

UFRRJ
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
VETERINÁRIAS

TESE

**Efeito protetor da acetamida sobre as
intoxicações experimentais por monofluoroacetato
de sódio e por algumas plantas que causam morte
súbita em ratos**

Laura Iglesias de Oliveira

2011



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**EFEITO PROTETOR DA ACETAMIDA SOBRE AS INTOXICAÇÕES
EXPERIMENTAIS POR MONOFLUOROACETATO DE SÓDIO E POR
ALGUMAS PLANTAS QUE CAUSAM MORTE SÚBITA EM RATOS**

LAURA IGLESIAS DE OLIVEIRA

Sob a Orientação do Professor
Paulo Fernando de Vargas Peixoto

e Co-orientação da Professora
Ticiano do Nascimento França

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Área de Concentração Sanidade Animal

Seropédica, RJ
Março de 2011

Aos meus pais Neander
(*in memoriam*) e Narciza
que são a luz em meu caminho.
Aos meus queridos tios Moacyr
e Dalva por estarem sempre
presentes em minha vida.

AGRADECIMENTOS

Ao criador, por mais uma oportunidade.

Aos meus pais, Narciza Iglesias de Oliveira e Neander de Oliveira (in memoriam), e minha irmã Lucia Iglesias de Oliveira, por todo carinho, dedicação e incentivo.

Ao Professor Paulo Vargas Peixoto e Professora Ticiano do Nascimento França pela orientação deste trabalho.

Aos Patologistas Professor Carlos Hubinger Tokarnia e Dr. Jürgen Döbereiner pelos ensinamentos e boa vontade sempre.

Ao patologista e amigo Bernardo R. M. Cunha por seu incentivo e diversos esclarecimentos.

À Prof^a. Marilene de Farias Brito por ser um exemplo de amor ao trabalho e a patologia.

Aos colegas, Saulo Andrade Caldas, Tiago da Cunha Peixoto, Elise Miyuki Yamasaki e Ana Paula Aragão, pela valiosa ajuda nos experimentos e confecção das lâminas de histopatologia.

À amiga Juliana da Silva Prado por sua amizade e colaboração na formatação deste trabalho.

À Prof^a. Vivian de Assunção Nogueira pela valiosa colaboração com sugestões e esclarecimentos.

À Fundação Oswaldo Cruz através do Dr. Sebastião Enes Couto (Responsável pela colônia de camundongos do Centro de Criação de animais da FIOCRUZ (CECAL/FIOCRUZ) pela doação das gaiolas e animais utilizados nos experimentos.

À funcionária da Biblioteca Central da Universidade Severino Sombra (Vassouras/RJ) Jose de Souza Ivo pelo auxílio na aquisição dos trabalhos.

À querida amiga Vicky Adler Amádio por todo carinho, boa vontade e amizade.

Ao companheiro Benedito das Neves Costa pela compreensão e auxílio que sempre me dedicou.

A Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro por me possibilitar esta conquista.

636.08959

O48e

T

Oliveira, Laura Iglesias de, 1961-
Efeito protetor da acetamida sobre as
intoxicações experimentais por
monofluoroacetato de sódio e por algumas
plantas que causam morte súbita em ratos /
Laura Iglesias de Oliveira - 2011.
75 f.; il.

Orientador: Paulo Fernando de Vargas
Peixoto.

Tese (doutorado) - Universidade Federal
Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-
Graduação em Ciências Veterinárias.

Bibliografia: f. 63-75

1. Toxicologia veterinária - Teses. 2.
Plantas venenosas - Teses. 3. Acetamida -
Uso terapêutico - Teses. 4. Fluoroacetato
de sódio - Toxicologia - Teses. 5. Rato
como animal de laboratório - Teses. I.
Peixoto, Paulo Fernando de Vargas, 1958.
II. Universidade Federal Rural do Rio de
Janeiro. Curso de Pós-Graduação em
Ciências Veterinárias. III. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

LAURA IGLESIAS DE OLIVEIRA

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de Concentração em Sanidade Animal.

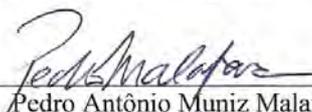
TESE APROVADA EM 14/03/2011



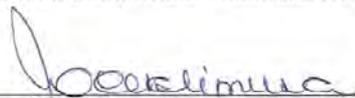
Paulo Vargas Peixoto. Dr. UFRRJ



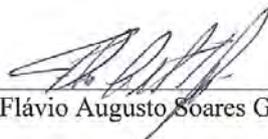
Carlos Maria Antônio Hubinger Tokarnia. Livre Docente. UFRRJ



Pedro Antônio Muniz Malafaia. Dr. UFRRJ



Leda Maria da Silva Kimura. DCs. PESAGRO-RIO



Flávio Augusto Soares Graça. Dr. UCB

RESUMO

OLIVEIRA, Laura Iglesias. **Efeito Protetor da Acetamida sobre as Intoxicações Experimentais por Monofluoroacetato de Sódio e por Algumas Plantas que Causam Morte Súbita em Ratos.** 2011. 75p. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias, Sanidade Animal). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2011.

O objetivo deste trabalho foi avaliar e comparar o efeito protetor da acetamida nas intoxicações por monofluoroacetato de sódio (MF) e por oito plantas que causam “morte súbita” (*Palicourea marcgravii*, *P. juruana*, *Pseudocalymma elegans*, *Arrabidaea bilabiata*, *Mascagnia rigida*, *M. pubiflora*, *M. exotropica* e *M. aff. rigida*) em ratos, bem como descrever o quadro clínico-patológico nos animais intoxicados. Foram utilizados 33 ratos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus albinus*), nove dos quais ingeriram espontaneamente as folhas frescas de *P. marcgravii* nas doses de 2,0 e 4,0 g/kg. Dois desses ratos receberam doses únicas de acetamida de 2,0 e 4,0 g/kg, por via oral um minuto antes do fornecimento da planta. Outro rato recebeu 4,0 g/kg de acetamida após ingerir 4,0 g/kg da planta e manifestar sintomas graves. Nos experimentos com o MF, foram administradas a quatro ratos doses de 4,0 e 8,0 mg/kg; o intervalo de tempo entre a administração da acetamida e dos extratos concentrados ou do MF variou entre 2 a 4 horas. A dose de acetamida utilizada variou de 2,0 a 8,0 g/kg. Nos experimentos com extratos concentrados das oito plantas brasileiras que causam morte súbita (PBCMS), 20 ratos foram intoxicados por via oral com doses únicas ou repetidas. Todos os ratos utilizados nos experimentos em que a acetamida foi previamente administrada e preveniram os sinais clínicos e/ou a morte (exceto *M. aff. rigida*, cuja amostra não se revelou tóxica), foram novamente submetidos ao mesmo protocolo experimental, porém sem administração de acetamida. Nesses experimentos posteriores todos os ratos manifestaram sinais clínicos e morte, exceto o rato 67 intoxicado com 51 g/kg de *P. juruana*. A acetamida, quando previamente administrada, evitou o aparecimento dos sinais clínicos e a morte em todos os animais intoxicados por MF, bem como pelas folhas frescas de *P. marcgravii* e com os extratos concentrados de cada uma das sete outras PBCMS utilizadas. Todos os ratos apresentaram aurículas de leve a acentuadamente ingurgitadas e, por vezes, também as veias cava cranial e caudal. Havia moderada dilatação cardíaca direita e esquerda em três animais. O fígado de todos os animais apresentava-se de leve a acentuadamente congesto, e em alguns ratos, verificou-se evidenciação do padrão lobular. Observou-se ainda discreta a leve presença de líquido espumoso na superfície de corte dos pulmões em três ratos. O exame histopatológico evidenciou nos rins de seis dos 30 ratos leve a moderada tumefação citoplasmática dos túbulos uriníferos contornados distais e, por vezes, também nos túbulos coletores, mas somente em quatro (dois intoxicados por *P. marcgravii*, um por *Pseudocalymma elegans* e outro por *M. exotropica*) havia a clássica lesão de degeneração hidrópico-vacuolar com picnose nuclear evidente. No fígado de 26 animais havia congestão e, destes, três apresentaram estreitamento compressivo dos cordões hepáticos, oito corpúsculos de choque; em outros três, necrose focal de discreta a moderada. Observou-se ainda, de discreta a moderada vacuolização de hepatócitos em 16 animais. Este trabalho demonstra que a acetamida possui acentuado efeito protetor, capaz de prevenir os sinais clínicos e evitar a morte dos ratos intoxicados por MF, folhas frescas de *P. marcgravii* e extratos concentrados de outras sete PBCMS. O quadro clínico-patológico observado nos ratos intoxicados pelo MF e pelas PBCMS deste estudo, associado ao efeito protetor da acetamida confirma que o MF é o princípio tóxico responsável pela morte dos ratos, e, por extensão, também dos bovinos que ingerem plantas que causam “morte súbita” no Brasil.

Palavras-chave: acetamida, monofluoroacetato de sódio, plantas que causam morte súbita, patologia.

ABSTRACT

OLIVEIRA, Laura Iglesias. **Protective effect of acetamide on experimental poisonings by sodium monofluoroacetate (MF) and some plants that cause "sudden death" in rats.** 2011. 75p. Thesis (PhD in Veterinary Science, Animal Health) Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2011.

This study aimed at evaluating and comparing the protective effect of acetamide on sodium monofluoroacetate (MF) and eight plants that cause "sudden death" (*Palicourea marcgravii*, *P. juruana*, *Pseudocalymma elegans*, *Arrabidaea bilabiata*, *Mascagnia rigida*, *M. pubiflora*, *M. exotropicalis* and *M. aff. rigida*) in rats; as well as to describe their clinical and pathological picture. 33 Wistar rats (*Rattus norvegicus albinos*) were used, nine of which spontaneously ate fresh leaves of *P. marcgravii* at 2.0 and 4.0 g / kg doses. Two of those rats received, orally, single doses of acetamide, 2.0 and 4.0 g / kg, one minute before the plant was supplied. Another rat received 4.0 g / kg of acetamide after ingesting 4.0 g / kg of the plant and showing severe symptoms. In the experiments with MF, doses of 4.0 and 8.0 mg / kg were administered to four rats. The interval between the administration of either acetamide and concentrated extracts or MF ranged from 2 to 4 hours; the acetamide ranged from 2.0 to 8.0 g / kg. In the experiments with concentrated extracts of eight Brazilian plants that cause sudden death, 20 rats were orally poisoned with single or repeated doses. All of the rats used in the experiments in which acetamide, previously administered, prevented the clinical signs and/or caused death (except *M. aff. rigida*), were re-subjected to the same experimental protocol, yet without the administration of acetamide. In those experiments, all of the rats evidenced clinical signs and death, except the rat 67, intoxicated with 51 g / kg of *P. juruana*. Acetamide, when previously administered, prevented the appearance of clinical signs and death in all of the rats poisoned by MF, as well as by the fresh *P. marcgravii* leaves and the concentrated extracts of each of the other Brazilian plants that cause sudden death. All of the rats showed mild to markedly engorged atria, and sometimes, also of the cranial and caudal vena cava. In three of the rats, there was a moderate right and left cardiac dilatation. The liver of all animals was slight mild or markedly congested, and with lobular pattern in some of them. A slight to light presence of frothy liquid on the cut surface of the lungs in three of the rats. In the kidney of 6 rats, the histopathology showed slight to mild cytoplasmic swelling of the distal convoluted tubules and sometimes in the collecting tubules. But only in four rats, there was evident vacuolar-hydropic degeneration with nuclear pyknosis. 26 rats presented liver congestion, three of these showed compressive narrowing of the hepatic cords and eight shock corpuscles; another three showed slight to moderate focal necrosis. A slight to moderate hepatocyte vacuolation was observed in 16 rats. The present study evidences that acetamide has a protective effect, capable of preventing clinical signs and avoiding the death of rats poisoned by MF, fresh *P. marcgravii* leaves and concentrated extracts of seven other Brazilian plants that cause sudden death. Clinical and pathological picture observed in the rats intoxicated by MF and the Brazilian plants that cause sudden death in cattle this study, associated with the protective effect of acetamide, indicate that MF is the toxic principle responsible for the rats deaths, and by extension, the death of the cattle that eat the plants that cause "sudden death" in Brazil.

Key words: acetamide, sodium monofluoroacetate, sudden death causing plants, pathology

ÍNDICE DE FIGURAS

		Pág.
Figura 1	Estrutura química do monofluoroacetato de sódio.....	3
Figura 2	Ação do monofluoroacetato de sódio no ciclo de Krebs.....	5
Figura 3	<i>Palicourea marcgravii</i> em brotação, no encarte, flores e frutos no município de Rio Bonito – RJ.....	10
Figura 4	Folhas de <i>Palicourea juruana</i>	13
Figura 5	Folhas e flores de <i>Arrabidaea bilabiata</i>	14
Figura 6	<i>Pseudocalymma elegans</i> e sua floração.....	17
Figura 7	Inflorescência, folhas e frutos de <i>Mascagnia rigida</i>	20
Figura 8	Folhas, flores e frutos de <i>Mascagnia pubiflora</i>	23
Figura 9	<i>Mascagnia</i> aff. <i>rigida</i> em floração e frutificação incipiente. Destaca-se a coloração vermelho-escuro dos pecíolos.....	24
Figura 10	Folhas e frutos de <i>Mascagnia exotropica</i>	25
Figura 11	Estrutura química da acetamida.....	29
Figura 12	Concentração do extrato filtrado por meio de rota-evaporador.....	33
Figura 13	a) Frasco de monofluoroacetato de sódio b) MF (sal) utilizado nos experimentos	36
Figura 14	a) Frasco de acetamida. b) substância utilizada nos experimentos...	36
Figura 15	Ingestão espontânea da folha fresca de <i>Palicourea marcgravii</i> . Rato 26 (4,0 g/kg).....	42
Figura 16	Intoxicação por monofluoroacetato de sódio (8,0 mg/kg). Rato 63 durante quadro convulsivo.....	48
Figura 17	Intoxicação por extrato concentrado de <i>Mascagnia exotropica</i> . (70 g/kg). Rato 56 em convulsão. Note a cauda elevada.....	49
Figura 18	Intoxicação por extratos concentrados de <i>Mascagnia rigida</i> (48 g/kg). Rato 55 com membros posteriores abduzidos.....	49
Figura 19	Intoxicação por <i>Mascagnia rigida</i> (48 g/kg). Rato 55 com aurículas, veias cava caudal e cranial acentuadamente ingurgitadas e moderada congestão hepática.....	50
Figura 20	Intoxicação por monofluoroacetato de sódio (8,0 mg/kg). Rato 63 com aurículas acentuadamente ingurgitadas e fígado com evidenciação do padrão lobular.....	51
Figura 21	Intoxicação por folhas frescas de <i>Palicourea marcgravii</i> (4,0 g/kg). Rato 25 com aurículas acentuadamente ingurgitadas e marcada congestão hepática.....	51
Figura 22	Intoxicação por <i>Palicourea marcgravii</i> (4,0 g/kg). Degeneração hidrópico-vacuolar dos túbulos uriníferos contornados distais associada à picnose nuclear, no Rato 21. HE, obj. 25x.....	52
Figura 23	Intoxicação por <i>Palicourea marcgravii</i> (4,0 g/kg). Degeneração hidrópico-vacuolar dos túbulos uriníferos contornados distais associada à picnose nuclear, no Rato 21. HE, obj. 25x.....	53

ÍNDICE DE TABELAS

	Pág.
Tabela 1 Freqüência das principais alterações histopatológicas observadas em bovinos intoxicados experimentalmente por plantas que causam morte súbita.....	27
Tabela 2 Freqüência das alterações histopatológicas observadas em coelhos intoxicados por plantas que causam morte súbita.....	28
Tabela 3 Principais dados sobre a coleta da planta e da metodologia específica empregada na preparação dos extratos concentrados no rota-evaporador.....	34
Tabela 4 Delineamento experimental e desfecho da intoxicação experimental por extratos aquosos de <i>Palicourea marcgravii</i> , <i>P. juruana</i> , <i>Arrabidaea bilabiata</i> , <i>Pseudocalymma elegans</i> , <i>Mascagnia rigida</i> , <i>M. pubiflora</i> , <i>M. exotropica</i> e <i>Mascagnia</i> aff. <i>rigida</i> em ratos.....	37
Tabela 5 Principais dados sobre o delineamento experimental e desfecho do efeito protetor da acetamida na intoxicação experimental por monofluoroacetato de sódio em ratos	39
Tabela 6 Principais dados sobre o delineamento experimental e desfecho da intoxicação experimental com folhas frescas de <i>Palicourea marcgravii</i> em ratos.....	41
Tabela 7 Resultados da intoxicação experimental por extratos aquosos de <i>Palicourea marcgravii</i> , <i>P. juruana</i> , <i>Arrabidaea bilabiata</i> , <i>Pseudocalymma elegans</i> , <i>Mascagnia rigida</i> , <i>M. pubiflora</i> , <i>M. exotropica</i> , <i>Mascagnia</i> aff. <i>rigida</i> e monofluoroacetato de sódio em ratos.....	44

ÍNDICE DE QUADROS

	Pág.
Quadro 1 Principais alterações histológicas observadas em ratos, após administração das plantas.....	54
Quadro 2 Principais alterações histológicas observadas em ratos, após administração do monofluoroacetato de sódio.....	57

LISTA DE ABREVIACOES

AM	Ácido monofluoroacético
ADP	Adenosina difosfato
ATP	Adenosina trifosfato
CAS	Chemical Abstract Service
DHV	Degeneração hidrópico-vacuolar
ECG	Ecocardiograma
EEG	Eletroencefalograma
MF	Monofluoroacetato
NADH	Nicotinamida adenina dinucleotídeo
FADH	Flavina adenina dinucleotídeo
PBCMS	Plantas brasileiras que causam morte súbita
SAP	Número de registro no Setor de Anatomia Patológica
SNC	Sistema nervoso central
TCD	Túbulos contornados distais
URSS	União das Repúblicas Socialistas Soviéticas

SUMÁRIO

	Pag.
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	3
2.1 Monofluoroacetato.....	3
2.1.1 Aspectos químicos.....	3
2.1.2. História.....	3
2.1.3. Metabolismo e toxicidade do monofluoroacetato.....	4
2.1.4. Quadro clínico-patológico da intoxicação por monofluoroacetato.....	6
2.1.5. Plantas que contém monofluoroacetato.....	9
2.2 Plantas que causam “morte-súbita” no Brasil.....	9
2.2.1 <i>Palicourea marcgravii</i>	9
2.2.2 <i>Palicourea juruana</i>	12
2.2.3 <i>Arrabidaea bilabiata</i>	14
2.2.4 <i>Pseudocalymma elegans</i>	16
2.2.5 <i>Mascagnia rigida</i>	20
2.2.6 <i>Mascagnia pubiflora</i>	23
2.2.7 <i>Mascagnia</i> aff. <i>rigida</i>	24
2.2.8 <i>Mascagnia exotropica</i>	25
2.2.9 Outras plantas que causam “morte súbita” no Brasil.....	26
2.3 Acetamida.....	29
2.3.1 Propriedades químicas e físicas.....	29
2.3.2 Farmacocinética.....	29
2.3.3 Mecanismo de ação como antagonista no ciclo de Krebs.....	29
2.3.4 Utilização.....	29
2.3.5 Toxicidade da acetamida.....	30
2.3.6 Efeito protetor da acetamida.....	30
2.3.7 Outras substâncias testadas para o tratamento das intoxicações pelo MF.....	31
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	32
3.1 Animais.....	32
3.2 Local.....	32
3.3 Experimentos com a planta dessecada.....	32
3.3.1 Preparação dos extratos.....	32
3.3.2 Delineamento experimental.....	35
3.3.3 Experimentos com a planta fresca.....	40
3.3.4 Necropsia.....	42
4 RESULTADOS.....	43
4.1 Aspectos Clínicos e Toxicológicos.....	43
4.2 Início dos Sinais Clínicos.....	43
4.3 Evolução Clínica.....	48
4.4 Quadro Clínico Geral.....	48
4.5 Efeito Protetor da Acetamida.....	49
4.6 Achados de Necropsia.....	50
4.7 Histopatologia.....	51
5 DISCUSSÃO.....	58
6 CONCLUSÕES.....	62
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	63

1 INTRODUÇÃO

No Brasil, as numerosas plantas que causam “morte súbita” (PBCMS) em bovinos são responsáveis por perdas econômicas significativas da ordem de pelo menos 600.000 bovinos por ano (TOKARNIA; DÖBEREINER; PEIXOTO, 2000). A intoxicação por plantas desse grupo, em geral, cursa com morte repentina sem a manifestação de sinais clínicos prévios e, à necropsia, não são observadas alterações macroscópicas significativas. O exame microscópico do rim de grande parte dos animais intoxicados por essas plantas revela uma lesão considerada por Döbereiner e Tokarnia (1959) típica, denominada degeneração hidrópico-vacuolar (DHV) das células epiteliais dos túbulos uriníferos contornados distais (TCD) associada à picnose nuclear.

O monofluoroacetato de sódio (MF), uma das substâncias mais tóxicas já descobertas, tem sido isolado de diversas plantas, cuja ingestão determina “morte súbita” na África do Sul, na Austrália e no Brasil. Dentre as 12 PBCMS, demonstrou-se, pelo menos cromatograficamente, a presença de MF em *Palicourea marcgravii* (OLIVEIRA, 1963) e *Arrabidaea bilabiata* (KREBS; KEMMERLING; HABERMEHL, 1994). Além disso, há indícios da presença do MF também em *Mascagnia rigida* (CUNHA, 2008).

Há dúvidas, contudo, sobre qual substância, de fato, seria o princípio tóxico determinante do quadro clínico-patológico e da morte dos animais, uma vez que diversos compostos, além do MF, têm sido isolados dessas plantas, entre eles alcalóides, saponinas, ácidos málico, palicúrico e mioctônico, salicilato de metila, cristais de oxalato de cálcio, tanóides, ácidos salicílico e o-metoxibenzóico, cafeína, alcalóides N-metiltiramina e 2-metiltetrahydro- β -carbolina (GÓRNIAK et al., 1986; PEREIRA; MEIRA; AZEVEDO, 2003 COELHO et al., 2007).

Recentemente, demonstrou-se que o quadro clínico-patológico manifestado por bovinos (NOGUEIRA et al., 2010) e ovinos (PEIXOTO et al., 2010) intoxicados experimentalmente com MF corresponde, em diversos aspectos, ao observado em casos de intoxicação por PBCMS e, que, a típica DHV dos TCD associada à picnose nuclear é uma lesão característica da intoxicação por MF nessas espécies, o que indica, indiretamente, que esse composto pode ser considerado como um dos fatores importantes, senão o mais significativo, implicado na morte dos animais que ingerem PBCMS. Alguns autores, contudo, acreditam que o MF não seria o princípio tóxico determinante das mortes dos animais que ingerem essas plantas ou que haveria outras substâncias envolvidas na patogênese e na morte dos animais intoxicados por essas plantas. Por outro lado, recentes questionamentos quanto à natureza degenerativa ou autolítica da lesão microscópica encontrada no rim, nos casos de intoxicação por PBCMS, trazem à tona dúvidas entre a relação da lesão renal e o princípio tóxico – monofluoroacetato de sódio – que determina estas intoxicações, e a necessidade de maiores esclarecimentos por meio de ensaios experimentais correlatos.

Sabe-se que a administração de acetamida (CH_3CONH_2) a animais recém intoxicados por MF resulta em considerável efeito protetor. Adicionalmente, já foi demonstrado em ratos que o fornecimento desse antídoto, uma hora antes da intoxicação com *Palicourea marcgravii*, evita o aparecimento de sinais clínicos e da morte em 100% dos casos (GÓRNIAK; PALERMO-NETO; SPINOSA, 1994). Ainda não foi demonstrado, entretanto, se a administração de acetamida é capaz de prevenir os sinais clínicos e evitar a morte de animais intoxicados pelas outras onze PBCMS. Essa demonstração comprovaria de forma prática que esse composto é o princípio tóxico determinante da morte dos animais intoxicados pelas PBCMS, o que forneceria subsídio para o desenvolvimento no país, de estudos genéticos, semelhantes aos que têm sido realizados na Austrália (GREGG et al., 1998) que visaram tornar bactérias ruminais capazes de metabolizar o MF, tornando-o inócuo.

O objetivo deste trabalho é avaliar e comparar o efeito protetor da acetamida na intoxicação por MF e por oito PBCMS (*Palicourea marcgravii*, *P. juruana*, *Pseudocalymma elegans*, *Arrabidaea bilabiata*, *Mascagnia rigida*, *M. pubiflora*, *M. exotropa* [*Amorimia exotropa*] e *M. aff. rigida*) em ratos, além de descrever o quadro clínico-patológico.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Monofluoroacetato

2.1.1 Aspectos químicos

O monofluoroacetato (MF) (n° CAS 62-74-8 no Chemical Abstract Service Registry Number) é um sal derivado do ácido monofluoroacético, também conhecido como fluoroacetato, composto 1080, veneno de Gibflaar ou “mão branca”. Quimicamente, trata-se de um pó cristalino, branco, sem sabor, muito estável (se decompõe a 200°C), solúvel em água e relativamente insolúvel em solventes orgânicos. O monofluoroacetato de sódio possui fórmula molecular $\text{NaFC}_2\text{H}_3\text{O}_2$ (Figura 1) e massa molecular 100g/mol (ROBINSON et al., 2002; EASON, 2002; HOLSTEGE et al., 2007; MCTAGGART, 1970; O’HAGAN, 2004). Quando presente em água de origem natural é degradado em sete dias por microrganismos presentes no ambiente. (ROBINSON et al., 2002).

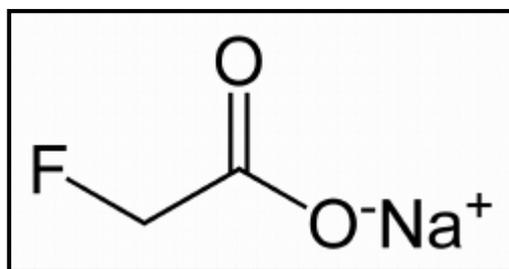


Figura 1. Estrutura química do monofluoroacetato de sódio. Adaptado de McTaggart, 1970; Eason, 2002; O’Hagan, 2004.

2.1.2 História

O MF foi sintetizado em 1896 na Bélgica (CHENOWETH, 1949; ATZERT, 1971) e sua toxicidade reconhecida na Alemanha em 1934 (ATZERT, 1971). Nos EUA foi produzido como rodenticida durante a década de 1940 (PROUDFOOT; BRADBERRY; VALE, 2006).

Em 1944, o Departamento de Pesquisa Científica e Desenvolvimento dos Estados Unidos forneceu o MF e outros produtos químicos para serem testados como rodenticida no Centro de Pesquisa de Animais Selvagens, onde recebeu o número 1080, depois adotado como nome popular (ATZERT, 1971). No mesmo ano, o monofluoroacetato de potássio (CH_2FCOOK) foi isolado de *Dichapetalum cymosum*, na África do Sul e foi o primeiro fluoreto encontrado naturalmente (MARAIS, 1944). Essa planta, conhecida popularmente como veneno de Gifblaar (folha venenosa em Africans), causou grande mortalidade em animais de produção (MARAIS, 1944; CHENOWETH, 1949; VICKERY, B.; VICKERY, M., 1973).

Durante a segunda guerra mundial, o MF protegeu tropas aliadas no Pacífico contra roedores portadores do tifo (PEACOCK, 1964).

Em 1952 foi usado com o objetivo de controlar a população de coelhos na Tasmânia e desde 1972, a venda dessa substância tornou-se ilegal nos Estados Unidos, em parte devido às mortes de animais não-alvos (BALCOMB; BOWEN; WILLIAMSON, 1983), porém em 1980, sua produção e utilização foram novamente autorizadas para uso restrito, em colares de proteção para animais de produção como ovinos e caprinos, contra predadores como coiotes (HOLSTEGE et al., 2007; PALMATEER, 1989; PALMATEER, 1990).

Tropas de Coalizão no Iraque, em 2005, recuperaram um carregamento de 1080, e a partir de então, a substância entrou em uma lista como um tóxico em potencial para uso terrorista com risco de contaminação de água de abastecimento público. Assim, no mesmo ano, um projeto de lei proibiu a fabricação, processamento e posse do produto (HOLSTEGE

et al., 2007). No Brasil, sua fabricação, comercialização e uso foram proibidos pelo Ministério da Saúde em 1997 (ADESP, 2007).

Atualmente, o MF é empregado em alguns países para o controle de animais que destroem plantações ou na conservação da biodiversidade (CHURCHILL; CORKHILL; RICHARD, 2007). Na Austrália e na Nova Zelândia, é usado para controlar a população de mamíferos selvagens, particularmente coelhos europeus (*Orcyotogalus cuniculus*), cães selvagens (*Canis familiaris dingo*), raposas (*Vulpes vulpes*), javali (*Sus scrofa*) e gambás (*Trichosurus vulpecula*) (McILROY, 1992).

2.1.3 Metabolismo e toxicidade do monofluoroacetato

O MF é um composto químico inibidor do ciclo de Krebs. Seu metabólito ativo, fluorocitrato, formado por meio da denominada “Síntese Letal” é responsável por impedir a atuação da enzima aconitase na conversão do citrato em isocitrato. Através da ligação do fluoroacetato com a acetil Coenzima A (CoAa-SH), forma-se o composto fluoroacetil CoA que substitui a acetil CoA no ciclo de Krebs e reage com a citrato sintase para produzir o fluorocitrato (Figura 2). Este composto bloqueia a aconitase e impede a conversão do citrato em isocitrato, o que resulta no acúmulo de citrato em vários tecidos. Além disso, o bloqueio da aconitase impede a formação das coenzimas NADH e FADH₂, de maneira que não há transferência de elétrons para a cadeia respiratória e formação de ATP a partir de ADP. Desta forma há queda na produção de ATP e processos metabólicos dependentes de energia também são bloqueados (GUIMARÃES, 1934; BARNES; GILBERT, 1960; CASCON; MORS, 1962; GAGNIN; MARAVALHAS, 1969; GÓRNIK et al., 1986; CLARKE, 1991). O metabolismo da fosforilação oxidativa, da oxidação do acetato e da síntese hepática de acetoacetato ficam comprometidas e há acúmulo de ceto-substâncias no sangue em resposta à diminuição do metabolismo dos substratos provenientes da oxidação de lipídeos, carboidratos e proteínas no ciclo de Krebs (NOVÁK; MISUSTOVÁ; HOSEK, 1972). Além disso, as enzimas piruvato desidrogenase e piruvato quinase, succinato desidrogenase (MEHLMAN, 1968), glutamina sintetase, fosfofrutoquinase (GODOY; CARMEN, 1974) e citrato ATPase (ROKITA; WALSH, 1983) são secundariamente afetadas.

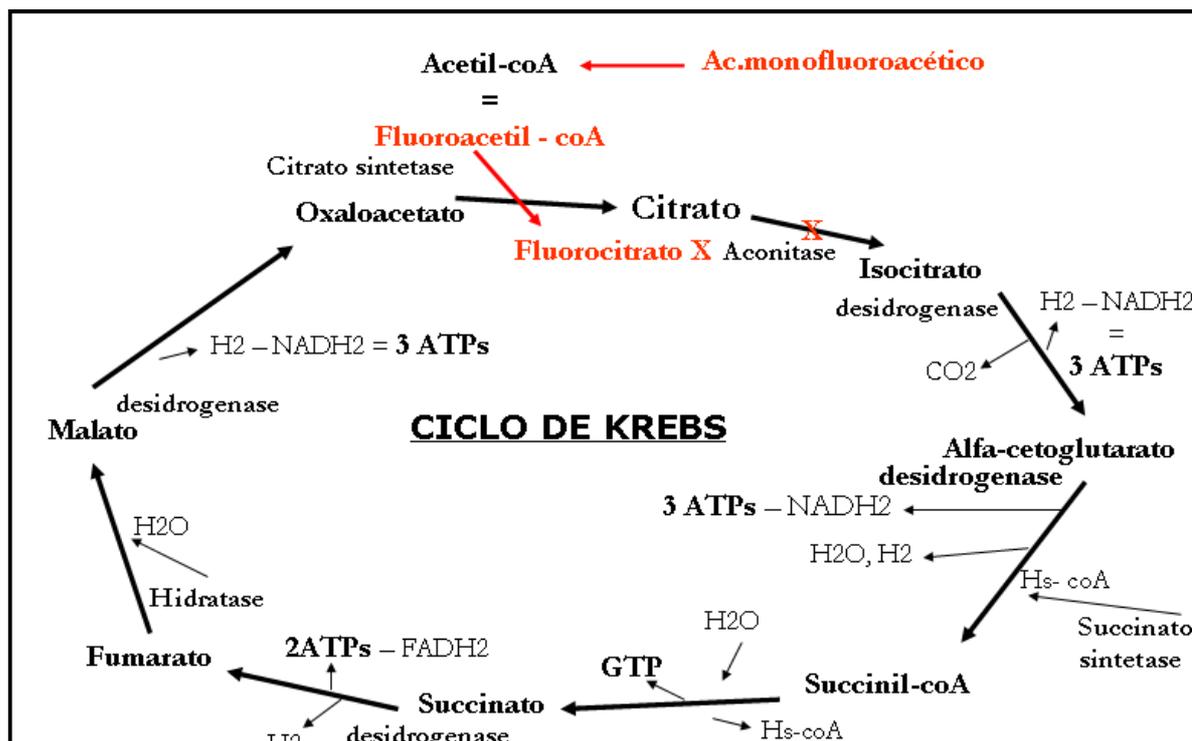


Figura 2. Ação do monofluoroacetato de sódio no ciclo de Krebs. Adaptado de Górnjak et al., 1986; Clarke, 1991.

O citrato em concentração elevada exerce efeito quelante sobre o cálcio e diminuição deste no plasma (OMARA; SISODIA, 1990; EASON, 2002; COLLICCHIO-ZUANAZE et al., 2006).

Os casos de intoxicação pelo MF, muitas vezes fatais, ocorrem em homens, e animais e os relatos estão relacionados a intoxicações criminosas ou acidentais. Um exemplo de intoxicação acidental foi relatado por McTaggart (1970) em um menino de oito anos de idade, após a ingestão de grãos de trigo tratados com o MF para intoxicar coelhos. Reigart, Brueggeman e Keil (1975) também relataram um caso de intoxicação de uma menina de oito meses de idade, encontrada por seus familiares bebendo em um copo que, dez meses antes, havia sido utilizado para armazenar o MF. Casos de utilização desse tóxico, com objetivo suicida, são também citados na literatura (CHI; LIN; CHEN, 1999; GONZÁLES et al., 2008; ROBINSON et al., 2002).

Em 2004, no Zoológico de São Paulo, setenta e três animais morreram envenenados pelo MF, entre os quais três chimpanzés, três antas, cinco dromedários, um elefante, um bisão, um orangotango, um macaco-de-cheiro, dois tamanduás, um sagui-preto-de-mão-amarela, dois macacos caiçara, dez micos-leões-dourados e quarenta e três porcos-espinhos (ORTIS, 2005).

Além da forma direta de intoxicação também foram descritas intoxicações através da ingestão de carcaças contaminadas de animais que morreram intoxicados pelo MF e através de resíduos tóxicos presentes no vômito de animais intoxicados (GOONERATNE et al., 1995; HEYWARD; NORBURY, 1998; EASON, 2002).

A intoxicação de cães através de carcaças contaminadas é possível devido a grande sensibilidade desta espécie animal ao MF, porém sua concentração e retenção nas carcaças, diminuem com o tempo e com a putrefação. Outro aspecto a ser considerado é a concentração do MF em músculos esqueléticos, rins e fígado de coelhos que são significativamente menores do que no plasma (GOONERATNE et al., 1995). Segundo Aptekman et al. (2003),

os cães e gatos são as principais espécies intoxicadas pelo MF, seja em situações acidentais ou criminosas.

A possibilidade de intoxicação no homem, a partir do consumo de carnes ovina e caprina contaminadas pelo MF foram avaliados através da presença de resíduos da substância no sangue, músculo, fígado e rins. A meia-vida plasmática do MF foi de 10,8 horas em ovinos e 5,4 horas nos caprinos e as concentrações nos demais órgãos foram inferiores às do plasma e persistiram em doses baixas por até 96 horas. Apesar disso, é pouco provável a intoxicação de humanos, secundária ao consumo da carne destes animais (EASON et al., 1994).

Os efeitos tóxicos do MF em invertebrados também foi investigado e segundo Notman (1989) aproximadamente nove Órdenes são propensas ao envenenamento por esta substância através de iscas; além disso, a contaminação de seus habitats por resíduos lixiviados das iscas e de carcaças contaminadas é um risco para as espécies raras de invertebrados e para os animais insetívoros.

Por ser um composto altamente tóxico e efetivo no controle de pragas, o MF tem sido muito estudado. Sua manipulação deve ser realizada com cuidado pois a substância pode ser absorvida no trato gastrintestinal, através da pele intacta e por inalação (EASON, 2002).

Pesquisas com bactérias do solo, capazes de clivar a ligação entre carbono e flúor do MF, foram realizadas por vários autores (GOLDMAN, 1965; KELLY, 1965; TONOMURA et al., 1965; LIEN; COLE; WALKER, 1979; KAWASAKI; TONE; TONOMURA, 1981; WALKER; LIEN, 1981; WONG et al., 1992; TWIGG; SOCHA, 2001). Em 1968, Goldman et al. purificaram a enzima fluoroacetato dehalogenase (haloacetato halidohidrolase) a partir destas bactérias. Essa enzima rompe a ligação entre o flúor e carbono.

Meyer, Grobbelaar e Steyn (1990) isolaram e identificaram *Pseudomonas cepacia* de *Dichapetalum cymosum*, planta tóxica para bovinos, presente no Sul da África. Os autores concluíram que *P. cepacia* provavelmente metaboliza o MF através da quebra da ligação entre o carbono e o flúor, e o carbono do acetato seria liberado através do CO₂ do ciclo de Krebs bacteriano. Assim, os autores concluíram que, apesar de haver uma concentração relativamente alta de MF em *D. cymosum*, o agrupamento de *P. cepacia* ao redor de organelas celulares, previne a intoxicação da planta.

Através de manipulação genética, Gregg et al. (1994) transferiram um gene de *Moraxella sp.* (amostra B) que codifica a enzima fluoroacetato dealogenase, apta a detoxificar o fluoroacetato, para a bactéria *Butyrivibrio fibrisolvens* (amostra OB156), isolada a partir do rúmen de ovelhas. Em pesquisas posteriores, amostras da bactéria *B. fibrisolvens*, geneticamente modificada, foram inoculadas no rúmen desta espécie animal e então, testados com doses de MF, por via oral. Este trabalho mostrou redução dos efeitos tóxicos, em ovelhas, após a intoxicação com o MF (GREGG et al., 1998).

Na Austrália foi observada tolerância de algumas espécies animais a plantas que contêm o MF (KING; OLIVER; MEAD, 1978; OLIVER; KING; MEAD, 1979; McILROY, 1992). Estes trabalhos compararam a tolerância ao monofluoroacetato em animais nativos, como cangurus, gambás e ratos da região ocidental da Austrália, com a tolerância destas espécies, a mesma substância, em áreas onde as plantas são ausentes. Os autores sugerem uma adaptação dos animais para a presença do monofluoroacetato em muitas espécies de plantas. Naquele país estudos mostraram a presença de um grande número de microrganismos, presentes no solo, capazes de realizar a desfluorinação (TWIGG; SOCHA, 2001).

2.1.4 Quadro clínico-patológico da intoxicação por monofluoroacetato.

O quadro clínico da intoxicação varia de acordo com a espécie acometida. Os sinais clínicos mais evidentes são cardíacos (arritmias e fibrilações ventriculares) e nervosos (tremores musculares, alucinações, convulsões e depressão respiratória) e, na maioria dos casos, resultam em morte, embora, eventualmente, recuperação possa ocorrer (CHI et al.,

1996). Por outro lado, há evidência de que ovelhas (SCHULTZ et al., 1982) e ratos (EASON; TURCK, 2002) apresentam danos cardíacos em longo prazo.

A gravidade dos sinais depende, principalmente, da dose utilizada e da espécie-alvo. Nos carnívoros, que estão entre os animais mais sensíveis, os efeitos predominantes se fazem sobre o sistema nervoso central (SNC). Em herbívoros, predomina a sintomatologia cardíaca. Os onívoros, inclusive o homem, apresentam sintomatologia mista. Alguns répteis são mais resistentes que os mamíferos (NORRIS et al., 2000).

Bovinos intoxicados experimentalmente com MF manifestam espasmos, letargia, colapso, micções frequentes e morrem (ROBISON, 1970).

Nos **ovinos** os efeitos tóxicos do MF também são observados no coração. Ao exame clínico, observam-se ansiedade, hiperatividade, ranger dos dentes, alteração comportamental (afastam-se do rebanho), diminuição do movimento ruminal, incontinência urinária, fraqueza, espasmos, convulsões, hipersensibilidade, paralisia parcial e pulso fraco. Os achados de necropsia consistiram em congestão, edema pulmonar, hidropericárdio, hemorragias no epicárdio e endocárdio e palidez miocárdica. As lesões histológicas eram caracterizadas, no caso das intoxicações aguda e subaguda, por degeneração e necrose individual ou de pequenos grupos de fibras no miocárdio. Na intoxicação crônica, as lesões eram semelhantes, mas apresentavam-se em diferentes estágios de desenvolvimento. Nesta espécie, administrações únicas de MF causam quadro agudo e subagudo de intoxicação, enquanto doses repetidas produzem sintomatologia crônica (SCHULTZ et al., 1982).

Em **coelhos e equinos** o efeito primário do MF se faz sobre o coração. Clinicamente, os coelhos apresentam distúrbios locomotores, convulsões tônico-clônicas, fraqueza muscular, ataxia, hipersensibilidade a ruídos, letargia e depressão. (CHENOWETH; GILMAN, 1946; McILROY, 1982). Adicionalmente verificam-se alterações de comportamento, hipotermia, diminuição da frequência cardíaca, fibrilação ventricular e morte geralmente após episódio convulsivo. As convulsões e a fibrilação ventricular iniciam-se, geralmente, após uma estimulação externa ou na contenção dos animais, o que sugeriu que o aumento na liberação de catecolaminas durante a intoxicação poderia exercer fator desencadeador das alterações cardíacas nestes animais (HUANG; PANG; CH'ANG, 1980). Equinos podem apresentar fibrilação ventricular, fraqueza, taquipnéia, hipotermia e pulso acelerado (CHENOWETH; GILMAN, 1946; QUIN; CLARK, 1947).

A intoxicação experimental por MF em alguns herbívoros australianos marsupiais, como *Trichosurus vulpecula*, resulta em sintomatologia nervosa caracterizada por hipersensibilidade e convulsões, além de respiração ruidosa, vocalizações ou espasmos associados à ejaculação. Outros marsupiais herbívoros apresentam fraqueza, letargia, dificuldade respiratória e ataxia (McILROY, 1982).

Algumas espécies que desenvolvem sintomas cardíacos e neurológicos, como o javali (*Sus scrofa*) e o macaco *Rhesus* (*Macaca mulatta*), morrem de falência respiratória ou de fibrilação ventricular. Em **porcos**, observam-se tremores, excitabilidade, vômito, letargia, dificuldade de locomoção, convulsões miotônicas, depressão respiratória e fibrilação ventricular, seguida por uma convulsão que tem origem no sistema nervoso central. Clinicamente, o macaco *Rhesus* apresenta vômito, dilatação das pupilas, espasmos de músculos faciais, movimentos desordenados com a cabeça, nistagmo, sialorréia, defecação frequente, convulsões tônicas e eventualmente fibrilação ventricular (CHENOWETH; GILMAN, 1946; FOSS, 1948; McILROY, 1982).

Em **ratos** da família Peramelidae e gambás (*Mephitis mephitis*) observam-se alterações cardíacas e neurológicas. Os principais sinais clínicos são depressão, tremores, hipersensibilidade, convulsões (McILROY, 1984). Os camundongos (*Mus musculus*) evidenciam sinais clínicos caracterizados por letargia, hiperexcitação, espasmos tetânicos e dificuldade respiratória (FOSS, 1948) e roedores nativos da Austrália podem assumir posturas

anormais, hipotermia, ataxia, hipersensibilidade, convulsões tônicas com movimentos de pedalagem, ejaculação e paralisia parcial (McILROY, 1982).

O quadro clínico-patológico observado em **gatos** intoxicados por MF foi caracterizado por vômitos, sialorréia, respiração abdominal, hiperexcitabilidade à luz e a estímulos externos, vocalização, convulsões, diarreia, dor abdominal, taquipnéia, midríase bilateral, hipotermia, hiperexcitabilidade, convulsões e midríase irresponsiva à luz (GAMMIE, 1980; COLLICCHIO-ZUANAZE et al., 2006). Na histopatologia observaram-se edema, congestão, hemorragia, necrose multifocal e infiltrado inflamatório neutrofílico no miocárdio; edema, hemorragia, congestão e discreta inflamação linfo-plasmocitária no pulmão; congestão, degeneração hidrópica, necrose multifocal e inflamação linfo-plasmocitária periportal hepáticas. Nos rins discretas áreas de hemorragia, congestão, degeneração e necrose tubular multifocal, necrose glomerular e degeneração hialina; no encéfalo edema das substâncias branca e cinzenta, congestão, gliose, satelitose com neuronofagia e cromatólise central e no baço retração esplênica com diminuição da polpa vermelha (COLLICCHIO, 2002; COLLICCHIO-ZUANAZE et al., 2006).

A sintomatologia predominantemente neurológica também ocorre em **cães**. Ao exame clínico observam-se hiperexcitabilidade, vocalização excessiva, sialorréia, espasmos dos músculos faciais, nistagmo, convulsão tônica, movimento de pedalagem dos membros e morte (CHENOWETH; GILMAN, 1946; CHENOWETH; JOHN, 1947). Outros autores descrevem ainda incontinência fecal e urinária, dilatação das pupilas e convulsões tônico-clônicas (FOSS, 1948). Sete cães intoxicados acidentalmente com o MF em uma propriedade na Austrália, na qual se utilizou o tóxico para o controle de predadores domésticos, apresentaram palidez na mucosa no trato gastrointestinal. Os achados histopatológicos foram congestão e hemorragia dos rins e pâncreas e, no fígado, congestão e degeneração gordurosa (O'HAGAN, 2004). Em outro estudo, observou-se vacuolização cerebral em cães que receberam 0,03 mg/kg/dia de MF via oral durante três meses (YAMASHITA; YADA; ARIYOSHI, 2004). De Paula (2000) avaliou as anormalidades clínicas e eletroencefalográficas (EEG) de 35 cães intoxicados por MF. Vocalização aguda, semblante de delírio, corridas desvairadas em linha reta foram os primeiros sinais comportamentais de intoxicação que culminaram em queda ao chão em decúbito lateral com opistótono e convulsão tônico-clônica. Hipertermia, taquicardia, taquipnéia e midríase foram observados nos primeiros momentos após a intoxicação. Os registros de EEG apresentaram dois tipos de manifestações: o primeiro associado à ocorrência de convulsões tônico-clônicas generalizadas, seguidas de estado comatoso que se caracterizou pela ocorrência de surtos de potenciais espículados de alta voltagem (complexos espícula onda lenta) mesclados a ondas hipersincrônicas polimórficas; segundo, surtos de curta duração com sequência de potenciais de forma aproximadamente senoidal associados a crises de choro, uivos e locomoção em giros ou tentativas de se levantar. As características de EEG e comportamentais demonstraram a existência das crises pré-convulsivas nos cães intoxicados por MF, que induziu convulsões clínicas, com alterações no EEG.

Em casos de intoxicação por MF no **homem**, há inicialmente, vômitos e dor abdominal, seguidos por ansiedade, agitação, contrações musculares, estupor, apreensão (CHI et al., 1996) dormência e formigamento em comissuras labiais, paralisia facial, salivação, perda da fala, visão distorcida, paralisia de braços e pernas, convulsões e coma (GRANT, 1986). Taquicardia e hipotensão são os sinais cardiovasculares mais comuns (CHI et al., 1996), embora arritmia, fibrilação ventricular ou parada cardíaca repentina (McTAGGART, 1970) e falha renal aguda reversível (CHI et al., 1996) também possam ocorrer.

O ecocardiograma (ECG) no homem revela frequentemente intervalo prolongado de QTc, especialmente, na presença de hipocalcemia (HAYES; LAWS, 1991). Outras anormalidades de ECG são batimentos ventriculares prematuros, anormalidades não-

específicas da onda T, mudanças do ST-T e fibrilação atrial com resposta ventricular rápida (CHI et al., 1996).

O efeito do MF foi estudado em **porquinho-da-índia** (*Cavia porcellus*), hamster e ratos. Clinicamente os porquinhos-da-índia apresentam sinais neurológicos caracterizados por convulsões contínuas e tremores musculares (CHENOWETH; GILMAN, 1946). Outros autores descreveram dificuldade respiratória, apreensão, hiperexcitabilidade e convulsões tônicas (FOSS, 1948). Hamsters e ratos são animais que não apresentam sintomatologia específica e exibem fraqueza, extrema bradicardia, tremores, hiperexcitabilidade, posturas anormais, dor abdominal, espasmos dos músculos abdominais, micção frequente, dilatação das pupilas, convulsões e morte (CHENOWETH; GILMAN, 1946). Em **camundongos** (*Mus musculus*), os sinais clínicos observados são: letargia, hiperexcitação, espasmos tetânicos e dificuldade respiratória (FOSS, 1948). Cães da Pradaria (*Cynomys ludovicianus*) desenvolvem respiração acelerada e severas convulsões (HUGGHINS; CASPER; WARD, 1988). Roedores nativos da Austrália podem assumir posições anormais, com hipotermia, ataxia, hipersensibilidade, convulsões tônicas com movimentos de pedalagem, ejaculação e paralisia parcial (McILROY, 1982).

A confirmação do diagnóstico de intoxicação por ácido monofluoroacético ou monofluoroacetato em animais é difícil, pois implica em procedimentos lentos de extração e baixa porcentagem de recuperação. O método utilizado tem sido a cromatografia (ALLENDER, 1990).

2.1.5 Plantas que contêm monofluoroacetato

Compostos que contêm MF foram isolados a partir de sementes, flores e frutos de 41 espécies de plantas da Austrália. Trinta e nove delas pertencem ao gênero *Gastrolobium* spp. (HOPPER, 1991) e ocorrem no oeste do país. As outras duas espécies, *G. grandiflorum* e *Acacia georginae*, ocorrem no nordeste e na região central (McILROY, 1992). Na África do Sul, o MF foi isolado de *Dichapetalum cymosum* (“gibflaar”), planta que causa mortandades em ovinos (MARAIS, 1944) e *Dichapetalum toxicarium*, popularmente chamada de “veneno de rato” e reconhecida por conter um composto, posteriormente identificado como fluoroacetato, letal para ratos, animais de produção e humanos. *D. toxicarium* foi usada pelos nativos da África durante o século XVIII para envenenar as fontes de água de tribos inimigas (EISLER, 1995).

No Brasil, o MF foi isolado através de técnicas cromatográficas de *P. marcgravii* e *A. bilabiata* (OLIVEIRA, 1963; KREBS; KEMMERLING; HABERMEHL, 1994); e provavelmente em *M. rigida* (CUNHA et al., 2006), plantas que causam “morte súbita” principalmente em bovinos e responsáveis por causar grandes prejuízos econômicos. É provável que outras plantas do mesmo grupo apresentem o MF e que esta substância seja a responsável pela morte dos animais intoxicados.

2.2 Plantas que Causam “Morte Súbita” no Brasil.

2.2.1 *Palicourea marcgravii*

Palicourea marcgravii (Figura 3) é a planta tóxica de mais ampla distribuição geográfica no Brasil. Tem como habitat regiões de boa pluviosidade e terra firme, não ocorre em várzea e é encontrada em quase todo o país, com exceção da região Sul e do Estado do Mato Grosso do Sul. É conhecida nas diferentes regiões de sua ocorrência, por diversos nomes populares como: “cafezinho”, “erva-de-rato” e ainda “café-bravo”, “erva-café”, “roxa”, “roxinha”, “roxona” e “vick. Cresce bem em beira de matas e em capoeiras, não sobrevive muito tempo em pastagens limpas, onde fica exposta ao sol; isto é, precisa de sombra, porém não de sombra fechada. Foi a primeira planta tóxica brasileira estudada (HOEHNE, 1932; PACHECO; CARNEIRO, 1932) e é a planta tóxica mais importante do

Brasil, devido à sua extensa distribuição, boa palatabilidade, alta toxidez e efeito acumulativo (TOKARNIA; DÖBEREINER; PEIXOTO, 2000).



Figura 3. *Palicourea marcgravi* em brotação, no encarte, flores e frutos (Valença, RJ). (Cortesia Dr. Saulo A. Caldas)

A intoxicação por esta planta, sob condições naturais, afeta bovinos e possivelmente caprinos e estudos experimentais já foram realizados em bovinos (PACHECO; CARNEIRO 1932; DÖBEREINER; TOKARNIA, 1959; CAMARGO, 1962; COSTA et al., 1984; TOKARNIA; DÖBEREINER, 1986; BARBOSA et al., 2003;); ovinos (TOKARNIA; PEIXOTO; DÖBEREINER, 1986), coelhos (PEIXOTO et al., 1987), caprinos (TOKARNIA; PEIXOTO; DÖBEREINER, 1991), equinos (TOKARNIA et al., 1993) e búfalos (BARBOSA et al., 2003).

Barbosa et al., (2003) compararam a resistência dos **búfalos e bovinos** à ação tóxica da *P. marcgravi*, mediante a administração da planta por via oral. Verificou-se que, as doses de 0,5 g/kg e 2,0 g/kg foram suficientes para determinar a morte dos bovinos, enquanto para os búfalos, foram necessárias doses entre 3,0 g/kg e 6,0 g/kg. Em búfalos, os primeiros sinais foram observados entre 8 horas e 28 horas e 17 minutos após o início da administração da planta e a evolução oscilou entre 10 minutos e 1 hora e 28 minutos. Já os bovinos mostraram os primeiros sinais clínicos entre 7 horas e 50 minutos e 17 horas e 53 minutos. A duração dos sinais graves, até a morte desses bovinos, foi de 3 e 9 minutos. Os autores verificaram quadro clínico patológico semelhante para búfalos e bovinos, contudo, concluíram que os búfalos são aproximadamente seis vezes mais resistentes do que os bovinos à intoxicação por essa planta. Os sinais clínicos observados nas duas espécies foram: andar desequilibrado, queda ao solo e decúbito lateral, movimentos desordenados na tentativa de se levantar, movimentos de pedalagem intermitentes, tremores musculares ocasionais, respiração ofegante e cada vez mais espaçada, às vezes com a boca aberta e a língua protrusa. Os achados de necropsia foram negativos tanto em búfalos como em bovinos. O exame histopatológico evidenciou acentuada degeneração hidrópico-vacuolar das células epiteliais dos túbulos contornados distais renais, caracterizada por picnose nuclear, vacuolização citoplasmática e lise de células epiteliais em alguns túbulos.

Para determinar o quadro clínico-patológico e a dose letal da intoxicação por *P. marcgravi* em **ovinos** foram realizados experimentos com a folha fresca recém-colhida e com

as folhas dessecadas e administradas em frações da dose letal de 1/2,5; 1/5; 1/10 e 1/20. Nos experimentos com a folha fresca, a dose tóxica variou de 0,5 a 1 g/kg. Nos experimentos com folhas dessecadas, a dose letal correspondeu a 0,75-1,0 g/kg da folha fresca. Nos experimentos com frações da dose letal, todos com a planta dessecada e utilizando como dose letal a quantidade correspondente a 1 g/kg da planta fresca, demonstrou-se que a planta tem efeito acumulativo acentuado até a dose diária de 1/10 da dose letal, e leve na dose diária de 1/20 (TOKARNIA; PEIXOTO; DÖBEREINER, 1986). O quadro clínico-patológico apresentado pelos ovinos foi similar ao descrito anteriormente para os bovinos. A evolução foi superaguda e variou de poucos minutos a 59 minutos. Ao exame microscópico, foram observadas alterações principalmente no fígado, rim e coração; no fígado e rim eram de natureza regressiva e circulatória e no miocárdio de natureza regressiva, inflamatória e proliferativa.

Em experimentos com folhas frescas de *P. marcgravii*, por via oral, em **caprinos**, doses de 0,6 g/kg e 1 g/kg foram capazes de causar a morte em mais de 2/3 dos animais. Os sinais e a morte dos caprinos apareceram, na grande maioria dos casos, após o exercício. A evolução foi mais longa que em bovino, com variação de um minuto a dois dias nesta espécie. Os sinais foram relutância em andar, andar com membros rígidos, decúbito esterno-abdominal, tremores musculares, decúbito lateral, dispnéia acentuada e morte. E não foram encontrados na necropsia, lesões de relevância ou constantes. Os exames histopatológicos revelaram alterações no coração, fígado e rim, principalmente de natureza regressiva. No miocárdio foram observados pequenos focos de necrose de coagulação de fibras cardíacas; no fígado havia vacuolização e necrose de hepatócitos e no rim, em apenas um caso, houve necrose de coagulação das células epiteliais dos túbulos uriníferos do córtex (TOKARNIA; PEIXOTO; DÖBEREINER, 1991).

Experimentos em equinos foram realizados utilizando folhas frescas recém-colhidas, fornecidas por via oral, em administrações únicas, junto com capim e ração (TOKARNIA et al., 1993). A menor dose capaz de causar a morte foi a de 0,6 g/kg. Nos animais que morreram, os primeiros sinais ocorreram entre 2 horas e 40 minutos a 6 horas e 25 minutos e a evolução variou entre 9 e 43 horas. Inicialmente observaram sudorese intensa seguida de inquietação, tremores musculares, movimentos abruptos de cabeça, às vezes de todo corpo (tiques), instabilidade, flacidez do lábio inferior, taquicardia, conjuntivas congestionadas, taquipnéia, respiração ofegante e exsiccose. Em concordância com experimentos anteriores realizados em outras espécies animais, não foram observadas lesões macroscópicas de relevância ou constantes. Ao exame histopatológico, o órgão que apresentou lesão mais característica e acentuada foi o rim. Em todos os equinos havia necrose das células epiteliais dos túbulos uriníferos, caracterizada por picnose nuclear e vacuolização citoplasmática com frequente evolução para lise; no fígado, foi observada degeneração turva com intensidade leve ou moderada.

Peixoto et al. (1987) realizaram experimentos em **coelhos** com folhas dessecadas administradas por via intragástrica e folhas frescas por via oral. A menor dose que causou a morte de coelhos foi 0,125 g/kg. Nos experimentos com folhas dessecadas, o início dos sintomas variou de 34 minutos a 13 horas e 1 minuto, a partir da administração da planta. A evolução variou de 1 minuto a 3 horas e 45 minutos. Os sintomas, nos experimentos com folhas dessecadas e com folhas frescas, caracterizavam-se por aparecimento súbito. Inicialmente os animais debatiam-se, geralmente de forma violenta, caíam em decúbito lateral, executavam movimentos de pedalagem, a respiração tornava-se fraca e espaçada e sobrevinha o óbito dentro de minutos. Os achados de necropsia consistiram de congestão com lobulação evidente no fígado. As alterações histológicas foram encontradas no fígado, rim e coração e revelaram natureza peculiar: no fígado observaram-se, em parte dos casos, necrose, tumefação e vacuolização de hepatócitos, presença de microtrombos nos sinusóides e nas

veias sublobulares e edema dos espaços de Disse; no coração, edema intracelular e afastamento entre as fibras, aumento da eosinofilia com perda de estriação das fibras; no rim, tumefação e degeneração hidrópico-vacuolar das células epiteliais dos túbulos contornados distais; estas alterações fornecem fortes indícios que a morte dos animais esteja relacionada com falha cardíaca e choque cardiogênico.

Pacheco e Carneiro (1932) foram os primeiros a investigarem os efeitos tóxicos de *P. marcgravii* em dois ratos, através da utilização de extrato aquoso da planta embebido em pedaços de pão. Os autores relataram que os animais foram encontrados, após algumas horas, imóveis, encolhidos, com pelos arrepiados, respiração acelerada e dispnéica. Os animais permaneciam em decúbito abdominal mesmo após as tentativas de movimentá-los. Dificuldade para se manter em pé e tremores de cabeça também foram observados. A morte de um animal ocorreu em aproximadamente 48 horas e os achados de necropsia revelaram congestão pulmonar, congestão e hemorragia do intestino delgado e baço enegrecido. O outro animal foi eutanasiado.

Em 1989, Górnjak, Palermo-Neto e Spinosa avaliaram os efeitos tóxicos de *Palicourea marcgravii* em **ratos, hamster e camundongos** através da utilização de extrato nas concentrações de 1g folhas/10 ml de água (PM 1) e 1 g de folhas/6 ml de água (PM 2). Nove animais receberam o extrato (PM1), por via oral. **Ratos e hamster** receberam a dose de 6ml e os **camundongos** receberam 1,5 ml. Para a concentração de 1 g de folhas/6 ml de água (PM 1) foram utilizados dois **ratos**. O tempo decorrido entre a administração do extrato e o início dos sinais, foi de 1 a 8 horas. Os sinais apresentados pelos animais que receberam PM2 foram observados por 2 horas consecutivas e consistiam de excitação, salivação, dificuldade locomotora e tremores musculares que surgiam e aumentavam gradualmente até o animal cair e apresentar movimentos de flexão seguidos por extensão das patas traseiras. Os animais permaneciam estáticos por longo período, em seguida apresentavam convulsão tônico-clônica e morte. Os autores concluíram que insuficiência respiratória foi à causa da morte. Não foram realizados exames macroscópicos ou microscópicos. As vias endovenosa e subcutânea também foram avaliadas utilizando-se a concentração do extrato de PM2. Por via endovenosa os animais morriam sem apresentar convulsões e por via sub-cutânea a morte foi precedida de convulsões.

O estudo comportamental em **ratos**, após a administração de extrato de PM, nas doses de 500, 600, 800, 1200 e 1300 mg/kg por via oral, foi realizado por Eckschmidt et al. (1989). Os sinais se iniciaram uma hora após a administração do extrato e consistiam de apatia, respiração profunda, espasmos musculares e excitação. Convulsões tônico-clônicas ocorreram em muitos animais e iniciaram aproximadamente 3 horas após a intoxicação, dependendo da dose empregada. Quatro horas após a administração do extrato, os animais apresentaram sinais de flexão e extensão das patas traseiras que era mantido por 5 a 15 segundos. Alguns animais morreram nesta fase. Respiração profunda, exaustão e dilatação das pupilas também foram observadas.

Em outro trabalho, Górnjak, Palermo-Neto e Spinosa (1994) administraram extrato aquoso das folhas de *P. marcgravii* na concentração de 1 g de folhas/6 ml de água. Neste experimento, os 6 **ratos** receberam o extrato, por via oral, na dose 117,6 mg/kg, todos os animais apresentaram convulsões e 66,6 % morreram. Não foi realizada necropsia.

2.2.2 *Palicourea juruana*

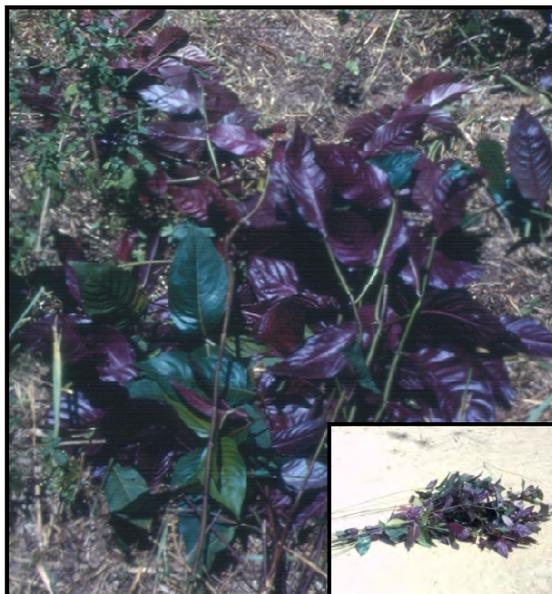


Figura 4. Folhas de *Palicourea juruana* (Paragominas, PA).
(Cortesia Prof. Carlos Hubinger Tokarnia)

Arbusto da Família Rubiaceae, conhecido pelos nomes populares de “roxa” ou “roxinha” é responsabilizada por mortandades em bovinos na região de Paragominas (Pará), município de Novo Airão (Amazonas) e no município de Porto Velho (Rondônia). *Palicourea juruana* (Figura 4) é encontrada em matas, capoeiras e em pastos recém-formados (TOKARNIA; DÖBEREINER; PEIXOTO, 2000).

Em um estudo experimental com seis **bovinos**, Tokarnia e Döbereiner (1982) caracterizaram a toxidez de *P. juruana*, através da administração, em doses únicas, de folhas dessecadas por via oral e por sonda gástrica para 22 coelhos (Ibid.). Em bovinos, a dose de 2 g/kg foi considerada letal e, aproximadamente 12 horas após a ingestão da planta, ocorreu “morte súbita”. Os animais apresentaram relutância em andar, pulso venoso positivo, caíam em decúbito lateral e morriam em poucos minutos. Os achados de necropsia foram praticamente negativos e ao exame microscópico havia apenas leve processo degenerativo no fígado, sobretudo, leve a moderada vacuolização (Sudan III negativo).

Estudos foram realizados com folhas frescas de *P. juruana* a quatro bovinos nas doses de 0,25, 0,5, 1,0, e 2,0g/kg, por via oral (TOKARNIA; DÖBEREINER; PEIXOTO, 1994). O bovino que ingeriu 0,25 g/kg não apresentou sinais de intoxicação. Os animais que receberam as doses de 0,5 e 1,0 g/kg apresentaram relutância em caminhar, andar desordenado, tremores musculares, queda, decúbito lateral e taquipnéia. O animal que recebeu a dose de 2,0 g/kg apresentou os primeiros sinais 12 horas e 20 minutos após a administração da planta, com sinais similares aos descritos acima e a morte ocorreu 54 horas após o aparecimento dos primeiros sintomas. Os achados de necropsia consistiram em fígado, com áreas pontilhadas branco-acinzentadas, na superfície de corte. Ao exame histopatológico do fígado observou-se áreas de necrose de coagulação com picnose e cariorrexia nas zonas intermediárias e centrolobular; no coração havia áreas de necrose coagulativa muito evidentes.

Experimentos também foram realizados em **búfalos** para se estabelecer à sensibilidade destes animais à *P. juruana*. Nestes animais, verificou-se que as doses de 0,25 e 0,50 g/kg não causaram sinais de intoxicação, a dose de 1,0 g/kg causou sinais leves, e a dose de 2,0 g/kg determinou a morte. Diante dos resultados, estabeleceu-se que o búfalo é, pelo menos, quatro vezes mais resistente que o bovino. Em relação aos bovinos, só a dose de 0,125 g/kg não cursou com sinais de intoxicação. Doses a partir de 0,25 g/kg causaram a morte de todos os bovinos. Nestas espécies, a manifestação clínica mais importante foi queda do animal seguida

de “morte súbita”. Alguns animais mostraram sinais leves, como relutância em andar e pulso venoso positivo, especialmente quando eram movimentados. O búfalo que morreu começou a apresentar sinais 8 horas e 46 minutos após a administração da planta e morreu 5 minutos depois da queda. Já nos bovinos, o início dos sinais variou entre 8 e 24 horas e 10 minutos e a evolução variou de 2 a 3 minutos. Os achados de necropsia, tanto no búfalo quanto nos bovinos, foram praticamente negativos. Os exames histopatológicos revelaram, como lesões mais importantes para o búfalo, no rim, degeneração hidrópico-vacuolar das células epiteliais dos túbulos contornados distais, de intensidade discreta, porém nítida, e para os bovinos, vacuolização dos hepatócitos na zona intermediária do lóbulo hepático em dois animais e, adicionalmente, no miocárdio de um deles, extensas áreas de necrose de coagulação incipiente; no terceiro bovino também foi constatada, no rim, moderada degeneração hidrópico-vacuolar das células epiteliais dos túbulos contornados distais (OLIVEIRA et al., 2004).

Em **coelhos**, o início dos sinais variou de 2 horas e 15 minutos a 6 horas e 30 minutos, com evolução de 1 a 9 minutos. A menor dose que levou o animal à morte foi de 0,5g/kg. Os animais faziam movimentos desordenados, violentos, debatiam-se, pulavam ou movimentavam-se lentamente, e logo em seguida caíam, em geral em decúbito lateral, com a respiração difícil e espaçada e então morriam. Os achados de necropsia foram negativos, contudo, em alguns animais, foi encontrada congestão do fígado. O exame histopatológico revelou alterações hepáticas sob a forma de dissociação centrolobular dos cordões hepáticos e vacuolização; em um animal notou-se degeneração hidrópico-vacuolar das células epiteliais dos túbulos uriníferos contornados distais do rim (Sudan III negativo) (TOKARNIA; DÖBEREINER, 1982).

2.2.3 *Arrabidaea bilabiata*



Figura 5. Folhas e flores de *Arrabidaea bilabiata* na várzea (Antazes, AM).
(Cortesia Prof. Carlos Hubinger Tokarnia)

Conhecida pelos nomes populares de “gibata” ou “chibata”, é considerada uma das plantas mais importantes da Amazônia, por ser responsável pela grande maioria das numerosas mortes que ocorrem nas extensas regiões de várzea da bacia Amazônica (TOKARNIA; DÖBEREINER; PEIXOTO, 2000).

Sua toxidez foi primeiramente observada na Venezuela, nas margens do rio Orinoco e de alguns de seus afluentes. Suspeita-se, neste país, que a época do ano tenha influência na toxicidade da *A. bilabiata* (Figura 5); quanto maior a precipitação pluviométrica, menor seria

a toxidez (CORTES, 1969/71). A planta é encontrada somente nas partes baixas (várzeas, restingas e abas-de-teso) que se inundam durante o período de “cheia”, isto é, nas margens do Rio Amazonas, de seus paranás, lagos e afluentes (TOKARNIA; DÖBEREINER; PEIXOTO, 2000).

Döbereiner, Tokarnia e Silva (1983) realizaram experimentos em **bovinos** com a brotação e as folhas maduras da *A. bilabiata*, colhidas em diversas épocas do ano e em diversos municípios da Amazônia e verificaram grande variação da toxidez. Em experimentos com as folhas recém-colhidas em apenas um município (Itacoatiara, AM) e na mesma época (julho 1976), 1,25 g/kg das folhas causaram graves sinais de intoxicação e 2,5 g/kg provocaram a morte dos animais. Também, na Amazônica, mas em locais e épocas diferentes, experimentos com a dose de 10 g/kg não causaram sinais de intoxicação nos bovinos.

Em estudos realizados com a finalidade de avaliar a sensibilidade de **bovinos** e **búfalos** à *A. bilabiata*, investigar possíveis diferenças de toxidez entre as folhas novas e maduras da planta, bem como entre diferentes épocas do ano, verificou-se que as folhas novas da planta são mais tóxicas do que as folhas maduras, e que em outubro a planta tem maior toxidez (TOKARNIA et al., 2004).

Com a planta coletada em maio de 2003, a menor dose das folhas novas, que levou **bovinos** a morte, foi 2,0 g/kg e das folhas maduras 3,0 g/kg. A dose de 1,0 g/kg, entretanto, causou quadro clínico-patológico muito grave. Um bovino mostrou sinais leves a partir de 10 horas e 27 minutos após o começo da administração da planta. Dos cinco bovinos que morreram, três apresentaram sinais leves quando exercitados, entre 3 horas e 9 minutos e 12 horas e 56 minutos após o início da administração da planta. Estes animais, mais tarde, independente de exercício, subitamente mostraram sinais graves e morreram entre dois e 11 minutos. No dia seguinte à administração, outro bovino subitamente manifestou sinais graves antes do segundo exercício e morreu. À necropsia verificou-se congestão pulmonar em um bovino. Os exames histopatológicos revelaram, no pulmão, áreas com edema alveolar; no rim, acentuada degeneração hidrópico-vacuolar das células epiteliais dos túbulos uriníferos contorcidos distais; no baço, moderada congestão e, no fígado, moderada vacuolização dos hepatócitos na zona intermediária, moderada congestão e ausência de alterações em dois bovinos (Ibid.).

Nos experimentos em **búfalos**, com a planta coletada em outubro de 2002, a menor dose das folhas novas que causou a morte foi 3,0 g/kg e com as folhas maduras 6,0 g/kg. Dois búfalos manifestaram sinais leves entre 3 horas e 15 minutos e 5 horas e 50 minutos após a administração e, sinais graves, após 4 horas e 49 minutos a 6 horas e 45 minutos do início do experimento, sem terem sido movimentados. Já outro búfalo só manifestou sinais clínicos graves após o exercício. A evolução da intoxicação após o início dos sinais graves até a morte variou de 6 a 40 minutos. Clinicamente, os animais apresentaram andar lento e desequilibrado, tremores musculares, queda e imediato decúbito lateral, movimentos de pedalagem intermitentes, tremores musculares ocasionais, respiração ofegante, às vezes com a boca aberta e a língua protusa, e adicionalmente estrabismo e nistagmo. Ao exame macroscópico observou-se espuma na traquéia e nos brônquios, além de aspecto úmido na superfície de corte do parênquima pulmonar e discreto a acentuado enfisema pulmonar. Os exames microscópicos evidenciaram no pulmão áreas de enfisema alveolar, congestão e, em alguns alvéolos, edema. No rim havia necrose incipiente das células epiteliais (núcleos com cromatina condensada e citoplasma mais eosinófilico) de alguns túbulos uriníferos do córtex e ausência de lesões renais em um animal (Ibid.).

Em experimentos com a planta coletada em maio de 2003, a menor dose letal das folhas novas foi 6,0 g/kg e das folhas maduras 9,0 g/kg. O início dos sinais clínicos ocorreu entre 5 horas e 40 minutos, e 9 horas e 10 minutos após o começo da administração da planta. A evolução não foi observada em um búfalo e, no outro, foi de 6 minutos até a morte. O

animal apresentou decúbito; quando estimulado a se levantar, dava alguns passos e se deitava logo; às vezes rangia os dentes levemente. Quando exercitado, apresentou dificuldade para locomover-se; exibia jugular ingurgitada, tremores musculares na região do peito e da escápula, e por fim, dispnéia seguida de morte. À necropsia, os pulmões estavam mais pesados e avermelhados em um dos dois animais. A histopatologia revelou no pulmão moderada a acentuada congestão difusa e leve edema interlobular e, no fígado e baço, moderada congestão (Ibid.).

Em **coelhos**, foram realizados experimentos com objetivo de avaliar se esta espécie poderia ser utilizada como animal experimental nos estudos acerca da toxicidade de *A. bilabiata* e avaliar seu emprego como recurso no diagnóstico dessa intoxicação em bovinos. Utilizaram folhas dessecadas de *A. bilabiata* em doses únicas que variaram de 0,5 a 6 g/kg, por sonda gástrica. A menor e a maior dose capazes de causar a morte foram, respectivamente, 1 g/kg e 6 g/kg. O início dos sinais, ocorreu entre 2 horas e 22 minutos a 12 horas e 7 minutos após administração da planta. A evolução variou de 30 segundos e 17 minutos. Os principais sinais observados consistiram de movimentos desordenados e violentos que se iniciaram subitamente, dispnéia e diminuição da frequência respiratória, que, em geral, antecediam as mortes. As alterações macroscópicas foram negativas em 15 dos 26 animais necropsiados. Nos animais restantes, a congestão hepática foi a alteração mais observada. O exame histopatológico revelou, no fígado, necrose com figuras de picnose e cariorrexia, com localização preferencial nas zonas intermediárias, e às vezes atingindo partes das zonas centrais dos lóbulos hepáticos. Vacuolização do citoplasma dos hepatócitos, tumefação e, às vezes, degeneração albuminosa granular (Sudam III negativo) foram observados em alguns casos. Em praticamente metade dos casos, havia congestão e dissociação dos cordões hepáticos. No rim, a lesão mais importante foi à degeneração hidrópico-vacuolar das células epiteliais dos túbulos contornados distais, caracterizadas pela presença de vacúolos grandes (Sudam III negativo), associados a núcleos picnóticos. No coração, em alguns casos havia afastamento das fibras cardíacas, e infiltrado eosinofílico, que se apresentaram homogêneas com perda das estriações; observou-se também edema intracelular das fibras cardíacas. Todas as alterações se apresentaram em forma de focos, de tamanho variável (DÖBEREINER; PEIXOTO; TOKARNIA, 1984).

Também foram realizados estudos com a brotação e folhas maduras de *A. bilabiata* dessecadas e trituradas, administradas em suspensão aquosa por via intragástrica a 15 **coelhos** adultos nas doses entre de 0,25 e 6,0 g/kg. Nos experimentos realizados com a brotação coletada em outubro (fim da época de seca), a menor dose que causou a morte foi de 0,5 g/kg e em maio (fim da época de cheia), a menor dose letal foi de 1,0 g/kg. Nos experimentos com as folhas maduras coletadas em outubro, a menor dose que causou a morte dos coelhos foi de 4,0 g/kg, e em maio, a menor dose que causou a morte foi de 6,0 g/kg. A evolução em todos os casos fatais foi superaguda. Os animais debatiam-se, caíam em decúbito lateral ou esternal, faziam movimentos de pedalagem, apresentavam acentuada dispnéia e morriam. A necropsia não revelou alterações significativas. O exame histopatológico evidenciou nos rins, degeneração hidrópico-vacuolar das células epiteliais dos túbulos contornados distais, no fígado vacuolização difusa do citoplasma e necrose de hepatócitos, predominantemente centro-lobular e paracentral e presença de esférulas eosinofílicas nos sinusóides hepáticos. Eosinofilia aumentada em grupos de fibras cardíacas, congestão em rins, fígado, coração e pulmão foram também observados. Ficou estabelecido através deste estudo, que a toxidez de *A. bilabiata* varia de acordo com a época do ano, e com o estado de maturação, pois essa planta foi mais tóxica em outubro, quando em brotação; confirmando-se, dessa forma, os dados obtidos anteriormente em bovinos e búfalos e no próprio coelho (JABOUR et al., 2006).

2.2.4 *Pseudocalymma elegans*



Figura 6. *Pseudocalymma elegans* e sua floração (Rio Bonito, RJ).
(Cortesia Prof. Michel José Sales Abdalla Helayel)

Um cipó da família Bignoniaceae, sem nome popular, *Pseudocalymma elegans* (Figura 6), foi a primeira planta tóxica estudada no Estado do Rio de Janeiro e uma das primeiras estudadas no Brasil. Em 1940, Mello e Fernandes esclareceram que as mortandades de bovinos que ocorriam no Vale do Rio Sant’Ana, município de Vassouras, RJ, eram provocadas pela ingestão de *P. elegans*.

Essa planta ocorre também nos municípios de Paracambi, Saquarema e Rio Bonito, RJ, onde tem como habitat principal a encosta de morros (TOKARNIA; DÖBEREINER; PEIXOTO, 2000). Embora seu princípio tóxico seja desconhecido, presume-se que haja uma interferência no funcionamento cardíaco, de forma que os animais morreriam de insuficiência cardíaca aguda (CONSORTE; PEIXOTO; TOKARNIA, 1994).

Existem suspeitas da ocorrência de casos de intoxicação natural em equinos (TOKARNIA et al., 1995), mas sob condições naturais, a intoxicação por *P. elegans* só tem sido observada em bovinos (MELLO; FERNANDES, 1940; TOKARNIA, 2004 (informação verbal¹). Experimentalmente têm sido intoxicados, por via oral, além de bovinos (MELLO; FERNANDES, 1940; TOKARNIA et al., 1969), também caprinos (MELLO; FERNANDES, 1940; TOKARNIA; PEIXOTO; DÖBEREINER, 1993), ovinos (CONSORTE; PEIXOTO; TOKARNIA, 1994), equinos (TOKARNIA et al., 1995), coelhos e cobaias (MELLO; FERNANDES, 1940; TAVARES; REZENDE; DÖBEREINER, 1974).

Em estudo experimental, Tokarnia et al. (1969) avaliaram as alterações clínico patológicas encontradas na intoxicação por *P. elegans* em **bovinos**. Foram administradas por via oral, doses de 0,3g/kg a 10,0 g/kg de peso vivo de broto e de folhas maduras. Observou-se que a dose letal dos brotos era de aproximadamente 0,8 g/kg, já a das folhas maduras variou de 2,5 a 10 g/kg. Doses subletais fornecidas semanalmente não provocaram intoxicação crônica em bovinos, nem induziram tolerância, mas evidenciou-se efeito acumulativo. Os sinais após a administração da planta fresca, em casos que terminaram com a morte, variaram de 12 horas e 20 minutos a 20 horas e 40 minutos. Nos animais que sobreviveram, esse período oscilou entre 19 e 41 horas. Nos casos de morte, a duração dos sinais variou de poucos minutos a 5 horas e 20 minutos. Os sinais observados foram andar “duro” com os membros posteriores abertos, tremores musculares generalizados e instabilidade. O animal se deitava rapidamente ou caía, muitas vezes em posição esternal com os membros posteriores esticados para trás. Essa instabilidade sempre começava de forma repentina, era frequentemente precipitada por simples ruído ou exercício leve e os animais morriam rápido

¹ Departamento de Nutrição e Pastagem. Instituto de Zootecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

ou se recuperavam. Também foram observados opistótono, nistagmo, taquicardia e dispnéia. Os achados de necropsia consistiam somente em leve ressecamento do conteúdo do omaso e reto. A alteração histológica mais importante constituiu-se em degeneração hidrópico-vacuolar das células epiteliais dos túbulos uriníferos contornados distais; em adição havia vacuolização difusa do parênquima hepático.

Para se estabelecer a dose letal e caracterizar melhor o quadro clínico-patológico da intoxicação por *P. elegans* em **caprinos**, foram administradas por via oral, em doses únicas, brotos tenros, de cor arroxeada da planta a 14 caprinos machos e fêmeas não-prenhes, na maioria adultos. Com relação à brotação recente (roxa), verificou-se que a dose necessária para causar a morte em caprinos foi a partir de 0,5 g/kg. Os primeiros sinais ocorreram entre um e 35 minutos após o exercício. Os animais adultos apresentaram quadro clínico mais grave que os três caprinos jovens. O que recebeu 1 g/kg, adoeceu antes do exercício a que seria submetido. A maioria dos animais que recebeu quantidades equivalentes a 0,75 e 0,5 g/kg não morreu. Os sinais clínicos foram muito semelhantes; os animais relutavam em se locomover, quando eram estimulados, algumas vezes deitavam em decúbito externo-abdominal, apresentavam acentuada dispnéia e tremores musculares. Após, deitavam-se em decúbito lateral e morriam. Os achados de necropsia foram pouco significativos. Ao exame microscópico de dois animais verificou-se, no coração, área de necrose de coagulação. Em um dos caprinos havia grande quantidade de macrófagos e, alguns fibroblastos. No fígado, observou-se leve a moderada tumefação e vacuolização de hepatócitos. No rim, havia degeneração hidrópico-vacuolar das células epiteliais dos túbulos contornados distais; em um caso, necrose de coagulação nos túbulos, “degeneração em gotas hialinas” e cilindros hialinos em túbulos uriníferos da medula do rim (TOKARNIA; PEIXOTO; DÖBEREINER, 1993).

Estudos experimentais com **ovinos** revelaram que a administração de doses únicas, bem como de frações repetidas da dose letal das folhas de *P. elegans* também são tóxicas para esta espécie (CONSORTE; PEIXOTO; TOKARNIA, 1994).

Em experimentos com administração de dose única a menor dose capaz de provocar a morte dos ovinos foi de 1,5 g/kg da planta fresca; já com a planta dessecada, foi de 1,0 g/kg, que corresponde a 3,0 g/kg da planta fresca. Os ovinos só mostraram sinais clínicos após terem sido exercitados, entretanto, alguns morreram antes de serem submetidos ao exercício, sem apresentar sinais clínicos. Os sinais observados constituíram-se em relutância a correr, dispnéia, taquicardia, dificuldade de ficar de pé, instabilidade, tremores musculares generalizados, às vezes, o ovino deitava ou caía, exibia opistótono, contrações generalizadas e morte. A evolução da intoxicação oscilou entre 1 a 24 minutos. A necropsia não revelou alterações significativas. O exame histopatológico evidenciou, no coração, lesões de intensidade discreta a leve, que consistiram em dissociação das fibras cardíacas por edema, edema intracelular das fibras cardíacas, presença de fibras isoladas ou em pequenos grupos com citoplasma eosinofílico, tendendo levemente a hialinização e com condensação da cromatina nuclear (necrose incipiente) e infiltrados inflamatórios mononucleares intersticiais. No rim de alguns animais havia degeneração hidrópico-vacuolar nas células epiteliais dos túbulos contornados distais (grupos de células com aumento do volume celular, citoplasma bastante rarefeito, quase imperceptível e forte picnose nuclear). No fígado, a única alteração observada foi moderada a acentuada vacuolização do citoplasma dos hepatócitos. No pulmão foram verificados congestão e edema alveolar (Ibid.).

Em experimentos com administrações fracionadas da dose letal todos realizados com a planta dessecada, administrações diárias de 1/5 da dose letal causaram a morte de 4 animais após 5 a 9 administrações diárias; 1/10 da dose letal causaram a morte de 3 animais após 22 a 59 dias de administrações diárias; 1/20 da dose letal só causou a morte de um animal após 39 dias de administrações diárias. Alguns animais mostraram sinais clínicos após terem sido exercitados e outros morreram antes de serem exercitados, sem apresentar sinais clínicos. Os

sinais apresentados foram os mesmos descritos nos experimentos com doses únicas. A evolução, após o aparecimento dos primeiros sinais, foi de menos de três minutos a mais de duas horas. À necropsia, observou-se petéquias subpleurais e acentuado edema pulmonar; o coração exibia áreas esbranquiçadas e mal delimitadas. O intestino delgado e fígado apresentavam congestão. A histopatologia evidenciou focos de necrose coagulativa dos miócitos cardíacos, com citoplasma bem eosinofílico, núcleos picnóticos ou ausentes, associados à proliferação de fibroblastos acompanhada ou não de infiltrados inflamatórios mononucleares. Em alguns ovinos observaram-se congestão e hemorragias no sistema nervoso central e acentuada congestão no baço (Ibid.).

Nos experimentos com administrações repetidas da dose letal, verificaram-se lesões adicionais, como nítida necrose coagulativa de fibras cardíacas que apresentavam citoplasma bem eosinofílico, núcleo picnótico ou ausente; os focos de necrose sempre estavam associados à proliferação de fibroblastos acompanhada ou não de infiltrados inflamatórios mononucleares. Em alguns ovinos observaram-se congestão e hemorragias no sistema nervoso central e acentuada congestão no baço. Neste estudo, a planta demonstrou efeito acumulativo (Ibid.).

A toxicidade de *P. elegans* foi também estudada em **equinos** com o objetivo de estabelecer o quadro clínico-patológico nesta espécie. Neste estudo, foram utilizadas plantas em brotação, fornecida por via oral a oito equinos, em doses de 0,8 a 3,2 g/kg. A dose letal foi 2,4 g/kg, enquanto a administração de 0,8 g/kg não causou sinais clínicos nos animais. Nos equinos que morreram, os primeiros sinais ocorreram entre 5 horas e 8 minutos e 21 horas e 11 minutos após o início da ingestão da planta. Os sinais clínicos observados consistiram de sudorese, fasciculação dos músculos da cabeça, por vezes afetando todo o corpo, lábio inferior flácido, pulso venoso positivo, dispnéia, sonolência, relutância em locomover-se, instabilidade, tremores musculares, movimentos de mastigação vazia, ranger de dentes e elasticidade da pele diminuída. Posteriormente, os animais apresentavam incapacidade de manter-se em estação, quedas, decúbito esternal ou lateral, com respiração ofegante, tentativas de se levantar e movimentos de pedalagem. O período entre a queda dos animais e a morte variou de três minutos a quatro horas. A necropsia não revelou lesões de relevância. No exame histopatológico, os rins apresentaram as lesões mais características e acentuadas. Em todos os animais ocorreu necrose das células epiteliais dos túbulos uriníferos caracterizada por picnose nuclear e vacuolização citoplasmática com frequente evolução para lise. O fígado de um animal apresentou leve vacuolização dos hepatócitos da maior parte dos lóbulos hepáticos, com exceção da periferia do lóbulo. No coração de dois animais, foram observadas algumas fibras cardíacas necróticas isoladas (TOKARNIA et al., 1995).

Tavares, Rezende e Döbereiner (1974) confirmaram os achados iniciais de Mello e Fernandes (1940) em **coelhos e cobaíes** intoxicados por *P. elegans*. Neste trabalho, foram fornecidos brotos verdes dessecados da planta a oito **coelhos**, através da administração por sonda orogástrica. Verificou-se que a menor dose capaz de causar a morte dos animais foi 0,3 g/kg. Os **coelhos** apresentaram os primeiros sinais clínicos entre 1 hora e 5 minutos e 7 horas, após a administração da planta, enquanto nos **cobaíes**, os primeiros sinais ocorreram entre 3 horas e 15 minutos e mais de 14 horas. O tempo de evolução da intoxicação, desde o aparecimento dos primeiros sinais até a morte variou de poucos minutos a 3 horas e 15 minutos. O **cobaio** que recebeu a menor dose letal morreu aproximadamente 26 horas após o início dos primeiros sinais. Em **coelhos**, os sinais consistiram de excitação e taquipnéia e, nos **cobaíes**, excitação, tremores musculares e movimentos de pedalagem. A necropsia revelou apenas pequenas hemorragias pulmonares em 47% dos **coelhos** e em 100% dos **cobaíes**. A histopatologia revelou, nos rins, degeneração hidrópico-vacuolar de células renais em 57% dos **coelhos** e em 28,5% dos **cobaíes**.

2.2.5 *Mascagnia rigida*



Figura 7. Inflorescência, folhas e frutos de *Mascagnia rigida* (Pedra Azul, MG). (Cortesia Dr. Jürgen Döbereiner)

É a planta tóxica mais conhecida, difundida e importante da região Nordeste e de parte da região Sudeste do Brasil. É um cipó ou arbusto da família Malpighiaceae, encontrada em todo Nordeste, desde o Piauí até o Sul da Bahia, estendendo-se ainda a nordeste de Minas Gerais e norte do Espírito Santo. É planta do agreste e do sertão, porém também ocorre em lugares mais frescos. É conhecida por vários nomes populares e entre estes estão “tingui” e “timbó”. Na Bahia é conhecida também como “quebra-bucho” e “pela-bucho”; nos vales dos rios do Jequitinhonha e Mucuri (Minas Gerais), é “salsa-roxa” e “rama-amarela”, e no vale do rio Doce (Minas Gerais e Espírito Santo), “suma-branca” e “suma-roxa” (TOKARNIA; DÖBEREINER; PEIXOTO, 2000).

Tokarnia, Canella e Döbereiner (1960) acompanharam casos naturais de enfermidade e morte de **bovinos**, no município de Messejana, Ceará, os quais eram atribuídos por vaqueiros à ingestão de “tingui” e, posteriormente, realizaram uma série de experimentos. Nas observações dos casos naturais, acompanharam a remoção de 50 vacas que ficaram mantidas por um mês em um pasto invadido por *M. rigida* (Figura 7). Aproximadamente 1 hora e 45 minutos, após o início da marcha uma vaca avançou de repente para o lado da estrada e caiu em decúbito lateral, exibiu movimentos de pedalagem, e foi eutanasiada, logo após o início do estado agônico. Uma hora depois, outra vaca repentinamente caiu ao solo e morreu com o mesmo quadro clínico manifestado pelo outro animal. A necropsia dos dois bovinos não revelou alterações significativas. Posteriormente, foram realizados 13 experimentos, nos quais administrou-se, por via oral, doses variáveis da planta a 11 bovinos. Nesses experimentos, oito bovinos apresentaram quadro clínico de “morte súbita”. A menor dose única letal foi 50 g/kg, no entanto, outro animal que ingeriu 94 g/kg, não manifestou quaisquer sinais. A administração diária de 5,0 g/kg, por três dias, foi capaz de provocar a morte de um bovino, enquanto outro que recebeu a mesma dose repetida diariamente por 30 dias, não apresentou sinais clínicos. Não foi possível determinar a dose letal para bovinos, devido à grande variação nas doses capazes de provocar a morte. Além disso, não foi possível demonstrar a influência do exercício na precipitação dos sinais clínicos, uma vez que não houve “morte súbita” dos bovinos enquanto movimentados. O exame microscópico evidenciou importantes lesões cardíacas, porém essas eram mais acentuadas nos casos naturais.

Recentemente, foram descritos três surtos de intoxicação natural por *M. rigida* em **ovinos** no semi-árido paraibano. Dois surtos ocorreram no município de São José do Bonfim e o outro no município de Cacimbas, Paraíba. No primeiro surto, seis animais apresentaram

sinais clínicos de intoxicação e quatro morreram; no segundo surto, nove ovinos exibiram sinais e dois morreram; já no último surto, dois animais, mostraram sinais clínicos e morreram (VASCONCELOS et al., 2008). A intoxicação por *M. rigida* foi reproduzida experimentalmente em três **ovinos** e em três **caprinos**, através da administração, por via oral, de folhas frescas nas doses de 5, 10 e 20 g/kg. A dose de 5,0 g/kg causou apenas leve taquicardia, tanto no **ovino**, quanto no **caprino**, os quais se recuperaram totalmente após 14 horas e 16 horas e 40 minutos, respectivamente. Doses de 10 e 20 g/kg provocaram a morte de todos os **ovinos** e **caprinos**. O **ovino** que recebeu a dose de 10 g/kg apresentou os primeiros sinais de intoxicação 2 horas e 25 minutos após a administração da planta e, evolução de 1 hora e 54 minutos. O outro **ovino** intoxicado com 20 g/kg manifestou sinais clínicos 3 horas e 5 minutos após a administração da planta e morreu 21 horas e 35 minutos após o início dos sinais. Nos experimentos realizados com **caprinos**, doses de 10 g/kg e 20 g/kg causaram os primeiros sinais de intoxicação 5 horas e 1 hora após a administração da planta, respectivamente. Nesses casos, a evolução foi de 1 hora e 54 minutos para o animal que recebeu a dose de 20 g/kg e de 17 horas para o **caprino** que ingeriu a dose de 10 g/kg (Ibid.). Por outro lado, em estudos experimentais realizados por outros autores com *M. rigida* em **caprinos** no Nordeste, verificou-se que a menor dose capaz de causar a morte foi 20 g/kg, enquanto outro **caprino** que recebeu a dose de 41,5 g/kg nem sequer manifestou sinais (PARAGUASSU, 1983).

O quadro clínico observado em **ovinos** e **caprinos** caracterizou-se por relutância a mover-se, ingurgitamento das veias jugulares, tremores musculares, taquicardia, instabilidade, queda, respiração ofegante e morte. Ao exame macroscópico verificaram-se discreta evidenciação do padrão lobular do fígado (**ovinos** e **caprinos**), hidropericárdio, petéquias nas superfícies pleural, subepicárdica (ovinos) e edema pulmonar (ovinos e caprinos). A histopatologia revelou discreta (ovinos) a acentuada (caprinos) degeneração hidrópico-vacuolar das células epiteliais dos túbulos contornados distais, principalmente na região córtico-medular (VASCONCELOS et al., 2008).

Em experimentos com **bovinos**, também não se conseguiu estabelecer a dose letal da planta, no entanto, foi demonstrado, em parte, que o exercício é capaz de provocar ou precipitar os sintomas. Adicionalmente, também não foi possível correlacionar a variação de toxidez da planta com a procedência ou com o estado de amadurecimento das folhas (SANTOS, 1975; TOKARNIA; DÖBEREINER; PEIXOTO, 1994). Entretanto, ao contrário do que foi demonstrado anteriormente em **bovinos**, a movimentação dos **caprinos** experimentalmente intoxicados por *M. rigida* foi um fator decisivo no aparecimento dos sinais clínicos (PARAGUASSU, 1983).

Tokarnia, Döbereiner e Canella (1985) administraram experimentalmente, por via oral, doses únicas das folhas (2,0 e 4,0 g/kg) e dos frutos (0,06125 a 2,0 g/kg) de *M. rigida* dessecadas a **coelhos**, com a finalidade de verificar se essa espécie animal é sensível à intoxicação por *M. rigida* e avaliar o seu emprego como animal experimental de pequeno porte na continuação das pesquisas sobre a ação tóxica da planta, bem como no isolamento e identificação de seus princípios tóxicos. Neste estudo, verificou-se que, em sete coelhos, doses de 2,0 g/kg das folhas não causaram sinais e foram necessárias doses de 4,0 g/kg para causar a morte de outros sete animais. Com relação aos frutos, doses de 0,5 g/kg ou maiores causaram a morte de todos os coelhos (três); 0,25 g/kg de três dos quatro animais e 0,125 g/kg de um dos dois coelhos que receberam essas doses. Deste modo, foi demonstrado que os frutos são aproximadamente 20 vezes mais tóxicos que as folhas. Nos experimentos realizados com as folhas, os coelhos demonstraram os primeiros sinais clínicos de intoxicação entre 5 horas e 47 minutos e 11 horas e 35 minutos, já no caso dos frutos, entre 1 hora e 15 minutos e 28 horas e 13 minutos, após a administração. A evolução da intoxicação foi de poucos minutos. O quadro clínico apresentado pelos coelhos foi de “morte súbita”, ou seja,

repentinamente faziam movimentos desordenados, caíam em decúbito lateral, emitiam gritos, apresentavam respiração espaçada e dispnéica, seguida pela morte. Os principais achados de necropsia foram congestão e evidenciação do padrão lobular do fígado e congestão pulmonar. O exame microscópico revelou no fígado, rim e coração alterações de naturezas degenerativas e vasculares. No rim, havia degeneração hidrópico-vacuolar dos túbulos uriníferos contornados distais em cinco coelhos.

Recentemente, Medeiros et al. (2002) realizaram experimentos em **coelhos**, como método auxiliar no diagnóstico de um surto de intoxicação por *M. rigida* em bovinos no agreste da Paraíba. Folhas dessecadas da planta, coletada na área onde o surto ocorreu, foram administradas, por via oral, a três grupos de coelhos, cada grupo com dois animais, nas doses de 1,25; 2,5 e 5,0 g/kg. Doses de 1,25 g/kg não causaram sinais de intoxicação. Todos os coelhos que receberam doses de 2,5 e 5,0 g/kg manifestaram os primeiros sinais de intoxicação 3 horas e 24 minutos a 15 horas e 50 minutos após a administração da planta. O quadro clínico apresentado pelos animais foi de “morte súbita” e a evolução da intoxicação foi de um a três minutos. Adicionalmente, foram realizados experimentos com a mesma metodologia, porém com a planta coletada na região do sertão, onde a intoxicação não ocorre e, com doses maiores (5,0; 10 e 20 g/kg). A única dose que provocou sinais e a morte de um coelho foi 20 g/kg. Os primeiros sinais ocorreram 3 horas e 27 minutos após a administração da planta e, a evolução foi de 2 minutos. Foi demonstrado, contudo, que a planta apresenta uma grande variação de toxidez de acordo com a região, uma vez que a planta coletada na área onde o surto ocorreu foi, aproximadamente, oito vezes mais tóxica do que a coletada onde a doença não ocorre.

Os efeitos tóxicos de *M. rigida* foram testados em oito **ratos**, três **camundongos**, dois **porquinhos da índia**, um **hamster** e dois **coelhos** (BATATINHA; DE-SOUZA-SPINOSA; BERNARDI, 1988). A dose de 4 mg/kg da folha seca, produziu sinais de depressão e incoordenação, duas horas após a administração. Coelhos morreram 24 h após receberem o extrato.

Em estudo para avaliação das alterações clínicas e anatomopatológicas provocadas pela intoxicação por *M. rigida* em **ratos**, Cunha (2008) utilizou extrato aquoso da planta, em dose única, por via oral, nas concentrações de 1,6 ou 3,2 g/kg. Os animais (12 ratos) foram divididos em dois grupos iguais, observados por 6 horas e então, eutanasiados. O grupo que recebeu a dose de 1,6 g/kg, apresentou intervalo de tempo de 40 minutos à 3 horas para o início dos sinais clínicos gerais e para o início dos sinais clínicos neurológicos o tempo variou de 2,5 à 6 horas. Os animais do grupo que receberam 3,2 g/kg do extrato apresentaram intervalo de tempo de 40 minutos a 2 horas para o início dos sinais clínicos gerais e 3,5 a 5,5 horas para o início dos sinais clínicos neurológicos. Os animais dos dois grupos apresentaram sinais clínicos de prostração, dispnéia, mioclonia facial, tremores da cabeça, pêlos arrepiados, sangramento ocular, convulsões do tipo tônica e também tônico-clônica. As alterações observadas na necropsia foram pouco consistentes. Os animais que receberam a maior dose (3,2 g/kg) apresentaram apenas congestão cerebral e hepática (dois animais) e no grupo que recebeu a menor dose não foi observada nenhuma alteração. As alterações histopatológicas incluíram alterações circulatórias com edema e focos de hemorragia cerebral associada à morte neuronal no tronco encefálico, cerebelo, bulbo olfatório, plexo coróide, córtex motor e núcleos da base. Os achados de necropsia nos animais que receberam a dose de 3,2 g/kg foram apenas congestão cerebral e em dois animais, congestão hepática. No grupo que recebeu a dose de 1,6 g/kg não foi observado alteração macroscópica. A histopatologia, nos dois grupos, revelou edema e focos de hemorragia cerebral associada à morte de neurônios no tronco encefálico, cerebelo, bulbo olfatório, plexo coróide, córtex motor e núcleos da base. No miocárdio focos de hemorragia e degeneração dos miocardiócitos, no fígado moderada congestão e nos rins nefrose na região cortical.

2.2.6 *Mascagnia pubiflora*

Mascagnia pubiflora (Figura 8), é uma das plantas tóxicas mais importantes do Centro-Oeste e áreas vizinhas da região Sudeste. Cipó ou arbusto da família Malpighiaceae, que tem os nomes populares de “corona” e “cipó-prata”, é observada nos Estados do Mato Grosso do Sul e Goiás. Na região Sudeste, pode ser encontrada no Triângulo Mineiro e no Estado de São Paulo, sempre em solos férteis. É uma das plantas tóxicas mais importantes do Centro-Oeste e áreas vizinhas da região Sudeste (FERNANDES; MACRUZ, 1964; TOKARNIA; DÖBEREINER, 1973; SANTOS; FISCHER; JARDIM, 1976).



Figura 8. Folhas, flores e frutos de *Mascagnia pubiflora* (Jardim de Plantas Tóxicas/ UFRRJ, Seropédica, RJ). (Cortesia Dr. Saulo A. Caldas) e no detalhe (Cortesia Dr. Cortesia Prof. Carlos Hubinger Tokarnia).

Tokarnia e Döbereiner (1973) avaliaram a toxidez das folhas frescas de *M. pubiflora* nas variedades glaba e a pilosa em 30 **bovinos** em épocas diferentes do ano (abril/maio com folhas maduras e agosto/setembro com a planta em brotação, floração e frutificação). Adicionalmente foram realizados experimentos para avaliar a toxicidade de folhas dessecadas. Neste estudo verificou-se que as duas variedades (glaba e pilosa) apresentam a mesma toxicidade para bovinos, porém existe variação de toxidez de acordo com a época do ano e com relação ao armazenamento. A dose letal para a planta em brotação, floração e frutificação foi de 5 g das folhas por kg de peso animal, enquanto em experimentos com folhas maduras, a dose letal foi em torno de 20 g/kg. As folhas dessecadas perderam a toxidez com o tempo. Os sinais da intoxicação com folhas frescas foram uniformes, com evolução de 16 a 25 horas após a administração da planta e a evolução do quadro de intoxicação variou de poucos minutos até 48 horas. Os sinais clínicos consistiram em relutância em se levantar, andar rígido, tremores musculares, o animal urina com frequência, permanece alguns minutos em estação e deita-se repentinamente ou cai, apresenta violentos movimentos de pedalagem e morre. Os sinais e a morte foram provocados ou precipitados pelo exercício. Os achados de necropsia são negativos e as principais alterações histopatológicas são degeneração hidrópica-vacuolar das células epiteliais dos túbulos uriníferos contornados distais dos rins.

Em experimentos realizados com **coelhos**, Döbereiner et al. (1986) avaliaram a toxicidade de folhas e frutos dessecados de *M. pubiflora*. Em relação às folhas, a menor dose

capaz de levar o animal ao óbito foi de 4g/kg. Com os frutos, doses a partir de 1g/kg foram capazes de levar o animal ao óbito.

Os sinais clínicos variaram entre 6 horas e 20 minutos a 45 horas e 39 minutos nos experimentos com as folhas e a evolução do quadro clínico foi de 2 a 3 minutos. Os animais apresentaram movimentos desordenados, violentos, caíam de lado, com a respiração difícil e morriam. Os achados de necropsia mais comuns foram congestão hepática e pulmonar. O exame histopatológico evidenciou alterações degenerativas e vasculares no fígado, rim e coração (Ibid.).

No experimento com os frutos, os sinais variaram de 2 horas e 18 minutos a 20 horas após a administração da planta e a evolução do quadro clínico foi de 1 a 3 minutos. O quadro clínico, os achados de necropsia e a microscopia foram semelhantes aos observados nos experimentos com as folhas (Ibid.).

2.2.7 *Mascagnia aff. rigida*

Mascagnia aff. rigida é (Figura 9) é um cipó da família Malpighiaceae, responsável pela morte de bovinos no Norte do Estado do Espírito Santo. Trabalhos experimentais realizados por Tokarnia, Döbereiner e Peixoto (1985) demonstraram sua toxidez através da administração de doses únicas de folhas frescas a 10 bovinos e folhas dessecadas a cinco bovinos, coletadas em três diferentes fazendas. Verificou-se que a dose letal correspondente à planta fresca foi diferente segundo a procedência, com toxidez variando entre 0,625 g/kg para a planta procedente de Linhares e 2,5 g/kg para a planta procedente da Fazenda Laranjeiras (São Mateus). Os sinais só tiveram início durante ou logo após os exercícios, precipitando a morte dos animais. Os sinais de “morte súbita” foram caracterizados pelo fato dos bovinos, aparentemente saudáveis, quando movimentados, de repente não mais conseguiam manter-se de pé, faziam movimentos desordenados com a cabeça, tremores musculares, pulso venoso positivo, movimentos de pedalagem, mugiam, a respiração tornava-se espaçada ou forçada e morriam. A evolução desses sinais foi de 1 a 18 minutos. Na necropsia foram verificadas áreas branco-acinzentadas no miocárdio do ventrículo esquerdo. As alterações histopatológicas consistiram em alterações degenerativas renais e hepáticas, também alterações cardíacas, sob forma de processos degenerativos, necróticos, proliferativos e inflamatórios.

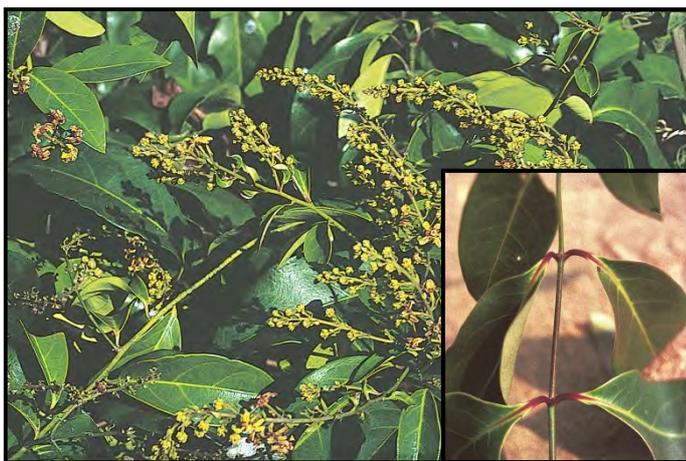


Figura 9. *Mascagnia aff. rigida* em floração e frutificação incipiente. Destaca-se a coloração vermelho-escura dos pecíolos (São Mateus, ES). (Cortesia Prof. Carlos Hubinger Tokarnia)

Em experimentos com administração de folhas dessecadas e pulverizadas de *M. aff. rigida*, por via intragástrica a 31 **coelhos**, constataram que a dose letal situou-se entre 0,5 – 0,8g/kg. Por outro lado, a ingestão de 1g/kg causou a morte de todos ou de nenhum dos

coelhos, dependendo da época e da procedência da planta. O início dos sinais ocorreu de 2 horas e 45 minutos a 10 horas e 30 minutos após a administração da planta, e a evolução durou de um a 4 minutos. Os sinais foram os de “morte súbita” já identificados e descritos anteriormente. Os achados macroscópicos limitou-se a leves alterações no fígado, enquanto que ao microscópio, os principais órgãos afetados foram coração, fígado e rim. No fígado foram observados necrose, vacuolização citoplasmática, degeneração albuminosa-granular dos hepatócitos, congestão, dissociação dos cordões hepáticos e edema dos espaços de Disse; no rim, havia degeneração hidrópico-vacuolar das células epiteliais dos túbulos contornados distais, enquanto que no coração verificou-se edema intracelular das fibras cardíacas, afastamento entre estas e presença de focos de eosinofilia aumentada no músculo cardíaco (Ibid.).

2.2.8 *Mascagnia exotropa* [*Amorimia exotropa*]

Cipó ou arbusto da família Malpighiaceae, sem nome popular, *Mascagnia exotropa* (Figura 10), anteriormente descrita como *Mascagnia sp.*, é um cipó ou arbusto da família Malpighiaceae, sem nome popular, que ocorre nos Estados de Santa Catarina (municípios de Tubarão, Imaruí, Jaguaruna, São Ludgero, Braço do Norte, Pedras Grandes, Urussanga, Nova Veneza e Jacinto Machado) e Rio Grande do Sul (municípios de Feliz, Gravataí e Viamão) (TOKARNIA; DÖBEREINER; PEIXOTO, 2000).



Figura 10. Folhas e frutos de *Mascagnia exotropa* [*A. exotropa*] (Jardim de Plantas Tóxicas, UFRRJ). (Cortesia Prof. Carlos Hubinger Tokarnia)

Gava et al. (1998), com o intuito de esclarecer a causa das “mortes súbitas” que ocorriam no Litoral de Santa Catarina, conduziram experimentos em **bovinos**, nos quais a intoxicação pode ser reproduzida pela administração, por via oral, de *M. exotropa* em doses únicas de 7,5 a 10 g/kg. Doses únicas de 5,0 g/kg das folhas frescas de *M. exotropa* não foram letais. A administração de doses de 5,0 a 10 g/kg resultou em manifestações clínicas, apenas quando os animais eram exercitados. O quadro clínico consistiu em cansaço, jugular ingurgitada, leves tremores musculares e às vezes contrações bruscas; a taquicardia já notada antes do exercício acentuava-se e os animais deitavam ou caíam subitamente. A evolução da intoxicação nos casos fatais foi de 40 e 75 minutos. Doses de 15 a 20 g/kg provocaram quadro de intoxicação em que os animais se mostravam lerdos e apáticos, evitavam qualquer

movimentação e foram encontrados mortos entre 7 horas e 21 horas após a observação dos primeiros sinais clínicos. Desta maneira, foi demonstrado, nesses dois últimos experimentos, que a movimentação é um fator importante para a ocorrência da "morte súbita". As principais alterações macroscópicas foram coloração vermelha da mucosa do intestino delgado e edema da parede da vesícula biliar. As alterações histológicas constituíram em degeneração hidrópico-vacuolar do epitélio tubular renal presente em três dos cinco bovinos que morreram.

A frequência das alterações histopatológicas observadas em bovinos e coelhos intoxicados por plantas que causam morte súbita, encontram-se nas Tabelas 1 e 2.

2.2.9 Outras plantas que causam “morte súbita” no Brasil.

Na relação de plantas responsáveis por morte súbita em bovinos no Brasil existem, até hoje, 12 plantas. Além das plantas citadas anteriormente, suspeita-se que outras quatro plantas (*Palicourea aeneofusca*, *Palicourea grandiflora*, *Arrabidaea japurensis*, *Mascagnia elegans*) apresentem o MF como o princípio ativo causador do mesmo quadro clínico patológico.

Tabela 1. Frequência das principais alterações histopatológicas observadas em bovinos intoxicados experimentalmente por plantas que causam morte súbita

Planta	Rim		Fígado			Nº de animais examinados*
	Degeneração hidrópico-vacuolar dos túbulos uriníferos contornados distais	Necrose centro-lobular	Vacuolização do citoplasma de hepatócitos	Congestão	Dissociação dos cordões hepáticos (dilatação dos sinusóides)	
Folhas frescas						
<i>Palicourea margravii</i>	15/29 51,7%	1/28 3,6%	12/28 42,8%	10/28 35,7%	6/28 21,4%	29
<i>Palicourea aeneofusca</i>	1/2 50%	0/2 0%	1/2 50%	0/2 0%	0/2 0%	02
<i>Palicourea juruana</i>	1/4 25%	1/4 25%	3/4 75%	0/4 0%	0/4 0%	04
<i>Palicourea grandiflora</i>	4/6 66,6%	0/6 0%	2/6 33,3%	2/6 33,3%	1/6 16,6%	06
<i>Arrabidaea bilabiata</i>	5/14 35,7%	1/14 7,1%	2/14 14,2%	4/14 28,6%	2/14 14,2%	14
<i>Arrabidaea japurensis</i>	7/8 87,5%	0/8 0%	2/8 25%	0/8 0%	0/8 0%	08
<i>Pseudocalymma elegans</i>	3/8 37,5%	0/8 0%	1/8 12,5%	4/8 50%	1/8 12,5%	08
<i>Mascagnia rigida</i>	3/7 42,8%	0/7 0%	1/7 14,2%	1/7 14,2%	0/7 0%	07
<i>Mascagnia publiflora</i>	3/5 60%	1/5 20%	0/0 0%	2/5 40%	0/0 0%	05
<i>Mascagnia aff. rigida</i>	3/6 50%	0/6 0%	5/6 83,3%	0/6 0%	0/6 0%	06
<i>Mascagnia exotropica</i>	3/5 60%	1/5 20%	0/0 0%	2/5 40%	0/0 0%	05

*A percentagem é calculada sobre os órgãos examinados Tabela adaptada de Tokarnia, Döbereiner e Peixoto (2000).

Tabela 2. Frequência das alterações histopatológicas observadas em coelhos intoxicados por plantas que causam morte súbita

Planta	Fígado			Rim			Nº de animais examinados
	Necrose com figuras de picnose e cariorrexia	Vacuolização do citoplasma de hepatócitos	Congestão	Dissociação dos cordões hepáticos (dilatação dos sinusóides)	Degeneração hidrópico-vacuolar dos túbulos uriníferos contornados distais	Tumefação das células epiteliais da junção cortico-medular	
Folhas dessecadas							
<i>Palicourea marcgravii</i>	24/116 20,6%	100/116 86,2%	50/116 43,1%	78/116 67,2%	14/116 12%	58/116 50%	116
<i>Palicourea juruana</i>	4/14 28,5%	13/14 92,8%	14/14 100%	14/14 100%	3/14 21,4%	12/14 85,7%	14
<i>Palicourea grandiflora</i>	2/7 28,5%	7/7 100%	6/7 85,7%	5/7 71,4%	1/7 14,2%	4/7 57,1%	07
<i>Arrabidaea bilabiata</i>	7/26 26,9%	20/26 76,9%	14/26 53,8%	16/26 61,5%	9/26 34,6%	10/26 38,5%	26
<i>Arrabidaea japurensis</i>	3/9 33,3%	9/9 100%	8/9 88,8%	8/9 88,8%	1/9 11,1%	5/9 55,5%	09
<i>Pseudocalymma elegans</i>	1/7 14,2%	5/7 71,4%	3/7 42,8%	5/7 71,4%	0/7 0%	4/7 57,1%	07
<i>Mascagnia rigida</i>	3/7 42,8%	6/7 85,7%	5/7 71,4%	7/7 100%	5/7 71,4%	5/7 71,4%	07
<i>Mascagnia pubiflora</i>	7/7 100%	6/7 85,7%	7/7 100%	7/7 100%	3/7 42,8%	6/7 85,7%	07
<i>Mascagnia aff. rigida</i>	10/14 71,4%	12/14 85,7%	5/14 35,7%	2/14 14,2%	7/14 50%	5/14 35,7%	14
Frutos dessecados							
<i>Palicourea juruana</i>	2/3 66,6%	2/3 66,6%	3/3 100%	2/3 66,6%	1/3 33,3%	1/3 33,3%	03
<i>Mascagnia rigida</i>	3/7 42,8%	3/7 42,8%	4/7 57,1%	4/7 57,1%	5/7 71,4%	2,7 28,5%	07
<i>Mascagnia pubiflora</i>	1/5 20%	4/5 80%	4/5 80%	4/5 80%	3/5 60%	4/5 80%	05

Tabela adaptada de Peixoto et al. (1987).

2.3 Acetamida

2.3.1 Propriedades químicas e físicas

Acetamida (Figura 11) ou etanamida (n°. CAS 60-35-5 no Chemical Abstract Service Registry Number) possui fórmula molecular CH_3CONH_2 (Figura 1) e é produzida por desidratação de acetato de amônio [631-31-8]. Trata-se de uma substância higroscópica, cristalina, branca, sem cheiro e de sabor amargo, com ponto de ebulição de 222°C , ponto de fusão 81°C , massa molecular 59,1, densidade 1.16g/cm^3 e apresenta solubilidade em água de $200\text{g}/100\text{ml}$. A substância produz gases tóxicos ao ser exposta ao calor e reage com ácidos e oxidantes fortes (WINDHOLZ, 1983). Acetamida foi descoberta em rejeitos de uma mina de carvão da antiga União das Repúblicas Socialistas Soviéticas (URSS) onde se formou durante estações secas em áreas enriquecidas em amônia e isoladas do contato com oxigênio e luz solar (BRANCO; CHAVES, 2006). Foi também encontrada nos Estados Unidos da América (NEVES; CORRÊA; CARDOSO, 2008) e é um dos componentes orgânicos detectado recentemente na Via Láctea (HOLLIS et al., 2006).

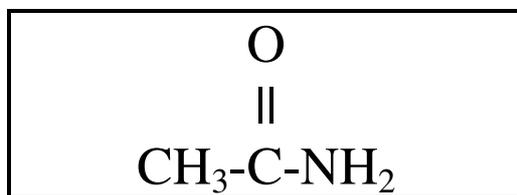


Figura 11. Estrutura química da acetamida.

2.3.2 Farmacocinética

Putchá, Griffith e Feldman (1984) demonstraram que aproximadamente 30% da acetamida administrada por via endovenosa não é recuperada e que a meia vida no sangue após a dose de 50 mg/kg por via intravenosa para ratos, resultou em eliminação de 64-72% na urina, 0,5 a 0,8% foram exalados nas primeiras 6 horas. O autor concluiu que a acetamida metabolizada se liga ao acetato.

3.3.3 Mecanismo de ação como antagonista no ciclo de Krebs

O mecanismo antagonístico produzido pelo MF no ciclo do ácido tricarbóxico (ciclo de Krebs) se inicia através da sua ligação com a acetil CoA para formar fluoroacetil CoA, que é condensado pela citrato sintetase com o oxaloacetato, para produzir fluorocitrato, processo denominado “síntese letal”. Este metabólito bloqueia a aconitase, e interrompe o ciclo (GONCHAROV; JENKIS; RADILOV; 2006). O bloqueio da aconitase impede a conversão do citrato em isocitrato, o que resulta no acúmulo de citrato em vários tecidos (BARTLETT; BARRON, 1947; COOK et al. 2001; GONZALES et al., 2008). A inibição do ciclo de Krebs provoca diminuição da produção de ATP e conseqüente bloqueio de processos metabólicos dependentes de energia (GÓRNIK et al., 1986; GONCHAROV; JENKIS; RADILOV; 2006).

Não existe antídoto capaz de inativar o fluorocitrato, porém resultados promissores foram obtidos através de substâncias doadoras de acetato, como a acetamida. Estas substâncias competem com o MF quando administradas antes da exposição ou no início do período de latência (KELLERMAN et al.; 2005).

2.3.4 Utilização

Stafford (1933) testou a solubilidade de acetamida em 400 substâncias orgânicas e algumas inorgânicas e concluiu que acetamida é altamente solúvel. Essa característica fez da substância um excelente solvente com uso comercial na síntese de vários produtos.

Outras formas do emprego da acetamida e seus derivados são descritos na literatura mundial. Na composição de meios de cultivo para isolamento e diferenciação de bactérias (OBERHOFER et al., 1974), no controle populacional de aves (LEFEBVRE et al., 1979), como herbicida (BARBASH; RESEK, 1996; SPALDING et al., 2003), na criopreservação de sêmen (BLANCO et al., 2000), como agente plastificador da proteína de soja (LIU; ZHANG, 2006), através do efeito bactericida de seus derivados sobre algumas bactérias (ESTRADA et al., 2007) e no tratamento da asma (WANG et al., 2008).

2.3.5 Toxicidade da acetamida

Em 1983, Flaks et al. realizaram estudo acerca de alterações hepatocelulares, em que submeteram ratos machos da linhagem Leeds a uma dieta de 5% em peso de acetamida por até 35 semanas e verificaram indução a uma alta incidência de neoplasias.

2.3.6 Efeito protetor da acetamida

A maioria das tentativas de reversão dos efeitos tóxicos do MF tem falhado e poucos estudos relatam uma terapia de sucesso absoluto contra esta intoxicação em animais domésticos (O'HAGAN, 2004). Não há antídoto para intoxicação por fluoroacetato (ANNISON et al., 1960; GONCHAROV; JENKINS; RADILOV, 2006), no entanto, experimentos em macacos e em outros animais domésticos sugerem que o uso de monoacetato de glicerol, mesmo após a ingestão do MF pode prevenir sintomas da intoxicação. Acredita-se que o glicerol fornecerá íons acetato para permitir a continuação do processo de respiração celular (GONCHAROV; JENKINS; RADILOV, 2006). Em alguns animais, o acetato faz efeito, entretanto em ruminantes criados em pastagem, o acetato é o maior produto da fermentação no rúmen, e a concentração de acetato no sangue desses animais é cerca de 3 a 10 vezes maior que em não ruminantes (ANNISON et al., 1960). Collicchio-Zuanze et al. (2006) verificaram que o uso do succinato de sódio e gluconato de cálcio a 10%, como protocolo terapêutico na intoxicação por monofluoroacetato em gatos, permitiu uma normalização precoce do pH dos íons bicarbonato e do cálcio ionizado. Houve uma reversão mais eficiente dos quadros de acidose metabólica e hipocalcemia. Além disso, o controle das convulsões tetânicas com o uso de anticonvulsivantes como os benzodiazepínicos e principalmente com barbitúricos foi essencial para a sobrevivência dos animais.

Em 1953, Gitter, Blank e Bergmann testaram a acetamida em experimentos com ratos brancos intoxicados com MF e observaram efeito protetor quando a acetamida era fornecida simultaneamente ou até 24 horas antes do MF, porém, o efeito protetor não foi verificado quando fornecidos 30 minutos ou mais, após a administração do MF e nem antes das convulsões terem iniciado. Porém, o efeito protetor foi observado em fragmentos de rins, coração e cérebro de ratos brancos e porquinhos da Índia, quando a acetamida foi administrada antes e até 8 minutos após a administração do MF (GITTER, 1956).

Em cinco ovinos intoxicados com 5 g/kg de *Dychapetalum cymosum*, a administração de 2,5 a 5 g/kg de acetamida por via oral, antes ou um pouco após a ingestão da planta, preveniu a morte de um dos animais e os dois controles morreram. A dose de 2 g/kg de acetamida dada antes ou simultaneamente com 1 g/kg da planta evitou a morte dos cinco ovinos e os cinco animais-controle morreram (EGYED; SCHULTZ, 1986).

Para avaliar a eficiência da acetamida no tratamento de intoxicação por *Palicourea marcgravii* e ácido monofluoroacético, Górnjak, Palermo-Neto e Spinosa (1994) testaram 12 ratos intoxicados com 117,6 mg/kg de *P. marcgravii* e 1,09 mg/kg de ácido monofluoroacético. A metade dos animais de cada grupo receberam a dose de 1,25 g/kg de acetamida e a outra metade foi usada como controle. O efeito protetor da acetamida foi observado em 100% dos tratamentos. Nos grupos controles morreram 66% dos animais intoxicados por *P. marcgravii* e 100% do grupo que recebeu o MF.

2.3.7 Outras substâncias testadas para o tratamento das intoxicações pelo MF

A base de pesquisas realizadas com objetivo de encontrar antídoto para o tratamento da intoxicação pelo MF é a utilização de substâncias capazes de impedir a produção de fluorocitrato, inibir a aconitase e fornecer citrato à mitocôndria (GONCHAROV; JENKIS; RADILOV; 2006; GONZÁLES et al., 2008). Desta forma, e a partir do trabalho de Chenoweth et al. (1951), surgiu a idéia de que substâncias doadoras de acetato são capazes de antagonizar a intoxicação pelo MF.

Com esse propósito, foram testadas substâncias como o acetato (ANNISON et al. 1960; BARTLETT; BARRON, 1947; CHENOWETH, 1949; CHENOWETH et al., 1951), etanol (HUTCHENS; WAGNER; PODOLSKY, 1949; TOURTELLOTTE; COON, 1951), monoacetato de glicerol (ANNISON et al., 1960; CHENOWETH et al., 1951; PETERS; MORSELLI, 1965; RAMMELL; HOOGENBOOM; JULIAN, 1985) e acetamida (GITTER, 1956; GITTER; BLANK; BERGMANN, 1953). As combinações de drogas também foram utilizadas, como acetato de sódio e etanol associados (BLACK; HUTCHENS, 1948; HUTCHENS; WAGNER; PODOLSKY, 1949; TOURTELLOTTE; COON, 1951), acetato de sódio, etanol e barbitúricos (TOURTELLOTTE; COON, 1951) e ainda, gluconato de cálcio e succinato de sódio (COLLICCHIO-ZUANAZE et al., 2006). Com relação ao tratamento da intoxicação de animais por plantas que contenham o MF, Egyed e Schultz (1986) foram os primeiros a avaliarem, através de tratamento experimental em ovelhas, a eficácia da acetamida em casos de intoxicação por *Dichapetalum cymosum*. Em 1994, Górnjak, Palermo-Neto e Spinosa avaliaram os efeitos de acetamida em ratos intoxicados com *Palicourea marcgravii* (St Hill). O efeito protetor na intoxicação por plantas que contenham o AM foi também investigado a partir de bactérias ruminais geneticamente modificadas (GREGG et al., 1998; PADMANABHA et al., 2004).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Animais

Foram utilizados 33 ratos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus albinus*) machos e fêmeas saudáveis, adultos, com pesos entre 193 e 550 g, provenientes do biotério da Fundação Oswaldo Cruz, RJ².

3.2 Local dos Experimentos e Manejo dos Animais

Os experimentos e as necropsias foram realizados entre abril e dezembro de 2009 no biotério do Setor de Anatomia Patológica do Projeto Sanidade Animal, convênio Embrapa/UFRRJ, Km 47, município de Seropédica, Rio de Janeiro. Os animais foram mantidos em salas apropriadas com ambiente climatizado (22 a 24°C), alojados em caixas de polipropileno autoclavável medindo 22 x 50 x 60 cm (altura, largura e comprimento), com cantos arredondados. Machos e fêmeas foram mantidos em caixas separadas, com lotação máxima de três animais por caixa. Todas as caixas foram identificadas com etiquetas e cada animal recebeu uma numeração na cauda.

A sala recebeu iluminação diurna por luz natural indireta e à noite foi mantida no escuro. A higienização das caixas (limpeza e troca de maravalha) era realizada a cada dois dias. Os animais foram adaptados ao local por um mês e a dieta era constituída de ração peletizada Labina[®] e água a vontade.

O processamento do material coletado durante as necropsias, assim como a confecção de lâminas para o exame histológico, foram realizados no Laboratório de Histopatologia do Setor acima descrito.

3.3 Experimentos com a Planta Dessecada

3.3.1 Preparação dos extratos

Foram realizados experimentos com oito plantas (*Palicourea marcgravii*, *P. juruana*, *Arrabidaea bilabiata*, *Pseudocalymma elegans*, *Mascagnia rigida*, *M. pubiflora*, *M. exotropicalis* [*Amorimia exotropicalis*] e *M. aff. rigida*) pertencentes ao grupo das plantas que causam morte súbita no Brasil.

Os detalhes acerca da coleta das plantas, bem como da metodologia específica empregada na preparação dos extratos de cada planta encontram-se na Tabela 3. De um modo geral, adotou-se o seguinte protocolo: após a coleta de cada planta (brotação, folhas jovens e/ou maduras) em municípios do Estado do Rio de Janeiro (Seropédica, Rio Bonito ou Valença) e Pará (Inhagapi ou Ulianópolis), o material foi dessecado à sombra por pelo menos duas semanas e/ou em estufa à 37-40°C, por aproximadamente 24 horas. Em seguida, foram moídas em moinho Wiley com malha 60 e, finalmente, conservadas em vidros de 250 mL, hermeticamente fechados com tampa plástica e acondicionados em geladeira à 4°C. Posteriormente, o material pulverizado de cada planta era diluído em água (150 a 1000 mL), de acordo com o peso do animal e a espécie da planta utilizada. O extrato aquoso obtido em cada etapa da fase experimental era acondicionado em becker de 500 mL, homogeneizado com bastão de vidro e colocado em banho de ultra-som (Marca Unique Group - Modelo: USC-1450) por 30 minutos, em seguida, o extrato bruto era filtrado à vácuo. O extrato filtrado, obtido de cada planta foi concentrado por meio de rotaevaporador (evaporador rotativo - Marca Fisatom) (Figura 12) com aquecimento de 50°C e rotatividade de 80 rpm, sob vácuo. Cada extrato obtido foi concentrado no rota-evaporador até atingir o volume final desejado, para que não ultrapassasse a capacidade gástrica dos ratos (6,0 mL). Esse material foi

² Agradecimento ao Dr. Sebastião Enes Couto (Centro de Criação de animais da FIOCRUZ, CECAL/FIOCRUZ).

então acondicionado em frascos âmbar, hermeticamente fechados e mantidos em geladeira a 4°C até o momento da administração.



Figura 12. Concentração do extrato filtrado por meio de rota-evaporador.

Tabela 3. Principais dados sobre a coleta da planta e da metodologia específica empregada na preparação dos extratos concentrados no rota-evaporador

Planta	Local e data da coleta	Peso da planta fresca coletada	Método de dessecagem	Peso total da planta dessecada	Peso da planta dessecada e pulverizada utilizada no preparo do extrato aquoso	Volume final concentrado
<i>Palicourea marcgravii</i> (folhas jovens e maduras)	Valença, RJ 21/04/2009	1.830 g	à sombra por 3 semanas	485 g	10 g diluídos em 150 mL de água destilada*	4 mL
<i>Palicourea juruana</i> (folhas jovens e maduras)	Ulianópolis, PA 27/08/2009	----	à sombra por 1 semana e em estufa à 37-40°C, por 24 horas	200 g	24 g diluídos em 250 mL de água destilada 50 g diluídos em 500 mL de água destilada*	20 mL 9 mL
<i>Arrabidaea bilabiata</i> (brotos e folhas jovens)	Inhagapi, PA 16/09/2009	----	à sombra por 1 semana e em estufa à 37-40°C, por 24 horas	84 g	50,4 g diluídos em 500 mL de água destilada**	10, 14 e 35 mL
<i>Pseudocalymma elegans</i> (brotação)	Rio Bonito, RJ 02/09/2009	31 g	à sombra por 3 semanas e em estufa à 37-40°C, por 12 horas	13,4 g	13,4 g diluídos em 400 mL de água destilada*	14 mL
<i>Mascagnia rigida</i> (frutos)	Seropédica, Jardim de Plantas Tóxicas, UFRRJ/EMBRAPA, RJ 16/07/2009	890 g	à sombra por 3 semanas e em estufa à 37-40°C, por 48 horas	374 g	125 g diluídos em 900 mL de água destilada** 25 g diluídos em 400 mL de água destilada	148 mL 30 mL
<i>Mascagnia pubiflora</i> (brotação)	Seropédica, Jardim de Plantas Tóxicas, UFRRJ/EMBRAPA, RJ 19/06/2009	176 g	à sombra por 2 semanas e em estufa à 37-40°C, por 15 horas	49 g	100 g diluídos em 1000 mL de água destilada**	10 mL
<i>Mascagnia exotropica</i> (brotação, folhas jovens e maduras)	Seropédica, Jardim de Plantas Tóxicas, UFRRJ/EMBRAPA, RJ 26/06/2009	124 g	à sombra por 2 semanas e em estufa à 37-40°C, por 15 horas	51 g	51 g diluídos em 400 mL de água destilada	40 mL
	Seropédica, Jardim de Plantas Tóxicas, UFRRJ/EMBRAPA, RJ 11/09/2009	660 g	à sombra por 2 semanas e em estufa à 37-40°C, por 24 horas	257 g	102 g diluídos em 500 mL de água destilada*	80 mL
<i>Mascagnia aff. rigida</i> (brotação)	Seropédica, Jardim de Plantas Tóxicas, UFRRJ/EMBRAPA, RJ 10/08/2009	54 g	em estufa à 37-40°C, por 48 horas	12 g	12 g diluídos em 350 mL de água destilada	12 mL

*Dois extratos preparados

**Três extratos preparados

3.3.2 Delineamento experimental

Os principais dados sobre o delineamento experimental encontram-se nas Tabelas 4 e 5. Foram feitas administrações de doses únicas ou repetidas do extrato concentrado de cada planta, após um intervalo mínimo de duas horas. Todos os animais foram mantidos em jejum, por pelo menos 24 horas, antes da administração dos extratos. A administração do extrato concentrado de cada planta aos animais foi realizada por via oral (sonda orogástrica), de forma lenta em um período de aproximadamente um minuto. Para o cálculo da dose dos extratos concentrados administrados aos animais utilizou-se a seguinte metodologia: consideramos a quantidade (peso) de cada tipo de planta seca pulverizada e o respectivo volume final do extrato concentrado no rota-evaporador. A partir desses dados, e com base no volume total do extrato concentrado ingerido por cada animal, obtivemos, através de uma regra de três, o valor que consideramos como a dose de cada extrato concentrado. Por exemplo, o cálculo da dose administrada ao rato 68, foi realizado da seguinte forma:

50,4 g da planta seca pulverizada -----	10 mL de extrato concentrado
	(volume final do extrato concentrado)
X g da planta -----	4,57 mL
	(volume total administrado ao rato)

X = 23,03 g, ou seja, 23,03 g da planta estava presente nos 4,57 mL do extrato concentrado administrado ao rato.

Com base nesse resultado, calculamos a dose:

Y g da planta -----	1000 g (1 kg)
23,03 g da planta -----	253 g (peso do rato 68)

Y = 91 g/kg (dose efetiva de g da planta por kg de peso dos ratos)

Os animais foram previamente pesados para que o volume total do extrato concentrado de cada planta fosse calculado. Em alguns casos, nos quais foi necessária a preparação de outros extratos da mesma planta, cuja metodologia inicialmente empregada foi modificada ou adaptada (alteração do peso da planta pulverizada utilizado na preparação do extrato ou mudança do volume final do extrato concentrado obtido) foram realizados cálculos para que a dose administrada fosse semelhante àquela usada nos experimentos anteriores ou ainda para que a dose administrada fosse aquela não desejada.

No momento da administração, o MF (Figura 13) e a acetamida (Figura 14) foram pesados em balança eletrônica de precisão e diluídos em 2,0 e 4,0 mL de água destilada, de acordo com a dose administrada.



Figura 13. a) Frasco de monofluoroacetato de sódio b) MF (sal) utilizado nos experimentos

O MF e a acetamida foram administrados em doses únicas por via oral (sonda orogástrica), lentamente, em um período de cerca de um minuto. O MF foi administrado nas doses de 4,0 e 8,0 mg/kg. O intervalo de tempo entre a administração da acetamida e dos extratos concentrados variou entre 2 a 4 horas; já para os animais que receberam o MF, o intervalo foi de 2 horas. A dose de acetamida utilizada variou de 2,0 a 6,0 g/kg para os animais que receberam os extratos concentrados e de 8,0 g/kg para os animais que receberam MF.

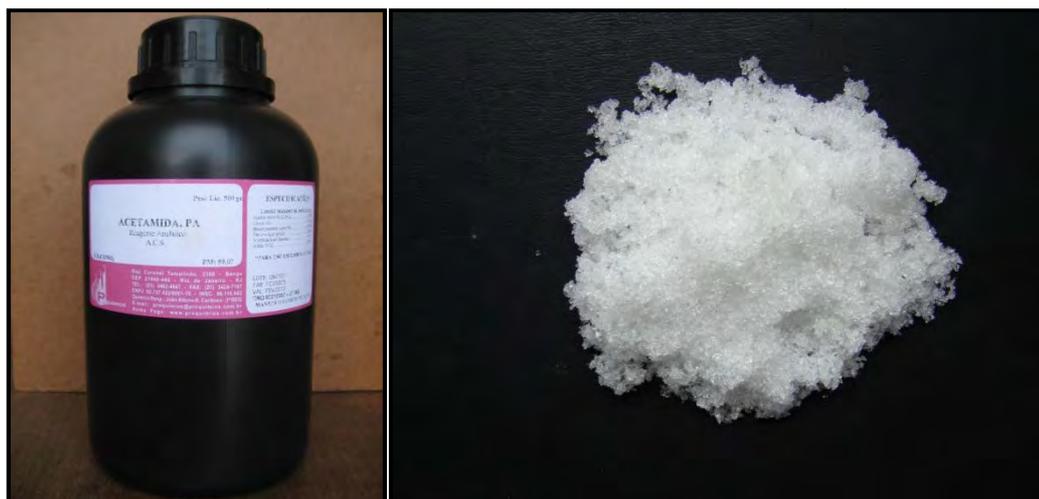


Figura 14. a) Frasco de acetamida. b) substância utilizada nos experimentos.

Após pelo menos uma semana, todos os animais utilizados nos experimentos em que a acetamida foi administrada antes da intoxicação por MF ou da administração de extratos concentrados das plantas, foram novamente submetidos ao mesmo protocolo experimental, porém sem a administração prévia de acetamida. Deste modo, visou-se eliminar qualquer eventual variação individual, uma vez que cada rato servia como controle de si mesmo. Além disso, tal metodologia possibilitou que fosse utilizado um menor número de animais nos experimentos.

Os animais foram observados continuamente desde o momento da administração do MF ou dos extratos concentrados de cada planta até a morte. A cada rato foi atribuído um número de registro para sua identificação e os dados obtidos durante os experimentos foram anotados sem fichas clínicas individuais.

Tabela 4. Delineamento experimental e desfecho da intoxicação experimental por extratos aquosos de *Palicourea marcgravii*, *P. juruana*, *Arrabidaea bilabiata*, *Pseudocalymma elegans*, *Mascagnia rigida*, *M. pubiflora*, *M. exotropica* e *Mascagnia aff. rigida* em ratos (Continua).

Identificação do rato (Reg. SAP)	Sexo	Peso	Planta utilizada	Dose administrada	Data e hora do começo da administração do extrato	Número de administrações e volume administrado	Intervalo de tempo entre as administrações	Volume total administrado	Dose de acetamida	Data e hora da administração da acetamida	Desfecho
Rato 58 (31898)	Macho	425 g	<i>Palicourea marcgravii</i>	23,5 g/kg	10/09/2009 08:10 h	1 x 4 ml	---	4 mL	---	---	Morreu
Rato 59 (31900)	Macho	410 g	<i>P. marcgravii</i>	24 g/kg	23/09/2009 08:35 h	1 x 4 ml	---	4 mL	---	---	Morreu
Rato 67	Macho	472 g	<i>P. juruana</i>	51 g/kg	04/11/2009 08:45 h	5 x 4 ml	3 horas	20 mL	---	---	Manifestou sintomas leves, mas não morreu
Rato 69 (31934)	Macho	464 g	<i>P. juruana</i>	108 g/kg	10/11/2009 09:30 h	1 x 6 ml e 1 x 3 ml	2 horas	9 mL	---	---	Morreu
Rato 70	Macho	453 g	<i>P. juruana</i>	110 g/kg	25/11/2009 12:15 h	1 x 6 mL e 1 x 3 mL	3 horas	9 ml	6,0 g/kg (2,71 g)	21/11/2009 09:15 h	Sem sintomas
Rato 70 (31940)	Macho	453 g	<i>P. juruana</i>	110 g/kg	08/12/2009 13:40 h	1 x 6 mL e 1 x 3 mL	3 horas	9 ml	---	---	Morreu
Rato 53 (31881)	Macho	410 g	<i>Pseudocalymma elegans</i>	14 g/kg	19/08/2009 08:52 h	1 x 4 ml e 1 x 2 ml	6 horas	6 mL	---	---	Morreu
Rato 71 (31942)	Macho	405 g	<i>P. elegans</i>	14 g/kg	09/12/2009 13:30 h	1 x 6 ml	2 horas	6 mL	6,0 g/kg (2,43 g)	09/12/2009 09:45 h	Morreu
Rato 74 (31943)	Macho	510 g	<i>P. elegans</i>	11 g/kg	10/12/2009 12:00 h 23/12/2009 11:20 h	1 x 6 ml 1 x 6 ml	2 horas ---	6 ml 6 ml	12,0 g/kg (4,86 g) ---	10/12/2009 08:00 h ---	Sem sintomas Morreu
Rato 66 (31930)	Fêmea	293 g	<i>Arrabidaea bilabiata</i>	78 g/kg	04/11/2009 08:40 h	4 x 4 ml	4 horas	16 mL	---	----	Morreu
Rato 68 (31935)	Fêmea	253 g	<i>A. bilabiata</i>	91 g/kg 91 g/kg	10/11/2009 11:20 h 25/11/2009 09:05 h	2 x 3,2 ml 2 x 2,28 ml	4 horas 4 horas	6,4 mL 4, 57 mL	6,0 g/kg (1,51 g) ---	10/11/2009 09:20 h ---	Sem sintomas Morreu

Tabela 4. Continuação

Identificação do rato (Reg. SAP)	Sexo	Peso	Planta utilizada	Dose administrada	Data e hora do começo da administração do extrato	Número de administrações e volume administrado	Intervalo de tempo entre as administrações	Volume total administrado	Dose de acetamida	Data e hora da administração da acetamida	Desfecho
Rato 51 (31898)	Macho	449 g	<i>Mascagnia</i> aff. <i>rígida</i>	27 g/kg	11/08/2009 11:05 h	6 x 2 ml	2 horas	12 mL	---	---	Sem sintomas
Rato 52 (31880)	Macho	445 g	<i>M. rígida</i>	45 g/kg	19/08/2009 08:50 h	4 x 6 ml	2 horas	24 mL	---	---	Morreu
Rato 54 (31893)	Macho	420 g	<i>M. rígida</i>	48 g/kg	01/09/2009 12:00 h	4 x 6 ml	2 horas	24 mL	2,0 g/kg (0,84 g)	01/09/2009 10:00 h	Morreu
Rato 55 (31897)	Macho	435 g	<i>M. rígida</i>	48 g/kg	01/09/2009 12:05 h	4 x 6 ml	2 horas	24 mL	4,0 g/kg (1,74 g)	01/09/2009 10:05 h	Manifestou sintomas leves, mas não morreu
Rato 57 (31896)	Macho	440 g	<i>M. rígida</i>	46 g/kg	08/09/2009 11:15 h	4 x 6 ml	2 horas	24 mL	---	---	Morreu
Rato 56 (31894)	Macho	550 g	<i>Mascagnia exotropica</i>	70 g/kg	02/09/2009 14:40 h	5 x 6 ml	3 horas	30 mL	---	---	Morreu
Rato 60 (31903)	Macho	467 g	<i>Mascagnia exotropica</i>	82 g/kg	24/09/2009 11:30 h	5 x 6 ml	3 horas	30 mL	6,0 g/kg (2,80 g)	24/09/2009 09:05 h	Sem sintomas
Rato 61 (31902)	Macho	474 g	<i>Mascagnia exotropica</i>	81 g/kg	30/09/2009 11:30 h	5 x 6 ml	3 horas	30 mL	---	---	Morreu
					30/09/2009 11:35 h	5 x 6 ml	3 horas	30 mL	6,0 g/kg (2,84 g)	24/09/2009 09:00 h	Sem sintomas

Tabela 4. Continuação

Identificação do rato (Reg. SAP)	Sexo	Peso	Planta utilizada	Dose administrada	Data e hora do começo da administração do extrato	Número de administrações e volume administrado	Intervalo de tempo entre as administrações	Volume total administrado	Dose de acetamida	Data e hora da administração da acetamida	Desfecho
Rato 72 (31941)	Fêmea	260 g	<i>Mascagnia pubiflora</i>	231 g/kg	02/12/2009 10:00 h	1 x 4 ml e 1 x 2 ml	3h e 30 min	6 ml	---	---	Morreu
Rato 73 (31944)	Fêmea	223 g	<i>Mascagnia pubiflora</i>	269 g/kg	02/12/2009 18:50 h 16/12/2009 09:30 h	1 x 4 ml e 1 x 2 ml 1 x 4 ml e 1 x 2 ml	3h e 30 min 3h e 30 min	6 ml 6 ml	6 g/kg (1,33 g) ---	02/12/2009 14:50 h ---	Sem sintomas Morreu

Tabela 5. Principais dados sobre o delineamento experimental e desfecho do efeito protetor da acetamida na intoxicação experimental por monofluoroacetato de sódio em ratos

Identificação do rato (Reg. SAP)	Sexo	Peso	Dose do MF administrada	Data e hora da administração do MF	Dose total do MF administrado	Intervalo de tempo entre as administrações	Dose de acetamida	Dose total da acetamida administrada	Data e hora da administração da acetamida	Desfecho
Rato 65 (31907)	Macho	405 g	4,0 mg/kg	06/10/2009 11:45 h	1,62 mg	---	---	---	---	Morreu
Rato 64 (31908)	Fêmea	235 g	8,0 mg/kg	08/10/2009 10:40 h	1,88 mg	---	---	---	---	Morreu
Rato 62 (31927)	Macho	376 g	8,0 mg/kg	06/10/2009 12:45 h 20/10/2009 12:00 h	3,0 mg 3,0 mg	2 horas 2 horas	8,0 g/kg ---	3,0 g ---	06/10/2009 10:45 h ---	Sem sintomas Morreu
Rato 63 (31928)	Macho	465 g	8,0 mg/kg	06/10/2009 12:47 h 20/10/2009 12:05 h	3,72 mg 3,72 mg	2 horas 2 horas	8,0 g/kg ---	3,72 g ---	06/10/2009 10:47 h ---	Sem sintomas Morreu

3.3.3 Experimentos com as plantas frescas

Inicialmente foram realizados experimentos-piloto nos quais foram oferecidas folhas frescas de *Palicourea marcgravii*, *Mascagnia pubiflora* ou *M. rigida*, no comedouro, contudo, apenas os ratos que receberam *P. marcgravii* ingeriram quantidades consideráveis da planta conforme demonstrado na Tabela 6. Desta forma, os animais que receberam *M. pubiflora* e *M. rigida* não foram considerados neste estudo, uma vez que ingeriram quantidades ínfimas da planta. Todos os ratos foram mantidos em jejum por 24 horas, antes da administração das plantas.

Foram oferecidas folhas frescas de *P. marcgravii* (folhas jovens e maduras) nas doses de 2,0 e 4,0 g/kg para nove ratos, dos quais quatro receberam 2,0 g/kg e, os outros cinco ratos 4,0 g/kg. Toda a manipulação das folhas era feita com o uso de luvas de procedimento, uma vez que em experimentos preliminares, verificou-se que após as folhas serem manipuladas sem a utilização de luvas, os ratos dificilmente as ingeriam. Todos os ratos ingeriram espontaneamente folhas frescas de *P. marcgravii* (Figura 15), sendo que a partir do quarto experimento, verificamos que ao untar com *bacon* as folhas das plantas, os animais demonstravam maior interesse pelas folhas e ingeriam, quase sempre, toda a planta oferecida. A partir daí, essa metodologia foi adotada com sucesso nos experimentos subsequentes com *P. marcgravii*, embora sem êxito nos experimentos com *M. rigida* e *M. pubiflora*.

Previamente ao fornecimento da planta, a dois desses animais (ratos 19 e 21), foram administradas doses únicas de acetamida de 2,0 e 4,0 g/kg, por via oral (sonda orogástrica), lentamente em um período de cerca de um minuto. O intervalo de tempo entre a administração da acetamida e o fornecimento da planta para esses dois animais foi de um minuto.

A um terceiro animal (rato 23), foi adotada outra metodologia. Nesse caso, o rato recebeu 4,0 g/kg da planta e, após manifestar sintomas graves (2 horas após o consumo da planta) administraram-se 4,0 g/kg de acetamida com a mesma metodologia acima descrita, com o intuito de se avaliar o efeito protetor da acetamida após o início da manifestação de sintomas graves.

Tabela 6. Principais dados sobre o delineamento experimental e desfecho da intoxicação experimental com **folhas frescas** de *Palicourea marcgravii* em ratos

Identificação do rato (Reg. SAP)	Sexo	Peso	Planta (folhas frescas maduras)	Dose ofertada (dose total)	Dose ingerida (dose total)	Data e hora do fornecimento da planta	Intervalo de tempo entre a administração de acetamida e o fornecimento da planta	Dose de acetamida (g/kg)	Dose total da acetamida administrada	Data e hora da administração da acetamida	Desfecho
Rato 1 (31786)	Macho	470 g	<i>P. marcgravii</i>	2,0 g/kg (0,94 g)	2,0 g/kg (0,94 g)	22/04/2009 00:20 h	---	---	---	---	Morreu
Rato 4 (31787)	Fêmea	265 g	<i>P. marcgravii</i>	2,0 g/kg (0,53 g)	1,7 g/kg (0,4519 g)	24/04/2009 07:40 h	---	---	---	---	Morreu
Rato 12 (31788)	Fêmea	193 g	<i>P. marcgravii</i>	2,0 g/kg (0,38 g)	0,38 g	28/04/2009 09:43 h	---	---	---	---	Morreu
Rato 19 (31809)	Fêmea	235 g	<i>P. marcgravii</i>	2,0 g/kg (0,47 g)	2,0 g/kg (0,47 g)	04/06/2009 07:37 h	1 min	2,0	0,47 g	04/06/2009 07:36 h	Sem sintomas
			<i>P. marcgravii</i> untada com bacon	2,0 g/kg (0,47 g)	1,7 g/kg (0,398 g)	11/06/2009 11:13 h	1 min	2,0	---	---	Morreu
Rato 21 (31808)	Fêmea	255 g	<i>P. marcgravii</i>	4,0 g/kg (1,02 g)	1,02 g	04/06/2009 07:42 h	1 min	4,0	1,02 g	04/06/2009 07:41 h	Sem sintomas
			<i>P. marcgravii</i> untada com bacon	4,0 g/kg (1,02 g)	2,2 g/kg (0,56 g)	11/06/2009 11:13 h	1 min	4,0	---	---	Morreu
Rato 23	Fêmea	245 g	<i>P. marcgravii</i> untada com bacon	4,0 g/kg (0,98 g)	0,98 g	09/06/2009 10:15 h	2 horas após a ingestão da <i>P. marcgravii</i>	4,0	0,98 g	09/06/2009 12:15 h	Manifestou sintomas graves e não morreu
Rato 24 (31806)	Fêmea	210 g	<i>P. marcgravii</i> untada com bacon	4,0 g/kg (0,84 g)	3,5 g/kg (0,732 g)	09/06/2009 10:15 h	---	---	---	---	Morreu
Rato 25 (31805)	Fêmea	255 g	<i>P. marcgravii</i> untada com bacon	4,0 g/kg (1,02 g)	4,0 g/kg (1,02 g)	09/06/2009 10:15 h	---	---	---	---	Morreu
Rato 26 (31807)	Fêmea	205 g	<i>P. marcgravii</i> untada com bacon	4,0 g/kg (0,82 g)	2,5 g/kg (0,515 g)	09/06/2009 10:15 h	---	---	---	---	Morreu

Uma semana depois, os ratos 19 e 21, que não manifestaram sintomas nos experimentos em que a acetamida foi fornecida antes da ingestão de *P. marcgravii*, receberam novamente, no comedouro, a planta na mesma dose anteriormente administrada, porém sem a administração prévia de acetamida.



Figura 15. Ingestão espontânea da folha fresca de *Palicourea marcgravii*. Rato 26 (4,0 g/kg)

3.3.4 Necropsia

Todos os ratos foram necropsiados imediatamente após a morte. Foram coletados todo o encéfalo e fragmentos de coração, fígado, rins, baço, pulmões, trato gastrointestinal, bexiga, testículo ou ovário e grupos musculares isolados. Esse material foi fixado imediatamente em formalina a 10% tamponada com carbonato de cálcio; os fragmentos de músculos só foram fixados duas horas após a coleta. A formalina foi trocada oito horas após a primeira fixação.

4 RESULTADOS

4.1 Aspectos Clínicos e Toxicológicos

Os principais achados clínico-patológicos encontram-se na Tabela 7. Todos os ratos intoxicados pelo MF, bem como pelas folhas frescas de *P. marcgravii* ou com extratos concentrados das plantas que causam morte súbita, que não receberam tratamento com acetamida, manifestaram sinais clínicos e morte, exceto o rato 67 intoxicado com 51 g/kg *P. juruana*, que embora tenha manifestado sinais clínicos, não morreu. Além disso, o experimento-piloto realizado com o extrato concentrado *M. aff rigida* na dose de 27 g/kg (rato 51) demonstrou que a planta coletada no município de Seropédica, RJ, não é tóxica, ou é de toxidez muito baixa, o que de fato, foi confirmado em um experimento complementar, realizado com um coelho (macho, adulto, clinicamente saudável e com 4,0 kg de peso), que ingeriu espontaneamente 50 g/kg da planta fresca oferecida no comedouro e não manifestou qualquer sinal clínico.

4.2 Início dos Sinais Clínicos

O tempo decorrido entre a administração das folhas frescas de *Palicourea marcgravii*, assim como dos extratos concentrados de cada planta utilizada ou MF e a manifestação dos primeiros sinais clínicos variou de 2 horas a 9 horas e 19 minutos; 49 minutos a 10 horas e 5 minutos; 33 minutos a 1 hora e 37 minutos, respectivamente, conforme demonstrado na Tabela 7.

Tabela 7. Resultados da intoxicação experimental por extratos aquosos de *Palicourea marcgravii*, *P. juruana*, *Arrabidaea bilabiata*, *Pseudocalymma elegans*, *Mascagnia rigida*, *M. pubiflora*, *M. exotropica*, *Mascagnia aff. rigida* e monofluoroaceto de sódio em ratos (Continua)

Identificação do rato (Reg. SAP)	Planta administrada ou MF	Dose	Início dos sinais clínicos após a administração	Evolução da intoxicação	Manifestações clínicas	Desfecho	Achados de necropsia
Rato 58 (31898)	<i>P. marcgravii</i>	23,5 g/kg	1 h e 6 min	2 h e 19 min	Apatia, pelos arrepiados, cianose, taquipnéia, prostração, cinco convulsões decúbito, movimentos de pedalagem e morte.	Morte	Aurículas - leve a moderadamente ingurgitadas. Fígado – leve a moderadamente congesto.
Rato 59 (31900)	<i>P. marcgravii</i>	24 g/kg	1 h e 10 min	1 h e 25 min	Pelos arrepiados, apatia, taquipnéia, cianose, prostração, quatro convulsões, decúbito e morte.	Morte	Aurículas - moderadamente ingurgitadas. Fígado – leve a moderadamente congesto.
Rato 67	<i>P. juruana</i>	51 g/kg	4 h 19 min	---	Pelos arrepiados, apatia e duas convulsões.	Não morreu	---
Rato 69 (31934)	<i>P. juruana</i>	108 g/kg	2 h e 40 min	22 min	Apatia, inquietação, cianose, pelos arrepiados, taquipnéia, tremores musculares, 2 convulsões e morte.	Morte	Aurículas, veia cava cranial e caudal – acentuadamente ingurgitadas. Fígado – moderadamente congesto e evidenciação do padrão lobular.
Rato 70 (31940)	<i>P. juruana</i>	110 g/kg	1 h 57 min	8 h e 8 min	Apatia, inquietação, cianose, pelos arrepiados, prostração, dispnéia, duas convulsões e morte.	Morte	Aurículas – moderadamente ingurgitadas. Fígado – acentuadamente congesto.
Rato 53 (31881)	<i>P. elegans</i>	14 g/kg	1 h e 14 min	9 h e 30 min	Pelos arrepiados, apatia, taquipnéia, cianose, tremores musculares e nove convulsões, movimentos de pedalagem e morte.	Morte	Aurículas - leve a moderadamente ingurgitadas. Fígado – leve a moderadamente congesto.
Rato 71* (31942)	<i>P. elegans</i>	14 g/kg	49 min	2 h e 51 min	Apatia, dispnéia, tremores musculares, uma convulsão e morte.	Morte	Aurículas, veia cava cranial e caudal – moderada a acentuadamente ingurgitadas. Fígado – moderadamente congesto.
Rato 74 (31943)	<i>P. elegans</i>	11 g/kg	55 min	1 h	Inquietação, taquipnéia, tremores, apatia, cianose, duas convulsões e morte.	Morte	Aurículas – acentuadamente ingurgitadas. Fígado – moderadamente congesto.
Rato 66 (31930)	<i>A. bilabiata</i>	78 g/kg	4 h e 52 min	14h e 28 min	Apatia, pelos arrepiados, taquipnéia, cianose e morte.	Morte	Aurículas – levemente ingurgitadas. Fígado – moderadamente congesto.
Rato 68 (31935)	<i>A. bilabiata</i>	91 g/kg	4 h e 15 min	5 h e 3 min	Pelos arrepiados, apatia, cianose, tremores musculares, alterações comportamentais (saltou diversas vezes), uma convulsão e morte.	Morte	Aurículas – moderadamente ingurgitadas. Fígado – moderadamente congesto.

Tabela 7. Continuação

Identificação do rato (Reg. SAP)	Planta administrada ou MF	Dose	Início dos sinais clínicos após a administração	Evolução da intoxicação	Manifestações clínicas	Desfecho	Achados de necropsia
Rato 52 (31880)	<i>M. rigida</i>	45 g/kg	3 h e 35 min	3 h e 21 min	Pelos arrepiados, apatia, taquipnéia, tremores musculares, quatro convulsões, movimentos de pedalagem e morte.	Morte	Aurículas – levemente ingurgitadas. Fígado – levemente congesto.
Rato 54* (31893)	<i>M. rigida</i>	48 g/kg	10 h e 05 min	8 h e 40 min	Apatia, pelo arrepiado, uma convulsão e morte.	Morte	Aurículas – moderadamente ingurgitadas. Fígado – leve a moderadamente congesto.
Rato 55 (31897)	<i>M. rigida</i>	48 g/kg	06 h e 30 min	6 h	Apatia, pelos arrepiados, prostração, cianose, tremores musculares, taquipnéia, 29 convulsões e morte.	Morte	Aurículas e veia cava cranial e caudal – acentuadamente ingurgitadas. Fígado – moderadamente congesto e evidenciação do padrão lobular.
Rato 57 (31896)	<i>M. rigida</i>	46 g/kg	5 h e 58 min	2 h e 52 min	Pelos arrepiados, apatia, taquipnéia, cianose, tremores musculares, prostração, inquietação, alterações comportamentais (saltou diversas vezes, correu e rolou), postura atípica (sentado), decúbito lateral, espasmos musculares, 22 convulsões e morte.	Morte	Aurículas e veia cava cranial e caudal – acentuadamente ingurgitadas. Fígado – acentuadamente congesto.
Rato 56 (31894)	<i>M. exotropica</i>	70 g/kg	5 h e 53 min	10 h e 37 min	Apatia, pelos arrepiados, tremores musculares, duas convulsões e morte.	Morte	Aurículas – levemente ingurgitadas. Fígado – moderadamente congesto.
Rato 60 (31903)	<i>M. exotropica</i>	82 g/kg	4 h e 19 min	7 h e 7 min	Apatia, pelos arrepiados, cianose, três convulsões, movimentos de pedalagem e morte.	Morte	Aurículas - moderadamente ingurgitadas. Fígado – leve a moderadamente congesto.
Rato 61 (31902)	<i>M. exotropica</i>	81 g/kg	3 h e 40 min	4 h e 35 min	Pelos arrepiados, apático, convulsão, cianose, tremores musculares, movimentos de pedalagem, 9 convulsões e morte.	Morte	Aurículas – moderadamente ingurgitadas. Fígado – moderadamente congesto e evidenciação do padrão lobular. Pulmão – discreto edema.
Rato 72 (31941)	<i>M. pubiflora</i>	231 g/kg	3 h	30 min	Pelos arrepiados, cianose, apatia, dispnéia, tremores musculares e morte.	Morte	Aurículas – moderadamente ingurgitadas. Fígado – leve a moderadamente congesto.
Rato 73 (31944)	<i>M. pubiflora</i>	269 g/kg	3 h e 7 min	2 h e 48 min	Inquietação, respiração abdominal, pelos arrepiados, duas convulsões e morte.	Morte	Aurículas – moderadamente ingurgitadas. Fígado – moderadamente congesto.

Tabela 7. Continuação

Identificação do rato (Reg. SAP)	Planta administrada ou MF	Dose	Início dos sinais clínicos após a administração	Evolução da intoxicação	Manifestações clínicas	Desfecho	Achados de necropsia
Rato 1 (31786)	<i>P. marcgravii</i>	2,0 g/kg	7 h e 35 min	56 min	Pelos arrepiados, apatia, tremores musculares e convulsão e morte.	Morte	Aurículas e veias cavas caudal e cranial – acentuadamente ingurgitadas. Fígado – moderadamente congesto.
Rato 4 (31787)	<i>P. marcgravii</i>	1,7 g/kg	2 h e 54 min	1 h e 4 min	Pelos arrepiados, apatia, tremores musculares, duas convulsões, movimentos de pedalagem e morte.	Morte	Aurículas e veias cavas caudal e cranial – acentuadamente ingurgitadas. Fígado – moderadamente congesto.
Rato 12 (31788)	<i>P. marcgravii</i>	2,0 g/kg	2 h e 54 min	5 h e 15 min	Apatia, pelos arrepiados, cianose, tremores musculares, duas convulsões e morte.	Morte	Aurículas e veias cavas caudal e cranial – acentuadamente ingurgitadas. Fígado – acentuadamente congesto e evidenciação do padrão lobular.
Rato 19 (31809)	<i>P. marcgravii</i>	1,7 g/kg	9 h e 19 min	1 h e 15 min	Apatia, pelos arrepiados, uma convulsão e morte.	Morte	Aurículas e veias cavas caudal e cranial – levemente ingurgitadas. Fígado – levemente congesto. Pulmão – leve edema (líquido espumoso)
Rato 21 (31808)	<i>P. marcgravii</i>	2,2 g/kg	5 h e 7 min	2 h	Apatia, pelos arrepiados, ataxia, uma convulsão e morte.	Morte	Aurículas, veias cava caudal e cranial – moderadamente ingurgitadas. Fígado – moderadamente congesto. Pulmão – leve edema.
Rato 23**	<i>P. marcgravii</i>	4,0 g /kg	6 h e 38 min	---	Apatia, pelos arrepiados e uma convulsão.	Não morreu	---
Rato 24 (31806)	<i>P. marcgravii</i>	3,5 g/kg	4 h e 55 min	3 min	Apatia, cianose, pelos arrepiados, tremores musculares, uma convulsão e morte.	Morte	Aurículas, veias cava caudal e cranial – moderadamente ingurgitadas. Fígado – moderadamente congesto.
Rato 25 (31805)	<i>P. marcgravii</i>	4,0 g /kg	2 h	1 h e 5 min	Pelos arrepiados, cianose, apatia, dispnéia, tremores musculares, duas convulsões e morte.	Morte	Aurículas – acentuadamente ingurgitadas. Fígado – marcada congestão e evidenciação do padrão lobular.
Rato 26 (31807)	<i>P. marcgravii</i>	2,5 g/kg	2 h	4 h e 5 min	Pelos arrepiados, cianose, apatia, tremores musculares, uma convulsão, decúbito, movimentos de pedalagem e morte.	Morte	Aurículas, veias cava caudal e cranial – moderadamente ingurgitadas. Fígado – moderadamente congesto e evidenciação do padrão lobular.

Tabela 7. Continuação

Identificação do rato (Reg. SAP)	Planta administrada ou MF	Dose	Início dos sinais clínicos após a administração	Evolução da intoxicação	Manifestações clínicas	Desfecho	Achados de necropsia
Rato 65 (31907)	MF	4,0 mg/kg	1 h e 37 min	11 h e 13 min	Pelos arrepiados, apatia, decúbito, uma convulsão e morte	Morte	Aurículas, veia cava cranial e caudal – acentuadamente ingurgitadas. Fígado – moderadamente congesto.
Rato 64 (31908)	MF	8,0 mg/kg	33 min	4 h e 17 min	Pelos arrepiados, cianose, apatia, vocalização, tremores musculares, decúbito, prostração, dispneia, três convulsões, movimentos de pedalagem e morte.	Morte	Aurículas – moderadamente ingurgitadas. Fígado – leve a moderadamente congesto.
Rato 62 (31927)	MF	8,0 mg/kg	46 min	7 min	Apatia, pelos arrepiados, uma convulsão, decúbito e morte	Morte	Aurículas – moderadamente ingurgitadas. Fígado – moderadamente congesto.
Rato 63 (31928)	MF	8,0 mg/kg	58 min	45 min	Pelos arrepiados, cianose, apatia, tremores musculares, uma convulsão, decúbito, movimentos de pedalagem e morte.	Morte	Aurículas, veia cava cranial e caudal – acentuadamente ingurgitadas. Fígado – acentuadamente congesto e evidenciação do padrão lobular.

* A dose administrada de acetamida não preveniu a morte.

** A administração de 4,0 g/kg de acetamida, após o animal manifestar sinais clínicos graves evitou o óbito do rato.

4.3 Evolução Clínica

A evolução da intoxicação por folhas frescas de *Palicourea marcgravii*, bem como pelos extratos concentrados das plantas utilizadas ou MF variou de 3 minutos a 5 horas e 15 minutos; 22 minutos a 14 horas e 28 minutos; 45 minutos a 11 horas e 13 minutos, respectivamente, conforme apresentado na Tabela 7.

4.4 Quadro clínico geral

Nos 32 animais em que foram observados sinais clínicos, em geral, verificaram-se apatia, cianose em extremidades (cauda, focinho e orelha), pelos arrepiados, inquietação, dispneia, respiração abdominal, taquipneia, postura anormal, decúbito esterno-abdominal e lateral, tremores musculares, convulsões (Figuras 16), cauda elevada (Figura 17), membros posteriores abduzidos (Figura 18), ataxia, esticar de membros com movimentos de pedalagem, opistótono, respiração ofegante e morriam em poucos minutos.



Figura 16. Intoxicação por monofluoroacetato de sódio (8,0 mg/kg). Rato 63 durante quadro convulsivo.



Figura 17. Intoxicação por extrato concentrado de *Mascagnia extropica* (70 g/kg). Rato 56 em convulsão. Note a cauda elevada.



Figura 18. Intoxicação por extratos concentrados de *Mascagnia rigida* (48 g/kg). Rato 55 com membros posteriores abduzidos.

4.5 Efeito Protetor da Acetamida

A acetamida, quando administrada previamente, evitou o aparecimento dos sinais clínicos e a morte em todos os animais intoxicados por MF, bem como pelas folhas frescas de *P. marcgravii* e com os extratos concentrados de cada uma das outras plantas utilizadas (Tabelas 4 a 6), exceto nos ratos 54 e 71, que receberam 2,0 e 6,0 g/kg de acetamida,

respectivamente e, duas horas depois, foram intoxicados por extratos concentrados de *M. rigida* e *P. elegans*, nas doses de 48 e 14 g/kg respectivamente, e morreram. Além desses animais, outros dois ratos (55 e 57), que receberam 4,0 g/kg de acetamida e, duas horas depois, foram intoxicados com extratos concentrados de *M. rigida*, manifestaram sintomas leves, mas não morreram.

Adicionalmente, verificou-se que a administração de 4,0 g/kg de acetamida ao rato 23, duas horas após a intoxicação com 4,0 g/kg de *P. marcgravii*, evitou a morte do animal, embora este já manifestasse sinais clínicos graves.

4.6 Achados de Necropsia

Os ratos intoxicados com extratos concentrados de *P. marcgravii* e *M. exotropa* desenvolveram *rigor mortis*, em até 13 minutos, após a morte.

Todos os ratos apresentaram aurículas leve a acentuadamente ingurgitadas (Figuras 19 a 21) e, por vezes, também as veias cava cranial e caudal (Figura 19). Havia moderada dilatação cardíaca direita e esquerda em três animais (ratos 1, 70 e 74). O fígado de todos os animais apresentava-se leve a acentuadamente congesto (Figuras 19 a 21), e em alguns ratos, verificou-se evidência do padrão lobular (ratos 12, 25, 26, 55, 61, 63 e 69) (Figura 20). Observaram-se ainda discreta a leve presença de líquido espumoso na superfície de corte dos pulmões (ratos 19, 21 e 61).

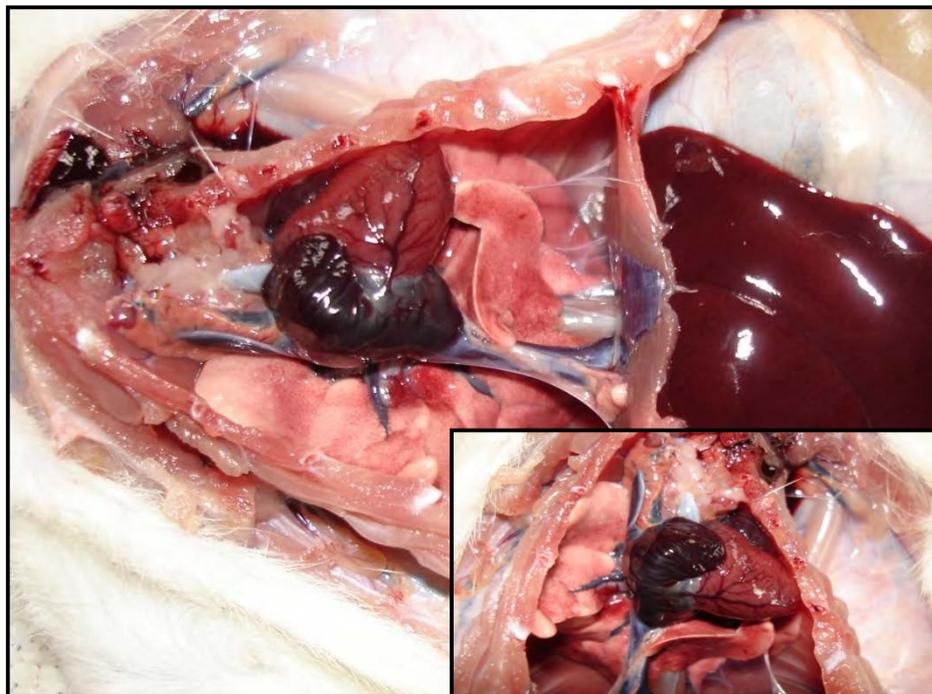


Figura 19. Intoxicação por *Mascagnia rigida* (48 g/kg). Rato 55 com aurículas, veias cava caudal e cranial acentuadamente ingurgitadas e moderada congestão hepática.

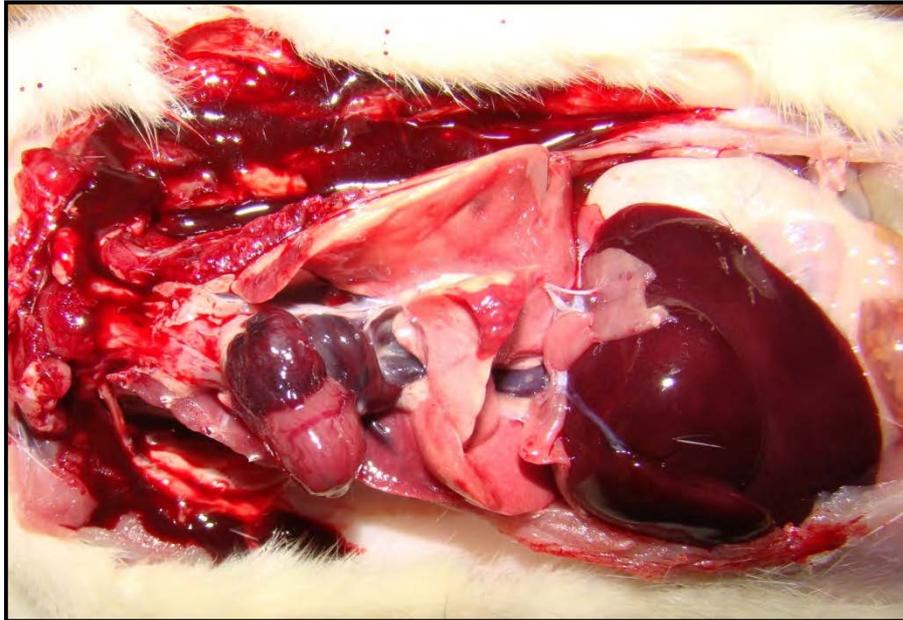


Figura 20. Intoxicação por monofluoroacetato de sódio (8,0 mg/kg). Rato 63 com aurículas acentuadamente ingurgitadas e fígado com evidência do padrão lobular.

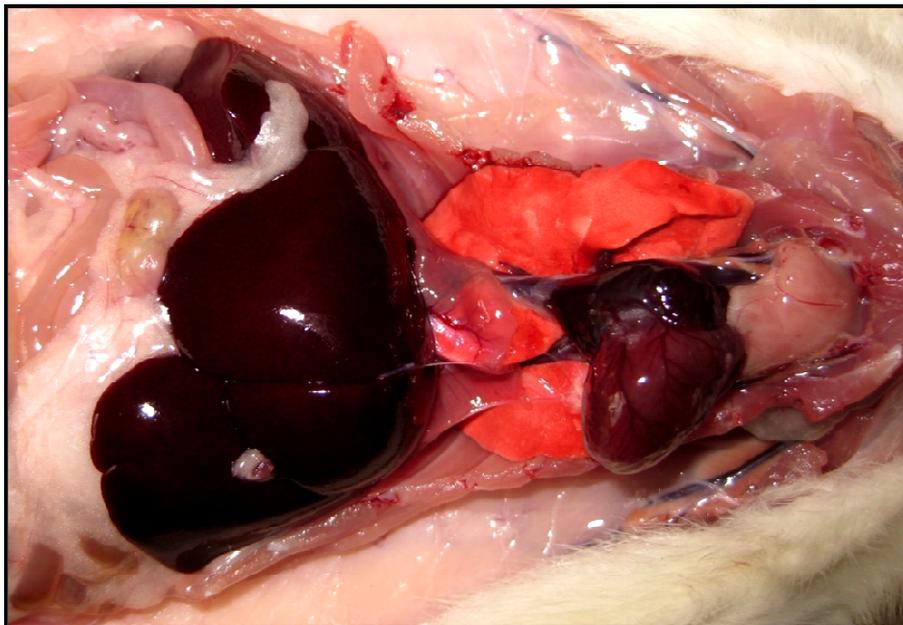


Figura 21. Intoxicação por folhas frescas de *Palicourea marcgravii* (4,0 g/kg). Rato 25 com aurículas acentuadamente ingurgitadas e marcada congestão hepática.

4.7 Histopatologia

Após a fixação em formalina a 15% os fragmentos foram clivados, desidratados em álcool etílico absoluto, diafanizados em xilol, incluídos em parafina e cortados em micrótomo à espessura de 5 μ . Os cortes foram corados pela hematoxilina-eosina (HE) e as lâminas examinadas em microscópio óptico.

Os principais órgãos afetados foram os rins e o fígado. Nos rins de seis dos 30 animais (Quadro 1 e 2) havia leve a moderada tumefação citoplasmática dos túbulos uriníferos contornados distais e, por vezes, também nos túbulos coletores, mas somente em quatro deles (dois intoxicados por *P. marcgravii* (Ratos 12 e 21), um por *Pseudocalymma elegans* (Rato

53) e outro por *M. exotropica* (Rato 60)) havia a clássica lesão de degeneração hidrópico-vacuolar com picnose nuclear evidente (Figuras 22 e 23). Em dois animais (Ratos 53 e 54) observou-se picnose nuclear evidente ou de grau variável nos túbulos coletores. No fígado de 26 animais havia congestão e, destes, três apresentaram estreitamento compressivo dos cordões hepáticos, em oito corpúsculos de choque e em três, moderada a discreta necrose focal (Rato 54, 57 e 74). Vacuolização de hepatócitos ocorreu em 16 animais e a intensidade da lesão variou de discreta a moderada. Nos demais órgãos não foram encontradas alterações significativas.

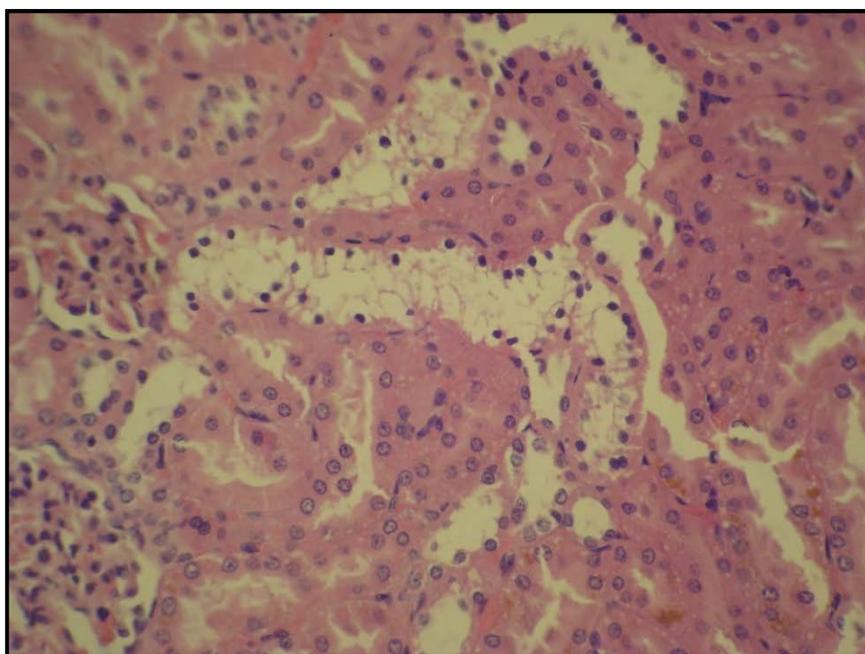


Figura 22. Intoxicação por *Palicourea marcgravii* (4,0 g/kg). Degeneração hidrópico-vacuolar dos túbulos uriníferos contornados distais associada à picnose nuclear, no Rato 21. HE, obj. 25x.

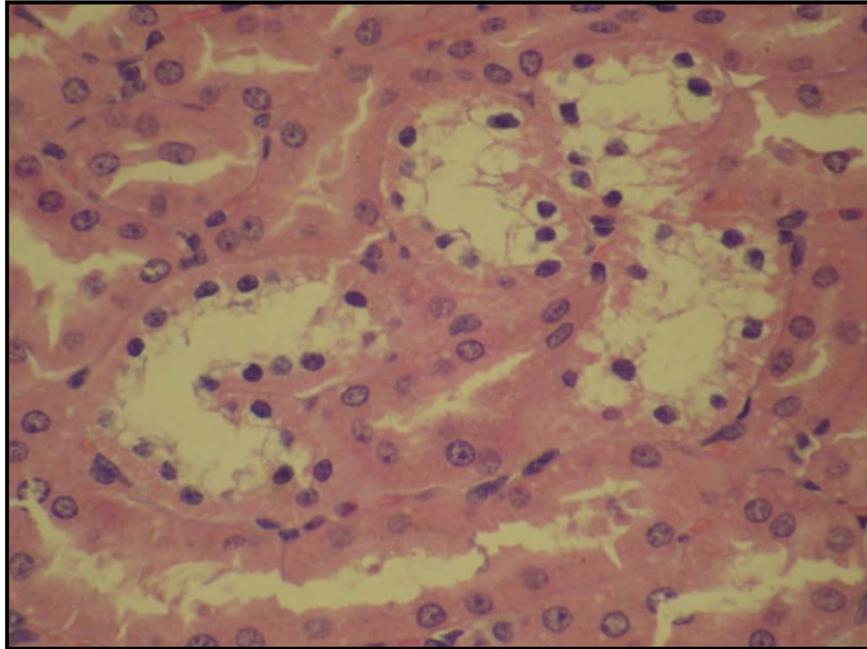


Figura 23. Intoxicação por *Palicourea marcgravii* (4,0 g/kg). Degeneração hidrópico-vacuolar dos túbulos uriníferos contornados distais associada à picnose nuclear, no Rato 21. HE, obj. 40x.

Quadro 1. Principais alterações histológicas observadas em ratos, após administração das plantas. Continua

Identificação (Reg. SAP)	Planta	Rim					Fígado					
		Degeneração hidrópica vacuolar dos tubos contornados distais	Tumefação citoplasmática dos túbulos contornados distais	Tumefação citoplasmática dos túbulos coletores	Tumefação citoplasmática dos túbulos da medular	Filtrado glomerular aumentado	Vacuolização	Tumefação	Necrose	Congestão	Atrofia por compressão	Corpúsculo de choque
Rato 1 (31786)	<i>P. marcgravii</i>	—	—	—	—	—	+	—	—	+	—	—
Rato 4 (31787)	<i>P. marcgravii</i>	—	—	++	—	—	(+)	—	—	+	—	—
Rato 12 (31788)	<i>P. marcgravii</i>	+(+)	++	+ (+)	—	—	—	—	—	—	—	—
Rato 19 (31809)	<i>P. marcgravii</i>	—	—	—	—	—	+	—	—	(+)	—	—
Rato 21 (31808)	<i>P. marcgravii</i>	++	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
Rato 24 (31806)	<i>P. marcgravii</i>	—	—	—	—	—	+	—	—	++	+	++(+)
Rato 25 (31805)	<i>P. marcgravii</i>	—	—	—	—	—	+	—	—	++	—	++
Rato 26 (31807)	<i>P. marcgravii</i>	—	—	++	—	+(+)	—	—	—	++(+)	—	+
Rato 52 (31880)	<i>Fruto de M. rigida</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	+(+)	+	+(+)
Rato 53 (31881)	<i>P. elegans</i>	+(+)	+	++	—	—	—	—	—	++	—	++(+)
Rato 54 (31893)	<i>Mascania rigida</i>	—	—	—	—	—	+(+)	—	(+)	+	—	+

Quadro 1. Continuação

Identificação (Reg. SAP)	Planta	Rim					Fígado					
		Degeneração hidrópica vacuolar dos tubos contornados distais	Tumefação citoplasmática dos túbulos contornados distais	Tumefação citoplasmática dos túbulos coletores	Tumefação citoplasmática dos túbulos da medular	Filtrado glomerular aumentado	Vacuolização	Tumefação	Necrose	Congestão	Atrofia por compressão	Corpúsculo de choque
Rato 55 (31897)	<i>Fruto de M. rigida</i>	—	—	—	—	—	(+)	—	—	+	—	—
Rato 56 (31894)	<i>Mascania exotropica</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—
Rato 57 (31896)	<i>Fruto de M. rigida</i>	—	—	—	—	—	+	+	(+)	++	+	+(+)
Rato 58 (31898)	<i>P. marcgravii</i>	—	—	—	—	—	+(+)	—	—	++(+)	—	—
Rato 59 (31900)	<i>P. marcgravii</i>	—	—	—	—	—	+(+)	—	—	+(+)	—	—
Rato 60 (31903)	<i>Mascania exotropica</i>	+	+(+)	—	—	—	—	—	—	+(+)	—	—
Rato 61 (31902)	<i>Mascania exotropica</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	++	—	—
Rato 66 (31930)	<i>Arrabidaea bilabiata</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	+(+)	—	—
Rato 68 (31935)	<i>Arrabidaea bilabiata</i>	—	—	—	—	—	+(+)	—	—	++	—	—

Quadro 1. Continuação

Identificação (Reg. SAP)	Planta	Rim					Fígado						
		Degeneração hidrópica vacuolar dos tubos contornados distais	Tumefação citoplasmática dos túbulos contornados distais	Tumefação citoplasmática dos túbulos coletores	Tumefação citoplasmática dos túbulos da medular	Filtrado glomerular aumentado	Vacuolização	Tumefação	Necrose	Congestão	Atrofia por compressão	Corpúsculo de choque	
Rato 69 (31934)	<i>P. juruana</i>	—	—	++	—	—	—	—	—	—	+(+)	—	—
Rato 70 (31940)	<i>P. juruana</i>	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Rato 71 (31942)	<i>P. elegans</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	(+)	—	—
Rato 72 (31941)	<i>M. publiflora</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—
Rato 73 (31944)	<i>M. publiflora</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—
Rato 74 (31943)	<i>P. elegans</i>	—	—	—	—	—	—	+	++	+(+)	—	—	+++

Quadro 2. Principais alterações histológicas observadas em ratos, após administração do monofluoroacetato de sódio

Identificação (Reg. SAP)	Rim					Fígado					
	Degeneração hidrópica vacuolar dos tubos contornados distais	Tumefação citoplasmática dos túbulos contornados distais	Tumefação citoplasmática dos túbulos coletores	Tumefação citoplasmática dos túbulos da medular	Filtrado glomerular aumentado	Vacuolização	Tumefação	Necrose	Congestão	Atrofia por compressão	Corpúsculo de choque
Rato 62 (31927)	—	—	—	—	—	+	—	—	++	—	—
Rato 63 (31928)	—	—	—	—	—	++	—	—	++	—	—
Rato 64 (31908)	—	++	—	—	—						
Rato 65 (31907)	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—

5 DISCUSSÃO

Nesse estudo, a administração de doses letais únicas de monofluoroacetato de sódio e de folhas frescas de *Palicourea marcgravii*, bem como de extratos aquosos de *P. marcgravii*, *P. juruana*, *Pseudocalymma elegans*, *Arrabidaea bilabiata*, *Mascagnia rigida*, *M. pubiflora* e *M. exotropica* aos ratos provocaram quadros clínico-patológicos semelhantes, caracterizados por sintomatologia, predominantemente, nervosa seguida de morte com evolução superaguda.

Clinicamente, os ratos manifestaram, em geral, evidentes sinais clínicos relacionados ao SNC, tais como convulsões, ataxia, tremores musculares, movimentos de pedalagem e opistótono. Adicionalmente, os animais apresentaram sinais menos específicos como apatia, cianose, pelos arrepiados, inquietação, dispneia, respiração abdominal, taquipneia, postura anormal, decúbito externo-abdominal e lateral, prostração, respiração ofegante seguida de morte. Quadro semelhante foi descrito em ratos (CARNEIRO, 1932; ECKSCHIMIDT et al., 1989; GÓRNIK, PALERMO-NETO; MORAES, 1993; SPINOSA, 1994; PACHECO; PINTO et al., 2008), camundongos, hamsters (GÓRNIK et al., 1986) e cobaios (PACHECO; CARNEIRO, 1932; GÓRNIK et al., 1986) experimentalmente intoxicados com *P. marcgravii*, bem como em ratos que receberam extratos de *M. rigida* (CUNHA, 2008) e cobaios intoxicados com *Pseudocalymma elegans* (TAVARES, REZENDE; DÖBEREINER, 1974), além de ratos (CHENOWETH; GILMAN, 1946; FOSS, 1948; HAYES et al., 1973; EGEKEZE; OEHME, 1979; ECKSCHIMIDT et al., 1989; MORAES, 1993; GÓRNIK, PALERMO-NETO; SPINOSA, 1994; CUNHA, 2008), hamsters (CHENOWETH; GILMAN, 1946) e cobaios (CHENOWETH; GILMAN, 1946; QUIN; CLARK, 1947; FOSS, 1948;) **intoxicados por MF**.

A variação da sensibilidade e dos sinais clínicos manifestados pelas diversas espécies de animais intoxicadas por MF é uma característica toxicológica peculiar desse composto (EGEKEZE; OEHME, 1979). De fato, poucos são os compostos químicos conhecidos capazes de provocar variáveis quadros clínico-patológicos em diferentes espécies animais. Realmente, Chenoweth e Gilman (1946) constataram, através de diversos experimentos, que a sintomatologia e a causa da morte de animais intoxicados por MF variam de acordo com a espécie. Com base nessas observações, elaboraram um sistema de classificação em categorias (I, II, III e IV), que permitiu agrupar as espécies animais em função do efeito provocado pelo MF. Segundo essa classificação, os ratos seriam agrupados na classe IV, na qual estão incluídos animais que exibem uma resposta atípica, caracterizada por extrema bradicardia e fraqueza.

Esse sistema de classificação, porém, foi recentemente revisto e complementado, após profunda revisão de literatura relacionada à intoxicação por MF nas diferentes espécies de animais (PEIXOTO et al., 2010). Essa nova classificação proposta por esses autores foi estabelecida, em parte, com base em recentes estudos experimentais com MF em bovinos (NOGUEIRA et al., 2010) e ovinos (PEIXOTO et al., 2010) e, foi fundamentada, sobretudo, em diversos trabalhos desenvolvidos com plantas tóxicas que contêm ou provavelmente contêm MF como princípio tóxico (TOKARNIA; DÖBEREINER; PEIXOTO, 2000). A classificação dos ratos na classe IV (CHENOWETH; GILMAN, 1946) foi questionada (PEIXOTO et al., 2010), uma vez que os sinais clínicos considerados para agrupar os ratos nessa classe, foram observados no dia seguinte à administração do MF, em animais que sobreviveram (CHENOWETH; GILMAN, 1946) e, portanto, não deveriam ter sido tão valorizados. Além disso, foi apontado que, controversamente, Chenoweth e Gilman (1946) também descreveram sintomas iniciais caracterizados por tremores, alteração postural, hiperexcitabilidade e convulsões tônicas provocadas por estímulos mecânicos (PEIXOTO et al., 2010). De fato, estudos posteriores demonstraram que ratos intoxicados por MF apresentam típica sintomatologia nervosa, caracterizada, em especial, por frequentes

convulsões (FOSS, 1948; EGEKEZE; OEHME 1979; CUNHA, 2008;). Adicionalmente, observou-se que ratos e camundongos intoxicados por MF apresentavam sinais clínicos de origem nervosa idênticos aos manifestados por cobaias (FOSS, 1948). Convém lembrar que cobaias apresentam alterações nervosas semelhantes àquelas descritas em cães e, desta forma, são incluídos na categoria III, na qual a ação do MF é mais marcada sobre o SNC (CHENOWETH; GILMAN; 1946). Com base nestes fatos, foi recentemente proposto que ratos e hamsters deveriam ser incluídos na categoria III (PEIXOTO et al., 2010), o que, de fato, também pode ser constatado nesse estudo, uma vez que os ratos intoxicados por MF exibem evidentes sintomas nervosos.

Em relação à **evolução** da intoxicação, também foram observadas semelhanças entre os ratos que receberam folhas frescas de *P. marcgravii*, extratos concentrados das plantas utilizadas ou MF. Esses animais apresentaram, em geral, evolução superaguda, muito semelhante àquela descrita nos experimentos com *P. marcgravii* em bovinos (TOKARNIA; DÖBEREINER, 1986), ovinos (TOKARNIA; PEIXOTO; DÖBEREINER, 1986) e coelhos (PEIXOTO et al., 1987), bem como em intoxicações naturais e experimentais com as diversas outras plantas que causam “morte súbita” nas diferentes espécies animais (TOKARNIA; DÖBEREINER; PEIXOTO, 2000).

Embora a necropsia de animais intoxicados por MF não revele alterações macroscópicas específicas, o estabelecimento do *rigor mortis* é antecipado (GOH et al., 2005). Na literatura, entretanto, não existem relatos acerca dessa antecipação na marcha natural dos fenômenos cadavéricos, em animais intoxicados por PBCMS, uma vez que a necropsia é realizada, sempre que possível, imediatamente após a morte. Desta maneira, nunca foi dada atenção a esse detalhe. É provável que, nesses casos, o *rigor mortis* também seja precocemente estabelecido, em consequência da depleção dos níveis de ATP. De fato, nesse estudo observou-se que ratos intoxicados com extratos aquosos das folhas dessecadas de *P. marcgravii* e *M. exotropicalis* desenvolveram *rigor mortis*, em até 13 minutos, após a morte. Não obstante, devemos considerar que o quadro convulsivo manifestado pelos animais pode, em parte, estar relacionado à antecipação do estabelecimento do *rigor mortis*, devido ao aumento do consumo de ATP.

No presente estudo, verificaram-se em seis ratos leve a moderada tumefação citoplasmática dos túbulos uriníferos contornados distais e, por vezes, também nos túbulos coletores, mas somente em quatro ratos (dois intoxicados por *P. marcgravii*, um por *Pseudocalymma elegans* e outro por *M. exotropicalis*) havia a clássica degeneração hidrópico-vacuolar com picnose nuclear, ainda assim pouco marcada, lesão semelhante à descrita em 1959 por Döbereiner e Tokarnia no rim de bovinos intoxicados com doses únicas de *P. marcgravii* e, mais tarde observada também no rim de bovinos intoxicados natural e experimentalmente com todas as outras plantas brasileiras que causam “morte súbita” (TOKARNIA; DÖBEREINER; PEIXOTO, 2000; BARBOSA et al., 2003; OLIVEIRA et al., 2004; HELAYEL, 2008). Essa lesão foi apenas recentemente descrita no rim de ratos intoxicados por *P. marcgravii* (PINTO et al., 2008) e ainda não havia sido observada em ratos intoxicados por outras **PBCMS**. É interessante mencionar também que, a *degeneração hidrópico-vacuolar dos túbulos uriníferos contornados distais associada à picnose nuclear ainda não foi descrita como tal*, em ratos **intoxicados por MF**. De fato, a análise das fotomicrografias publicadas por Cater e Peters (1961), que estudaram as lesões renais induzidas pela inoculação intraperitoneal de fluorocitrato em ratos, permite a visualização de lesão semelhante à DHV, no entanto, essa lesão foi descrita como marcada “degeneração gordurosa” dos túbulos contornados (PEIXOTO et al., 2010).

É muito importante levar-se em consideração que, em ratos, a clássica degeneração hidrópico-vacuolar com picnose nuclear é mais rara e menos evidente, dada a picnose e a tumefação citoplasmática serem menos pronunciadas do que a observada em bovinos e ovinos

intoxicados por PBCMS ou MF. Além disso, em ratos, a autólise dos túbulos renais pode, em parte dos casos, ser microscopicamente semelhante à DHV incipiente, o que pode dar origem a interpretações equivocadas. O rato, contudo, não é um bom modelo experimental para o estudo dessa lesão renal.

Essa lesão diferencia-se das degenerações que ordinariamente ocorrem nas células epiteliais do rim pela acentuada tumefação citoplasmática associada à evidente picnose nuclear e por sua peculiar distribuição seletiva, quase exclusiva, aos túbulos uriníferos contornados distais, uma vez que só ocasionalmente afeta também os túbulos retos (TOKARNIA; DÖBEREINER, 1986).

Com base no mecanismo de ação do MF, acredita-se que compostos precursores de acetato (referidos como “doadores de acetato”), como a **acetamida**, sejam capazes de reduzir a inibição competitiva do MF pelo mesmo sítio ativo (Coenzima A) (PATTISON, 1959), como resultado, tais substâncias exerceriam efeito protetor nas intoxicações pelo MF, por impedirem ou reduzirem a ocorrência da chamada “síntese letal” (EGYED; SCHULTZ, 1986). De fato, a administração prévia de acetamida, aos ratos desse estudo, intoxicados com MF, bem como por folhas frescas de *P. marcgravii* ou com extratos concentrados de cada uma das PBCMS utilizadas (*P. marcgravii*, *P. juruana*, *A. bilabiata*, *M. rigida*, *M. pubiflora*, *M. exotropica*), demonstrou acentuado **efeito protetor**, uma vez que evitou, em todos os experimentos, tanto o aparecimento dos sinais clínicos, quanto a morte de todos os ratos intoxicados, com exceção dos animais que receberam extrato concentrado de *M. rigida* (rato 54) e *Pseudocalymma elegans* (rato 71).

Convém dizer que, o efeito protetor da acetamida já havia sido demonstrado em ratos intoxicados com extrato aquoso *P. marcgravii* e por MF, no entanto, neste caso, a acetamida foi administrada por via intraperitoneal (GÓRNIK; PALERMO-NETO; SPINOSA, 1994). Curiosamente, esses autores não mencionaram em suas conclusões que o MF seria o princípio tóxico determinante do óbito dos animais intoxicados por essa planta, embora tenham concordado com outros pesquisadores que já apontavam a presença desse composto nas folhas de *P. marcgravii*.

É importante mencionar que o efeito protetor da acetamida evidenciado em nosso estudo foi semelhante ao descrito inicialmente por Egyed e Schultz (1986), que avaliaram, pela primeira vez, a eficácia da administração de acetamida a cobaias e ovinos intoxicados experimentalmente por *Dichapetalum cymosum*, importante planta africana que contém MF.

Algumas considerações devem ser feitas em relação aos animais que, apesar de terem recebido acetamida, duas horas antes da intoxicação, com extratos concentrados de *M. rigida* nas doses de 46 g/kg (rato 57) ou 48 g/kg (ratos 54e 55) e de *Pseudocalymma elegans* na dose de 14 g/kg (rato 71), manifestaram sinais e/ou morreram (ratos 54 e 71). Em relação aos experimentos com *M. rigida*, esse achado pode, provavelmente, ser justificado, pelo menos em parte, ao fato do extrato concentrado dessa planta ter sido elaborado a partir de seus frutos, os quais são cerca de 20 vezes mais tóxicos do que suas folhas (TOKARNIA; DÖBEREINER; PEIXOTO, 2000), ou seja, muito mais tóxico do que os demais extratos das outras PBCMS utilizadas em nossos experimentos. Cabe ressaltar, ainda, que o rato que morreu (rato 54), recebeu 2,0 g/kg de acetamida, já os outros dois ratos (55 e 57), que manifestaram apenas sintomas leves e não morreram, receberam o dobro desta dose, ou seja, 4,0 g/kg de acetamida. Esse achado demonstra claramente que a eficácia da acetamida depende da dose administrada e da toxidez da planta em questão (EGYED; SCHULTZ, 1986). Também corrobora com está hipótese o resultado obtido nos experimentos com extratos concentrados de *P. elegans*, uma vez que o rato 71, que recebeu o extrato da planta na dose de 11 g/kg, porém o dobro da dose de acetamida (12 g/kg) não manifestou quaisquer sinais clínicos. É interessante mencionar que o mesmo rato (74), 13 dias depois foi intoxicado novamente com a mesma dose de *P. elegans*, porém sem acetamida e morreu.

No experimento realizado com o rato 23, que recebeu 4,0 g/kg de acetamida, duas horas após ser intoxicado com 4,0 g/kg de folhas frescas de *P. marcgravii* verificamos que, embora o rato tenha recebido uma dose letal da planta e manifestado sintomas graves de intoxicação, o tratamento com a acetamida foi capaz de evitar a morte do rato. Desta maneira, é evidente que a utilização de acetamida no tratamento de animais intoxicados por MF, em alguns casos específicos, como o que ocorreu em 2004 na Fundação Parque Zoológico de São Paulo, no qual pelo menos 73 animais morreram (ORTIS, 2005), deve ser realizado sempre que possível.

Antes da comparação do efeito protetor da acetamida nas intoxicações por PBCMS e MF demonstrada neste estudo, já havia evidências circunstanciais de que o MF seria a causa, ou pelo menos um dos compostos importantes na determinação da morte dos animais que ingerem PBCMS. De fato, recentemente demonstrou-se que o quadro clínico-patológico manifestado por bovinos (NOGUEIRA et al., 2010) e ovinos (PEIXOTO et al., 2010) intoxicados experimentalmente com MF corresponde, em diversos aspectos, ao observado em casos de intoxicação por PBCMS e, que, a típica DHV dos TCD associada à picnose nuclear, verificada no rim de bovinos intoxicados natural e experimentalmente com todas as PBCMS (TOKARNIA; DÖBEREINER; PEIXOTO, 2000, BARBOSA et al., 2003; OLIVEIRA et al., 2004; HELAYEL, 2008;) é uma lesão característica da intoxicação por MF em bovinos (NOGUEIRA et al., 2010) e ovinos (PEIXOTO et al., 2010). Além disso, diversas outras substâncias que já foram isoladas dessas plantas, em especial, de *P. marcgravii*, como alcaloides, saponinas, ácidos málico, palicúrico e mioctônico, salicilato de metila, cristais de oxalato de cálcio, tanoides, ácidos salicílico e o-metoxibenzóico, cafeína, alcalóides N-metiltiramina e 2-metiltetrahydro- β -carbolina (GAGNIN; GUIMARÃES, 1934; MELLO; FERNANDES, 1940; BARNES; GILBERT, 1960; CASCON; MORS, 1962; PECKOLT, 1868; MARAVALHAS, 1969; GÓRNIK, 1988; MORITA et al., 1989; KEMMERLING, 1996; COELHO et al., 2007;) não induzem o quadro clínico-patológico de “morte súbita” e, muito menos à DHV. Não obstante, outros autores são da opinião que o MF não seria o princípio determinante das mortes dos animais que ingerem essas plantas (HABERMEHL, 1986; GONZÁLEZ et al., 2000;) ou que haveria outros compostos que poderiam causar a morte dos animais (GUIMARÃES, 1934; HOEHNE, 1939; MELLO; FERNANDES, 1940; PECKOLT, 1868; CORRÊA, 1969; GÓRNIK et al., 1986;), ter efeito sinérgico com o MF (KEMMERLING, 1996) ou ainda contribuir para a toxicidade da planta (GÓRNIK, 1988; COELHO et al., 2007).

Embora Tokarnia e colaboradores acreditem que o MF também seja o princípio tóxico das outras PBCMS (PEIXOTO et al., 2010), ainda não haviam sido desenvolvidos, até hoje, estudos com a finalidade de detectar a possível presença do MF em muitas PBCMS ou de demonstrar que esse composto é o princípio tóxico dessas plantas. O presente estudo, no entanto, demonstra, pela primeira vez, que a administração de acetamida é capaz de prevenir os sinais clínicos e evitar a morte de ratos intoxicados por *Palicourea juruana*, *Pseudocalymma elegans*, *Arrabidaea bilabiata*, *Mascagnia rigida*, *M. pubiflora* e *M. exotropa* e confirma os dados, anteriormente descritos, referentes ao efeito protetor da acetamida na intoxicação por MF e *Palicourea marcgravii* em ratos, o que *comprova, de forma prática, que esse composto é o princípio tóxico determinante da morte dos animais intoxicados pelas PBCMS*. Tal comprovação fornece subsídio para o desenvolvimento no Brasil de estudos genéticos que envolvam a metabolização do MF por bactérias ruminais, semelhantes aos que têm sido realizados na Austrália (GREGG et al., 1998). A implementação dessa tecnologia no rebanho bovino brasileiro seria uma técnica profilática viável contra a intoxicação por plantas que contêm o MF como princípio ativo, que são incriminadas por milhares de mortes de bovinos adultos todos os anos.

6 CONCLUSÕES

- O quadro clínico-patológico evidenciado em ratos intoxicados experimentalmente por MF e por algumas plantas que causam morte súbita foi essencialmente o mesmo.
- A acetamida conferiu efeito protetor ao óbito induzido pelo MF e pelas PBCMS testadas, de forma que o MF deve ser considerado o princípio tóxico responsável pela morte dos animais intoxicados pelas PBCMS.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADESP. **Associação de Empresas Controladoras de Pragas do Estado**. 2007. Disponível em: <<http://www.adesp.org.br>>. Acesso em: 07 jul. 2007.

ALLENDER, W.J. Determination of sodium fluoroacetate (compound 1080) in biological tissues. **Journal of Analytical Toxicology**., v. 14, p. 45-49, 1990.

ANNISON, E.F. et al. Fluoroacetate poisoning in sheep. **Journal of Compared Pathology**, v.70, p. 145-155, 1960.

APTEKMAN, K. P. et al. Estudo retrospectivo de felinos intoxicados por monofluoroacetato de sódio. In: MOSTRA CIENTÍFICA DA FMVZ-UNESP, 7. 2003, Botucatu. **Anais..., Botucatu**. Botucatu: FMVZ-UNESP, v. 7. p. 58-58, 2003.

ATZERT, S.P. A review of sodium monofluoroacetate its properties, toxicology and use in predator and rodent control. **Special Scientific Report on Wildlife**, v. 146, 1971.

BALCOMB, R.,C.A.; BOWEN II, H.O.; WILLIAMSON, A. Acute and sublethal effects of 1080 on starlings. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 31, p. 692-698, 1983.

BARBOSA, J. D. et al. Comparação da sensibilidade de bovinos e búfalos à intoxicação por *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Seropédica, v. 23, n. 4, p. 167-172, 2003.

BARBASH, J.E.; RESEK, E.A. **Pesticides in ground water: Distribution, trends, and governing factors**. Ann Arbor Press, Chelsea, MI. 588p, 1996.

BARNES, R.A.; GILBERT, M.E.A. Investigação química preliminar de várias plantas brasileiras: Presença de alcalóides, saponinas e outras substâncias. **Boletim do Instituto de Química Agrícola**, Rio de Janeiro, v. 58, p. 9-26, 1960.

BARTLETT, G.R.; BARRON, E.S.G. The effect of fluoroacetate on enzymes and on tissue metabolism. Its use for the study of the oxidative pathway of pyruvate metabolism. **Journal Biological Chemical**, n.170, p. 67-82, 1947.

BATATINHA, M.J.; DE-SOUZA-SPINOSA, H.; BERNARDI, M.M. Toxic effects of *Mascagnia rigida* in laboratory animals. **Veterinary Human Toxicology**, v. 30, n. 3, p. 259, 1988.

BLANCO, J.M. et al. Species variation in osmotic, cryoprotectant, and cooling rate tolerance in poultry, eagle, and peregrine falcon spermatozoa. **Biology of Reproduction**. v. 63, n. 4, p. 1164-71, 2000.

BLACK, S.; HUTCHENS, J.O. The oxidation of acetate by yeast in the presence of fluoroacetate. **Archives Biochemistry**, n.17, p.211-223, 1948.

BRANCO, P.M.; CHAVES, M.L.S.C. A Mineralogia e alguns de seus minerais raros ou de gênese exótica. **Terra e Didática**,v. 2, n. 1, p. 75-85, 2006.

CAMARGO, W. A. Uma nova “erva-de-rato” tóxica para bovinos *Palicourea barbiflora*; comparação com a *Palicourea marcgravii* var. *pubescens* e com *Psychotria officinalis*, Rubiaceae. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 29, p. 1-11, 1962.

CASCON, C.S.; MORS, W.B. Substâncias isoladas da *Palicourea marcgravii* St. Hil: Uma nova síntese da N-metil-tiramina. **Anais da Associação Brasileira de Química** v. 21, p. 53-60, 1962.

CATER D.B.; PETERS R.A. The occurrence of renal changes, resembling nephrosis, in rats poisoned with fluorocitrate. **British Journal of Experimental Pathology**, n. 42, p. 78-289, 1961.

CHENOWETH, M.B. Monofluoroacetic acid and related compounds. **Pharmacological Reviews**, v. 1, p. 383-424, 1949.

CHENOWETH, M.B. et al. Factors influencing fluoroacetate poisoning. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutic**, v. 102, p.31-49, 1951.

CHENOWETH, M.B.; GILMAN, A. Studies on the pharmacology of fluoroacetate. 1 - Species response to fluoroacetate. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutic**, v. 87, p. 90-103, 1946.

CHENOWETH, M.B.; JOHN, E.F.S. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutic**, v. 90, p. 76, 1947.

CHI, C.H. et al. Clinical presentation and prognostic factors in sodium monofluoroacetate intoxication. **Clinical Toxicology**, v. 34, p. 707-712, 1996.

CHI, C.H.; LIN, T.K.; CHEN, K.W. Hemodynamic abnormalities in sodium monofluoroacetate intoxication. **Human and Experimental Toxicology**, v. 18, p. 351-353, 1999.

CHURCHILL, R.; CORKHILL, C.; RICHARD, M. **1.080 poisoning in dogs**. 2007. Disponível em: <<http://www.theveterinarian.com.au/features/article685.asp>>. Acesso em: 05 Jul. 2007.

CLARKE, D.D. Fluoroacetate and fluorocitrate: Mechanism of action. **Neurochemistry Research**, v. 16, n. 9, p. 1055-1058, 1991.

COELHO, E.G. et al. Calcium oxalate crystals and methyl salicylate as toxic principles of the fresh leaves from *Palicourea longiflora*, an endemic species in the Amazon state. **Toxicon**, v. 49, p. 407-409, 2007.

COLLICCHIO, R.C. **Intoxicação por fluoroacetato de sódio: avaliações clínica, hemogasométrica, eletrocardiográfica e da eficácia do gluconato de cálcio e succinato de sódio como protocolo terapêutico**. 2002. 133p. Dissertação (Mestrado em Clínica Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista Botucatu, 2002.

COLLICCHIO-ZUANAZE, R.C. et al. Calcium gluconate and sodium succinate for therapy of sodium fluoroacetate experimental intoxication in cats: clinical and electrocardiographic evaluation. **Human and Experimental Toxicology**, v. 25, n. 4, p. 175-182, 2006.

CONSORTE, L. B.; PEIXOTO, P. V.; TOKARNIA, C. H. Intoxicação experimental por *Pseudocalymma elegans* (bignoniaceae) em ovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Seropédica, v. 14, n. 4, p. 123-133, 1994.

COOK, C.J. et al. Development of antidotes for sodium monofluoroacetate (1080). **Biomarkers**, v. 6, n. 1, p. 72-76, 2001.

CORRÊA, P.M. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. IBDF, Rio de Janeiro, 1969.765p.

CORTES, P.R. Una etiologia de la borrachera del llano. **Revista Ganagrínco**, Caracas, v. 4, n. 18, 1969/71. Paginação irregular.

COSTA, M. V. et al. Lesões em bovinos intoxicados por *Palicourea marcgravii* St, Hil. **Arquivos Brasileiros Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 36, n. 5, p. 571-580, 1984.

CUNHA, L.C. et al. 2006. *Palicourea marcgravii* e *Mascagnia rigida*: um estudo por cromatografia em camada delgada (CCD). In: SIMPÓSIO DE PÓS-GRADUAÇÃO, 2., E SEMANA CIENTÍFICA PROF. DR. BENJAMIN EURICO MALUCELLI, 15. 2006, São Paulo. **Anais...** São Paulo, 2006, CD-ROM.

CUNHA, L.C. **Avaliação dos efeitos tóxicos de Mascagnia rigida em ratos. Estudo anatomopatológico. Comparação entre metodologias cromatográficas para detecção do fluoroacetato de sódio**. 2008. 101 p. Dissertação (Mestrado em Patologia Experimental e Comparada), Universidade de São Paulo, 2008.

DE PAULA, L.F. **Intoxicação por fluoroacetato em cães: avaliação clínica e eletroencefalográfica do tratamento com monoacetato de triglicerol e gluconato de cálcio**. 2000. 106p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista.

DÖBEREINER, J. et al. Intoxicação experimental por *Mascagnia pubiflora* (Malpighiaceae) em coelhos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Seropédica, v. 6, n. 2, p. 51-57, 1986.

DÖBEREINER, J.; PEIXOTO, P. V.; TOKARNIA, C. H. Intoxicação experimental por *Arrabidaea bilabiata* (Bignoniaceae) em coelhos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Seropédica, v. 4, n. 3, p. 89-96, 1984.

DÖBEREINER, J.; TOKARNIA, C.H. Intoxicação de bovinos pela “erva-de-rato” (*Palicourea marcgravii* St. Hil.) no vale do Itapicuru, Maranhão. **Arquivos do Instituto de Biologia Animal**, Rio de Janeiro, v. 2, p. 83-91, 1959.

DÖBEREINER, J.; TOKARNIA, C. H. Intoxicação experimental por *Arrabidaea japurensis* (Bignoniaceae) em coelhos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Seropédica, v. 3, n. 3, p. 95-97, 1983.

DÖBEREINER, J.; TOKARNIA, C.H.; SILVA, M.F. Intoxicação por *Arrabidaea bilabiata* (Bignoniaceae) em bovinos na Região Amazônica do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Seropédica, v. 3, n. 1, p. 17-24, 1983.

EASON, C.T. et al. Persistence of sodium monofluoroacetate in livestock animals and risk to humans. **Human and Experimental Toxicology**, v. 13, p. 119-122, 1994.

EASON, C.T.; TURCK, P. 90-Day Toxicological Evaluation of Compound 1080 (Sodium Monofluoroacetate) in Sprague-Dawley Rats. **Toxicological Sciences**, v. 69, n. 2, p. 439-447, 2002.

EASON, C. Sodium monofluoroacetate (1080) risk assessment and risk communication. **Toxicology**, v. 27, p. 181-182, 523-530, 2002.

ECKSCHMIDT, M. et al. Is monofluoroacetic acid the active neurotoxic principle in *Palicourea marcgravii*. St. Hill, leaves? **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 22, n. 8, p. 975-977, 1989.

EGEKEZE, J.O.; OEHME, F.W. Inorganic and organic fluoride concentrations in tissues after the oral administration of sodium monofluoroacetate (compound 1080) to rats. **Toxicology**, v.15, p. 43-53, 1979.

EGYED, M.N.; SCHULTZ, R.A. The efficacy of acetamide for the treatment of experimental *Dichapetalum cymosum* (Gifblaar) poisoning in sheep. **Onderstepoort Journal of Veterinary Research**, v. 54, p. 231-234, 1986.

EISLER, R. Sodium monofluoroacetate (1080) hazards to fish, wildlife, and invertebrates: a synoptic review. **Contaminant Hazard Reviews**, v. 30, 1995.

ESTRADA, C. et al. Efecto bactericida de la acetamida furánica bromada frente a cepas salvajes de *Pasteurella multocida* in vitro. **Revista electrónica de Veterinaria**, v. 8, n. 10, p.1695-7504, 2007.

FERNANDES, N.S.; MACRUZ, R. Toxicidade da “corona” *Mascagnia pubiflora* (Juss) Griseb. Malpighiaceae em coelhos. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 31, n. 1, p. 1-4, 1964.

FLAKS, B. et al. An electron microscopy study of hepatocellular changes in the rat during chronic treatment with acetamide. Parenchyma, foci and neoplasm. **Carcinogenesis**, v. 4, n. 9, p. 1117-1125, 1983.

FOSS, G.L. The toxicology and pharmacology of methyl fluoroacetate (MFA) in animals, with some notes on experimental therapy. **Brazilian Journal of Pharmacology**, v. 3, p. 118-127, 1948.

GAGNIN, M.A.H.; MARAVALHAS, N. Ocorrência de alcalóides no gênero *Palicourea*. **Anais do 20º Congresso Nacional de Botânica**, Goiânia, 1969. p. 91-105.

GAMMIE, J. Sodium fluoroacetate poisoning in a cat. **Canadian Veterinary Journal**, v. 21, p. 64, 1980.

GONZÁLES, P.J.A.; GÓNGORA R., A.; CORTÉS, P.; RODRÍGUEZ, M.C. Intoxicación por fluoracetato de sodio. Reporte de caso. *Acta Colombiana de Cuidado Intensivo*, v. 8, n. 4, p. 357-362, 2008.

GAVA, A. et al Intoxicação cianogênica em bovinos alimentados com Tifton (*Cynodon sp.*). VIII CAMEV, 8., 1998, Lages. **Resumo...** Lages:[s. n.], 1998.

GITTER, S. The influence of acetamide on citrate accumulation after fluoroacetate poisoning. **Biochemical Journal**, n. 63, p. 182–187, 1956.

GITTER, S.; BLANK, I.; BERGMANN, E.D. **Proceedings of the Koninklijke akademie van wetenschappen Amsterdam** (Series C), n.56, p.427, 1953.

GODOY, H.M.; CARMEN, V.M. Myocardial adenine nucleotides, hexose phosphates and inorganic phosphate, and the regulation of phosphofructokinase activity during fluoroacetate poisoning in the rat. **Biochemistry Pharmacology**, Oxford, v. 23, p. 3179-3189, 1974.

GOH, C.S.S. et al Sodium monofluoroacetate (Compound 1080) poisoning in dogs. **Australian Veterinary Journal**, v. 83, n. 8, p. 474-479, 2005.

GOLDMAN, P. The Enzymatic Cleavage of the Carbon-Fluorine Bond in Fluoroacetate. **The Journal Of Biological Chemistry**, v. 240, n. 8, p. 3434-3438, 1965.

GOLDMAN, P.; MILNE, G.W.A.; KEISTER, D.B. Carbon-Halogen Bond Cleavage. **The Journal Of Biological Chemistry**, v. 243, n. 2, p. 428-433, 1968.

GONCHAROV, N.V.; JENKINS, R.O.; RADILOV, A.S. Toxicology of fluoroacetate: a review, with possible directions for therapy research. **Journal of Applied toxicology**, n. 26, p. 148–161, 2006.

GONZÁLEZ, B. et al. Chemical composition and biological activity of extracts from *Arrabidaea bilabiata*. **Pharmaceutical Biology**, v. 38, n. 4, p. 287-290, 2000.

GONZÁLES, P.J.A. et al. Intoxicación por fluoracetato de sodio. Reporte de caso. **Acta Colombiana de Cuidado Intensivo**, v. 8, n. 4, p. 357-362, 2008.

GÓRNIAK, S.L. et al. Chromatographic Isolation of caffeine from *Palicourea marcgravii*. **Veterinary and Human Toxicology**, v. 28, n. 6, p. 542, 1986.

GÓRNIAK, S.L. **Intoxicação por *Palicourea marcgravii*: Uma abordagem experimental**. 1988, 99f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, USP, São Paulo, 1988.

GÓRNIAK, S.L.; PALERMO-NETO, J.; SPINOSA, H.S. Effects of *Palicourea Marcgravii* on laboratory rodents. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 25, n. 2, p. 221-226, 1989.

GÓRNIAK, S.L.; PALERMO-NETO, J.; SPINOSA, H.S. Effects of acetamide on experimentally-induced *Palicourea marcgravii* (St. Hil.) poisoning in rats. **Veterinary and Human Toxicology**, v. 36, n. 2, p. 101-102, 1994.

GOONERATNE, S.R. et al. Persistence of sodium monofluoroacetate in rabbits and risk to non-target species. **Human and Experimental Toxicology**, v.14, p. 212-216, 1995.

GRANT, W.M. **Toxicology of the eye**. 3. ed. Springfield: C. C. Thomas, 1986. 439 p.

GUIMARÃES, C.C. Herva de rato. **Vida Médica**, Rio de Janeiro, v.2, p. 324-333, 1934.

HABERMEHL G. 1986. Comunicação pessoal apud GÓRNIAK, S.L. et al. Chromatographic Isolation of caffeine from *Palicourea marcgravii*. **Veterinary and Human Toxicology**, v. 28, n. 6, p. 542, 1986.

HAYES, W.J.; LAWS, E.R. **Handbook of Pesticide Toxicology**. [S. l.]: Academic. 1991. 3v.

HAYES F.D.; SHORT, R.D.; GIBSON J.E. Differential toxicity of monochloroacetate, monofluoroacetate and monoiodoacetate in rats. **Toxicology Applied Pharmacology**, v. 26, n. 1, p. 93–102, 1973.

HELAYEL, M.A. **Morte súbita em bovinos causada pela ingestão de *Pseudocalymma elegans* (Bignoniaceae) no município de Rio Bonito, RJ**. Rio de Janeiro, 2008. 91p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2008.

HEYWARD, R.P.; NORBURY, G.L. Secondary poisoning of ferrets and cats after 1080 rabbit poisoning. **Wildlife Research**, v. 25, p. 75-80, 1998.

HOEHNE, F.C. Plantas tóxicas e suspeitas da Flora Brasílica: *Palicourea marcgravii* St. Hil. (*Psychotria marcgravii* Spreng.) herba de rato verdadeira. **Revista Indústria Animal**, São Paulo, v. 2, n. 8, p. 873-881, 1932.

HOEHNE, F.C. **Plantas e Substâncias Vegetais Tóxicas e Mediciniais**. Graphicars, São Paulo, 1939. 356p.

HOLLIS, J.M. et al. Detection of acetamide (CH₃CONH₂): the largest interstellar molecule with a peptide bond. **The Astrophysical Journal**, v. 643, n. 1, p. 25–28, 2006.

HOLSTEGE, C.P. et al. Unusual but potential agents of terrorists. **Emergency Medicine Clinics of North American**, v. 25, n.2, p. 549-556, 2007.

HOPPER, S. D. Poison peas: deadly protectors. **Landscape**, v. 6, n. 4, p. 45-50, 1991.

HUANG, T.Y.; PANG, X.Q.; CHANG, H.L. Prophylactic effect of reserpine in cardiac failure caused by monofluoroacetic acid derivatives. **Acta of Pharmacology and Toxicology**, v. 47, p.78-80, 1980.

HUGGHINS, E.J.; CASPER, H.H.; WARD, C.D. Tissue fluoroacetate residues in prairie dogs dosed with low-level sodium monofluoroacetate. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, v.7 1, p. 579-581, 1988.

HUTCHENS, J.O.; WAGNER, H.; PODOLSKY, B. The effect of ethanol and various metabolites on fluoroacetate poisoning. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutic**, v. 95, p. 62-70, 1949.

JABOUR, F.F. et al. Variação da toxidez de *Arrabidaea bilabiata* (Bignoniaceae) Em resposta a: coelhos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Seropédica, v. 26, n. 3, p. 171-176, 2006.

KAWASAKI, H.; TONE, N.; TONOMURA, K. Plasmid-determined Dehalogenation of Haloacetates in *Moraxella* species. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 45, n. 1, 29-34, 1981.

KELLY, M. Isolation of bacteria able to metabolise fluoroacetate or fluoroacetamide. **Nature**, n. 208, p. 809-810, 1965.

KING, D.R.; OLIVER, A.J.; MEAD, R.J. The Adaptation of some Western Australian Mammals to Food Plants Containing Fluoroacetate. **Australian Journal of Zoology**, v. 26, n. 4, 699-712, 1978.

KELLERMAN, T.S. et al. **Plant Poisonings and Mycotoxicoses**. Oxford University Press, Cape Town, RSA, 2005. 310 p.

KEMMERLING, W. Toxicity of *Palicourea marcgravii*: combined effects of fluoroacetate, Nmethyltyramine and 2-methyltetrahydro-beta-carboline. **Journal of Bioscience**, v. 51, p. 59-64, 1996.

KREBS, H.C.; KEMMERLING, W.; HABERMEHL, G. Qualitative and quantitative determination of fluoroacetic acid in *Arrabidea bilabiata* and *Palicourea marcgravii* by F-NMR spectroscopy. **Toxicon**, v. 32, p. 909-913, 1994.

LEFEBVRE, P.W. et al. Developmental status of N-(3-chloro-4-methylphenyl). Acetamide as a candidate blackbird/starling roost toxicant. Wildlife **Damage Management**, Internet center for bird control seminars proceedings, University of Nebraska – Lincoln, v. 8, p. 65-68, 1979.

LIEN, B.C.; COLE, A.L.J.; WALKER, J.R.L. Effect of sodium fluoroacetate ("Compound 1080") on the soil microflora. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 11, p. 13-18, 1979.

LIU, D.; ZHANG, L. Structure and Properties of Soy Protein Plastics Plasticized with Acetamide. **Macromolecular Materials and Engineering**, n. 291, p. 820-828, 2006.

MARAIS, S.T. Monofluoroacetic acid, the toxic principle of "Gifblaar" *Dichapetalum cymosum* (Hook). **Onderstepoort Journal of Veterinary Science Animal and Industry**, v. 20, p. 67-73, 1944.

McILROY, J.C. The sensitivity of Australian animals to 1080 poison. IV. Native and introduced rodents. **Australian Wildlife Research**, v .9, p. 505-517, 1982.

McILROY, J.C. The sensitivity of Australian animals to 1080 poison. VII. Native and introduced birds. **Australian Wildlife Research**, v.11, p.373-385, 1984.

McILROY, J.C. The effect on Australian animals of 1080-poisoning campaigns. In: VERTEBRATE PEST CONFERENCE, 15., 1992. **Proceedings...** University of Nebraska: Lincon, 1992. p.355-359.

McTAGGART, D.R. Poisoning due to sodium fluoroacetate ("1080"). **The Medical Journal of Australia**, v. 2, p. 641-642, 1970.

MEDEIROS, R.M.T. et al. Sudden death caused by *Mascagnia rigida* in cattle in Paraíba, Northeastern Brazil. **Veterinary Human Toxicology**, v. 44, n.5,p. 286-288, 2002.

MEHLMAN, M.A. Inhibition of pyruvate carboxylation by fluorocitrate in rat kidney mitochondria. **The Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 243, n. 8, p. 1919-1925, 1968.

MELLO, E.M.M.; FERNANDES, J.S. **Contribuição ao estudo de plantas tóxicas brasileiras**. Serviço de Informação Agrícola, Ministério da Agricultura, Rio de Janeiro, 1940. 50p.

MEYER, J.J.M., GROBBELAAR, N., STEYN, P.L. Fluoroacetate-Metabolizing Pseudomonad Isolated from *Dichapetalum cymosum*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 56, n. 7, p. 2152-2155, 1990.

MORAES, R.L. **Comprovação química e biológica da presença de monofluoroacetato nas folhas de *Palicourea marcgravii* St. Hil.** 1993. 83 p. Tese (Doutorado em Toxicologia), Universidade de São Paulo, 1993.

MORITA, H. et al. A new alkaloid glycoside from the leaves of *Palicourea marcgravii*. **Plantas Medicinai**s, v. 55, n.3, p:288-289, 1989.

NEVES, P.C.P.; CORRÊA, D.S.; CARDOSO, J.R. A classe mineralógica das combinações orgânicas associadas ao hidrogênio. **Terra e Didática**, v.4, n.1, p.51-66, 2008.

NOGUEIRA, V.A. et al. Intoxicação experimental por monofluoroacetato de sódio em bovinos: aspectos clínicos e patológicos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Seropédica, v. 30, n. 7, p. 533-540, jan./jul. 2010.

NORRIS, W.R. et al. Sorption of fluoroacetate (compound 1.080) by colestipol, activated charcoal, and anion-exchange resins in vitro and gastrointestinal decontamination in rats. **Veterinary and Human Toxicology**, Manhattan, v. 42, n. 5, p. 269-275, Sep. 2000.

NOTMAN, P. A review of invertebrate poisoning by compound 1080. **New Zealand Entomologist**, v. 12, p. 67-71, 1989.

NOVÁK, L., MISUSTOVÁ, J., HOSEK, B. Course of respiratory exchange and body temperature in mice after repeated administration of fluoracetate: an indicator of aconitase activity *in vivo*. **Physiology Bohemoslov**, v. 21, p. 53-61, 1972.

OBERHOFER, T.R. et al. Acetamide Agar for Differentiation of Nonfermentative Bacteria. **Applied Environmental Microbiology**, v. 28, n. 4, p. 720-721, 1974.

O'HAGAN, B.J. Fluoroacetate poisoning in seven domestic dogs. **Australian Veterinary Journal**, v. 82, p.756-758, 2004.

OLIVEIRA, M.M. Chromatographic isolation of monofluoroacetic acid from *Palicourea marcgravii*, St. Hill. **Experientia**, v. 19, p. 586, 1963.

OLIVEIRA, C.M.C. et al. Estudo comparativo da toxidez de *Palicourea juruana* (Rubiaceae) para búfalos e bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Seropédica, v. 24, n. 1, p. 27-30, 2004.

OLIVER, A.J.; KING, D.R.; MEAD, R.J. Fluoroacetate tolerance, a genetic marker in some Australian mammals. **Australian Journal of Zoology**, v. 27, p. 362-72, 1979.

OMARA, F., SISODIA, C.S. Evaluation of potential antidotes for sodium fluoroacetate in mice. **Veterinary and Human Toxicology**, v. 32, p. 427-429, 1990.

ORTIS, M. **Comissão externa destinada a acompanhar as investigações sobre o envenenamento de animais ocorrido na Fundação Zoológico de São Paulo (envenenamento no Zoológico de São Paulo)**. 2005. Disponível em: <www.camara.gov.br/sileg/integras/292702.pdf>. Acesso em: 29 abr. 2008.

PACHECO, G.; CARNEIRO, V. Estudos experimentais sobre plantas tóxicas. I. Intoxicação dos animais pela “erva-de-rato da mata”. **Revista Sociedade Paulista Medicina Veterinária**, São Paulo, v. 2, n. 2/3, p. 23-46, 1932.

PADMANABHA, J. et al. Protection of cattle from fluoroacetate poisoning by genetically modified ruminal bacteria. **Animal Production in Australia**, v. 25, p. 293, 2004.

PALMATEER, S. D. Status of strychnine, compound 1080, and registered alternatives. In: **Ninth Great Plains Wildlife Damage Control Workshop proceedings**. U.S. Department of Agriculture Forest Service General Technical Report RM-171, 1989. p.14-16.

PALMATEER, S. D. Registration status of vertebrate pesticides with emphasis on 1080 and strychnine. In: DAVIS, L.R.; MARSH, R.E. **Proceedings 14th Vertebrate Pest Conference**, University of California, Davis, 1990. p. 113-115.

PARAGUASSU, A.A. **Intoxicação experimental por *Mascagnia rigida* Grisebach (Malpighiaceae) em caprinos no Nordeste do Brasil**. 1983. 65f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Itaguaí, 1983.

PATTISON, F.L. **Toxic Aliphatic Fluorine Compounds**. Elsevier Publishing, London, 1959. 227p.

PEACOCK, E.A. Sodium monofluoroacetate (compound 1080). **U.S. Bureau of Sport Fisheries and Wildlife, Division of Predator and Rodent Control**, Circular Letter dated 1 July 1964, Mimeographed. 26 p.

PECKOLT, T., 1868. apud GUIMARÃES, C.C. Herva de rato. **Vida Médica**, Rio de Janeiro, v.2, p. 324-333, 1934.

PEIXOTO, P. V.; DOBEREIBER, J.; TOKARNIA, C.H.; PEIXOTO, C.S.. Intoxicação experimental por *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae) em coelhos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Seropédica, v. 7, n. 4, p. 117-129, jul./set. 1987.

PEIXOTO, T.C. et al. Aspectos clínico-patológicos e laboratoriais da intoxicação experimental por monofluoroacetato de sódio em ovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Seropédica, v. 30, n. 12, p. 1021-1030, dez. 2010.

PEREIRA, Z.V.; MEIRA, R.M.S.A.; AZEVEDO, A.A. Morfoanatomia foliar de *Palicourea longepedunculata* Gardiner (Rubiaceae). **Revista Árvore**, v. 17, n. 6, p. 759-767, 2003.

PETERS, R.A.; MORSELLI, P.L. Observations on the use and action of monoacetin in fluoroacetate poisoning. **Biochemical Pharmacology**, v. 14, p. 1891-1893, 1965.

PINTO L.F. et al. Effects of high diluted solutions of *Palicourea marcgravii* St. Hil. in rats poisoned by aqueous extracts of this plant. **International Journal of High Dilution Research**, v.7, n. 25, p. 193-198, 2008.

PROUDFOOT, A.T.; BRADBERRY, S.M.; VALE, A. Sodium fluoroacetate poisoning. **Toxicological Review**, v. 25, n. 4, p. 213-219, 2006.

PUTCHA, L.; GRIFFITH, D.P.; FELDMAN, S. Disposition of ¹⁴C-acetohydroxamic acid and ¹⁴C-acetamide in the rat. **Drug Metabolism Disposition**, v.12, n.4, p.438-443,1984.

QUIN, J.I.; CLARK, R. Studies on the action of potassium monofluoroacetate (CH₂FCOOK) [*Dichapetalum cymosum* (Hook) Engl.] toxin on animals. **Onderstepoort Journal of Veterinary Science Animal**, v. 22, p. 77-82, 1947.

RAMMELL, C.G.; HOOGENBOOM, J.J.L.; JULIAN, R. Treatment of 1080 poisoning in dogs with glycerol monoacetate, **New Zealand Veterinary Journal**, v.33, p. 149-150, 1985.

REIGART, J.R.; BRUEGGEMAN, J.L.; KEIL, J.E. Sodium fluoroacetate poisoning. **American Journal of Disease Children**, v. 129, p. 1224-1226, 1975.

ROBISON, W. H. Acute toxicity of sodium monofluoroacetate to cattle. **Journal of Wildlife Management**, v. 34, p. 647-648, 1970.

ROBINSON, R.F. et al. Intoxication with sodium monofluoroacetate (compound 1080). **Veterinary and Human Toxicology**, v. 44, p. 93-95, 2002.

ROKITA, S. E.; WALSH, C. Turnover and inactivation of bacterial citrate lyase with 2-fluorocitrate and 2-hydroxycitrate stereoisomers. **Biochemistry**, Washington, v. 22, n. 12, p. 2821-2828, 1983.

SANTOS, F.C.C.; FISCHER, P.; JARDIM, E. C. Intoxicação experimental em bovinos por “timbó”, *Mascagnia pubiflora*. **Anais da Escola de Agronomia e Veterinária, Universidade Federal de Goiás**, Goiânia, v. 6, n. 1, p. 97-103, 1976.

SANTOS, H.L. Aspectos clínicos, laboratoriais e anatomo-histopatológicos na intoxicação experimental de bovinos pela *Mascagnia rigida* Gr. **Arquivos da Escola Superior de Veterinária**, UFMG, Belo Horizonte, v. 27, n. 3, p. 398-399, 1975

SCHULTZ, R.A. et al. Observations on the clinical, cardiac and histopathological effects of fluoracetate in sheep. **Onderstepoort Journal of Veterinary Research**, v. 49, p.237-245, 1982.

SPALDING, R.F. et al. Herbicides in Ground Water beneath Nebraska's Management Systems Evaluation Area. Water Center, The Faculty Publications from the Water Center. University of Nebraska - Lincoln Year, p. 92-99, 2003.

STAFFORD, O.F. Acetamide as a Solvent. **Journal of the American Chemical Society**, v. 55, n. 10, pp 3987–3988, 1933.

TAVARES, M.I.; REZENDE, A.M.L.; DÖBEREINER, J. Intoxicação experimental por *Pseudocalymma elegans* em coelhos e cobaias. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 9, p. 91-94, 1974.

TOKARNIA, C. H.; CANELLA, C. F. C.; DÖBEREINER, J. Intoxicação por um “tingui” (*Mascagnia rigida* Griseb.) em bovinos no Nordeste do Brasil. **Arquivos do Instituto de Biologia Animal**, Rio de Janeiro, v. 4, p. 203-215, 1960.

TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J. Intoxicação por *Mascagnia pubiflora* em bovinos no Estado do Mato Grosso. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 8, p. 61-68, 1973.

TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J. Intoxicação experimental por *Palicourea juruana* (Rubiaceae) em bovinos e coelhos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Seropédica, v. 2, n. 1, p. 17-20, 1982.

TOKARNIA, C.H.; DÖBEREINER, J. Intoxicação por *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae) em bovinos no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Seropédica, v. 6, n. 3, p. 73-78, 1986.

TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J.; PEIXOTO, P. V. Intoxicação experimental por *Mascagnia* aff. *rigida* (Malpighiaceae) em bovinos no Norte do Espírito Santo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Seropédica, v. 5, n. 3, p. 77-91, 1985.

TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J.; PEIXOTO, P. V. Aspectos clínicos-patológicos complementares das intoxicações por algumas plantas tóxicas brasileiras. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Seropédica, v. 14, n. 4, p. 111-122, 1994.

TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J.; PEIXOTO, P. V. **Plantas Tóxicas do Brasil**. Rio de Janeiro: Helianthus, 2000. 310 p.

TOKARNIA, C. H. et al. Intoxicação experimental por *Pseudocalymma elegans* (Vell. Kuhl) em bovinos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 4, p. 195-204, 1969.

TOKARNIA, C. H. et al. Intoxicação experimental por *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae) em equinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Seropédica, v. 13, n. 3/4, p. 67-72, 1993.

TOKARNIA, C. H. et al. Intoxicação experimental por *Pseudocalymma elegans* (Bignoniaceae) em equinos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 15, n. 1, p. 35-39, 1995.

TOKARNIA, C. H.; PEIXOTO, P. V.; DÖBEREINER, J. Intoxicação experimental por *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae) em ovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Seropédica, v. 6, n. 4, p. 121-131, 1986.

TOKARNIA, C. H.; PEIXOTO, P. V.; DÖBEREINER, J. Intoxicação experimental por *Pseudocalymma elegans* (bignoniaceae) em caprinos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 13, n. 1/2, p. 35-39, 1993.

TOKARNIA, C.H., COSTA, E.R., BARBOSA, J.D., ARMIEN, A.G., PEIXOTO, P.V. Intoxicação experimental por *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae) em equinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Seropédica, v. 13, p. 67-72, 1993.

TOKARNIA, C. H.; PEIXOTO, P. V.; DÖBEREINER, J. Intoxicação experimental por *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae) em caprinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Seropédica, v. 11, n. 3/4, p. 65-70, 1991.

TONOMURA, K. et al. Defluorination of monofluoroacetate by bacteria. Isolation of bacteria and their activity of defluorination. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 29, 124-128, 1965.

TOURTELLOTTE, W.W.; COON, J.M. Treatment of fluoroacetate poisoning in mice and dogs. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 101, n.1, p. 82-91, 1951.

TWIGG, L.E.; SOCHA, L.V. Defluorination of sodium monofluoroacetate by soil microorganisms from central Australia. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 33, n. 2, 2001.

VASCONCELOS, J.S. et al. Intoxicação por *Mascagnia rigida* (Malpighiaceae) em ovinos e caprinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 28, n. 10, p. 521-526, 2008.

VICKERY, B.; VICKERY, ML. Toxicity for livestock of organofluorine compounds present in *Dichapetalum plant* species. **Veterinary Bulletin**, v. 43, n.10, p. 537-542, 1973.

WALKER, J.R.L; LIEN, B.C. Metalolism of fluoroacetate by a soil *Pseudomonas sp.* and *Fusarium solani*. **Soil biology biochemistry**. v. 13, p. 231-235, 1981.

WINDHOLZ, M. et al. **The Merck Index**. 10. ed. Merck & Co., Inc., 1983. 880 p.

WANG, K. et al. Acetamide-45 inhibited hyperresponsiveness and airway inflammation in mice partly depending on phosphodiesterase activity suppression. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 29, n. 10, p. 1195–1201, 2008.

WONG, D. H. et al. Defluorination Of Sodium Monofluoroacetate (1080) by Microorganisms Isolated From Western Australian Soils. **Soil biology biochemistry**, v. 24, n. 9, p. 833-838, 1992.

YAMASHITA, K., YADA, H., ARIYOSHI, T. Neurotoxic effects of alpha-fluoro-betaalanine (FBAL) and fluoroacetic acid (FA) on dogs. **Journal of Toxicology Science**, v. 29, p. 155-166, 2004.