmissores, fatores de crescimento, odores e luz (Wilkins & Wilkins 2003). Como a maior parte dos hormônios peptídicos não pode entrar na célula-alvo, eles se ligam aos seus receptores, abrindo os canais de Ca da membrana celular. Dessa maneira o Ca penetra na célula e se liga a algumas proteínas, como a calmodulina, que sofre modificação na sua conformação, formando um complexo. Este complexo estimula as enzimas ou a transcrição do ácido desoxirribonucléico (DNA), iniciando a resposta biológica da célula (Goff 2006).

Há duas formas de absorção intestinal do Ca, uma ativa, mediada pela vitamina D e que envolve a proteína ligadora de Ca (CaBp – *calcium binding protein*), e uma passiva, por difusão facilitada (Guyton & Hall 2006). A principal forma de absorção é aquela que ocorre de forma facilitada na porção inicial do intestino delgado e que é iniciada pelo calcitriol. Os ruminantes jovens possuem uma maior capacidade de aumentar a absorção de Ca quando estão em situação de hipocalcemia (Horst 1986). Cerca de 35% do mineral ingerido é absorvido no intestino e o restante é eliminado nas fezes ou na urina. Cabe salientar que aquele ligado a proteínas não será filtrado, mas todo o resto, ligado a ânions ou ionizado, é filtrado pelos glomérulos e vai para os túbulos renais. Contudo, cerca de 99% do Ca filtrado será reabsorvido (Guyton & Hall 2006), destes 60% a 65% são reabsorvidos passivamente nos túbulos proximais, de 15% a 20% são reabsorvidos na porção ascendente da alça de Henle e, 5% a 10% são reabsorvidos nos túbulos contorcidos distais (Goff 2006). O controle do Ca que será excretado pela urina acontece na porção final do néfron (Horst 1986).

No plasma, 41% do Ca estão ligados a proteínas, principalmente albumina. Outros 9% do Ca sérico consegue se difundir pela membrana de capilares, mas estão ligados a citratos, fosfatos e sulfatos, não sendo ionizado. Os 50% restantes de Ca sérico estão na forma ionizada, encontrando-se livre para deixar o compartimento vascular e participar nas funções celulares (Guyton & Hall 2006). Os níveis séricos de fosfato são importantes na regulação do Ca sérico. As concentrações extracelulares de Ca e P são reciprocamente reguladas, de modo que os níveis do primeiro caem quando os de P aumentam e vice-versa. A manutenção dos níveis normais dos dois minerais é importante para evitar a deposição de fosfato de cálcio (CaPO<sub>4</sub>) nos tecidos moles (Porth 2003).

Quando ocorre queda nos níveis de Ca ionizado, a paratireóide é estimulada a liberar o hormônio da paratireóide (PTH) para manter homeostase do cálcio (Moe 2008). Os níveis séricos baixos de Ca são percebidos por seus receptores também no tecido renal, provocando liberação de calcitriol. Esses dois elementos estimulam a reabsorção óssea pelos osteoclastos, liberando Ca no sangue, além de aumentar sua absorção intestinal e renal (Eiler 2006). Nos ruminantes o aumento na liberação de PTH é promovido apenas nos casos de hipocalcemia, e a hipercalcemia secundária ao hiperparatireoidismo provoca inibição da 1- $\alpha$  hidroxilase renal (Horst 1986). Isso ocorre porque em conjunto com a hipercalcemia observa-se hiperfosfatemia, e o fosfato tem a capacidade de inibir a ação da 1- $\alpha$  hidroxilase renal, impedindo assim a transformação do calcidiol em calcitriol e diminuindo a absorção intestinal de Ca (Kumar & Abbas 2005).

O fosfato inorgânico no plasma é encontrado principalmente em duas formas: fosfato de hidrogênio ( $\text{HPO}_4^-$ ) e fosfato de diidrogênio ( $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ), estando o primeiro em maior concentração (Guyton & Hall 2006). Devido à dificuldade de diferenciar as duas formas, os exames laboratoriais referem os resultados das análises como o total de fósforo encontrado (Moe 2008). A maior parte do P corpóreo, cerca de 85%, está contido nos ossos na forma de hidroxiapatita  $[(\text{Ca})_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$ . Do P restante, 14% é intracelular e apenas 1% é extracelular (Moe 2008). O correspondente a 30% do P sanguíneo está ligado ao oxigênio, para formar o ânion fosfato. O P é absorvido principalmente no intestino delgado, em resposta ao calcitriol, uma vez que a produção renal de calcitriol é regulada por meio dos níveis plasmáticos baixos desse mineral.

O fosfato tem como principais funções compor os fosfolipídeos, as fosfoproteínas, ácidos nucleicos e moléculas transferidoras de energia, como o trifosfato de adenosina (ATP) (Goff 2006). A absorção intestinal de fosfato ocorre facilmente, e quase todo o mineral ingerido é absorvido (Guyton & Hall 2006), mas ao contrário das outras espécies, a principal via de excreção do P nos ruminantes não é a renal, e sim pelas glândulas salivares. Fatores que reduzem a produção de saliva, como o jejum, podem, no entanto aumentar a excreção de P pela urina. Já foi demonstrado também que o PTH pode aumentar a concentração de P na saliva, aumentando assim sua excreção (Horst 1986). Quando seus níveis diminuem o rim é estimulado a produzir a enzima 1- $\alpha$  hidroxilase tubular, que promove a transformação do calcidiol em calcitriol, aumentando a absorção intestinal de P e diminuindo sua excreção pelos rins (Moe 2008).

As duas principais fontes de vitamina D para os ruminantes resultam da conversão fotoquímica do 7-deidrocolesterol em vitamina D<sub>3</sub> (colecalfiferol) na pele, e de plantas a partir da conversão fotoquímica do ergosterol em vitamina D<sub>2</sub> (ergocalciferol) (Horst 1986). A vitamina D ingerida é absorvida ligada aos sais biliares, na porção final do intestino delgado. Como é lipossolúvel, entra no sistema linfático e daí segue para a corrente sanguínea. Sua excreção ocorre nas fezes por meio da bile (Dobson & Ward 1974). A vitamina D<sub>2</sub> contida nos vegetais é a principal fonte da vitamina absorvida no intestino (Mello 2003). A vitamina D<sub>3</sub> se liga a uma proteína circulante e é removida da pele, tornando-se disponível para os outros tecidos. No fígado a vitamina D<sub>3</sub> é convertida em 25-hidroxivitamina D, o calcidiol (forma inativa da vitamina D). Por meio do plasma o calcidiol chega aos rins e é então hidroxilado pela enzima 1- $\alpha$  hidroxilase na forma ativa da vitamina D, o calcitriol (1,25-diidroxivitamina D) (Goff 2006, Braun & Lefebvre 2008). O calcitriol é liberado no sangue e circula ligado à proteína ligadora de vitamina D (Goff 2006). Ao contrário do que se pensou por muito tempo, estudos realizados com bezerros demonstraram que o ergocalciferol e o colecalfiferol não são metabolizados da mesma forma. Grupos diferentes de bezerros foram tratados cada um com uma das formas de vitamina D, e o que se observou foi que os animais tratados com colecalfiferol apresentaram-no sempre em maior quantidade no plasma do que o ergocalciferol naqueles animais que o receberam (Sommerfeldt et al. 1983). Resultados semelhantes tinham sido obtidos em estudos realizados comparando suínos, ratos e pintinhos (Horst et al. 1982).

Os principais locais de ação do calcitriol, em relação à homeostase do cálcio, são os ossos, aonde age rapidamente em conjunto com o PTH em resposta à hipocalcemia, e o intestino, onde sua resposta é mais demorada (Rucker et al. 2008). Menos de 5% do calcitriol circula livre, já que por ser de natureza lipofílica entra facilmente no interior da célula, acumulando-se nos tecidos que possuem receptores. Em situações de hipercalcemia, tanto o calcitriol quanto a 25-hidroxivitamina D são metabolizados e formam-se compostos inativos, que são excretados (Goff 2006). Em um período de dois dias, o calcitriol promove a produção de uma proteína ligadora de cálcio (CaBp) nas células do epitélio intestinal, que realizam o transporte do cálcio para o citoplasma das células intestinais (Guyton & Hall 2006). O calcitriol também estimula a absorção ativa do fosfato nas células intestinais (DeLuca 2004). Outro alvo para os metabólitos da vitamina D são os osteoblastos dos ossos. Nos osteoblastos e nas células progenitoras ficam situados os principais sítios que contêm receptores de vitamina D (RVD), controlando a síntese e secreção de uma série de proteínas ósseas, tais como osteopontina, osteocalcina, colágeno e fosfatase alcalina (Rucker et al. 2008). A ação do

calcitriol na formação óssea é tanto de manutenção dos níveis sanguíneos de Ca e P, para sua mineralização normal, quanto influenciar na produção de matriz óssea ou no reparo de fraturas ósseas. Contudo, para exercer sua função na reabsorção de cálcio ósseo ou renal o calcitriol necessita da presença do PTH (Goof 2006). O PTH age sobre as células dos túbulos contorcidos renais em segundos, provocando aumento na produção da enzima 1- $\alpha$  hidroxilase, que irá provocar aumento na produção de calcitriol e conseqüentemente na absorção intestinal de Ca. Também será aumentada a reabsorção óssea de Ca pelos osteoclastos e sua reabsorção renal (DeLuca 2004).

Um relato recente de intoxicação espontânea por vitamina D em coelhos descreve achados importantes caracterizados por placas mineralizadas na superfície interna das artérias aorta, carótidas, femurais e renais e mineralização das válvulas atrioventriculares esquerda e direita (Peixoto et al. 2010).

### **3.2 Calcificações**

A calcificação patológica é a deposição anormal de sais de cálcio nos tecidos (Kumar et al. 2005). Estes sais podem se depositar no tecido morto ou que esteja morrendo e ainda em tecido normal (Meyers & McGavin 2009). Essa alteração pode ser encontrada eventualmente em qualquer animal adulto, em órgãos como os rins. Ela pode ser difusa, formar grandes massas ou ser visualizada histologicamente. O mineral dos ossos e das calcificações patológicas é o mesmo, a apatita. A diferença existente se dá em relação ao substrato para a calcificação. Enquanto na ossificação fisiológica o substrato é o osteóide, na calcificação patológica o substrato é qualquer tecido vivo ou morto (Majno & Joris 1996).

Os cristais de apatita se expandem ao extrair mais Ca e P da solução em que esteja contido. Os cristais crescem a partir do que é chamado de nucleação secundária, o que significa que a superfície de um cristal, quando exposta a uma solução supersaturada, age como um local de crescimento para outros cristais. Os cristais de apatita podem crescer também sobre outras estruturas que não cristais, o que é chamado de *epitaxi* (Pittella & Vasconcelos 2000). Histologicamente, na coloração de hematoxilina e eosina, a mineralização tem aparência basofílica, amorfa, granular, podendo formar nódulos. Osso heterotópico pode ser formado no local da calcificação (Kumar et al. 2005).

Calcificações em células vivas geralmente têm início nas mitocôndrias, pois essas organelas são naturalmente predispostas ao acúmulo de cálcio. Isso acontece porque a membrana mitocondrial bombeia Ca para seu interior, enquanto a membrana celular bombeia para fora. Quando ocorre aumento citoplasmático do íon, as mitocôndrias passam a aprisionar o mineral, e acabam perdendo sua função. Se muitas mitocôndrias sofrerem estes processos, ocorre morte celular (Majno & Joris 1994). A deposição patológica de sais de Ca nos tecidos pode ocorrer sob duas formas: (1) calcificação distrófica, que afeta tecidos lesados e não depende dos níveis plasmáticos de Ca e P e (2) calcificação metastática, onde a precipitação dos sais em tecidos normais resulta de um estado de hipercalcemia (Pittella & Vasconcelos 2000). Na calcinose enzoótica a calcificação dos tecidos moles ocorre devido a alterações nas fibras elásticas, acúmulo extracelular de proteoglicanas e metaplasia mesenquimal na parede dos vasos (Barros et al. 2000).

A calcificação vascular ectópica nos humanos é consequência de desregulação no processo de mineralização (Johnson et al. 2006). É sabido hoje que as células de músculo liso dos vasos podem se diferenciar em condrócitos ou em células semelhantes a osteoblastos, e que alguns fatores de transcrição envolvidos na formação normal dos ossos tem sido identificados em células ao redor de focos de mineralização arterial, tanto em humanos quanto em animais (Moe & Chen 2008). Os estudos tem distinguido dois tipos de calcificação arterial: calcificação da média das artérias e calcificação associada com placas ateroscleróticas na túnica íntima (Doherty et al. 2004, Cannata-Andía 2006). Estudos recentes com células de músculo liso vascular de bovinos demonstraram que vesículas de matriz presentes nessas células interagem diretamente com colágeno tipo I, sofrendo rápida calcificação, principalmente quando mantidas em ambiente rico em Ca (Chen et al. 2008).

A calcificação da média das artérias ocorre independente da aterosclerose e pode ocorrer em jovens sem evidências de alterações metabólicas, aumentando sua incidência com o envelhecimento e por alterações como hipervitaminose D, doença renal crônica, diabetes mellitus e em animais por ingestão de plantas calcinogênicas como *Solanum glaucophyllum* (Doherty et al. 2004). A mineralização arterial em pacientes com doença renal crônica é mais comum do que em pessoas mais velhas e saudáveis. Estudos recentes revelam que a hiperfosfatemia e os níveis de cálcio são fatores de risco importantes (Moe & Chen 2008). A mineralização vascular se desenvolve, na doença renal crônica, após um processo que envolve apoptose das células de músculo liso dos vasos, formação de vesículas e diferenciação em células semelhantes a osteoblastos. Essas células promovem a formação de uma matriz que vai atrair fatores de mineralização presentes na região (Cannata-Andía 2006).

Estudos com ratos recebendo altas doses de adenina e fósforo mostraram que a lesão renal e o hiperparatireoidismo estão diretamente envolvidos no surgimento de calcificação na válvula aórtica. Nesse estudo as alterações histológicas eram caracterizadas por focos extensos de mineralização, metaplasia cartilaginosa, infiltrado de macrófagos e degeneração mixóide dos folhetos (Shuvy et al. 2008).

#### a) Calcificação metastática

Esse tipo de calcificação pode acontecer no tecido normal quando há hipercalcemia (Kumar et al. 2005). Por ser uma alteração generalizada, a calcificação metastática pode ser letal se a causa não for removida. Por ver essa calcificação como depósitos dispersos, Virchow comparou-a com a distribuição de tumores malignos, chamando a alteração de “metástases” de cálcio (Majno & Joris 1996).

O surgimento da calcificação metastática tem como causas principais o aumento na secreção de hormônio da paratireóide (PTH), destruição de tecido ósseo vista nos tumores primários de medula óssea ou metástases ósseas difusas, desordens relacionadas com a vitamina D e insuficiência renal (Kumar et al. 2005). A calcificação metastática ocorre principalmente na mucosa gástrica, rins, pulmões, artérias sistêmicas e vasos pulmonares (Majno & Joris 1996, Kumar et al. 2005).

#### b) Calcificação distrófica

Essa calcificação pode ser vista em qualquer área de necrose, seja coagulativa, caseosa ou gordurosa, sendo rara na necrose liquefativa (Meyers & McGavin 2009). Nesse caso os níveis de cálcio e fósforo do plasma estão normais. É vista em especial no tecido conjuntivo fibroso hialinizado de lesões antigas, na parede de vasos esclerosados, em tendões, em valvas cardíacas e em tumores (Pittella & Vasconcelos 2000). Geralmente é observada em áreas de necrose antiga e não absorvida, como na linfadenite tuberculosa, em infartos antigos, ao redor de parasitas e larvas mortas, em abscessos crônicos e outras alterações (Pittella & Vasconcelos 2000). Seu desenvolvimento é composto por uma fase inicial e outra de

proliferação, podendo ocorrer tanto intracelularmente quanto extracelular. O início da mineralização intracelular ocorre na mitocôndria e a mineralização extracelular ocorre em vesículas ligadas à membrana celular de células velhas ou degeneradas. A calcificação distrófica pode ser um simples sinal de lesão celular prévia, mas pode também causar disfunção do órgão (Kumar et al. 2005).

### 3.3 Calcinose enzoótica

No Brasil são conhecidas duas plantas que provocam calcinose enzoótica, sendo elas *S. glaucophyllum* (= *malacoxylon*) (espichadeira) e *N. veitchii*, ambas da família Solanaceae (Méndez & Riet-Correa 2001). Na Argentina *S. glaucophyllum* é responsável por causar calcinose principalmente em bovinos, sendo observada raramente em ovinos, eqüinos (Carillo & Worker 1967) e também caprinos. Não se sabe quando os primeiros casos da doença foram diagnosticados, mas os primeiros relatos da intoxicação datam de 1898 (Gimeno 2001). No Brasil, casos de intoxicação espontânea por *S. glaucophyllum* em bovinos e búfalos já foram diagnosticados no Estado do Mato Grosso (Döbereiner et al 1971; Santos et al. 2009), enquanto intoxicação por *N. veitchii* em ovinos já foi diagnosticada em vários municípios do Rio Grande do Sul (Riet-Correa et al., 1987; Schild et al. 2006; Rissi et al. 2007b), havendo um relato da doença em bovinos de uma propriedade onde a doença era estudada em ovinos. Os primeiros relatos de calcinose enzoótica em ovinos no Brasil causada por outra planta que não *S. glaucophyllum* são da década de 1970 (Riet-Correa et al. 1987), sendo os primeiros experimentos em coelhos datados de 1981 (Riet-Correa). Plantas responsáveis pelo surgimento da doença em outros países são: *Trisetum flavescens* na Alemanha; *S. torvum* na Nova Guiné e *Cestrum diurnum* nos Estados Unidos. Na África do Sul e na Índia foram diagnosticados casos de calcinose enzoótica de origem indeterminada (Gimeno 2001, Mello 2009). *Cestrum diurnum* foi diagnosticada causando a doença também em Cuba (Durand et al. 1999).

A intoxicação pode ocorrer em ambos os sexos e em animais de todas as idades, mas principalmente em animais adultos, com mais de um ano de idade (Rissi et al. 2007b, Done et al. 1976). Os níveis de morbidade e mortalidade podem variar de um ano para outro e até mesmo de um pasto para outro em propriedades com pasto invadido por *N. veitchii* (Riet-Correa et al. 1987), dependendo da quantidade de planta e da duração do seu ciclo

vegetativo (Méndez & Riet-Correa 2001). No caso de *S. glaucophyllum* a ocorrência das intoxicações depende da quantidade da planta e do tipo de pasto que acompanha. Em pastos de trevo branco, por exemplo, onde as folhas de *S. glaucophyllum* ficam acessíveis aos animais após caírem ao chão, são freqüentes os casos de intoxicação. Já em pastos de plantas mais altas, onde as folhas de *S. glaucophyllum* passam direto para o solo, geralmente ocorrem menos casos (Carrillo & Worker 1967). No caso dos búfalos, a intoxicação se dá pelo consumo da planta enquanto eles estão dentro d'água, ingerindo as plantas na margem (Santos et al. 2009).

A calcinose enzoótica geralmente tem incidência maior em épocas de seca e escassez de forragem (Schild et al. 2006). Casos de intoxicação por *N. veitchii* no Rio Grande do Sul são vistos geralmente nos meses de outubro a fevereiro (Méndez & Riet-Correa 2001), mas há relatos de casos nos meses de abril a agosto (Rissi et al. 2007b, Rissi et al. 2009), sendo as plantas abundantes nos meses da primavera e verão (Riet-Correa et al. 1987, Schild et al. 2006).

*S. glaucophyllum* (=malacoxydon) possui como princípio ativo um derivado glicosídeo do 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (calcitriol) (Gimeno 2001, Mello 2003), que ao ser absorvido no intestino causa degeneração e calcificação das fibras elásticas (Méndez & Riet-Correa 2001). Estudos mostraram também que *S. glaucophyllum* causa aumento na absorção intestinal de Ca e P (Boland et al. 1978). O princípio ativo de *N. veitchii* ainda não foi determinado, mas como a planta possui ação semelhante à vitamina D, sugere-se que possua compostos semelhantes (Mello 2009). Experimentos com ovinos recebendo 150g e 750g de *N. veitchii* misturada à ração provocaram aumento nos níveis de cálcio em relação ao grupo controle, enquanto os níveis de fósforo variaram para cima e para baixo a partir do quarto dia de experimento nos grupos tratados, estando sempre mais altos que no grupo controle (Riet-Correa et al. 1993).

Estudos com extrato de *S. glaucophyllum* incubado em fluido ruminal demonstraram a presença de derivados da vitamina D<sub>3</sub>, como 25(OH)D<sub>3</sub>, 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> e 1,24,25(OH)<sub>3</sub>D<sub>3</sub> (Skliar et al. 1992). Como o glicosídeo do 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> possui uma atividade biológica mil vezes maior que os demais, concluiu-se que este é o princípio responsável pela ação calcinogênica (Gimeno 2001). O excesso de calcitriol [1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>] no sangue estimula a produção de proteínas ligadoras de Ca e aumenta a absorção intestinal de Ca e P, levando ao quadro de hipercalcemia e hiperfosfatemia (Mello 2003). A observação do aumento na absorção de Ca e P pelas células intestinais foi relatada por Boland et al. (1978) em experimentos com ratos que receberam extrato de *S. glaucophyllum* incubado em fluido ruminal. A hipercalcemia deprime a produção e liberação de PTH, levando ao aumento na

produção de calcitonina pelas células C da tireóide. O quadro de hipercalcitoninismo, hipercalcemia e hiperfosfatemia leva ao surgimento de osteopetrose, na tentativa de diminuir a quantidade de Ca e P circulante. Como o excesso de minerais não consegue ser todo acomodado nos ossos, tem início a mineralização dos tecidos moles, levando ao quadro de calcinose (Mello 2003). Esse quadro também torna ineficaz o mecanismo de controle de absorção dos dois minerais realizado pela  $1\alpha$ -hidroxilase no rim (Gimeno 2001).

Tanto os casos de intoxicação por *S. glaucophyllum* quanto por *N. veitchii* provocam quadro clínico crônico e caquetizante (Carrillo & Worker 1967; Rissi et al. 2007b). Recentemente foi feito relato de alguns casos de intoxicação por *N. veitchii*, onde se discutia a morte súbita de ovelhas após o parto, mas com provável desenvolvimento crônico da enfermidade (Rissi et al. 2009). Um dos primeiros sinais observados nos animais afetados cronicamente, tanto nos casos espontâneos quanto nos experimentais, é o surgimento de anorexia com perda de peso acentuada (Riet-Correa et al. 1987, Barros et al. 1992, Moraña et al. 1992, Aguirre et al. 2005, Schild et al. 2006). Alguns apresentam fraqueza de membros e dificuldade em se levantar e andar (Gimeno et al. 2000, Schild et al. 2006). A fraqueza de membros é inicialmente nos anteriores, e na intoxicação por *S. glaucophyllum* em bovinos, os animais chegam a ficar apoiados nas articulações carpianas antes de se levantar (Gimeno 2001). Ovinos naturalmente intoxicados por *N. veitchii* e acompanhados clinicamente apresentaram sopro cardíaco e insuficiência valvular do lado esquerdo, além de carótidas rugosas e evidenciáveis à palpação e pulso pouco perceptível nas artérias superficiais (Barros et al. 1992). Outros sinais clínicos que podem ser observados em bovinos intoxicados por *S. glaucophyllum* são xifose, contração dos tendões e ligamentos e descoloração dos pêlos da região dorsal (Gimeno et al. 2000). A xifose já foi vista também em ovinos naturalmente intoxicados (Rissi et al. 2007b). Na intoxicação natural por *S. glaucophyllum*, bovinos apresentam hipercalcemia e hiperfosfatemia (Gimeno 2001). Se os ovinos e bovinos não são retirados do pasto invadido por *N. veitchii* ou *S. glaucophyllum* a morte pode ocorrer dentro de 2-4 meses devido à caquexia. Alguns podem morrer subitamente (Schild et al. 2006) depois de movimentados para banho, tosquia ou vermifugação (Méndez & Riet-Correa 2001). Coelho experimentalmente intoxicados por *S. glaucophyllum* apresentaram depressão, redução do apetite e diarreia apenas um dia depois de administrada a primeira dose, evoluindo para emagrecimento progressivo (Barros et al. 2006). Em experimentos com coelhos recebendo *N. veitchii* ou *S. glaucophyllum*, os animais apresentaram diminuição acentuada na ingestão de água e alimentos e crescimento inferior aos animais controle (Riet-Correa et al. 1981, Moraña et al. 1994).

Quando retirados do contato com *S. glaucophyllum* ou *N. veitchii* logo que surgem os primeiros sinais, bovinos e ovinos podem apresentar reversão de sinais e melhora aparente, voltando a engordar (Barros et al. 1992), mas no ano seguinte o quadro costuma se agravar logo que surgem os primeiros casos da doença (Carrillo & Worker 1967).

Na necropsia, bovinos e ovinos intoxicados pelas duas plantas costumam apresentar espessamento, endurecimento e perda da elasticidade das grandes artérias, com exceção da artéria tronco pulmonar, estando a região da íntima enrugada e recoberta por placas mineralizadas irregulares e esbranquiçadas (Done et al. 1976, Gimeno 2001, Schild et al. 2006, Rissi et al. 2007b). A artéria aorta apresenta calcificação em todo seu trajeto torácico e abdominal (Riet-Correa et al. 1981), mas em alguns animais a calcificação pode ser mais acentuada na porção abdominal (Riet-Correa et al. 1993). No coração as alterações são observadas principalmente no ventrículo esquerdo (Barros & Gimeno 2000). A válvula aórtica apresenta-se enrugada, espessada e esbranquiçada, rangendo ao corte, mas a mitral também pode demonstrar as mesmas alterações. As cordas tendíneas tem aspecto semelhante (Barros et al. 1992, Schild et al. 2006). A veia jugular pode apresentar calcificação no local onde previamente foi realizada venóclise (Riet-Correa et al. 1987). Na intoxicação por *N. veitchii* em ovinos os pulmões apresentaram-se pouco crepitantes, com líquido espumoso e esbranquiçado fluindo ao corte (Barros et al. 1992). Os pulmões podem apresentar aspecto enfisematoso (Riet-Correa et al. 1987, Barros & Gimeno 2000), assim como também na intoxicação de bovinos por *S. glaucophyllum* (Done et al. 1976). Pode haver nódulos multifocais esbranquiçados nas bordas dos lobos diafragmáticos, com consistência inelástica ou arenosa à palpação (Riet-Correa et al. 1987, Schild et al. 2006), demonstrando ao corte superfície acinzentada e seca (Riet-Correa et al. 1987). Nos rins de ovinos intoxicados por *N. veitchii* observam-se áreas esbranquiçadas de mineralização na região cortical e estriações radiais esbranquiçadas na região medular (Riet-Correa et al. 1987, Barros et al. 1992).

Outras alterações observadas em animais com calcinose enzoótica são de calcificação de ligamentos e tendões, áreas de mineralização no diafragma, áreas esbranquiçadas na tireoide, mineralização acentuada da parede do útero e erosão da cartilagem articular de diversas articulações, principalmente coxo-femoral e carpo-metacarpiana (Riet-Correa et al. 1987). Coelho experimentalmente intoxicados com *S. glaucophyllum* mostram estriações esbranquiçadas na superfície serosa do estômago. Ao corte essas estriações estão localizadas na camada muscular e representam depósitos mineralizados de aspecto granular e seco. Observam-se, na superfície mucosa, áreas avermelhadas,

espessamento da parede e aumento da secreção mucosa (Moraña et al. 1994). Bovinos intoxicados por *S. glaucophyllum* apresentam ainda atrofia de musculatura (Gimeno 2001).

Na intoxicação por *S. glaucophyllum* e *N. veitchii* as alterações histológicas na artéria aorta são caracterizadas por intumescimento, fragmentação e eosinofilia das fibras elásticas da íntima e da média nos locais de mineralização, identificadas como finos depósitos granulares, que posteriormente são recobertos por placas completamente mineralizadas, Von Kossa positivas (Done et al. 1976). As fibras colágenas e áreas ao redor também costumam sofrer mineralização (Riet-Correa et al. 1987, 1993, Gimeno 2001), sendo as alterações semelhantes nos demais grandes vasos, bem como aquelas encontradas nas válvulas cardíacas (Riet-Correa et al. 1993). Em algumas áreas dos vasos são observados focos de metaplasia óssea e cartilaginosa (Done et al. 1976, Barros et al. 1992). Ovinos experimentalmente intoxicados com *N. veitchii* apresentam inicialmente invasão por monócitos e macrófagos e células de músculo liso tumefeitas, com deposição de cálcio nas fibras elásticas e entre as células musculares. Macrófagos e células gigantes multinucleadas são vistas em áreas de mineralização da média, freqüentemente associadas com placas de cartilagem e metaplasia óssea. No miocárdio observam-se áreas de destruição de fibras cardíacas, com fibrose, mineralização e infiltração de macrófagos (Vasconcelos et al. 1998). Estudos de microscopia eletrônica realizados na aorta de coelhos experimentalmente intoxicados por *S. glaucophyllum* mostraram que as lesões de mineralização são precedidas por alterações nas células de músculo liso, que perdem suas características morfológicas, tornando-se semelhantes a fibroblastos (Barros et al. 1981).

Nos pulmões de ovinos intoxicados com *N. veitchii* observa-se edema dos septos interlobulares, com degeneração e calcificação. As cartilagens bronquiais e traqueais podem apresentar áreas de calcificação (Riet-Correa et al. 1987), bem como os músculos peribronquiais (Riet-Correa et al. 1993). As mesmas alterações foram descritas também em bovinos naturalmente e experimentalmente intoxicados por *S. glaucophyllum* (Done et al. 1976). Na intoxicação por *N. veitchii* são vistas também áreas com alvéolos distendidos e de paredes espessadas, com infiltração por macrófagos e células gigantes. No tecido peribronquial observa-se infiltração de linfócitos, mastócitos, macrófagos e células gigantes, podendo haver metaplasia óssea em áreas acentuadamente calcificadas. Em alguns macrófagos há cristais de cálcio em seu citoplasma (Barros & Gimeno 2000, Rissi et al. 2007b). Estudos ultraestruturais evidenciaram alterações nos fibroblastos e células de músculo liso no septo interalveolar, caracterizadas por hiperplasia do retículo endoplasmático rugoso e maior número de mitocôndrias (Barros & Gimeno 2000). Estudos experimentais realizados

em coelhos recebendo 100mg de folha seca de *S. glaucophyllum* por dia demonstraram o surgimento de infiltração de macrófagos e células gigantes multinucleadas na mucosa e submucosa de brônquios e traquéia e calcificação da lâmina própria dos brônquios (Barros et al. 2006).

Nos rins de coelhos e ovinos, *N. veitchii* causa calcificação da íntima e média das artérias, proliferação e calcificação da cápsula de Bowman e calcificação dos túbulos, com formação de cilindros de cálcio. No interstício observa-se proliferação do tecido conjuntivo e deposição de sais de cálcio (Riet-Correa et al. 1981). Em casos de intoxicação natural em ovinos a mineralização tubular renal é vista principalmente na zona medular (Rissi et al. 2007b).

Na tireoide de ovinos intoxicados por *N. veitchii* observa-se hiperplasia das células C ao redor dos folículos ou entre eles (Riet-Correa et al. 1987). *N. veitchii* causa também osteopetrose acentuada, caracterizada por trabéculas mais largas na região da epífise e metáfise dos ossos longos, como úmero e costelas (Riet-Correa et al. 1987, Barros et al. 1992). Coelhos experimentalmente intoxicados por *S. glaucophyllum* apresentam aumento na reabsorção/remodelamento dos ossos corticais, metaplasia mesenquimal no periósteo, redução no número de condrócitos nas zonas hipertróficas e proliferativas da cartilagem e aumento na matriz calcificada (Aguirre et al. 2005).

No estômago de coelhos intoxicados experimentalmente por *S. glaucophyllum* observam-se lesões na mucosa, lâmina própria, muscular e nas artérias da submucosa e muscular do estômago. As células do epitélio do estômago se tornam edemaciadas e com citoplasma vacuolizado, havendo áreas de hemorragia na mucosa, com diversos graus de erosão, podendo atingir a muscular da mucosa e provocar inflamação discreta (Moranã et al. 1994).

Estudos experimentais realizados com novilhas recebendo *S. glaucophyllum* demonstraram queda na capacidade fagocítica de macrófagos peritoneais. Em linfonodos observou-se diminuição no tamanho dos centros germinativos, com diminuição na quantidade de linfócitos, macrófagos e células dendríticas (Fontana et al. 2007). Outro estudo realizado com *S. glaucophyllum* em novilhas de dois anos de idade, recebendo 25g/kg PV por diferentes períodos, demonstrou a ocorrência de atrofia progressiva da região cortical do timo, com diminuição na quantidade de células linfóides e um aumento na quantidade de células não-linfóides. Foi observado também que ao cessar a administração da planta, as alterações se reverterem (Fontana et al. 2009).

Na pele de bovinos intoxicados por *S. glaucophyllum* observou-se acentuada diminuição na espessura da epiderme, devido à redução nas lâminas celulares. Essa alteração é provavelmente resultado do aumento na diferenciação dos queratinócitos suprabasais. Observou-se também diminuição qualitativa e quantitativa das glândulas sebáceas e sudoríparas (Gimeno et al. 2000).

#### 4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Afonso, E.; Pott, A. Plantas no Pantanal tóxicas para bovinos. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa Pantanal. 2002. Disponível em: [www.cnpqg.embrapa.br/.../livros/plantastoxicas](http://www.cnpqg.embrapa.br/.../livros/plantastoxicas). Acesso em 15/01/2008.
- Aguirre, J.I.; Gomar, M.S.; Igal S., Quiroga, M.A.; Portiansky, E.L.; Gimeno, E.J. Bone changes caused by experimental *Solanum malacoxylon* poisoning in rabbits. **Pesquisa Veterinária Brasileira** 25(1):34-38, 2005.
- Assis, T.S.; Medeiros, R.M.T.; Riet-Correa, F.; Galiza, G.J.N.; Dantas, A.F.M.; Oliveira, D.M. Intoxicação por plantas diagnosticadas em ruminantes e equinos e estimativa de perdas econômicas na Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 30(1):13-20, 2010.
- Barros, S.; Tabone, E.; Santos, M.; Andujar, M.; Grimaud, J. Histopathological and ultrastructural alterations in the aorta in experimental *Solanum malacoxylon* poisoning. **Virchows Archive [Cell Pathology]**, 35: 169-175, 1981.
- Barros, S.S.; Driemeier, D.; Santos, M.N.; Guerrero, J.A.M. Evolução clínica e reversibilidade das lesões da calcinose enzoótica dos ovinos induzida por *Nierembergia veitchii*. **Pesquisa Vetereinária Brasileira**, 12(1):5-10, 1992.
- Barros S.S.; Gimeno E.J. Cell differentiation and bone protein synthesis in the lungs of sheep with spontaneous calcinosis. **Journal of Comparative Pathology** 123:270-277, 2000.
- Barros, S.S.; Soares, M.P.; Gimeno, E.J. Macrophages and giant cell proliferation associated with bone protein synthesis and calcification in the trachea and bronchi of rabbits intoxicated with *Solanum glaucophyllum*. **Veterinary Pathology**, 43:494-499, 2006.
- Boland, A.R.; Skliar, M.I.; Gallego, S; Esparza, M.; Boland, R.L. Potentiation of the effects of *Solanum malacoxilon* extracts on rat intestinal phosphate and calcium absorption by incubation with ruminal fluid. **Calcified Tissue Research**, 26:215-219, 1978.

- Braun, J.; Lefebvre, H.P. Kidney function and damage. In: Kaneko J.J., Harvey J.W. & Bruss M.L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animal**. Academic Press. 6<sup>a</sup> ed. San Diego-CA. 2008. p. 485-523.
- Braz, S.P.; Urquiaga, S; Alves, B.J.R.; Boddey, R.M. Degradação de pastagens, matéria orgânica do solo e a recuperação do potencial produtivo em sistemas de baixo “input” tecnológico na região dos Cerrados. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa Agrobiologia, (**Circular Técnico**). 2004. p. 1-8.
- Brossard, M.; Barcellos, A.O. Conversão do cerrado em pastagens cultivadas e funcionamento de latossolos. **Cadernos de Ciência e Tecnologia**, 22(1): 153-168, 2005.
- Cannata-Andía, J.B.; Rodríguez-García, M; Carrillo-López, N.; Naves-Díaz, M.; Díaz-López. Vascular calcification: pathogenesis, management, and impact on clinical outcomes. **Journal of American Society of Nephrology**, 17:267-273, 2006.
- Carrillo, B.J.; Worker, N.A. Enteque Seco: arteriosclerosis y calcificación metastática de origen tóxico em animales a pastoreo. **Revista de Investigaciones Agropecuarias**. 4(2):09-29, 1967.
- Chen, N.X.; O’Neill, K.D.; Chen, X.; Moe, S.M. Annexin-mediated matrix vesicle calcification in vascular smooth muscle cells. **Journal of Bone and Mineral Research**. 23 (11): 1798-1805, 2008.
- DeLuca, H.F. Overview of general physiologic features and functions of vitamin D<sup>1-4</sup>. **The American Journal of Clinical Nutrition**, 80:1689-1697, 2004.
- Döbereiner, J.; Tokarnia, C.H.; Costa, J.B.D.; Campos, J.L.E.; Dayrel, M.S. “Espichamento”, intoxicação de bovinos por *Solanum malacoxylon*, no Pantanal do Mato Grosso. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 6: 91-117, 1971.
- Dobson, R.C.; Ward, G. Vitamin D physiology and its importance in dairy cattle: a review. **Journal Of Dairy Science** 57(9):985-991, 1974.
- Doherty, T.M.; Fitzpatrick, L.A.; Inoue, D.; Qiao, J.H.; Fishbein, M.C.; Detrano, R.C.; Shah, P.K.; Rajavashisth, T.B. Molecular, endocrine, and genetic mechanisms of arterial calcification. **Endocrine Reviews**, 25(4): 629-672, 2004.
- Done, S.H.; Döbereiner, J.; Tokarnia, C.H. Systemic connective tissue calcification in cattle poisoned by *Solanum malacoxylon*: a histological study. **British Veterinary Journal**. 132, 28, 1976.
- Durand, R.; Figueiredo, J.M.; Mendoza, E. Intoxication in cattle from *Cestrum diurnum*. **Veterinary and Human Toxicology**, 41(1): 26-27, 1999.

- Eiler, H. Glândulas endócrinas. In: Reece, W.O. (Ed.) Duke – **Fisiologia dos Animais Domésticos**. 12ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. p. 577-622.
- Fontana, P.A.; Gimeno, E.J.; Laguens, G.; Barbeito, C.G.; De Girolamo, W.; Costa, E.F.; Coronato, S.; Portiansky, E.L. Structural and functional changes in organs and cells of the immune system in *Solanum glaucophyllum*-intoxicated heifers. In: Panter K. E., Wierenga T. L. & Pfister J. A. **Poisonous Plants – Global Research and Solutions**. Ed. CABI, USA. 2007. p.325-329.
- Fontana, P.A.; Zanuzzi, C.; Barbeito, C.G.; Gimeno, E.J.; Portiansky, E.L. Thymic atrophy in cattle poisoned with *Solanum glaucophyllum*. **Pesquisa Veterinária Brasileira** 29(3):266-274, 2009.
- Gimeno, E.J.; Costa, E.F.; Gomar, M.S.; Massone, A.R.; Portiansky, E.L. Effects of plant-induced hypervitaminosis D on cutaneous structure, cell differentiation and cell proliferation in cattle. **Journal of Veterinary Medicine of America**. 47:201-211, 2000.
- Gimeno, E. J. Calcinosis enzoótica em ruminantes: Un problema vigente de la ganaderia nacional. Dissertação do acadêmico. Presentado en la Sesión Pública Extraordinária del 14 de septiembre de 2000. Publicado en: **Anales de la Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria** LIV, 207-232, 2001.
- Goff, J.P. Digestão, absorção e metabolismo. In: Reece, W.O. (Ed.) **Dukes – Fisiologia dos Animais Domésticos**. 12ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. p. 353-576.
- Guyton, A.C.; Hall, J.E. **Textbook of Medical Physiology**. 11<sup>a</sup> ed. Elsevier Saunders. Philadelphia-Pennsylvania. 2006. 1116 p.
- Horst, R.L.; Napoli, J.L.; Littledike, E.T. Discrimination in the metabolism of orally dosed ergocalciferol and cholecalciferol by the pig, rat and chick. **Biochemistry Journal**, 204:185-189, 1982.
- Horst, R.L. Regulation of calcium and phosphorus homeostasis in the dairy cow. **Journal of Dairy Science**, 69(2): 605-616, 1986.
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE. Rebanho bovino e ovino em 2005. **Disponível em <http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/>**. Acessado em: 15/01/2008.
- Johnson, R.C.; Leopold, J.A.; Loscalzo, J. Vascular calcification: pathobiological mechanisms and clinical implications. **Circulation Research**, 99:1044-1059, 2006.
- Kichel, A.N.; Miranda, C.H.B.; Zimmer, A.H. Degradação de pastagens e produção de bovinos de corte com integração agricultura e pecuária. In: I Simpósio de Produção de Gado de Corte. 1999. **Anais do I Simpósio de Produção de Gado de Corte**, p. 202-233.

- Kumar, V.; Abbas, A.K.; Fausto, N. **Patologia – Bases Patológicas das Doenças**. 7<sup>a</sup> ed. Elsevier Editora Ltda. Rio de Janeiro. 2005. 1592 p.
- Macedo, M.C.M. Integração lavoura e pecuária: o estado da arte e inovações tecnológicas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 38: 133-146, 2009.
- Machado, R.B.; Ramos Neto, M.B.; Pereira, P.G.P.; Caldas, E.; Gonçalves, D.A.; Santos, N.S.; Tabor, K.; Steininger, M. Estimativas de perda da área do Cerrado brasileiro. **Relatório Técnico não publicado**. Conservação Internacional, Brasília, DF. 2004.
- Majno, G.; Joris, I. Pathologic calcification. In: **Cells, Tissues, and Diseases. Principles of General Pathology**. Blackwell Science, Massachusetts, EUA. 1996. p.229-246.
- Mello, G.W.S.; Oliveira, D.M.; Carvalho, C.J.S.; Pires, L.V.; Costa, F.A.L.; Riet-Correa, F.; Silva, S.M.M. Plantas tóxicas para ruminantes e equídeos no Norte Piauiense. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 30(1):1-9, 2010.
- Mello, J.R.B. Calcinosis – calcinogenic plants. **Toxicon**. 41:1-12. 2003.
- Mello, J.R.B. Corrigendum to “Calcinosis – calcinogenic plants” [Toxicon 41 (2003) 1-12]. **Toxicon**, 53:383-384, 2009.
- Méndez, M.C.; Riet-Correa, F. Plantas calcinogênicas. In: Riet-Correa, F.; Schild, A.L., Méndez M.C.; Lemos R.A.A. (ed.). **Doenças dos Ruminantes e Equinos**. Vol. 2. 2<sup>a</sup> ed. Varela Editora e Livraria, São Paulo. 2001. p. 271-273.
- Meyers, R.K.; McGavin, M.D. Cellular and tissue responses to injury. In: McGavin, M.D.; Zachary, J.F. **Pathologic basis of veterinary disease**. St. Louis: Mosby Elsevier, 2007. 1488 p.
- Michels, I.; Rodrigues, J.D.; Lucena, L.P. Proposta de elaboração de estudo da cadeia produtiva da ovinocultura em Mato Grosso do Sul. Serviço Brasileiro de Apoio as Micro e Pequenas Empresas – SEBRAE, MS, 2006 (**Relatório Final, 98**).
- Moe, S.M. Disorders involving calcium, phosphorus, and magnesium. **Primary Care** 35(2):215-234, 2008.
- Moe, S.M.; Chen, N.X. Mechanisms of vascular calcification in chronic kidney disease. **Journal of American Society of Nephrology**, 19:213-216, 2008.
- Moranã, J.A.; Barros, S.S.; Driemeier, D.; Flôres, Y.E. Gastropatia em coelhos experimentalmente induzida pela planta calcinogênica *Solanum malacoxylon*. **Pesquisa Veterinária Brasileira** 14(1):35-42, 1994.
- Peixoto, P.V.; Klem, M.A.P.; Brito, M.F.; Cerqueira, V.D.; França, Ticiania. Aspectos toxicológicos, clínico-patológico e ultraestrutural das intoxicações iatrogênicas e

- experimental por vitamina D em coelhos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 30(3):277-288, 2010.
- Pitella, J.E.H.; Vasconcelos, A.C. Pigmentações. Calcificações. In: **Bogliolo – Patologia**. 6ª ed. Ed. Guanabara Koogan S.A. Rio de Janeiro. 2000. p. 69-79.
- Porth, C.M. 2003. Alterations in fluids, electrolytes and acid-base balance. **Essentials of Pathophysiology - Concepts of Altered Health States**. Ed. Lippincott Williams & Wilkins, Milwaukee, USA. 2003. p. 86-119,
- Riet-Correa, F.; Mendez, M.C.; Schild, A.L.; Santos, E.C.; Scarsi, R.M. Experimentos em coelhos sugerem *Nierembergia veitchii* como causa de calcinose enzoótica em ovinos no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 16(5):727-732, 1981.
- Riet-Correa F., Schild A.L., Méndez M.C., Wasserman R.; Krook L. Enzootic calcinosis in sheep caused by the ingestion of *Nierembergia veitchii* (Solanaceae). **Pesquisa Veterinária Brasileira** 7(3):85-95, 1987.
- Riet-Correa, F.; Méndez, M.C.; Schild, A.L.; Petiz, C.A. Enzootic calcinosis in sheep. Experimental reproduction with *Nierembergia veitchii* (Solanaceae). **Pesquisa Veterinária Brasileira** 13(1/20):21-24, 1993.
- Riet-Correa, F.; Méndez, M.C. Intoxicação por plantas e micotoxinas – Plantas calcinogênicas. In: Riet-Correa, F.; Schild, A.L.; Lemos, R.A.A. & Borges, J.R.J. (Ed). **Doenças de Ruminantes e Equídeos**, 3ª ed. Santa Maria: Palloti, 2007. p. 182-184.
- Rissi, D.R.; Rech, R.R.; Pierezan, F.; Gabriel, A.L.; Trost, M.E.; Brum, J.S.; Kommers, G.D.; Barros, C.S.L. (a). Intoxicações por plantas e micotoxinas associadas a plantas em bovinos no Rio Grande do Sul: 461 casos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 27(7): 261-268, 2007.
- Rissi, D.R.; Rech, R.R.; Pierezan, F.; Kommers, G.D.; Barros, C.S.L. (b). Intoxicação em ovinos por *Nierembergia veitchii*: observações em quatro surtos. **Ciência Rural** 37(5):1393-1398, 2007.
- Rissi, D.R.; Brown, C.C.; Barros, C.S.L. Chronic and acute clinical manifestation associated with systemic mineralization caused by ingestion of *Nierembergia veitchii* in sheep in southern Brazil. **Small Ruminant Research**, 87: 102-104, 2009.
- Rucker, R.B.; Morris, J.; Fascetti, A.J. Vitamins. In: Kaneko J.J., Harvey J.W. & Bruss M.L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animal**. Academic Press. 6ª ed. San Diego-CA. 2008. p. 695-730.
- Sano, E.E.; Bezerra H.S.; Barcellos, A.O.; Rosa, R. Metodologias para mapeamento de pastagens degradadas no Cerrado. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa Cerrado, (**Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**). 2002. p. 1-22.

- Sano, E.E.; Rosa, R.; Brito, J.L.S.; Ferreira, L.G. Notas científicas – Mapeamento semidetalhado do uso da terra do Bioma Cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 43(1):153-156, 2008.
- Santos, C.E.P.; Marques, L.C.; Figueiredo, C.; Borges, D.C.; Borges, N.F.; Assis C.J. Calcínose enzoótica em *Bubalus bubalis* no Pantanal Norte Matogrossense, Brasil. In> VIII CONGRESSO BRASILEIRO DE BUIATRIA. 2009, Belo Horizonte. **Anais do VIII Congresso Brasileiro de Buiatria**. Belo Horizonte: Associação Brasileira de Buiatria, p. 331-335, 2009.
- Schild, A.L.; Ferreira, J.L.M.; Soares, M.P.; Schons, S.V.; Bonel-Raposo, J.; Tortelli, F.P.; Priebe, A.P.; Guim, T.N.; Almeida, M.B. Intoxicação por *Nierembergia veitchii* em ovinos. In: Schild A.L., Ferreira J.L.M.; Soares M.P (Ed). **Boletim do Laboratório Regional de Diagnóstico**, UFPel. Editora e Gráfica Universitária, Pelotas-RS. 54p. 2006.
- Shuvy, M.; Abedat, S.; Beerli, R.; Danenber, H.D.; Planer, D.; Ben-Dov, I.Z.; Meir, K.; Sosna, J.; Lotan, C. Uraemic hyperparathyroidism causes a reversible inflammatory process of aortic valve calcification in rats. **Cardiovascular Research**, 79:492-499, 2008.
- Silva, D.M.; Riet-Correa, F.; Medeiros, R.M.T.; Oliveira, O.F. Plantas tóxicas para ruminantes e eqüídeos no Seridó Ocidental e Oriental do Rio Grande do Norte. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 26(4):223-236, 2006.
- Silva, M.X.S.; Guedes, R.M.C. Prevalência de mineralização aórtica detectada no abate de bovinos no estado de Minas Gerais, Brasil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 59:558-563, 2007.
- Skliar, M.I.; Boland, R.L.; Mourino, A.; Tojo, G. Isolation and identification of vitamin D<sub>3</sub>, 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub>, 1-25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> and 1,24,25-trihydroxyvitamin D<sub>3</sub> in *Solanum malacoxylon* incubated with ruminal fluid. **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, 43(7):677-682, 1992.
- Sommerfeldt, J.L.; Napoli, J.L.; Littledike, E.T.; Beitz, D.C.; Horst, R.L. Metabolism of orally administered [<sup>3</sup>H]ergocalciferol and [<sup>3</sup>H]cholecalciferol by dairy cows. **The Journal of Nutrition**, 113:2595-2600, 1983
- Vasconcelos, R.O.; Barros, S.S.; Russowski, D.; Grando, S.M.; Irigoyen, L.F. Arterial diffuse intimal thickening associated with enzootic calcinosis of sheep. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 18(1):9-15, 1998.
- Wilkins, R.G.; Wilkins, P.C. Biological Roles. **The Role of Calcium and Comparable Cations in Animal Behavior**. RS.C. Cornwall-UK. 2003. p. 18-40.

**CAPÍTULO 2**  
**CARACTERIZAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA, CLÍNICA E ANATOMOPATOLÓGICA**  
**DA CALCINOSE ENZOÓTICA EM RUMINANTES NO BRASIL CENTRAL**

Ma. Karla Moraes Rocha Guedes; Dr. Márcio Botelho de Castro

Laboratório de Patologia Veterinária, Brasília, DF

**RESUMO**

A calcinose enzoótica é uma enfermidade caracterizada por mineralização de artérias e tecidos moles, osteopetrose e por quadro sérico de hipercalcemia e hiperfosfatemia. No Brasil, *N. veitchii* e *S. glaucophyllum* são duas plantas conhecidamente causadoras da doença em ovinos e bovinos no sul do Rio Grande do Sul e no Pantanal. Casos de calcinose enzoótica foram diagnosticados em Goiás, Minas Gerais, Tocantins e no Distrito Federal, locais onde não são encontradas nenhuma das plantas calcinogênicas conhecidas. Os primeiros casos foram diagnosticados em 2004, e até 2010 foram relatados 50 casos da doença no LPV/UnB, em 23 propriedades. Quatorze propriedades foram visitadas, e em todas elas os pastos eram caracterizados por moderada a acentuada degradação e invasão por plantas daninhas. A doença foi diagnosticada em ovinos, bovinos e caprinos, estando a primeira espécie em maior número. São acometidos ambos os sexos, mas houve maior número de necropsia de fêmeas em todas as espécies. Animais em fase de lactação podem ser acometidos, mas a enfermidade é mais freqüente em animais adultos, com mais de um ano de idade. Os casos de calcinose enzoótica no Brasil Central são diagnosticados por todo o ano, mas a maioria ocorreu nos meses de maior índice pluviométrico, período no qual foram altos

os níveis de Ca e P sérico nos ovinos de dois rebanhos avaliados no DF e GO. Os principais sinais clínicos observados foram de caquexia, emagrecimento progressivo e flexão de membros anteriores, com andar rígido. Macroscopicamente os principais achados foram de mineralização da artéria aorta, valvas cardíacas, pulmões e rins. Histologicamente os focos de mineralização arterial se encontravam principalmente na camada média, havendo também metaplasia cartilaginosa e proliferação de colágeno entre as fibras de músculo liso. Cinco plantas daninhas suspeitas de serem responsáveis pela doença no Brasil Central foram testadas em coelhos Nova Zelândia Branco. Em um experimento com *Sida rhombifolia* um coelho apresentou mineralização multifocal moderada da artéria aorta, caracterizada histologicamente por deposição de substância enegrecida Von Kossa positivo. Os achados epidemiológicos, clínicos e anatomopatológicos encontrados sugerem que os casos estudados foram provocados por uma planta calcinogênica desconhecida que ocorre em grande parte do Brasil Central.

Palavras-chave: calcinose enzoótica; ruminantes; mineralização arterial; plantas calcinogênicas.

### ABSTRACT

Enzootic calcinosis is a disease characterized for mineralization of soft tissues, osteopetrosis and serum blood alterations of hipercalcemia and hiperphosphatemia. In Brazil *N. veitchii* and *S. glaucophyllum* are plants known as causes of the disease in sheep and cattle in the south of Rio Grande do Sul and Pantanal. Cases of enzootic calcinosis were diagnosed in Goias, Minas Gerais, Tocantins and Federal District, places where there is not such calcinogenic plants. The first cases were diagnosed in 2004, and until 2010, fifty cases were related by the LPV/UnB, in twenty-three different properties. Fourteen of these properties were visited, and all of them were characterized for moderated to severally degraded pasture, with lot of weed. The disease was diagnosed in sheep, cattle and goat, being the first more numerous. Both sexes are susceptible of get ill, but more female were necropsied. Lactating animals can get ill, but adults are more frequently affected. Enzootic calcinosis cases in Central Brazil occurred all of the year, but most of them occurred in the raining months, when the Ca and P levels in the serum blood were higher in both herds studied in Goias and Federal District. Mainly clinical signs saw were cachexy, progressive emaciation and flexion of the fore limbs, with stiff gait. Gross morbid findings were of aortic, cardiac valves, lungs and kidneys mineralization. Histological findings were characterized for arterial mineralization, mainly in the medial layer with cartilaginous metaplasia and colagenous proliferation between smooth muscle fibers. Five different weeds suspected of being responsible for the enzootic calcinosis in Central Brazil were tested in White New Zealand Rabbits. In a experiment with *Sida rhombifolia* one rabbit presented moderated multifocal mineralization from aorta, characterized by histological deposition of dark substance Von Kossa positive. The epidemiological, clinical and anathomopathological findings suggest that the investigated cases were caused by a calcinogenic plant unknown in Central Brazil.

Key-words: enzootic calcinosis, ruminants, arterial mineralization, calcinogenic plants.

## 1 INTRODUÇÃO

A calcinose enzoótica é uma doença caracterizada por hipercalcemia, calcificação dos tecidos moles e redução na produtividade dos rebanhos. No Brasil, é conhecida popularmente como “espichamento” e na Argentina como “enteque seco”, sendo causada pela ingestão de plantas tóxicas (Riet-Correa & Mèndez 2001, Gimeno 2001). São conhecidas duas plantas que causam calcinose enzoótica espontaneamente em ovinos e bovinos no país. *Nierembergia veitchii* possui distribuição restrita ao Rio Grande do Sul, causando doença em ovinos (Riet-Correa et al. 1987) e *Solanum glaucophyllum* (espichadeira), que tem relato de doença espontânea em bovinos e búfalos no Pantanal (Tokarnia et al. 2000, Santos et al. 2009).

Desde 2004, vem sendo diagnosticada pelo Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade de Brasília (LPV/UnB) uma doença de ruminantes caracterizada por calcificação de artérias e tecidos moles. São acometidos animais mantidos em pastagens degradadas e invadidas por plantas daninhas. Os animais acometidos apresentam um quadro de emagrecimento progressivo, que não regride mesmo quando o rebanho recebe suplementação.

Foram identificados focos em MG, GO, TO, DF e MT. Devido à existência de duas plantas tóxicas já conhecidas como causadoras de calcinose enzoótica no Brasil, vem sendo feita a investigação sistemática a procura da etiologia nas fazendas com a doença. Diante dessa investigação, constatou-se uma grande diversidade de plantas invasoras, sendo muitas delas observadas no DF e também nas outras propriedades acompanhadas nos diferentes Estados. Constatou-se que em nenhuma das propriedades visitadas ocorre *S. glaucophyllum* ou *N. veitchii*. Diante disso o objetivo desse trabalho é identificar as

características epidemiológicas, clínicas e anatomopatológicas da calcinose enzoótica que ocorre no Brasil Central, bem como tentar identificar sua etiologia e formas de controle da doença, minimizando as perdas econômicas que a doença provoca nos rebanhos de ruminantes.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Estudo da doença**

#### **2.1.1 Identificação de casos**

A identificação de animais suspeitos ou que apresentaram calcinose enzoótica foi feita nos animais recebidos no Hospital Veterinário da UnB (HVet/UnB) e no Laboratório de Patologia Veterinária da UnB (LPV/UnB). Foi feito levantamento de fichas clínicas e laudos de necropsia de 50 animais diagnosticados com a doença. Alguns casos foram encaminhados por veterinários autônomos, podendo não conter todas as informações. Foram considerados animais com calcinose enzoótica aqueles que durante a necropsia apresentavam placas minelizadas em artérias ou em tecidos moles, principalmente pulmão e coração. Animais suspeitos eram aqueles provenientes de propriedades onde já fora diagnosticada a doença e que apresentavam sintomatologia semelhante.

Para realização de um mapa com a distribuição dos municípios de origem de 14 propriedades estudadas foi utilizado o programa Google Earth<sup>®</sup>.

### **2.1.2 Investigação dos surtos**

Após confirmação da ocorrência de calcinose, a origem dos animais foi identificada, para posterior visita à fazenda. Quando possível a propriedade onde a doença foi identificada foi visitada para determinar a época de ocorrência da enfermidade, a frequência da mesma e os sinais clínico-patológicos apresentados pelos animais afetados. As pastagens das fazendas foram inspecionadas para a observação das plantas suspeitas de estarem causando a enfermidade. Por planta suspeita entende-se planta daninha encontrada em grande quantidade em meio ao pasto degradado, que tivesse evidências de pastejo pelos animais. Durante a visita os pastos observados eram qualificados de acordo com o grau de invasão por plantas daninhas em: não invadidos (-), sem presença de plantas daninhas; pouco invadidos (+), com predominância absoluta de gramíneas cultivadas; moderadamente invadidos (++) , com maior quantidade de plantas daninhas, mas havendo áreas de gramíneas cultivadas; e acentuadamente invadidos (+++), quando não há gramíneas cultivadas no pasto avaliado.

### **2.1.3 Níveis pluviométricos**

Foram avaliados os níveis pluviométricos dos anos de 2004 a 2010. Os estados avaliados foram Goiás e o Distrito Federal, por possuírem o maior número de diagnósticos, e por serem os estados de origem das duas propriedades onde foram feitas as análises dos níveis de cálcio e fósforo. Os dados foram coletados no site do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET – [www.inmet.gov.br](http://www.inmet.gov.br)), a partir das estações 83376-Pirenópolis (Goiás) e 83377-Brasília (Distrito Federal), que correspondiam a áreas próximas a maioria das propriedades estudadas. Os níveis pluviométricos de cada ano foram determinados através de gráficos que mostravam o acumulado mensal em milímetros

#### **2.1.4 Avaliação clínica**

Nas fichas clínicas ou de necropsia foram coletadas as informações referentes às espécies criadas na propriedade e espécie dos animais doentes, raça e sexo dos animais acometidos, idade, número de animais do rebanho. Também, os sinais clínicos apresentados pelos animais doentes, número de animais acometidos e que morreram devido a calcinose enzoótica. Outras informações como tipo de alimentação fornecida ao rebanho, qualidade do pasto onde os rebanhos doentes eram mantidos, mês e ano de ocorrência da doença e localização das propriedades (município e Estado) foram registradas.

Na propriedade 20, onde havia casos graves da doença em ovinos, foram avaliados clinicamente 50% do rebanho bovino da mesma propriedade, para avaliar animais mantidos em condições de intoxicação e animais tratados com manejo alimentar e sanitário adequado.

#### **2.1.5 Análise de Ca e P sérico**

Em duas propriedades onde a doença foi identificada, nos anos de 2008 e 2009, foram colhidas amostras de sangue de 10% do rebanho para determinação dos níveis séricos de Ca e P. Os ovinos eram escolhidos aleatoriamente dentro dos currais. Por cinco a seis meses as amostras foram colhidas uma vez por mês, no intuito de verificar a ocorrência de hipercalcemia e hiperfosfatemia e comparar os resultados com o ciclo de chuvas. O sangue foi coletado em tubo a vácuo de 09 ml, sem anticoagulante e as amostras foram então centrifugados a 2800 rotações por minuto (rpm) durante cinco minutos. Os testes foram realizados no LPV/UnB utilizando kits comerciais (Cálcio Liquiforme e Fósforo da Labtest<sup>®</sup>), em medidor semi-automático (Bio-Plus 2000<sup>®</sup>). Os níveis de Ca e P para ovinos foram comparados com os valores descritos por Kaneko (2008). O teste t de Student foi utilizado para comparar os níveis de Ca e P entre os rebanhos estudados.

Cinquenta por cento (n=4) dos bovinos da propriedade 20 foram escolhidos aleatoriamente e tiveram sangue coletado para análise dos níveis séricos de Ca e P.

### 2.1.6 Achados macroscópicos e histológicos

Os animais necropsiados foram aqueles levados ao Hvet/UnB para atendimento clínico e que morriam naturalmente ou eram submetidos a eutanásia com anuência dos proprietários e aqueles animais que eram levados diretamente para o LPV/UnB já mortos, por seus proprietários ou responsáveis. Foram avaliados também fragmentos de animais necropsiados por veterinários autônomos. Nas necropsias realizadas por membros do LPV/UnB, analisaram-se as lesões macroscópicas e coletaram-se órgãos das cavidades torácica e abdominal, além da artéria aorta, carótidas, tireoide, paratireoide, úmero, e sistema nervoso central. Quando a artéria aorta era coletada em toda sua extensão era feita avaliação da distribuição das alterações macroscópicas de calcificação. Era considerada calcificação arterial as alterações caracterizadas pela presença de placas firmes, elevadas, esbranquiçadas e irregulares na superfície luminal do vaso. Quanto à classificação da distribuição das lesões, foram avaliadas artéria aorta cranial (inserção ao coração), média (adjacente ao pulmão) e caudal (cavidade abdominal), artéria tronco-pulmonar, artéria carótida, artéria sacral mediana, artérias do tronco braquicefálico e artérias ilíacas interna e externa. A graduação da gravidade da lesão foi dada de acordo com a distribuição e intensidade das áreas de mineralização, sendo classificadas em: ausente (-); discreta (+); moderada (++) e acentuada (+++).

Nos pulmões as lesões de mineralização eram caracterizadas pela observação de áreas abauladas, pálidas e de consistência inelástica. No coração eram avaliadas as valvas átrio-ventriculares direita e esquerda, valvas semilunares, cordas tendíneas, miocárdio e endocárdio mural, sendo considerada lesão de mineralização aquelas áreas esbranquiçadas, firmes e irregulares, semelhante ao observado nos vasos. No parênquima renal era considerada lesão de mineralização a presença de áreas esbranquiçadas, difusas, puntiformes ou em raias, com consistência firme ou arenosa na superfície de corte.

Devido à diferença nas pessoas responsáveis pela realização das necropsias estudadas, ocorreu variação nos órgãos coletados em cada caso, havendo variação nos resultados obtidos.

Fragmentos de artéria aorta e glândula tireoide de 20 ovinos sadios provenientes de abate comercial e criados em confinamento foram coletados para posterior comparação com aorta e tireoide de ovinos diagnosticados com calcinose enzoótica.

Todos os fragmentos foram fixados em formol a 10% tamponado, clivados e processados rotineiramente para coloração de hematoxilina-eosina (HE). Fragmentos de

pulmão e artéria aorta foram processados para as colorações de Von Kossa para cálcio, Sirius Red para colágeno, Verhoeff para fibras elásticas e Tricrômico de Gomori para músculo liso (Hewitson & Darby 2010).

## **2.2 Identificação botânica**

As plantas a serem identificadas foram coletadas em propriedades onde foram diagnosticados casos de calcinose enzoótica. Foram escolhidas plantas observadas em todas as propriedades visitadas e que apresentavam evidências de pastejo pelos animais dos rebanhos. Todas as amostras colhidas estavam em fase de floração, e todas foram fotografadas. As plantas suspeitas foram colhidas com sistema radicular, colocadas entre folhas de jornal, e essas folhas foram trocadas uma vez por dia. Esse processo se repetia até que as plantas estivessem completamente secas, sendo então arquivadas.

As plantas secas e herborizadas e as fotografias foram entregues a uma especialista em Botânica, para posterior identificação. A identificação foi feita a partir de consulta à literatura especializada e às exsicatas depositadas no herbário da Universidade de Brasília (UB), por meio de comparação. O material coletado foi depositado em herbário e as sinônimas foram checadas no banco de informações dos sites *Missouri Botanical Garden*, *W<sup>3</sup>TROPICOS* (2008) e *The Internacional Plant Names Index* (2008). O sistema de classificação botânica segue o proposto no *Angiosperm Phylogeny Group II* (APG II, 2003).

## **2.3 Experimentação piloto para identificação de planta calcinogênica**

Foram utilizados 10 coelhos machos e fêmeas de dois meses de idade da raça Nova Zelândia Branco provenientes do Biotério da UnB. Antes do início da administração de cada planta a ser testada eram coletadas amostras de sangue de todos os animais para análise de Ca e P. O método de processamento das amostras de sangue foi igual ao realizado nos animais dos rebanhos estudados. Ao todo foram realizados 07 experimentos, sendo testadas

05 espécies de plantas daninhas suspeitas de causarem a calcinose enzoótica nos ruminantes estudados.

A coleta de sangue dos coelhos foi feita na veia marginal da orelha (Harkness & Wagner 1993) em tubos sem anticoagulantes. Para realização da coleta de sangue se realizou o seguinte procedimento: uma gota de xilol foi derramada na ponta da orelha dos coelhos e foi feita uma pequena incisão com lâmina de bisturi estéril. Após a coleta, o vaso puncionado era comprimido com um pedaço de gelo envolto em gaze, para estancar o sangramento. Posteriormente a ponta da orelha dos coelhos era lavada com água e detergente em abundância, para eliminar o xilol.

Os animais testados receberam uma dieta a base de água potável, ração comercial peletizada para coelho, para provimento das necessidades nutricionais, e a planta a ser testada (*ad libitum*). Os animais controle de cada experimento receberam apenas água e ração comercial para coelhos (*ad libitum*). Cada planta suspeita foi coletada e administrada verde aos animais testados. As coletas de plantas eram realizadas semanalmente ou quinzenalmente e a planta conservada em geladeira a aproximadamente 5°C. Cada planta foi administrada por um período de até 67 dias.

Após o término de cada experimento os animais foram submetidos à eutanásia para observação da ocorrência ou não de calcinose nas artérias e outros tecidos. Para realização da eutanásia os animais foram inicialmente anestesiados com 04 ml de tiopental sódico e posteriormente receberam uma injeção intracardíaca de 04 ml de cloreto de potássio (KCl). Imediatamente após a eutanásia os animais foram necropsiados e foi feita coleta de fragmentos dos órgãos da cavidade torácica e abdominal, além de tireoide, paratireoide, artéria aorta, fêmur, tendão e sistema nervoso central. As técnicas de fixação de fragmentos e processamento histológico utilizadas foram as mesmas descritas para os ruminantes diagnosticados com a doença natural.

## **3 RESULTADOS**

### **3.1 Estudo da doença**

#### **3.1.1 Identificação e investigação de surtos**

Vinte e três propriedades foram investigadas quanto à presença de calcinose enzoótica em ruminantes no período entre os anos de 2004 a 2010. Neste período foram realizadas 50 necropsias de animais com a doença, distribuídos em 42 registros no LPV/UnB. A caracterização epidemiológica de cada uma das propriedades está identificada na Tabela 1.

Das 23 propriedades estudadas, em 11 foram identificados casos de calcificação apenas em ovinos (47,82%), 09 em bovinos (39,13%), 02 em caprinos e ovinos (8,7%) e uma em caprinos (4,35%). Foram necropsiados e diagnosticados com a enfermidade 50 animais, sendo 41 (82%) fêmeas e 09 machos (18%). Quanto à idade, apenas 3 ovinos dos 42 registros, tinham menos de 1 ano de idade, sendo o mais jovem um borrego de 4 meses. Outros 13 animais (10 ovinos e 3 bovinos) não possuíam registro preciso da idade, identificados apenas como adultos, e foram considerados com mais de um ano de idade. A idade dos demais animais está listada na Tabela 1.

Tabela 1- Dados epidemiológicos dos rebanhos onde foram diagnosticados casos de calcinose enzoótica o LPV/UnB, no ano de 2004 a 2010.

Propriedade	Espécie	Raça	Sexo M/F	Idade	Nº animais rebanho <sup>a</sup>	Nº animais mortos <sup>d</sup>	Mortalidade (%)	Nº necropsias	Alimentação	Qualidade do pasto <sup>g</sup>	Mês/Ano	Proveniência
01*	Bovino	Holandês	3/4	>1 ano	100	70	70	07 <sup>e</sup>	Pasto <i>Panicum maximum</i> cv. Mombaça	+++	Maio/ 2004	Flores de Goiás-GO
02*	Ovino	Santa Inês	2/8	8 meses a > 1ano	200	10	5	10	Pasto <i>P. maximum</i> cv. Tanzânia	++	Março a julho/2006	Paracatu-MG
03*	Bovino	Ni	0/1	10 anos	16	02	12,5	01	Pasto <i>Brachiaria</i> spp./ cama-de-frango/ sal mineral	++	Agosto/ 2006	Paranoá-DF
04*	Ovino	Santa Inês	0/5	<1 ano/ >1 ano	215	05	2,32	05 <sup>f</sup>	Pasto <i>Andropogon gayanus</i> / sal mineral	++	Agosto/ 2006 Março/2007	São Miguel do Araguaia-GO
05*	Ovino	Santa Inês	0/6	4 meses a > 1ano	148	15	10,1	06	Pasto <i>Brachiaria</i> spp. / silagem de milho/ concentrado	+++	Setembro/ 2006 Janeiro a maio/2007	Santo Antônio do Descoberto-GO
06*	Caprino/ ovino <sup>b</sup>	SRD/SRD	0/1	Ni	100/200	12	4	01	Pasto <i>Brachiaria</i> spp./ concentrado	+++	Agosto/ 2006	Cocalzinho de Goiás-GO
07*	Ovino	Santa Inês	0/1	>1 ano	55	02	3,6	01	Pasto <i>Andropogon gayanus</i>	++	Fevereiro/ 2007	Padre Bernardo-GO
08	Bovino	Girolando	0/1	Ni	Ni	01	Ni	01	Ni	Ni	Fevereiro/ 2007	Ni
09*	Ovino	Santa Inês	0/1	>1 ano	35	01	2,8	01	Pasto de <i>Brachiaria</i> spp.	+++	Fevereiro/ 2007	Paracatu-MG
10*	Ovino	SRD	0/1	>1 ano	215	85	39,5	01	Pasto <i>Panicum maximum</i> cv. Mombaça	+++	Março/2007	Araguaçu-TO
11*	Ovino	Santa Inês	0/1	4 anos	47	06	12,7	01	Pasto <i>Andropogon gayanus</i> / concentrado/ cana-de-açúcar	+++	Junho/2007	São Sebastião-DF

\*: propriedades visitadas para avaliação de pasto e rebanho; a: informação obtida durante a primeira visita à fazenda ou na ficha clínica; b: caprinos e ovinos apresentavam o mesmo quadro clínico, mas apenas material de um caprino foi analisado; c: dois ovinos foram necropsiados e material do caprino foi enviado fixado em formol; d: número de animais que morreram após apresentarem sinais clínicos semelhantes; e: foi feito apenas um registro para os sete animais; f: apenas três registros foram feitos; g: em relação à degradação e invasão por plantas daninhas; (-) pasto bem formado, (+) pasto com discreta degradação e invasão, (++) pasto moderadamente degradado e invadido, (+++) pasto acentuadamente degradado e invadido.

Tabela 1 - Continuação

Propriedade	Espécie	Raça	Sexo M/F	Idade	Nº animais rebanho <sup>a</sup>	Nº animais mortos <sup>d</sup>	Mortalidade %	Nº animais necropsiados	Alimentação	Qualidade do pasto <sup>g</sup>	Mês/Ano	Proveniência
12	Bovino	Holandês	0/1	>1 ano	Ni	01	Ni	01	Ni	Ni	Julho/2007	Ni
13	Ovino	Santa Inês	0/1	Ni	Ni	01	Ni	01	Ni	Ni	Julho/2007	Ni
14*	Ovino	Santa Inês	1/0	>1 ano	Ni	01	Ni	01	Pasto de <i>Brachiaria</i> spp. e <i>Andropogon gayanus</i>	++	Março/2007	Brasília-DF
15	Bovino	Girolando	0/1	Ni	Ni	01	Ni	01	Ni	Ni	Janeiro/2008	Brazlândia-DF
16	Bovino	Girolando	0/1	8 anos	Ni	01	Ni	01	Ni	Ni	Março/2008	Brasília-DF
17*	Bovino	Nelore	0/1	Ni	4380	01	0,02	01	Pasto <i>Brachiaria</i> spp.	++	Abril/2008	Formosa-GO
18	Bovino	SRD	0/1	Ni	Ni		Ni	01	Ni	Ni	Junho/2008	Ni
19	Ovino	SRD	0/1	>1 ano	Ni	01	Ni	01	Ni	Ni	Novembro/2008	Unai-MG
20*	Ovino	SRD	1/1	>1 ano	101	10	9,9	02	Pasto <i>Brachiaria</i> spp. e <i>Pennisetum purpureum</i>	+++	Fevereiro a março/2009	Sobradinho-DF
21*	Caprino/ovino <sup>c</sup>	SRD/Santa Inês	2/1	>1 ano	Ni/70	03	4,2	03	Pasto <i>Brachiaria</i> spp.	+++	Março a abril/2009-2010	Sobradinho-DF
22	Caprino	Anglo Nubiano	0/1	8 anos	Ni	01	Ni	01	Ni	Ni	Abril/2009	Ni
23	Bovino	Girolando	0/1	>1 ano	Ni	01	Ni	01	Ni	Ni	Agosto/2009	Ni

\*: propriedades visitadas para avaliação de pasto e rebanho; a: informação obtida durante a primeira visita à fazenda ou na ficha clínica; b: caprinos e ovinos apresentavam o mesmo quadro clínico, mas apenas material de um caprino foi analisado; c: dois ovinos foram necropsiados e material do caprino foi enviado fixado em formol; d: número de animais que morreram após apresentarem sinais clínicos semelhantes; e: foi feito apenas um registro para os sete animais; f: apenas três registros foram feitos; g: em relação à degradação e invasão por plantas daninhas; (-) pasto bem formado, (+) pasto com discreta degradação e invasão, (++) pasto moderadamente degradado e invadido, (+++) pasto acentuadamente degradado e invadido.

Calcular a morbidade nos rebanhos não foi possível, mas a mortalidade aproximada variou entre os rebanhos estudados. Os maiores índices de mortalidade foram observados nas propriedades 01 (70%), 10 (39%), 03 (12,5%), 11 (12,7%), 05 (10%) e 20 (9,9%). Nas demais propriedades a mortalidade variou de 0,02% a 5% do rebanho.

Quanto à localização das 23 propriedades onde ocorreram casos de calcinose enzoótica, 07 estavam no Distrito Federal (30,43%), 06 no Estado de Goiás (26,08%), 03 em Minas Gerais (13,04%), 01 em Tocantins (4,37%). A localização de 06 (28,08%) propriedades não foi identificada no histórico clínico. Estes últimos 06 animais foram atendidos no HVet/UnB e provavelmente eram de propriedades localizadas no Distrito Federal ou Entorno (Tabela 1). A distribuição geográfica dos municípios onde ocorreram surtos de calcinose enzoótica está identificada na Figura 2.

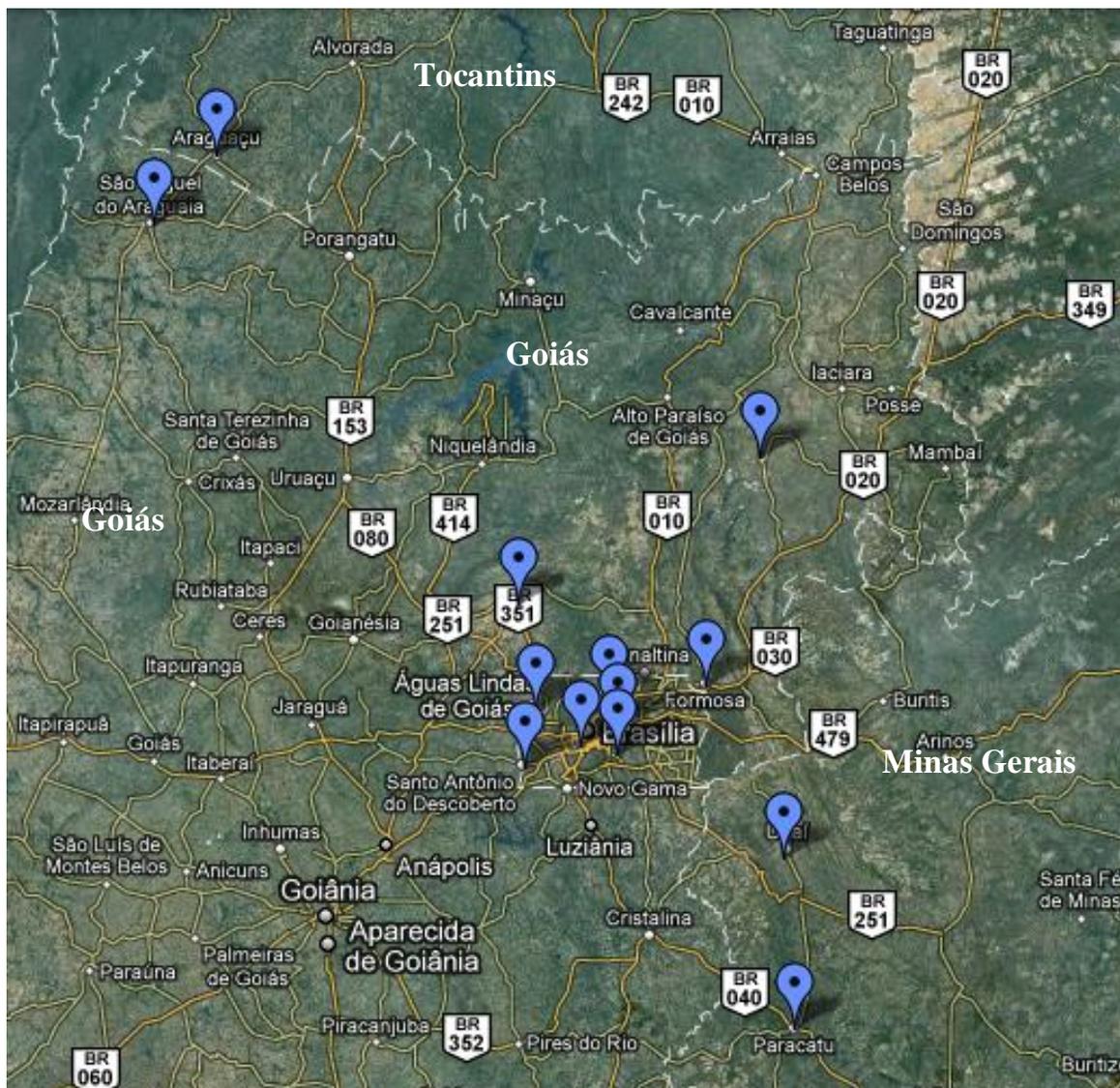


Figura 2 – Distribuição geográfica dos municípios onde foram diagnosticados casos de calcinose enzoótica em ruminantes no Brasil Central de 2004 a 2010. Fonte: Google Earth®.

Em relação ao período de ocorrência da enfermidade, a distribuição mensal dos diagnósticos registrados pode ser visto na Figura 3. Em 2 registros não havia identificação do mês de diagnóstico da doença.

Das 23 propriedades relacionadas, 14 delas foram visitadas para inspeção dos pastos e avaliação do rebanho (Tabela 1). Em todas as propriedades os animais eram mantidos em áreas onde inicialmente haviam sido formados pastos principalmente de *Brachiaria*, *Panicum* e *Andropogon*. Dessas 14 propriedades visitadas, 08 tinham o pasto acentuadamente degradado e invadido por plantas daninhas e outras 06 tinham o pasto moderadamente degradado e invadido. Outras 09 propriedades não foram visitadas e nas fichas clínicas não constavam informações sobre a qualidade das pastagens. Nas propriedades de pasto degradado observou-se que as plantas daninhas acabavam sendo consumidas abundantemente pelos rebanhos (Figuras 4 e 5), pois ao iniciarem as chuvas estas eram as primeiras a brotarem. Foi observado também o rápido desaparecimento de algumas plantas invasoras logo após o fim das chuvas. Em nenhuma das propriedades estudadas foi identificada a presença de *Nierembergia veitchii* ou *Solanum glaucophyllum*. O uso de suplementação com sal mineral ou concentrado era pouco frequente nas criações de ovinos ou bovinos. Naquelas propriedades onde os animais recebiam concentrado no cocho geralmente a suplementação era feita com quantidades muito abaixo do necessário. Em 13 das propriedades investigadas outros erros de manejo observados foram de animais jovens soltos com as mães no pasto desde o nascimento, falta de controle na ingestão de colostro, limpeza inadequada das fezes nos currais, controle inadequado de ectoparasitas e endoparasitas, entre outros.

### 3.1.2 Níveis pluviométricos

A distribuição mensal e anual das chuvas no Estado de Goiás e no Distrito Federal está representada na Figura 3.

O que se observou foi que os maiores níveis pluviométricos ocorreram entre os meses de outubro a abril, correspondendo às estações da Primavera, Verão, até meados de Outono. Nesse período, os maiores índices foram registrados no Verão, correspondente aos meses de dezembro a fevereiro.

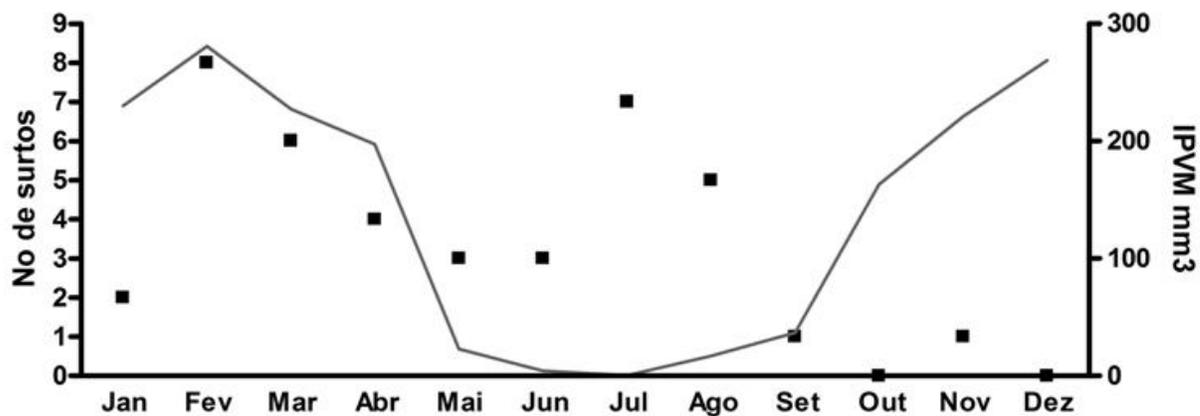


Figura 3 – Demonstração do número de surtos mensais de calcinose enzoótica do ano de 2004 a 2010 (quadrados), relacionada com o índice pluviométrico médio (IPVM) (linha) em milímetros cúbicos ( $\text{mm}^3$ ) de janeiro a dezembro do mesmo período no estado de GO e no DF.



Figura 4 – Pasto acentuadamente degradado e invadido por plantas daninhas na propriedade 21, Sobradinho, DF. Ao fundo rebanho ovino com animais acometidos por calcinose enzoótica.



Figura 5 – Ovinos da propriedade 21 pastejando em área invadida por plantas daninhas. No primeiro plano observa-se animal com calcinose enzoótica apresentando flexão de membros anteriores, sinal clínico relacionado à doença.

### 3.1.3 Avaliação clínica

Os principais sinais clínicos relacionados aos animais com quadro de calcinose enzoótica estão listados na Tabela 2.

Entre os sinais clínicos apresentados nos 42 registros avaliados, o mais frequente foi caquexia e emagrecimento progressivo (Figura 6), relatada ao todo em 26 animais (61,9%). Outros sinais clínicos observados foram: flexão e rigidez de membros vistos em 08 animais (19%) (Figura 7); decúbito em 06 animais (14%) e depressão em 04 animais (9,5%). Em 13 registros (30,9%) os animais não apresentaram sinais clínicos prévios ou esses sinais eram relacionados com outras doenças. É o caso de alguns animais como: o bovino 10, diagnosticado com botulismo; o ovino 19, que pertencia ao rebanho da propriedade 5, mas que foi diagnosticado com cegueira devido a intoxicação por closantel; ou o bovino 27, que apresentou prolapso uterino após o parto.

Tabela 2- Caracterização dos principais sinais clínicos apresentados pelos animais necropsiados e diagnosticados com calcinose enzoótica no LPV/UnB, de 2004 a 2010

Animal	Propriedade	Espécie	Sinais clínicos					
			SS	CQX	FLM	RM	DPR	DCB
01	01	Bovino	+	-	-	-	-	-
02	02	Ovino	-	+	-	-	-	-
03	02	Ovino	-	+	-	-	-	-
04	02	Ovino	-	+	+	+	-	-
05	02	Ovino	-	+	+	+	-	-
06	02	Ovino	-	+	+	+	-	-
07	02	Ovino	-	+	+	+	-	-
08	02	Ovino	-	+	-	-	-	-
09	02	Ovino	-	+	-	-	-	-
10	03	Bovino	+	-	-	-	-	-
11	02	Ovino	-	+	-	-	-	-
12	02	Ovino	-	+	-	-	-	-
13	04	Ovino	-	+	+	+	-	-
14	05	Ovino	+	-	-	-	-	-
15	06	Caprino	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni
16	05	Ovino	-	+	-	-	-	-
17	05	Ovino	-	+	-	-	-	-
18	05	Ovino	-	+	-	-	-	-
19	05	Ovino	-	+	-	-	-	-
20	07	Ovino	-	+	-	-	-	-
21	08	Bovino	+	-	-	-	-	-
22	09	Ovino	-	+	-	-	-	-
23	10	Ovino	+	-	-	-	-	-
24	04	Ovino	-	+	-	-	+	+
25	04	Ovino	-	+	-	-	+	+
26	05	Ovino	+	-	-	-	-	-
27	11	Ovino	+	-	-	-	-	-
28	12	Bovino	+	-	-	-	-	-
29	13	Ovino	-	+	-	-	-	-
30	14	Ovino	+	-	-	-	-	-
31	15	Bovino	+	-	-	-	-	-
32	16	Bovino	+	-	-	-	-	-
33	17	Bovino	-	-	-	-	+	+
34	18	Bovino	+	-	-	-	-	-
35	19	Ovino	-	+	-	-	+	+
36	20	Ovino	-	+	+	+	-	-
37	21	Caprino	-	+	-	-	-	-
38	20	Ovino	-	+	+	+	-	-
39	22	Caprino	-	+	-	-	-	+
40	21	Ovino	-	+	+	+	-	-
41	23	Bovino	+	-	-	-	-	-
42	21	Ovino	-	-	-	-	-	+
<b>Total</b>			<b>13</b>	<b>26</b>	<b>08</b>	<b>08</b>	<b>04</b>	<b>06</b>

SS: sem sinais clínicos aparentes ou sinais relacionados com outra doença concomitante; CQX: emagrecimento progressivo e caquexia; FLM: andar com os membros flexionados; RM: andar com os membros rígidos quando em estação; DPR: depressão; DCB: decúbito esternal; Ni: sem informações sobre sinais clínicos.

Quatro bovinos da propriedade 20 foram avaliados clinicamente, mas não apresentavam sinal indicativo da calcinose enzoótica.



Figura 6 – Rebanho da propriedade 06 com quadro de caquexia, principal sinal clínico da calcinose enzoótica, pastejando em área moderadamente invadida por plantas daninhas.



Figura 7 – Ovino da propriedade 20 com quadro de flexão dos membros anteriores e dificuldade de locomoção, sinais clínicos relacionados aos casos de calcinose enzoótica.

### 3.1.4 Análise de Ca e P sérico

A análise bioquímica sérica dos níveis de cálcio e fósforo foi realizada em rebanhos ovinos de duas propriedades, uma no Estado de Goiás – GO (propriedade 6) e outra no Distrito Federal – DF (propriedade 11), entre os anos de 2008 e 2009.

O que se observou com as análises foi que, dos meses de outubro a dezembro de 2008 os animais avaliados apresentaram um aumento significativo ( $p \leq 0,05$ ) nos níveis de cálcio (Figura 8), em relação ao valor médio de referência para ovinos (11,5 – 12,8 mg/dl) (Kaneko 2008), havendo aumento também nos níveis de fósforo (Figura 9) em relação ao valor médio de referência (5,0 – 7,3 mg/dl) (Kaneko 2008). Foi observado também que não houve diferença significativa ( $p \geq 0,05$ ) nos níveis de Ca e P entre os dois rebanhos estudados. No mês de janeiro de 2009 os ovinos da propriedade 6 foram mantidos confinados durante todo o mês, pois o pasto foi arado. Neste mesmo mês foi coletado sangue de 20 ovinos, observando-se queda acentuada nos níveis dos dois minerais. Nas Figuras 10 e 11 estão representados os níveis de Ca e P nos dois rebanhos estudados, em relação aos índices pluviométricos no mesmo período do ano. Os dois gráficos demonstram que os níveis de Ca e P sofreram aumento significativo nos meses de maiores índices pluviométricos.

Não se notou alterações nos níveis séricos de Ca e P dos quatro bovinos da propriedade 20.

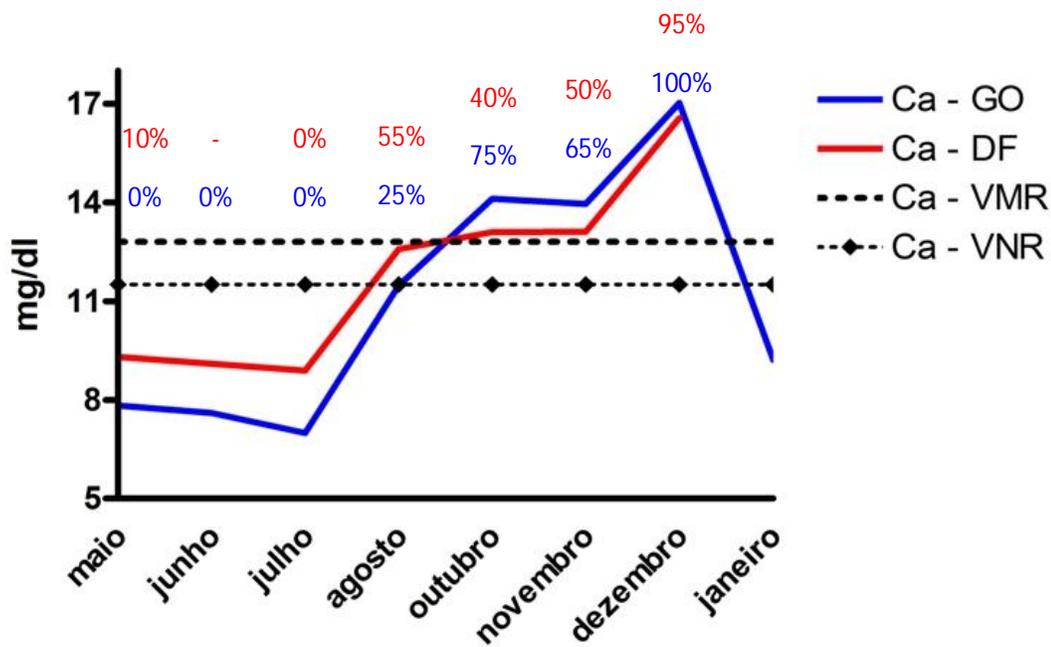


Figura 8 - Níveis séricos médios de cálcio (Ca) e percentual de animais (n=20 por grupo) com hipercalcemia (%) nos dois rebanhos com histórico de calcinose enzoótica estudados entre os meses de maio de 2008 a janeiro de 2009, em relação aos valores mínimo (VNR) e máximo de referência (VMR) para ovinos (11,5-12,8 mg/dl).

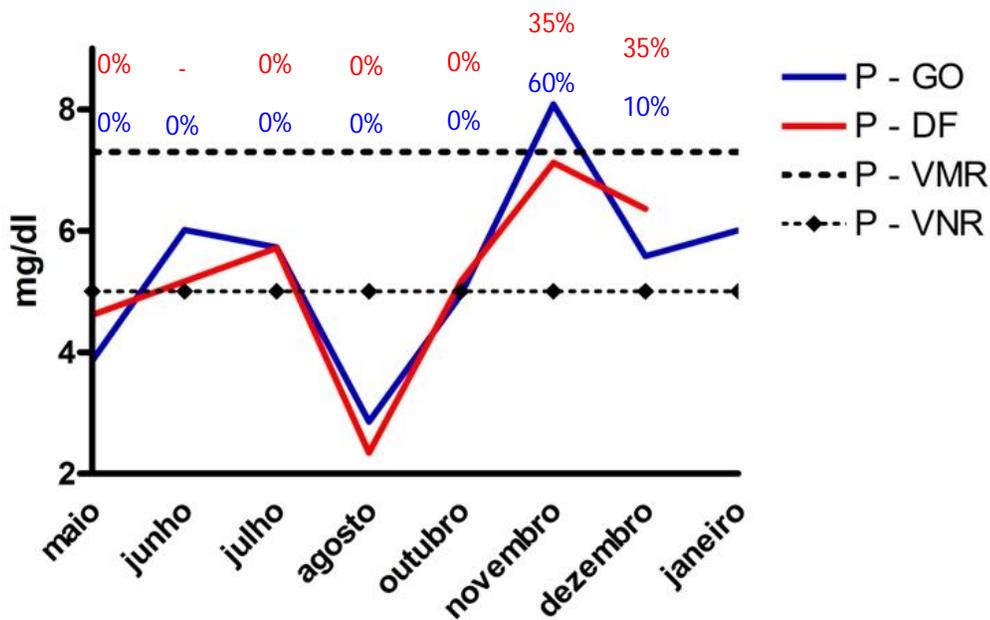


Figura 9 - Níveis séricos médios de fósforo (P) e percentual de animais (n=20 por grupo) com hiperfosfatemia (%) nos dois rebanhos com histórico de calcinose enzoótica estudados entre os meses de maio de 2008 a janeiro de 2009, em relação aos valores mínimo (VNR) e máximo de referência (VMR) para ovinos (5,0-7,3 mg/dl).

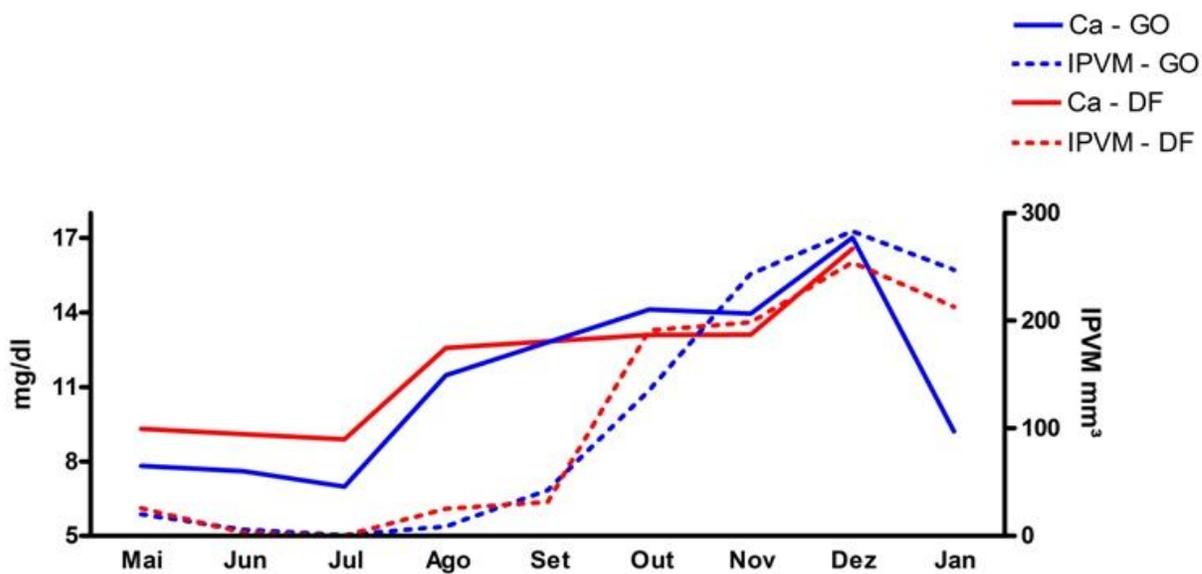


Figura 10 – Representação gráfica dos níveis de Ca (mg/dl) das duas propriedades com histórico de calcinose enzoótica estudadas em relação ao índice pluviométrico médio (IPVM) do ano de 2004 a 2010.

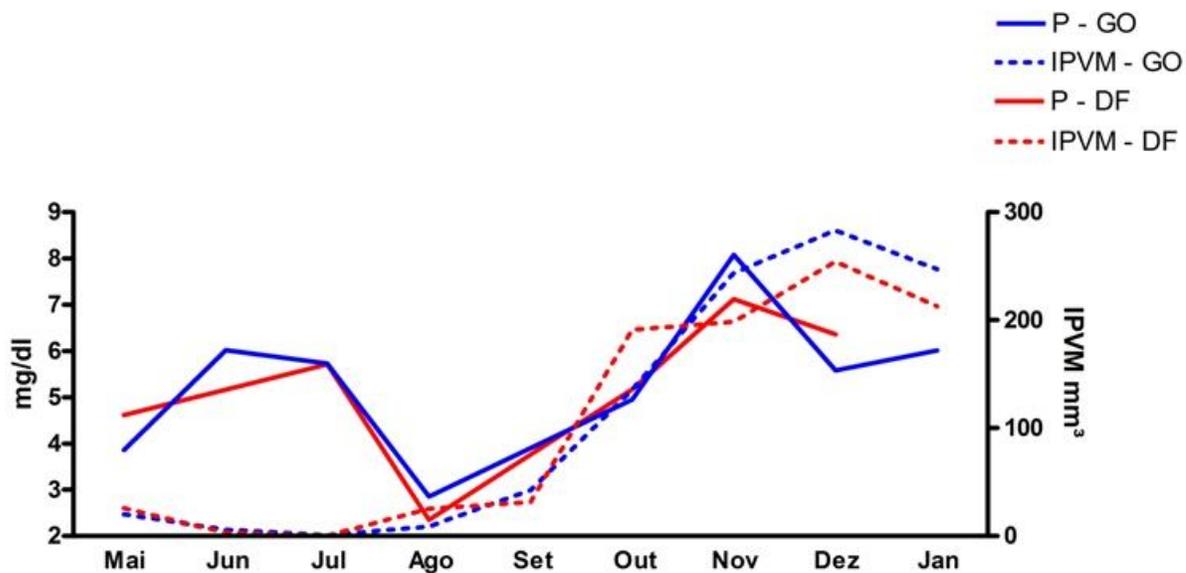


Figura 11 – Representação gráfica dos níveis de P (mg/dl) das duas propriedades com histórico de calcinose enzoótica estudadas em relação ao índice pluviométrico médio (IPVM) do ano de 2004 a 2010.

### 3.1.5 Achados macroscópicos

Os principais achados macroscópicos relacionados à calcinose enzoótica estão relacionados na Tabela 3.

#### a) Coração

No coração, as principais alterações foram relacionadas com mineralização nas valvas átrio-ventriculares (VAV). As áreas de mineralização, tanto no corpo quanto nas bordas das cúspides, tinham o aspecto de placas irregulares, esbranquiçadas e mais firmes que o normal. A lesão foi observada principalmente na VAV esquerda (Figura 12) (14 animais-33,33%), havendo também alteração na VAV direita (06 animais-14,28%) e na valva semilunar (03 animais-7,14%). No miocárdio as lesões foram vistas na parede de átrio e ventrículo (07 animais-16,66%) e no músculo papilar (Figura 12) (04 animais-9,52%). Havia ainda focos de mineralização nas cordas tendíneas (05 animais-11,9%).

#### b) Artérias

A distribuição das lesões arteriais está descrita na Tabela 4. Nas artérias as lesões foram caracterizadas pela presença na superfície luminal de placas esbranquiçadas, elevadas, firmes e enrijecidas (Figura 13). As áreas de mineralização eram vistas principalmente na região de bifurcação das artérias. Em 36 dos 42 registros havia descrição de alterações na artéria aorta, sendo estas distribuídas da seguinte forma: aorta cranial (27 animais-64,28%); aorta média (25 animais-59,52%); aorta caudal (20 animais-47,61%). Mineralização da artéria tronco-pulmonar foi descrita em 06 animais (14,28%), todas na área de inserção ao coração. Mineralização da artéria carótida em toda sua extensão foi descrita em 10 animais registrados (28,8%). Outras artérias onde foram descritos focos de mineralização foram: artéria sacral-mediana (05 animais-9,3%), artérias do tronco braquicefálico (04 animais-9,3%) e nas artérias ilíacas externa (15 animais-35,7%) e interna (08 animais-19,04%).

Tabela 3- Distribuição das alterações macroscópicas de mineralização observadas nos animais diagnosticados com calcinose enzoótica pelo LPV/UnB, do ano de 2004 a 2010.

Animal	Propriedade	Espécie	Achados macroscópicos														
			MAA	MAP	MAC	MASM	MATB	MAI	MMP	MCT	MPA/V	MAVE	MAVD	MVS	MPU	MRE	OM
01	01	Bovino	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	-	-	-	-
02	02	Ovino	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni
03	02	Ovino	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni
04	02	Ovino	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	-	-
05	02	Ovino	+++	+++	-	-	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	-
06	02	Ovino	+++	-	-	+	-	-	-	-	-	++	-	-	-	-	-
07	02	Ovino	+++	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
08	02	Ovino	++	-	++	+	+	+	++	++	++	++	++	++	++	-	-
09	02	Ovino	++	++	++	-	++	+	-	-	-	++	-	-	++	-	++
10	03	Bovino	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	02	Ovino	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni
12	02	Ovino	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni
13	04	Ovino	++	-	++	+	-	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	05	Ovino	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15	06	Caprino	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni
16	05	Ovino	+	-	-	-	-	++	-	-	-	-	-	-	+++	++	-
17	05	Ovino	+++	+++	+++	-	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18	05	Ovino	+++	+++	+++	-	+	-	-	-	-	++	-	-	-	-	+
19	05	Ovino	+++	++	-	-	-	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	07	Ovino	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
21	08	Bovino	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22	09	Ovino	++	-	-	-	-	++	-	-	-	-	-	-	+	-	-
23	10	Ovino	++	--	++	+	-	+	++	-	++	++	++	-	++	-	-

MAA: mineralização da artéria aorta; MAP: mineralização da artéria tronco pulmonar; MAC: mineralização da artéria carótida; MASM: mineralização da artéria sacral mediana; MATB: mineralização das artérias do tronco braquicefálico; MAI: mineralização da artéria ilíaca; MMP: mineralização de músculo papilar cardíaco; MCT: mineralização de corda tendínea; MPA/V: mineralização da parede do átrio e/ou ventrículo; MAVE: mineralização de válvula átrio-ventricular esquerda; MAVD: mineralização de válvula átrio-ventricular direita; MVS: mineralização de válvulas semilunares; MPU: mineralização pulmonar; MRE: mineralização renal; OM: outras mineralizações, em outros órgãos; \*: demais órgãos não foram submetidos; Ni: não havia descrição dos achados macroscópicos na ficha de registro.

Tabela 3 - Continuação

Animal	Propriedade	Espécie	Achados Macroscópicos														
			MAA	MAP	MAC	MASM	MATB	MAI	MMP	MCT	MPA/V	MAVE	MAVD	MVS	MPU	MRE	OM
24	04	Ovino	++	-	-	-	-	++	++	-	++	++	++	-	++	++	-
25	04	Ovino	++	-	-	-	-	++	++	-	++	++	++	-	-	-	-
26	05	Ovino	++	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	++
27	11	Ovino	++	-	-	-	-	+	-	-	-	-	++	-	-	-	-
28	12	Bovino	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
29	13	Ovino	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
30	14	Ovino	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++
31	15	Bovino	++	-	-	-	-	-	-	-	-	++	-	-	-	-	-
32	16	Bovino	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
33	17	Bovino	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
34	18	Bovino	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
35	19	Ovino	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
36	20	Ovino	+++	-	+++	-	-	-	-	+++	-	+++	-	-	-	-	-
37	21	Caprino*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	-	-
38	20	Ovino	+++	-	-	-	-	+++	-	+++	-	+++	-	-	-	++	-
39	22	Caprino	++	-	-	-	-	-	-	-	++	++	-	-	-	-	-
40	21	Ovino	+++	-	+++	-	-	-	-	+++	++	+++	-	+++	++	-	-
41	23	Bovino	+++	+	+	-	-	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-
42	21	Ovino	+++	-	+++	-	-	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Total</b>			<b>36</b>	<b>06</b>	<b>10</b>	<b>05</b>	<b>04</b>	<b>15</b>	<b>04</b>	<b>05</b>	<b>07</b>	<b>14</b>	<b>06</b>	<b>03</b>	<b>10</b>	<b>05</b>	<b>04</b>

MAA: mineralização da artéria aorta; MAP: mineralização da artéria tronco pulmonar; MAC: mineralização da artéria carótida; MASM: mineralização da artéria sacral mediana; MATB: mineralização das artérias do tronco braquicefálico; MAI: mineralização da artéria ilíaca; MMP: mineralização de músculo papilar cardíaco; MCT: mineralização de corda tendínea; MPA/V: mineralização da parede do átrio e/ou ventrículo; MAVE: mineralização de válvula átrio-ventricular esquerda; MAVD: mineralização de válvula átrio-ventricular direita; MVS: mineralização de válvulas semilunares; MPU: mineralização pulmonar; MRE: mineralização renal; OM: outras mineralizações, em outros órgãos; \*: demais órgãos não foram submetidos; Ni: não havia descrição dos achados macroscópicos na ficha de registro.

A avaliação dos fragmentos de artéria aorta de 20 ovinos sadios criados em confinamento e coletados durante abate comercial não demonstrou nenhuma alteração macroscópica condizente com mineralização.

Tabela 4- Distribuição das alterações macroscópicas de mineralização nos vários ramos da artéria aorta dos animais diagnosticados com calcinose enzoótica pelo LPV/UnB nos anos de 2004 a 2010.

Animal	Propriedade	Espécie	Localização					
			ACr	AMd	ACd	AIe	AIi	OA
01	01	Bovino	+++	-	-	-	-	-
02	02	Ovino	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni
03	02	Ovino	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni
04	02	Ovino	+++	++	++	-	-	++
05	02	Ovino	+++	+++	+++	-	-	+++
06	02	Ovino	-	+++	-	-	-	+
07	02	Ovino	-	+++	+	+	-	-
08	02	Ovino	+	++	++	+	-	++
09	02	Ovino	++	++	++	+	+	++
10	03	Bovino	++	-	-	-	-	+
11	02	Ovino	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni
12	02	Ovino	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni
13	04	Ovino	++	++	++	++	++	++
14	05	Ovino	++	-	-	-	-	-
15	06	Caprino	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni
16	05	Ovino	++	++	++	++	-	-
17	05	Ovino	-	-	-	-	-	++
18	05	Ovino	+++	+++	-	-	-	+++
19	05	Ovino	++	++	+++	++	++	+
20	07	Ovino	+	-	-	-	-	-
21	08	Bovino	-	++	-	-	-	-
22	09	Ovino	++	++	++	++	++	-
23	10	Ovino	++	++	-	+	-	++
24	04	Ovino	++	++	++	++	++	-
25	04	Ovino	++	++	++	++	++	-
26	05	Ovino	++	++	-	-	-	-
27	11	Ovino	++	++	-	+	-	+
28	12	Bovino	+++	+++	++	+	+	-
29	13	Ovino	++	-	-	-	-	-
30	14	Ovino	++	++	++	-	-	-
31	15	Bovino	++	-	-	-	-	-
32	16	Bovino	+++	-	-	-	-	-
33	17	Bovino	++	-	-	-	-	-
34	18	Bovino	+	-	-	-	-	-
35	19	Ovino	-	-	++	-	-	-
36	20	Ovino	-	++	++	-	-	++
37	21	Caprino	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni
38	20	Ovino	-	+++	+++	+++	-	-
39	22	Caprino	-	++	++	-	-	-
40	21	Ovino	+++	+++	+++	-	-	++
41	23	Bovino	+++	+++	+++	+++	+++	+
42	21	Ovino	-	+++	+++	+++	-	+++
<b>Total</b>			<b>27</b>	<b>25</b>	<b>20</b>	<b>15</b>	<b>08</b>	<b>16</b>

ACr: aorta cranial; AMd: aorta media; ACd: aorta caudal; AIi: ílfaca interna; AIe: ílfaca externa, O.A.: outras artérias; Ni: distribuição das lesões não informada.

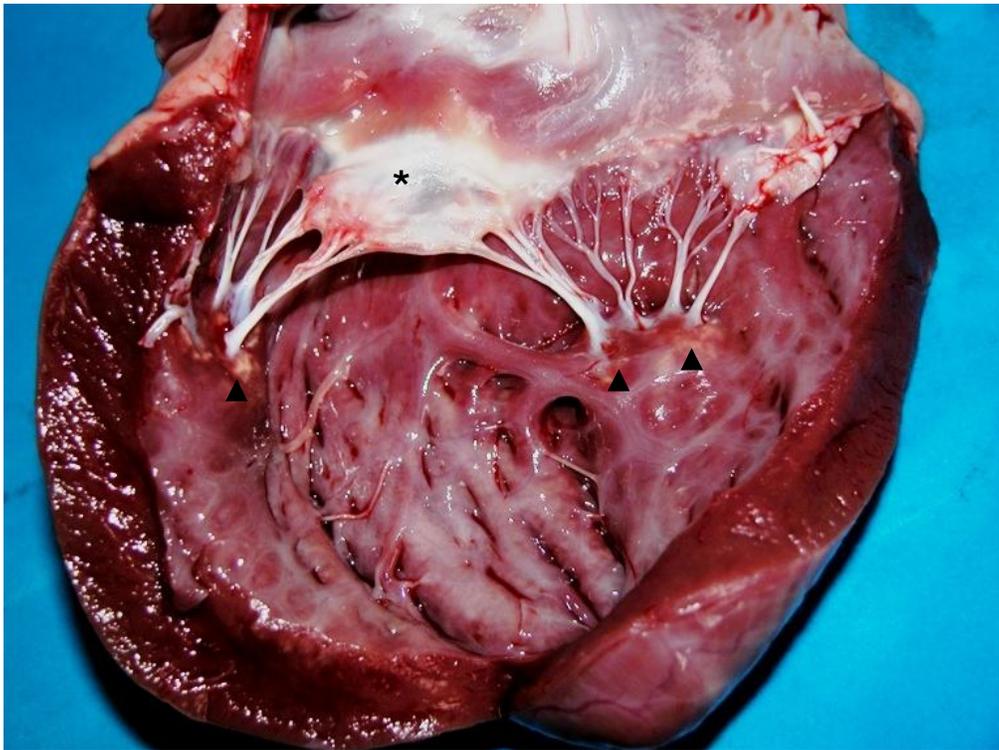


Figura 12 – Coração. Ovino. Valva átrio-ventricular esquerda com mineralização acentuada (\*) e focos de mineralização nos músculos papilares (cabeça de seta). Calcínose enzoótica

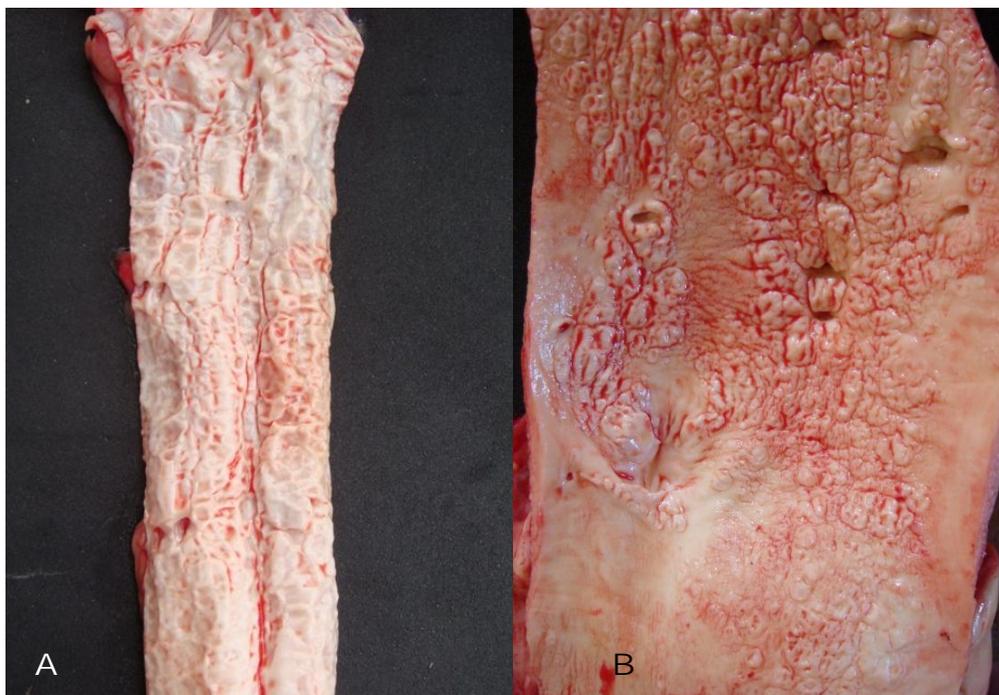


Figura 13 – (A) Artéria aorta média. Ovino. Placas firmes e mineralizadas na superfície luminal. (B) Artéria aorta cranial. Bovino. Mesma alteração de A. Calcínose enzoótica.

### c) Pulmão

Em 10 animais registrados (23,8%) havia descrição de alterações compatíveis com mineralização pulmonar. Os focos de mineralização variavam de pequenas áreas firmes a grandes áreas mineralizadas, com comprometimento de mais da metade dos lobos pulmonares. Macroscopicamente as alterações eram caracterizadas por áreas granulares, esbranquiçadas e mais firmes que o normal na borda dos lobos, ou grandes áreas de consistência inelástica (borrachenta) e pálidas, provocando abaulamento do parênquima. Em um caprino (37) observou-se o pulmão com extensas áreas firmes e ossificadas, principalmente ao redor de brônquios (Figura 14).

### d) Rim

Em 05 animais (11,9%) havia descrição de mineralização renal visível macroscopicamente. Os focos mineralizados eram caracterizados por pontos ou raias esbranquiçados e de consistência arenosa tanto na região cortical quanto na medular. Em alguns animais a mineralização era caracterizada pela presença de uma faixa esbranquiçada e firme na região de junção córtico-medular (Figura 15).

### e) Tireoide

Dos 42 animais registrados, apenas 10 tiveram glândula tireoide coletada e avaliada. Entre esses, 02 apresentavam aumento de volume e em uma havia foco de coloração enegrecida na região central, compatível com melanose. Em um animal observaram-se manchas esbranquiçadas de cerca de 0,3mm na superfície da tireóide.

Glândulas tireoides de 20 ovinos sadios provenientes de uma criação de confinamento foram coletadas para estudo comparativo com as glândulas de animais diagnosticados com calcinose enzoótica, e em nenhuma delas observou-se alteração de tamanho e coloração.



Figura 14 – (A) Pulmão. Caprino. Órgão fixado em formol apresentando abaulamento e palidez da superfície natural. (B) Parênquima pulmonar com aspecto esbranquiçado e firme (M). Calcínose enzoótica.

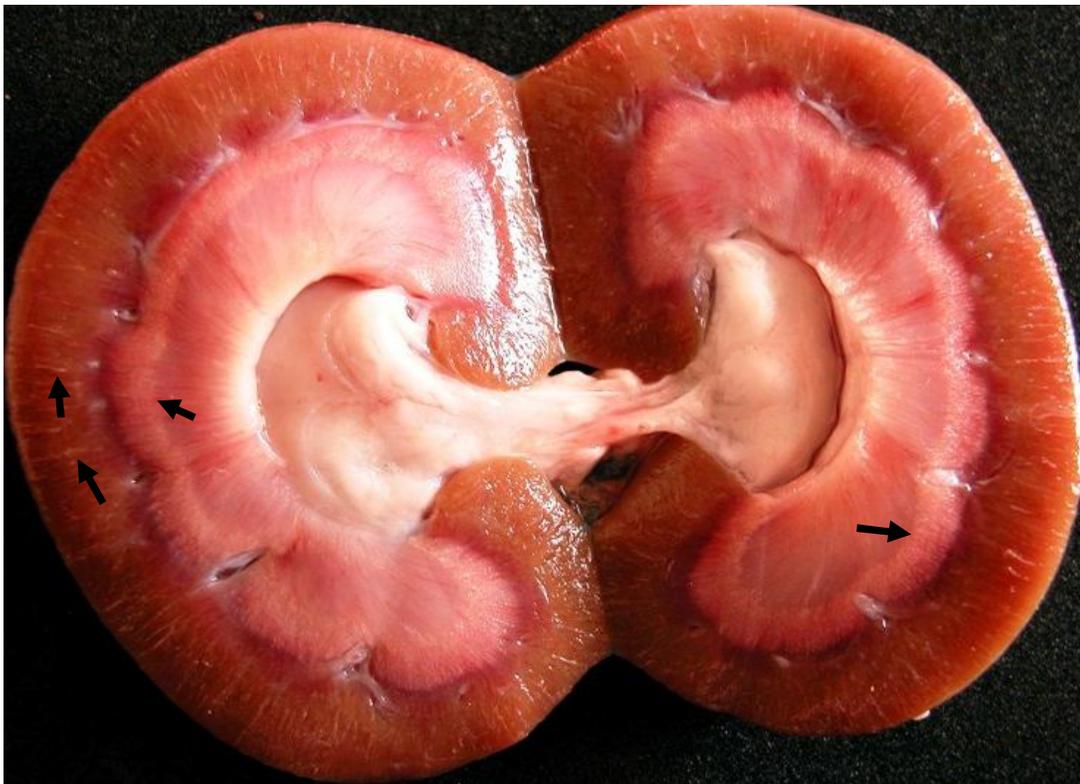


Figura 15 – Rim. Ovino. Raias esbranquiçadas e firmes na região cortical e na zona de junção córtico-medular (setas). Calcínose enzoótica.

#### f) Outros

Outros focos de mineralização foram vistos em 04 animais (9,52%) e estavam localizadas na artéria mesentérica, em grandes vasos do parênquima hepático, no diafragma e na cartilagem aritenoide e epiglote. Alguns dos ovinos necropsiados apresentavam também quadro grave de anemia e alta carga de parasitismo por *Haemonchus contortus*.

### 3.1.6 Achados microscópicos

As principais alterações histopatológicas observadas nos animais necropsiados estão descritas na Tabela 5.

#### a) Coração

As alterações nas fibras musculares cardíacas eram caracterizadas por irregularidade, fragmentação das fibras e deposição de grânulos basofílicos (mineralização) intracitoplasmáticos. Em 11 animais (26,19%) havia mineralização de artérias coronárias e em 06 outros (14,28%) havia mineralização do miocárdio. Em dois ovinos observou-se a presença de trabéculas ósseas e tecido hematopoiético na região de inserção da artéria aorta ao coração.

#### b) Artérias

As lesões arteriais eram caracterizadas pela formação de placas basofílicas, algumas com aspecto cristalizado, com fragmentação das fibras, principalmente na túnica média (Figura 16). Em meio às áreas mineralizadas e próximo a elas havia focos de proliferação de células semelhantes a condroblastos (metaplasia cartilaginosa) (Figura 16A) e

de células semelhantes a fibroblastos. Nessas áreas de lesão mais acentuada havia também mineralização e proliferação na túnica íntima. Mineralização da túnica íntima das artérias foi vista em 23 animais (54,76%), mineralização da túnica média em 35 (83,33%) e irregularidade das fibras em 21 dos animais avaliados (50%). Metaplasia cartilaginosa foi uma alteração observada em 10 animais (23,8%). Alterações vistas em menor quantidade foram a presença de substância eosinofílica entre as fibras e infiltração de células semelhantes a macrófagos nas áreas de mineralização e irregularidade de fibras elásticas. Nas artérias aorta de 02 animais (ovinos 08 e 09) a coloração de Von Kossa demonstrou vários focos de deposição de pigmento enegrecido, caracterizando acúmulo de minerais (cálcio) na camada média (Figura 17A). A coloração de Verhoeff demonstrou que na artéria aorta as áreas de mineralização eram observadas em meio às fibras elásticas, e na coloração de Tricrômico de Gomori observou-se a deposição acentuada de colágeno em meio às fibras de músculo liso, havendo perda dessas fibras em algumas áreas (Figura 17B).

Tabela 5 – Distribuição histológica dos achados de mineralização nos principais órgãos avaliados nos animais diagnosticados com calicivose enzootica pelo I.P.V./UnB nos anos de 2004 a 2010

Animal	Propriedade	Espécie	Características histológicas da mineralização arterial e de outros tecidos													
			Artérias				Coração			Pulmão				Rim		
			M.T.I.	M.T.M.	I.F.	MTP	M.A.C.	M.M.	M.S.A.	M.C.B.	M.V.	D.C.	R.P.A.	M.V.R.	M.T.C.	M.T.Me
01	01	Bovino	-	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02	02	Ovino	-	-	-	-	++	-	++	++	-	-	++	++	++	-
03	02	Ovino	-	-	-	-	++	-	++	++	-	-	++	++	++	+++
04	02	Ovino	++	++	++	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++
05	02	Ovino	-	-	-	-	++	-	+	-	+	++	++	++	++	++
06	02	Ovino	-	-	-	-	-	-		-						-
07	02	Ovino	+++	+++	-	++	-	-	+	+	-	-	-	++	++	++
08	02	Ovino	-		-	-	-	-		-						
09	02	Ovino	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
10	03	Bovino	++	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++
11	02	Ovino	+++	+++	++	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+
12	02	Ovino	-	++	++	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
13	04	Ovino	++	++	++	-	-	-	++	-	+	-	++	+	-	+
14	05	Ovino	++	++	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15	06	Caprino		-		-	-	-	-	-	-	-	-		-	
16	05	Ovino	-	++	+++	-	-	-	+	-	-	++	++	+	-	+
17	05	Ovino			-	-	-	-	-	-	-	-	-		-	
18	05	Ovino	++	++	-	-	-	-	+	-	-	++	++	-	-	-
19	05	Ovino	-	+	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	++	+	-
20	07	Ovino	+	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
21	08	Bovino	-	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22	09	Ovino	++	++	-	-	-	-	+	++	-	-	-	-	-	-
23	10	Ovino*	+++	+++	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24	04	Ovino				-				-		-	-			
25	04	Ovino	++	++	++	-	++	-	-	-	-	-	-	+	-	+
26	05	Ovino	++	++	-	-	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-
27	11	Ovino	++	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
28	12	Bovino	-	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

M.T.I.: mineralização de túnica íntima; M.T.M.: mineralização de túnica média; I.F.: irregularidade de fibras; MTP: metaplasia cartilaginosa; M.A.C.: mineralização de artérias coronárias; M.M.: mineralização de fibras do miocárdio; M.S.A.: mineralização das paredes dos septos interalveolares; M.C.B.: mineralização de cartilagem bronquial; M.V.P.: mineralização de vasos pulmonares; D.C.: deposição de colágeno; R.P.A.: ruptura da parede de alvéolos; M.V.R.: mineralização da parede de vasos renais; M.T.C.: mineralização de túbulos na região cortical; M.T.Me.: mineralização de túbulos na região medular.

Tabela 5 - Continuação

Animal	Propriedade	Espécie	Características histológicas da mineralização arterial e de outros tecidos														
			Artérias				Coração			Pulmão			Rim				
			M.T.I.	M.T.M.	I.F.	MTP	M.A.C.	M.M.	M.S.A.	M.C.B.	M.V.	D.C.	R.P.A.	M.V.R.	M.T.C.	M.T.Me	
29	13	Ovino	-	-	++	-	-	+++	-	-	-	-	++	-	-	-	-
30	14	Ovino	+	+	++	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
31	15	Bovino	-	++	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
32	16	Bovino	+	++	++	-	-	+	-	++	-	-	-	-	-	-	-
33	17	Bovino	++	++	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
34 <sup>a</sup>	18	Bovino	-	+++	-	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
35	19	Ovino	+	++	++	++	++	+	-	-	-	++	-	-	-	-	-
36	20	Ovino	-	++	++	++	++	++	-	-	-	-	-	++	-	-	+++
37 <sup>b</sup>	21	Caprino	-	-	-	-	-	-	+++	+	++	++	+++	-	-	-	-
38	20	Ovino	-	+++	++	++	++	+++	-	-	-	-	-	++	-	-	-
39	22	Caprino	-	+++	++	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
40	21	Ovino	+	++	-	-	+++	-	++	-	-	-	++	+	+	+	++
41	23	Bovino	+++	+++	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
42	21	Ovino	-	+++	++	++	-	-	++	-	-	++	++	+	++	-	-
<b>Total</b>			<b>21</b>	<b>35</b>	<b>22</b>	<b>09</b>	<b>11</b>	<b>08</b>	<b>15</b>	<b>06</b>	<b>06</b>	<b>10</b>	<b>10</b>	<b>17</b>	<b>13</b>	<b>20</b>	

M.T.I.: mineralização de túnica íntima; M.T.M.: mineralização de túnica média; I.F.: irregularidade de fibras; MTP: metaplasia cartilaginosa; M.A.C.: mineralização de artérias coronárias; M.M.: mineralização de fibras do miocárdio; M.S.A.: mineralização das paredes dos septos interalveolares; M.C.B.: mineralização de cartilagem bronquial; M.V.P.: mineralização de vasos pulmonares; D.C.: deposição de colágeno; R.P.A.: ruptura da parede de alvéolos; M.V.R.: mineralização da parede de vasos renais; M.T.C.: mineralização de túbulos na região cortical; M.T.Me.: mineralização de túbulos na região medular; O.M.: outras mineralizações; a: apenas artéria aorta foi coletada; b: apenas pulmão foi coletado.

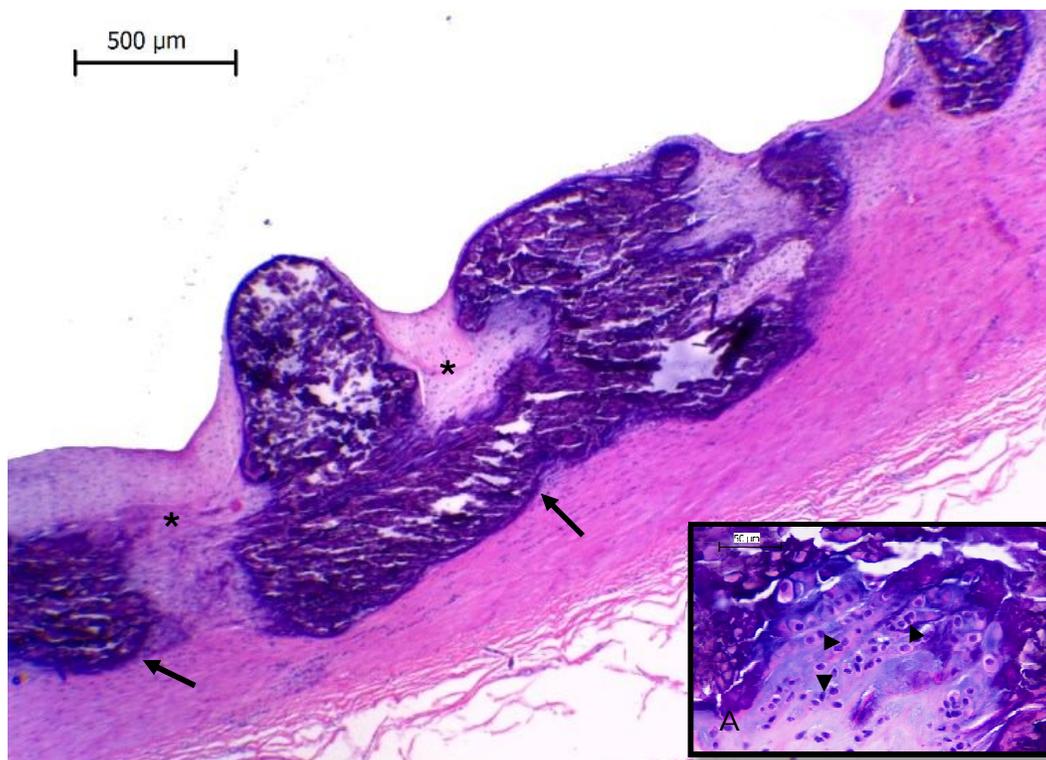


Figura 16 – Artéria aorta. Ovino. Placas mineralizadas basofílica nas camadas média e íntima (seta). Áreas de deposição de substância eosinofílica e células semelhantes a fibroblastos (\*). HE, Obj. 4x. (A) Área de mineralização com foco de proliferação de células semelhantes a condroblastos (cabeça de seta), HE, Obj. 40x. Calcínose enzoótica.

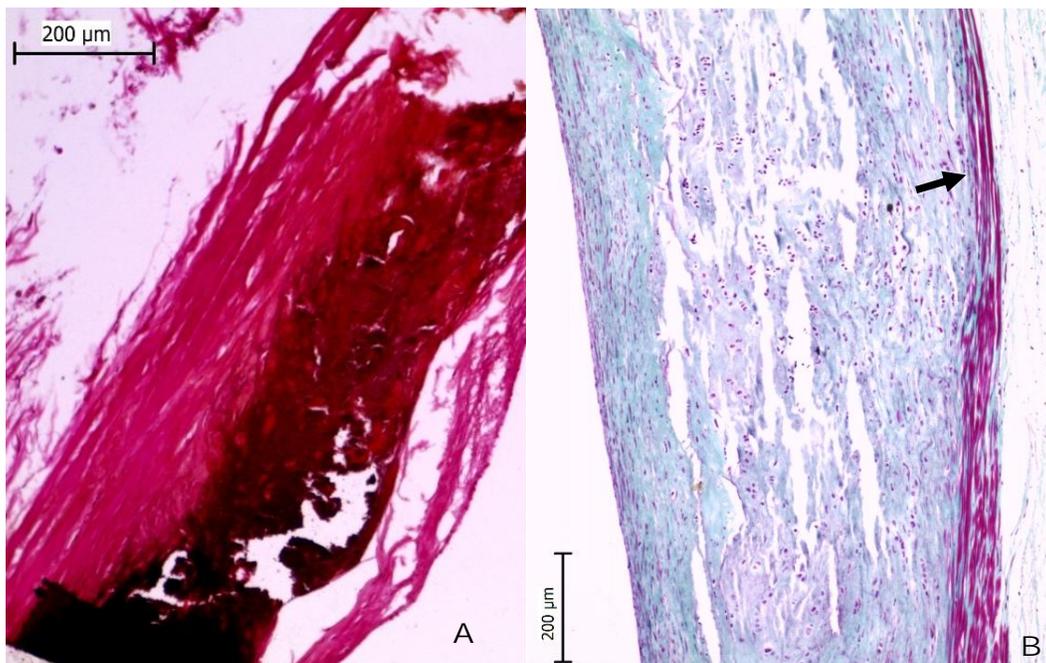


Figura 17 – Artéria aorta. Ovino. (A) Focos de deposição de sais de cálcio nas áreas marrons e enegrecidas, coloração de Von Kossa, Obj. 10x. (B) Acentuada deposição de colágeno (verde) ao redor de área mineralizada, com desaparecimento das fibras de músculo liso (seta), coloração de Verhoeff, Obj. 10x. Calcínose enzoótica.

### c) Pulmão

Histologicamente nos pulmões as principais lesões foram de mineralização moderada a acentuada dos septos interalveolares (15 animais-35,71%), que variavam de áreas discretas a focos extensos (Figura 18). Na coloração de Von Kossa dos ovinos 08 e 09 observaram-se vários focos de deposição de pigmento de coloração enegrecida, caracterizando o acúmulo de cálcio nas paredes dos alvéolos (Figura 19A). Próximo às áreas de mineralização havia focos de proliferação de substância eosinofílica semelhante a colágeno (09 animais-21,42%), que foi confirmada pela observação de substância vermelho-amarelada na coloração de Sirius Red (Figura 19B). Em 11 animais (26,19%) os alvéolos apresentavam suas paredes rompidas nas áreas de mineralização, e outros tinham apenas espessamento da parede alveolar. Havia mineralização também das cartilagens bronquiais (06 animais-14,28%) e em um ovino observou-se mineralização discreta do músculo bronquiolar (músculo de Reisseisen). Na parede de veias e artérias pulmonares de 06 animais (14,28%) foram vistos também focos de mineralização discreta a moderada. Em poucas arteríolas havia deposição mineral na luz dos vasos. Em alguns animais havia infiltração de macrófagos próximo às áreas de mineralização, e em outros havia discreta mineralização da camada muscular de brônquios. Próximo às áreas de mineralização era possível observar também focos de proliferação de fibroblastos. No pulmão do ovino 05 e do caprino 37 observou-se a presença de mineralização acentuada, com formação de trabéculas ósseas em meio ao parênquima.

### d) Rim

Nos rins as alterações eram de mineralização de artérias e túbulos. Mineralização tubular foi vista tanto na região cortical (Figura 20A) (14 animais-33,33%) quanto na medular (17 animais-40,47%). Na maioria dos casos de mineralização tubular, essa era localizada apenas nas células do epitélio, mas em alguns casos havia acúmulo de material mineralizado também na luz dos túbulos. Em 18 animais (42,85%) havia mineralização das camadas íntima e média das artérias (Figura 20B).

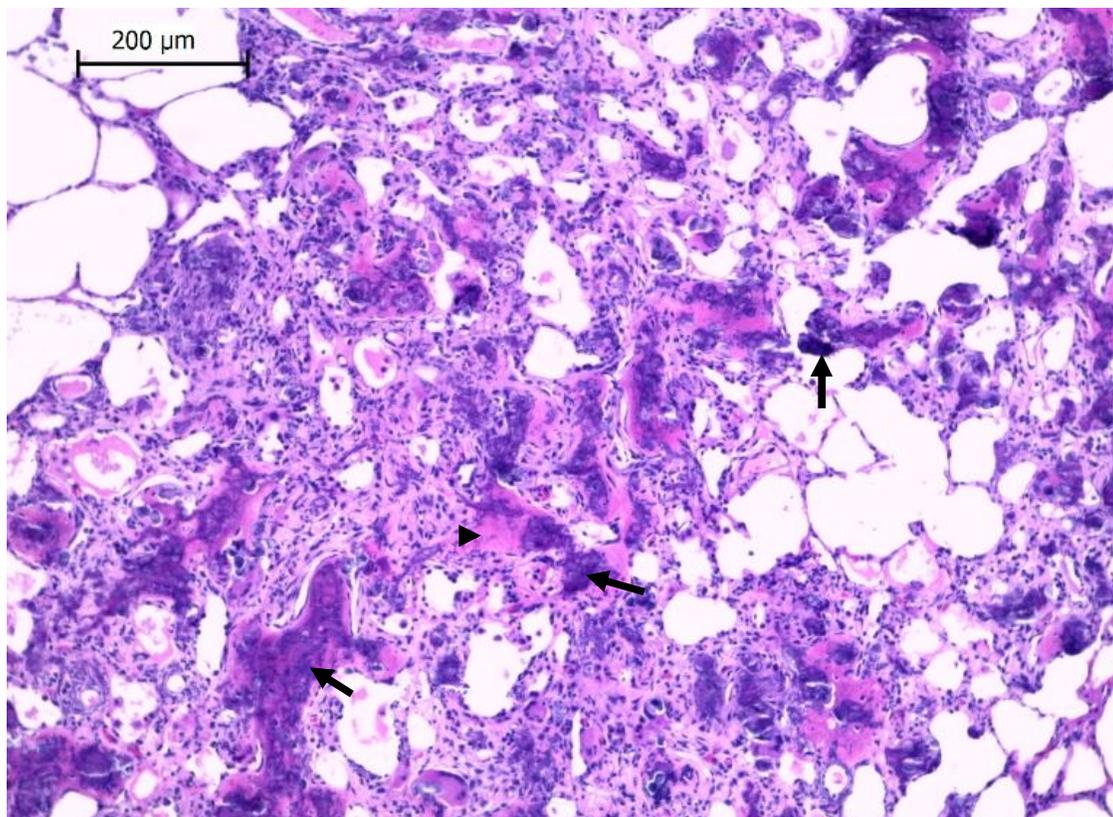


Figura 18 – Pulmão. Ovino. Focos basofílicos mineralizados nos septos alveolares (seta) e áreas de proliferação de colágeno (cabeça de seta), HE, Obj. 10x. Calcínose enzoótica.

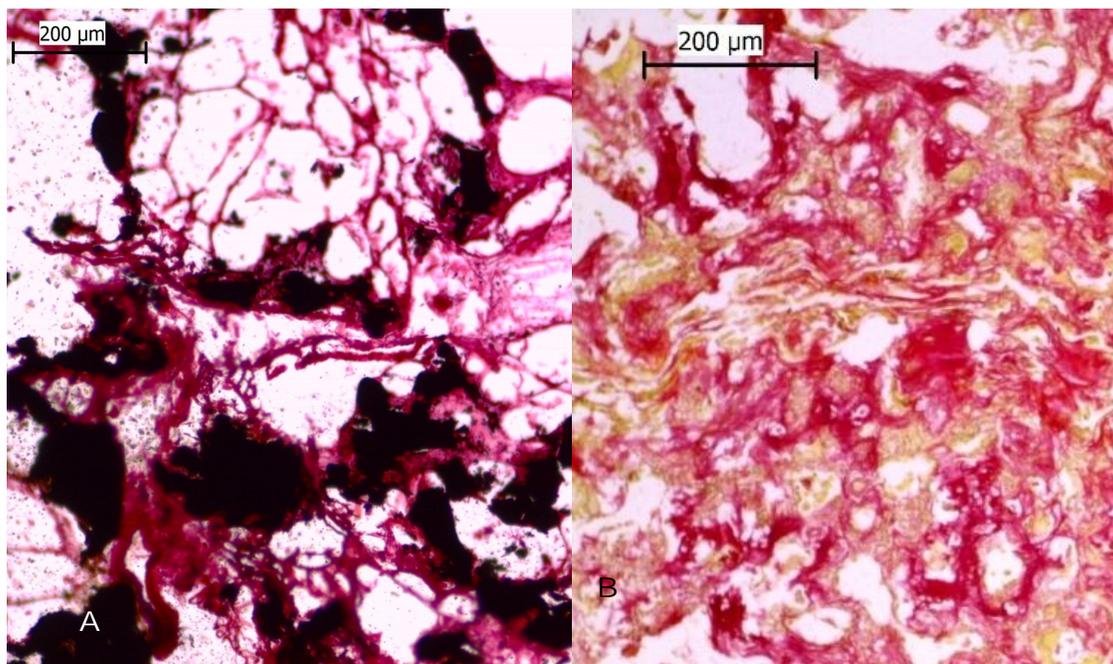


Figura 19 – Pulmão. Ovino. (A) Focos enegrecidos demonstrando deposição de sais de cálcio na coloração de Von Kossa, Obj. 10x. (B) Áreas avermelhadas demonstrando deposição de colágeno na coloração de Sirius Red, Obj. 10x. Calcínose enzoótica.

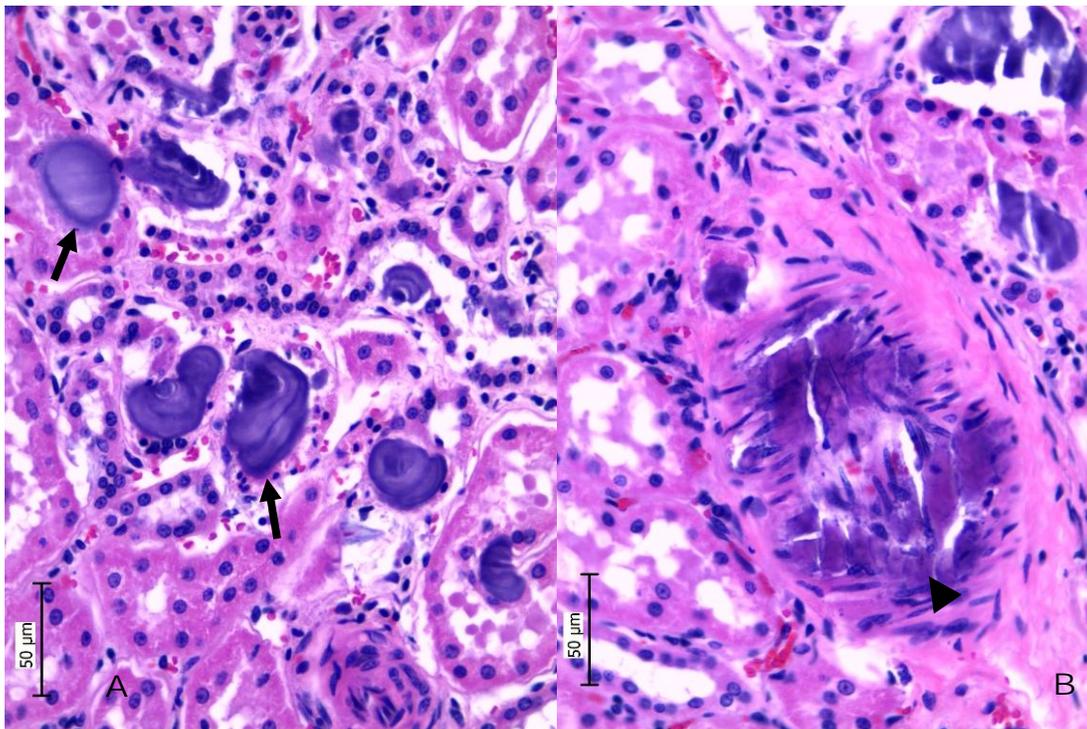


Figura 20 – Rim. Zona cortical. Ovino. (A) Acúmulos mineralizados na luz de túbulos (seta). (B) Mineralização na parede de vaso (cabeça de seta). HE, Obj.40x. Calcinose enzoótica.

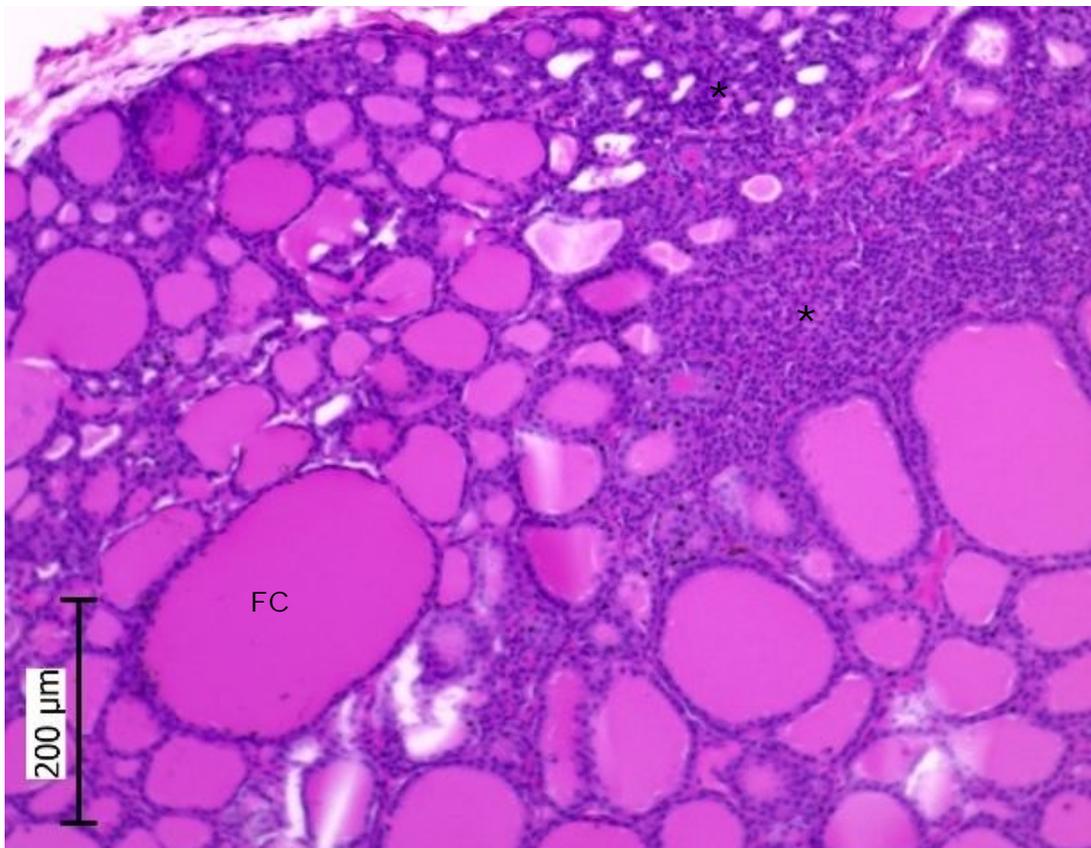


Figura 21 – Glândula tireoide. Ovino. Acentuada hiperplasia de células C (\*) em meio aos folículos coloidais (FC). HE, Obj. 10x. Calcinose enzoótica.

#### e) Tireoide

Dentre os 10 ovinos que tiveram as tireoides avaliadas, os graus de hiperplasia de células C variaram de ausente (2 animais), discreta (3 animais), moderada (3 animais) a acentuada (2 animais). A hiperplasia era caracterizada pela presença de proliferação de células com citoplasma claro em meio aos folículos tireoidianos (Figura 21). Em um ovino observou-se a presença, na região central da glândula, de quantidade moderada de células redondas, com citoplasma abundante e com pigmento marrom acastanhado no interior, compatível com melanose. Entre os ovinos que apresentavam hiperplasia das células C, dois foram diagnosticados em fevereiro, um em março, dois em maio, um em julho, um em agosto e um em novembro. Os dois ovinos que não apresentaram hiperplasia foram diagnosticados com calcinose enzoótica nos meses de fevereiro e março.

### 3.2 Identificação botânica

Após avaliação de amostras de plantas herborizadas e de fotografias das mesmas, foi realizada identificação das seguintes plantas testadas experimentalmente: *Ageratum conyzoides* (Asteraceae), *Alternanthera tenella* (Amaranthaceae), *Hyptis suaveolens* (Lamiaceae), *Synedrellopsis grisebachii* (Asteraceae) e *Sida rhombifolia* (Malvaceae) (Figura 22).



Figura 22 – Plantas que foram testadas para determinação da etiologia da calcinose enzoótica no Brasil Central: (A) *Ageratum conyzoides* (Asteraceae), (B) *Alternanthera tenella* (Amaranthaceae), (C) *Hyptis suaveolens* (Lamiaceae), (D) *Synedrellopsis grisebachii* (Asteraceae), (E e F) *Sida rhombifolia* (Malvaceae). Fonte das fotos A e B: <http://www.prota4u.org/>. Demais fotos: arquivo pessoal.

### 3.3 Experimentação piloto para identificação de planta calcinogênica

Foram testadas 05 plantas diferentes, e o número de coelhos e tempo de experimento estão descritos na Tabela 6.

Ao todo sete experimentos piloto foram realizados, com o intuito de identificar previamente a provável planta envolvida no surgimento dos casos de calcinose enzoótica. Dois experimentos foram realizados com *Sida rhombifolia* (Malvaceae), um com duração de 37 e o outro com duração de 30 dias. A planta fornecida foi coletada na propriedade 21, na área onde eram mantidos os animais que apresentavam quadro clínico de calcinose. Ao todo os dois experimentos com *S. rhombifolia* duraram 67 dias, que foi o período de disponibilidade da planta verde no pasto para administração aos coelhos.

Tabela 6 – Descrição das plantas testadas, número de coelhos usados em cada experimento e tempo de administração da planta para cada animal.

Espécie e Família	Classificação botânica	Nº animais testados	Tempo de administração	Lesão
<i>Ageratum conyzoides</i> (Asteraceae)	Daninha	01	10 dias	Não
<i>Alternanthera tenella</i> (Amaranthaceae)	Daninha	01	36 dias	Não
<i>Hyptis suaveolens</i> (Lamiaceae)*	Daninha e medicinal	01/02	36/30 dias	Não/Não
<i>Sida rhombifolia</i> (Malvaceae)*	Daninha e medicinal	02/02	37/30 dias	Sim/Não
<i>Synedrellopsis grisebachii</i> (Asteraceae)	Daninha	01	30 dias	Não/Não

\*: foram realizados dois experimentos diferentes com a planta.

Em um dos coelhos que recebeu *S. rhombifolia ad libitum*, por 37 dias, observaram-se focos firmes, esbranquiçados e irregulares de mineralização em vários pontos da artéria aorta (Figuras 23). Clinicamente o coelho não apresentou nenhuma alteração de significado. Os níveis de Ca variaram de 11,7 mg/dl a 14 mg/dl, enquanto os de P variaram de 6,7 mg/dl a 8,5 mg/dl. No animal controle os níveis de Ca e P séricos foram mais elevados (14,3-19,2 mg/dl e 7,1-8,5 mg/dl), o que pode ser explicado pela ingestão exclusivamente de ração peletizada, rica em Ca e P. Histologicamente as áreas firmes e irregulares da artéria aorta do coelho com lesão eram caracterizadas pela presença de focos de moderada deposição de substância basofílica na camada média da artéria, em algumas áreas abaixo da camada íntima e em outras em meio à camada média (Figura 24).

O coelho controle que recebia apenas ração comercial para coelhos foi necropsiado ao fim dos 67 dias, apresentando apenas lesões discretas de irregularidade na inserção da aorta, não havendo nenhuma lesão semelhante no restante do vaso. Histologicamente o que se observou na aorta foi moderada irregularidade das fibras da camada íntima, sem nenhuma alteração na camada média.

Nenhum dos outros animais que recebeu outras plantas suspeitas apresentou alterações que fossem indicativas de lesão por planta calcinogênica.



Figura 23 – Artéria aorta. Coelho. Múltiplos focos de placas mineralizadas em toda extensão da artéria em coelho que recebeu *Sida rhombolia* por 37 dias.

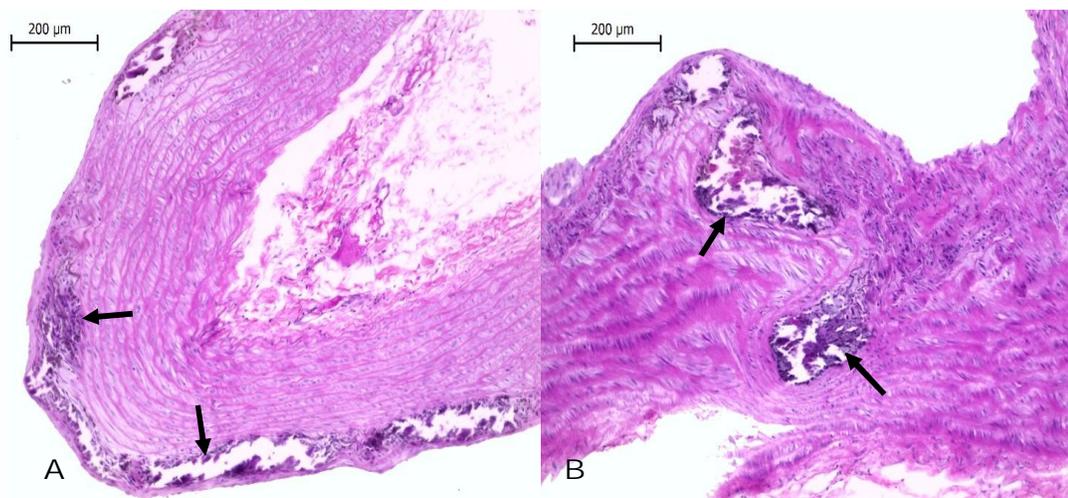


Figura 24 – Artéria aorta. Coelho. (A e B) Focos de mineralização multifocal moderada nas camadas média e íntima (seta). HE, Obj. 10x.

## 4 DISCUSSÃO

A calcinose enzoótica diagnosticada em ruminantes no Brasil Central até o momento tem sua etiologia ainda desconhecida. Entretanto, várias informações obtidas durante a realização deste estudo dão suporte à hipótese de que nos Estados estudados exista uma planta calcinogênica que ainda não foi identificada e que vem causando sérias perdas econômicas diretas e indiretas aos rebanhos de bovinos e pequenos ruminantes. Os principais problemas são caracterizados pelo baixo desempenho dos rebanhos, tanto no ganho de peso quanto nos baixos índices reprodutivos, morte de animais, gastos extras com contratação de Médicos Veterinários, compra de medicamentos, alimentação ao cocho, entre outros.

Dos 50 ruminantes diagnosticados com calcinose enzoótica pelo LPV/UnB, a maioria foi constituída de ovinos (n=32), mas também representada por bovinos (n=15) e caprinos (n=03). No Brasil os relatos de calcinose enzoótica em ovinos se referem todos aos casos de intoxicação por *N. veitchii* no Rio Grande do Sul (Schild et al. 2006, Rissi et al. 2007, Vasconcelos et al. 1998, Riet-Correa et al. 1987), enquanto os casos da doença em bovinos e bubalinos são relacionados á intoxicação por *S. glaucophyllum* no Pantanal (Tokarnia et al. 2000, Santos et al. 2009). *N. veitchii* foi relatada causando calcinose em bovinos em uma propriedades onde casos da doença eram estudados em ovinos (Riet-Correa et al. 1987), já *S. glaucophyllum* é relatada na Argentina, Uruguai e Paraguai como causando calcinose enzoótica em bovinos, ovinos e caprinos e suspeita de causar calcinose em equinos na Argentina (Gimeno 2001).

O maior número de necropsias realizadas em ovinos provavelmente se deve ao fato de possuírem menor valor econômico que os bovinos, sendo mais facilmente doados pelos proprietários. Uma observação interessante foi a ocorrência de casos da enfermidade em caprinos, espécie na qual ainda não havia relatos no Brasil. Isso talvez tenha acontecido devido à criação insignificante dessa espécie nos estados onde ocorrem *N. veitchii* e *S.*

*glaucophyllum*. O pequeno número de caprinos criados no Centro-Oeste provavelmente também seja responsável pela descrição de poucos casos (n=3) da enfermidade entre os rebanhos estudados.

No Rio Grande do Sul há relatos de intoxicação por *N. veitchii* em 12 rebanhos de ovinos em um período de 18 anos (Rissi et al. 2009), enquanto no Brasil Central são descritos 23 surtos em bovinos e pequenos ruminantes em um período de seis anos, com uma distribuição geográfica diversificada por 03 Estados e no Distrito Federal. A área de pastagem do Cerrado chega a quase 50 milhões de ha, enquanto no RS, único estado onde são relatados casos de calcinose enzoótica por *N. veitchii*, tem aproximadamente 12 milhões de ha de pastagens naturais e distribuição da planta restrita a poucas áreas (sul do estado). A maior ocorrência da calcinose enzoótica no Brasil Central pode ser explicada pelas grandes áreas de pastagens degradadas encontradas nos Estados onde foram encontrados os casos da doença, o que justifica a necessidade de se descobrir a causa da enfermidade, diminuindo com isso as consequentes perdas econômicas observadas.

O número de fêmeas necropsiadas com calcinose enzoótica foi superior ao de machos (n=41 e n=9, respectivamente), mas esse fato provavelmente se deve ao modelo de criação de ruminantes nos Estados estudados, caracterizado por rebanhos criados extensivamente e que tem como objetivo a obtenção de crias para produção de carne, não devido a uma característica da doença. Isso pode ser explicado também pelo fato de os proprietários disponibilizarem facilmente fêmeas doentes para serem examinadas, enquanto raramente abriam mão dos poucos machos reprodutores. O mesmo foi observado por Carrilo & Worker (1967) ao caracterizarem a calcinose enzoótica por *S. glaucophyllum* na Argentina. Na intoxicação por *N. veitchii* em ovinos no Rio Grande do Sul, há também maior acometimento de fêmeas (Rissi et al. 2007b, 2009) do que de machos.

Dentre os 50 animais diagnosticados com calcinose enzoótica, 94% tinham mais de um ano de idade, havendo apenas três ovinos mais jovens, entre eles um de apenas quatro meses de idade. Esse animal era nascido na propriedade 05, propriedade essa que sofrera por mais de 2 anos com sérias perdas provocadas pelos casos de calcinose enzoótica. Não há descrições anteriores realizadas no Brasil da enfermidade em animais na fase de lactação. Tanto nos casos de intoxicação de ovinos por *N. veitchii* (Rissi et al. 2007b, 2009), quanto nos casos descritos de intoxicação de bovinos por *S. glaucophyllum* (Döbereiner et al. 1971) os diagnósticos da enfermidade são descritos em animais adultos. Búfalos intoxicados naturalmente por *S. glaucophyllum* tinham todos de 3 a 6 anos de idade (Santos et al. 2009).

O achado de um borrego lactante (04 meses de idade), com lesões de calcinose enzoótica sugere que este animal pode ter ingerido a planta tóxica, já que o mesmo foi mantido em pastejo durante os meses de maior índice pluviométrico (novembro a fevereiro), tendo acesso a grande quantidade de plantas daninhas. Em crias de coelhas prenhas e experimentalmente intoxicadas por *S. glaucophyllum* observou-se quadro de hipercalcemia, bem como de áreas de mineralização na aorta e no coração (Górniak et al. 1999). Ratas prenhas e em fase de lactação intoxicadas experimentalmente com diferentes doses de *S. glaucophyllum* tiveram crias que também apresentaram hipercalcemia em relação aos animais controle (Górniak et al. 2003). Essas duas observações lançam uma segunda possibilidade para o desenvolvimento das lesões no borrego de 04 meses, que seria a intoxicação por via placentária, ou pela ingestão de colostro e leite com altos níveis do princípio tóxico.

Níveis de morbidade não foram calculados, mas a mortalidade variou de 39% a 70% em alguns rebanhos. Os níveis de morbidade e mortalidade são difíceis de determinar, devido à imprecisão das informações fornecidas pelos proprietários ou responsáveis, ou pela ausência de tais informações em fichas clínicas. Isso ocorre, pois uma característica observada nos rebanhos acompanhados foi a de que muitos animais apresentavam sinais inespecíficos, como baixo escore corporal e pouco ganho de peso, com mortes ocasionais. Outra observação importante que dificultou calcular os níveis de morbidade nos rebanhos foi a de que muitos animais diagnosticados com calcinose enzoótica foram eutanasiados por outras causas, como botulismo e brucelose em bovinos ou intoxicação por closantel em ovino, enfermidades que não produzem nenhum quadro de mineralização arterial ou de tecidos moles. Essa característica de achados incidentais difere do que é observado nos casos de calcinose enzoótica por intoxicação com *N. veitchii* e *S. glaucophyllum*, pois nesses casos as mortes geralmente são diretamente relacionadas à intoxicação pelas plantas (Gimeno 2001; Rissi et al. 2007b, 2009). A mortalidade de ovinos intoxicados naturalmente por *N. veitchii* pode variar entre 1 a 25%, mas pode chegar a extremos de até 60% (Schild et al. 2006).

Dentre as 07 propriedades que apresentaram maior mortalidade (propriedades 1, 3, 5, 10, 11 e 20), em 06 delas a degradação dos pastos e invasão por plantas daninhas era acentuada, e em apenas 03 era feita complementação da alimentação no cocho, mas a mesma era sempre abaixo do necessário. A menor mortalidade (0,02%) foi observada em uma propriedade com rebanho de 4380 bovinos, onde um animal foi necropsiado devido à suspeita de deficiência de fósforo. Mesmo não sendo possível calcular a morbidade nos rebanhos, o que se observou nas propriedades visitadas foi que muitas vezes, quase todo o rebanho se apresentava em péssimo estado corporal e com sinais clínicos como flexão de membros

anteriores. É importante lembrar também que em todas as propriedades visitadas havia degradação de moderada a acentuada nos pastos, e essa diferença pode ser um fator importante na variação do número de animais doentes e mortos pela calcinose enzoótica.

Pastos degradados e invadidos por plantas daninhas foram observados nas quatorze propriedades visitadas para estudo da doença. Em 50% dessas propriedades, os pastos eram acentuadamente degradados e invadidos, não havendo presença de forrageiras de boa qualidade. Nos outros 50% das propriedades havia invasão moderada dos pastos, caracterizando também nessas propriedades quadro de má qualidade das pastagens. Algumas das plantas invasoras foram observadas em todas as fazendas inspecionadas e cinco espécies foram selecionadas e administradas experimentalmente para coelhos, mas resultados inconclusivos foram obtidos até o momento. Pastos degradados e invadidos por plantas daninhas também são encontrados nos casos de intoxicação por *N. veitchi* (Riet-Correa et al. 1987, Rissi et al. 2007b) e por *S. glaucophyllum*. Nesse último caso, uma característica importante da intoxicação em bovinos é que ela acontece não pelo fato dos animais pastejarem a planta, mas sim por eles ingerirem as folhas que caem em meio ao pasto, principalmente aqueles formados por plantas rasteiras (Carrillo & Worker 1967, Gimeno 2001). Característica diferente é observada na intoxicação de búfalos por *S. glaucophyllum*, pois esses animais se intoxicam ao ingerirem a planta que fica na margem das aguadas onde os animais passam grande parte do dia (Santos et al. 2009).

A informação de que em todas as fazendas que foram visitadas, os animais doentes eram mantidos em pastos degradados e invadidos por plantas daninhas, das quais se alimentavam, é um forte indicio de que os casos da doença no Brasil Central são provocados pela ingestão de uma planta calcinogênica. Uma observação importante que suporta essa possibilidade foi o fato de se observarem bovinos clinicamente sadios em uma fazenda (propriedade 20) onde havia muitos ovinos com calcinose enzoótica. Esses bovinos eram mantidos em pasto bem formado e alimentados no cocho com capim de qualidade, enquanto os ovinos eram mantidos em pasto acentuadamente degradado.

Quanto à distribuição sazonal dos casos de calcinose enzoótica estudados, foram diagnosticados casos da enfermidade durante todo o ano, mas o mês com maior número de surtos foi fevereiro, onde foram registrados altos índices pluviométricos. Outros meses com alto número de casos diagnosticados foram julho, maio e agosto, que correspondem ao período de menores índices pluviométricos na região estudada. Provavelmente o que acontece é que os animais se intoxicam e desenvolvem as lesões de calcinose durante os meses de chuva, mas podem morrer durante todo o ano, devido a causas variadas, como má alimentação

de alta carga parasitária. Casos naturais de intoxicação por *N. veitchii* no Rio Grande do Sul foram diagnosticados nos meses de janeiro, maio, junho e dezembro de diferentes anos (Rissi et al. 2007b), períodos onde os níveis pluviométricos são próximos dos 100 mm mensais (INMET).

Casos de intoxicação natural por *S. glaucophyllum* em bovinos no Pantanal do Mato Grosso foram descritos nos meses de junho, julho e agosto (Döbereiner et al. 1971). Em búfalos foram descritos casos de intoxicação nos meses de dezembro a fevereiro (Santos et al. 2009). Essa variação nos meses de ocorrência dos casos de intoxicação por *S. glaucophyllum* se deve ao fato das intoxicações normalmente não estarem envolvidos com a quantidade de planta verde, mas com a quantidade do desfolhamento das plantas, que varia de mês a mês (Carrillo & Worker 1967). Essa observação provavelmente não se aplica aos casos da doença em búfalos, já que eles ingerem as plantas que ficam na margem das aguadas (Santos et al. 2009).

Os principais sinais clínicos observados nos casos estudados foram caquexia e emagrecimento progressivo, andar rígido e flexão dos joelhos quando em pastejo ou ao tentar levantar. Esses sinais são vistos também em casos recentes de intoxicação de ovinos por *N. veitchii* no Rio Grande do Sul (Schild et al. 2006, Rissi et al. 2007b) ou na intoxicação por *S. glaucophyllum* em bovinos (Tokarnia et al. 2000). Búfalos naturalmente intoxicados por *S. glaucophyllum* apresentaram também quadro de perda de peso e dificuldade em andar e permanecer em estação (Santos et al. 2009). Um sinal clínico visto com frequência nos casos de intoxicação por *N. veitchii* em ovinos (Rissi et al. 2007b) ou por *S. glaucophyllum* em bovinos (Gimeno 2001), e búfalos (Santos et al. 2009) é o de xifose, o que não foi visto em nenhum dos ruminantes diagnosticados no Brasil Central. Isto provavelmente ocorre porque nenhum animal relatado apresentou lesões de calcificação de tendões, como é visto nas outras plantas calcinogênicas (Gimeno 2001, Rissi et al. 2007b). Nos casos de calcinose diagnosticados no presente estudo o quadro de caquexia era mais grave naquelas propriedades onde os rebanhos não recebiam suplementação adequada, o que foi observado na maioria das propriedades visitadas.

Coelhos experimentalmente intoxicados por *S. glaucophyllum* apresentaram quadro de anorexia e perda de peso, com lesões histológicas caracterizadas por vacuolização das células do epitélio gástrico, focos de hemorragia e erosão no ápice da mucosa, com inflamação discreta. Em alguns animais foram vistos depósitos de Ca entre as células epiteliais e edema da mucosa (Moraña et al. 1994). No estômago dos ruminantes

diagnosticados com calcinose enzoótica não foram vistas alterações de significado histopatológico, mas análises mais acuradas precisam ser feitas para afirmar que essa não é uma das causas de perda de peso observada na maioria dos animais. O que se sabe é que muitos dos ovinos necropsiados apresentavam quadro de caquexia devido ao parasitismo intenso por *Haemonchus contortus*. Na propriedade 20, onde foram vistos muitos ovinos com sinais de decúbito e permanência com os joelhos flexionados, eram criados também bovinos que recebiam alimentação de qualidade. Quatro desses animais tiveram sangue coletado e foram avaliados clinicamente. Nenhum apresentava sinal clínico semelhante ao dos ovinos mantidos nas pastagens degradadas, e na análise sérica de cálcio e fósforo, nenhuma alteração foi observada.

A análise bioquímica do Ca e P sérico realizada em dois rebanhos de criação de ovinos (propriedade 6 e 11, GO e DF respectivamente) demonstrou a ocorrência de aumento nos níveis dos dois minerais nos períodos de chuva. Os maiores níveis de cálcio foram observados nos meses de outubro a dezembro, enquanto os maiores níveis de fósforo foram observados nos meses de novembro e dezembro. Comparando-se os valores séricos de Ca e P com o índice pluviométrico médio (IPVM) dos dois Estados, observou-se que os níveis dos dois minerais aumentaram juntamente com o aumento nos índices pluviométricos. Os menores níveis de ambos os minerais foram observados nos meses de maio a agosto, que corresponderam a períodos de seca. O quadro de hipercalcemia e hiperfosfatemia pode ser observado também em ovinos intoxicados experimentalmente por *N. veitchii*. O valor máximo de Ca atingido por esses animais foi de 11 mg/dl e o de P chegou próximo aos 7 mg/dl (Riet-Correa et al. 1993), enquanto os dois rebanhos acompanhados no Distrito Federal e no Estado de Goiás atingiram cerca de 17 mg/dl e 9 mg/dl de Ca e P, respectivamente. Coelhos que receberam experimentalmente *S. glaucophyllum* apresentaram rápido aumento nos níveis de Ca e P após ingestão da planta (Boland et al. 1978) e quadro de hipercalcemia e hiperfosfatemia é visto também em intoxicação natural por *S. glaucophyllum* em bovinos (Carrillo & Worker 1967, Tokarnia et al 2000).

O aumento nos níveis séricos de Ca e P no período de altos níveis pluviométricos pode ser provocado pelo maior consumo da planta implicada na intoxicação, pois é no período de chuvas que há maior disponibilidade de plantas daninhas verdes no pasto. Essa possibilidade é sustentada pelos resultados obtidos nos ovinos da propriedade de Goiás no mês de janeiro. Nesse mês a coleta de sangue foi realizada quando fazia três semanas que o rebanho era mantido confinado, recebendo alimentação concentrada e volumosa no cocho. O nível de Ca dessa coleta foi de pouco mais de 9 mg/dl, enquanto no

mês de dezembro o valor chegou a 17 mg/dl. Esse achado e a observação de que não houve diferença significativa entre os níveis de Ca e P dos dois rebanhos estudados sustentam a possibilidade do quadro de hipercalcemia e hiperfosfatemia ser provocado pela ingestão de uma planta tóxica, e que esta planta estava presente nas duas propriedades onde os rebanhos eram mantidos.

Macroscopicamente as principais alterações observadas foram de mineralização arterial (aorta, carótida e tronco pulmonar) em 36 dos 42 animais estudados. Os 06 animais restantes dizem respeito a 05 casos necropsiados por veterinários autônomos, que não forneceram descrição dos achados de necropsia e enviaram apenas o coração ou fragmentos, e a um caprino que foi necropsiado pelo proprietário, sendo coletado apenas o pulmão. Como as necropsias eram feitas por pessoas diferentes, por se tratarem de animais atendidos na rotina do Hospital Veterinário, foi difícil a padronização da coleta de alguns órgãos que geralmente não são coletados, como é o caso das glândulas tireoides e dos ossos. Por esse motivo algumas alterações podem não ser citadas apenas por não terem sido observadas e relatadas por quem necropsiou o animal, como a ocorrência e distribuição das lesões arteriais, ou porque o órgão de interesse não foi coletado.

No coração as principais alterações observadas foram de mineralização da valva AV esquerda, da parede do átrio ou do ventrículo, mineralização da valva AV direita, das cordas tendíneas, músculos papilares e da valva semilunar. Mineralização das valvas átrio-ventriculares, semilunar esquerda e cordas tendíneas foram vistas em ovinos experimentalmente intoxicados por *N. veitchii* (Barros et al. 1992), e mineralização de valvas e do endocárdio mural foi vista em casos naturais de intoxicação em ovinos (Rissi et al. 2007b). Búfalos naturalmente intoxicados por *S. glaucophyllum* apresentaram também mineralização nas cordas tendíneas e nas cúspides das valvas átrio-ventriculares (Santos et al. 2009). Coelhos experimentalmente intoxicados por *N. veitchii* apresentaram mineralização também das valvas átrio-ventricular e semilunar esquerda (Riet-Correa et al. 1981), e mineralização de aorta foi vista também em ovinos intoxicados naturalmente (Riet-Correa et al. 1987). Casos naturais da intoxicação por *S. glaucophyllum* em bovinos são caracterizados pela mineralização também do átrio e ventrículo esquerdos (Carrillo & Worker 1967, Gimeno 2001).

As lesões de mineralização arterial foram encontradas principalmente na porção cranial, seguida da porção média e caudal da aorta. Outros focos de mineralização foram encontrados também nas artérias carótidas, tronco-pulmonar, sacral, braquicefálica e ilíacas. A formação de placas mineralizadas nas artérias é uma das principais alterações

observadas nos casos de calcinose enzoótica e foi observada em búfalos (Santos et al. 2009) e bovinos intoxicados naturalmente por *S. glaucophyllum* (Tokarnia et al. 2000), bem como em ovinos intoxicados naturalmente por *N. veitchii* (Schild et al. 2006, Rissi et al. 2007b). Coelhos intoxicados experimentalmente apresentaram mineralização principalmente da aorta torácica (cranial) (Riet-Correa et al. 1981). Ovinos naturalmente intoxicados por *N. veitchii* apresentaram focos de mineralização principalmente na região da aorta abdominal (caudal), além de mineralização da veia jugular, no local da venóclise (Riet-Correa et al. 1987), alteração essa que não foi observada em nenhum dos ruminantes relatados. Em ovinos experimentalmente intoxicados por *N. veitchii* a mineralização de aorta foi observada principalmente na porção abdominal (caudal) (Riet-Correa et al. 1993), e na intoxicação por *S. glaucophyllum* observam-se lesões acentuadas na artéria aorta, mas não são descritas quais as principais porções acometidas (Carrillo & Worker 1967, Done et al. 1976, Gimeno 2001). Em nenhum dos trabalhos estudados são descritos focos de mineralização na artéria tronco-pulmonar, ao contrário do que foi observado neste trabalho, quando 14,28% dos animais estudados apresentaram lesão nesse vaso.

No pulmão as principais alterações observadas foram de abaulamento do parênquima pulmonar, de consistência inelástica, borrachenta, principalmente nas bordas diafragmáticas. O mesmo tipo de lesão foi vista em ovinos naturalmente intoxicados por *N. veitchii* (Riet-Correa et al. 1987). Em casos de intoxicação natural por *S. glaucophyllum* em bovinos observou-se que essas alterações tem início nos lobos diafragmáticos e mais cronicamente estendem-se para grandes porções do órgão (Carrillo & Worker 1967), como foi visto em alguns animais do Brasil Central. O que se observou nestes casos foi que animais que apresentavam quadro mais grave de calcinose enzoótica, com caquexia e andar ajoelhado, apresentavam lesões pulmonares mais disseminadas. Em animais com sinais clínicos discretos as alterações pulmonares podiam estar ausentes.

Nos rins a principal alteração foi de presença de estrias esbranquiçadas nas regiões cortical, medular ou na junção córtico-medular. As alterações de mineralização renal foram observadas em ovinos intoxicados naturalmente por *N. veitchii* (Riet-Correa et al. 1987, Rissi et al. 2007), e em bovinos intoxicados por *S. glaucophyllum* (Done et al. 1976), mas os relatos falam de focos de mineralização principalmente na região medular. A presença de mineralização mais difusa talvez seja explicada pela maior quantidade de Ca sérico que os animais aqui relatados apresentam, quando comparados aos animais intoxicados naturalmente ou experimentalmente pelas outras plantas calcinogênicas conhecidas no Brasil.

Na tireoide de dois ovinos notou-se aumento de volume significativo. Na intoxicação natural por *N. veitchii* em ovinos foram relatadas a presença de manchas esbranquiçadas na tireoide de dois animais, dentre seis estudados, mas em nenhum foi relatado aumento de volume (Riet-Correa et al. 1987).

Macroscopicamente todos os achados de lesões observados nos casos de calcinose enzoótica em ruminantes no Brasil Central são compatíveis com as alterações macroscópicas em ruminantes naturalmente e experimentalmente intoxicados pelas duas plantas calcinogênicas já diagnosticadas no país (Risse et al; 2007b, Santos et al. 2009). Outras doenças de ruminantes podem provocar o surgimento de focos de mineralização em tecidos moles, principalmente nas artérias, pulmão e rins. Algumas dessas são a paratuberculose provocada por *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*, tuberculose provocada por *Mycobacterium bovis* e *M. tuberculosis*, tumores ósseos, hipervitaminose D e quadros de doença renal crônica (Meyers & McGavin 2009), mas nenhuma lesão compatível com essas enfermidades foi diagnosticada nos animais estudados.

As alterações histológicas encontradas nos animais necropsiados foram compatíveis com lesões de calcinose enzoótica provocadas por outras plantas calcinogênicas conhecidas no Brasil (Tokarnia et al 2000, Schild et al. 2006).

Histologicamente as alterações no coração foram caracterizadas por deposição de substância basofílica no citoplasma das fibras, com irregularidade e fragmentação das mesmas, bem como por focos de deposição da mesma substância basofílica em quantidade moderada de artérias coronárias. Na região de inserção da artéria aorta ao coração de dois ovinos havia metaplasia óssea, com formação de trabéculas ósseas e presença de células de tecido hematopoiético. Lesões semelhantes foram observadas em ovinos naturalmente e experimentalmente intoxicados por *N. veitchii* (Riet-Correa et al. 1993, Rissi et al. 2007b).

Nas artérias a principal alteração observada foi de mineralização da túnica média e íntima, com irregularidade na disposição das fibras elásticas. A coloração de Von Kossa demonstrou depósitos positivos para sais minerais e as colorações de Verhoeff e Tricrômico de Gomori demonstraram moderada a acentuada proliferação de colágeno em meio às fibras elásticas da túnica média, com algumas áreas de desaparecimento das fibras de músculo liso devido a essa proliferação. Um animal de 04 meses (ovino 19) de idade apresentava irregularidade na superfície luminal da artéria aorta, que histologicamente se apresentou como acentuada irregularidade das fibras elásticas. Por ser um animal jovem essas áreas de irregularidade podem representar a fase inicial do processo de mineralização das fibras.

Metaplasia óssea e cartilaginosa, além de infiltração de macrófagos foram outras alterações observadas nas artérias, semelhante ao observado em ovinos naturalmente intoxicados por *N. veitchii* (Vasconcelos et al. 1998). Em ovinos experimentalmente intoxicados por *S. glaucophyllum* as principais alterações foram de mineralização das fibras elásticas e infiltração de macrófagos e células gigantes (Barros et al. 1981).

Em humanos a mineralização da túnica íntima é característica da aterosclerose. Em animais, a mineralização na túnica média das artérias pode ser provocada por várias enfermidades, entre elas, a intoxicação por *S. glaucophyllum* e doença renal crônica (Doherty et al. 2004), a segunda podendo causar mineralização arterial também em humanos. Nenhuma dessas enfermidades foi observada nos animais descritos.

Dos 35 animais que apresentaram mineralização da camada média das artérias, havia mineralização da íntima em 21, o que sugere que a segunda é consequência da primeira. A presença de proliferação de colágeno e de lesão sobre as fibras elásticas e de músculo liso sugerem que essas alterações são semelhantes às observadas como responsáveis pela mineralização arterial em ovinos intoxicados por *S. glaucophyllum* (Barros et al. 1981). Estudos em células de músculo liso vascular de bovinos demonstraram que a calcificação arterial ocorre principalmente quando as células são mantidas em meio rico em Ca (Chen et al. 2008). O quadro de hipercalcemia observado nos rebanhos estudados sustentam o surgimento da mineralização vascular baseado no mecanismo proposto por Chen et al. (2008), onde vesículas de matriz se desenvolveriam nas fibras musculares e posteriormente sofreriam mineralização.

Histologicamente nos pulmões as principais alterações foram de mineralização da parede dos alvéolos, demonstrada pela coloração de Von Kossa, ruptura da parede dos alvéolos, proliferação de colágeno nas áreas de mineralização, comprovada na coloração de Sirius Red, e em alguns animais focos de mineralização da cartilagem bronquial. Em dois ovinos havia trabéculas ósseas no parênquima pulmonar. Um deles era um caprino criado como animal de estimação e que fora mantido por mais de um ano em uma área cercada, com grande quantidade de uma planta daninha suspeita de ser responsável pela calcinose enzoótica.

Bovinos intoxicados naturalmente e experimentalmente por *S. glaucophyllum* apresentam alterações pulmonares caracterizadas por mineralização alveolar e deposição de colágeno, bem como de focos de mineralização da cartilagem bronquial (Done et al. 1976) e ossificação pulmonar focal (Tokarnia et al. 2000). Ovinos intoxicados naturalmente por *N. veitchii* apresentaram espessamento da parede dos alvéolos devido à proliferação de tecido

conjuntivo, colágeno e deposição de cálcio. Esses animais apresentaram também, na microscopia eletrônica, alterações nas células de músculo liso, como vacuolização e degeneração, e quantidade abundante de fibra colágena nos pulmões (Barros & Gimeno 2000), as mesmas alterações prévias observadas na lesão arterial de coelhos intoxicados por *S. glaucophyllum* (Barros et al. 1981).

Nos rins as alterações foram caracterizadas por mineralização arterial e tubular, tanto do epitélio quanto por depósitos de minerais na luz dos túbulos. Em casos naturais de calcinose enzoótica por *N. veitchii* em ovinos observou-se tanto a mineralização arterial quanto mineralização tubular e obstrução da luz de túbulos por agregados mineralizados (Riet-Correa et al. 1987). Na intoxicação natural em bovinos por *S. glaucophyllum* os principais focos de mineralização renal estavam localizados na região de junção córtico-medular (Tokarnia et al. 2000), a mesma característica observada macroscopicamente e histologicamente nos casos da planta desconhecida.

Enquanto alguns estudos descrevem a presença dos focos de mineralização epitelial apenas na região medular (Carrillo & Worker 1967, Riet-Correa et al. 1993, Schild et al. 2006), os animais aqui relatados apresentaram tanto mineralização dos túbulos da região medular quanto da cortical. Essa maior gravidade das lesões pode ser explicada pelos altos níveis de Ca e P sérico observados nos animais estudados, havendo então maior quantidade circulante. Como os dois se combinam para serem eliminados, seu excesso provavelmente suplanta os mecanismos renais de excreção, ocorrendo então sua deposição nas estruturas renais.

Na tireóide a principal alteração foi de variáveis graus de hiperplasia das células C entre os folículos. Alteração semelhante foi observada em casos naturais e experimentais de calcinose enzoótica por *N. veitchii*, tanto em ovinos quanto em coelhos (Riet-Correa et al. 1981, 1993). É nas células C da tireóide que ocorre a produção de calcitonina, hormônio responsável por diminuir os níveis de Ca circulantes. Quando esses níveis ultrapassam 10% do normal, ocorre aumento na secreção de calcitonina, que tem ação diminuindo a atividade e formação osteoclástica e aumentando deposição de Ca nos ossos (Guyton & Hall 2006). Como a avaliação sérica de dois rebanhos com casos de calcinose enzoótica demonstrou a ocorrência de altos níveis de Ca circulante, o aumento na quantidade de células C da tireóide provavelmente foi uma tentativa do organismo reduzir seus níveis no soro sanguíneo.

Foi realizada identificação botânica de cinco plantas escolhidas por terem evidências de pastejo acentuado pelos animais dos rebanhos estudados. Das cinco plantas,

todas são consideradas como daninhas e duas delas são classificadas também como plantas medicinais (*Hyptis suaveolens* e *Sida rhombifolia*). Dentre elas, duas são da família Asteraceae e as demais das famílias Malvaceae, Lamiaceae e Amaranthaceae. *Solanum glaucophyllum* e *Nierembergia veitchii*, plantas conhecidamente responsáveis pelo surgimento de calcinose enzoótica em bovinos e ovinos no Brasil, são da família Solanaceae (Riet-Correa et al. 1981, Gimeno 2001). Outras plantas conhecidas como causando calcinose enzoótica no mundo são *Trisetum flavescens*, *Cestrum diurnum*, *Solanum torvum*, *S. verbascifolium* e *S. esuriale*, sendo a primeira da família das Poaceae e as demais todas Solanaceae (Morris 1982, Mello 2009). Apesar de nenhuma das plantas suspeitas ter sido identificada nessa família, a possibilidade da doença no Brasil Central ser causada por uma espécie de outra família não pode ser descartada, como no caso da calcinose enzoótica provocada por *T. flavescens*.

Ao todo foram realizados sete experimentos piloto que tinham como objetivo identificar previamente a planta envolvida no surgimento das lesões de calcinose enzoótica, para posteriormente ser testada em um experimento padrão. Cinco plantas foram testadas em experimentos de duração variada.

Dois experimentos foram realizados com *S. rhombifolia*. No primeiro experimento, onde dois coelhos recebiam a planta *ad libitum*, um dos animais apresentou mineralização multifocal moderada da parede da artéria aorta, nas porções cranial, média e caudal. O coelho controle que foi necropsiado 30 dias depois, ao final do segundo experimento, apresentava apenas mineralização discreta na inserção da aorta ao coração. Nos coelhos, os mecanismos normais de controle dos níveis de Ca estão ausentes, por isso a espécie possui grande tendência em desenvolver mineralização metastática, principalmente quando são alimentados apenas com ração peletizada, que possui altos níveis de Ca e P (Richardson 2000). Esse fato provavelmente explica porque os níveis séricos de Ca e P no coelho controle, que recebia ração peletizada, foram maiores do que os observados no animal testado e que apresentou mineralização difusa da artéria aorta.

Todos os animais utilizados nos experimentos tinham inicialmente 2 meses de idade, o que diminui a probabilidade dos achados de mineralização difusa serem resultante de mineralização metastática, já que essa alteração é mais frequente em coelhos com mais de um ano de idade (Matias et al. 2008). Coelhos jovens também foram utilizados para determinar *N. veitchii* como etiologia da calcinose enzoótica diagnosticada no Rio Grande do Sul (Riet-Correa et al. 1981), e os achados de mineralização arterial foram semelhantes aos observados na administração experimental de *Sida rhombifolia*.

O que levou a considerar diferentes as mineralizações fisiológicas encontradas no coelho controle daquela observada no animal que recebeu *S. rhombifolia* foi o fato de que, no animal teste os focos de mineralização eram difusos, enquanto naqueles que recebiam apenas ração, a mineralização era encontrada na região de inserção da aorta ao coração. Como apenas um animal, entre quatro testados, desenvolveu mineralização arterial difusa, não se pode afirmar que esta seja a planta responsável pela calcinose enzoótica no Brasil Central, mas como resultado aparente foi obtido, estudos posteriores precisam ser realizados para que haja confirmação ou não da hipótese.

Como não foi possível confirmar a etiologia da calcinose enzoótica diagnosticada no Brasil Central, nenhuma planta foi submetida à identificação de princípio ativo. Como o quadro clínico e as alterações anatomopatológicas observadas na doença provocada por *S. glaucophyllum* (Tokarnia et al. 2000) são semelhantes ao observado nos casos relatados, sugere-se que o princípio ativo da planta implicada, seja o mesmo ou tenha ação semelhante ao encontrado em plantas como *S. glaucophyllum* e *Cestrum diurnum* que são as únicas plantas calcinogênicas que já tiveram seu princípio identificado como sendo um glicosídeo de ação semelhante ao 1,25-diidroxitamina D<sub>3</sub>(Mello 2009).

Os animais estudados foram diagnosticados com calcinose enzoótica baseado no quadro clínico apresentado, no fato dos rebanhos visitados e acometidos pela doença serem mantidos em pastos moderada ou acentuadamente degradados e invadidos por plantas daninhas, e nos achados macroscópicos e histopatológicos de mineralização arterial e de outros tecidos moles, como rins, coração e pulmões. Apesar de não ser encontrada nenhuma das plantas conhecidas como calcinogênicas no Brasil, nas propriedades estudadas, as características dos rebanhos e da doença levam a crer que é também uma planta calcinogênica a responsável pelos casos avaliados nesse trabalho.

Como os casos de calcinose enzoótica no Brasil Central acontecem principalmente em rebanhos mantidos em áreas de pasto degradado, a melhor forma de evitar seu surgimento é mantendo os animais em piquetes que tenham pasto formado, e fornecendo-lhes suplementação de qualidade. Evitar degradação das áreas de pastejo é uma forma de evitar a ocorrência de novos casos, como vem sendo constatado na rotina do LPV/UnB e no HVet, nos últimos dois anos, notou-se menor número de diagnósticos da doença. O esclarecimento dos proprietários e de Médicos Veterinários autônomos e pertencentes a instituições de extensão que trabalham diretamente com o produtor é uma das formas mais eficazes de diminuir a ocorrência da doença.

## 5 CONCLUSÕES

- A calcinose enzoótica no Brasil Central acomete bovinos e pequenos ruminantes, de todas as idades e sexos;
- Os achados clínicos, macroscópicos e histopatológicos dos casos estudados são semelhantes às alterações observadas nos casos de calcinose enzoótica provocadas por plantas calcinogênicas já conhecidas no Brasil;
- Os casos de calcinose enzoótica aparentemente só acontecem em propriedades de pasto degradado e invadido por plantas daninhas;
- As informações obtidas sugerem fortemente que os casos de calcinose enzoótica diagnosticadas no Brasil Central são provocados por uma planta calcinogênica ainda desconhecida;
- Experimentos prévios sugerem *Sida rhombifolia* como provável causa da enfermidade em ruminantes no Brasil Central, sendo necessários estudos mais prolongados e com maior número de animais para confirmar ou refutar a hipótese anterior;
- Evitar que os rebanhos de bovinos e pequenos ruminantes sejam mantidos em pastos degradados e invadidos por plantas daninhas parece ser a melhor medida para evitar o surgimento da doença.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo realizado deixa alguns pontos que devem ser considerados e avaliados em relação à calcinose enzoótica diagnosticada em ruminantes no Brasil Central. Apesar de não haverem dados a respeito da importância econômica das intoxicações por plantas para os rebanhos de ruminantes no bioma Cerrado, os resultados obtidos demonstraram que as alterações provocadas pela doença levaram a diminuição na produção dos rebanhos, principalmente devido à perda de peso acentuada nos animais diagnosticados com calcinose enzoótica. Diante desse quadro observa-se a importância da identificação da planta responsável pela enfermidade no Brasil Central, já que as características epidemiológicas, clínicas e anatomopatológicas apontam fortemente para o envolvimento de uma planta calcinogênica ainda não conhecida e existente no bioma Cerrado.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Barros, S.S.; Tabone, E.; Santos, M.; Andujar, M.; Grimaud, J. Histopathological and ultrastructural alterations in the aorta in experimental *Solanum malacoxylon* poisoning. **Virchows Archive [Cell Pathology]**, 35: 169-175, 1981.
- Barros, S.S.; Driemeier, D.; Santos, M.N.; Guerrero, J.A.M. Evolução clínica e reversibilidade das lesões da calcinose enzoótica dos ovinos induzida por *Nierembergia veitchii*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 12(1):5-10, 1992.
- Barros S.S.; Gimeno E.J. Cell differentiation and bone protein synthesis in the lungs of sheep with spontaneous calcinosis. **Journal of Comparative Pathology** 123:270-277, 2000.
- Boland, A.R.; Skliar, M.I.; Gallego, S; Esparza, M.; Boland, R.L. Potentiation of the effects of *Solanum malacoxylon* extracts on rat intestinal phosphate and calcium absorption by incubation with ruminal fluid. **Calcified Tissue Research**, 26:215-219, 1978.
- Carrillo, B.J.; Worker, N.A. Enteque seco: arteriosclerosis y calcificación metastática de origen tóxico em animales a pastoreo. **Revista de Investigaciones Agropecuarias**. 4(2):09-29, 1967.
- Chen, N.X.; O'Neill, K.D.; Chen, X.; Moe, S.M. Annexin-mediated matrix vesicle calcification in vascular smooth muscle cells. **Journal of Bone and Mineral Research**. 23 (11): 1798-1805, 2008.
- Döbereiner, J.; Tokarnia, C.H.; Costa, J.B.D.; Campos, J.L.E.; Dayrel, M.S. “Espichamento”, intoxicação de bovinos por *Solanum malacoxylon*, no Pantanal do Mato Grosso. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 6: 91-117, 1971.
- Doherty, T.M.; Fitzpatrick, L.A.; Inoue, D.; Qiao, J.H.; Fishbein, M.C.; Detrano, R.C.; Shah, P.K.; Rajavashisth, T.B. Molecular, endocrine, and genetic mechanisms of arterial calcification. **Endocrine Reviews**, 25(4): 629-672, 2004.

- Done, S.H.; Döbereiner, J.; Tokarnia, C.H. Systemic connective tissue calcification in cattle poisoned by *Solanum malacoxylon*: a histological study. **British Veterinary Journal**. 132, 28, 1976.
- Gimeno, E. J. Calcinosis enzoótica en ruminates: Un problema vigente de la ganaderia nacional. Dissertação do acadêmico. Presentado en la Sesión Pública Extraordinária del 14 de septiembre de 2000. Publicado en: **Anales de la Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria** LIV, 207-232, 2001.
- Górniak, S.L.; Dagli, M.L.Z.; Maiorka, P.C.; Raspantini, P.C.; Jericó, M.M. Evaluation in rabbits of the fetal effects of maternal ingestion of *Solanum malacoxylon*. **Veterinary Research Communications**, 23: 307-316, 1999.
- Górniak, S.L.; Maiorka, P.C.; Raspantini, P.C.; Hosomi, R.; Moraes A.P.; Dagli, M.L.Z. Assesment of the perinatal effects of maternal ingestion of *Solanum malacoxylon* in rats. **Reproductive Toxicology**, 17: 67-72, 2003.
- Guyton, A.C.; Hall, J.E. **Textbook of Medical Physiology**. 11<sup>a</sup> ed. Elsevier Saunders. Philadelphia-Pennsylvania. 2006. 1116 p.
- Hewitson T.D. & Darby I.A. **Methods in Molecular Biology - Histology Protocols**. Humana Press. New York, NY. 2010. 229 p.
- Horst, R.L.; Napoli, J.L.; Littledike, E.T. Discrimination in the metabolism of orally dosed ergocalciferol and cholecalciferol by the pig, rat and chick. **Biochemistry Journal**, 204:185-189, 1982.
- Kaneko J.J., Harvey J.W. & Bruss M.L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animal**. Academic Press. 6<sup>a</sup> ed. San Diego-CA. 2008. 904 p.
- Matias, A.S.A.; Bruno, S.F.; Menezes, R.C.; Matias, C.A.R.; Tortelly, R. Prevalência e aspectos anatomopatológicos da mineralização metastática em coelhos provenientes de biotérios e criação comercial do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Ciência Rural**, 38(1): 155-160, 2008.
- Mello, J.R.B. Corrigendum to “Calcinosis – calcinogenic plants” [Toxicon 41 (2003) 1-12]. **Toxicon**, 53:383-384, 2009.
- Meyers, R.K.; McGavin, M.D. Cellular and tissue responses to injury. In: McGavin, M.D.; Zachary, J.F. **Pathologic basis of veterinary disease**. St. Louis: Mosby Elsevier, 2007.
- Moranã, J.A.; Barros, S.S.; Driemeier, D.; Flôres, Y.E. Gastropatia em coelhos experimentalmente induzida pela planta calcinogênica *Solanum malacoxylon*. **Pesquisa Veterinária Brasileira** 14(1):35-42, 1994.

- Morris, K.M.L. Plant induced calcinosis: a review. **Veterinary and Human Toxicology**, 24:34-48, 1982.
- Richardson, V. **Rabbits, Health, Husbandry and Diseases**. Blackwell Publishing, Oxford, 2000. 185 p.
- Riet-Correa, F.; Mendez, M.C.; Schild, A.L.; Santos, E.C.; Scarsi, R.M. Experimentos em coelhos sugerem *Nierembergia veitchii* como causa de calcinose enzoótica em ovinos no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 16(5):727-732, 1981.
- Riet-Correa F., Schild A.L., Méndez M.C., Wasserman R. & Krook L. Enzootic calcinosis in sheep caused by the ingestion of *Nierembergia veitchii* (Solanaceae). **Pesquisa Veterinária Brasileira** 7(3):85-95, 1987.
- Riet-Correa, F.; Méndez, M.C.; Schild, A.L.; Petiz, C.A. Enzootic calcinosis in sheep. Experimental reproduction with *Nierembergia veitchii* (Solanaceae). **Pesquisa Veterinária Brasileira** 13(1/20):21-24, 1993.
- Rissi, D.R.; Rech, R.R.; Pierezan, F.; Kommers, G.D.; Barros, C.S.L. (b). Intoxicação em ovinos por *Nierembergia veitchii*: observações em quatro surtos. **Ciência Rural** 37(5):1393-1398, 2007.
- Rissi, D.R.; Brown, C.C.; Barros, C.S.L. Chronic and acute clinical manifestation associated with systemic mineralization caused by ingestion of *Nierembergia veitchii* in sheep in southern Brazil. **Small Ruminant Research**, 87: 102-104, 2009.
- Santos, C.E.P.; Marques, L.C.; Figueiredo, C.; Borges, D.C.; Borges, N.F.; Assis C.J. Calcinose enzoótica em *Bubalus bubalis* no Pantanal Norte Matogrossense, Brasil. In> VIII CONGRESSO BRASILEIRO DE BUIATRIA. 2009, Belo Horizonte. **Anais do VIII Congresso Brasileiro de Buiatria**. Belo Horizonte: Associação Brasileira de Buiatria, p. 331-335, 2009.
- Schild, A.L.; Ferreira, J.L.M.; Soares, M.P.; Schons, S.V.; Bonel-Raposo, J.; Tortelli, F.P.; Priebe, A.P.; Guim, T.N.; Almeida, M.B. Intoxicação por *Nierembergia veitchii* em ovinos. In: Schild A.L., Ferreira J.L.M. & Soares M.P (Ed). **Boletim do Laboratório Regional de Diagnóstico**, UFPel. Editora e Gráfica Universitária, Pelotas-RS. 54p. 2006.
- Tokarnia, C.H.; Döbereiner, J.; Peixoto, P.V. **Plantas Tóxicas do Brasil**. Ed. Helianthus, Rio de Janeiro, 2000. p. 189-196.
- Vasconcelos, R.O.; Barros, S.S.; Russowski, D.; Grando, S.M.; Irigoyen, L.F. Arterial diffuse intimal thickening associated with enzootic calcinosis of sheep. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 18(1):9-15, 1998.