

LESÕES RENAIIS INDUZIDAS EXPERIMENTALMENTE NO CÃO PELO VENENO CROTÁLICO

MOACYR DE FREITAS AMORIM *, RAUL FRANCO DE MELLO e FERES SALIBA

Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de S. Paulo e Secção de Anatomia Patológica, Instituto Butantan, S. Paulo, Brasil

Em autopsias humanas de indivíduos intoxicados pela cascavel, *C. d. terrificus*, Amorim e Mello (1952-54) observaram que a morte se dava com um quadro anatomopatológico típico de nefrose hemoglobinúrica, também chamada de nefrose do nefron inferior, ou melhor do nefron intermediário, segundo preferiram denominá-la pelas razões que já expuzeram em suas publicações anteriores.

Naquilo que diz respeito ao envenenamento em geral, não encontramos menção alguma à hemoglobinúria em publicações nacionais, como também nas estrangeiras que foram consultadas por nós. Sabemos apenas que se trata, no caso do veneno crotálico (*C. d. terrificus*) de um tóxico fortemente hemolítico (Fonseca, 1949), ao contrario dos venenos do gênero *Bothrops* que apresentam propriedades fortemente coagulantes, sendo até usados terapêuticamente para tal fim, muito embora possuam, igualmente, uma fração hemorragipara.

Pearce (1909) refere ter produzido a hemoglobinúria e a hematúria, em coelhos tratados com veneno de *Crotalus adamanteus*.

Flavio da Fonseca (1949), em seu livro, relata a existência de hematúria, albuminúria e anúria (pg. 145). Estes fenômenos são descritos, principalmente em relação aos acidentes por veneno botrópico, nos quais o autor descreve hemorragias da mucosa bucal, uterina, intestinal e pelos ouvidos, "vômitos e urina sanguinolentos" (pg. 136). "As hemorragias pelas mucosas são causadas por lesão do endotélio capilar pela histamina libertada", do mesmo modo como "as hemorragias em órgãos importantes da economia" (pg. 145). Fonseca refere-se também, de um modo geral, à ação hemolítica dos venenos ofídicos, isto é, "destruidora dos globulos vermelhos, alterando o sôro sanguíneo, que passa a exercer uma ação dissolvente sôbre as hemácias, graças à transformação da lecitina em uma substância altamente hemolítica, a liolecitina". Nêsses casos, não se refere nem uma vez à existência ou não da hemoglobinúria, isto é, à presença de hemoglobina livre na urina, sem a coexistência de hematúria.

Schöttler (1951), em seu trabalho de revisão da toxidez dos principais venenos ofídicos do Brasil, acentua com razão que o veneno crotálico quase não causa alterações macroscôpicamente visíveis. Não se refere, nenhuma vez sequer,

* Professor Catedrático de Anatomia e Fisiologia Patológicas da Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de S. Paulo.

Recebido para publicação em 20 de março de 1968.

às lesões renais ou à ação dos venenos ofídicos, em geral, sobre o rim ou sobre o sangue, nem a uma ação hemolítica e muito menos à hemoglobinúria. Refere-se ao poder proteolítico do veneno, com libertação de histamina e de suas ligações celulares e também, a um princípio hemorrágico, ou hemorragina, que faltaria não de todo ao veneno crotálico. Segundo Schöttler, a toxidêz do veneno crotálico, aliás a maior de tôdas, seria, principalmente baseada na chamada *neurotoxina*. Não se refere porém à gravidade das lesões renais. Conforme Schöttler, existiriam diferentes tipos de hemorragina com afinidade especial para certos órgãos. Conclui também que "there exists a marked variation among the individual venoms of the same species" (pg. 498). Sòmente na página 494 faz referência ao fato de que "macroscopically discernible blood in urine and feces was not infrequently manifest". Trata-se porém como se percebe de uma observação apenas "*macroscópica*" deduzida, provàvelmente, da côr da urina. Como o autor não refere, nêsse trecho, qual dos venenos se achava em jogo, falando sempre de um modo geral sobre o efeito de vários venenos, indistintamente, sem fazer referência a diferenças no seu mecanismo de ação patogênica, concluimos que na hipótese de haver realmente eritrocitos, microscòpicamente, na urina, nêsses casos deveria se tratar, provàvelmente de outros venenos (botrópico ou outro).

Quanto à produção experimental da nefrose hemoglobinúrica, é sabido como vários autores tem chamado a atenção sobre a dificuldade em conseguila. Assim, Yuile, Gold e Hinds (1945) referem justamente que "*the mechanism involved in the production of this type of renal failure has remained a mystery despite the effort of many investigators would appear to be due, at least in part, to the difficulties encountered in attempting to produce a similar lesion in the kidneys of experimental animals*".

Talvez, por êsse motivo poucos são ainda os investigadores que trabalharam sobre o assunto, conseguindo reproduzir experimentalmente o quadro da nefrose, pelo menos, com a semelhança dos característicos que ela apresenta no homem, e tornados bem conhecidos sobretudo com as descrições do "*Crush Syndrome*" (Bywaters e Dible, 1942, Ogilvie, 1951), já antes bem descrito, na Alemanha por Minami (1923) sob a designação de "*Verschüttungsnephrose*" e depois por Mallo-ry (1947), como nefrose hemoglobinúrica, estudada por Hamburger (1950), como uma nefrite tubular e também por Lucké (1946) sob a designação de nefrose do nefron inferior, designação essa que Amorim e Mello (1952-54) preferiram substituir pela denominação de Nefrose do Nefron intermediário, repousando principalmente na nomenclatura mais freqüente para designar o setor lesado do nefron.

Yorke e Nauss (1911-12) conseguiram produzir a hemoglobinúria em coelhos, porém sòmente quando êstes eram conservados, previamente, em uma dieta sêca, privada de vegetais verdes, antes da injeção de uma solução de hemoglobina.

Baker e Dodds (1925) elaboraram um método para a preparação de soluções concentradas de hemoglobina que injetavam por via endovenosa em coelhos, concluindo que haveria a necessidade de dois fatôres para a precipitação de hemoglobina: primeiro, uma reação ácida que converta o pigmento em metahemoglobina e possivelmente "*in turn to acid hematin*"; segundo, a presença de certa porcentagem de sais inorgânicos. Se o pH da urina fôr acima de 6, a hemoglobina é excretada sob a forma de oxyhemoglobina, tornando-se a urina de côr vermelha, não resultando efeitos maléficis. Se a reação da urina tiver pH abaixo de 6 e houver uma concentração suficiente de cloreto de sódio (cêrca de 1%), precipitar-se-á um pigmento marron nos tubulos. A hemoglobina passa através da

cápsula de Bowman, no transudato diluído. Quando êste alcança os tubulos, então a reabsorção e a concentração tomam parte, juntamente com um aumento da acidez da urina. Concluindo, sugerem para o tratamento de tais estados, a produção de uma diurese alcalina.

Yuile, Gold e Hinds (1945), no trabalho já citado acima não conseguiram confirmar os resultados de Baker e Dodds (1925), como também os resultados de Degowin, Osterhagen e Andersch (1937) (injeção de eritrócitos), Bywaters e Stead (1946) (injeção de miohemoglobina), Anderson, Morrison e Williams (1942) (injeção de hematina) e Bing (1943-44) (metahemoglobina) naquilo que diz respeito à obrigatoriedade de acidez da urina na obtenção da hemoglobinúria. Êles concluem que a hemoglobina pura é precipitada com dificuldade, "if at all", no rim normal. Segue-se daí, lógicamente que a "*hemoglobinemia per se is in all probability not the basic factor in the production of renal lesion seen in the clinical states under consideration*". Êles referem também de que "as lesões tubulares associadas encontradas nestas lesões foram diversamente atribuídas a efeitos dos pigmentos precipitados, a distúrbios anafiláticos, espasmo de vasos renais, e à ação nefrotóxica de substâncias exógenas e endógenas".

Yuile, Gold e Hinds (1945) injetaram a hemoglobina em coelhos com urina ácida ou alcalina, porém cujos tubulos renais haviam sido, previamente lesados em grau moderado, ou por pinçamento do pedículo renal, durante menos de 1 hora, ou pela administração de um veneno químico específico do túbulo urinífero, o tartrato de sódio. Obtiveram, regularmente a formação de cilindros de hemoglobina, nos animais com urina ácida, assemelhando-se às lesões obtidas com aquelas do "rim de transfusão" ("transfusion kidney"). Concluem que a precipitação, nos túbulos renais não é, primariamente, dependente da acidez ou da alcalinidade da urina, "*nem da quantidade de hemoglobina circulante*", mas de alguma anomalia funcional dos nefrons individuais. Tais alterações não seriam etiológicamente, específicas, como bem o demonstram os resultados finais ("*end results*") semelhantes, obtidos com agentes tão diversos como a isquemia, completa ou transitória, ou um veneno químico tendo uma afinidade particular para os túbulos contornados do rim ("*a chemical poison having a particular affinity for the convoluted tubules of the kidney*"). O veneno químico específico ("*specific chemical poison*") empregado foi o tartrato de sódio.

Extremamente interessantes são, nêsse sentido, também as observações de Meessen (1952) sôbre a nefrose pelo urânio ("*Uranephrose*") que obteve após a injeção subcutânea em coelhos com 1 ml de solução de urânio a 2%, aplicada duas vêzes. 48 horas depois da última injeção, ou 5 dias após o início da experiência, o rim aparece macroscòpicamente vermelho e tumefeito. Os glomerulos estão intatos. As alterações mais intensas se encontram, nos canalículos, ao nível do limite córtico-medular. A parte inicial do segmento principal fica poupada. Porém, notável foi a observação de Meessen de que nas coelhas prenhes, a ação do urânio se fazia sentir até no rim do feto e nêsse também, os glomerulos e os canaliculos proximais eram absolutamente intatos. Meessen designou essa nefrose de nefrose necrotisante, porém quando a lesão não é muito grave, pode se dar uma restituição marcante por regeneração. A sua localização, na zona limitante córtico-medular, leva a concluir por uma "*eigenartiger elektiver Schädigung bestimmter Abschnitte des einzelnen Nephrons*", que Meessen relaciona de um lado com a circulação renal, pois no fêto só os grandes glomerulos justamedulares são irrigados e em seus túbulos é que foi notada a alteração e de outro lado êle relaciona com a estrutura fina dêsses segmentos e com a sua função. Afirma

ainda que outros pesquisadores obtiveram com o nitrato de urânio, em oposição às suas observações, uma lesão igualmente dos glomérulos, isto é, uma glomerulonefrose com lesão em foco das alças.

Lalich (1954) obteve, no coelho uma nefrose hemoglobinúrica, por injeção de metahemoglobina combinada com uma dieta alcalina de fosfato de sódio, portanto em animais com alcalinuria. Conclui que "fatôres associados podem ser de maior significação na produção da nefrose hemoglobinúrica do que a *hemoglobinemia per se*". Entre êsses fatôres menciona: lesão tubular antecedente, injeções de histamina ou de arsina, inanição, restrição de água e outros. Porém na sua macrofotografia B, notam-se dois volumosos infartos anêmicos do rim que não são referidos e nem tampouco interpretados no texto.

MATERIAL E MÉTODO

O nosso objetivo principal consistiu em reproduzir um quadro de nefrose hemoglobinúrica que representasse o mais de perto possível o quadro da nefrose humana, tal como foi descrito por Amorim e Mello (1952-54). Em pesquisas anteriores, já havíamos observado que nos envenenamentos superagudos com grandes doses de veneno, rapidamente letais, dificilmente se observavam as lesões na autopsia. Procuramos nestas experiências utilizar altas doses de veneno, porém subletais, permitindo assim, uma certa duração dos animais, e reproduzindo, si possível a duração característica dessa síndrome, no homem. Como foi estabelecido por Bywaters e Dible (1942) e por Ogilvie (1951) a duração dos casos humanos era de 3 a 7 dias. Igualmente, Amorim e Mello (1952-54), em casos de picados humanos por cascavel encontraram a mesma sobrevivência de 3 a 7 dias após a picada pela serpente. Assim, em nossas experiências, partimos de uma dose suposta conveniente para conseguir condições semelhantes, no cão.

Por outro lado, como nos casos humanos de envenenamento, em geral, se intervem com o tratamento pelo sôro, contendo antiveneno, um grupo de cães recebeu também posteriormente, doses de antiveneno, em quantidade em geral suficiente para neutralizar o veneno inoculado.

Na coleta da urina, não utilizamos sondas para evitar que qualquer ação traumática pudesse provocar o aparecimento de hemácias, na urina. Com o fim de ser conseguida a colheita total da urina eliminada, construímos um tipo de gaiola especial com um fundo móvel, em forma de funil achatado por baixo de um piso de tela. O fundo possuía um orifício central pelo qual a urina caía ou era recolhida em um vaso de vidro, protegido por uma fina tela que impedia a passagem de fezes e de resíduos alimentares. Uma parte da urina era centrifugada, fazendo-se a pesquisa de hemácias, no sedimento. A outra parte era filtrada em papel de filtro comum e utilizada para a pesquisa de hemoglobina pelo método de Lepehne (1919) com benzidina. Quando o exame não era feito logo, a urina era conservada em baixa temperatura.

A *reação de benzidina* era feita segundo a técnica descrita em Hawk, Oser e Summerson (1953), seguindo o teste de confirmação por ser mais delicado e sensível. Tomávamos 10 ml de urina acidulada ligeiramente com ácido acético; depois era feita a extração da hemoglobina livre com 5 ml de éter sulfúrico, em um funil separador após agitação. Como sabemos, o ácido transforma a hemoglobina em globina e em hematina, sendo esta última solúvel em éter. O éter era então colocado em uma cápsula de porcelana e em seguida, evaporado até secar, em banho-maria. Ao resíduo, adicionavam-se algumas gotas de água destilada,

uma gota de solução saturada de benzidina em ácido acético glacial e uma gota de água oxigenada a 3%. A reação é positiva quando aparece uma coloração que varia do verde ao azul escuro, conforme a sua intensidade.

Os órgãos, logo depois da autopsia dos cães eram fixados em Bouin, Zenker, Helly, Carnoy e Formol a 10%. Os cortes histológicos eram feitos em congelação e após a inclusão em parafina. Foram os seguintes os métodos empregados para a coloração dos cortes histológicos: Hematoxilina-Eosina, Mallory-Masson, Van Gieson, Weigert para fibras elásticas. A reação de benzidina em cortes histológicos era feita pelo método de Lepehne, segundo a técnica descrita por Roulet (1948) e Romeis (1936). Entre outros corantes, empregamos ainda a hematoxilina férrica de Weigert e o Sudan III. Finalmente, nos casos necessários, para se afastar com mais segurança a possibilidade de alguma dúvida com a glomerulonefrite, foi feita a reação da oxidase em cortes por congelação, segundo o método de Gräff (Roulet, 1948).

Foram constituídos dois grupos de cães; o grupo I foi inoculado só com veneno crotálico e o grupo II, além de ser inoculado com veneno crotálico, foi tratado com antiveneno.

No primeiro grupo, empregamos cães adultos, cujo peso corporal variou de 6 a 14 quilos, sendo 7 machos e 1 fêmea. Foi utilizado veneno seco de cascavel (*C. d. terrificus*), na quantidade de 0,5 a 2,0 mg por quilo de peso corporal. A atividade do veneno crotálico empregado foi de 1 a 2 microgramas, dose mínima mortal para pombos de 250 a 320 grs de peso corporal. O veneno seco uma vez pesado era previamente dissolvido em solução fisiológica na proporção de 0,5 a 1,0 ml por quilo de peso corporal, sendo administrado por injeção subcutânea. Todos os animais receberam uma única injeção subcutânea, com a exceção dos cães n.º 9 e n.º 10 que foram injetados 3 vezes (quadro 1), sendo 2 vezes com 0,5 mg e 1 vez com 1.0 mg de veneno seco por quilo de peso corporal.

No segundo grupo, empregamos 7 cães machos cujo peso corporal variou de 7 a 13 quilos. A quantidade de veneno crotálico seco foi de 0,5 mg a 2,0 mg por quilo de peso corporal. O veneno seco foi antes dissolvido, em solução fisiológica, na proporção de 1 ml a 2 ml por quilo de peso corporal. Foi administrado o veneno por uma única vez por injeção subcutânea com a exceção do cão n.º 14 que recebeu 2 injeções de 1,5 mg de veneno seco por quilo de peso corporal. A capacidade de neutralização do antiveneno variou para 1 ml de soro de 0,5 mg a 2,0 mg de veneno seco de cascavel, *in vitro*. O antiveneno foi administrado de um mínimo de 2 horas (cães n.º 12 e n.º 13) até um máximo de 24 horas e meia (cães n.º 7 e n.º 8) depois da inoculação do veneno.

RESULTADOS

Os animais dos dois grupos, logo depois da intoxicação apresentaram, ptialismo intenso, incoordenação dos movimentos, apatia, mostrando-se freqüentemente cambaleantes. Havia midríase acentuada e tremores musculares. A prostração, em alguns era marcada, chegando no fim a uma paralisia intensa, não se mantendo mais em pé, ficando sempre em decúbito lateral. No início, a respiração era torácica, depois se tornava mista e finalmente só abdominal, com intensa taquipnéa.

No início da experiência, a urina era de aspecto normal, amarelo citrino, depois passava a vermelho, marron esverdeado ou vermelho-castanho, sendo positiva à reação de benzidina. Tornava-se depois clara quando o animal se recuperava, dando então a prova de benzidina negativa. A tonalidade marron esverdeada da urina, vermelha castanha ou simplesmente vermelha escura, coincidia pois com a presença de hemoglobina livre, havendo somente duas exceções que embora tivessem aspecto normal deram uma reação de benzidina com intensidade fraca. Várias vezes foi observado um aspecto oleoso da urina que correspondia a um conteúdo hemoglobinúrico positivo. As tonalidades da cor da urina acima enumeradas não estão em relação com a presença de hemácias, porquanto a pesquisa destas foi sempre negativa no sedimento urinário e também ao exame histológico, no interior dos tubulos uriníferos, isto é, a pré-urina, tanto glomerular como pré-tubular.

Os resultados do grupo I estão expostos no quadro n.º 1, onde podem ser vistos em detalhe. A duração da observação dos 8 cães injetados com veneno de cascavel foi de um mínimo de 7 horas (cão n.º 3) a um máximo de 9 dias e 4 horas (cão n.º 9). Seis animais morreram pelo envenenamento crotálico e o cão n.º 9 foi sacrificado com éter anestésico. O animal n.º 6 recuperou-se completamente, não tendo sido autopsiado, tendo contudo apresentado uma reação de Lepehne positiva. Houve anúria em um caso que foi o cão n.º 5. A oligúria apresentou-se em 3 animais (cães n.ºs 1, 3 e 4). Não houve caso de hematúria, sendo a pesquisa de hemácias sempre negativa, no sedimento urinário. Por outro lado, dos 8 animais do grupo I, injetado com veneno, 7 cães apresentaram ou a hemoglobinúria evidenciada pela reação de Lepehne ou a presença de cilindros de hemoglobina ou de seus derivados, no interior dos tubulos uriníferos ao exame histopatológico. A presença de cilindros de hemoglobina, no interior dos tubulos uriníferos, em cortes histológicos de rim, foi positivada em 5 animais (n.ºs 1, 2, 3, 9 e 10). A hemoglobinúria foi positivada pela reação de benzidina, segundo Lepehne em 6 cães (n.ºs 1, 2, 4, 6, 9 e 10) de um total de 8 animais do grupo I. É interessante notar que o cão n.º 6, nove horas depois da inoculação de veneno, apresentava uma reação de benzidina positiva que ainda foi positiva 22 horas depois da inoculação. Após o 4.º dia, o cão n.º 6 melhorou consideravelmente, com a sua recuperação completa, tornando-se então negativa a reação de benzidina.

Os resultados do grupo II que foi injetado com veneno de cascavel e depois, tratado com antiveneno crotálico, encontram-se em detalhe no quadro n.º 2. Os cães n.ºs 7, 8 e 13 foram tratados uma vez com antiveneno crotálico e os cães n.ºs 11, 12 e 15 foram tratados 2 vezes. Finalmente o cão n.º 14 recebeu 3 injeções subcutâneas de antiveneno crotálico depois da inoculação do veneno.

A duração da observação dos animais do grupo II foi de um mínimo de 8 horas (cão n.º 11) até um máximo de 8 dias e 7 horas (cão n.º 14) depois da primeira inoculação de veneno. 3 animais morreram pelo envenenamento (11, 13 e 15). Os cães n.ºs 7, 8 e 14 foram sacrificados com éter anestésico. Não foi encontrada anúria nos cães do grupo II. Houve oligúria em dois casos (7 e 11). A hematúria não foi encontrada, nos animais do grupo II, tendo sido sempre negativa a pesquisa de hemácias, no sedimento urinário. Entretanto a reação de benzidina segundo Lepehne foi positiva em seis animais de um total de 7 cães do grupo II. Os cães 11 e 13 além da hemoglobinúria, apresentaram cilindros de hemoglobina no interior dos tubulos uriníferos, em cortes histológicos de rim ao exame microscópico. No cão n.º 12, a reação de benzidina foi positiva seis horas depois da injeção de veneno, mostrando-se ainda positiva no 2.º dia

QUADRO SINÓTICO I — EFEITO DA INJEÇÃO SUBCUTÂNEA DE VENENO DE *CROTALUS DURISSUS TERRIFICUS* NO RIM DO CÃO

Número de ordem	Número do cão	Peso corporal em kg	Duração da observação	Número de injeções	Quantidade de veneno seco mg/kg de peso corporal	Quantidade total de veneno seco em mg	Volume de solução fisiológica em ml	Anúria	Oligúria	Hematuria	Hemoglobinúria	Cilindros de hemoglobina em cortes histológicos	Observações
1	1 ♂	12,5	9 hrs. +	1	2,0	25,0	12,5	—	+	—	++	++	+ Morte pelo envenenamento crotálico
2	2 ♀	6,0	28 hrs. +	1	2,0	12,0	6,0	—	—	—	++	+	+ Morte pelo envenenamento crotálico
3	3 ♂	12,5	7 hrs. +	1	1,0	12,5	12,5	—	+	—	—	+	+ Morte pelo envenenamento crotálico
4	4 ♂	13,5	17 hrs. +	1	1,0	13,5	13,5	—	+	—	+	—	+ Morte pelo envenenamento crotálico
5	5 ♂	9,0	11 ½ hrs. +	1	0,5	4,5	4,5	+	—	—	—	—	+ Morte pelo envenenamento crotálico
6	6 ♂	8,0	4 dias *	1	0,5	4,0	4,0	—	—	—	+	*	* Recuperado. Não foi autopsiado.
7	9 ♂	14,0	1.º dia 4.º dia 6.º dia 9.º dia; 4 hrs. +	1 1 1 —	0,5 0,5 1,0 —	7,0 7,0 14,0 —	14,0 14,0 14,0 —	— — — —	— — — —	— — — —	— ++ ++ ++	+	+ Sacrificado com eter.
8	10 ♂	10,0	1.º dia 5.º dia 7.º dia 7.º dia; 20 hrs. +	1 1 1 —	0,5 0,5 1,0 —	5,0 5,0 10,0 —	10,0 10,0 10,0 —	— — — —	— — — —	— — — —	++ ++ + +	+	+ Morte pelo envenenamento crotálico

Mem. Inst. Butantan,
34:137-157, 1969.

MOACYR DE FREITAS AMORIM, RAUL FRANCO
DE MELO e FERES SALIBA

depois do tratamento com antiveneno. A reação de Lepehne permaneceu positiva até o 5.º dia, tornando-se negativa, no 6.º dia. O cão n.º 12, melhorou consideravelmente, não tendo sido autopsiado.

A — EXAME MACROSCÓPICO

Foi realizado o estudo anatomopatológico de 13 cães autopsiados, sendo 7 do total de 8 animais do grupo I injetado com veneno e 6 cães de um total de 7 animais do grupo II, tratado com veneno e depois com antiveneno. Apresentamos, ao mesmo tempo, os resultados dos exames anatomopatológicos dos dois grupos pelo fato dos resultados serem análogos.

Macroscopicamente, os nossos achados confirmam de modo geral, as observações feitas antes por outros autores, sobre a ausência de alterações dignas de nota nos órgãos em geral, em contraste com as produzidas com veneno botrópico (Schöttler, 1951 e Amorim, Mello e Saliba, 1951). Entretanto, devemos notar que em tôdas as experiências foi notada uma *côr vermelha escura do rim*, excetuando-se no cão n.º 15, no qual se notou uma *côr castanha clara*.

Além disso, em 8 animais foi expressamente marcada uma diferença de coloração vermelha entre a zona cortical e a medular, sendo mais escura na cortical e rosa palida ou vermelha clara na medular em 8 casos (cães n.ºs 1, 2, 3, 4 e 5 do grupo I e 7, 8, 11 do grupo II) em um total de 13 autopsias.

B — EXAME HISTOPATOLÓGICO

Faremos adiante uma descrição do conjunto dos casos, salientando apenas aquêles em que certos detalhes ou lesões se apresentam com maior intensidade ou de um modo mais característico.

Na maioria dos casos, houve hiperemia, ora discreta, ora bem intensa (1, 2 e 5 do grupo I e 11 e 13 do grupo II), para o lado principalmente da zona limitante do rim e também dos glomérulos e capilares da zona labirintica do córtex. Pequenas hemorragias da zona intermediária, foram notadas somente nos cães 1 do grupo I e 13 do grupo II. Na *cavidade da cápsula* de Bowman e no lume dos tubulos contornados, havia na maioria dos casos, conteúdo albuminoso simples. Os ductos contornados de 1.ª ordem ou proximais, apresentavam freqüentemente inchação turva nítida. A degeneração hidrópica dêsses tubulos a qual Bell (1950) chamou particularmente a atenção foi observada em 3 animais (n.ºs 2, 5 e 9 do grupo I). A degeneração vacuolar foi particularmente intensa no cão n.º 15 do grupo II, onde atingia os aspectos idênticos descritos pelo autor acima mencionado, porém, nesse caso, a degeneração vacuolar existia exclusivamente na zona limitante do rim e nas pirâmides de Ferrein; além disso, não havia hemoglobinúria e nem cilindros de *haeme*, nos cortes histológicos, tendo sido a duração da experiência de 9 horas. Nos cães n.ºs 2 e 9 do grupo I, havia uma degeneração vacuolar evidente, nas partes retas do nefron.

Nos segmentos ascendentes da alça de Henle, notamos freqüentemente a necrose e o desaparecimento das células da parede, com picnose nuclear.

No cão n.º 9 do grupo I, havia além de forte inchação turva dos tubulos contornados, intensa vacuolização das células, principalmente das partes ascendentes das alças de Henle, com a formação de finos vacuolos, em vários trechos.

QUADRO SINÓTICO II — EFEITO DA INJEÇÃO SUBCUTÂNEA DE VENENO E ANTIVENENO DE *CROTALUS DURISSUS TERRIFICUS* NO RIM DO CÃO

N.º de ordem	N.º do cão	Peso corporal em kg	Curso da observação		Número de injeções	Quantidade de veneno seco mg/kg de peso corporal	Quantidade total de veneno seco em mg	Volume de solução fisiol. em ml	Quant. total de antiveneno crotálico em ml	Anúria	Oligúria	Hematúria	Hemoglobi-núria	Cilindros de hemoglobina em cortes histológicos	Observações
1	7 ♂	12,0	1.º 2.º 3.º 4.º 8.º	11,½ 12 8 8 10 +	1 1	0,50	6,0	12,0	12,0	— — — — —	+ — — — —	— +++ ++ — —	—	1 ml de antiveneno crotálico neutraliza 0,5 mg de veneno seco, <i>in vitro</i> . + Sacrificado por inalação com eter.	
2	8 ♂	9,0	1.º 2.º 3.º 6.º 8.º	11,½ 12 8 9 10 +	1 1	0,50	4,5	9,0	9,0	— — — — —	— — — — —	+++ ++ — — —	—	1 ml de antiveneno crotálico neutraliza 0,5 mg de veneno seco, <i>in vitro</i> . + Sacrificado por inalação com eter.	
3	11 ♂	7,5	1.º 1.º 1.º 1.º	10 15,½ 17 18 +	1 1 1	2,00	15,0	15,0	20,0 10,0	— — — —	+ + — —	+ + — —	+++	1 ml de antiveneno crotálico neutraliza 0,5 mg de veneno seco, <i>in vitro</i> . + Morreu pelo envenenamento.	
4	12 ♂	7,0	1.º 1.º 1.º 2.º 4.º 5.º 6.º	9 11 15 11 13 15 10 *	1 1	2,00	14,0	14,0	10,0 5,0	— — — — — — —	— — — — — — —	+++ +++ ++ + —	—	1 ml de antiveneno crotálico neutraliza 0,5 mg de veneno seco, <i>in vitro</i> . * Recuperou. Não foi autopsiado.	
5	13 ♂	8,0	1.º 1.º 1.º 2.º 3.º	9 11 21 13 11 +	1 1	1,87	15,0	15,0	10,0	— — — — —	— — — — —	+++ +++ +++	+++	1 ml de antiveneno crotálico neutraliza 2,0 mg de veneno seco, <i>in vitro</i> . + Morreu pelo envenenamento.	
6	14 ♂	10,0	1.º 1.º 1.º 2.º 3.º 4.º 7.º 8.º	9 12 15 16 21 9 9 16 +	1 1 1 1 1 1	1,50	15,0	15,0	10,0 10,0 10,0	— — — — — — — —	— — — — — — — —	— + + +++ — —	—	1 ml de antiveneno crotálico neutraliza 2,0 mg de veneno seco, <i>in vitro</i> . + Sacrificado por inalação com eter.	
7	15 ♂	10,5	1.º 1.º 1.º 1.º	9 12 15,½ 18 +	1 1 1	1,57	16,5	16,5	10,0 10,0	— — — —	— — — —	— — — —	—	1 ml de antiveneno crotálico neutraliza 2,0 mg de veneno seco, <i>in vitro</i> . + Morreu pelo envenenamento.	

Igualmente no cão n.º 13 do grupo II, nas partes ascendentes das alças de Henle e nos tubulos contornados de 2.ª ordem (nefron intermediário), as células mostravam degeneração vacuolar pela H. E. e gordurosa, nos preparados pelo *Escarlate R*, como se pode vêr na figura n.º 5, em corte transversal da zona limitante do rim. As células apresentavam cariólise e picnose nuclear, estando desaparecidas em vários trechos. Outras células estão fortemente tumefeitas com o núcleo em cariorrexis. Nítida degeneração granulo-hialina, principalmente nos tubos retos da zona limitante e nos tubos contornados de 2.ª ordem, em pleno córtex com vacuolização e desintegração das células, cujos contornos então desaparecem ou por vêzes se fundem com os cilindros granulosos contidos, no interior do lume.

As células da parte ascendente e descendente dos tubulos se mostram tumefeitas e degeneradas ao máximo, na zona limitante "*boundary zone*".

No cão n.º 14 do grupo II, na zona limitante e no início da medular, em certos trechos esparsos, nota-se a luz dos tubulos com intensa descamação celular de mistura com típicas plasmacelulas. As plasmacelulas se vêm também, no tecido intersticial em tórno do tubulo, formando pequenas áreas de inflamação focal peritubular, reacional.

O animal n.º 15 do grupo II, mostrou nítida hiperemia do córtex e da zona intermediária, sendo a mesma discreta nos glomérulos. Havia uma intensa pielite, não se observando focos de nefrite intersticial crônica. Notou-se uma forte degeneração hidrópica, formando ilhotas ou porções disseminadas pela zona limitante e em partes do córtex. A sua localização, às vêzes, é típica, nas pirâmides de Ferrein. As células, nêsses túbulos apresentam-se tumefeitas e fortemente vacuolizadas. Em cortes por congelação e corados pelo *Escarlate R*, nota-se que se trata de típica degeneração gordurosa, atingindo por assim dizer, quase que eletivamente, os túbulos retos da pirâmide de Ferrein ou *Pars radiata* do córtex e algumas partes da zona limitante ou justamedular do córtex. É notável assinalar que nêste caso, os túbulos de primeira ordem apresentavam sòmente a inchação turva, não havendo nêsses túbulos nem a degeneração vacuolar e nem a esteatose. Havia ausência de cilindros de hemoglobina, no interior dos túbulos, apresentando vários dêles, um conteúdo albuminoso.

Em relação aos *cilindros de hemoglobina* em cortes histológicos, pudemos precisar a sua presença com a estrutura típica, em quantidade relativamente abundante, fàcilmente identificável, mormente em 4 cães (1 e 10 do grupo I e 11 e 13 do grupo II) e menos intensa em 3 casos (2, 3 e 9 do grupo I). Dêsse modo, os cilindros de hemoglobina foram encontrados em cortes histológicos apenas em 7 casos de um total de 13 cães autopsiados, não significando que não tivessem apresentado uma simples hemoglobinúria.

Os cilindros de hemoglobina sempre se encontravam, nas partes retilíneas do nefron ou nos segmentos das alças de Henle e nos tubos contornados de segunda ordem. Em maior número, ou mais fáceis de serem identificados, eram vistos na zona limitante e justamedular do córtex, bem como na zona medular; em menor número e mais difíceis de serem pesquisados, em pleno córtex, na zona labirintica e nas proximidades dos glomérulos.

Entretanto, em um dos animais autopsiados (cão n.º 13 do grupo II), os *cilindros de hemoglobina* eram fàcilmente visíveis, mesmo em todo o córtex, desde o *Cortex corticis*, sob a cápsula, como bem o demonstram as microfotografias. Isso é visto, especialmente nos cortes histológicos preparados pelo método de

Mallory-Masson, onde os cilindros de hemoglobina atraem a atenção pela sua cor vermelha viva que os distingue da cor pálida ou ligeiramente azulada do simples conteúdo albuminoso, ou dos cilindros hialinos comuns que estão presentes em vários casos.

Pudemos verificar que a hemoglobinúria foi positiva em 12 casos (1, 2, 4, 6, 9 e 10 do grupo I e 7, 8, 11, 12, 13 e 14 do grupo II) de um total de 15 cães. Porém, no momento da autopsia, só 7 animais apresentaram hemoglobinúria (1, 2, 4, 9 e 10 do grupo I e 11 e 13 do grupo II), pois dois cães que estavam com hemoglobinúria, durante a observação, não foram autopsiados por se terem recuperado ao fim da experiência (cão n.º 6 do grupo I e n.º 12 do grupo II).

Em três cães (7, 8 e 14 do grupo II), na ocasião da autopsia, a reação da benzidina era negativa, pois êsses animais já tinham se recuperado, no fim da experiência. Mas mesmo assim, foram aproveitados para pesquisa, sendo autopsiados após anestesia pelo éter.

No cão n.º 11 do grupo II, houve aparentemente um resultado paradoxal, porquanto, nos cortes histológicos os cilindros de hemoglobina eram muito numerosos, na zona limitante e eram menos numerosos na zona medular, e bem menos freqüentes, na zona cortical. Apesar disso, a hemoglobinúria foi muito pouco intensa. Talvez êsse fato, nêsse particular possa ser explicado pela maior retenção de cilindros de hemoglobina nos túbulos.

Em seis animais (cães n.ºs 1, 2, 3, 9 e 10 do grupo I e 11 e 13 do grupo II), quando havia a presença de cilindros de hemoglobina, nos cortes histológicos ao exame microscópico, também havia hemoglobinúria, com uma única exceção (cão n.º 3 do grupo I).

Não foram encontrados glóbulos vermelhos, na urina ou no interior dos túbulos uriníferos ou na cavidade da cápsula de Bowman. Dêsse modo, não houve hematúria nos animais dos dois grupos investigados por nós, mas somente hemoglobinúria.

C — RESUMO DAS LESÕES

As lesões histológicas do rim obtidas experimentalmente, nos dois grupos são idênticas e assim podem ser resumidas:

- 1) Ausência de lesões glomerulares, por vêzes apenas conteúdo albuminoso, na cavidade da cápsula de Bowman;
- 2) Ausência de isquemia no córtex, havendo por vêzes ligeira hiperemia, principalmente da zona labirintica do rim, e mais acentuada nos vasos retos da zona limitante do rim;
- 3) Ausência de lesões importantes dos túbulos contornados principais que mostravam apenas, por vêzes, degeneração vacuolar, inchação turva, conteúdo albuminoso no lume;
- 4) Presença de cilindros pigmentados de derivados de hemoglobina, principalmente nos tubos ascendentes da alça de Henle e tubos contornados distais (isto é, em todos os segmentos do nefron, classicamente designados como o *segmento intermediário de Schweigger-Seidel*) e nos tubos coletores da zona

radiada do córtex e da zona medular. Em alguns casos, os cilindros de hemoglobina ou de seus derivados podem ser encontrados desde o *Cortex corticis* sob a cápsula até a papila renal;

- 5) No *segmento intermediário* do túbulo urinífero, isto é, parte ascendente da alça de Henle e do túbulo contornado distal ou de segunda ordem, as lesões eram mais acentuadas, havendo não só inchação turva degeneração vacuolar e gordurosa, como também lesões nucleares (picnose e cariorrexis), terminando com o desaparecimento por necrobiose e descamação das células em largos trechos desses segmentos do nefron. Nesses trechos, os cilindros de hemoglobina se apresentam em contacto com a *Lâmina própria* ou com o estroma conetivo do rim. Este fato foi observado, constantemente, já em pleno córtex no ponto em que o segmento intermediário, voltando das irradiações da medular ou pirâmides de Ferrein se aproxima ou se justapõe aos glomérulos;
- 6) Todavia, as lesões mais intensas e numerosas se verificam na chamada *zona limitante* do rim, na passagem das partes retilíneas do túbulo para a zona medular, como foi assinalado classicamente na síndrome do nefron distal por vários autores, entre os quais Bywaters e Dible (1942), Ogilvie (1951) e por Amorim e Mello (1952-54) no homem afetando portanto, principalmente, as partes ascendentes da alça de Henle, isto é, o chamado segmento intermediário do nefron;
- 7) Em alguns animais, nota-se a presença de pequenos focos inflamatórios reacionais ou secundários, constituídos ora por granulócitos neutrófilos, ora por plasmacélulas, em tórno de túbulos cujas células haviam desaparecido, em contato com os cilindros de hemoglobina. Não chegamos a observar, porém, em nossos casos, nenhuma vez, a proliferação histiocitária de aspecto granulomatóide notada no homem por Amorim e Mello (1952-54), nem as lesões de esclerose ou trombozes venosas citadas por Ogilvie (1951), Bywaters e Dible (1942).

DISCUSSÃO E CONSIDERAÇÕES GERAIS

Flavio da Fonseca (1949) diz em seu livro, embora sem especificar a variedade de envenenamento a que se refere, que a albuminúria e a anúria seriam consecutivas à glomerulonefrites. Tal fato pode ser verdadeiro, nos casos em que se trate de envenenamento botrópico, se nos basearmos, nas observações de Mac Clure (1935-1946). Porém não é o caso, quando se trata de envenenamento crotálico, pois as nossas verificações experimentais demonstram que o mecanismo patogênico da albuminúria e da anúria deve depender com mais probabilidade de fenômenos degenerativos puros do parenquima renal. Na intoxicação por veneno crotálico, não encontramos sinais de glomerulonefrite, tanto no cão, como no homem (Amorim e Mello, 1952-54).

Nunca notamos a presença de cilindros típicos de hemoglobina, nos túbulos contornados de primeira ordem. Em relação à localização típica dos cilindros de hemoglobina, nos túbulos contornados de segunda ordem (segmento intermediário), o caso do cão n.º 13 (grupo II), é particularmente demonstrativo, indicando tal localização e não deixando qualquer dúvida sobre a sua presença no *Cortex corticis*, bem sob a cápsula renal, como é visto nas ilustrações. Não somente a estrutura das células dos túbulos, como também a sua colocação extrema provam de modo irrefutável não se tratar do tubo coletor de Bellini, duvida que poderia

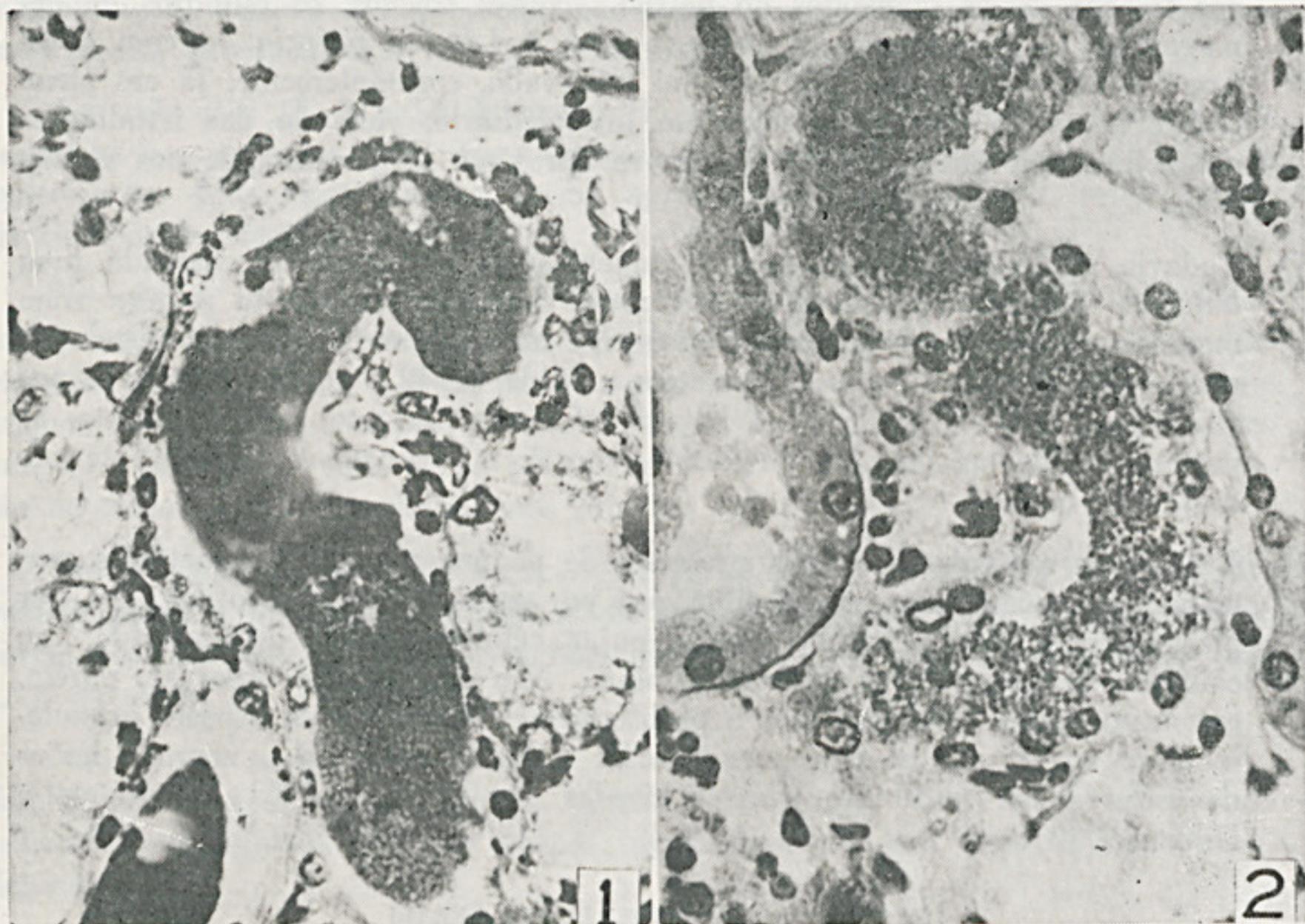


Fig. 1 — Por baixo da cápsula renal, vê-se em grande aumento um cilindro de hemoglobina, metade hialino, metade granuloso com a conhecida estrutura típica dos cilindros de hemoglobina. Nota-se o epitelio de revestimento cubico baixo em quase tôda extensão da parede do segmento intermediário que contém o cilindro de hemoglobina em seu interior.

Cão n.º 13. Fixação pelo Formol. Coloração pelo método de Mallory-Masson.

Microfotografia x 420.

Fig. 2 — Cilindro granuloso de hemoglobina em grande aumento visto no interior de um tubulo contornado de segunda ordem, cujas células estão com inchaço turva com alguns núcleos em picnose. Ao lado esquerdo, vê-se um túbulo contornado proximal. Cão n.º 13. Fixação pelo Formol. Coloração pela Hematoxilina e Eosina. Microfotografia x 420.

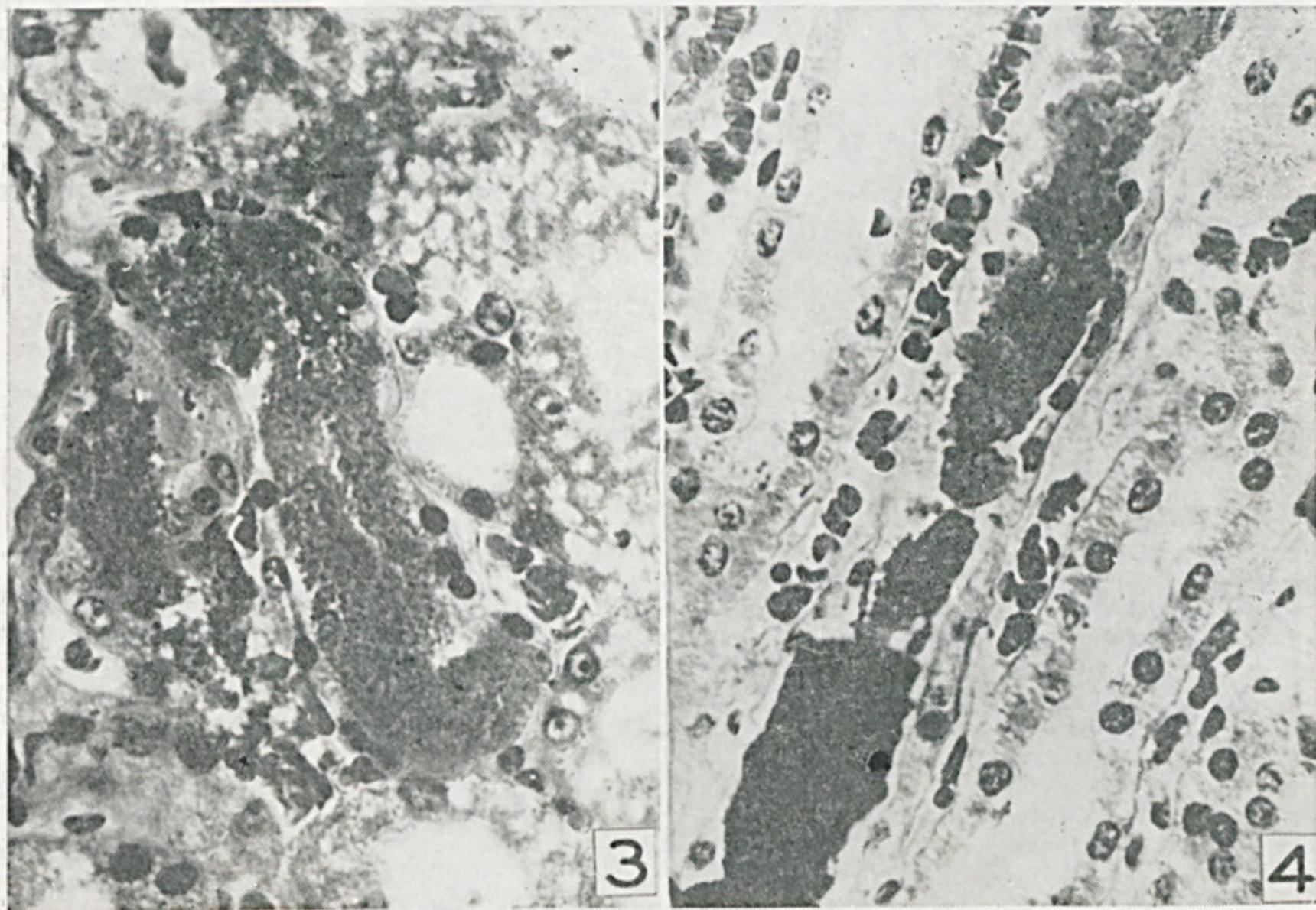


Fig. 3 — Sob a cápsula aparecem dois cilindros de hemoglobina, finamente granulosos, no interior de segmentos contornados de segunda ordem, cujo epitélio de revestimento baixo é visível no túbulo do centro. Túbulos contornados proximais com degeneração hidrópica microvacuolar. Notar a diferença em contraste com os eritrócitos dos capilares vizinhos. Cão n.º 13. Fixação pelo Formol. Coloração pelo Mallory-Masson. Microfotografia x 386.

Fig. 4 — Volumoso cilindro granuloso de hemoglobina em partes da alça de Henle. Corte longitudinal, passando pela zona limitante do rim. O epitélio cúbico baixo da parede do túbulo ainda se encontra relativamente bem conservado. Cão n.º 13. Fixação pelo Formol. Coloração pela Hematoxilina e Eosina. Microfotografia x 420.

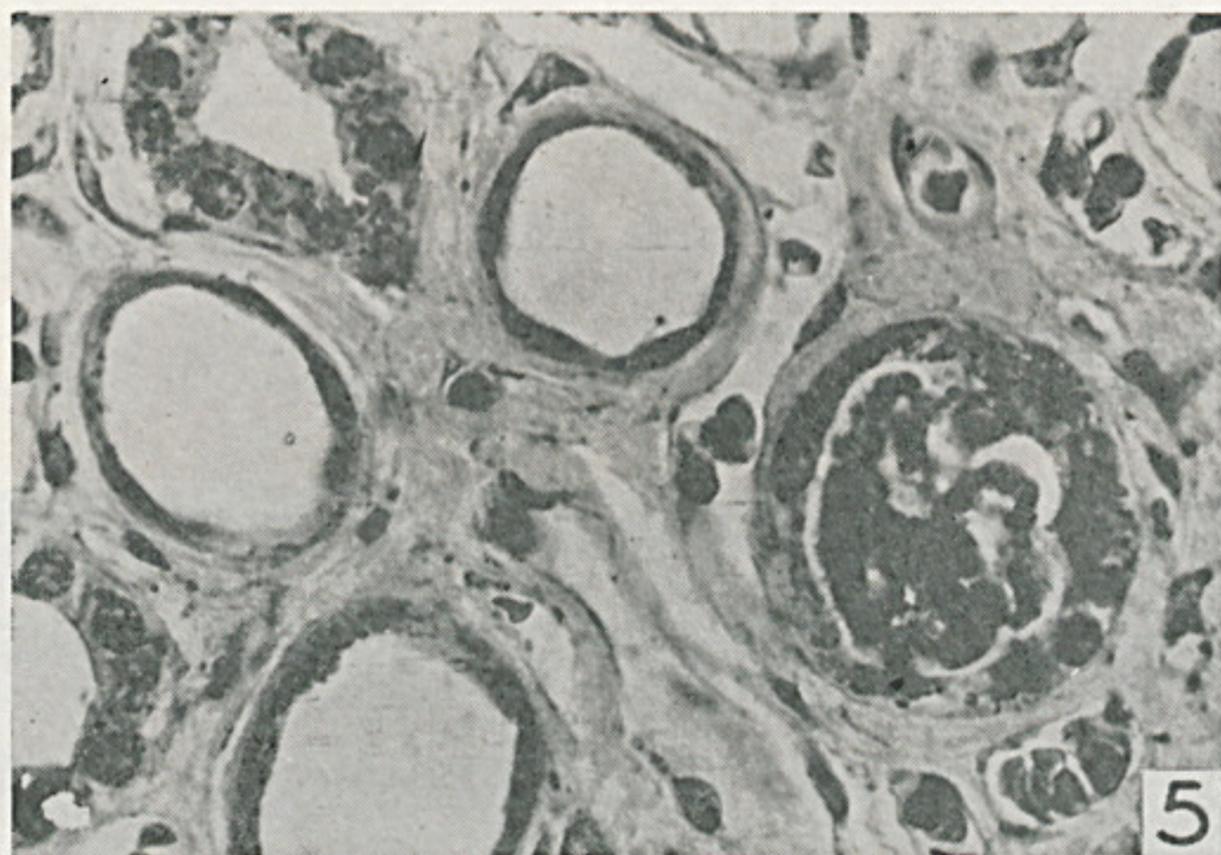


Fig. 5 — Corte transversal da zona limitante do rim, mostrando três cortes da parte ascendente da alça de Henle com os lumens vasios, revestidos por epitélio baixo achatado. Notar as diferenças com alguns capilares sangüíneos menores, irregulares, visíveis na figura. Em cima, um corte da parte ascendente da alça de Henle, contendo em seu interior, partes de um cilindro granuloso de hemoglobina. Cão n.º 13. Fixação pelo Formol. Coloração pelo Escarlata R. Microfotografia x 420.

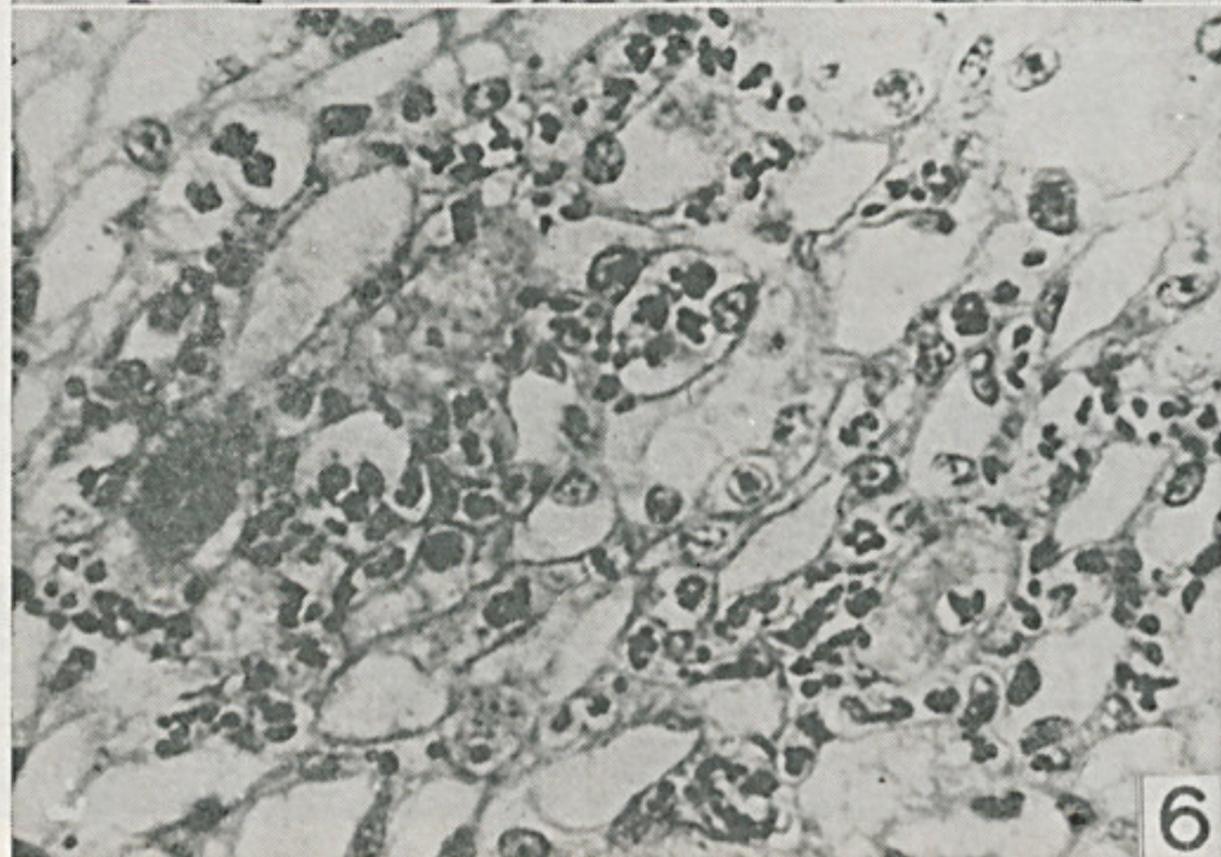


Fig. 6 — Zona medular do rim, mostrando pequenos focos de infiltração inflamatória de caráter exsudativo agudo por granulocitos neutrófilos. Cão n.º 9. Fixação pelo líquido de Bouin. Coloração pela Hematoxilina e Eosina. Microfotografia x 380.

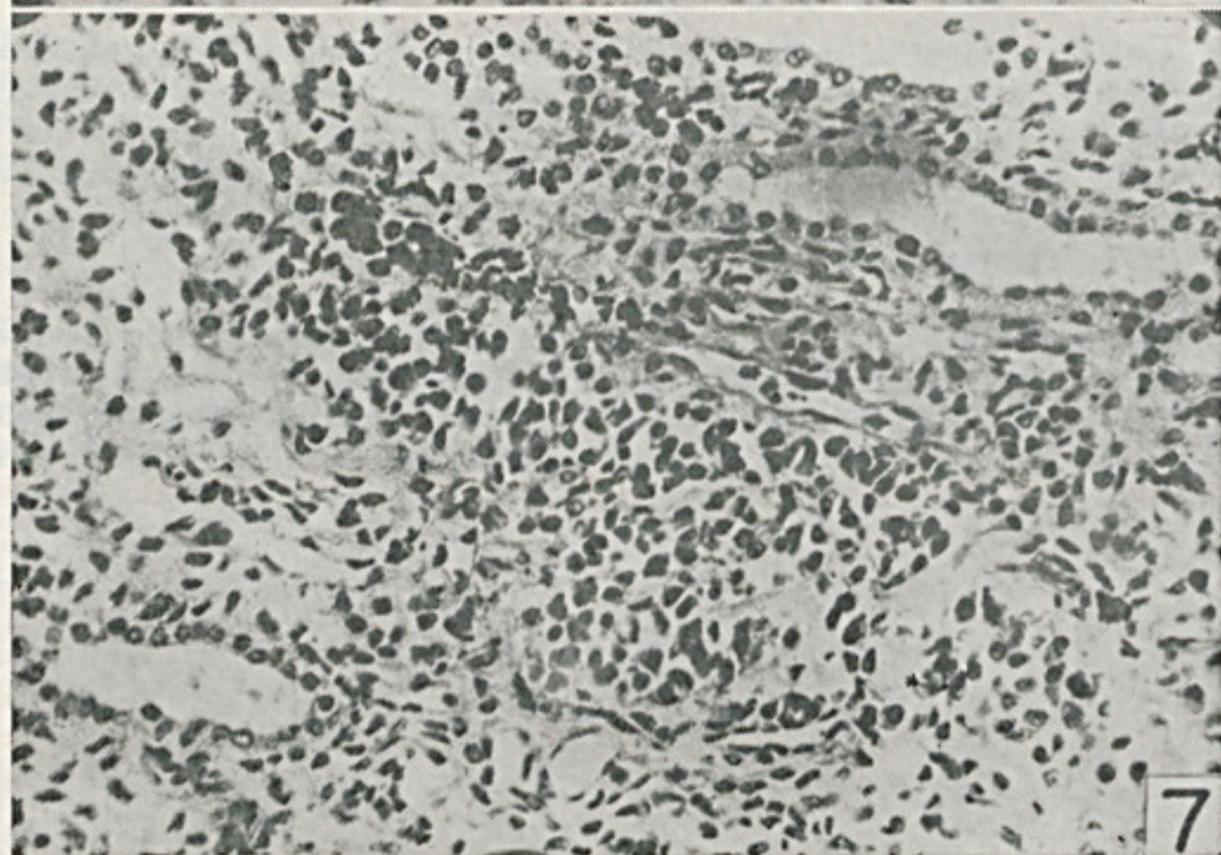


Fig. 7 Zona medular do rim, próxima da zona limitante, mostrando vários focos inflamatórios, constituídos principalmente por linfócitos e plasmacelulas, próximos de alguns túbulos em parte cheios de células descamadas. Cão n.º 14. Fixação pelo Formol. Coloração pela Hematoxilina e Eosina. Microfotografia x 200.

surgir ao interpretar essas lesões na zona limitante do rim ("boundary zone"). Ora, em tal posição extrema do córtex, não se encontram, como é sabido, partes do tubo coletor de Bellini. Esse fato dá maior apoio à interpretação de que as imagens idênticas vistas nos túbulos da zona limitante do córtex sejam realmente referentes à parte ascendente do segmento intermediário, nada tendo que ver com o tubo coletor.

Não constatamos a presença de hemácias no interior de qualquer segmento do nefron. Esse fato viria provar que a reação da benzidina quando positiva é causada pela hemoglobinúria existente e não por uma possível hematúria, objeção que poderia surgir. Em realidade, o que existe é uma hemoglobinúria pura, não havendo indício algum de hematúria, como pode ser visto nos resultados dos exames anatomopatológicos e nos dados dos quadros sinóticos.

Verificamos em nossas experiências um fato de sumo interesse sobre a capacidade de recuperação do tecido renal. Existiria um paralelismo entre a recuperação fisiológica e a recuperação histológica do parenquima renal. Quando há melhora clínica do animal, haveria também uma concordância com a diminuição e o desaparecimento dos cilindros de hemoglobina aos cortes histológicos do rim. Mas quando sucede o contrário, como ocorreu no cão n.º 13 (grupo II) que apresentou uma hemoglobinúria intensíssima, desde o 1.º dia até a morte, os cilindros de hemoglobina se tornam mais numerosos, com um quadro histopatológico de nefrose mais rico em cilindros de hemoglobina nos cortes histológicos. Assim é muito interessante notar que Rosenfeld (1963-68) demonstrou a metahemoglobinúria em casos clínicos de pessoas picadas por cascavel. Observou que a metahemoglobinúria se tornava cada vez mais intensa com o agravamento do estado dos pacientes, aparecendo depois a oligúria e em um grau extremo sobrevivendo a anúria.

Não pudemos observar em nossas experiências, os graves fenômenos de protrusão dos cilindros de hemoglobina para fora dos túbulos uriníferos, como foi tão bem descrito por Ogilvie (1951), quando chegam a lesar a parede das veias proximais, causando trombozes. Entretanto, como bem o demonstram algumas das nossas figuras, vários trechos onde as células de revestimento dos túbulos desapareceram, os cilindros de hemoglobina chegam realmente a aflorar e a entrar em contato com a membrana basal do túbulo urinífero, como foi descrito por Ogilvie.

Hadler e O. Vital Brazil (1966) fizeram o estudo histopatológico do rim de cães tratados com crotoxina, não empregando o veneno crotálico seco, como nós. Referem não ter encontrado as mesmas lesões. Contudo, citam Rodrigues Lima (1966) que em casos humanos de picados por cascavel salienta a presença de lesões degenerativas nos túbulos proximais, mas não deixa de acentuar a existência de *lesões necróticas* muito mais graves no "segmento distal", o que portanto não vem senão confirmar os nossos achados. Esses fatos seriam mais uma demonstração das diferenças de ação da crotoxina e do veneno crotálico.

Em nossas investigações experimentais, não pudemos reproduzir no cão, as lesões renais descritas por Amorim e Mello (1952-54), no homem, no qual encontraram um processo inflamatório reacional, secundário, intenso. Somente dois cães, n.º 9 do grupo I e o n.º 14 do grupo II, apresentaram fenômenos discretos de inflamação reacional, caracterizado, no primeiro por pequenos aglomerados de granulocitos neutrófilos e no segundo, por plasmacélulas, em torno dos túbulos uriníferos da zona limitante. No cão, a ausência de um processo reacional secundário

talvez possa ser explicada pela duração menor da sobrevida do animal, reforçando dêsse modo a conclusão sobre a natureza "sintomática" ou reacional, secundária dêsse processo inflamatório, na realidade *post-nefrótico*. Esse fato constituiria uma demonstração experimental da tese defendida por Amorim e Mello (1952-54), como também do conceito primordial e básico de inflamação sintomática, emitido por Spielmeyer (1922).

RESUMO

Foi obtida em cães, com relativa constância uma nefrose do tipo da nefrose hemoglobinúrica (Mallory, 1947) também denominada como, nefrose do nefron intermediário (Amorim e Mello, 1952-54, Raab e Kaiser, 1966), reproduzindo-se experimentalmente essa síndrome, tanto sob o ponto de vista clínico, como também histopatológico.

No envenenamento crotálico experimental, no cão, existe uma hemoglobinúria relativamente constante. Nunca encontramos hematúria, pelo menos no cão. Não existem hemácias na urina, como também, no interior dos túbulos renais e na cavidade da cápsula de Bowman. Assim, é acentuado o fato da presença de hemoglobina livre, na urina, e a ausência da eritrocitose. A duração da observação variou de 7 horas até 9 dias e quatro horas.

As lesões histopatológicas se superpõem exatamente àquelas, previamente descritas no homem (Amorim e Mello, 1952-54), caracterizadas por lesões degenerativas necrobióticas do chamado segmento "intermediário" do nefron, isto é a parte ascendente da alça de Henle e o túbulo contornado de segunda ordem e também pela presença de cilindros de hemoglobina no lume do mesmo, dando uma *reação de Lepehne positiva*.

O veneno crotálico vem fornecer um meio fácil para induzir a nefrose do nefron intermediário cuja reprodução foi julgada difícil por vários investigadores (Yuile, Gold e Hinds, 1945), sendo necessários sempre dois fatores lesionais coadjuvantes simultâneos.

As pesquisas feitas permitem a conclusão de que o veneno crotálico por si só deve induzir não só a ação hemolítica necessária, como também uma "ação nefrotóxica", preenchendo assim a qualidade de efeito simultâneo reconhecida, como indispensável (Yorke e Nauss, 1911-12, Baker e Dodds, 1925) para a indução da nefrose hemoglobinúrica experimental.

SUMMARY

Hemoglobinuric nephrosis (Mallory, 1947) also designated as nephrosis of the intermediate nephron (Amorim and Mello, 1952-54), was obtained in dogs with relative constancy, this syndrome having been reproduced experimentally both from the clinical as well as from the histopathological point of view.

The presence of free hemoglobin in the urine is stressed, which until now has not been described in literature on either human or experimental crotalic poisoning, as well as the absence of erythrocytosis in the urine. The duration of the observation varied from 7 hours to 9 days and 4 hours. The histopathological lesions superpose themselves upon those described in man (Amorim e Mello, 1952-54) characterized by degenerative necrobiotic lesions of the segment of the nephron denominated as "Intermediate" and by the presence of hemoglobin casts in its lumen, producing a *positive Lepehne test*.

Crotalic venom (*C. d. terrificus*) provides an easy way to induce nephrosis of the intermediate nephron whose experimental reproduction was considered difficult by various authors (Yuile, Gold and Hinds, 1945) since there always existed the necessity of two simultaneous lesional factors.

These investigations permit the conclusion that crotalic venom (*C. d. terrificus*), besides inducing a hemolytic action also possesses a "nephrotoxic action" thus fulfilling the condition of duality of effects already to be indispensable (Yorke and Nauss, 1911-12 and Baker and Dodds, 1925) to the induction of experimental hemoglobinuric nephrosis.

Agradecimentos — Consignamos, aqui os nossos melhores agradecimentos à Sra. Vera Mondim Weizz, técnica do Instituto Butantan pelo grande auxílio prestado, tanto na parte técnica, como na parte dactilográfica do trabalho; ao Sr. A. Seixas, fotomicrografo do Instituto Butantan pela cópia de filmes e pelas ampliações dos mesmos; a Srta. Dolores Alvarez do Departamento de Anatomia Patológica da Escola Paulista de Medicina pela complementação de técnicas especiais, entre outras, a reação da oxidase.

À Sra. Lucília Maia Amorim pela colaboração contínua e inestimável, na redação e na revisão do texto e à Sra. Charlotte Franco de Mello pelas numerosas traduções e versões feitas.

BIBLIOGRAFIA

1. Amorim, M. F., Mello, R. F. e Saliba, F. — Envenenamento Botrópico e Crotálico. Contribuição para o estudo experimental comparado das lesões. *Memórias do Instituto Butantan*, 23:63-108, 1951.
2. Amorim, M. F., Mello, R. F. — Nefrose do Nefron Intermediário no Envenenamento Crotálico Humano. Estudo Anatomopatológico. *Memórias do Instituto Butantan*, 24:281-316, 1952.
3. Amorim, M. F., Mello, R. F. — Intermediate Nephron Nephrosis from Snake Poisoning in Man. Histopathological Study. *The American Journal of Pathology*, 30:479-499, 1954.
4. Amorim, M. F., Mello, R. F. e Saliba, F. — Intermediate Nephron Nephrosis experimentally induced with *Crotalus d. terrificus* venom in the dog. *Revista Brasileira de Biologia*, 20:359-364, 1960. Rio de Janeiro.
5. Amorim, M. F., Mello, R. F. e Saliba, F. — Intermediate Nephron Nephrosis induced in the dog with crotalic Venom. Anatomopathological Study. *Frankfurter Zeitschrift für Pathologie*, 75:87-99, 1966.
6. Anderson, W. A. D., Morrison, D. B. and Williams, E. F. — Pathologic Changes following Injections of Ferrihemate (Hematin) in Dogs. *Archives of Pathology*, 33:589-602, 1942.
7. Baker, S. L. and Dodds, E. C. — Obstruction of the Renal Tubules during the Excretion of Haemoglobin. *The British Journal Of Experimental Pathology*, 6:247-260, 1925.
8. Bell, E. T. — Renal Diseases, 2nd edition, 285-287, 1960. Philadelphia, Lea & Febiger.
9. Bing, R. J. — Etiology of Renal Failure following Crush Injuries. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 53:29-30, 1943.
10. Bing, R. J. — The Effect of Haemoglobin and Related Pigments on Renal Functions of the Normal and Acidotic Dog. *Bulletin of the Johns Hopkins Hospital*, 74:161-176, 1944.
11. Braus, H. — *Anatomie des Menschen; ein Lehrbuch für Studierende und Ärzte*, 2:351, 1921-24, Julius Springer, Berlin.
12. Bull, G. M. and Dible, J. H. — Renal Function, In Recent Advances in Pathology, 6th edition, 273-308, 1953. Edited by G. Hadfield, J. & Churchill, A., Ltd., London.

13. *Bywaters, E. G. L. and Dible, J. H.* — The Renal Lesion in Traumatic Anuria. *The Journal of Pathology and Bacteriology*, 54:111-120, 1942.
14. *Bywaters, E. G. L. and Stead, J. K.* — The Production of Renal Failure Following Injections of Solutions Containing Myohaemoglobin. *Quarterly Journal of Experimental Physiology and Cognate Medical Sciences*, 33:53-70, 1946.
15. *Costa, A. C. da e Chaves, P. R.* — Tratado Elementar de Histologia e Anatomia Microscópica, 2:298-304, 1944, Livraria Luso-Espanhola Ltda., Lisboa.
16. *DeGowin, E. L., Osterhagen, H. F. and Andersch, M.* — Renal Insufficiency from Blood Transfusion. I — Relation to Urinary Acidity. *Archives of Internal Medicine*, 59:432-444, 1937.
17. *DeGowin, E. L., Warner, E. D. and Randall, W. L.* — Renal Insufficiency from Blood Transfusion. II — Anatomic Changes in Man compared with those in Dogs with experimental Haemoglobinuria. *Archives of Experimental Medicine*, 61:609-630, 1938.
18. *Discombe, G.* — The Natural History and Management of Haemolytic Transfusion Reactions. *The Lancet*, 2:936-939, 1954.
19. *Fonseca, Flavio da,* — Animais Peçonhentos, 1-376, 1949. Instituto Butantan, São Paulo.
20. *Hadler, W. A. and O. Vital Brazil* — Pharmacology of Crystalline Crotoxin. IV Nephrotoxicity. Simpósio Internacional sôbre Venenos Animais, *Memórias do Instituto Butantan*, 33, fasc. 3:1001-1008, 1966.
21. *Hamburger, J.* — Acquisitions Recentes sur les Maladies du Rein en les Acquisitions Medicales Recentes. *Edit. Med. Flammarion*, 1948, Paris.
22. *Hamburger, J.* — Acquisitions Recents sur Les Nephrites aigue Toxiques en les Acquisitions Medicales Recentes. *Edit. Med. Flammarion*, 1950, Paris.
23. *Hawk, P. B., Oser, B. L. and Summerson, W. H.* — Practical Physiological Chemistry, 12th edition, 437-438, 1953. *The Blakiston Company*, New York.
24. *Huth, F. und MacClure, E.* — Morphologische Veränderungen der Nieren von Kaninchen nach Injektion von Schlangengift (*Bothrops jararaca*). *Frankfurter Zeitschrift für Pathologie*, 74:91-108, 1964.
25. *Kaufmann, E.* — Lehrbuch der speziellen pathologischen Anatomie, 2:543-550, 1957. W. Gruyter 7 Co. Berlin W 35.
26. *Lalich, J. J.* — Effect of Inorganic Phosphate on Development of Hemoglobinuric Nephrosis in Rabbits. *Archives of Pathology*, 57:36-43, 1954.
27. *Lepehne, G.* — Zerfall der roten Blutkörperchen beim Ikterus Infectiosus (Weil). Ein Weiterer Beitrag zur Frage des hämatogenen Ikterus des Hämoglo- und Eisenstoffwechsels. *Beitr. z Path. Anat. u.z. Allg. Path.*, 65:163-226, 1919.
28. *Lucké, B.* — Lower Nephron Nephrosis (the renal lesions of the crush syndrome, of burns, transfusions and other conditions affecting the lower segments of the nephrons). *Mil. Surgeon*, 99:371-396, 1946.
29. *MacClure, E.* — Glomerulonephrite aguda difusa, conseqüente a envenenamento por cobra (*Bothrops jararacussú*). *Boletim da Secr. Saúde e Assistência*, 1:35, 1935. Rio de Janeiro.
30. *MacClure, E.* — Glomerulonephrite Aguda Difusa, 1946, Rio de Janeiro.
31. *Meessen, H.* — Experimentelle Histopathologie, 1:104-105, 1952. G. Thieme, Stuttgart.
32. *Mallory, T. B.* — Hemoglobinuric Nephrosis in Traumatic Shock. *American Journal of Clinical Pathology*, 17:427-443, 1947.

33. *Minami, S.* — Über Nierenveränderungen nach Verschüttung. *Virchows Arch. f. path. Anat.*, 245:247-267, 1923.
34. *Ogilvie, R. P.* — Pathological Histology, 4th edition, 303-308, 1951, *Linngstone, E & S., Ltd.*, Edinburgh.
35. *Pearce, R. M.* — An Experimental Glomerular Lesion by Venom (*Crotalus adamanteus*). *Journal of Experimental Medicine*, 11:532-540, 1909.
36. *Raab, W. and Kaiser, E.* — Néphrotoxic Action of Snake Venoms. *Simpósio Internacional Sobre Venenos Animais, Memórias do Instituto Butantan*, 33, fasc. 3:1017-1020, 1966.
37. *Rodrigues Lima, J. P.* — Necrose Tubular Aguda por Mordedura de Animais Peçonhentos. Tese, 1966, São Paulo.
38. *Romeis, B.* — *Guia-Formulário de Técnica Histológica*, 1:320-321, 1936. Editorial Labor S.A. Barcelona.
39. *Rosenfeld, G., Nahas, L. and Kelen, E. M. A.* — Coagulant, Proteolytic and Hemolytic Properties of Some Snake Venoms. In *Venomous Animals and Their Venoms*, 1:217-273, 1968. Edited by W. Bücherl, E. Buckley and V. Deulofeu. *Academic Press*, New York.
40. *Rosenfeld, G.* — Unfälle durch Giftschlangen. *Behring Mitteilungen*, begründet von E.v. Behring, 1:161-202, 1963, *N. G. Elwert Universität — und Verlags — Buchhandlung*. Marburg/Lahn.
41. *Rosenfeld, G.* — Malattie da Veleni Animali. In *Trattato Italiano di Medicina Interna*, diretto dal Prof. Paolo Introzi, Clinico Medico dell'Università de Pavia. Estrato dala parte XI, 505-522, 1966. *Sadea Sansoni Editori* — Firenze — Roma.
42. *Roulet, F.* — *Methoden der Pathologischen Histologie*, 1:242-243, 1948. Wien, Springer Verlag.
43. *Schöttler, W. H. A.* — Toxicity of the Principal Snake Venoms of Brazil. *The Journal of Tropical Medicine*, 31:389-499, 1951.
44. *Spielmeyer, W.* — *Histopathologie des Nervensystems*. Julius Springer, Berlin, 1922.
45. *Yorke, W. and Nauss, R. W.* — The mechanism of the Production of Suppression of Urine in Blackwater Fever.. *Annals of Tropical Medicine und Parasitology*, 5:287-312, 1911.
46. *Yuile, C. L., Gold, M. A. and Hinds, E. G.* — Hemoglobin Precipitation in Renal Tubules. A Study of its Causes and Effects. *The Journal of Experimental Medicine*, 82:361-374, 1945.

