

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA TROPICAL

ESTUDO DE LESÕES EXPERIMENTAIS SEQUENCIAIS
PRODUZIDAS POR FERRÃO DE RAIAS DA ESPÉCIE *Potamotrygon*
Orbigny EM RETO FEMURAL DE COELHOS

RICARDO ALEXANDRE GONÇALVES GUIMARÃES

MANAUS
2004

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA TROPICAL

RICARDO ALEXANDRE GONÇALVES GUIMARÃES

ESTUDO DE LESÕES EXPERIMENTAIS SEQUENCIAIS CAUSADAS POR
FERRÃO DE RAIAS DA ESPÉCIE *Potamotrygon N Orbigny* EM RETO FEMURAL
DE COELHOS

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-graduação em
Patologia Tropical da Universidade
do Amazonas, como requisito
parcial para obtenção do título de
Mestre em Patologia Tropical,
área de concentração Patologia

Orientador : Dr. Luiz Carlos de Lima Ferreira

Manaus
2004

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

G963e Guimarães, Ricardo Alexandre Gonçalves
Estudo de lesões experimentais seqüenciais produzidas por
esporão de raias da espécie *Potamotrygon orbignyi* em reto femoral
de coelhos / Ricardo Alexandre Gonçalves Guimarães. 2004
56 f.: il. color; 31 cm.

Orientador: Luiz Carlos de Lima Ferreira
Dissertação (Mestrado em Patologia Tropical) - Universidade
Federal do Amazonas.

1. Raias. 2. Ferroadas. 3. Lesões experimentais seqüenciais. 4.
Histopatologia. 5. Coelhos. I. Ferreira, Luiz Carlos de Lima II.
Universidade Federal do Amazonas III. Título

DEDICATÓRIA

A Deus, que na minha vida me concedeu mais flores que espinhos.

A meus pais Oswaldo e Jarcy pelas boas sementes.

A Parintins, cidade que me deu raízes firmes e frutos: minha esposa Francisca e meus filhos Alexandre, Otávio e Augusto.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Luiz Carlos de Lima Ferreira pela orientação e paciência.

Aos professores e funcionários do DPML da UFAM pela ajuda e carinho. Um especial agradecimento a Maria de Fátima Barbosa, histotécnica do DPML, que não mediu esforços para conseguirmos bons cortes e lâminas para este trabalho.

Ao Prof. Dr. Rosseval Galdino Leite (Rossi) do INPA pela grande ajuda. Ao Sr. Raimundo, pescador do IMPAS pela ajuda na captura das raias. Aos funcionários do aquário Coridora pela ajuda na manutenção das raias.

Ao meu filho Alexandre pela ajuda na digitação e estruturação deste trabalho.

Ao meu cunhado Fernando na ajuda da aquisição e alimentação dos coelhos.

Aos colegas de curso pelo privilégio de tê-los não somente como colegas, mas como amigos.

Ao sempre saudoso Dr. Paulo Buheim, que me deu aquele empurrão e apoio inicial.

Aos colegas do Instituto de Medicina Intensiva pelo estímulo e ajuda.

À Professora Maria Lúcia Góes pela ajuda prestiosa no conhecimento de raias.

Há que se cuidar do broto
para que a vida nos dê flores e
frutos.

Milton Nascimento. Coração
de Estudante

RESUMO

Neste trabalho foram feitas lesões experimentais seqüenciais com ferrão de raias da espécie *Potamotrygon orbignyi* em reto femural de coelhos, sendo estudadas as lesões em ordem cronológica. As lesões são descritas em seu aspecto macroscópico e microscópico relacionando-as com os componentes do veneno relatados na literatura. Elas têm características particulares, sendo a mais marcante a presença de um infiltrado inflamatório com presença de eosinófilos de início muito precoce. A reação inflamatória é mantida graças a liberação de citocinas pelos eosinófilos do infiltrado e por linfócitos T NK 1. 1 ativados pelo processo realimentando a ativação de eosinófilos.

A autor propõe hipóteses sobre a gênese das alterações histopatológicas e sugere-se estudos sobre o tratamento.

Palavras-chave:

Raias – Ferroadas – Lesões Experimentais Seqüenciais - Histopatologia - Coelhos.

ABSTRACT

This paper describes a sequence of lesions produced with stingray *Potamotrygon orbignyi* in femoral retus muscle of rabbits. The lesions were studied in chronological order. The macro and microcopic aspects of the lesions are described in relation with the poisons mentioneted in the literature. There are characteristic aspect in the lesions. The most proeminent of which is the early eosinophil infiltrate. The inflamatory reation is mantained through the realese of citokines by these eosinophils and NK 1.1 T lymphocytes in a positive feedback loop with the eosinophil.

The author proposes a hypothesis on the origin of the histopathological changes and suggest studies on the manegement.

Key-words:

Stingray – Experimental sequential lesions – Histopathology – Rabbits.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	8
1 A AMAZÔNIA E SUAS CARACTERÍSTICAS	8
2 O PROBLEMA DE SAÚDE	9
3 AS RAIAS	11
4 ANIMAIS PEÇONHENTOS E ANIMAIS VENENOSOS	13
5 ICTISMO CAUSADO POR RAIAS	15
5.1 SINAIS E SINTOMAS DO ICTISMO POR RAIAS	20
5.2 TRATAMENTO DO ICTISMO POR RAIAS	21
OBJETIVOS	23
MATERIAL E MÉTODOS	24
1 CAPTURA E MANUTENÇÃO DAS RAIAS	24
1.2 DESTINO DOS ANIMAIS	25
2. OS COELHOS	25
2.2 DESTINO DOS ANIMAIS	26
3 METODOLOGIA DO ESTUDO	26
3.1 PRODUÇÃO EXPERIMENTAL DO ACIDENTE	26
3.2 TÉCNICA ANESTÉSICA	27
3. 3 TÉCNICA DAS FERROADAS	27
3. 3.1 <i>Com o Ferrão</i>	27
3. 3. 2 <i>Com estilete</i>	28
3. 4 TÉCNICA DE OBTENÇÃO DAS BIÓPSIAS	28
3.5 TÉCNICA DE FIXAÇÃO DAS BIÓPSIAS	28
3.7 TÉCNICA DE PROCESSAMENTO DOS ESPÉCIMES	29
3. 8 TÉCNICA DE COLORAÇÃO DOS CORTES HISTOLÓGICOS	29
3.9 TÉCNICA DE OBSERVAÇÃO E FOTOGRAFIA DAS LÂMINAS	29

RESULTADOS.....	30
1 COELHOS FERROADOS COM ESPORÃO DE RAIAS	30
1.1 ASPECTOS MACROSCÓPICOS.....	30
1.1.1 Lesões de 2 horas.....	30
1.1.2 Lesões de 4 horas.....	30
1.1.3 Lesões de 6 horas.....	30
1.1.4 Lesões de 12 horas.....	31
1.1.5 Lesões de 24 horas.....	31
1.1.6 Lesões de 48 horas.....	31
1.2 ASPECTOS MICROSCÓPICOS	32
1.2.1 LESÕES DE 2 HORAS	32
1.2.2 Lesões de 4 horas.....	32
1.2.3 Lesões de 6 horas.....	33
1.2. 4 Lesões de 12 horas.....	33
1.2.5 Lesões de 24 horas.....	34
1.2.6 Lesões de 48 horas.....	36
OBSERVAÇÕES GERAIS SOBRE AS LESÕES	37
2 COELHOS FERROADOS COM ESTILETE DE AÇO INOXIDÁVEL	38
2.1 ASPECTOS MACROSCÓPICOS.....	39
2.1.1 Lesões de 2, 4 e 6 horas	39
2.1.2 Lesões de 24 horas.....	39
2.2 ACHADOS MICROSCÓPICOS	39
2.2.1 Lesões de 2, 4 e 6 horas.....	39
2.2.2 Lesões de 24 horas.....	39
DISCUSSÃO	41

INTRODUÇÃO

1 A AMAZÔNIA E SUAS CARACTERÍSTICAS

A Bacia do rio Amazonas é a maior bacia hidrográfica do mundo, com uma área de drenagem total superior a 5,8 milhões de quilômetros quadrados, dos quais 3,9 milhões estão no território brasileiro. O restante da área divide-se entre Peru, Bolívia, Colômbia, Equador, Guiana e Venezuela. Esta área poderia abranger integralmente todo o continente europeu com exceção da antiga União Soviética.

O volume de água do rio Amazonas é extremamente elevado, descarregando no oceano Atlântico aproximadamente 20% do total das águas de rios que chegam aos oceanos em todo o planeta. Só o rio Amazonas tem uma vazão de 18.000 metros cúbicos por segundo. Tal volume de água é o resultado do clima tropical úmido característico da bacia que alimenta a maior floresta tropical do mundo.

O rio Amazonas é um rio de planície, possuindo baixa declividade. Sua largura média é de 4 a 5 quilômetros , chegando em alguns pontos a mais de 50

quilômetros. Ele é atravessado pela linha do equador tendo afluentes no hemisfério norte e sul.(MACHADO, 2004).

2 O PROBLEMA DE SAÚDE

Esta imensidão de água e florestas leva a uma flora e fauna únicas. Conseqüentemente as doenças ligadas a florestas e as águas também são numerosas. Entre as doenças causadas por animais temos o ictismo que são lesões ou estados mórbidos causados por peixes.

Entre os ictismos na Amazônia temos as ferroadas de raias, que talvez sejam mais freqüentes que os acidentes causados por ofídios, porém são pouco estudados devido a várias dificuldades. PARDAL *et al* (1998) e HIDAKA *et al* (1999) fizeram levantamento de 89 e 27 pacientes, respectivamente, com lesões causadas por estes peixes nos municípios de Some e nos distritos de Belém (Mosqueiro, Icoaraci e Outeiro). Os acidentes envolveram mais comumente banhistas (81%), com animal repousando no fundo sobre a areia (56,2%), com a maré enchendo (33,7%)

HADDAD JR *et al.*, (2004), estudou 84 casos de ictismo por raias no período de janeiro de 2000 a março de 2003 (2,1 pacientes por mês), nos rios Paraguai, Paraná, Tocantins e Araguaia. Para vermos a importância destes acidentes podemos comparar com o número de pacientes vítimas de ofidismo.

Setecentos e trinta e quatro pacientes foram atendidos no Instituto de Medicina Tropical do Amazonas de 1986 a 1992 (8,7 pacientes por mês) picados por cobras sendo a época de chuvas (janeiro, fevereiro, março e abril),

que coincide com a época de cheias dos rios, a de maior incidência. (SANTOS in CARDOSO, MALAQUE *et al*, 2003). É bom lembrar que quem já trabalhou no interior sabe que a maioria dos pacientes picados por cobra procura tratamento médico devido ao medo do risco de morte e que poucos pacientes ferroados por raias procuram serviço médico. O povo do interior costuma usar medicamentos e procedimentos "caseiros", que muitas vezes são exdrúxulos. A procura pelo tratamento geralmente é feita para as complicações da ferroadada.

Mesmo com a procura por tratamento médico sendo muito pequena, o número de casos foi somente 4 vezes menor que casos de picadas de cobra.

O acidente com raias marinhas é o ictismo mais comum (GERMAIN *et al.*, 2000; IBSTER, 2001).

O trabalho do professor Haddad Jr foi realizado em locais onde o acesso aos serviços médicos é difícil, porém na Amazônia há centenas de locais onde o acesso ao médico é praticamente impossível.

Mesmo sendo comuns estas lesões são pouco estudadas. Constituem morbidade que muito raramente leva à morte, porém, pode levar a uma incapacidade temporária por vários meses ou pela própria lesão ou por infecções secundárias (ALMEIDA, 1998; EVANS 2000; HADDAD JR *et al*, 2004).

3 AS RAIAS

As raias são peixes primitivos com esqueleto cartilaginoso (Figura 1), por tal razão estão incluídas na classe *Chondrichthye* (Chondro = cartilagem), possuem maxilares, nadadeiras pares e ímpares e duas narinas. As brânquias são irrigadas por fendas branquiais de número variável. Esta classe se divide em duas subclasses os *Elasmobranchii* a quem pertencem os tubarões e as raias e *Holocephali*, a qual pertencem as quimeras (CARDOSO, FRANÇA *et al.*).

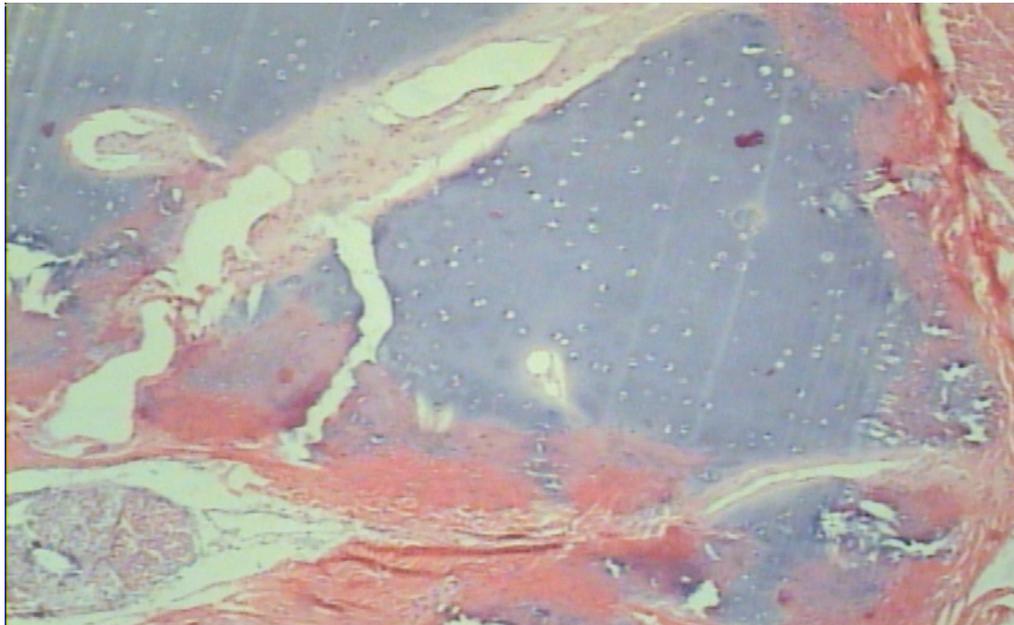


Figura 1. Fotomicrografia de cauda de raia mostrando o esqueleto cartilaginoso. HE 25X.

Há um grande número de espécies de peixe na bacia do Amazonas que são derivadas de peixes marinhos, como por exemplo, os acarás, algumas espécies de peixe semelhantes às anchovas e as raias.

Há 90 milhões de anos a cordilheira dos Andes se ergueu e a América do sul separou-se da África, o mar invadiu o rio que corria de leste para oeste e que passou a

correr de oeste para leste dessalinizando paulatinamente as águas de mares que secaram ou tornaram-se lagos ou paranás.(LOVEJOY, 1998)

Outras espécies de animais de água doce também se originaram de animais marinhos (botos, peixe-boi) que incursionaram para rios.

Estudos da origem das raias do gênero *Potamotrygon* usando-se seqüência de gens codificados no citocromo b mitocondrial mostraram que estas derivam de raias marinhas do Pacífico e do Caribe (*Himantura pacifica e Himantura schomardae*), que migraram para a costa e rios da Amazônia durante o mioceno. Os primeiros fósseis do gênero *Potamotrygon* são datados de oito milhões de anos (LOVEJOY, 1998).

São as raias animais peçonhentos. O ferrão é um órgão recoberto pelo tegumento pode ser em número de um a três. Isto não quer dizer que a cauda da raia possa ter três esporões separados o esporão é que pode fascicular e ter três extremidades (pontas).GERMAIN (2000), relata raias marinhas com até quatro esporões.

Pescadores do interior do Amazonas relatam também raias com "quatro ferrões" Não há relatos na literatura pesquisada sobre este achado.

As raias não usam seu ferrão para ataque. O animal apresenta contração do corpo e da cauda como reflexo quando há estímulo de seu dorso, com por um pé, por exemplo.(Figura 2)



Figura 2

4 ANIMAIS PEÇONHENTOS E ANIMAIS VENENOSOS

Os nomes animais venenosos ou peçonhentos geralmente são usados como sinônimos. Há diferenças entre eles. Animal peçonhento é aquele em que o veneno é distribuído por todo o seu corpo, não há aparelho produtor ou estocador. Animais venenosos possuem verdadeiros órgãos de veneno. As cobras são exemplos típicos destes animais. Neste trabalho foram usados os termos veneno e envenenamento e não peçonha e empeçonhamento (que talvez fosse o mais correto), por serem os termos usados em todos os trabalhos consultados.

Há quatro razões básicas de alguns animais terem veneno: pré-imobilização, morte, pré-digestão e defesa.

Um bom exemplo de pré-imobilização são as vespas caçadoras que imobilizam aranhas que são levadas vivas e depositadas em seus ninhos onde servirão de alimento para as larvas resultantes da postura dos ovos sobre o seu corpo. O veneno mantém o animal vivo, somente paralisado, pois as larvas necessitam de tecido fresco para a sua alimentação.

Geralmente as peçonhas e venenos dos animais são uma mistura de diversos componentes, cada qual com um modo de ação em que resultam diversas alterações na homeostase do animal atacado.

A composição dos venenos de cobra pode variar de acordo com a espécie, de acordo com a idade do animal, de acordo com a região onde vivem e também têm um caráter individual de indivíduo para indivíduo. Há variações do veneno mesmo em indivíduos da mesma região e com a mesma alimentação. (CARDOSO, FRANÇA *et al*, 2003).

Serão aqui relacionadas algumas frações de toxinas e suas atuações para que se possa entender as alterações nos indivíduos envenenados.

No veneno botrópico há as hemorraginas, que com o próprio nome indica provocam hemorragias, as fosfolipases que liberam a histamina de mastócitos (devido a destruição da membrana celular), a fosfolipase A (PLA), que libera o ácido aracdônico de fosfolipídios das membranas plasmáticas e, conseqüentemente a síntese de prostaglandinas. As proteases que agem sobre o cininogênio com a formação de bradicinina.

Os venenos animais exibem freqüentemente protease 5'-nucleotidase e atividades de hialuronidase. Não só o veneno de cobras, mas uma grande parte de venenos animais possuem a Fosfolipases e Fosfolipase A (TAN e PONNUDURAI, 1997)

O dano vascular ativa o fator XII da coagulação com ativação da calicreina.

Há ainda componentes do complemento, principalmente C3_a e C5_a, que participam da reação inflamatória (GUTIERREZ e LOMONTE, 1989 *apud* Souza, 2001).

Há outras enzimas, como as metaloproteinases, presentes no veneno de numerosas cobras, que são capazes de degradar as moléculas da matriz extra-celular como a fibronectina, entacina e colágeno do tipo IV.

A esfingomielinase que está presente nos venenos das aranhas do gênero *Laxosceles*. A hialuronidase é, também um componente comum em venenos de vários animais (HADDAD JR *et al*,2004).

Vê-se então, que durante milhões de anos, a natureza "adaptou" os venenos de animais às suas próprias necessidades, mas a matéria prima pouco se modificou, há parcelas de uma toxina maior num veneno que em outros, mas praticamente todos os venenos têm toxinas em comum.

5 ICTISMO CAUSADO POR RAIAS

As raias já eram conhecidas por Aristóteles (384- 322 a.C.), por Plínio (23 a.C,79 d.C.) e Aeliano (cerca de 120 d.C.)'. Diosdocorides (cerca de 100 d.C.) foi o primeiro a descrever convulsões e morte de um pescador que foi ferroadado por este animal (*apud* RODRIGUES, 1972).

No Brasil frei Cristóvão de Lisboa, em 1625- 1631, escreveu sobre animais e plantas da província do Maranhão, sendo responsável pelos primeiros desenhos de raias, tanto marítimas quanto de água doce.(*apud* Pardal in CARDOSO, FRANÇA *et al*, 2003)

Há numerosos estudos sobre raias, mas devemos ressaltar os de Russel, Halsted, Evans, Pardal, Haddad Jr e Magalhães.

Durante algum tempo as raias foram tidas como animais venenosos e acreditava-se que as glândulas produtoras estariam no esporão de sua cauda (VELLARD,1931 *apud* PARDAL in CARDOSO,FRANÇA *et al*,2003) tais achados.

As raias são animais peçonhentos já que em todo o seu tegumento há glândulas que produzem o veneno (Figuras 4 e 5).

RUSSEL (1965), examinando 10.000 raias durante um período de 15 anos observou que 30% destas não possuíam bainhas intertegumentares em seus esporões. Teriam elas perdido ou "usado" o veneno (*apud* RODRIGUES, 1972). A figura 3 mostra um ferrão de raia



Figura 3. Ferrão de raia.

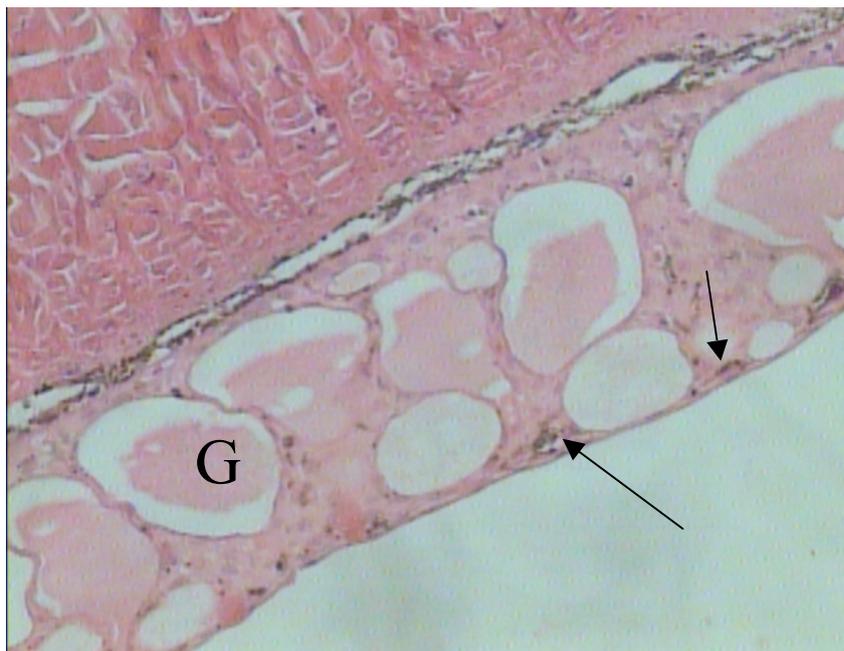


Figura 4. Tegumento de raia. G. Glândula .Setas. Células de pigmento HE. 100X

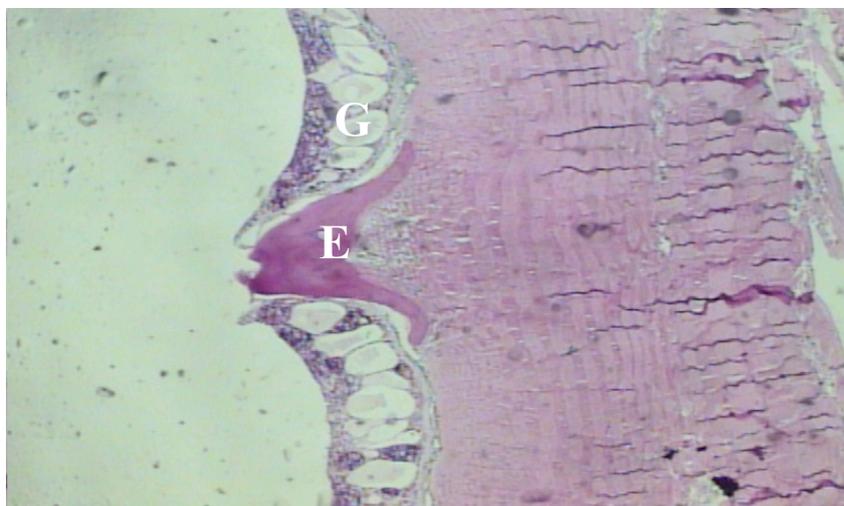


Figura 5. Tegumento de raia. E. Espícula. G. Glândula. PAS 100 X

Quem já trabalhou no interior do Amazonas deve ter ouvido relatos de pescadores que dizem que as raias pequenas causam maior dor que as grandes. Talvez esta afirmação seja pertinente, pois viu-se durante este estudo, algumas

raias grandes que possuíam ferrão ósseo sem o tegumento na sua extremidade e nas raias pequenas o ferrão possuía tegumento em toda sua extensão.

VELARD (1931) foi o primeiro a observar a ação do veneno de raias em animais de experimentação. Ele usou material de esporões de raias marinhas frescos, secos, conservados em glicerina. Demonstrou que ratos morriam com o extrato cru e que este era estável em temperaturas baixas e que as atividades tóxicas eram inativadas por ácido ou calor. (*apud* RODRIGUES, 1972).

MACKAY (1933) *et al.* usando extratos de raias também não identificadas, isolou dois princípios ativos que ele acreditava ser histamina e outro que mostrava efeitos semelhante à colina (*apud* RODRIGUES, 1972).

HALSTED (1956), fez descrições de alterações histopatológicas em músculo reto interno de coelho após injeção de veneno de raia associado a penicilina.

RUSSEL e PANOS (1958) estudaram o mecanismo de morte pelo veneno de raia em ratos, gatos e macacos, descrevendo dois casos fatais de lesões graves, onde houve perfuração do abdome de dois indivíduos por ferrão de grandes raias marinhas. Há uma excelente descrição clínica e laboratorial. Os autores lamentam ter sido impossível a realização das necropsias.

VITAL BRASIL (1962), relatou intensa queda na pressão arterial de cães em que foram injetados por via endovenosa extratos de veneno de raias de água doce não identificadas. (*Apud* RODRIGUES, 1972)

RUSSELL (1965) após hidrólise ácida, conseguiu isolar um total de 30% de proteínas e dez aminoácidos no veneno de *Urobotis sp*, fracionando-o por gel-filtração sugerindo que o componente tóxico era uma proteína cujo peso molecular

excedia 100.000 e o extrato cru mostrou conter serotonina, 5- nucleotidase e fosfodiesterase. (*apud* RODRIGUES, 1972).

RODRIGUES (1972) fez estudos sobre a farmacologia do veneno de raias da espécie *Potamotrygon motoro*, demonstrando sua similaridade na capacidade de causar hipotensão arterial como as raias marinhas. Estes estudos sugerem, segundo o autor, que a fração responsável pela hipotensão arterial é uma substância não lipídica, insolúvel em água, termoestável e parassimpaticomimética. Esta substância não é a histamina já que não foi inibida pelo Neo-Antergan® (um anti-histamínico).

BALDINGER (1999), apresentou uma sugestão de tratamento com aplicação tópica de um gel de um recombinante humano de fator derivado de crescimento de plaquetas, a becaplermina em gel a 0,01%.

BARRS (1984), descreveu dois casos clínicos de lesões, inclusive alterações histopatológicas, causadas por raia marinha *Dasyatis kuhli* e *D. sephen* tratando-as cirurgicamente, com sucesso, com desbridamento e ressecção em cunha de parte do tecido lesado. Todas as lesões tinham mais de 48 horas e ele descreve necrose de pele, tecido gorduroso e músculos.

GERMAIN *et al.* (2000) descreveram lesão no pé de uma paciente de 44 anos, após cerca de 72 horas do acidente e realizou incisão em cunha após 92 horas sendo feito exame histopatológico com imuno-histoquímica.

O autor observou uma fração dominante de células CD4 NK1.1 no infiltrado inflamatório. Estas células têm um fenótipo "natural killer", e sua maturação é relativamente rápida.

Ele relaciona o grande número de eosinófilos da lesão à produção de ECF pelos linfócitos NK 1.1 e que a lentidão na reparação e cicatrização seria decorrente da produção de enzimas por estes granulócitos.

A paciente deste relato necessitou tratamento em câmara hiperbárica, tendo o seu ferimento cicatrizado em segunda intenção em três meses.

CAMPBELL (2003), descreve caso de pseudo-aneurisma de artéria femoral superficial resultante de tratamento inadequado de ferroadada de raia em uma jovem, onde houve necessidade de reparo cirúrgico.

HADDAD JR *et al* (2004), realizaram excelente trabalho de clínica, epidemiologia e bioquímica, conseguindo caracterizar diversos componentes do veneno de *Potamotrygon falknen*. Foram detectados pelo menos 18 componentes. Quatro componentes tinham atividade caseinolítica, também várias proteases gelatinolíticas e, somente uma fração, com atividade para ácido hialurônico. Estas frações são termo-lábeis e são, segundo os autores, provavelmente responsáveis pela dor.

Eles afirmam em seu trabalho, ser este o primeiro em que um grande número de acidentes é descrito na literatura indexada.

Há várias outras descrições clínicas de lesões fatais e não fatais causadas raias marinhas e propostas para tratamento na literatura mundial (FENER, 1989; EVANS, 1996; IBISTER, 2001; SCHIERA, 2002).

5.1 SINAIS E SINTOMAS DO ICTISMO POR RAIAS

Todos os trabalhos em que se descrevem lesões, sejam estas por raias marinhas ou de água doce, têm a dor como sintoma principal, sendo esta desproporcional ao

ferimento. PARDAL (1999) encontrou este sintoma em 97,8% dos pacientes, HIDAKA *et al* (2001) em 77,8%. O resultado de um menor número de lesões com necrose nos trabalhos de HIDAKA *et al* (2001) provavelmente seja porque foi realizado em paciente que estavam na foz de um rio e é possível que alguns destes tenham sido ferroados por raias marinhas, que segundo HADDAD JR (2000), possuem veneno que causa menor dor e necrose. HADDAD JR *et al* (2004), relatam que a evolução crônica das úlceras resultantes da necrose é muito comum, havendo necrose e úlcera crônica em cerca de 90% de seus pacientes.

Entre os sintomas sistêmicos objetivos temos como o mais comum os vômitos, encontrados em 2,2% dos pacientes de PARDAL *et al* (1999) e em 3,7% dos pacientes de HIDAKA *et al* (2001).

Outros sintomas gerais descritos tanto nas raias marinhas quanto nas de água doce são tonturas, astenia, cefaléia, febre, diarreia. Nos casos mais graves são descritas arritmias cardíacas, convulsões e depressão respiratória. (BARSS, 1984; IKEDA, 1989; FENNER *et al*, 1989; EVANS e DAVIES, 1996; PARDAL *et al*, 1999; VIJITH, 2001; IBISTER, 2001; HIDAKA *et al*, 2001).

5.2 TRATAMENTO DO ICTISMO POR RAIAS

RUSSELL e LEWIS (1956), enumeram uma série de tratamentos exóticos usados naquela época para o tratamento das ferroadas. Infelizmente alguns destes e outros tratamentos ainda são usados nos tempos atuais:

Adrenalina, álcool, amônia, anti-histamínicos, cactus, sais de cálcio, ácido carbólico, pão de cassava, macerado de carvão mineral, cloreto de etila, fígado de

peixe, formaldeído, derivados de petróleo (ex.gasolina), iodina, permanganato de potássio, procaína, sumo de tabaco, urina, vinagre, vinho e água fria, gelada ou morna.

Com os conhecimentos atuais o tratamento tomou-se menos "empírico" mas, a maioria dos procedimentos e medicamentos usados, é sintomática ou para tratar as complicações da ferroadada.

Sendo as frações responsáveis pela dor temolábeis, há melhora quando são usadas compressas quentes nos primeiros momentos da lesão. O calor também causaria vasodilatação dissipando mais rapidamente o veneno e reduziria a vasoconstrição que também é provocada pelo veneno (HADDAD JR *et al*, 2004).

Podem ser feitas infiltrações com anestésicos locais sem vasoconstrictor para alívio da dor, além de analgésicos (incluindo opiáceos). Não há tratamento preconizado para prevenir a necrose.

Os tratamentos indicados para diminuir as complicações são o desbridamento e limpeza cirúrgicos, o uso de antibióticos para se evitar infecção secundária e uso de vacina anti-tetânica.

OBJETIVOS

1 GERAL

Estudar as características macroscópicas e histopatológicas de lesões experimentais seqüenciais causadas por esporões de raias em coxas de coelhos.

2 ESPECÌFICOS

- A)** Descrever as alterações anatomo-patológicas resultante da ferroadada de raias e as suas cronologias.
- B)** Descrever os prováveis mecanismos indutores das lesões relacionando-os com os achados histopatológicos.

MATERIAL E MÉTODOS

1 CAPTURA E MANUTENÇÃO DAS RAIAS

Foram usadas cinco raias capturadas no rio Solimões, na margem direita, em frente à Ilha da Velhas, da espécie. *Potamotrygon orbignyi*, durante o mês de setembro de 1990, pois nesta época na cidade de Manaus é estação de seca, estando os animais perto das margens sendo mais fácil sua captura com redes do tipo tarrafa.

Os animais tinham em média 30 cm de comprimento (com a cauda).

As raias foram transportadas em caixas de Isopor com água do local de sua captura e colocadas em aquários medindo 1,0 X 0,5 X 0,5 m repostos com água de poço arteziano de pureza assegurada (poço do Campus da UFAM), água esta utilizada para abastecimentos dos bebedouros dos departamentos da universidade.

O pH da água foi corrigido para se aproximar ao da água do local da captura (6,2) com solução para correção de pH de água de aquário Alcon Acid[®], cortituída por ácido clorídrico e água destilada. Foi utilizado pHmetro Íris 7, Tecnow[®]. O fundo dos aquários foi recoberto de areia fina adquirida em loja especializada. A água foi

aeronizada com aparelho próprio para aquários adquiridos também em loja especializada.

Os animais foram alimentados com alevinos obtidos no mesmo local de sua captura. Estes peixes eram sacrificados pouco antes de serem colocados no aquário, pois as raias são lentas e só comem peixes em movimento, que foi conseguido pelo turbilhonamento da água causado pelo aeronizador.

1.2 DESTINO DOS ANIMAIS

Todas as cinco raias morreram durante o desenvolvimento deste trabalho, pois são de difícil criação e facilmente se estressam. São animais frágeis, apesar de sua aparência.

Todos os animais mortos foram fixados em formol e segmentos de seus tecidos utilizados para exame histológico. Os métodos de procedimentos e colorações histopatológicas foram os mesmos utilizados nas biópsias do trabalho.

2. OS COELHOS

Vinte coelhos mestiços, machos, todos adultos, pesando entre 1400 e 1600g foram adquiridos em loja de animais estando hígidos e tendo passado por observação de uma semana a dez dias. Foram mantidos em gaiolas próprias medindo 1,0 X 0,5X 0,5 m, alimentados com ração Nutriara[®] (composta, segundo informação do fabricante, Calcário calcítico, farelo de alfafa, farelo de trigo, feno de alfafa, milho

integral moído, grãos de aveia, cloreto de sódio, melão, Grãos de soja extrusados, Grãos de sorgo, premix mineral, premix vitamínico e com eventuais substitutos, farelo de arroz e cevada. Eram oferecidos esporadicamente capim e cenoura. A água era dada *ad libitum* e provia do mesmo poço da água dos aquários ficava contida em bebedouros próprios. Os animais permaneceram durante o período do trabalho em sala refrigerada com iluminação natural.

2.2 DESTINO DOS ANIMAIS

Somente um animal morreu após o trabalho: coelhos da lesão de controle de 48 horas. Este fato não foi devido à lesão, mas por acidente na gaiola (ocorreu quatro dias após a obtenção da biópsia).

Todos os animais sobreviventes foram doados, estavam hígidos, alimentando-se bem e aparentemente saudáveis.

3 METODOLOGIA DO ESTUDO

3.1 PRODUÇÃO EXPERIMENTAL DO ACIDENTE

Foram utilizados um total de 20 coelhos, tendo sido ferroados aos pares biopsiados 2, 4, 6, 24, 48 e 72 horas após a lesão.

Coelhos de um grupo controle foram também ferroados aos pares após a anestesia e biopsiados 2, 4, 6 e 24 horas após a lesão. Os coelhos ferroados para estudo das lesões de 48 não foram biopsiados por estarem as lesões totalmente cicatrizadas. Não foram feitas lesões experimentais para estudo após 72 horas.

3.2 TÉCNICA ANESTÉSICA

Foi usado em cada coelho uma associação de xilasina e quetamina (Rampum®) e quetamina (Ketalar®) perfazendo uma dose de .12 mg./ kg de quetamina e 2 mg/kg de xilasina, injetada no reto externo da coxa direita do animal. Ele era considerado anestesiado quando perdia o reflexo córneo-palpebral (COLLINS, 1978).

3. 3 TÉCNICA DAS FERROADAS

3. 3.1 Com o Ferrão

Após os coelhos estarem anestesiados era feita a tricotomia manual na face lateral da coxa esquerda.

A raia era retirada do aquário com auxílio de pequena rede tipo puçá e com as mãos do manipulador protegidas por luvas de couro. O manipulador expunha o ferrão do animal e outro auxiliar levava o coelho e fazia pressão da coxa sobre o ferrão introduzindo-o cerca de um centímetro, provocando uma lesão que envolvia a pele e tecido subcutâneo, chegando ao músculo reto anterior.

As raias ficaram fora do aquário em média 20 segundos. Os coelhos eram então colocados numa gaiola isolados dos outros animais e acompanhados até o despertar. Eram alimentados e ingeriam água normalmente até o momento de nova anestesia para biópsia da lesão. O tempo de utilização da mesma raia para outra lesão foi de 5 a 7 dias tempo este calculado empiricamente para a regeneração do tegumento do ferrão.

3.3.2 Com estilete

Os coelhos do grupo controle foram ferroados com um estilete feito de aço inoxidável com o mesmo formato e tamanho do ferrão das raias utilizadas, usando-se a mesma técnica já acima descrita.

3.4 TÉCNICA DE OBTENÇÃO DAS BIÓPSIAS

Os coelhos foram anestesiados com a mesma técnica usada para as ferroadas e, após limpeza da pele com salina fisiológica, foi realizada uma biópsia excisional em cunha. Esta cunha abrangia toda a extensão da lesão, com margens de cerca de cinco milímetros na lateralidade e profundidade. Após isto a pele, tecido subcutâneo e músculo foram suturados em bloco com pontos simples com fio cirúrgico de algodão três zeros e deixada a sutura descoberta após antissepsia com povidona.

3.5 TÉCNICA DE FIXAÇÃO DAS BIÓPSIAS

As biópsias foram fixadas em formalina a 10%, tamponada, durante 24 horas.

3.6 TÉCNICA DE CLIVAGEM DO MATERIAL

De cada biópsia foram retirados dois segmentos longitudinais e um transversal.

3.7 TÉCNICA DE PROCESSAMENTO DOS ESPÉCIMES

As biópsias foram processadas no laboratório do Departamento de Patologia e Medicina Legal da Faculdade de Ciências da Saúde da UFAM. Eles foram submetidos a onze banhos, em diversas substâncias, na seguinte ordem e tempo:

Formol tamponado por uma hora.

Álcool 70% por uma hora.

Três banhos de álcool absoluto de uma hora cada.

Três banhos de xilol de uma hora cada.

Dois banhos de parafina de uma hora cada.

A seguir os espécimes foram emblocados em parafina histológica, sendo levadas a um micrótomo rotativo (AOTEC 820) e realizados cortes de 4 micra de espessura.

3. 8 TÉCNICA DE COLORAÇÃO DOS CORTES HISTOLÓGICOS

Os cortes foram corados pela técnica da hematoxilina (de Harris) e eosina, pela coloração tricrômica de Gomory, pela coloração de Grocott (para fungos), pelo ácido periódico de Shiff (PAS), (para muco, fungos e detalhes) pela coloração de GRAM (para bactérias) de acordo com as técnicas de PROPHET, MILLS, ARRINGTON e SOBIN (1995).

3.9 TÉCNICA DE OBSERVAÇÃO E FOTOGRAFIA DAS LÂMINAS

As lâminas foram observadas em microscópio Zeiss Axioplan acoplado a câmara digital Samsung , modelo SCC 131. As fotos foram impressas no papel por impressora Epson R 300.

RESULTADOS

1 COELHOS FERROADOS COM ESPORÃO DE RAIAS

1.1 ASPECTOS MACROSCÓPICOS

1.1.1 Lesões de 2 horas

No exame das lesões de 2 horas após a ferroadada experimental observava-se eritema e discreto edema nas feridas.

1.1.2 Lesões de 4 horas

No exame das lesões de 4 horas após a ferroadada experimental notava-se aumento do edema e eritema peri-lesional.

1.1.3 Lesões de 6 horas

As lesões observadas 6 horas após a ferroadada experimental mostravam um grande edema e eritema peri-lesional.

1.1.4 Lesões de 12 horas

As lesões de 12 horas após a ferroada exibiam a pele ao redor da ferida cianosada, com bordos enegrecidos e havia edema e eritema das coxas dos coelhos.

1.1.5 Lesões de 24 horas

As lesões de 24 horas mostravam necrose da pele perilesional, eritema e edema acentuado da coxa do animal.

1.1.6 Lesões de 48 horas

As lesões de 48 horas mostravam grande área de necrose da pele que apresentava aspecto edematoso e succulento (Figura 6). Esta lesão é descrita como em "bulbo de cebola" ou semelhante a ondas causadas por uma pedra lançada na água ("stone-shot in water"). (HADDAD JR *et al.* 2004).



Fig.6. Aspecto macroscópico da lesão de 48 horas. Notar o aspecto em bulbo de cebola ou de “pedra atirada na água”.

1.2 ASPECTOS MICROSCÓPICOS

1.2.1 Lesões de 2 horas

A alteração histopatológica encontrada nas biópsias da segunda hora após a lesão experimental foi somente congestão vascular leve.

1.2.2 Lesões de 4 horas

No tecido conjuntivo da derme da biópsia notava-se vasos sanguíneos dilatados. Havia início de marginação de leucócitos e eram observados alguns eosinófilos no interstício. O tecido conjuntivo da derme apresentava edema discreto que se traduzia por afastamento das fibras colágenas. (Figura 7).

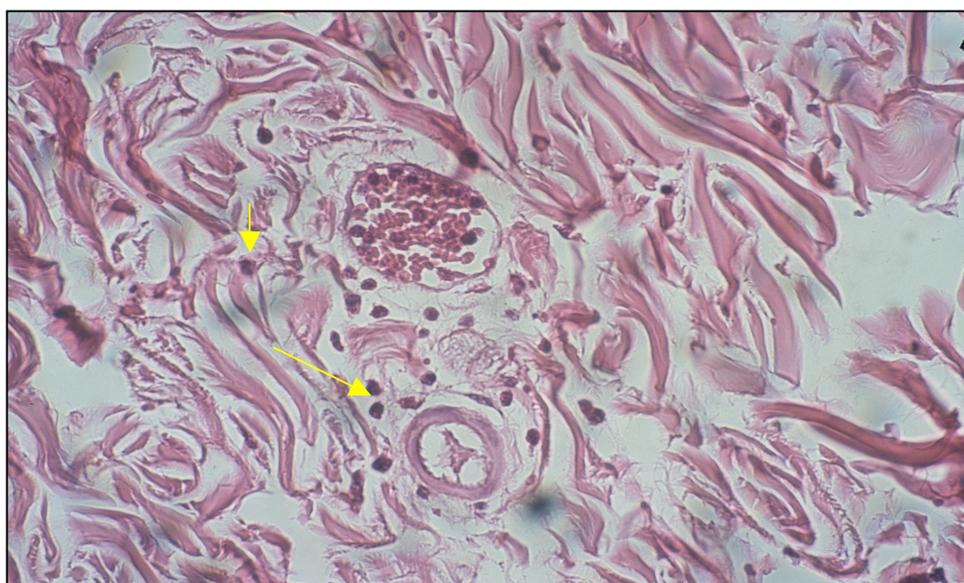


Figura 7. Fotomicrografia de lesão de 4 horas. Derme profunda. Notar os eosinófilos no interstício (Setas). HE 100 X.

1.2.3 Lesões de 6 horas

O exame microscópico mostrava vasos sangüíneos exibindo, margeamento de Eosinófilos. Notava-se a diapedese destas células, encontrando-as também no interstício. Havia algumas fibras musculares onde se notava degeneração hidrópica. . Observava-se edema no tecido conjuntivo e entre as fibras musculares (Figura 8).

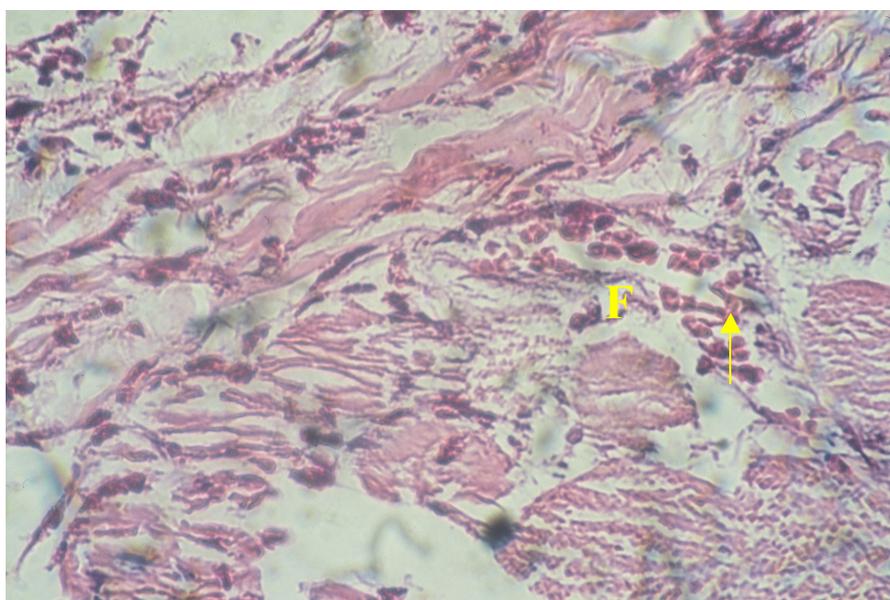


Figura 8. Fotomicrografia de lesão de 6 horas. Notar diapedese de eosinófilos (Seta). As fibras musculares exibem degeneração hidrópica (F). HE 100 X

1.2. 4 Lesões de 12 horas

Na microscopia observava-se necrose da epiderme, edema, hemorragia e fibras musculares exibindo miocitólise (Figura 9).

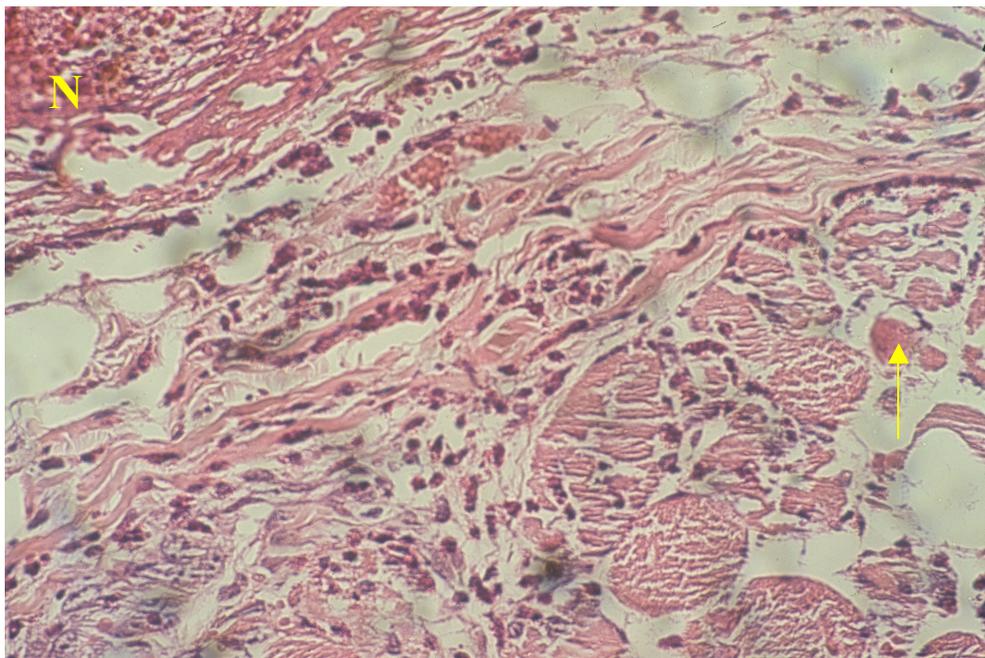


Figura 9. Aspecto microscópico de lesão de 12 horas. (N) Necrose na derme. (Seta) Miocitólise. HE 100 X.

1.2.5 Lesões de 24 horas

As alterações histopatológicas observadas 24 horas após a lesão experimental, foram necrose da epiderme e derme superficial com formação de abscessos constituídos basicamente por eosinófilos. Havia também necrose de extensa área da derme profunda e necrose de fibras musculares. A figura 10 mostra a necrose da epiderme e da derme superficial com aspecto em cunha.

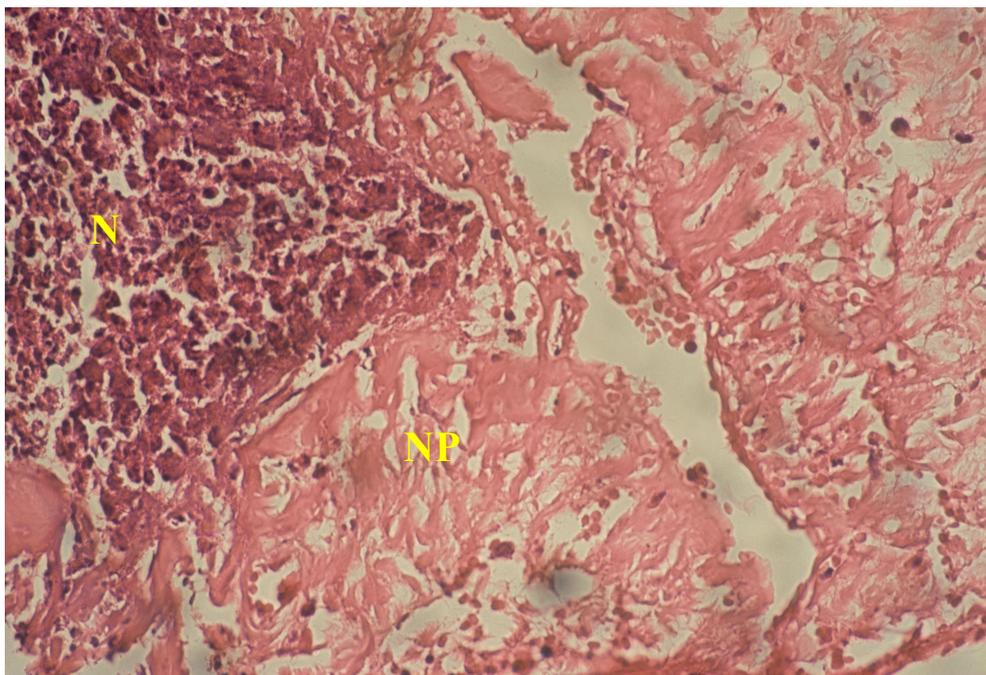


Figura 10. Aspecto microscópico da lesão de 24 horas. Necrose da derme superficial em cunha (N).Necrose da derme profunda.(NP). HE 100X.

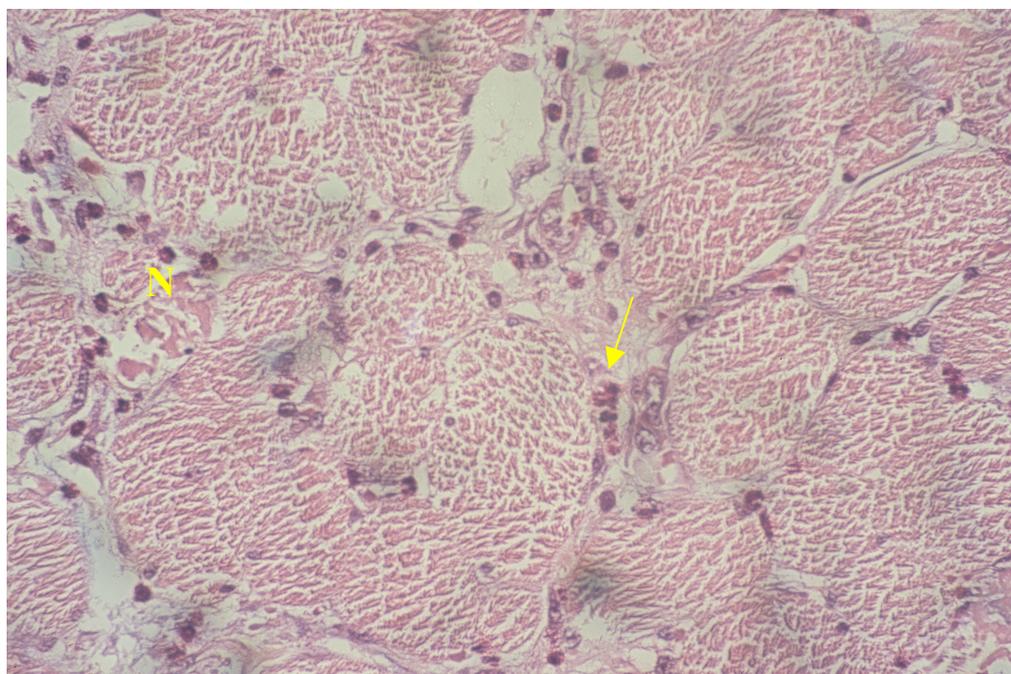


Figura 11. Fotomicrografia da lesão de 24 horas. Musculatura profunda. Notar o início de necrose de fibras musculares. (N), e os eosinófilos entre as fibras (Seta) HE 200 X

1.2.6 Lesões de 48 horas

No exame microscópico observavam-se nos planos superficiais basicamente os mesmos achados histopatológicos das lesões de 24 horas. No músculo observa-se *miocitólise* de fibras com vacuolização e infiltrado inflamatório constituído predominantemente por eosinófilos. A necrose era mais acentuada na epiderme, derme superficial e profunda e hipoderme. A figura 12 mostra o aspecto do músculo.

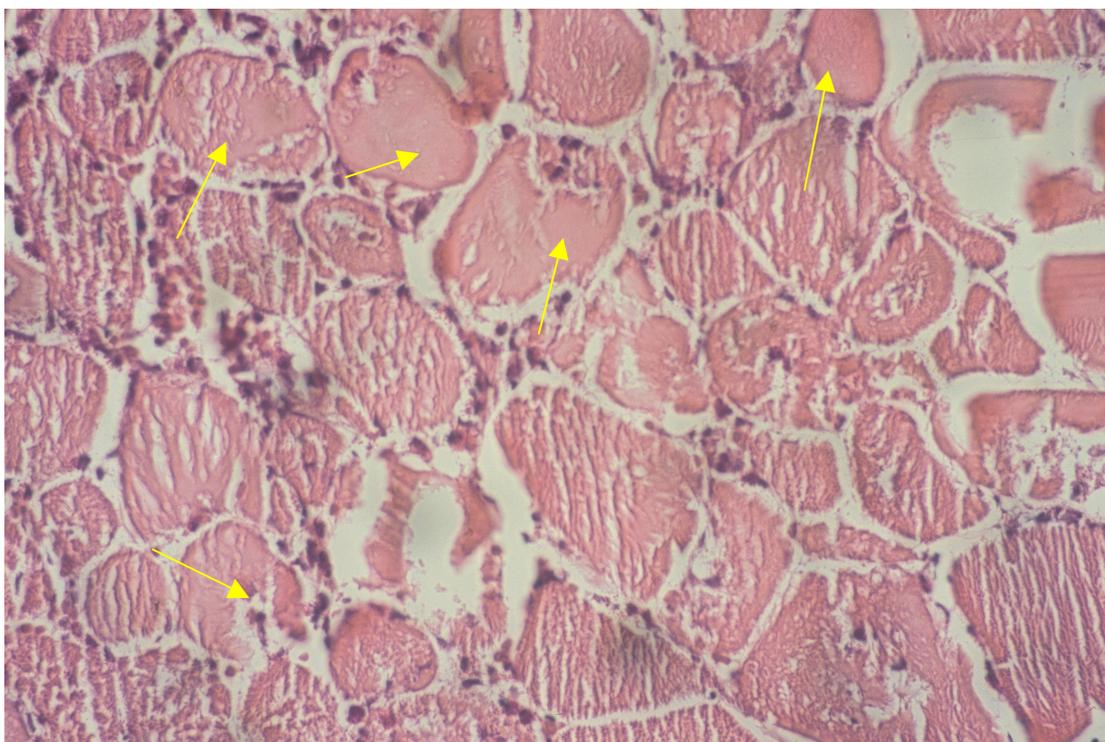


Figura 12. Fotomicrografia de lesão de 48 horas. Notar miocitólise (Setas}.HE 100 X.

OBSERVAÇÕES GERAIS SOBRE AS LESÕES

a) Não foram feitas fotomicrografias das lesões de 2 horas por serem os achados pouco significativos

b) Os aspectos macroscópicos e microscópicos das lesões não modificaram nos coelhos de 72 horas.

c) Também a título de observação, informa-se que, num projeto piloto realizado anteriormente a este trabalho, foi feita uma lesão na coxa de um coelho que foi muito superficial, porém, nesta lesão obteve-se a melhor imagem do abscesso rico em eosinófilos. A fotomicrografia foi incluída neste trabalho para melhor ilustração. A biópsia foi realizada cerca de 30 horas após a ferroadada (figura 13).

Os cortes corados pela coloração de GRAM constataram algumas bactérias contaminantes na lâmina (Figura 14). Não observados fungos no exame pela coloração pelo PAS.

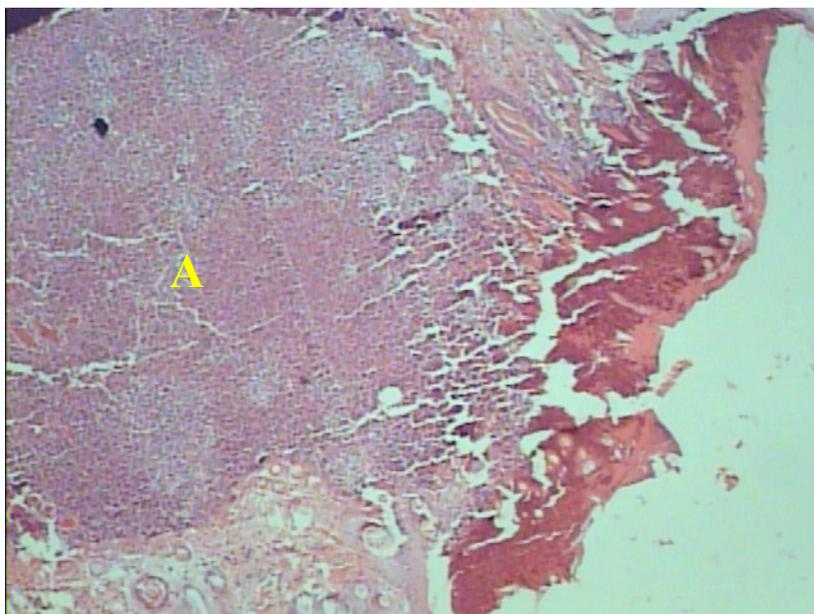


Figura 13 Fotomicrografia de lesão de cerca de 30 horas. Abscesso na derme superficial (A). HE 25 X

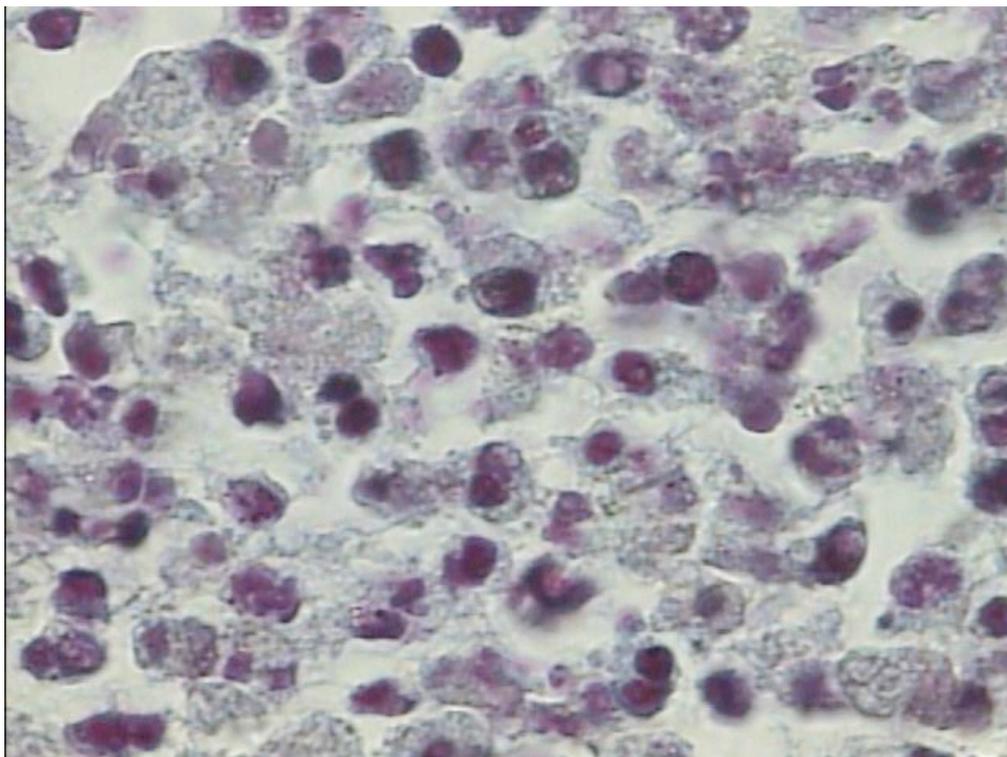


Figura 14. Fotomicrografia em grande aumento da lâmina anterior. A população de células do abscesso é constituída predominantemente por eosinófilos.. Há raras bactérias contaminantes na lâmina. GRAM 630 X

2 COELHOS FERROADOS COM ESTILETE DE AÇO INOXIDÁVEL

As lesões no grupo controle foram feitas com estiletos no formato e tamanho dos ferrões das raias usadas, feitos com aço inoxidável.

Não foram realizadas biópsias das lesões de 48 horas e não foram feitas lesões para estudo após 72 horas, pois a histopatologia das lesões até 24 horas mostraram pouquíssimas alterações e as de 48 e 72 horas estavam cicatrizadas.

2.1 ASPECTOS MACROSCÓPICOS

2.1.1 Lesões de 2, 4 e 6 horas

Nas lesões de 2, 4 e 6 horas notava-se pequena hiperemia ao redor do ferimento,

2.1.2 Lesões de 24 horas

Nas lesões de 24 horas notava-se uma crosta sero-hemática e discreto edema e hiperemia perilesional.

2.2 ACHADOS MICROSCÓPICOS

2.2.1 Lesões de 2, 4 e 6 horas

Os cortes histológicos mostravam discreto edema entre as fibras e hiperemia leve.

2.2.2 Lesões de 24 horas

O exame microscópico mostrava a lesão da epiderme recoberta por uma crosta sero-hemática e um discreto edema e congestão de vasos da derme (Figura 15). Nos músculos notava-se um pequeno edema. As fibras musculares estavam íntegras (Figura 16).

Todos os cortes histológicos foram corados pela hematoxilina-eosina, pela coloração de Grocott (para pesquisa de fungos), pelo método de GRAM (para pesquisa

de bactérias), pelo PAS (para pesquisa de fungos e muco) e pelo método tricrômico de Gomory (para uma melhor observação dos tecidos quando necessária).

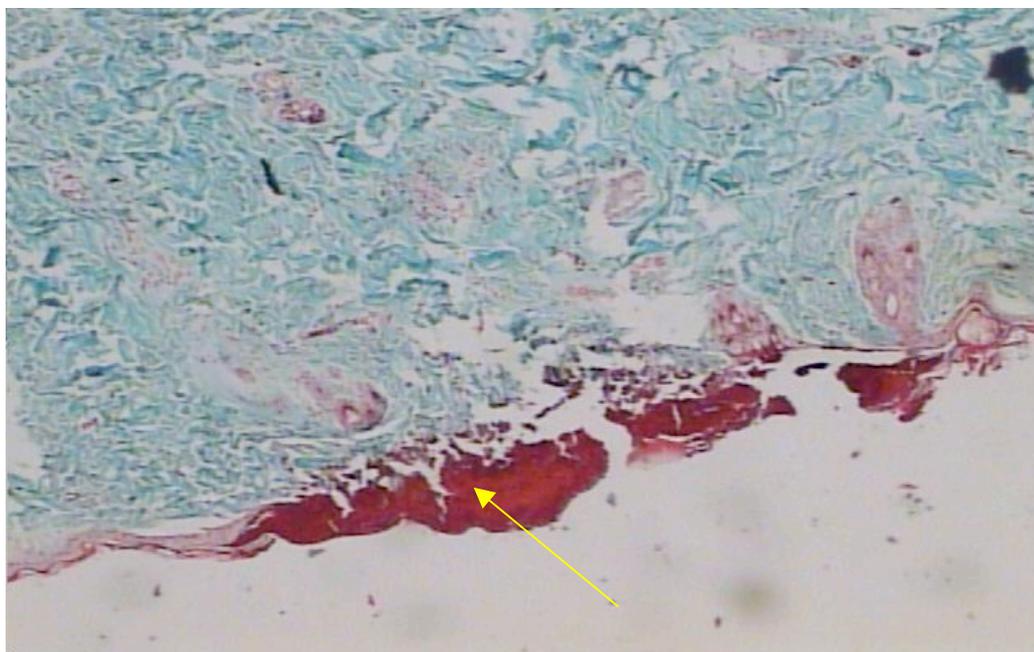


Figura 15. Fotomicrografia de lesão experimental com estilete de aço inoxidável. Crosta sero-hemática(Seta). Tricrômico de Gomory 25 X

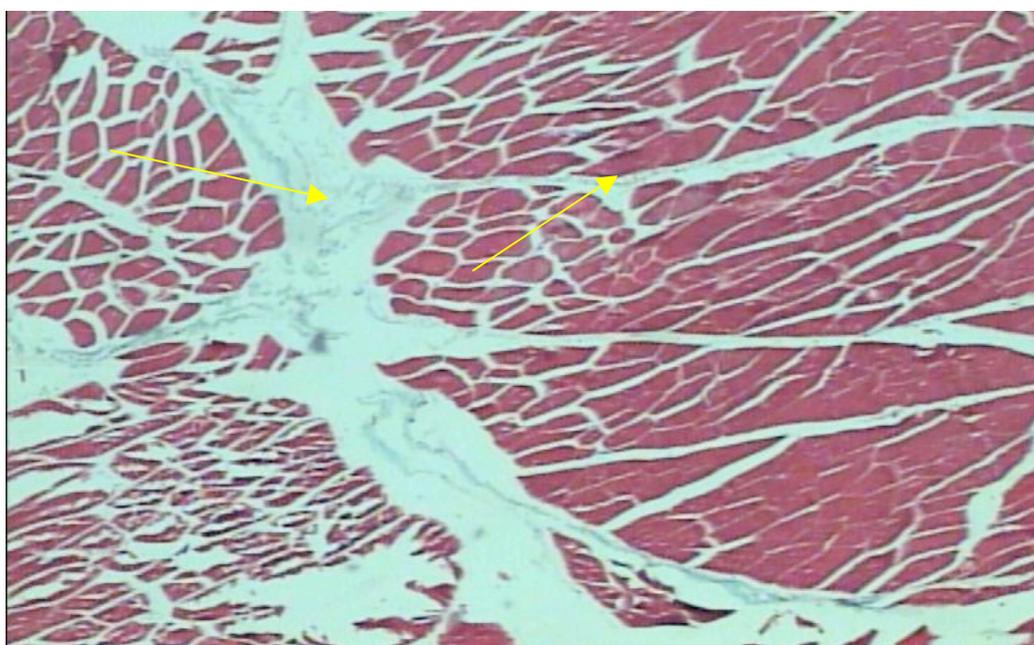


Figura 16. Mesma lesão da figura anterior. Camada muscular. Não há infiltrado. Há discreto edema entre as fibras musculares (Setas). Tricrômico de Gomory 25 X.

DISCUSSÃO

Há poucos trabalhos na literatura mundial sobre alterações tissulares no ictismo por raias, a maioria dos trabalhos é apresentação de casos clínicos e sugestões para tratamento. Os resultados deste trabalho são comparados aos achados das lesões causadas por raias de água salgada e doce. Há grande semelhança nos achados clínicos das lesões causadas tanto pela raias de água doce quanto pelas de água salgada (EVANS, 1996; PARDAL *et al*, 1999; HADDAD JR, 2004).

A lesões causadas por esporões de raias em seres humanos mostram certas características próprias. A dor é sintoma relatado em todos os trabalhos onde se faz apresentação de casos clínicos (EVANS,1996; BALDINGER,1999; VIJITH, 2001; IBSTER, 2001; SCHIERA *et al*, 2002).

HADDAD JR (2000), relata que a dor e a necrose causadas pela ferroadada de raias de água doce são mais intensas que nas de água salgada (*apud* HADDAD JR *et al*, 2004).

A dor da ferroadada perdura por cerca de 48 horas (GERMAIN, 2000). Coincidentemente neste trabalho observou-se que a lesão tissular máxima foi

encontrada neste intervalo de tempo. A dor estaria ligada á atividade das enzimas do veneno e perduraria por cerca de 48 horas.

A necrose aconteceu em todas as ferroadas e é também uma característica comum no ictismo por raias (PARDAL 1999; HIDAKA, 2001). Neste trabalho ela se tomava bem evidente na lesão experimental de 48 horas e não modificou seu aspecto até 72 horas após a ferroadada (tempo em que foi feita a última biópsia seqüencial). Não foi realizada nenhuma biópsia após este tempo. As enzimas existentes nos venenos destes animais, tais como 5-nucleotidase, Fosfodiesterase (RUSSEL,1965), Caseinases, Gelatinases, Hialuronidades (HADDAD JR *et al* (2004) e Fosfolipases (TAN e PONNUDURAI, 1992) e outras ainda não isoladas, seriam responsáveis pela grande necrose. Estas proteases seriam responsáveis também pela dor devido a sua ação sobre o cininogênio com formação de bradicinina (SOUZA,2001).

Os achados de BARSS (1984) representados por necrose de pele, tecido subcutâneo (tecido adiposo) e músculos (com vacuolização) também foram reproduzidos nas lesões experimentais.

A área de necrose com o formato em cunha mais evidente nos planos superficiais, também foi característica, tem como explicação a técnica das ferroadas experimentais. As lesões foram todas perpendiculares à pele. O ferrão tem o formato aproximado de uma adaga e é recoberto, geralmente, em toda sua extensão pelo tegumento que contém glândulas de veneno. O animal não injeta seu veneno como as serpentes. Ele "enxuga" o seu ferrão. É claro que os planos superficiais receberam maior quantidade de veneno devido à sua liberação tanto na entrada com na saída do ferrão, além do traumatismo nas duas passagens.

HADDAD (2000), relata que infecções por *Staphylococcus sp* e *Pseudomonas sp*, são comumente encontradas no ictismo por raias. Convém lembrar que os coelhos lambiam freqüentemente as suas feridas deixando-as sempre limpas, não tendo sido observadas infecções secundárias, muito comuns entre seres humanos acidentados (HADDAD JR *et al*, 2004).

BARRS (1984), descreve tratamento de dois casos de lesões com raias em que foram feitas ressecção em cunha das lesões, tendo obtido cura completa em poucos dias em ambos os casos. Em todos os coelhos foram feitas ressecções em cunha das lesões para retirada do material para biópsia e houve cura em 100% dos animais.

É curioso relatar que não foi preciso retirar os pontos de sutura do local da biópsia, porque além do desbridamento e limpeza das feridas, os animais cortaram e retiraram os fios.

Nos achados microscópicos das lesões experimentais de 12 horas deste trabalho já se nota necrose e um infiltrado inflamatório com predominância de eosinófilos.

Não há necessidade de lesão extensa e profunda para se observar reações e alterações teciduais. Se utilizarmos como exemplo a lesão do coelho do projeto piloto veremos que, apesar da lesão pequena e superficial, há necrose e a formação de abscesso com presença de grande quantidade de eosinófilos.

Os eosinófilos correspondem nos humanos a 1 a 3% dos leucócitos. Eles são encontrados em um número 500 vezes maior nos tecidos.(LAMPINEN,*et al*, 2004). Possuem nos grânulos de seus citoplasmas quatro proteínas catiônicas distintas, a Proteína básica principal (MBP), a peroxidase eosinofílica (EPO), a proteína catiônica

eosinofílica e a neurotoxina derivada de eosinófilos. Eles produzem também cerca de 24 citocinas ou quimiocinas com funções proinflamatórias e imunomoduladoras (BANDEIRA DE MELO *et al.*, 2003).

Os eosinófilos migram para os tecidos respondendo a fatores quimiotáticos produzidos no local onde há inflamação. Tem-se sugerido vários fatores com esta função. O PAF, fator complemento C5_a e f-Met-Leu-Phe foram os primeiros descritos. Há outros fatores já reconhecidos com propriedades quimiotáticas para eosinófilos, como a IL-3, IL-5, IL-13 e GM-CSF. Há numerosos outros fatores sendo estudados (LAMPINEN *et al.*, 2004).

O grande número de eosinófilos encontrados nas lesões, provavelmente, deve-se a três fatores.

a) Fosfolipases, comum nos venenos de animais e presente no veneno das raias (TAN e PONNURURAI, 1997) promove a desgranulação dos mastócitos pela lise de suas membranas celulares. Os grânulos dos mastócitos, entre outras substâncias possuem o Fator Quimiotático para eosinófilos (ECF).

b) Linfócitos NK1.1 T encontrados nas lesões causadas por raias marinhas em seres humanos são células da imunidade inata também produzem ECF, atraindo também eosinófilos (GERMAIN 2000). Neste trabalho vemos que a marginação e a diapedese dos eosinófilos acontecem poucas horas após a lesão.

c) A quantidade de eosinófilos na lesão é muito grande e sua migração, como já dito, muito precoce. Ela inicia antes de doze horas após a ferroadada. Não há explicação atual para tal fenômeno. Poder-se-ia pensar que haveria alguma fração no veneno que funcionaria como fator quimiotático para eosinófilos.

Os venenos de cobra possuem complemento C5_a. Os venenos de animais, como já foi exposto, possuem toxinas comuns. O veneno de raia possuiria complemento C5_a e seria este um dos fatores quimiotactantes para eosinófilos.

Como já foi visto, os eosinófilos possuem grânulos com peroxidase, enzima que pode causar necrose tecidual. A MBP também seria também responsável pela necrose.

Há descrição de parestesias em membros com lesões causadas por raias (SCHIERA *et al.*, 2002; HADDAD JR *et al.*, 2004). Esta seria resultante de lesão neural causada pela neurotoxina derivada de eosinófilos.

GERMAIN (2000) relaciona a grande quantidade de eosinófilos no infiltrado inflamatório com a necrose e lentidão da cura da ferida. Neste trabalho há elementos que podem corroborar com esta teoria.

CONCLUSÕES

A) As lesões causadas por ferrão de raias são resultantes do envenenamento. A ação traumática do ferrão é de pouca importância na sua gênese.

B) As lesões experimentais em coelhos foram bastante semelhantes às lesões descritas em acidentes com seres humanos, mas não permitem que se afirme que estas tenham igual evolução, pois as feridas experimentais não apresentaram infecção secundária, muito comum em humanos (HADDAD JR , 2000).

C) A intensidade máxima das lesões histopatológicas foram atingidas em 48 horas, sendo também este o tempo de intensidade máxima do infiltrado inflamatório com predominância de eosinófilos. Seria este fator responsável parcialmente pela necrose tecidual e pelo prolongamento do tempo de reparação e cicatrização das lesões.

D) A técnica recomendada por BARRS (1984) da ressecção em cunha da lesão foi curativa em todos os animais. Estudos com um maior número de pacientes deveriam ser feitos. As lesões, mesmo sem infecção, contêm grande número de eosinófilos, o que, provavelmente, aumentaria o tempo de reparação e cicatrização. A retirada da lesão anularia este fator.

A figura 17 sintetiza os conhecimentos atuais e as hipóteses da gênese das alterações histopatológicas na ferroadada de raias.

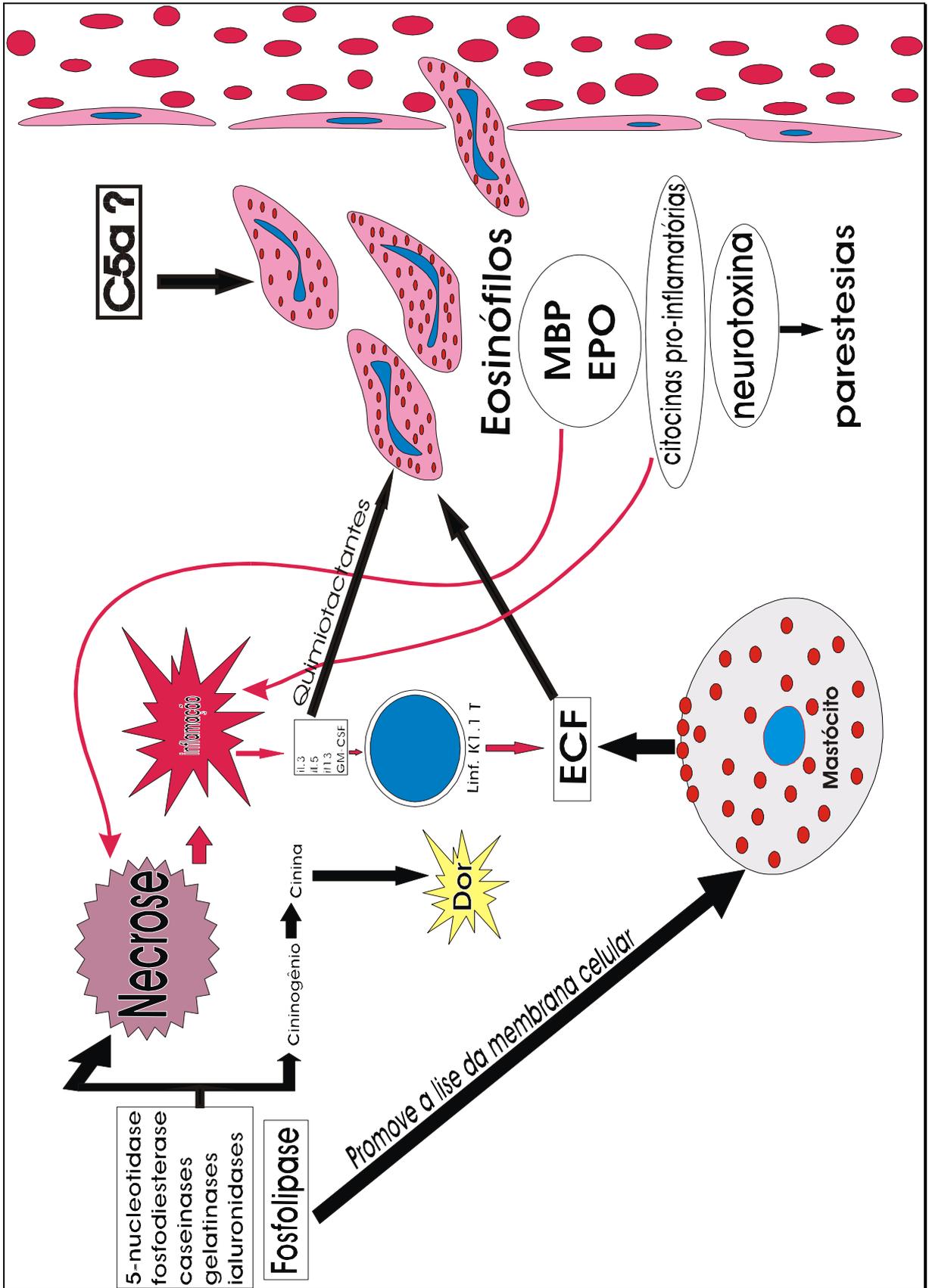


Figura 17.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AELIAN. *De Natura Animalium*. 1553. Leyden. Netherland.

ALMEIDA, V. G. Peixes peçonhentos e/ ou venenosos: classificação, características gerais, mecanismo de envenenamento, tratamento e prevenção de acidentes. **Apostila para aula do Departamento de Zoologia do Instituto de Biologia da UFBA. Salvador, 1988.**

ARISTOTLE. *Historia Animalium*. Trad. Darcy W. Thompson. Oxford. England.

BANDEIRA DE MELO, C, PEREZ, S.A.C. MELO, R.C.N. GHIRAN, I WELLER, P. EliCell assay for the detection of relelease cytokines from eosinophils. **Journal of Immological Method**. v.276, n.1-2. p. 227-37. May, 2003.

BALDINGER, P. J. Treatment of stingray injury with topical blecaplermin gel. **J Am Pediatr Med Assoc**. v. 89, n. 10, p. 531-3.Oct, 1999.

BARRS, P. Wound necrosis caused by venom of stingrays. Pathological findings and surgical manegement. **Med J Aust**. v. 8, n. 12-13, p.854-5, Dec. 1984.

CALIFORNIA ACADEMY OF SCIENCES. Disponível em: <<http://www.calacademy.org>>. Acesso em: 7 ago. 2004.

CAMPBELL, J.; GRENON, M; YOU, CHOONG K. Pseudoaneurysm of the Superficial Femoral Artery Resulting from Stingray Evenomation. **Annals of vascular Surgery**. v.17, n. 2, p. 217-20. April, 2003.

CARDOSO, J.L.C., FRANÇA,, F. O. S. *et al.* **Animais Peçonhentos do Brasil. Biologia, Clínica e Terapêutica dos Acidentes**.São Paulo: Sarvier, 2003.

COLLINS, V.J. **Princípios de Anestesiologia**.2 ed. Rio de Janeiro:Guanabara Koogan. 1978.

EVANS, R. J. DAVIES. R. S. Stingray Injury. **J Accid Emerg Med.** v.13, n. 3 p.225-5. May, 1996.

FENNER, P. J. ; WILLIAMSON, J. A.; SKINNER, R. A. Fatal and non-fatal stingray envenomation. **Med J Aust.** v.4-18,151, n. 11-12, p. 621-5, August. 1989.

GERMAIN, M, Smith, K. J., Sketon, H. T. The cutaneous cellular infiltrate envenomation contains TIA + Cells. **Br. J. Dermatol.**, v. 143 n. 5, p. 1074- 7, Nov 2000.

HADDAD Jr, V. GARRONE NETO. D, PAULA NETO, J.B. MARQUES,F.P. BARBARO, K. C. Freshwater stingray: study of epidemiologic, clinic and therapeutic aspects base don 84 envenomings in humana ris some enzymatic activities of the venom. **Toxicon.** v.43, n. 3, p. 287-94. March, 2004.

HALSTEAD, J. E. Venoms. **Am. Assn. Adv. Sei. Washington.**1956. p.467.

IDAKA, A. S. V. França, S. D. M. PARDAL, P. P. O. GUIMARÃES, A. C. BARROSO, E. SANTOS, A. X.. Notificação de Acidentes com Arraias no Pará, no Período de Março de 1998 a Março de 2000, no CIT - Belém. **Ver Soc Br Méd Trop.** v 34 (suplemento). 2001.

IKEDA, T. Supraventricular bigeminy following a stingray envenomation: case report. **Hawaii Med J.** v. 48, n. 5, p. 162-4, May 1980.

LAMPINON, M. CRISON,M. HJJKANSSON, P.V. Cytokine- regulated accumulation of eosinophils in inflamatory disease. **Allergy.** v 59, p. 793-805. 2004.

LOVEJOY, N.R.; BERMINGHAN, E. e MARTIN, A. P. Marine incursion into South América. **Nature.** v.396, n. 6710. p.421-22.December,1998.

MACHADO, Hidrografia do Brasil. Disponível em:<<http://www.brcactaceae.org/hidrografia.html>>. Acesso em 7 ago. 2004.

MUNIZ, E.G. **Veneno de Crotalo durissus ruruima-** Propriedades moleculares, farmacológicas e imunológicas. Manaus: UFAM, 2002. Dissertação(Mestrado em Patologia Tropical), Faculdade de Ciências da Saúde. 2002.

PARDAL, J. S. O. MIRANDA, A. S. A. LIMA, A. S. MIRANDA, J. B. B. PARDAL, P. O. Aspectos Epidemiológicos e Clínicos de Lesões por Arraias Fluviais do Estado do Pará. **Rev. Soc Méd Trop.** v. 32, (suplemento 1). 1999.

PROPHET, E. B. MILLS, B. ARRINGTON, J. B. SOBIN, L. H. **Metodos Histotecnologicos.** Tradução para o castelhano, Clara S. Heffess e Florabel G. Muleick.. Washington. Army Force Institute of Pathology (AFIP). 1995.

SOUZA, A.R.B. **Acidente por Bothrops atrox(Lin.,1758)no Estado do Amazonas: Estudo de 212 casos com identificação da serpente.** Manaus: UFAM, 2001. Dissertação (mestrado em Patologia tropical), Faculdade de Ciências da Saúde. 2001.

RODRIGUES, R. J. Pharmacology of South American freshwater stingray venom *Potamotrygon motoro*. **Trans. NY Acad. Sci.**, 34, 677- 86, 1972.

RUSSEL, F. E. **Marine toxins and venomous and poisonous marine animals.** *In* Advances in Marine Biology. Sir F. S. Russel. Academic Press. London. England.1965. p 338.

RUSSEL, F. E.; PANOS, T. C. *et al.* Studies on mechanism of death from stingray venom. A report of two fatal cases. **Am. J. Sciences**, n.235, p.556- 84, may, 1958.

SCHIERA, A. BALTIFOGLIO, M. L. SCARABELLI, G. CRIPA, D. Stingray Injury in a domestic aquarium. **International Journal of Dermatology**.v.41, n.1, p 50. January. 2002.

TAN, N. H.; PONNUDURAI, G. Comparative study of enzymatic, hemorrhagic activities of some animal venoms. **Com. Biochem. Physiol. C. Comp. Pharmacol. Toxicol.** v.103, f. 2, p. 299- 302, 1992.

VELARD, J. Mission scientifique au Goyaz et au Rio Araguaya. **Mem. Soc. Zool.** v. 29, p. 513-39. France. 1931.

VIJITH, V. S. Stingray envenomation or iatrogenic thermal burn. **Australian and New Zealand Journal of Surgery**. v. 71, n. 5, p. 323. May. 2001.

VITAL BRASIL, O. Comunicação Pessoal. 1962.

ANEXOS



Lesões causadas por raias

Imagens capturadas no site: http://www.elasmo-research.org/education/topics/saf_wound.htm



Esta raia (*Himantura Chaophraya*) mediu 4,2 metros e cerca de 420 quilos. Esta foi a maior raia pescada no rio Mekong.

Imagem capturada no site:

<http://news.nationalgeographic.com/news/2003/11/photogalleries/giantcatfish/photo.html>



Fóssil de raia *Heliobatis Radians* (período eocênico)

Imagem capturada no site: <http://www.geoclassics.com/stingray-lg.jpg>

