

TÓXICOS QUE INTERFEREM NO TRANSPORTE DE OXIGÊNIO PELA HEMOGLOBINA *

Introdução

A hemoglobina (Hb) é encontrada exclusivamente nos eritrócitos, onde sua principal função é transportar oxigênio (O₂) dos pulmões até os capilares dos tecidos. É uma proteína tetramérica composta por quatro cadeias polipeptídicas, duas cadeias α e duas cadeias β , mantidas unidas por meio de ligações não-covalentes. Cada cadeia polipeptídica contém um grupo prostético heme, que tem por função ligar, de forma reversível, o O₂.

Síntese da hemoglobina

O heme é um complexo entre a protoporfirina IX e o íon ferroso (Fe²⁺), que está preso no centro da molécula do heme por meio de ligações aos quatro nitrogênios do anel porfirínico. O ferro pode formar outras duas interações adicionais, uma acima e outra abaixo do plano do anel porfirínico. Uma dessas posições estabelece uma interação coordenada com a cadeia lateral de um resíduo de histidina da molécula da globina, enquanto a outra posição fica disponível para ligar o O₂.

O ponto de controle inicial da síntese do heme, a reação do ácido δ -aminolevulínico (ALA) sintetase, ocorre dentro da mitocôndria. A glicina e o succinil-CoA são utilizados como substratos e o piridoxal-fosfato é requerido como cofator. O ALA é transportado para o citoplasma onde uma série de reações resultam na formação de coproporfirinogênio III, o que deve entrar na mitocôndria para as etapas finais da síntese do heme. A reação final, a da enzima heme sintetase, envolve a inserção do íon ferroso na protoporfirina IX. Após a síntese, o heme é transferido para o citoplasma para se unir à globina e, assim, completar a síntese de Hb.

A síntese de globina ocorre em associação com os ribossomos e polirribossomos no citoplasma. O heme é inserido nas cadeias polipeptídicas durante a tradução ou logo após esta. As cadeias α e as cadeias β combinam-se espontaneamente formando dímeros, que se combinam com outros dímeros, formando tetrâmeros, a Hb.

* Seminário apresentado pela aluna especial Tatiane da Silva Mottin na disciplina BIOQUÍMICA DO TECIDO ANIMAL, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, no primeiro semestre de 2009. Professor responsável pela disciplina: Félix H. D. González

Como o eritrócito não possui núcleo, mitocôndria nem ribossomos, não é capaz de sintetizar Hb. Este processo ocorre no reticulócito, na medula óssea.

Ligação do oxigênio à hemoglobina

O O_2 pode ser transportado no sangue na forma de O_2 em solução ou ligado à Hb dos eritrócitos. Por ser pouco solúvel em solução aquosa, praticamente todo o O_2 transportado pelo sangue total está ligado à Hb. Cada Hb pode transportar quatro moléculas de O_2 , uma para cada um de seus quatro grupos heme.

A afinidade da Hb pela ligação da primeira molécula de O_2 é muito baixa, mas, subsequentemente, as moléculas de O_2 se ligam com uma afinidade muito maior. Sendo assim, as quatro subunidades heme-polipeptídicas da Hb não são idênticas, nem independentes quanto à sua afinidade pelo O_2 . Como a ligação de uma molécula de O_2 aumenta a probabilidade de ligação de outras moléculas de O_2 pelas subunidades restantes, pode-se dizer que a Hb apresenta cooperatividade positiva (interações heme-heme). A cooperatividade positiva aumenta a eficiência da Hb como transportadora de O_2 e faz com que a curva de saturação da Hb pelo O_2 seja uma sigmóide (Figura 1).

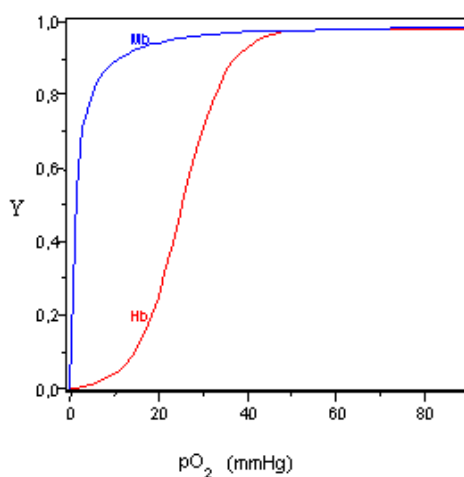


Figura 1. Curva de saturação da mioglobina e da hemoglobina (Fonte: <http://www.biocristalografia.df.ibilce.unesp.br>)

Efeitos alostéricos

A capacidade da Hb para ligar-se ao O_2 é afetada pela pressão parcial de oxigênio (pO_2), pelo pH do ambiente, pela pressão parcial de dióxido de carbono (pCO_2) e pela disponibilidade

de 2,3-difosfoglicerato. Esses componentes são chamados de efetores alostéricos, pois sua interação com um sítio na molécula da Hb afeta a ligação do O_2 aos grupos heme em outras regiões da molécula. Os efeitos alostéricos são as interações heme-heme, o efeito Bohr, o 2,3-difosfoglicerato (2,3-DPG), a ligação do CO_2 e a ligação do monóxido de carbono (CO).

Interações heme-heme

A ligação cooperativa positiva do O_2 permite à Hb liberar mais O_2 aos tecidos em resposta a variações relativamente pequenas na pressão parcial de O_2 . No pulmão, a concentração de O_2 é maior, e a Hb se torna praticamente carregada com O_2 . Em contrapartida, nos tecidos periféricos, a oxiemoglobina libera a maior parte do seu O_2 para a utilização no metabolismo oxidativo dos tecidos. A inclinação abrupta da curva de dissociação do O_2 na faixa de concentração de O_2 que ocorre entre os pulmões e os tecidos permite que a Hb transporte e libere o O_2 de forma eficiente, desde os sítios de alta pO_2 até os sítios de baixa pO_2 .

Efeito Bohr

A liberação do O_2 pela Hb é aumentada quando o pH diminui ou quando a pCO_2 está aumentada. Ambos resultam na redução da afinidade da Hb pelo O_2 e, com isso, em um deslocamento da curva de dissociação do O_2 para a direita (Figura 2). Essa alteração recebe o nome de Efeito Bohr. O aumento do pH ou uma redução da concentração de CO_2 resultam em maior afinidade pelo O_2 e em um deslocamento da curva para a esquerda.

A presença de pCO_2 elevada e o pH baixo ocorrem nos capilares dos tecidos que consomem O_2 , enquanto que a presença de baixa pCO_2 e pH mais elevado ocorre nos pulmões. A resposta da Hb a estas pequenas alterações a torna um eficiente transportador de O_2 .

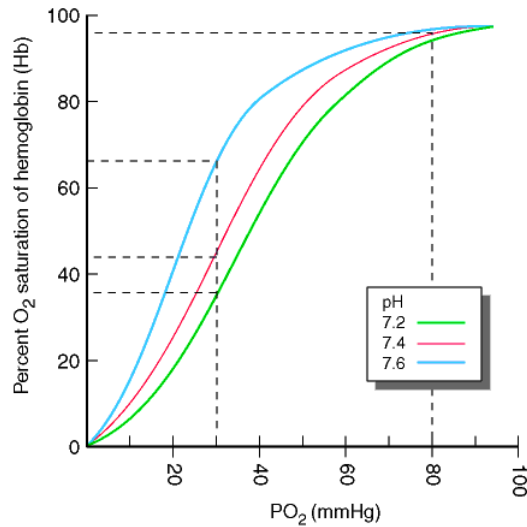


Figura 2. Efeito da afinidade da hemoglobina pelo oxigênio (Fonte: <http://www.biocristalografia.df.ibilce.unesp.br/>)

Efeito do 2,3-difosfoglicerato

O 2,3-DPG é o fosfato orgânico mais abundante nos eritrócitos, onde sua concentração é aproximadamente equivalente à da Hb. O 2,3-DPG diminui a afinidade da Hb pelo O₂ por ligar-se à desoxiemoglobina, mas não à oxiemoglobina, sendo expelido do seu sítio de ligação quando a Hb é oxigenada. Como diminui a afinidade da Hb pelo O₂, desloca a curva de dissociação do O₂ para a direita. O 2,3-DPG está aumentado em situações de hipóxia ou anemia crônica, a fim de permitir maior descarga de O₂ nos capilares dos tecidos.

Ligação do CO₂

A maior parte do CO₂ produzido no metabolismo é hidratada e transportada na forma de íon bicarbonato. Entretanto, algum CO₂ é carregado como carbamato, ligado a grupos α-amino da Hb, formando carbaminoemoglobina. A ligação do CO₂ estabiliza a desoxiemoglobina, resultando a um decréscimo de sua afinidade pelo O₂. Nos pulmões, o CO₂ dissocia-se da Hb e é liberado pela respiração.

Ligação do CO

O CO liga-se fortemente, mas reversivelmente, ao ferro da Hb, formando carboxiemoglobina. Quando o CO liga a um ou mais dos quatro grupos heme, os grupos

remanescentes ligam-se ao O_2 com maior afinidade, deslocando a curva de saturação para a esquerda. Esse aumento da afinidade faz com que a Hb seja incapaz de liberar O_2 para os tecidos.

Hemoglobina fetal (HbF)

A HbF é um tetrâmero, consistindo em duas cadeias α idênticas às da Hb do adulto, mais duas cadeias γ , que são membros da família de genes das β -globinas. É a principal Hb encontrada no feto e no recém-nascido, perfazendo cerca de 60% da Hb total dos eritrócitos durante os últimos meses da vida fetal. A síntese de HbA inicia na medula óssea por volta do oitavo mês de gestação em humanos e substitui gradualmente a HbF. Em condições fisiológicas, a HbF possui maior afinidade pelo O_2 do que a HbA, pois a HbF liga-se mais fracamente ao 2,3-DPG. Essa maior afinidade facilita a transferência do O_2 da circulação materna para os eritrócitos do feto através da placenta.

Carboxihemoglobina

O CO pertence ao grupo dos poluentes gasosos, é inodoro, incolor e insípido. É produzido tanto por processos naturais, como as erupções vulcânicas e queimadas florestais espontâneas, quanto por processos antropogênicos, como a combustão incompleta de combustíveis fósseis.

O CO originado das emissões dos veículos automotores possui grande importância ambiental, uma vez que grande parte do CO existente no ambiente é oriundo desta fonte. Atualmente, são lançadas na atmosfera, no mundo todo, cerca de 200 milhões de toneladas de CO, sendo que cerca de 60% são produzidos por veículos automotores.

Toxicocinética

O CO está presente no organismo em decorrência de dois mecanismos principais. No primeiro, endógeno, o CO é originado do catabolismo da Hb, quando os eritrócitos mais velhos são removidos da circulação e destruídos pelos macrófagos teciduais. No segundo mecanismo, a entrada no organismo ocorre pela inalação do ar ambiente que contenha o CO em virtude da combustão incompleta do carbono.

O CO possui afinidade pela Hb de 200 a 240 vezes maior que o O_2 . Cerca de 80 a 90% do CO absorvido liga-se reversivelmente ao átomo de ferro da fração heme da Hb, formando a

carboxihemoglobina. Além disso, a ligação de alta afinidade à Hb resulta em um deslocamento do O₂ da Hb, reduzindo a capacidade de transporte de O₂, e um desvio para a esquerda da curva de dissociação da oxiemoglobina.

A quantidade de formação da carboxihemoglobina depende essencialmente da duração da exposição ao CO, da concentração do CO e da ventilação alveolar. Em baixa concentração de CO, o corpo humano apresenta nível de carboxihemoglobina inferior a 2%; oito horas de trânsito pode aumentar esse nível para 5%; em fumantes, para mais de 10%.

Sinais clínicos

Exposições agudas em alta concentração de CO, como incêndios e tentativas de suicídio, tem maior probabilidade de resultar em toxicidade severa, causando sintomas como o coma, convulsões, edema pulmonar e parada cardiopulmonar. A exposição mais prolongada a níveis ambientais levemente a moderadamente elevados pode levar a sintomas sutis, facilmente confundidos com um resfriado, como cefaléia, mal estar, fadiga e irritação respiratória superior. Os órgãos com demandas metabólicas relativamente altas, como o cérebro e o coração, são mais sensíveis aos efeitos da exposição ao CO.

Diagnóstico

O diagnóstico de intoxicação por CO é baseado no histórico, nos sinais clínicos, nos exames laboratoriais e na resposta à oxigenoterapia. Os resultados dos exames laboratoriais de rotina, incluindo bioquímica sérica, exames hematológicos e gasometria arterial, são indicadores inespecíficos da intoxicação por CO e podem levar a diagnósticos enganosos. A Hb total e o hematócrito não são afetados de modo significativo pela presença de CO ou de carboxihemoglobina. Acidose metabólica com intervalo aniônico com níveis sanguíneos elevados de lactato pode ocorrer na intoxicação severa por CO, mas não é específica para este distúrbio. A oximetria de pulso não diferencia a carboxiemoglobina e a metemoglobina da oxiemoglobina (absorvem luz no mesmo comprimento de onda) e, por isso, não deve ser utilizada como método diagnóstico. Como a gasometria arterial é uma medida indireta ou calculada da percentagem de oxiemoglobina, esse teste frequentemente falha em detectar a queda na oxiemoglobina real que resulta da ligação de alta afinidade do CO à Hb. A cooximetria gasosa é de grande valor diagnóstico porque fornece a medida direta de níveis sanguíneos de Hb, carboxiemoglobina e metemoglobina. Os níveis de carboxiemoglobina podem ser úteis para intoxicações e altos níveis podem confirmar exposição. No entanto, estes

valores não predizem a gravidade da intoxicação e podem variar conforme a duração da exposição, o tempo da mensuração, a taxa de eliminação e a concentração de CO no ar inspirado.

Tratamento

O antídoto para a intoxicação por CO é a administração de O₂ de alto fluxo, com sonda endotraqueal ou máscara. Esse tratamento facilita a dissociação do CO da Hb, reduzindo a meia-vida da carboxiemoglobina circulante de quatro a cinco horas para menos de uma hora. Este tratamento deve ser continuado até que o nível de carboxihemoglobina volte à faixa normal. Além da oxigenoterapia, os cuidados com o paciente incluem reposição de volume e eletrólitos, correção da acidose, monitoração cardíaca e radiografias torácicas para avaliação pulmonar.

A exposição ao cianeto (CN) da fumaça da queima de alguns materiais como a espuma de poliuretano, nitrocelulose e seda pode complicar a intoxicação por CO e causa falha precoce no tratamento com O₂ em alto fluxo. Se há suspeita de intoxicação concomitante de CO e CN, pode ser necessário o uso do *kit* de antídoto para CN. O *kit* é constituído por duas partes, a primeira inclui nitritos e a segunda, tiosulfato. A função dos nitritos (nitrito de amila e nitrito de sódio) é induzir metemoglobina, pois o CN liga-se preferencialmente a esta do que às enzimas citocromo oxidases. O tiosulfato é o doador de enxofre, liga-se ao cianeto do complexo cianohemoglobina, formando tiocianato, um complexo relativamente atóxico, que é eliminado por excreção renal. No caso de intoxicação concomitante CO e CN, o tratamento específico para CN deve ser limitado à administração de tiosulfato de sódio, pois a metemoglobinemia induzida por nitrito pode prejudicar ainda mais a entrega de O₂ aos tecidos.

Metemoglobina

A metemoglobina é uma Hb anormal na qual o ferro da Hb não oxigenada está em estado férrico (Fe³⁺) e não em estado ferroso (Fe²⁺). Com o ferro oxidado, a Hb é incapaz de transportar O₂ ou CO₂.

Toxicocinética

A metemoglobina reduz a capacidade de transporte de O₂ do sangue porque é incapaz de transportar moléculas de O₂ e porque desvia a curva de dissociação da oxiemoglobina para a

esquerda. Este desvio aumenta a afinidade da Hb restante ao O₂, ou seja, a Hb liga-se às moléculas de O₂ mais eficientemente, mas é menos capaz de liberá-lo aos tecidos.

Em indivíduos adultos sem metemoglobinemia hereditária, o nível basal de metemoglobina é de 1 a 2% da Hb total. Para manter a concentração de metemoglobina neste intervalo, o eritrócito dispõe de dois mecanismos: a via dominante usa a nicotinamida-adenina-dinucleotídeo reduzido (NADH) e a outra via usa a nicotinamida-adenina-dinucleotídeo-fosfato reduzido (NADPH). No primeiro mecanismo, estão envolvidas as enzimas citocromo b5 e citocromo b5 redutase, e o NADH atua como doador de elétrons para o ferro férrico da metemoglobina. Este sistema duplo de enzimas é responsável por mais de 95% da atividade de redução da metemoglobina. O NADPH utilizado no segundo mecanismo origina-se da conversão enzimática da glicose-6-fosfato em 6-fosfogliconato. Esta conversão é realizada pela enzima glicose-6-fosfato-desidrogenase (G-6-PD) e neste processo o NADP⁺ é reduzido a NADPH. O NADPH usa a NADPH-metemoglobina-redutase para reduzir o ferro férrico a um estado ferroso. Este sistema enzimático é menos eficiente e responde por 5% da capacidade redutora de metemoglobina do eritrócito. No entanto, é possível aumentar a sua atividade em quatro a cinco vezes por ação de um co-fator exógeno, o azul de metileno.

Agentes capazes de induzir a formação de metemoglobina

Muitos agentes podem oxidar a Hb e causar metemoglobinemia. A metemoglobinemia induzida pela aplicação tópica de anestésicos locais, como a benzocaína, a lidocaína e a prilocaína, está associada à endoscopia, broncoscopia e ecocardiografia transesofágica.

Outros indutores conhecidos de metemoglobina são as sulfonamidas, a dapsona, os corantes à base de anilinas e a cloroquina. Os derivados do benzeno, dinitrofenol, cloratos, nitritos e outros produtos químicos oxidantes também podem produzir a metemoglobina.

Nitritos e nitratos

Os nitritos e nitratos são importantes agentes que causam metemoglobinemia, devido à poluição ambiental e contaminação da água por nitratos. Os nitratos são relativamente não-tóxicos. Entretanto, tem importância na intoxicação em animais por serem convertidos para nitritos. Atualmente, as principais fontes poluidoras de águas são as indústrias, esgoto domiciliar sem tratamento, lixo e fertilizantes agrícolas.

Em animais de produção, algumas forrageiras podem servir de fonte de nitratos e, assim, causar intoxicação. A gramínea *Brachiaria radicans* contém altos teores de nitrato. O capim

mandante (*Echinochloa polystachya*) e o capim elefante (*Pennisetum purpureum*) são gramíneas comumente utilizadas como forrageiras na região nordeste do Brasil. Nesta região foram relatados dois surtos de intoxicação por nitratos e nitritos, provocados pelo consumo dessas duas espécies. Ficou evidenciado que o fator que determinou a presença de níveis tóxicos de nitratos nas plantas foi a ocorrência de chuvas depois de um prolongado período de seca e o consequente crescimento rápido das plantas, absorvendo níveis tóxicos de nitratos. Outro fator importante que determinou a alta concentração de nitratos nas plantas foi a fertilização do solo com esterco.

Acetaminofen

O acetaminofen, ou paracetamol, pertence ao grupo dos antiinflamatórios não esteroidais (AINEs) e está contido em mais de 100 preparações medicamentosas vendidas sem receita médica.

Na maioria das espécies, o acetaminofen é conjugado com o ácido glicurônico (glicuronidação) ou com sulfato (sulfatação), resultando na produção de metabólitos atóxicos. Em gatos, a detoxificação por meio da glicuronidação é pobre, pois os gatos possuem baixos níveis de glicuronil-transferase, responsável pelo último passo dessa via.

Quando a via de conjugação com o ácido glicurônico fica saturada, inicia-se a oxidação por uma via mediada pelo citocromo P-450, resultando na produção de N-acetil-p-benzoquinoneimina (NAPQI), um metabólito tóxico. Esse metabólito altamente reativo se liga a macromoléculas celulares, causando necrose hepática e convertendo a Hb em metemoglobina. Em seguida, ele é conjugado à glutatona para formar um metabólito atóxico.

Geralmente, a metemoglobina é reduzida à Hb pela glutatona. Entretanto, na presença de níveis tóxicos de acetaminofen, a síntese de glutatona é reduzida, e a quantidade de glutatona livre disponível é insuficiente para reduzir a metemoglobina e ligar-se ao metabólito ativo.

Gatos são mais susceptíveis ao desenvolvimento de metemoglobina do que os cães, provavelmente porque mais grupos sulfidril reativos estão presentes na sua Hb (oito a vinte nessa espécie, contra dois a quatro em cães), tornando mais difícil manter o ferro em um estado reduzido sob condições de estresse oxidativo.

A dose tóxica para cães é de 200 a 300 mg/kg e para gatos é de 50 a 100 mg/kg. Enquanto que em cães a hepatotoxicidade é o principal sinal clínico, em gatos a intoxicação se manifesta pelos sinais de metemoglobinemia.

O antídoto específico para intoxicação por acetaminofen é a N-acetilcisteína (NAC), 140 mg/kg dose de ataque e 70 mg/kg as doses de manutenção, administradas por via oral ou endovenosa a cada quatro horas, até completar 17 doses. Ela age como precursor da cisteína e, por conseguinte, da glutatona. Repondo os estoques de glutatona, ela fornece doadores de sulfidríla, aos quais a NAPQI pode ligar-se e ser detoxificada. Ela também pode aumentar a sulfatação do paracetamol remanescente e, portanto, reduzir a quantidade de NAPQI que é produzida.

Sinais clínicos

A sintomatologia depende da rapidez na formação da metemoglobina, sendo menos exuberante em doentes com metemoglobinemia de instalação crônica. Normalmente os primeiros órgãos a manifestarem toxicidade são os que apresentam necessidades aumentadas de O₂, nomeadamente o cérebro e o coração. A quantidade absoluta de metemoglobina para causar cianose é 1,5 g/dl (aproximadamente 10-15% do total da Hb). Concentrações de metemoglobina de 10 a 20% são geralmente bem toleradas, sem clínica importante, à exceção da coloração cianótica. Níveis acima de 20-25% podem cursar com cefaléia, dispnéia, fotofobia, cansaço, confusão mental, taquicardia, palpitações e dor torácica. Níveis superiores a 55% provocam deterioração acentuada do estado de consciência, arritmias cardíacas, acidose, isquemia neurológica e choque cardiogênico. Níveis superiores a 70% são geralmente fatais.

Diagnóstico

Uma das primeiras indicações de metemoglobinemia é a cianose generalizada, que não melhora com a aplicação de O₂. O oxímetro de pulso lerá saturações anormalmente baixas, embora esta leitura não corresponda aos níveis de metemoglobina. Além disso, o sangue contendo concentração elevada de metemoglobina, em presença de O₂, apresenta coloração acastanhada, e não vermelho vivo, como o sangue de um paciente sadio. Outra indicação ao diagnóstico é a presença de uma pO₂ normal em uma gasometria arterial. A gasometria mede a pressão parcial de O₂ dissolvido no soro e não a capacidade da Hb transportar O₂. A metemoglobina não interfere com a difusão do O₂ dos pulmões, por isso a pO₂ é usualmente normal. Para medir diretamente a metemoglobina, uma amostra de sangue heparinizado deve ser enviada para análise por um cooxímetro, que vai determinar o nível real ou percentual de metemoglobina na amostra de sangue.

Outra causa de cianose, que pode ser confundida com metemoglobina ou estar associada a esta, é a sulfemoglobinemia. A sulfemoglobina resulta da incorporação de um átomo de enxofre no anel de porfirina da Hb. A sulfemoglobina também é incapaz de transportar o O₂ e faz o paciente parecer cianótico com níveis a partir de 0,5 g/dL. Desvia para a direita a curva de dissociação do O₂, permitindo assim que o O₂ seja liberado mais facilmente. A sulfemoglobina dura por todo o ciclo de vida do eritrócito, não podendo ser revertida pela administração de azul de metileno, pois o processo de sulfuração é permanente. A detecção de sulfemoglobina requer técnicas espectrofotométricas.

Tratamento

O tratamento deve ser realizado em pacientes com níveis de metemoglobina superiores a 30% ou com sintomatologia importante, como dispnéia, taquicardia, cefaléia ou alteração de estado de consciência. O tratamento de eleição é a administração 1 mg/kg de azul de metileno, por via endovenosa, ao longo de 3 a 5 minutos. A dose pode ser repetida em 30 minutos se a cianose não melhorar, até atingir a dose máxima de 7 mg/kg. O nível de metemoglobina deve ser reduzido significativamente dentro de 1 hora da infusão do azul de metileno. A ausência de resposta ao azul de metileno pode significar coexistência de deficiência de glicose-6-fosfato-desidrogenase ou de níveis significativos de sulfemoglobina. Simultaneamente, deve ser realizada a administração endovenosa de solução glicosada a 5%, já que a maior fonte de NADPH dos eritrócitos resulta da glicólise.

O azul de metileno age como cofator que acelera a eficiência da NADPH-metemoglobina-redutase, porque é convertido a azul de leucometileno que age como doador de elétrons para o ferro férrico, reduzindo-o de volta ao estado ferroso. A adição de azul de metileno faz com que esta via se torne o mecanismo predominante para a redução da metemoglobina.

A administração de azul de metileno é contra-indicada em pacientes com deficiência de G-6-PD, pois sem a redução do NADP⁺ para NADPH o azul de metileno não é reduzido. Nesse caso, os eritrócitos podem estar sujeitos à hemólise, porque o azul de metileno pode criar estresse oxidativo.

Se a utilização de azul de metileno for contra-indicada ou se não está funcionando, pode-se realizar a infusão lenta de 20 mg/kg de ácido ascórbico, por via endovenosa. Em pacientes com concentrações muito altas de metemoglobina ou concentrações muito baixas de hemoglobina total deve-se proceder a infusão de papa de hemácias.

Referências bibliográficas

- CANÇADO, J. E. D.; BRAGA, A.; PEREIRA, L. A. A.; ARBEX, M. A., SALDIVA, P. H. N.; SANTOS, U. P. Repercussões clínicas da exposição à poluição atmosférica. *Jornal Brasileiro de Pneumologia*, vol. 32, suppl. 2, 2006. Disponível em: <http://www.scielo.br>. Acesso em: 21/04/2009.
- CARVALHO, S.; LIMA, L.; FERNANDES, H., ARAÚJO, I., SILVA, G. Metahemoglobinemia por tinta de sapato – a propósito de dois casos. *Revista do Hospital de Crianças Maria Pia*, vol. 13, n.1, 2004. Disponível em :<<http://www.hmariapia.min-saude.pt/revista/marco2004/Metahemoglobinemia.pdf>>. Acesso em 13/04/2009.
- CHAMPE, P. C.; HARVEY, R. A.; FERRIER, D. R. *Bioquímica ilustrada*. 3. Ed. Porto Alegre: Artmed, 2006.
- COLACIOPPO, S. Efeitos sobre o homem das emanções de veículos automotores. *Revista de Saúde Pública*, vol. 8, n. 2, Abril/ Junho 1974. Disponível em: <http://www.scielo.br>. Acesso em: 13/04/2009.
- GFELLER, R. W.; MESSONIER, S. P. *Handbook of small animal toxicology and poisonings*. St. Louis: Mosby, 1998. 405 p.
- GONZÁLEZ, F. H. D.; SILVA, S. C. *Introdução à bioquímica clínica veterinária*. 2 ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2006. 358 p.
- KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUS, M. L. *Clinical biochemistry of domestic animals*. 5 ed. San Diego: Academic Press, 1997. 932 p.
- LACERDA, A.; LEROUX, T.; MORATA, T. Efeitos ototóxicos da exposição ao monóxido de carbono: uma revisão. *Pró-fono Revista de Atualização Científica*, v.17, n.3, p. 403-412, 2005. Disponível em: <http://www.scielo.br>. Acesso em: 13/04/2009.
- LEHNINGER, A. L. *Princípios de bioquímica*. 1ª ed. São Paulo: Sarvier, 1988.
- LING, L. J.; CLARK, R. F., ERICKSON, T. B.; TRESTAIL III, J. H.; *Segredos em toxicologia*. Porto Alegre: Artmed, 2005. 368 p.
- MEDEIROS, R. M. T.; RIET-CORREA, F.; TABOSA, I. M.; SILVA, Z. A.; BARBOSA, R. C.; MARQUES, V. M. S.; NOGUEIRA, F. R. B. Intoxicação por nitratos e nitritos em bovinos por ingestão de *Echinochloa polystachya* (capim-mandante) e *Penissetum polystachya* (capim-elefante) no sertão da Paraíba. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, vol. 23, n. 1, 2003. Disponível em: <http://www.scielo.br>. Acesso em: 21/04/2009.
- NAOUM, P. C.; MOURÃO, C. A.; RUIZ, M. A. Alterações hematológicas induzidas por poluição industrial em moradores e industriários de Cubatão, SP (Brasil). *Revista de Saúde Pública*, vol. 18, n. 4, 1984. Disponível em: <http://www.scielo.br>. Acesso em: 21/04/2009.
- NASCIMENTO, T. S.; PEREIRA, R. O. L.; MELLO, H. L. D.; COSTA, J. Metemoglobinemia: do diagnóstico ao tratamento. *Revista Brasileira de Anestesiologia*, vol. 58, n. 6, 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br>. Acesso em: 13/04/2009.
- PERES, F. F. Meio ambiente e saúde: os efeitos fisiológicos da poluição do ar no desempenho físico – o caso do monóxido de carbono. *Arquivos em Movimento*, vol. 1, n. 1, p. 55-63, 2005. Disponível em: <http://www.scielo.br>. Acesso em: 13/04/2009.
- PETERSON, M. E.; TALCOTT, P. A. *Small animal toxicology*. 2 ed. St Louis: Elsevier, 2006. 1190 p.
- SPINOSA, H. de S.; GÖRNIK, S. L.; PALERMO-NETO, J. *Toxicologia aplicada à Medicina Veterinária*. São Paulo: Manole, 2008. 942 p.