

Prevalência e aspectos anatomopatológicos da mineralização metastática em coelhos provenientes de biotérios e criação comercial do Estado do Rio de Janeiro, Brasil

Prevalence and morphological aspects of metastatic mineralization in rabbits from animal houses and a commercial breeding in the state of Rio de Janeiro, Brazil

Alessandra Santos Almeida Matias^I Sávio Freire Bruno^I Rodrigo Caldas Menezes^{II}
Carlos Alexandre Rey Matias^{III} Rogério Tortelly^I

RESUMO

Uma investigação sobre a prevalência e os aspectos anatomopatológicos de casos naturais da mineralização metastática em coelhos (*Oryctolagus cuniculus*) foi realizada em 79 animais provenientes de dois biotérios de criação (A e B) e de uma criação comercial, do Estado do Rio de Janeiro. A ração comercial fornecida aos animais dos três criatórios foi a mesma. Apenas animais do biotério A, com uma prevalência de 21%, apresentaram alterações macroscópicas e microscópicas relacionadas à mineralização metastática. Todos os coelhos acometidos possuíam idade acima de 1 ano e 92% eram fêmeas. Os órgãos mais freqüentemente atingidos foram a artéria aorta e principais ramos, que apresentavam mineralização das túnicas íntima e média, metaplasia cartilaginosa e óssea na túnica média, arterite granulomatosa e degeneração hialina. Os rins foram o segundo órgão mais comumente acometido, mostrando mineralização da cápsula de Bowman, distensão do espaço de Bowman, fibrose intersticial e mineralização da parede, dos túbulos contornados e dos ductos coletores. As alterações patológicas foram similares às observadas nos casos de hipervitaminose D, excesso de cálcio e fósforo na dieta de coelhos, devendo os níveis dessas substâncias serem revistos e analisados periodicamente nas rações comerciais desses animais.

Palavras-chave: mineralização metastática, coelhos, *Oryctolagus cuniculus*, prevalência, patologia, Rio de Janeiro.

ABSTRACT

A survey on the prevalence and morphological aspects of natural cases of metastatic mineralization was performed in 79 rabbits from two breeding animal houses (A and B) and from a commercial rabbit breeding facility in the

state of Rio de Janeiro. Rabbits from the three facilities were fed with the same commercial ration. Only rabbits from the facility A presented gross and microscopic alterations associated with metastatic mineralization with a prevalence of 21%. All of the affected rabbits were older than one year old and 92% were females. The most altered organs were the aorta and its main branches, which showed extensive mineralization of the intima and media, osseous and cartilaginous metaplasia of the media, granulomatous arteritis and hyaline degeneration. The second most affected organ were the kidneys, which showed mineralization of Bowman capsule, distention of the Bowman space, interstitial fibrosis and mineralization of the wall of convoluted tubules and collecting ducts. The pathologic alterations were similar to that observed in the cases of hypervitaminosis D and on rabbits fed with either high calcium or phosphorus diets. Therefore, the concentrations of these substances in the commercial rabbit rations should be reviewed and periodically analysed.

Key words: metastatic mineralization, rabbits, *Oryctolagus cuniculus*, prevalence, pathology, Rio de Janeiro.

INTRODUÇÃO

Coelhos são animais muito suscetíveis à mineralização metastática, cuja ocorrência natural nessa espécie está principalmente associada à hipervitaminose D e ao excesso de cálcio e fósforo na alimentação, acometendo a parede vascular, sobretudo da artéria aorta, e o parênquima renal (RINGLER & ABRAMS, 1971; STEVENSON et al., 1976; QUIMBY et al., 1982; BESCH-WILLIFORD et al., 1985; SHELL & SAUNDERS, 1989; ZIMMERMAN et al., 1990;

^IDepartamento de Patologia, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, Brasil.

^{II}Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas (IPEC), Fiocruz. Av. Brasil, 4365, 21040-900, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. E-mail: rodcm@ipec.fiocruz.br. Autor para correspondência.

^{III}Polícia Militar do Estado do Rio de Janeiro, São Gonçalo, RJ, Brasil.

MENEZES et al., 2003; RITSKES-HOITINGA et al., 2004). É uma enfermidade extremamente grave, comprometendo as funções circulatórias e renais do animal, inviabilizando a sua utilização em uma série de pesquisas e podendo causar a morte (MENEZES et al., 2003; RITSKES-HOITINGA et al., 2004).

Apesar da sua importância, são escassas as informações quanto à frequência, às alterações patológicas e à etiologia da ocorrência natural dessa moléstia em coelhos provenientes de biotérios e criações comerciais no Brasil. Portanto, este trabalho tem por objetivo analisar a ocorrência natural da mineralização metastática em coelhos (*Oryctolagus cuniculus*) provenientes de uma criação comercial e de dois biotérios de criação de animais convencionais do Estado do Rio de Janeiro, Brasil, relacionando-a à idade, ao sexo e à nutrição dos animais. Além disso, este trabalho também pretende determinar as alterações macroscópicas e microscópicas presentes nos casos de mineralização metastática e os principais órgãos acometidos em coelhos.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram necropsiados 79 coelhos (*O. cuniculus*) convencionais provenientes de dois biotérios de criação (A e B) e de uma criação comercial, do Estado do Rio de Janeiro. O biotério A está localizado no município do Rio de Janeiro, o biotério B no município de Niterói e a criação comercial no município de São Pedro d'Aldeia.

As análises anatomopatológicas foram realizadas no Serviço de Anatomia Patológica Professor Jefferson Andrade dos Santos da Universidade Federal Fluminense e no Laboratório de Controle da Qualidade Animal, Centro de Criação de Animais de Laboratório (CECAL), Fiocruz.

Biotério A: foram necropsiados, no ano de 2003 e no primeiro trimestre de 2004, 62 animais da raça Nova Zelândia. Os animais chegaram mortos ou foram examinados clinicamente através de inspeção e foram submetidos à eutanásia com doses excessivas intravenosas de tiopental. A faixa etária dos animais variou de 2 meses a 5 anos, sendo 26 machos e 36 fêmeas. Nesse biotério, os coelhos eram mantidos em gaiolas individuais de polipropileno com fundo perfurado, possuindo sob elas bandejas de aço inox com cama de maravalha autoclavada, em uma única sala mantida em um ciclo de luz de 12 horas, à temperatura de 22 a 23°C, com 35 a 40 trocas de ar por hora e umidade média de 59,5%. A água filtrada era fornecida em bebedouros autoclavados e trocada a cada dois dias. A ração era fornecida *ad libitum* e repostada quando

necessário. Os seus níveis de garantia por quilograma eram: 12,50% de umidade (máx); 16,00% de proteína bruta (min); 3,00% de extrato etéreo; 10,00% de matéria mineral; 14,00% de matéria fibrosa (máx); 1,00% de cálcio (máx) e 0,60% de fósforo (min). A composição do premix era a seguinte: vitamina A 6.000UI; vitamina D3 900UI; vitamina E 15mg; vitamina K3 1mg; vitamina B1 2mg; vitamina B2 6mg; vitamina B6 2mg; vitamina B12 10mcg; niacina 30mg; ácido pantotênico 17mg; ácido fólico 1mg; biotina 0,03mg; colina 300mg; ferro 40mg; zinco 60mg; cobre 6mg; iodo 0,3mg; manganês 40mg, selênio 0,1mg; cobalto 1mg; DL -metionina 100mg; antioxidante 100mg.

Biotério B: foram necropsiados 11 animais da raça Nova Zelândia, sendo cinco machos e seis fêmeas, todos com 6 meses. Os coelhos eram mantidos em gaiolas individuais de ferro com fundo perfurado, possuindo sob elas bandejas de aço inox com cama de maravalha, em um galpão de alvenaria mantido sob iluminação natural, à temperatura média de 22 a 23°C. A ração comercial, a mesma do biotério A, era fornecida *ad libitum* e repostada quando necessário. Os animais foram examinados clinicamente através de inspeção, sofreram eutanásia em câmara de CO₂ e posteriormente foram necropsiados.

Criação comercial: foram necropsiados seis animais mestiços originados do cruzamento de três raças (Gigante de Bouscat, Nova Zelândia e Califórnia), sendo dois machos e quatro fêmeas, todos com 12 meses. Os coelhos eram mantidos em gaiolas individuais de ferro com fundo perfurado, possuindo sob elas bandejas de aço inox com cama de maravalha, em um galpão de alvenaria mantido sob iluminação natural, à temperatura média de 22° a 23°C. A mesma ração comercial dos biotérios A e B era fornecida *ad libitum* e repostada quando necessário. Os animais foram examinados clinicamente através de inspeção, sofreram eutanásia em câmara de CO₂ e posteriormente foram necropsiados.

Histopatologia

Foram coletados fragmentos de artéria aorta e seus principais ramos, fígado, rins, útero e ovários, bexiga, pâncreas, baço, encéfalo, intestinos, estômago, traquéia, tireóide, paratireóide, coração e língua. Esse material foi imediatamente fixado em formol tamponado a 10% e encaminhado para estudo histopatológico. Para análise em microscopia óptica, os fragmentos dos órgãos foram clivados, processados pelas técnicas usuais de inclusão em parafina, cortados em micrótomo com 5µm de espessura e corados pela hematoxilina-eosina (BEHMER et al., 1976).

Análise estatística

Foram efetuados os seguintes cálculos estatísticos para o biotério A: média aritmética, desvio padrão para dados não agrupados relacionados à idade dos animais e distribuição normal reduzida.

RESULTADOS

Treze (16%) dos coelhos necropsiados apresentaram mineralização metastática. Apenas animais do biotério A, com uma prevalência de 21%, encontravam-se positivos, sendo 12 fêmeas (92%) e um macho (8%). A faixa etária dos animais acometidos foi entre 11 e 36 meses, média de 19,77 meses, sendo que doze possuíam mais que 1 ano de idade. Utilizando-se a curva normal reduzida, verifica-se que a probabilidade de um animal com idade entre 11 meses e a média ser acometido por mineralização metastática é de 3,98%.

Os sinais clínicos incluíam apatia, anorexia, perda de peso, mucosas hipocoradas, diarreia e desidratação.

Os achados macroscópicos dos animais acometidos incluíam: artéria aorta e seus principais ramos (como artérias braquicefálicas e femorais) dilatados, de consistência firme, em cujas paredes notavam-se placas e pontos esbranquiçados, e superfície endotelial irregular em 13 animais (100%) (Figuras 1 A, B); rins atrofiados, de tonalidade clara, com superfície irregular e pontos brancos na cortical em 10 animais (77%); traquéia hiperêmica, sendo que uma delas rangeu ao corte em cinco animais (38%). As alterações observadas em apenas um animal (8%) foram: estômago com úlceras na mucosa; pulmões com áreas congestas, bordos endurecidos, brônquios esbranquiçados e rangendo ao corte; útero com formações císticas na mucosa; hidrotórax e cardiomegalia; pericárdio com superfície endurecida; bexiga com presença de urólito de aproximadamente 1cm de diâmetro.

Os achados microscópicos nos animais acometidos pela mineralização foram: artéria aorta ora apresentando mineralização da túnica íntima ora da túnica média, que se apresentava espessada em 13 animais (100%) (Figura 1C); metaplasia cartilaginosa e óssea com presença de medula na túnica média da artéria aorta em cinco animais (38%) (Figura 1D); arterite granulomatosa com presença de células gigantes multinucleadas e degeneração hialina da parede arterial em um animal (8%); rins com mineralização de cápsula de Bowman acompanhada de dilatação de tal espaço, mineralização da parede de túbulos contornados e ductos coletores, que exibiam cilindros hialinos e

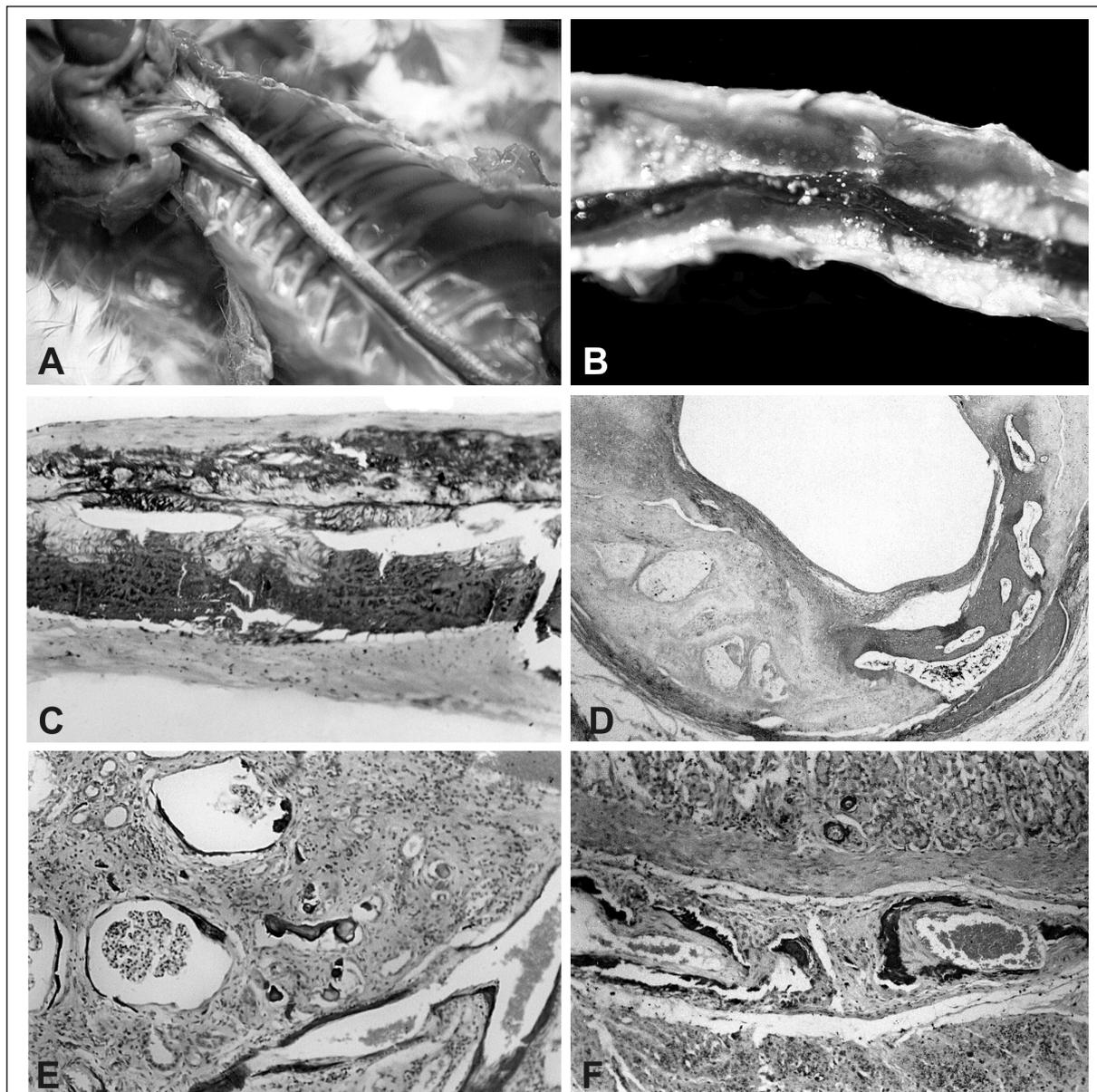
extensa fibrose intersticial e também mineralização de ramos da artéria renal em 10 animais (77%) (Figura 1E); submucosa do estômago com mineralização de ramos da artéria gástrica acompanhada de alguns pontos de mineralização na mucosa e muscular da mucosa em 6 animais (46%) (Figura 1F); pulmões congestos, enfisematosos mostrando marcante mineralização da parede vascular em dois animais (15%); coração com placa mineralizada no miocárdio e ramos da artéria coronária com mineralização na subíntima em três animais (23%); artérias mineralizadas no útero em quatro animais (31%); ovários com espessamento e mineralização da parede de artérias em dois animais (15%); língua com mineralização em vasos da muscular em um (8%) animal; bexiga com mineralização em vasos da mucosa em um animal (8%); baço com arteríolas apresentando espessamento da parede e mineralização em 1 animal (8%); gordura peripancreática apresentando mineralização arterial em um animal (8%); paratireóide com tumefação celular em um animal (8%).

DISCUSSÃO

A ocorrência de casos de mineralização metastática em coelhos na presente pesquisa foi maior que a encontrada por ZIMMERMAN et al. (1990), de 11,8%, e por MENEZES et al. (2003), de 13,4%. As fêmeas foram mais acometidas, fato que não havia sido relatado em trabalhos anteriores sobre essa patologia.

Apenas animais adultos estavam acometidos pelo processo patológico, e a faixa etária está de acordo com a citada na maioria dos relatos sobre sua ocorrência natural, estando compreendida entre um e três anos de idade (QUIMBY et al., 1982; SHELL & SAUNDERS, 1989; MENEZES et al., 2003). Nesses trabalhos, a mineralização dos tecidos moles foi associada à ingestão de excesso de vitamina D e cálcio na alimentação.

As alterações macroscópicas e microscópicas encontradas no presente estudo foram semelhantes às relatadas em outros trabalhos sobre casos naturais ou experimentais de hipervitaminose D, ingestão de excesso de cálcio e fósforo na dieta em coelhos, como também às observadas em cobaias intoxicadas experimentalmente pela planta *Solanum malacoxylon*. Nesses estudos, a artéria aorta, seus principais ramos e os rins foram os principais tecidos acometidos. Foram descritos também o envolvimento de vasos dos pulmões, ovários, útero, estômago, baço, cápsula e trabéculas do baço, miocárdio e células hepáticas (CAMBEROS et al., 1970; STEVENSON et al., 1976; QUIMBY et al., 1982; BESCH-WILLIFORD et al., 1985; KAMPHUES et al., 1986; SHELL &



Figuras 1 - Mineralização metastática de ocorrência natural em *O. cuniculus*. A) Artéria aorta mineralizada mostrando parede dilatada e de cor esbranquiçada. B) Corte longitudinal de artéria aorta torácica mineralizada mostrando túnica íntima com superfície irregular. C) Artéria aorta mostrando extensas áreas de mineralização na túnica média. HE, obj. 4. D) Artéria aorta apresentando metaplasia óssea e cartilaginosa na túnica média. HE, obj. 4. E) Rim mostrando mineralização de ramos da artéria renal, acentuada fibrose intersticial, mineralização na cápsula de Bowman e distensão do mesmo espaço. HE, obj. 20. F) Estômago apresentando mineralização de ramos da artéria gástrica na submucosa, acompanhada de alguns pontos de mineralização na mucosa e muscular da mucosa. HE, obj. 10.

SAUNDERS, 1989; ZIMMERMAN et al., 1990; MENEZES et al., 2003; RITSKES-HOITINGA et al., 2004). Porém, arterite granulomatosa e mineralização de vasos na língua, bexiga e pâncreas são pela primeira vez relatados na presente pesquisa. A ocorrência natural de metaplasia ósteo-cartilaginosa, com formação de medula óssea na túnica média da aorta em coelhos, já havia sido relatada por SHELL & SAUNDERS (1989).

Uma possível explicação para esse fenômeno seria o fato de que a parede das artérias não é somente receptora, mas também uma fonte de células tronco multipotenciais, que, em caso de lesão tecidual, possuem potencial regenerativo e podem se diferenciar em cartilagem, osso, gordura, músculo e tecido vascular *in vivo* e *in vitro* (ABEDIN et al., 2004). Essa metaplasia também pode ser causada pelo excesso de vitamina D

e de seus metabólitos ativos, que são capazes de induzir a diferenciação de fibroblastos e de células musculares lisas, que passam a sintetizar proteínas ósseas (BARROS & GIMENO, 2000).

As características da enfermidade observada no presente trabalho são diferentes das presentes na calcificação da artéria aorta induzida por dietas ricas em colesterol, em que ocorre uma mineralização distrófica, e na arterioesclerose espontânea de origem genética dos coelhos, que aparece desde a sexta semana de idade e acomete a parede da artéria aorta e artérias coronárias, sendo rara em outros vasos (GAMAN et al., 1967; ROKITA et al., 1991; ESPER et al., 1993; HSU et al., 2002).

A concentração de vitamina D presente na ração fornecida nas três criações é semelhante à presente na maioria das rações comerciais para coelhos. Nos casos de ocorrência natural da mineralização metastática por hipervitaminose D, as concentrações dessa substância na ração variavam entre 5.556UI kg⁻¹ e 800.000UI kg⁻¹ (RINGLEY & ABRAMS, 1971; STEVENSON et al., 1976; QUIMBY et al., 1982; BESCH-WILLIFORD et al., 1985; ZIMMERMAN et al., 1990). Segundo o NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC) (1977), o requerimento quantitativo dessa vitamina para coelhos não foi determinado. Entretanto, de acordo com HARRIS (1994), a quantidade de vitamina D recomendada para coelhos é de 1.000IU kg⁻¹, sendo tóxica quando acima de 3.000UI kg⁻¹. Ainda assim, KAMPHUES (1991) recomenda uma quantidade inferior a 1.000UI kg⁻¹ dessa vitamina. Com relação à concentração de cálcio, essa estava acima do recomendado pelo NRC (1977), que determina que a concentração desse mineral na dieta de coelhos deve ser de 0,4 a 0,75%, o que pode ter causado a mineralização metastática observada no presente trabalho. Para diversos autores, uma concentração elevada desse mineral na dieta de coelhos pode ter como conseqüências lesões nos túbulos renais, calcificação de tecidos moles como artéria aorta e rins, formação de cálculos renais, na medida em que o metabolismo de cálcio nesses animais é incomum e os seus mecanismos de homeostasia não são tão eficazes como em outros mamíferos (KAMPHUES et al., 1986; KAMPHUES, 1991; CHEEKE, 1994; JENKINS, 1999; IRLBECK, 2001). O nível de fósforo também encontrava-se acima do recomendado pelo NRC (1977) e por RITSKES-HOITINGA et al. (2004), podendo ter contribuído para o aparecimento da patologia observada no presente estudo. Segundo esses últimos autores, níveis de fósforo superiores a 0,22% na dieta de coelhos causam mineralização renal.

De acordo com os resultados do presente trabalho e com os experimentos de KAMPHUES et al. (1986) e MORAÑA et al. (1994), os coelhos mais jovens são menos susceptíveis à mineralização metastática. Segundo experimento de KAMPHUES et al. (1986), o fornecimento de dietas com altos níveis de cálcio para coelhos num período de 14 semanas aumentou a frequência e a intensidade da mineralização de tecidos moles apenas em animais adultos, não tendo sido produzidas tais alterações em coelhos jovens. Conforme MORAÑA et al. (1994), em experimento com coelhos alimentados com a planta *S. malacoxylon*, somente não houve mineralização no estômago de animais com 45 dias de idade, o que teria ocorrido possivelmente devido a uma menor quantidade de receptores de 1,25 (OH)2D₃ nos tecidos. Portanto, a ausência da lesão nos coelhos do biotério B e na criação comercial investigados nesta pesquisa, apesar de estarem consumindo a mesma ração comercial, esteve provavelmente relacionada às idades menores desses animais, inferiores à faixa etária em que geralmente começam a aparecer as alterações patológicas da mineralização.

CONCLUSÕES

A mineralização metastática em coelhos (*O. cuniculus*) ocorreu com relativa frequência em biotério de criação que mantém animais acima de 12 meses de idade, sendo as fêmeas as mais acometidas. As alterações patológicas foram graves, atingindo principalmente a artéria aorta, seus principais ramos e rins, podendo acometer ainda o miocárdio e a parede de vasos de diversos órgãos, comprometendo a utilização desses animais em pesquisas. Essas alterações foram similares às encontradas nos casos de hipervitaminose D, excesso de cálcio e fósforo na alimentação de coelhos, devendo os níveis dessas substâncias serem revistos e analisados periodicamente nas rações comerciais desses animais para prevenir a enfermidade.

AGRADECIMENTOS

Ao Bruno Eschenazi, Laboratório de Imagens, Instituto Oswaldo Cruz, pela assistência técnica com relação às figuras; à bióloga Rosângela Moreira e ao médico veterinário Sebastião Enes, pelo auxílio na obtenção dos animais.

COMITÊ DE ÉTICA E BEM-ESTAR ANIMAL

O desenvolvimento deste trabalho foi autorizado pelo Comitê de Ética para o Uso de Animais (CEUA/Fiocruz), através da aprovação do programa nº P0044-00.

REFERÊNCIAS

- ABEDIN, M. et al. Mesenchymal stem cells and the artery wall. **Circulation Research**, Dallas, v.95, n.7, p.671-676, 2004.
- BARROS, S.S.; GIMENO E.J. Cell differentiation and bone protein synthesis in the lungs of sheep with spontaneous calcinosis. **Journal of Comparative Pathology**, Edinburgh, v.123, p.270-277, 2000.
- BEHMER, O.A. et al. **Manual de técnicas para histologia normal e patológica**. São Paulo: Edart, 1976. 241p.
- BESCH-WILLIFORD, C. et al. Vitamin D toxicosis in commercially reared rabbits. **Laboratory Animal Science**, Memphis, v.35, p.528, 1985.
- CAMBEROS, H.R. et al. Soft tissue calcification in guinea pig fed the poisonous plant *Solanum malacoxylon*. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v.31, n.4, p.685-686, 1970.
- CHEEKE, P.R. Nutrition and nutritional diseases. In: MANNING, D.H. et al. **The biology of the laboratory rabbit**. 2.ed. New York: Academic, 1994. Cap.14, p.321-333.
- ESPER, E. et al. Natural history of atherosclerosis and hyperlipidemia in heterozygous WHHL (WHHL-Hh) rabbits. II. Morphologic evaluation of spontaneously occurring aortic and coronary lesions. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, Saint Louis, v.121, n.1, p.103-110, 1993.
- GAMAN, E.M. et al. Spontaneous aortic lesions in rabbits. III. Incidence and genetic factors. **Journal of Atherosclerosis Research**, Amsterdam, v.7, p.131-141, 1967.
- HSU, H.H.T. et al. Induction of calcification in rabbit aortas by high cholesterol diets: roles of calcifiable vesicles in dystrophic calcification. **Atherosclerosis**, Limerick, v.161, n.1, p.85-94, 2002.
- HARRIS, I. The laboratory rabbit. **Australian & New Zeland Council for the Care of Animals in Research and Teaching News**, Glen Osmond, v.7, n.4, p.1-8, 1994.
- IRLBECK, N.A. How to feed the rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) gastrointestinal tract. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.79, (E.Suppl.), p.343-346, 2001.
- JENKINS, J.R. Feeding recommendations for the house rabbit. **Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice**, Philadelphia, v.2, n.1, p.143-151, 1999.
- KAMPHUES, V.J. et al. Effects of increasing calcium and vitamin D supply on calcium metabolism of rabbits. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, Berlin, v.56, p.191-208, 1986.
- KAMPHUES, J. Calcium metabolism of rabbits as an etiological factor for urolithiasis. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v.121, suppl.11, p.S95-S96, 1991.
- MENEZES, R.C. et al. Mineralização renal e da artéria aorta em coelhos (*Oryctolagus cuniculus*) convencionais provenientes de um biotério de criação. **Revista Universidade Rural - Série Ciências da Vida**, Seropédica, v.23, n.1, p.13-14, 2003.
- MORAÑA, J.A. et al. Gastropatia em coelhos experimentalmente induzida pela planta calcinogênica *Solanum malacoxylon*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Seropédica, v.14, n.1, p.35-43, 1994.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of rabbits**. 2.ed. Washington, D.C: National Academy of Sciences, 1977. 30p.
- QUIMBY, F.W. et al. Hipercalcemia, hipercalcitonismo, and arterial calcification in rabbits fed a diet containing excessive vitamin D and calcium. **Laboratory Animal Science**, Memphis, v.32, p.415, 1982.
- RINGLER, D.H.; ABRAMS, G.D. Laboratory diagnosis of vitamin E deficiency in rabbits fed a faulty commercial ration. **Laboratory Animal Science**, Memphis, v.21, n.3, p.383-388, 1971.
- RITSKES-HOITINGA, M. et al. Nephrocalcinosis in rabbits – a case study. **Scandinavian Journal of Laboratory Animal Science**, Frederiksberg, v.31, n.3, p.143-148, 2004.
- ROKITA, E. et al. Calcification of aortic wall in cholesterol-fed rabbits. **Atherosclerosis**, Amsterdam, v.87, n.2-3, p.183-193, 1991.
- SHELL, L.G.; SAUNDERS, G. Arteriosclerosis in a rabbit. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v.194, n.5, p.679-680, 1989.
- STEVENSON, R.G. et al. Hypervitaminosis D in rabbits. **Canadian Veterinary Journal**, Ottawa, v.17, n.2, p.54-57, 1976.
- ZIMMERMAN, T.E. et al. Soft tissue mineralization in rabbits fed a diet containing excess vitamin D. **Laboratory Animal Science**, Memphis, v.40, n.2, p.212-215, 1990.