

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
Colegiado dos Cursos de Pós-Graduação

INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL COM EXTRATOS DE *Mascagnia rigida* (A. Juss.) Griseb. (Malpighiaceae) EM COELHOS (*Oryctolagus cuniculus*): ESTUDOS CLÍNICO, LABORATORIAL E ANATOMOPATOLÓGICO.

LUANA RODRIGUES BORBOLETA

BELO HORIZONTE
ESCOLA DE VETERINÁRIA - UFMG
2010

LUANA RODRIGUES BORBOLETA

INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL COM EXTRATOS DE *Mascagnia rigida* (A. Juss.) Griseb. (Malpighiaceae) EM COELHOS (*Oryctolagus cuniculus*): ESTUDOS CLÍNICO, LABORATORIAL E ANATOMOPATOLÓGICO.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

Área de concentração:

Medicina e Cirurgia Veterinárias.

Orientadora:

Professora Dr^a. Marília Martins Melo.

BELO HORIZONTE
ESCOLA DE VETERINÁRIA - UFMG
2010

B726i Borboleta, Luana Rodrigues, 1983-

Intoxicação experimental com extratos de *Mascagnia rígida* (A. Juss.) Griseb. (Malpighiaceae) em coelhos (*Oryctolagus cuniculus*): estudos clínico, laboratorial e anatomopatológico / Luana Rodrigues Borboleta. – 2010.

143 p. : il.

Orientadora: Marília Martins Melo

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária

Inclui bibliografia

1. Coelho - Doenças - Teses. 2. Plantas venenosas - Teses. 3. Toxicologia - Experimental - Teses. I. Melo, Marília Martins. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária. III. Título.

CDD – 636.932 208 96

Dissertação defendida e aprovada em 09 de abril de 2010 pela Comissão Examinadora
constituída por:

Prof. Dra. Marília Martins Melo
(Orientadora)

Prof. Dra. Natália de Melo Ocarino

Prof. Dra. Ruthnéa Aparecida Lázaro Muzzi

À Deus, pela saúde e força para seguir nesta caminhada e à Ele devo todas as glórias... Infinito!

Aos meus pais Marçílio Múcio Borboleta da Silva e Liliane Rodrigues Borboleta que suportaram minha ausência e me apoiaram em todos os momentos... E, aos meus queridos irmãos, Michelle e Thiago.

Ao Gabriel Mariano de Aguiar Titan, por ser a pessoa maravilhosa que és... Por ser tudo e mais um pouco.

À minha orientadora professora Marília Martins Melo pela paciência, orientação e muitos ensinamentos importantes na vida profissional. Muito obrigada pela oportunidade!

À “tia-mãe” Lana e ao tio João, que sempre me ajudaram em momentos em que precisei... Aos meus parentes belorizontinos que me deram carinho que só os “laços” poderiam dar...

À toda a equipe do laboratório da Toxicologia pela convivência e auxílio neste trabalho: Márcia Elisa, Ana Flávia, Ana Carolina, Tatiana, Lílian, Felipe, Gustavo, Fabiana, Lucas, Victória, Carla, Marina, Maira, Thalita, Neca e Durval.

Aos Cardiologistas Veterinários:

- Prof. Dra. Ruthnéa Aparecida Lázaro Muzzi pelas valiosas sugestões e críticas ao trabalho, apoio na área de cardiologia, empréstimo do cartão de memória do aparelho de Holter e disponibilização do software para leitura dos exames.
- Prof. Dr. Roberto Baracat de Araújo pelo empréstimo do aparelho de Holter.
- Ms. Euler Fraga Silva, pelo auxílio, apoio, realização e interpretação dos exames de ecoDopplercardiografia, além da preciosa amizade!
- Ms. Maira de Souza Oliveira, pelo auxílio na realização dos eletrocardiogramas e pelas leituras dos exames de Holter.

Às instituições de ensino: Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) pelo suporte à pós-graduação e ao Departamento de Medicina Veterinária (DMV) da Universidade Federal de Lavras (UFLA) pelo empréstimo do software para leitura dos exames de Holter.

Aos professores Ângela, Natasha e Miguel, pelas avaliações estatísticas e ajuda nas interpretações. Ao Danilo pelas análises estatísticas, companhia, amizade, apoio...

À Dra. Vany Perpétua Ferraz pelos cromatogramas e ensinamentos na área de fitoquímica, além do apoio pessoal e profissional. Não sei como agradecer...

Aos professores Rogéria Serakides, Rosilene Ecco, Paulo Ricardo Oliveira Paes, Humberto Pereira de Oliveira e Fernando Antônio Bretas Viana pelos ensinamentos e dúvidas esclarecidas.

Aos professores Júlio César Cambraia Veado, pelo empréstimo do consultório e Valentim Arabicano Gheller pelo empréstimo do aparelho de ecoDopplercardiografia.

Às professoras Natália de Melo Ocarino e Ana Flávia Ribeiro Carvalho, pelo auxílio nos exames anátomo-histopatológicos, e à Professora Fabíola Paes Leme, pelo auxílio nos exames bioquímicos.

À equipe do laboratório de Patologia Veterinária e Patologia Clínica, em especial às funcionárias Rose e Renata.

Aos funcionários do Hospital Veterinário da UFMG, Júnia e Antônio, e aos residentes Ana Carolina, Luciana, Carol Pimenta, Daniela, Marcelo, Mariana, Renato e Karen. Agradecimento especial ao funcionário João, por ter sido a minha terceira mão muitas vezes... As “meninas” da limpeza que sempre alegraram meu dia, especialmente a Olandina e Rose.

Aos amigos Kaleizu Rosa, Carlos José Mucha e Marcos Barrouin que me apoiaram e estimularam com palavras vindas no momento certo. Obrigada pela companhia e amizade maravilhosa de Luis Carlos, Antônio, Natalie Borges, Natália, Olandina, Paula Mayer, Gabrielle Curry, Kárita, Fabíola Bonno, Guilherme Cavalcanti, Lilian Tatibana, Cinthya Brilhante, Carol Pimenta, Victoria Bringhenti... Amigos são presentes de Deus!

Às agências de fomento à pesquisa pelo financiamento do projeto e bolsa concedida: FAPEMIG e CAPES.

Aos queridos animais que participaram deste experimento: meu respeito, meu carinho e meu agradecimento...

*"What you or I think is not the important.
What is important is the truth."*

Willem Einthoven (1860-1927)

	RESUMO	
	ABSTRACT	
1	INTRODUÇÃO.....	29
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	31
2.1	<i>Mascagnia rigida</i> (JUSS) GRISEB.....	31
2.1.1	Distribuição geográfica.....	33
2.1.2	Espécies acometidas.....	33
2.1.3	Propriedades tóxicas.....	33
2.1.4	Sinais clínicos da intoxicação.....	35
2.1.5	Alterações anatomopatológicas.....	38
2.2	PLANTAS QUE CAUSAM MORTE SÚBITA EM COELHOS.....	39
2.3	CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA.....	40
2.4	ANÁLISE CLÍNICO-PATOLÓGICA.....	41
2.4.1	Hematologia.....	41
2.4.2	Perfil protéico eletroforético.....	42
2.4.3	Perfil bioquímico muscular.....	43
2.4.4	Perfil bioquímico hepático.....	45
2.4.5	Perfil bioquímico renal.....	45
2.5	SEDAÇÃO E ECODOPPLERCARDIOGRAFIA.....	46
2.6	EXAME ELETROCARDIOGRÁFICO.....	48
2.7	EXAME ELETROCARDIOGRÁFICO CONTÍNUO (HOLTER).....	50
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	51
3.1	EXPERIMENTO PILOTO.....	51
3.1.1	Protocolo de sedação.....	51
3.1.2	Experimento piloto 1	53
3.1.3	Experimento piloto 2	59
3.2	EXPERIMENTO PRINCIPAL.....	63
3.2.1	PREPARO FITOQUÍMICO DOS EXTRATOS.....	63
3.2.2	ANIMAIS E LOCAL.....	63
3.2.3	SEDAÇÃO.....	64
3.2.4	EXAMES CLÍNICOS E LABORATORIAIS.....	64
3.2.5	EUTANÁSIA.....	68
3.2.6	AVALIAÇÕES ANATOMOPATOLÓGICAS.....	68
3.2.7	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	68
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	70
4.1	ANÁLISE CROMATOGRÁFICA.....	70

4.2	ALTERAÇÕES CLÍNICAS E LABORATORIAIS.....	71
4.2.1	Avaliação clínica.....	71
4.2.2	Hemograma.....	72
4.2.3	Plaquetas.....	77
4.2.4	Leucograma.....	78
4.2.5	Perfil protéico eletroforético.....	86
4.2.6	Perfil bioquímico sérico e plasmático.....	91
4.2.7	Frequência cardíaca.....	105
4.2.8	Eletrocardiografia.....	105
4.2.9	Eletrocardiografia contínua (Holter).....	115
4.2.10	EcoDopplercardiografia.....	117
4.3	ACHADOS ANATOMOPATOLÓGICOS.....	123
5	CONCLUSÕES.....	124
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	125
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	126
8	ANEXOS.....	141

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Valores hematológicos do coelho n ^o 1, antes e após administração de extrato solúvel em água de <i>M. rigida</i> em diferentes tempos.....	57
Tabela 2	Diferencial leucocitário (relativo e absoluto) do coelho n ^o 1 antes e após administração de extrato solúvel em água de <i>M. rigida</i> em diferentes tempos.....	57
Tabela 3	Enzimas hepáticas e musculares do coelho n ^o 1 antes e após administração de extrato solúvel em água de <i>M. rigida</i> em diferentes tempos.....	58
Tabela 4	Uréia, creatinina, cálcio, magnésio, cloro, fósforo e potássio séricos do coelho n ^o 1 antes e após administração de extrato solúvel em água de <i>M. rigida</i> em diferentes tempos.....	58
Tabela 5	Índices funcionais sistólicos do ventrículo esquerdo do coelho n ^o 1, antes e oito dias após a administração de extrato solúvel em água de <i>M. rigida</i> .	58
Tabela 6	Valores hematológicos do coelho n ^o 2 antes e após administração de extrato solúvel em água de <i>M. rigida</i> em diferentes tempos.....	60
Tabela 7	Diferencial leucocitário (relativo e absoluto) do coelho n ^o 2 antes e após administração de extrato solúvel em água de <i>M. rigida</i> em diferentes tempos.....	60
Tabela 8	Enzimas hepáticas e musculares do coelho n ^o 2, antes e após administração de extrato solúvel em água de <i>M. rigida</i> em diferentes tempos.....	61
Tabela 9	Uréia, creatinina, cálcio, magnésio, cloro, fósforo e potássio séricos do coelho n ^o 2 antes e após administração de extrato solúvel em água de <i>M. rigida</i> em diferentes tempos.....	62
Tabela 10	Parâmetros ecocardiográficos do ventrículo esquerdo do coelho n ^o 2, antes e nove dias após a administração de extrato solúvel em água de <i>M. rigida</i>	62
Tabela 11	Massa corporal média* (kg) de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (CG), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de <i>Mascagnia rigida</i> em diferentes tempos.....	71
Tabela 12	Valores médios de eritrócitos* (RBC x 10 ⁶ /μl), hemoglobina (HGB - g/dL) e hematócrito (HCT - %) de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (CG), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de <i>Mascagnia rigida</i> em diferentes tempos.....	73

Tabela 13	Valores médios dos índices hematimétricos: Volume Globular Médio* (VGM - fL), Hemoglobina Globular Média* (HGM - pg) e Concentração de Hemoglobina Globular Média (CHGM - g/dL) de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (CG), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de <i>Mascagnia rigida</i> em diferentes tempos.....	75
Tabela 14	Valores médios de plaquetas ($\times 10^3/\mu\text{l}$) de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (CG), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de <i>Mascagnia rigida</i> em diferentes tempos.....	77
Tabela 15	Valores médios de leucócitos totais ($\text{WBC} \times 10^3/\mu\text{l}$) de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura, extrato solúvel e extrato insolúvel em água de 30g/kg de MS de <i>Mascagnia rigida</i> em diferentes tempos.....	78
Tabela 16	Valores médios do número absoluto de linfócitos* e heterófilos ($\times 10^3/\mu\text{l}$) de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (CG), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de <i>Mascagnia rigida</i> em diferentes tempos.....	79
Tabela 17	Valores médios do número relativo de linfócitos e heterófilos (%) e relação heterófilos:linfócitos de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de <i>Mascagnia rigida</i> em diferentes tempos.....	81
Tabela 18	Valores médios do número absoluto de monócitos*, eosinófilos* e basófilos* ($\times 10^3/\mu\text{l}$) de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (CG), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de <i>Mascagnia rigida</i> em diferentes tempos.....	83
Tabela 19	Valores médios do número relativo de monócitos*, eosinófilos* e basófilos* (%) de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de <i>Mascagnia rigida</i> em diferentes tempos.....	85
Tabela 20	Valores médios de proteína total*, albumina* (g/dl) e da relação albumina globulina* (A:G) de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (CG), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de <i>Mascagnia rigida</i> em diferentes tempos.....	87
Tabela 21	Valores médios de alfa*, beta* e gamaglobulinas* (g/dl) de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (CG), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de <i>Mascagnia rigida</i> em diferentes tempos.....	89
Tabela 22	Valores médios de uréia* e creatinina* séricas (g/dl) de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (CG), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de <i>Mascagnia rigida</i> em diferentes tempos.....	91

Tabela 23	Valores médios de alanina aminotransferase (ALT - U/l) e aspartato aminotransferase (AST - U/l) séricas de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (CG), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de <i>Mascagnia rigida</i> em diferentes tempos.....	93
Tabela 24	Valores médios de fosfatase alcalina* sérica (FA - U/l) de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (CG), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de <i>Mascagnia rigida</i> em diferentes tempos.....	94
Tabela 25	Valores médios de lactato desidrogenase sérica (LDH - U/l) de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (CG), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de <i>Mascagnia rigida</i> em diferentes tempos.....	95
Tabela 26	Valores médios de creatina quinase sérica total* (CK - U/l), fração MB da creatina quinase* (CK-MB U/l) e porcentagem relativa de CK-MB* (CK-MB/CK) de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (CG), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de <i>Mascagnia rigida</i> em diferentes tempos.....	97
Tabela 27	Valores médios de potássio plasmático* (mmol/L) de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (CG), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de <i>Mascagnia rigida</i> em diferentes tempos.....	99
Tabela 28	Valores médios de cálcio (mg/dl) e fósforo séricos de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (CG), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de <i>Mascagnia rigida</i> em diferentes tempos.....	101
Tabela 29	Valores médios de magnésio sérico (mg/dl) de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (CG), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de <i>Mascagnia rigida</i> em diferentes tempos.....	102
Tabela 30	Valores médios de cloretos séricos (mEq/L) de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (CG), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de <i>Mascagnia rigida</i> em diferentes tempos.....	103
Tabela 31	Valores médios de glicose sérica (mg/dl) de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (CG), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de <i>Mascagnia rigida</i> em diferentes tempos.....	104
Tabela 32	Valores médios da frequência cardíaca (bpm) no exame eletrocardiográfico de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (CG), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de <i>Mascagnia rigida</i> em diferentes tempos.....	106

Tabela 33	Amplitude* (mV) e duração (mseg) média da onda P no exame eletrocardiográfico de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (CG), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de <i>Mascagnia rigida</i> em diferentes tempos.....	107
Tabela 34	Duração média do intervalo PR (mseg) no exame eletrocardiográfico de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (CG), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de <i>Mascagnia rigida</i> em diferentes tempos.....	108
Tabela 35	Amplitude média da onda R e T (mV) no exame eletrocardiográfico de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (CG), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de <i>Mascagnia rigida</i> em diferentes tempos.....	110
Tabela 36	Duração média do complexo QRS (mseg) no exame eletrocardiográfico de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (CG), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de <i>Mascagnia rigida</i> em diferentes tempos.....	111
Tabela 37	Valores médios do intervalo QT, QTc* e QTcF (mseg) no exame eletrocardiográfico de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (CG), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de <i>Mascagnia rigida</i> em diferentes tempos.....	113
Tabela 38	Valores médios da velocidade máxima do fluxo aórtico (VmaxVA - cm/s) e mitral* (VmaxVM - cm/s) ao exame ecoDopplercardiográfico de coelhos antes e nove dias após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de <i>Mascagnia rigida</i>	117
Tabela 39	Média do percentual de encurtamento sistólico* (% Δ D - %) e da fração de ejeção* (FE - %) do ventrículo esquerdo de coelhos antes e nove dias após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de <i>Mascagnia rigida</i>	119
Tabela 40	Média dos volumes diastólico final* (VDFVE - ml) e sistólico final* (VSFVE - ml) do ventrículo esquerdo ao exame ecoDopplercardiográfico de coelhos antes e nove dias após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de <i>Mascagnia rigida</i>	121
Tabela 41	Relação átrio esquerdo-aorta (AE/Ao) ao exame ecoDopplercardiográfico de coelhos antes e nove dias após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de <i>Mascagnia rigida</i>	121

Gráfico 1	Massa corporal média (kg) de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel em água (GI) de 30g/kg de MS de <i>Mascagnia rigida</i> em diferentes tempos.....	72
Gráfico 2	Valores médios de eritrócitos (RBC x 10 ⁶ /μl) de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (CG), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de <i>Mascagnia rigida</i> em diferentes tempos.....	73
Gráfico 3	Valores médios do hematócrito (HCT - %) de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (CG), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de <i>Mascagnia rigida</i> em diferentes tempos.....	74
Gráfico 4	Valores médios de hemoglobina (HGB - g/dL) de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (CG), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de <i>Mascagnia rigida</i> em diferentes tempos.....	74
Gráfico 5	Valores médios do volume globular médio (VGM - fL) de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel em água (GI) de 30g/kg de MS de <i>Mascagnia rigida</i> em diferentes tempos.....	75
Gráfico 6	Valores médios da hemoglobina globular média (HGM - pg) de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel em água (GI) de 30g/kg de MS de <i>Mascagnia rigida</i> em diferentes tempos.....	76
Gráfico 7	Valores médios da concentração de hemoglobina globular média (CHGM - g/dL) de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel em água (GI) de 30g/kg de MS de <i>Mascagnia rigida</i> em diferentes tempos.....	76
Gráfico 8	Valores médios de plaquetas (x 10 ³ /μl) de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel em água (GI) de 30g/kg de MS de <i>Mascagnia rigida</i> em diferentes tempos.....	77
Gráfico 9	Valores médios de leucócitos totais (WBC - x 10 ³ /μl) de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel em água (GI) de 30g/kg de MS de <i>Mascagnia rigida</i> em diferentes tempos.....	79
Gráfico 10	Valores médios absolutos de linfócitos (x 10 ³ /μl) de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel em água (GI) de 30g/kg de MS de <i>M. rigida</i> em diferentes tempos.....	80

Gráfico 11	Valores médios absolutos de heterófilos ($\times 10^3/\mu\text{l}$) de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel em água (GI) de 30g/kg de MS de <i>M. rigida</i> em diferentes tempos.....	80
Gráfico 12	Valores médios relativos de linfócitos (%) de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel em água (GI) de 30g/kg de MS de <i>M. rigida</i> em diferentes tempos.....	81
Gráfico 13	Valores médios relativos de heterófilos (%) de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel em água (GI) de 30g/kg de MS de <i>M. rigida</i> em diferentes tempos.....	82
Gráfico 14	Valores médios absolutos de monócitos ($\times 10^3/\mu\text{l}$) de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel em água (GI) de 30g/kg de MS de <i>M. rigida</i> em diferentes tempos.....	83
Gráfico 15	Valores médios absolutos de eosinófilos ($\times 10^3 /\mu\text{l}$) de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel em água (GI) de 30g/kg de MS de <i>M. rigida</i> em diferentes tempos.....	84
Gráfico 16	Valores médios absolutos de basófilos ($\times 10^3/\mu\text{l}$) de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel em água (GI) de 30g/kg de MS de <i>M. rigida</i> em diferentes tempos.....	84
Gráfico 17	Valores médios relativos de eosinófilos (%) de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel em água (GI) de 30g/kg de MS de <i>M. rigida</i> em diferentes tempos.....	85
Gráfico 18	Valores médios relativos de monócitos (%) de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel em água (GI) de 30g/kg de MS de <i>M. rigida</i> em diferentes tempos.....	86
Gráfico 19	Valores médios relativos de basófilos (%) de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel em água (GI) de 30g/kg de MS de <i>M. rigida</i> em diferentes tempos.....	86
Gráfico 20	Valores médios de proteína plasmática (g/dl) de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel em água (GI) de 30g/kg de MS de <i>Mascagnia rigida</i> em diferentes tempos.....	87
Gráfico 21	Valores médios de albumina (g/dl) de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel em água (GI) de 30g/kg de MS de <i>Mascagnia rigida</i> em diferentes tempos.....	88

Gráfico 22	Valores médios de globulinas (g/dl) de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel em água (GI) de 30g/kg de MS de <i>M. rigida</i> em diferentes tempos.....	88
Gráfico 23	Relação albumina:globulinas de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel em água (GI) de 30g/kg de MS de <i>Mascagnia rigida</i> em diferentes tempos.....	88
Gráfico 24	Valores médios de alfa-1-globulinas (g/dl) de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel em água (GI) de 30g/kg de MS de <i>Mascagnia rigida</i> em diferentes tempos.....	90
Gráfico 25	Valores médios de alfa-2-globulinas (g/dl) de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel em água (GI) de 30g/kg de MS de <i>Mascagnia rigida</i> em diferentes tempos.....	90
Gráfico 26	Valores médios de betaglobulinas (g/dl) de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel em água (GI) de 30g/kg de MS de <i>Mascagnia rigida</i> em diferentes tempos.....	90
Gráfico 27	Valores médios de gamaglobulinas (g/dl) de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel em água (GI) de 30g/kg de MS de <i>Mascagnia rigida</i> em diferentes tempos.....	91
Gráfico 28	Valores médios de uréia sérica (mg/ml) de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel em água (GI) de 30g/kg de MS de <i>Mascagnia rigida</i> em diferentes tempos.....	92
Gráfico 29	Valores médios de creatinina sérica (mg/ml) de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel em água (GI) de 30g/kg de MS de <i>Mascagnia rigida</i> em diferentes tempos.....	92
Gráfico 30	Valores médios de fosfatase alcalina sérica (FA - U/l) de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel em água (GI) de 30g/kg de MS de <i>Mascagnia rigida</i> em diferentes tempos.....	93
Gráfico 31	Valores médios de alanina aminotransferase sérica (ALT - U/l) de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel em água (GI) de 30g/kg de MS de <i>Mascagnia rigida</i> em diferentes tempos.....	94
Gráfico 32	Valores médios de aspartato aminotransferase sérica (AST - U/l) de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel em água (GI) de 30g/kg de MS de <i>Mascagnia rigida</i> em diferentes tempos.....	94

Gráfico 33	Valores médios de lactato desidrogenase sérica (LDH - U/l) de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel em água (GI) de 30g/kg de MS de <i>Mascagnia rigida</i> em diferentes tempos.....	96
Gráfico 34	Valores médios de creatina quinase sérica (CK - U/l) de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel em água (GI) de 30g/kg de MS de <i>Mascagnia rigida</i> em diferentes tempos.....	97
Gráfico 35	Valores médios de creatina quinase fração MB sérica (CK-MB - U/l) de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel em água (GI) de 30g/kg de MS de <i>Mascagnia rigida</i> em diferentes tempos.....	98
Gráfico 36	Relação CK-MB/CK (%) de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel em água (GI) de 30g/kg de MS de <i>Mascagnia rigida</i> em diferentes tempos.....	98
Gráfico 37	Valores médios de potássio plasmático (mmol/L) de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel em água (GI) de 30g/kg de MS de <i>Mascagnia rigida</i> em diferentes tempos.....	100
Gráfico 38	Valores médios de cálcio sérico (mg/dl) de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel em água (GI) de 30g/kg de MS de <i>Mascagnia rigida</i> em diferentes tempos.....	101
Gráfico 39	Valores médios de fósforo sérico (mg/dl) de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel em água (GI) de 30g/kg de MS de <i>Mascagnia rigida</i> em diferentes tempos.....	101
Gráfico 40	Valores médios de magnésio sérico (mg/dl) de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel em água (GI) de 30g/kg de MS de <i>Mascagnia rigida</i> em diferentes tempos.....	102
Gráfico 41	Valores médios de cloretos séricos (mEq/L) de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel em água (GI) de 30g/kg de MS de <i>Mascagnia rigida</i> em diferentes tempos.....	103
Gráfico 42	Valores médios de glicose sérica (mg/dl) de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel em água (GI) de 30g/kg de MS de <i>Mascagnia rigida</i> em diferentes tempos.....	104
Gráfico 43	Frequência cardíaca média (bpm) no exame eletrocardiográfico de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel em água (GI) de 30g/kg de MS de <i>Mascagnia rigida</i> em diferentes tempos.....	106

Gráfico 44	Duração média das ondas P (mseg) no exame eletrocardiográfico de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel em água (GI) de 30g/kg de MS de <i>M. rigida</i> em diferentes tempos.....	107
Gráfico 45	Amplitude média das ondas P (mV) no exame eletrocardiográfico de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel em água (GI) de 30g/kg de MS de <i>M. rigida</i> em diferentes tempos.....	108
Gráfico 46	Duração do intervalo PR (mseg) no exame eletrocardiográfico de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel em água (GI) de 30g/kg de MS de <i>Mascagnia rigida</i> em diferentes tempos.....	109
Gráfico 47	Amplitude média das ondas R (mV) no exame eletrocardiográfico de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel em água (GI) de 30g/kg de MS de <i>M. rigida</i> em diferentes tempos.....	110
Gráfico 48	Amplitude média das ondas T (mV) no exame eletrocardiográfico de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel em água (GI) de 30g/kg de MS de <i>M. rigida</i> em diferentes tempos.....	110
Gráfico 49	Duração do complexo QRS (mseg) no exame eletrocardiográfico de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel em água (GI) de 30g/kg de MS de <i>Mascagnia rigida</i> em diferentes tempos.....	112
Gráfico 50	Intervalo QT (mseg) no exame eletrocardiográfico de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel em água (GI) de 30g/kg de MS de <i>Mascagnia rigida</i> em diferentes tempos.....	113
Gráfico 51	Intervalo QTcC (mseg) no exame eletrocardiográfico de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel em água (GI) de 30g/kg de MS de <i>Mascagnia rigida</i> em diferentes tempos.....	114
Gráfico 52	Intervalo QTcF (mseg) no exame eletrocardiográfico de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de <i>Mascagnia rigida</i> em diferentes tempos.....	114
Gráfico 53	Velocidade máxima do fluxo aórtico (VmaxVA) e mitral (VmaxVM) ao exame ecoDopplercardiográfico de coelhos antes e nove dias após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de <i>Mascagnia rigida</i>	118
Gráfico 54	Fração de ejeção (FE) e de encurtamento (% Δ D) sistólico do ventrículo esquerdo ao exame ecoDopplercardiográfico de coelhos antes e nove dias após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de <i>Mascagnia rigida</i>	119

Gráfico 55	Volumes diastólico final (VDFVE - ml) e sistólico final (VSFVE - ml) do ventrículo esquerdo ao exame ecoDopplercardiográfico de coelhos antes e nove dias após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de <i>Mascagnia rigida</i>	121
Gráfico 56	Relação átrio esquerdo-aorta (AE/AO) ao exame ecoDopplercardiográfico de coelhos antes e nove dias após a administração de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de <i>Mascagnia rigida</i>	122

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Valores de ecoDopplercardiografia de coelhos Nova Zelândia machos obtidos no experimento-piloto após utilização de maleato de midazolam (1mg/kg IM) e maleato de midazolam mais cetamina (2mg/kg e 20mg/kg SC).....	141
----------	---	-----

Figura 1	<i>Mascagnia rigida</i> . A – ramo com flores e frutos imaturos. B – pecíolo. C – face abaxial da lâmina demonstrando a glândula. D – botão de flor. E – flor, vista lateral, com a pétala posterior em cima. F – pétala lateral, vista abaxial e adaxial. G – pétala posterior, vista adaxial. H – estame, vista abaxial. I – gineceu vista lateral esquerda. J – vértice. K – sâmara, vista abaxial e adaxial. (Fonte: Anderson, 2006).....	31
Figura 2	<i>Mascagnia rigida</i> em vários estágios: A- brotação; B- floração; C- frutificação; D – maturação (fruto maduro; observar formato bialado).....	32
Figura 3	Distribuição da planta <i>Mascagnia rigida</i> no território brasileiro (área rachurada) (Fonte: Tokarnia et al., 2000).....	33
Figura 4	Arbusto de <i>Mascagnia rigida</i> do canteiro de Plantas Tóxicas da Escola de Veterinária da UFMG.....	51
Figura 5	Eletrocardiogramas do coelho nº1. A – ECG demonstrando um complexo ventricular prematuro (VPC) (seta laranja). B – ECG do mesmo coelho com mais um VPC. Observar que os VPC’s são monomórficos (ou unifocais) e a presença de pausa compensatória (DI, 50mm/s, 2N).....	59
Figura 6	Extrato aquoso de <i>M. rigida</i> , demonstrando as frações solúvel (superior, amarronzada) e insolúvel (inferior, esverdeada) em água.....	63
Figura 7	Introdução de sonda nasoesofágica em coelho.....	64
Figura 8	Eletrocardiografia computadorizada realizada em um coelho do grupo controle. Observar as ondas P, R e T, complexo QRS e intervalos PR e QT (DI, 50mm/s, 2N).....	68
Figura 9	Exame de Holter em coelho. A - Eletrodos para o exame de Holter fixados na pele do coelho. Notar o uso do colar cervical. B - Proteção dos eletrodos e cabos com atadura crepom. C - Aparelho de Holter (Cardios®) acondicionado em bolsa externa dorsal para realização do exame. D - Aparelho de Holter já posicionado e acionado – exame em execução.....	67
Figura 10	EcoDopplercardiografia em coelho. A- Coelho posicionado para realização do exame, após ser sedado com 1mg/kg de midazolam IM. B- Detalhe da contenção mínima do animal.....	68
Figura 11	Cromatograma dos extratos aquosos de <i>Mascagnia rigida</i> realizados por meio de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) em comprimento de onda de UV de 210nm.....	70
Figura 12	Cromatograma dos extratos aquosos de <i>Mascagnia rigida</i> realizados por meio de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) em comprimento de onda de UV de 254nm.....	70
Figura 13	Ilustração do exame de eletrocardiografia contínua (Holter) do coelho nº2 do grupo controle (GC), tempo zero, apresentando um único complexo ventricular prematuro (seta).....	116

AE	Átrio esquerdo
AO	Artéria aorta
AST	Aspartato aminotransferase
ALT	Alanina aminotransferase
CHGM	Concentração de hemoglobina corpuscular média
CETEA	Comitê de Ética em Experimentação Animal
CK	Creatina quinase
CK-MB	Isoenzima MB da creatina quinase
cTnI	Troponina I cardíaca
ECG	Eletrocardiografia
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
FA	Fosfatase alcalina
FC	Frequência cardíaca
FE	Fração de ejeção
% Δ D	Fração de encurtamento sistólico
GC	Grupo controle
GI	Grupo insolúvel
GS	Grupo solúvel
HCT	Hematócrito
HGM	Hemoglobina globular média
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência
ICEx	Instituto de Ciências Exatas
LDH	Lactato desidrogenase
MCV	Volume corpuscular médio
MC	Massa corporal
MS	Matéria seca
NZ	Nova Zelândia
PT	Proteína total
QTcC	Intervalo QT corrigido segundo fórmula de Carlsson
QTcF	Intervalo QT corrigido segundo fórmula de Fridericia
RBC	Eritrócitos
RM	Ressonância magnética
SNC	Sistema nervoso central
VE	Ventrículo esquerdo
VG	Volume globular
VmaxVM	Velocidade máxima do fluxo na valva mitral
VmaxVA	Velocidade máxima do fluxo na valva aorta
VPC	Contrações ventriculares prematuras
UFLA	Universidade Federal de Lavras
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
WBC	Leucócitos

g/dl	Gramas por decilitro
g/kg	Gramas por quilograma
kg	Quilograma
mEq/l	Miliequivalentes por litro
mg/dl	Miligramas por decilitro
mg/kg	Miligramas por quilograma
ml	Mililitros
mm/seg	Milímetro por segundo
mseg	Milisegundos
mV	Milivolts
nm	Nanômetro
rpm	Rotações por minuto
vs.	Versus

RESUMO

Apesar da *M. rigida* representar um importante problema econômico para a pecuária, causando “morte súbita”, pouco se sabe sobre os seus princípios tóxicos e como eles agem nos animais, especialmente no sistema cardiovascular. Diante deste contexto, objetivou-se avaliar clínica, laboratorial e histopatologicamente as alterações provocadas pela intoxicação por *Mascagnia rigida*, com especial atenção ao sistema cardiovascular. Nove coelhos Nova Zelândia, machos, com massa corporal média de 3,54kg foram distribuídos em três grupos (G) (n=3). Os animais receberam o equivalente a 30g/kg de matéria seca de folhas maduras de *Mascagnia rigida* em dois tipos de extratos: solúvel em água (GS) e o insolúvel em água (GI), além do grupo controle (GC) (água ultra-pura) nas mesmas doses e horários, via nasoesofágica, durante oito dias consecutivos. Foram realizados: avaliação clínica diária; eletrocardiografia convencional antes e três, cinco e sete dias após a administração dos extratos de *M. rigida*; ecoDopplercardiografia e Holter antes e nove dias após a administração dos extratos de *M. rigida*; perfis hematológico e bioquímico antes e três, cinco, sete e nove dias após a administração dos extratos de *M. rigida* e exame anatomopatológico no 11º dia. Nenhum animal apresentou alteração clínica, eletrocardiográfica (convencional e contínua) e anatomopatológica. O hematócrito e concentração de hemoglobina diminuíram a partir do terceiro dia no GS e do quinto dia no GI. No GS, observou-se aumento do número de leucócitos a partir do sétimo dia. No quinto dia observou-se diminuição do cálcio no GS e de magnésio no GS e GI. No GI, o fósforo diminuiu a partir do quinto dia e os cloretos no quinto dia. As alterações de ecoDopplercardiografia sugerem uma disfunção sistólica no GS e GI e disfunção diastólica no GI. Concluiu-se que, a administração dos extratos solúvel e insolúvel da *Mascagnia rigida* não causaram intoxicação clinicamente perceptível em coelhos, mas indicou déficit de função cardíaca.

Palavras-chave: *Mascagnia*, estudo fitoquímico, função cardíaca, coelhos.

ABSTRACT

Despite *M. rigida* represents an important economic problem for livestock, causing "sudden death", little knowledge has about their toxic principles and how they act in animals, especially in the cardiovascular system. The aim of this study was to evaluate clinical, laboratory and histopathological changes caused by *Mascagnia rigida* poisoning, with special attention to the cardiovascular system. Nine male adults New Zealand rabbits, weighting 3,54kg were distributed into three groups (G) (n = 3). The animals received the equivalent of 30g/kg of dry leaves of *Mascagnia rigida* in two types of extracts: water-soluble aqueous extract (SG) and water-insoluble aqueous extract (IG). A third group was used like control that received ultra-pure water (PG) in the same dose and schedules of the others. The animals received these extracts by nasoesophageal tube, daily for eight consecutive days. It was performed daily clinical evaluation, conventional electrocardiography on days 0, 3, 5 and 7, Doppler echocardiography and Holter monitoring on days 0 and 9 and hematological and biochemical profiles on days 0, 3, 5, 7 and 9, with anatomopathological analysis after euthanasia on 11th day. No animal had clinical, electrocardiographic (conventional and ambulatory) and anatomohistopathological changes due intoxication. The hematocrit and hemoglobin concentration decreased from the third day in the SG group and the fifth day in IG group. In SG group, there was an increase of leukocytes from the seventh day. On the fifth day, calcium decreased in the SG group and magnesium in the SG and IG groups. In IG group, phosphorus decreased from the fifth day and chlorides in the fifth day. Changes of Doppler echocardiography suggest a systolic dysfunction in the SG and IG groups and diastolic dysfunction in IG group. It was concluded that the administration of soluble and insoluble extracts of *Mascagnia rigida* did not cause clinically toxicity in rabbits, but showed a deficit of cardiac function.

Keywords: *Mascagnia rigida*, phytochemical study, heart function, rabbits.

1. INTRODUÇÃO

Muitas das plantas consideradas como tóxicas para os ruminantes fazem parte da flora natural e, embora sejam consideradas pouco palatáveis, muitas delas podem ser ingeridas acidentalmente com a pastagem ou mesmo voluntariamente no período de seca, quando há escassez de alimentos (Lago, 2007).

No Brasil, o número de plantas conhecidas como tóxicas para ruminantes e eqüinos aumenta constantemente. Até o ano de 2006 foram descritas 111 espécies tóxicas, pertencentes à pelo menos 50 gêneros (Riet-Correa e Medeiros, 2001; Riet-Correa et al., 2006b).

Dentro do grupo de plantas tóxicas para animais, existem as que causam intoxicação aguda, com óbito precedido apenas por um breve período de sinais clínicos e sem achados macroscópicos significativos. Esse tipo de intoxicação desperta grande interesse, devido à forma como estes casos se apresentam e por acometer um grande número de animais. Elas têm sido denominadas e alocadas no grupo de plantas que causam “morte súbita” (Lago, 2007; Silva et al., 2008b).

Várias plantas da família Malpighiaceae são descritas como tóxicas, dentre elas o gênero *Mascagnia*, que compõe um grupo de 12 plantas tóxicas mais importantes do Brasil (Gava et al., 1998; Tokarnia et al., 2000). As espécies capazes de determinar “morte súbita” são *Mascagnia rigida* nas regiões Nordeste e Sudeste (Tokarnia et al., 1961; Santos, 1975; Tokarnia et al., 1994), *Mascagnia pubiflora*, na parte sul da região Centro-Oeste, estendendo-se para o Estado de São Paulo (Fernandes e Macruz, 1964; Tokarnia e Döbereiner, 1973), *Mascagnia elegans*, em Pernambuco (Couceiro et al., 1976) e

Mascagnia aff. rigida, na parte setentrional do Estado do Espírito Santo (Tokarnia et al., 1985).

A toxicidade de plantas do gênero *Mascagnia* (Malpighiaceae) é relatada desde 1940. Cobaias foram experimentalmente intoxicadas com folhas *Mascagnia pubiflora* (via tubo estomacal) apresentando sintomas neurológicos, fraqueza, tremores musculares, saltos, posição de decúbito lateral, prostração, convulsões, paralisia e morte (Rocha e Silva, 1940).

Os relatórios produzidos pela Embrapa Gado de Corte (Nunes, 2001) consideram as plantas do gênero *Mascagnia* como uma das mais importantes invasoras de pastagens cultivadas no cerrado da região Centro-Oeste do Brasil. Esta região é responsável pela crescente expansão da pecuária extensiva, atendendo a demanda nacional e internacional. Segundo Gava et al. (1998) e Tokarnia et al. (2000), *Mascagnia sp.* é responsável por 60% das mortes em bovinos intoxicados por plantas.

Vasconcelos et al. (2008b) relataram surtos de intoxicação pela *Mascagnia rigida* em caprinos no estado da Paraíba e observaram que em fazendas com grande infestação da planta, a mortalidade variou de 5% a 17%.

É difícil precisar o prejuízo causado pela ingestão de plantas tóxicas, devido à carência de registros. No entanto, considerando-se que a taxa de mortalidade anual do rebanho bovino brasileiro é de 5% e baseando na estimativa de Riet-Correa e Medeiros (2001) de que a frequência de mortes causadas por plantas tóxicas nos estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina varia de 10% a 14%, pode-se avaliar aproximadamente para o rebanho

nacional de 202 milhões de cabeças (IBGE, 2008) que as perdas anuais causadas por plantas tóxicas variam entre 1.010.000 a 1.414.000 bovinos. Considerando-se um preço médio de US\$ 600 por animal, pode-se calcular que, para o agronegócio a perda está em torno de US\$ 606.000.000 a 848.400.000 anuais.

Apesar da *M. rigida* representar um importante problema econômico para a pecuária, pouco se sabe sobre os seus princípios tóxicos e como eles agem (Tokarnia et al., 2001; Cunha et al., 2007; Melo et al., 2008; Silva et al., 2008b). Saad et al. (1970) foram as primeiras pesquisadoras a estudarem o efeito da espécie *M. pubiflora* sobre o coração, avaliando o eletrocardiograma (ECG) de cobaias intoxicadas experimentalmente. Vários autores (Gava et al., 1998; Melo et al., 2008; Cobucci et al., 2009b; Lago et al., 2009) afirmaram que, a *M. rigida* possui princípios tóxicos que interferem no funcionamento do coração e resultam em insuficiência cardíaca aguda fatal, segundo o quadro clinicopatológico observado na intoxicação.

Lago et al. (2009), estudando ovinos experimentalmente intoxicados com 20g/kg de extrato aquoso de folhas de *M. rigida* durante três e sete dias, observaram aumento da frequência cardíaca (FC), significativamente maior em condições de repouso e principalmente durante o esforço físico, diminuição da fração de ejeção (FE) e de encurtamento sistólico ($\% \Delta D$), sem observação de alterações eletrocardiográficas, clínico-patológicas ou anatomopatológicas. Concluíram que, a *M. rigida* possui mais de um princípio tóxico, e que, apesar de poderem afetar vários órgãos de maneira distinta, o coração é especificamente sensível e o mais provável de ser o maior

responsável como a causa da morte súbita.

Estudos devem ser realizados na tentativa de elucidar muitas questões, por exemplo: Quais seriam os mecanismos fisiopatológicos que ocorrem na intoxicação pela *M. rigida* que culminariam com a morte súbita? Embora existam relatos de óbitos com ausência de lesões cardíacas (Santos, 1975; Lago, 2007), há autores que sugerem que a principal ação das toxinas da *Mascagnia rigida* seja no coração (Tokarnia et al., 1990) e que provavelmente, devido às características fitoquímicas dessa planta, não haveria tempo para produzir alterações histológicas.

Até o momento, apenas quatro trabalhos (Silveira et al., 2006, Melo et al., 2008; Cobucci et al., 2009b, Lago et al., 2009) foram realizados analisando o efeito da *Mascagnia rigida* sob a função cardíaca, e o trabalho de Lago et al. (2009) foi o único que demonstrou alterações ecoDopplercardiográficas em ovinos após a administração do extrato aquoso de folhas de *Mascagnia rigida*. As discussões a esse respeito até o momento são apenas hipóteses em função da grande complexidade dos mecanismos que regulam o funcionamento cardíaco. Mais estudos são necessários, sobretudo avaliando a função elétrica cardíaca, pois o quadro de morte súbita pode ser decorrente de arritmias cardíacas, insuficiência cardíaca aguda ou por mecanismos que ainda não foram desvendados.

Diante deste contexto, objetivou-se estudar o perfil fitoquímico e os efeitos da *Mascagnia rigida* por meio dos perfis hematológico e bioquímico, da função e ritmo eletrocardiográfico cardíaco e dos achados anatomopatológicos utilizando o coelho como modelo experimental.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 *Mascagnia rigida* (JUSS) GRISEB

A *Mascagnia rigida* (Figura 1) é uma liana pertencente à família Malpighiaceae. Suas folhas são elípticas, levemente apiculadas, glabras e pecioladas (Figura 1A). Ocasionalmente apresenta glândulas no segundo par de nervuras em sua face abaxial (Figura 1C) (Grisebach, 1858). As inflorescências são em racemos axilares ou terminais, com pétalas amarelas e parte central avermelhada, estriadas, subíntegras. Os cálices não têm pêlos e são formados por cinco sépalas, quatro das quais apresentam um par de glândulas na parte dorsal. Seu fruto é samariforme (Figura 1K), com alas bilaterais em forma de trapézio arredondadas e crista dorsal

breve, de coloração acastanhada (Figura 2D) (Marques et al., 2006).

O seu habitat compreende o agreste e o sertão, mas desenvolve-se, sobretudo, nos locais mais frescos. Na mata, os ramos de *Mascagnia sp.* se estendem sobre a copa das árvores, ficando fora do alcance do gado. Os bovinos ingerem as folhas dessa trepadeira quando esta é encontrada em capoeiras e em locais de desmatamento recente, onde ocorre muita brotação da planta (Gava et al., 1998) ou na época da seca, quando suas folhas caem no solo, facilitando o acesso (Vasconcelos et al., 2008b).

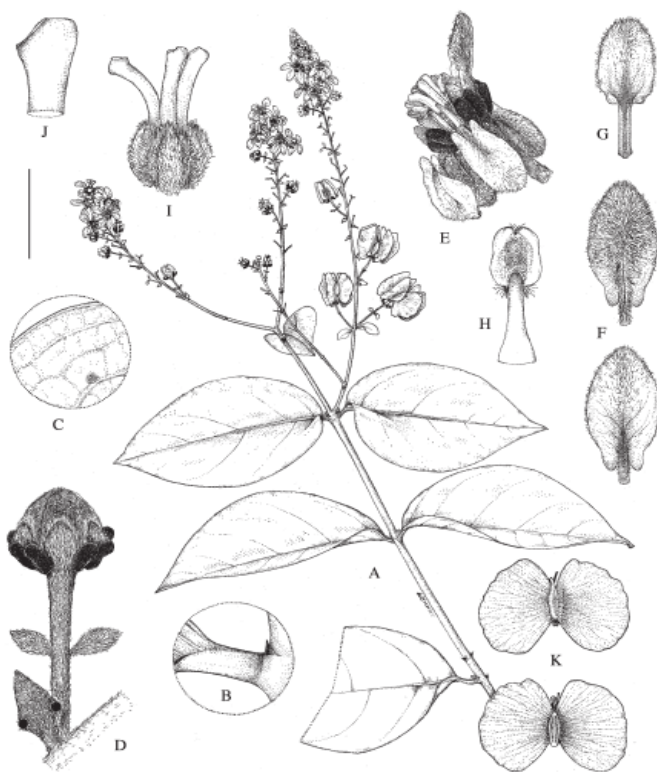


Figura 1 – *Mascagnia rigida*. A – ramo com flores e frutos imaturos. B – pecíolo. C – face abaxial da lâmina demonstrando a glândula. D – botão de flor. E – flor, vista lateral, com a pétala posterior em cima. F – pétala lateral, vista abaxial e adaxial. G – pétala posterior, vista adaxial. H – estame, vista abaxial. I – gineceu vista lateral esquerda. J – vértice. K – sâmara, vista abaxial e adaxial (Fonte: Anderson, 2006).



Figura 2 – *Mascagnia rigida* em vários estágios: A- brotação; B- floração; C- frutificação; D – maturação (fruto maduro; observar formato bialado).

Alguns autores acreditam que, provavelmente a fase mais crítica para os animais se intoxicarem é durante a fase de brotação (Figura 2A). Durante as primeiras chuvas, quando as pastagens ainda não brotaram, a *Mascagnia sp.* já está com grande quantidade de brotos, devido seu sistema radicular muito desenvolvido. A brotação também pode ocorrer após queimadas, também considerado um período de maior número de casos de intoxicação (Tokarnia et al., 2000; Vasconcelos et al., 2008b). Entretanto, Santos (1975) atribuiu maior toxicidade aos brotos devido ao seu metabolismo mais ativo.

Cobucci et al. (2009a), após a realização de estudos fitoquímicos dos brotos e das folhas maduras da *Mascagnia rigida* relataram a presença de taninos

condensados somente nas folhas maduras, sugerindo que a ausência de taninos nos brotos poderia levar a um maior consumo desses pelos animais devido a uma melhor palatabilidade.

De forma diferente, Tokarnia et al. (1987) demonstraram uma grande toxicidade dos frutos da *Mascagnia sp.* e que, estes dessecados apresentam uma toxicidade muito maior (cerca de 20 vezes) do que folhas dessecadas. Os autores utilizaram o coelho como modelo experimental, determinando uma dose letal para as folhas de 0,25g/kg. Também foi relatada a grande variação da toxicidade de *Mascagnia sp.* em um estudo com coelhos intoxicados experimentalmente, cujas doses variaram de 1 a 12g/kg de folhas maduras e brotos (Tokarnia et al., 1998).

Até o momento, apesar dos vários experimentos realizados, não se conseguiu determinar a dose letal para bovinos e caprinos, devido à grande variabilidade dos resultados.

2.1.1 Distribuição geográfica

A distribuição geográfica das diferentes espécies tóxicas é um dado importante para o diagnóstico das intoxicações por plantas (Vasconcelos et al., 2008a). *Mascagnia rigida* Griseb., cipó ou arbusto escandente da família Malpighiaceae (Silva et al., 2008b) é a planta tóxica mais conhecida, difundida e importante de Minas Gerais, principalmente no norte e nordeste do Estado, onde é conhecida popularmente como “salsa-rosa” e “suma-roxa” (Melo, 2006).



Figura 3 – Distribuição da planta *Mascagnia rigida* no território brasileiro (área rachurada) (Fonte: Tokarnia et al., 2000).

Também ocorre em grande parte da região nordeste do Brasil, principalmente no Ceará onde é conhecida popularmente como “tinguí”, “timbó” ou “pela-bucho”. Nesta região, essa planta já foi considerada uma das mais frequentemente apontada pelos criadores como sendo tóxica para o gado (Tokarnia et al., 1961). É encontrada na região nordeste e parte da região sudeste do Brasil – desde o Piauí até o sul da

Bahia, estendendo-se para o nordeste de Minas Gerais e norte do Espírito Santo (Cunha, 2008), conforme ilustrado na Figura 3.

2.1.2 Espécies acometidas

Sob condições naturais, a intoxicação por *M. rigida* ocorre principalmente em bovinos (Tokarnia et al, 1994; Medeiros et al., 2002; Silva et al., 2006; Riet-Correa et al., 2007; Silva et al., 2008b), mas também tem sido descrita em caprinos (Oliveira et al., 1978; Vasconcelos et al., 2008b), ovinos (Soto-Blanco et al., 2007; Silva et al., 2008b; Vasconcelos et al., 2008b) e jumentos (Silva et al., 2006).

Experimentalmente, *M. rigida* se mostrou tóxica para bovinos (Tokarnia et al., 1961; Tokarnia et al., 1994; Santos, 1975), caprinos (Paraguassú, 1983; Pinheiro et al., 1996; Vasconcelos et al., 2008b), ovinos (Soto-Blanco et al., 2007; Lago et al., 2009; Vasconcelos et al., 2008b), coelhos (Tokarnia et al., 1987; Batatinha et al., 1988; Tokarnia et al., 1998; Medeiros et al., 2002; Silveira et al., 2006; Vasconcelos et al., 2008a; Cobucci et al., 2009b), ratos (Cunha, 2008) e camundongos (Melo et al., 2008).

2.1.3 Propriedades tóxicas

A toxidez das plantas não é constante e uniforme e varia amplamente de acordo com as suas propriedades químicas (Osweiler, 1998), as quais são afetadas por diversos fatores (Cheeke, 1998). O isolamento e purificação dos princípios ativos desejados são dificultados por vários interferentes, entre eles a multiplicidade dos constituintes químicos das plantas e ocorrência de pequenas quantidades de compostos interessantes concomitantemente com grandes quantidades de constituintes já conhecidos e muito comuns (Matos,

1988). Algumas destas dificuldades estão condicionadas à própria natureza da planta como ser vivo em constante dinamismo químico, outras ao grau de precisão das técnicas utilizadas pelo pesquisador. No primeiro caso, estão as variações de composição devida a influências das mudanças estacionais, do clima, do solo, e algumas vezes, até da duração da iluminação solar (Matos, 1988; Melo, 2006; Melo et al., 2008; Silva et al., 2008b). Além disso, a sensibilidade individual também contribui para o quadro de intoxicação por plantas.

Algumas plantas apresentam toxidez apenas em certas condições de administração ou em certas localidades (Pupo, 1984; Cheeke, 1998), como no caso da *M. rigida* do agreste, mais tóxica que a encontrada no sertão (Medeiros et al. 2002; Vasconcelos et al., 2008a) provavelmente devido a composição do solo. Há outras cuja ação tóxica é de efeito cumulativo; neste caso a ingestão de certa quantidade pode não causar danos, fazendo com que o leigo julgue-a inofensiva, até que um dia apareça um animal morto por tê-la comido em doses maiores ou intervalos menores (Pupo, 1984; Cheeke, 1998). Alguns experimentos sugeriram que a *M. rigida* tenha esse efeito cumulativo (Melo et al., 2008; Silva et al., 2008b).

A identificação do princípio ativo de uma planta tóxica é muito importante, pois propicia o desenvolvimento adequado de procedimentos terapêuticos, bem como auxilia no desenvolvimento de técnicas profiláticas (Barbosa et al., 2007).

Os compostos produzidos pelos vegetais são classificados em dois grupos: os metabólitos primários, tais como carboidratos, aminoácidos e lipídeos; e os metabólitos secundários que são compostos elaborados a partir da síntese

dos metabólitos primários, tais como compostos fenólicos, terpenóides, óleos essenciais e alcalóides, entre outros. São esses compostos os responsáveis pelos efeitos medicinais ou tóxicos das plantas e eles apresentam grande importância ecológica, uma vez que podem atuar na atração de polinizadores ou representar uma defesa química contra estresse ambiental (Baladrin et al., 1985; Di Stasi, 1995).

Quanto ao estudo fitoquímico, Nascimento e Habermehl (1995) isolaram das folhas de *M. aff. rigida* dois glicosídeos nafto- γ -pirona. Saad et al. (1970), ao estudarem outra espécie de *Mascagnia* (*M. pubiflora*), relataram a presença de glicosídeos cardioativos quimicamente positivos para açúcares desoxi e para núcleo esteroidal. Foram isoladas cromonas da *M. rigida*, mas provavelmente estas não são as responsáveis pelas intoxicações (Riet-Correa et al., 2006a).

Melo et al. (2008) fracionaram o extrato aquoso de *M. rigida* em quatro classes químicas: taninos, saponinas, flavanóides e alcalóides, administrando-as para camundongos durante sete dias consecutivos. A fração de alcalóides de *M. rigida* nas doses de 18 e 27g/kg foram capazes de causar um aumento de cerca de 80% de CK-MB em camundongos experimentalmente intoxicados. Saponinas na dose de 9 e 18g/kg causaram um aumento de cerca de 70% de CK-MB. Os autores concluíram que não só estas frações seriam necessárias para causar a lesão das células musculares esqueléticas e cardíacas, mas todas as frações encontradas no estudo fitoquímico atuavam sinergicamente.

Cobucci et al. (2009a) compararam a composição fitoquímica de dois extratos de *M. rigida*, um confeccionado com brotos e outro com folhas maduras pelos

métodos de espectrometria de infravermelho e prospecção de constituintes químicos. À exceção do tanino presente no extrato de brotos, todos os demais grupos químicos (saponinas, flavanóides e alcalóides) foram evidenciados em ambos os extratos.

Taninos são polifenóis utilizados como defesa química contra microorganismos patogênicos e herbívoros por causarem diminuição da palatabilidade e dificuldade na digestão. Os flavanóides possuem várias atividades farmacológicas (Wang et al., 2004) e são constituintes também da *M. pubiflora* (Nascimento, 1995). Lago (2007) afirmou que os flavanóides, provavelmente, teriam pouco envolvimento na toxicidade da *M. rigida* e que as micções freqüentes observadas nos ovinos intoxicados poderiam estar relacionadas ao seu efeito diurético.

As saponinas são de grande importância toxicológica, consideradas como sendo o princípio tóxico de várias plantas de interesse agropecuário. São de difícil absorção e seus efeitos tóxicos ocorrem geralmente no trato digestivo (Radostits et al., 2000; Haraguchi et al., 2006; Villar e Diaz, 2006;). Esses compostos são heterosídeos nos quais açúcares solúveis estão ligados a um radical denominado aglicona, que pode ser um esteróide (saponina esteroidal) ou um triterpeno (saponina triterpênica). Formam espuma quando agitadas em água e possuem atividades irritantes e hemolíticas devido à sua estrutura química (Robbers et al., 1996; Schenkel et al., 2001). As triterpênicas são as saponinas mais abundantes e sua ação lipofílica facilita a complexação com fosfolipídeos de membranas celulares, alterando a permeabilidade das mesmas ou até causando a sua destruição (Schenkel et al., 2001). Além dos efeitos no trato digestivo, onde podem causar

diminuição da ingestão de alimentos e inibição das contrações ruminais, há evidências de que dependendo da sua concentração na planta e do grau de hidrólise gastrointestinal elas podem ser absorvidas e causar efeitos sistêmicos (Radostits et al., 2000).

Alcalóides são compostos heterocíclicos nitrogenados, geralmente de caráter alcalino, sendo que os terciários são dotados de diversas atividades farmacológicas e são princípios tóxicos de muitas plantas (Ramos et al., 1998; Vilar e Diaz, 2006), enquanto os quaternários têm menor importância toxicológica (Costa, 1986). Saad et al. (1970) não conseguiram isolar alcalóides da *M. pubiflora*. Entretanto, Lago (2007) realizou o estudo fitoquímico da *M. rigida*, pesquisando vários grupos por meio das técnicas descritas por Dantas-Barros e Paiva (1988) e Costa (1986), detectando os alcalóides quaternários.

2.1.4 Sinais clínicos da intoxicação

As intoxicações por *Mascagnia rigida* ocorrem principalmente no início do período chuvoso (Riet-Correa et al., 2007), principalmente em agosto e setembro, época de brotação da planta. Fato interessante relatado pelos criadores e por alguns autores é que os animais ingerem a planta e não apresentam sinais clínicos a menos que sejam exercitados (Tokarnia et al., 1961; Paraguassú, 1983; Tokarnia et al., 2001).

Isto quer dizer que, se um rebanho estiver em uma pastagem infestada pela planta e for retirado para outra pastagem distante, é provável que ocorram casos de morte súbita durante a caminhada. Se bovinos forem deslocados para outro local próximo onde a planta não esteja presente sem provocar muito esforço físico, os animais podem se desintoxicar em cerca de duas semanas; após este período, os bovinos poderiam ser

movimentados normalmente sem apresentarem sinais de intoxicação (Riet-Correa et al., 2007). Não foram encontrados trabalhos que relacionassem a presença ou não de resíduos da planta em produtos de origem animal e o tempo de carência para abate.

Alguns autores demonstraram a influência do exercício físico sobre a precipitação dos sinais clínicos causados pela intoxicação por *M. rigida* (Tokarnia et al., 1961; Santos, 1975; Tokarnia et al., 1994; Pereira et al., 1996; Medeiros et al., 2002; Riet-Correa et al., 2006a; Silva et al., 2008b). Entretanto, Lago (2007) não conseguiu demonstrar que a movimentação dos animais foi um fator capaz de desencadear a morte.

O exercício físico é importante para a ocorrência da morte (Santos, 1975), mas o grau de intoxicação é que determina o quanto de esforço físico será necessário para que o animal morra, sugerindo que a combinação destes dois fatores, que por sua vez dependem de outros, possa ser essencial para desencadear a morte. Lago et al. (2009) afirmaram que a redução relativa do fluxo coronário em situações de grande exercício físico pelo aumento da frequência cardíaca poderia levar à baixa oxigenação do miocárdio e isso poderia ser um possível mecanismo de morte súbita em animais gravemente intoxicados.

Há grande variabilidade na dose capaz de intoxicar as várias espécies susceptíveis (Tokarnia et al., 1961; Paraguassú, 1983; Tokarnia et al., 1994; Medeiros et al., 2002; Riet-Correa et al., 2006a). Existe também variação na ocorrência de intoxicação entre animais da mesma espécie, entre regiões e entre fazendas da mesma região (Riet-Correa et al., 2006a). Até o momento não foi determinada a dose letal para bovinos e caprinos, pois quantidades muito maiores que aquelas que mataram certos

animais não causaram a morte em outros (Tokarnia et al., 1961; Santos, 1975; Tokarnia et al., 1994).

Tokarnia et al. (1961) observaram dois casos de morte súbita durante exercício em bovinos que permaneceram 31 dias em pastagens onde havia *M. rigida* e realizaram 13 experimentos com 11 bovinos. Utilizando doses por via oral e períodos variáveis, os autores observaram a ocorrência de oito mortes súbitas. A menor dose que causou morte súbita foi 12,5g/kg de folhas maduras e, 21,2g/kg de brotos. A dose única de 50g/kg foi capaz de matar um bovino, porém outro animal sobreviveu com uma dose única de 94g/kg. Um bovino que ingeriu apenas 5g/kg durante três dias teve morte súbita, enquanto que outro que ingeriu a mesma quantidade por 30 dias consecutivos não demonstrou sinais clínicos da intoxicação.

Santos (1975) administrou, durante 30 dias, 4g/kg de *M. rigida* em diferentes estágios de maturação provenientes do município de Pedra Azul (MG). Dos cinco bovinos que receberam as folhas maduras apenas um morreu no 17º dia, enquanto que dos cinco animais que receberam os brotos, apenas dois morreram, no quinto e 13º dia. O intervalo entre o início dos sinais clínicos e a morte foi de dois a três minutos. Os dois animais que receberam a planta seca não apresentaram sinais clínicos de intoxicação. O autor observou presença de muco nas fezes, polaciúria e albuminúria.

Medeiros et al. (2002) descreveram um surto de intoxicação por *M. rigida* em 40 bovinos no agreste da Paraíba, cujos sintomas foram incoordenação motora, tremores e morte de 20 animais. A intoxicação foi reproduzida em coelhos que apresentaram sinais agudos após a ingestão de 1,25 a 5g/kg de *M. rigida*. Entretanto, amostras de *M. rigida* de

outra propriedade onde não estavam ocorrendo mortes também foram colhidas e administradas a três grupos de coelhos nas doses de 5, 10 e 20g/kg. Somente um animal que recebeu a maior dose, morreu. Após estes experimentos, os autores concluíram que a *M. rigida* era a causa da morte na primeira propriedade e demonstraram, mais uma vez, a grande variação da toxicidade da planta.

Tokarnia et al. (1961) intoxicando bovinos experimentalmente com *M. rigida* determinaram como doses letais, 12,5g/kg de folhas maduras e 21,2g/kg de brotos, contrapondo a teoria de que os brotos são mais tóxicos. Vasconcelos et al. (2008a) coletaram amostras de *M. rigida* em uma fazenda onde ocorreram mortes de bovinos e administraram-nas para coelhos, estabelecendo como dose tóxica para essa espécie 10g/kg da planta seca.

Os sinais clínicos da intoxicação em bovinos caracterizam-se em taquicardia, dispnéia, decúbito esternal evoluindo para decúbito lateral, movimentos de pedalagem, opistótono, tremores musculares, vocalizações e morte, podendo ocorrer entre três minutos a duas horas após o início dos sinais clínicos (Tokarnia et al., 1961; Santos, 1975; Tokarnia et al., 1994). Tokarnia et al. (1994) também relataram que bovinos que foram exercitados apresentaram tremores, incoordenação motora e quedas com movimentos de pedalagem, mas esses sinais não foram observados em todos os animais que morreram.

Os sinais clínicos apresentados pelos caprinos intoxicados por *M. rigida* em condições naturais são semelhantes aos descritos em bovinos (Tokarnia et al., 1961; Paraguassú, 1983; Tokarnia et al., 1994; Vasconcelos et al., 2008b). Reproduziu-se o quadro em caprinos intoxicados experimentalmente com

doses de 10, 15 (Pereira et al., 1996) e 20g/kg (Paraguassú, 1983; Pereira et al., 1996; Vasconcelos et al., 2008b). Os principais sinais clínicos observados foram: atonia ruminal, timpanismo, polaciúria, apatia, tremores musculares, resistência ao exercício, dispnéia, quedas, decúbito esterno-abdominal, decúbito lateral, vocalizações, movimentos de pedalagem e morte (Pereira et al., 1996; Vasconcelos et al., 2008b). Alguns animais menos afetados se recuperaram e um caprino que recebeu 41,5g/kg de *M. rigida* não apresentou sinais clínicos (Paraguassú, 1983).

Vasconcelos et al. (2008b) relataram que, caprinos intoxicados naturalmente por *M. rigida* morreram entre três a cinco minutos após o início dos sinais. Os animais que apresentaram relutância em caminhar e foram deixados quietos no campo recuperaram-se entre 24 a 48 horas após o início dos sinais. Na intoxicação experimental, os caprinos morreram após um curso clínico de alguns minutos a 27h40 min.

Em ovinos, os sinais clínicos observados foram apatia, tremores musculares, taquicardia, incoordenação motora, dispnéia, convulsões tônico-clônicas e morte (Soto-Blanco et al. 2007; Silva et al., 2008b). Também foi observado que após o exercício físico imposto à esses animais, houve exacerbação do quadro clínico. A duração do início dos sinais clínicos até a morte variou de três a 22 horas (Silva et al., 2008b). Neste trabalho, a dose letal de *M. rigida* nos ovinos foi 60g/kg de folhas frescas, sendo que doses de até 40g/kg não causaram sinais clínicos. Lago et al. (2009) intoxicaram 10 ovinos com dose de 20g/kg de folhas de *M. rigida*, trituradas com água e administradas via oral durante três e sete dias. Foram observados apatia, intolerância ao exercício físico, aumento da frequência cardíaca em repouso, anorexia,

polaciúria, hipotonia ruminal e morte de um ovino no quinto dia de administração da planta.

O coelho pode ser usado como animal experimental de pequeno porte na continuação dos estudos sobre a ação tóxica da planta (Batatinha et al., 1988; Tokarnia et al., 1987; Tokarnia et al., 1998; Medeiros et al., 2002; Silveira et al., 2006, Cobucci et al., 2009b).

Tokarnia et al. (1987) obtiveram a dose letal para coelhos de 4g/kg de folhas frescas e de 0,125 a 0,5 g/kg de frutos de *M. rigida*. O experimento não permitiu concluir que a procedência da planta, o estado de evolução ou a época do ano da colheita sejam fatores que influenciam a sua toxidez.

Batatinha et al. (1988) estudaram os efeitos dos extratos de *M. rigida* em animais de laboratório. Amostras de folhas dessecadas da planta provenientes do estado da Bahia e outras provenientes do estado do Ceará foram administradas em solução aquosa, através de sonda estomacal a ratos, camundongos, cobaias, hamsters e coelhos. A dose de 4mg/kg não foi capaz de produzir intoxicação nos ratos, camundongos, cobaias ou hamsters. Os autores relataram que somente a amostra proveniente do estado do Ceará foi capaz de intoxicar coelhos, entretanto informaram em sua metodologia que as amostras oriundas do estado da Bahia foram colhidas de plantas somente com folhas maduras, enquanto que as amostras do estado do Ceará eram provenientes de plantas em plena brotação.

Vasconcelos et al. (2008a) estudaram a toxicidade da *M. rigida* fresca recém-coletada ou seca vindas de duas regiões diferentes utilizando 10 coelhos. As doses variaram de 2,5 a 10g/kg de planta na apresentação seca ou fresca, sendo a

dose letal de 10g/kg de planta fresca ou seca. Apenas três animais apresentaram sinais clínicos que se caracterizaram por incoordenação motora, relutância em caminhar, queda, decúbito lateral, apatia, vocalizações, respiração ofegante e, logo em seguida, morte. O intervalo entre o início dos sinais clínicos e a morte foi de uma hora para a planta seca e dez horas para a fresca.

2.1.5 Alterações anatomopatológicas

Na necropsia de animais intoxicados por *M. rigida* não foram descritas lesões significativas (Tokarnia et al., 1961; Santos, 1975; Tokarnia et al., 1991; Tokarnia et al., 1994; Tokarnia et al., 2000; Lago, 2007), exceto em coelhos, que foi observado uma leve evidênciação do padrão lobular hepático (Tokarnia et al., 1987, Vasconcelos et al., 2008a).

Histologicamente, em parte dos casos naturais e experimentais em bovinos, foram constatadas no coração áreas focais de infiltrado linfo-histiocitário no miocárdio, edema e degeneração vacuolar nas fibras (Tokarnia et al., 1961; Tokarnia et al., 1994), aumento da eosinofilia e ocasional picnose dos cardiomiócitos (Tokarnia et al., 1961; Tokarnia et al., 1990), degeneração hidrópico-vacuolar associada à picnose nuclear das células epiteliais de túbulos contorcidos distais renais (Tokarnia et al., 1987; Tokarnia et al., 1994) e vacuolização de hepatócitos (Tokarnia et al., 1961; Tokarnia et al., 1990).

Paraguassú (1983), intoxicando experimentalmente caprinos com *M. rigida* não observou alterações histológicas dignas de nota. Mas na intoxicação natural em caprinos, Vasconcelos et al. (2008b) relataram edema pulmonar moderado, degeneração hidrópico-vacuolar e necrose das células dos túbulos renais, principalmente na região córtico-medular e dilatação e

vacuolização difusa das fibras de Purkinje.

Lago (2007) e Silva et al. (2008b) não encontraram alterações significativas em ovinos intoxicados com *M. rigida*.

O achado de necropsia mais característico em coelhos foi evidência do padrão lobular hepático (Tokarnia et al. 1987; Vasconcelos et al., 2008a). Nos exames histopatológicos, os órgãos principalmente afetados foram fígado, rins e baço, com alterações degenerativas e circulatórias (Tokarnia et al., 1987). Foram observados: discreta vacuolização e necrose individual de hepatócitos, edema e congestão pulmonares e vacuolização do citoplasma das células do epitélio dos túbulos contorcidos distais que também apresentaram núcleo picnótico (Vasconcelos et al., 2008a).

Ratos intoxicados por extratos de *M. rigida* apresentaram congestão, edema e focos de hemorragia cerebral associados à morte neuronal nas seguintes regiões: tronco encefálico, cerebelo, bulbo olfatório, plexo coróide, córtex motor e núcleos da base. No miocárdio havia focos de hemorragia e degeneração de cardiomiócitos. O fígado exibia congestão moderada. A avaliação microscópica dos rins revelou nefrose na região cortical (Cunha, 2008).

2.2 PLANTAS QUE CAUSAM MORTE SÚBITA EM COELHOS

Coelhos que receberam extratos e folhas secas de *Dichapetalum barteri* (0,5g/kg) apresentaram intoxicação aguda. Os sinais clínicos observados foram apatia, convulsões e morte dentro de quatro horas. As lesões de maior significado foram vasculite aguda e congestão do fígado, rim, baço e edema extenso e congestão do miocárdio. O extrato aquoso das folhas foi letal na dose de

0,1g/kg. Detectou-se monofluoroacetato nesta planta e este foi considerado seu principal componente tóxico (Nwude et al., 1977).

O extrato metanólico de *Calycopteris floribunda* também foi capaz de causar morte súbita em coelhos. Este extrato induziu paresia e ataxia na dose de 0,4g/kg, agindo sobre o SNC. Observou-se perda de peso, aumento de alanina aminotransferase (ALT), uréia e colesterol total, com sobrevivência média de três a quatro dias. Doses de 0,6g/kg causaram morte em 24 horas e as mesmas alterações clínicas e hematológicas. Doses de 0,2g/kg induziram paresia e ataxia com recuperação em 24 horas. Os extratos aquosos em doses semelhantes não foram indutores de toxicidade como visto no extrato metanólico e folhas frescas. As alterações patológicas incluíram congestão hepática, renal, pulmonar e epicárdica, congestão maciça com infiltrado de células inflamatórias no endotélio vascular hepático, pulmonar e renal. Foram observadas hemorragias no músculo cardíaco e nos sinusóides hepáticos (Srekanth et al., 2006).

Suspensão aquosa de *Arrabidaea bilabiata* foi administrada a coelhos adultos em doses que variaram de 0,25 a 6,0g/kg. A planta foi coletada em diferentes épocas do ano, sendo que a menor dose de brotos em suspensão aquosa capaz de causar morte súbita foi de 0,5g/kg no fim da época de seca e 1,0g/kg no fim da época chuvosa. Em relação à folha madura, a dose variou de 4,0 a 6,0g/kg, respectivamente. A evolução em todos os casos letais foi superaguda. Clinicamente, os coelhos debatiam-se com força na gaiola, caíam em decúbito lateral ou esternal, apresentavam movimentos de pedalagem, dispnéia acentuada e logo após, morriam. Não foram observadas alterações significativas na macroscopia

e ao exame histopatológico as lesões mais importantes caracterizaram-se por degeneração hidrópico-vacuolar das células epiteliais dos túbulos contorcidos distais renais, vacuolização difusa do citoplasma e necrose de hepatócitos, predominantemente centro-lobular e paracentral e presença de esférulas eosinofílicas nos sinusóides hepáticos, fibras cardíacas com eosinofilia aumentada, além de congestão nos rins, fígado, coração e pulmão. Neste estudo ficou estabelecido que a toxidez de *A. bilabiata* varia de acordo com a época do ano e o estado de maturação, pois essa planta foi mais tóxica no final da seca e em fase de brotação (Jabour et al., 2006).

2.3 CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (HPLC)

A cromatografia é um método físico-químico de separação nos quais os constituintes da amostra são particionados em duas fases, uma estacionária e a outra um fluido insolúvel que percola através da primeira. A fase estacionária empregada pode ser um sólido ou um líquido enquanto que a fase móvel pode ser um fluido líquido, um gás ou um gás supercrítico (acima da temperatura crítica e a altas pressões) (Ciola, 1998).

A grande variedade de combinações entre fases móveis e estacionárias a torna uma técnica extremamente versátil e de grande aplicação. A cromatografia pode ser utilizada para a identificação de compostos através da comparação com padrões previamente existentes, para a purificação de compostos separando as substâncias indesejáveis e para a separação dos componentes de uma mistura (Collins et al., 1993).

Existente a mais de cem anos, a cromatografia atual resulta de grande apuração da sensibilidade, velocidade, exatidão e simplicidade para separação,

identificação e determinação de substâncias. Existem diferentes modalidades de cromatografia e elas são responsáveis por mais de 70% da Química Analítica realizada hoje em dia (Neto e Nunes, 2003).

A cromatografia líquida em colunas utiliza colunas de vidro de diâmetros relativamente grandes que contêm fases estacionárias finamente divididas através das quais percolam as fases móveis através da ação da gravidade. Estes sistemas permitem a separação de misturas bastante complexas. A separação, entretanto é demorada e é necessário exame químico das diversas frações coletadas. Os sistemas de alto desempenho fizeram com que a cromatografia com fase líquida superasse a cromatografia com fase gasosa em termos da preferência dos analistas. Hoje a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) tem as seguintes características: alto poder de resolução, separações rápidas, monitoramento contínuo do eluente, medidas quantitativas acuradas, análises repetitivas e reproduzíveis com a mesma coluna, automação do procedimento analítico e do manuseio dos dados (Mendham et al., 2002).

HPLC é um tipo de cromatografia que emprega uma fase móvel líquida e uma fase estacionária finamente dividida e que, para ter um fluxo razoável, opera a pressões elevadas. Originalmente chamava-se cromatografia líquida de alta pressão e esta terminologia foi abandonada quando se constatou que o diferencial de comportamento desta para as demais cromatografias líquidas não era a maior pressão, mas sim o melhor desempenho cromatográfico (Neto e Nunes, 2003).

Dentre as principais características e vantagens do método HPLC estão: coluna recheada com partículas de

pequeno tamanho (3 a 10mm), alta resolução, análise não destrutiva, velocidade de separação, monitoração contínua do efluente da coluna, medição quantitativa exata, análises repetitivas e reprodutivas com a mesma coluna, automação do procedimento analítico e do tratamento dos dados (Neto e Nunes, 2003).

A HPLC é muito utilizada em pesquisas para determinação de teores, concentrações e novos compostos originados de plantas como, por exemplo, na determinação do teor de cafeína (Camargo e Toledo, 1998), de dosagem de artemisinina em *Artemisia annua L* (Rehder et al., 2002) e determinação de compostos aromáticos em guaraná em pó (Camargo et al., 2006), entre várias outras.

Em relação ao uso da HPLC nos estudos dos constituintes químicos de *M. rigida*, Silveira et al. (2006) e Melo et al. (2008) utilizaram esta técnica demonstrando a presença de taninos, saponinas, alcalóides e flavanóides nesta planta. Cunha (2008) empregou-a na tentativa de isolamento do monofluoroacetato, presente na *Palicourea macgravii*, e suspeito na *Mascagnia rigida*, porém sem sucesso. Cobucci et al. (2009b) utilizaram a HPLC para realizar o estudo fitoquímico da *M. rigida*, relatando a presença de saponinas, alcalóides e flavanóides tanto nos brotos como nas folhas maduras e taninos condensados somente nas folhas maduras.

2.4 ANÁLISES CLÍNICO-PATOLÓGICAS

2.4.1 Hematologia

Coelhos sadios apresentam como característica hematológica a ocorrência de eritrócitos policromáticos e reticulócitos em esfregaços sanguíneos. Policromasia é observada em 2 a 4% dos

eritrócitos e, ocasionalmente, notam-se eritrócitos nucleados e corpúsculos de Howell-Jolly. Sua meia-vida é estimada em 57 a 67 dias (Campbell, 2004).

Segundo Jain (1993), coelhos sadios apresentam de 5,60 a $6,36 \times 10^6$ eritrócitos/ μl , hematócrito de 39,3 a 44,0% e concentração de hemoglobina de 12,4 a 14,2g/dl. Quesenberry (1994) relatou valores de 5,1 a $7,9 \times 10^6$ eritrócitos/ μl , hematócrito de 33,0 a 50,0%, concentração de hemoglobina entre 10,0 a 17,4g/dl, hemoglobina globular média (HGM) de 17,1 a 23,5pg, concentração globular de hemoglobina média (CHGM) de 29 a 37g/dl e volume globular médio (VGM) de 57,8 a 70,4fl.

O número total de leucócitos varia entre 7,02-9,42 (Jain, 1993), 5,2-12,5 (Quesenberry, 1994) e $6,0-10,0 \times 10^3$ leucócitos/ μl (Campbell, 2004). O principal leucócito do coelho é o linfócito, assim como ocorre em bovinos e camundongos. Os “neutrófilos” de coelhos contêm grânulos eosinofílicos, semelhante a um eosinófilo, sendo chamado nesta espécie de heterófilos. Os leucócitos de coelhos apresentam grande variação em função da idade e, juntamente com os métodos de contenção e coleta de sangue, podem alterar a proporção de heterófilos:linfócitos (H:L). Coelhos com 12 meses ou mais jovens apresentam menor proporção H:L que coelhos adultos. Sua proporção de referência é de 35:60 para coelhos adultos (Campbell, 2004).

Respostas induzidas pelo estresse podem reduzir em 15 a 30% a contagem total de leucócitos. Normalmente, eles não desenvolvem leucocitose com infecção bacteriana; no entanto, há inversão da relação H:L (Campbell, 2004).

Segundo Jain (1993), os heterófilos variam de 1,41 a $3,08 \times 10^3$ células/ μl ; os

linfócitos de 4,78 a 6,8 x10³ células/μl; os eosinófilos de 0,03 a 0,05 x10³ células/μl; os monócitos de 0,04 a 0,55 e os basófilos de 0 a 0,43x10³ células/μl. Os coelhos são os únicos animais de laboratório que apresentam basófilos regularmente presentes em modesta quantidade no sangue. Não é incomum encontrar coelhos com 8 a 10% de basófilos e, raramente, contagens acima de 30% podem ser encontradas.

Em relação às plaquetas, o baço de coelhos, assim como o de humanos, contém cerca de 33% das plaquetas sanguíneas armazenadas. Citocinas e contração esplênica podem mobilizar estas plaquetas para a circulação, enquanto que a esplenomegalia pode recrutar um maior número delas (Stockham e Scott, 2002).

2.4.2 Perfil protéico eletroforético

As funções das proteínas no organismo dos animais são inúmeras e incluem a formação da estrutura das células, tecidos e órgãos, manutenção da pressão coloidosmótica, catalisação de reações bioquímicas e tamponamento ácido-básico, além de atuarem na coagulação do sangue, em defesas do hospedeiro contra patógenos, no transporte de metabólitos, na regulação do metabolismo celular, na prevenção de proteólise e na regulação de nitrogênio para a nutrição (Eckersall, 2008).

A eletroforese de proteínas plasmáticas de coelhos em fitas de acetato de celulose origina sete zonas que correspondem a: albumina - transporte e reserva de aminoácidos e metabólitos e manutenção da pressão coloidosmótica; alfa-1a e alfa-1b - proteínas inflamatórias de fase aguda (antitripsina) e proteínas transportadoras (lipoproteínas), alfa-2 - proteínas inflamatórias de fase aguda (haptoglobulina, ceruloplasmina,

macroglobulinas); beta-1 e beta-2 - proteínas transportadoras e proteínas inflamatórias de fase aguda (complemento, transferrina, ferritina, proteína C, hemopexina) e gamaglobulinas (imunoglobulinas - IgA, IgE, IgG e IgM) (Eckersall, 2008).

O perfil eletroforético pode sugerir a ocorrência de processos inflamatórios agudos e crônicos, disfunções hepáticas, perdas protéicas, síndromes nefróticas e alterações de globulinas que ajudam o entendimento de respostas imunológicas. O proteinograma também pode auxiliar no diagnóstico laboratorial de intoxicação, indicando afecções sistêmicas que acarretam em alteração da concentração protéica no organismo. Seu princípio está baseado no conhecimento da química das proteínas e nos fatores que determinam a migração eletroforética, ou seja, carga elétrica e peso molecular (Naoum, 1990; Eckersall, 2008).

A concentração plasmática normal de proteína total de coelhos varia discretamente em função da raça, linhagem e sexo. As proteínas plasmáticas totais (3,73 ± 0,57g/dl) e concentrações de IgG (0,50 ± 0,18g/dl) são baixas ao nascimento e aumentam com a idade. Valores normais de adultos de 12 meses são de 5,5 ± 0,37g/dl e 0,94 ± 0,24g/dl, respectivamente (Oppel et al., 1988).

A albumina representa 40 a 60% do teor plasmático de proteína total em coelhos sadios. Os componentes do traçado eletroforético normal das proteínas do soro de coelhos, inclui, ainda, 5 a 10% de alfa-1-globulina, 5 a 10% de alfa-2-globulina, 5 a 15% de betaglobulina e 5 a 15% de gamaglobulina. A relação albumina:globulinas normal varia de 0,5 a 1,2 (Campbell, 2004) e 1,64 (Kaneko et al., 2008).

2.4.3 Perfil bioquímico muscular

Provas laboratoriais que auxiliam no diagnóstico e acompanhamento de intoxicações com suspeita de envolvimento do sistema cardiovascular incluem a determinação do perfil de enzimas indicadoras de lesão muscular como aspartato aminotransferase (AST), lactato desidrogenase (LDH), creatina quinase (CK) e sua isoenzima MB (CK-MB) e mioglobina (Adamcová et al., 2007).

A aspartato aminotransferase (AST) é uma enzima presente em grandes quantidades nas mitocôndrias dos músculos esqueléticos, coração, rins, cérebro, eritrócitos, pâncreas e hepatócitos (Campbell, 2004). Ocorre liberação de grandes quantidades de AST em processos que afetam músculos e hepatócitos (Tennant, 1997), entretanto, por ser uma enzima mitocondrial e citosólica, necessita de uma lesão celular mais grave para ser liberada na corrente sanguínea (Kramer e Hoffmann, 1997). Pode apresentar-se aumentada em coletas por cardiocentese ou em métodos de contenção que exijam grande esforço do animal (Campbell, 2004). Mader (1997) relatou valores de AST sérica de coelhos entre 14 a 113U/l e Kaneko et al. (2008), um valor de 47 U/l.

A lactato desidrogenase (LDH) foi o primeiro marcador com perfil de isoenzima utilizado na medicina veterinária para detectar lesões específicas. Por ser formada por várias isoenzimas presentes em eritrócitos, hepatócitos, musculatura estriada esquelética, principalmente em músculos de contração rápida, alterações diversas podem levar a aumentos na concentração de LDH total. Apresenta pouca especificidade, motivo pelo qual ela deve ser avaliada em associação a outras enzimas para determinar lesão tecidual,

como a CK (Kramer e Hoffmann, 1997) ou realizar o fracionamento de suas isoenzimas. Em coelhos, os valores plasmáticos descritos na literatura estão entre 34,0 e 129,0 U/l (Mader, 1997) e entre 65,5 a 123,1 U/l segundo Kaneko et al., 2008.

A creatinina quinase (CK) está presente no músculo esquelético, miocárdio e no cérebro e, em menores quantidades, no trato gastrointestinal, útero e bexiga urinária (Camarozano e Henriques, 1996). CK é uma das principais marcadoras de lesão muscular utilizada devido a sua localização específica e atuação no funcionamento do tecido muscular (Cardinet, 1997; Kramer e Hoffmann, 1997; Thompson, 1997) e após lesão da musculatura, CK aumenta mais rapidamente que as enzimas AST e LDH (Campbell, 2004).

A concentração plasmática de CK em coelhos é extremamente elevada quando comparada a de seres humanos, com valores até 10 vezes maiores que o limite superior dos valores da CK humana (Lum, 1979), apresentando maior clearance, menor volume de distribuição e maior meia-vida plasmática (Lefebvre et al., 1993). A CK em coelhos também apresenta a maior atividade por grama de tecido muscular comparada às espécies canina, equina, bovina e ovina (Lefebvre et al., 1992).

O fator que mais afeta a atividade de CK é o estresse e em espécies como o coelho, que sofrem de estresse espontâneo, pode ocorrer aumento plasmático de CK (Lefebvre et al., 1996). Apenas os grandes aumentos de CK têm significância clínica, pois injeções intramusculares, ferimentos e decúbito prolongado tendem a causar pequenos aumentos dessa enzima (Lefebvre et al., 1996; Cardinet, 1997;

Kramer e Hoffmann, 1997; Thompson, 1997). Miopatias de origem nutricional também resultam em aumento da atividade plasmática de CK (Campbell, 2004). Segundo Kaneko et al. (2008), o valor de CK de coelhos sadios é de 544 U/l.

Assim como a LDH, a CK apresenta isoenzimas: CK-MM presente na musculatura estriada esquelética e cardíaca, CK-BB presente no cérebro, e CK-MB que se encontra principalmente no miocárdio (Hetland e Dickstein, 1998; Ooi et al., 2000), constituindo de 20 a 30% do músculo cardíaco humano (Camarozano e Henriques, 1996). Em mamíferos domésticos há discrepâncias na distribuição tissular das isoenzimas de CK (Cardinet et al., 1997).

A fração MB vem sendo cada vez mais utilizada especificamente para indicar lesões cardíacas em humanos causadas por infarto do miocárdio (Hetland e Dickstein, 1998; Ooi et al., 2000). Quando ocorre necrose do miocárdio, a isoenzima CK-MB começa a ser liberada para o meio extracelular em três horas, e seu pico de concentração na circulação ocorre entre oito e 30h, retornando aos valores basais entre 48 e 72h (Diniz et al., 2007).

Essas enzimas têm diferentes meias-vidas no plasma. Por exemplo, as enzimas AST e CK são de meia-vida curta (Cardinet, 1997; Kramer e Hoffmann, 1997; Thompson, 1997; Thrall, 2007), enquanto a ALT tem uma meia-vida mais longa. Em aves, a meia-vida da LDH foi descrita como sendo de 15 a 30 vezes menor que a da ALT (Lumeij, 2008). A meia-vida da AST na circulação é de cinco a 12 horas. CK e LDH, por serem citosólicas e de tamanho pequeno, conseguem ultrapassar a membrana celular, mesmo que não exista um dano tecidual grande (Kramer e Hoffmann, 1997).

Como algumas enzimas também apresentam grande flutuação, a determinação simultânea de várias enzimas tem sido utilizada para aumentar a sensibilidade da detecção de alterações cardíacas (Thrall, 2007). Entretanto existem limitações, principalmente pela expressão destas proteínas em outros tecidos que não nos cardiomiócitos (Adamcová et al., 2007).

No ano de 1980, cardiologistas desviaram suas atenções das proteínas metabólicas para as miofibrilares e, conseqüentemente para a determinação dos níveis plasmáticos de troponinas cardíacas (Adamcová et al., 2007). O complexo troponina é formado por três subunidades: troponina C, que tem sítio de ligação para o cálcio; troponina T, que interage com filamentos de tropomiosina e a troponina I, componente inibidor. Essas proteínas participam da interação entre actina, miosina e tropomiosina para ocorrer o encurtamento de sarcômeros na fibra muscular, produzindo a contração (Cardinet et al., 1997).

A troponina I (cTnI) é uma subunidade da proteína estrutural muscular, a troponina (Cardinet, 1997). Segundo literatura humana, a cTnI também pode ser empregada no diagnóstico de lesões indetectáveis por métodos enzimáticos convencionais (Bodor et al., 1992; Cupo e Hering, 2002; Meki et al., 2003; Diniz et al., 2007). A cTnI é encontrada tanto no músculo cardíaco quanto no esquelético, porém, em humanos, a proteína do músculo cardíaco é codificada por um gene específico, tendo uma sequência típica de aminoácidos e é altamente correlacionável com a presença de alterações de eletro e ecocardiogramas (Cupo e Hering, 2002). A cTnI é liberada na corrente circulatória de quatro a seis horas após a lesão, e permanece elevada de seis até 10 dias.

A cardioespecificidade da cTnI elimina as preocupações sobre a origem das alterações dos valores séricos de CK e CK-MB e fornece uma avaliação bioquímica de lesão cardíaca que é consistente com a avaliação *in vitro* de disfunção cardíaca (Cupo e Hering, 2002). A avaliação de cTnI em coelhos submetidos ao protocolo farmacológico de isquemia miocárdica induzida revelaram alto grau de similaridade dessa proteína em relação à humana, apresentando reação cruzada em testes comerciais humanos que utilizam anticorpos monoclonais contra a cTnI. As concentrações plasmáticas de cTnI encontradas foram de até 2ng/ml (Pinelli et al., 2002).

2.4.5 Perfil bioquímico hepático

As atividades da ALT no fígado e músculo cardíaco de coelhos são semelhantes; no entanto, o aumento da atividade plasmática de ALT é considerado indicador específico de doença hepática nesta espécie. É interessante notar que a atividade hepática de ALT de coelhos corresponde a um valor que é menos da metade do de cães (Campbell, 2004).

Esta enzima apresenta alta concentração citoplasmática, aumentando rapidamente em qualquer lesão que destrua ou apenas aumente a permeabilidade celular. A intensidade desse aumento relaciona-se com o número de células envolvidas, e não com a gravidade da lesão, sendo que mesmo uma lesão que não cause morte celular pode levar à liberação da enzima na corrente sanguínea. Em casos de necrose hepatocelular aguda, acentuada, a sua elevação é imediata (24 a 48 horas) e nas lesões obstrutivas seu aumento é menor e gradual. Possui meia vida de 2,5 dias nos cães e em torno de cinco dias nos gatos (Kramer e Hoffmann, 1997; Tennant, 1997). Seus valores de referência para coelhos sadios são de 48

a 80U/l (Mader, 1997) e 79U/l (Kaneko et al., 2008).

Os coelhos são os únicos animais a apresentarem três isoenzimas da fosfatase alcalina (FA): uma forma intestinal e duas formas hepática/renal, em comparação com as formas intestinal e hepática/renal/óssea encontradas em mamíferos, exceto em primatas. A atividade plasmática normal da fosfatase alcalina (FA) em coelhos varia em função da idade, linhagem e raça do coelho (Campbell, 2004). Em cães e gatos a elevação detectável tem sempre origem hepática, óssea ou induzida por corticosteróides e anticonvulsivantes, apresentando meia vida de cerca de três dias. As outras isoenzimas têm meia vida curta, cerca de seis minutos. Os valores basais de FA para coelhos estão entre 106,02 e 133,80U/l (Kaneko et al., 2008).

2.4.6 Perfil bioquímico renal

Os procedimentos de avaliação laboratorial da função renal de coelhos se assemelham àqueles descritos para roedores e mamíferos domésticos. O teor plasmático de uréia é influenciado pela raça, linhagem e sexo. O catabolismo protéico associado à alta ingestão de proteína na dieta, o exercício vigoroso ou doença aumentam a concentração plasmática de uréia. A fase do dia em que se coleta a amostra de sangue também influencia tal parâmetro, notando-se concentração máxima entre 16 e 20 horas (Campbell, 2004).

A creatinina é filtrada pelos glomérulos renais, sendo a concentração no filtrado glomerular a mesma do plasma, porém ela não é reabsorvida pelos túbulos renais. Portanto, afecções que diminuam a função renal glomerular são identificadas por aumento de creatinina e, posteriormente, de uréia (Finco, 1997). Em coelhos, os teores de uréia e

de creatinina no plasma têm pouca sensibilidade para doença renal, sendo necessária perda de 50 a 75% da função renal antes que se observe aumento da concentração plasmática desses catabólitos (Campbell, 2004). Em coelhos e seres humanos recém-nascidos ocorre reabsorção de creatinina pelos túbulos renais, provavelmente devido ao vazamento através dos túbulos imaturos (Matos et al., 1998).

Valores de referência de uréia e creatinina de coelhos saudáveis descritos por Mader (1997) variaram de 13 a 29mg/dl e 0,5 a 2,5mg/dl, respectivamente. Kaneko et al. (2008) relataram valores de uréia entre 11,3 a 17,3mg/dl e creatinina entre 0,8 a 2,57mg/dl.

2.5 SEDAÇÃO E ECODOPPLERCARDIOGRAFIA

A ecocardiografia é um método não-invasivo útil para a avaliação *in vivo* das dimensões e desempenho ventriculares em procedimentos clínicos e experimentais em humanos ou animais (Fontes-Souza et al., 2008). O coelho é um importante modelo para pesquisas cardiovasculares, devido ao seu pequeno porte, mas com tamanho suficiente para realizar todos os testes fisiológicos (Muders e Elsner, 2000).

Alguns fatores dificultam o exame ecoDopplercardiográfico, entre eles os movimentos do próprio animal e os artefatos gerados durante o movimento respiratório (Boon, 1998). Além do mais, o exame ecoDopplercardiográfico de coelhos conscientes é muito difícil, consome muito tempo, necessita de treinamento especial, principalmente com animais de pesquisa ou menos acostumados à manipulação. Vários agentes anestésicos são utilizados para proporcionar sedação e permitir a imobilização para a avaliação

ecoDopplercardiográfica (Vatner e Braunwald, 1975). No entanto, é sabido que vários agentes anestésicos têm efeitos sobre a função cardíaca sistólica (Vatner e Braunwald, 1975; Schaefer et al., 2005; Fontes-Souza et al., 2008), porém informações sobre as alterações provocadas por diferentes protocolos anestésicos na função cardíaca são escassas (Stypmann et al., 2007). Outro fator que altera significativamente as mensurações da função cardíaca sistólica de coelhos, além do tipo de anestesia utilizada (Schaefer et al., 2005; Fontes-Souza et al., 2008), é o período de ação do anestésico e o tempo em que as medidas foram realizadas (Roth et al., 2002), necessitando uma padronização rigorosa nestas avaliações.

Valores de referência para vários parâmetros no modo-M, Doppler e Doppler tecidual foram reportados em coelhos conscientes e em diferentes condições anestésicas (Gan et al., 2004; Fontes-Souza et al., 2006; Stypmann et al., 2007; Fontes-Souza et al., 2008, Pariaut, 2009).

Gan et al. (2004) avaliaram a amplitude e velocidade do movimento do anel mitral em 11 coelhos Nova Zelândia (NZ) machos jovens (três meses) e 10 adultos (12 a 14 meses) sob o protocolo de sedação com 5mg/kg de diazepam intramuscular (IM) e 15mg/kg/minuto de pentobarbital sódico intravenoso (IV), utilizando as técnicas de ecoDopplercardiografia (modo-M e bidimensional) e Doppler tecidual. Os animais mais jovens ($3,0 \pm 0,2$ meses e $2,9 \pm 0,19$ kg) apresentaram valores de FC de 221 ± 21 bpm, diâmetro aórtico de $9,1 \pm 0,7$ mm e diâmetro atrial esquerdo de $10,6 \pm 1,2$ mm. Na sístole, o diâmetro do VE foi de $9,5 \pm 0,7$ mm; na diástole, o diâmetro do VE foi de $15,5 \pm 1,5$ mm, a espessura do septo interventricular de $2,5 \pm 0,9$ mm e parede livre do VE foi de $2,3 \pm 0,4$ mm. As velocidades máximas

do fluxo aórtico foram de $0,74 \pm 0,13$ m/s, pulmonar de $0,55 \pm 0,08$ m/s e mitral de $0,54 \pm 0,08$ m/s. Para os animais adultos ($12,1 \pm 1,5$ meses e $5,3 \pm 0,19$ kg), os valores de FC foram 222 ± 27 bpm. A mensuração do diâmetro aórtico e do diâmetro atrial esquerdo foram de $10,2 \pm 0,7$ mm e $12,1 \pm 0,9$ mm, respectivamente. O diâmetro do VE na sístole foi de $10,8 \pm 1,3$ mm e na diástole, $16,1 \pm 2,3$ mm. A espessura do septo interventricular e da parede livre do VE na diástole foram $3,3 \pm 0,4$ mm e $3,0 \pm 0,6$ mm, respectivamente. As velocidades máximas obtidas foram de $0,67 \pm 0,10$ m/s para o fluxo aórtico, $0,54 \pm 0,05$ m/s para o fluxo pulmonar e $0,54 \pm 0,10$ m/s para o fluxo mitral. Os autores concluíram que, apesar do coração dos animais mais jovens ser menor, a amplitude e a velocidade do anel mitral foram significativamente maiores nesses animais, corroborando com estudos em humanos saudáveis (Wandt et al., 1998), em que há uma diminuição do movimento longitudinal do VE com o passar da idade.

Fontes-Souza et al. (2006) utilizaram 52 coelhos NZ machos adultos saudáveis para obter os valores de referência no modo-M e Doppler sob anestesia com cloridrato de cetamina e medetomidina. A FC média foi de 155 ± 29 bpm. Os valores da espessura do septo interventricular na sístole e na diástole foram de $2,03 \pm 0,37$ mm e $3,05 \pm 0,45$ mm, respectivamente. O diâmetro interno do ventrículo esquerdo (VE) na sístole foi de $14,37 \pm 1,49$ mm e na diástole de $10,25 \pm 1,22$ mm, a espessura da parede livre do VE na sístole foi de $2,16 \pm 0,25$ mm e na diástole de $3,48 \pm 0,55$ mm. Foram obtidos valores de $1,17 \pm 0,14$ para a relação átrio esquerdo-aorta (AE/AO), $30,13 \pm 2,98\%$ para a $\% \Delta D$ e $61,29 \pm 4,66\%$ para a FE. As velocidades máximas do fluxo aórtico e pulmonar foram $0,85 \pm 0,11$ m/s e $0,59 \pm 0,10$ m/s, respectivamente.

Stypmann et al. (2007) utilizaram 10 coelhos machos e 10 fêmeas da raça NZ, com 16 semanas de idade para avaliação da função cardíaca de animais sem anestesia e sob o protocolo de cloridrato de cetamina (50 mg/kg IM) e xilazina (4 mg/kg IM). Os animais passaram por um processo de adaptação ao exame sem sedação para minimizar o estresse. Nos coelhos não-anestesiados, a FC observada foi de 234 ± 26 bpm, a $\% \Delta D$ de $34,5 \pm 4,9\%$ e a FE $54 \pm 9\%$, obtida segundo a fórmula de Simpson. O diâmetro do VE obtido na sístole foi de $1,009 \pm 0,091$ cm e na diástole de $1,540 \pm 0,112$ cm, espessura da parede livre do VE na diástole de $0,274 \pm 0,041$ cm, velocidade máxima do fluxo aórtico de $74,9 \pm 19,5$ cm/s e volume ejetado de $1,80 \pm 0,46$ ml. Em animais anestesiados a FC observada foi de 198 ± 37 bpm, $\% \Delta D$ $28,5 \pm 3,8\%$ e FE de $53 \pm 9\%$. O diâmetro do VE obtido na sístole foi de $1,480 \pm 0,081$ cm e na diástole de $1,074 \pm 0,089$ cm, espessura da parede livre do VE em diástole de $0,267 \pm 0,047$ cm, velocidade máxima do fluxo aórtico de $72,3 \pm 17,0$ cm/s e volume ejetado de $1,60 \pm 0,60$ ml. Os autores observaram uma menor FC nos animais anestesiados (198 ± 37 vs. 234 ± 26 bpm). A fração de encurtamento ($\% \Delta D$) foi 17,4% menor durante a anestesia comparado aos acordados, principalmente devido um aumento do diâmetro interno do ventrículo esquerdo (VE) na sístole (+6,4%). Em alguns animais anestesiados (3/20) a relação onda E/A estava invertida, demonstrando prejuízos à função diastólica do VE. Não foram encontradas diferenças de mensurações estruturais entre os grupos, mas a fração de ejeção (FE) e o débito cardíaco diminuíram significativamente sob narcose, assim como a velocidade máxima da onda E e A mitral.

Fontes-Souza et al. (2008) utilizaram 26 coelhos NZ machos adultos (16 a 20 semanas) com o protocolo anestésico de

cloridrato de cetamina (20mg/kg) e maleato de midazolam (2mg/kg) SC para analisar 32 mensurações ecoDopplercardiográficas (modo-M, bidimensional, Doppler e Doppler tecidual). A FC média foi de 262 ± 37 bpm e se manteve estável durante o exame. A espessura do septo interventricular foi de $3,63 \pm 0,34$ mm na sístole e $2,65 \pm 0,31$ mm na diástole; o diâmetro do VE foi de $8,64 \pm 0,82$ mm na sístole e $13,51 \pm 1,05$ mm na diástole; a parede livre do VE na diástole foi de $2,25 \pm 0,29$ mm. A FE foi de $69,58 \pm 5,33\%$, segundo a fórmula cúbica, e a $\% \Delta D$ de $36,01 \pm 4,31\%$. O diâmetro aórtico obtido foi $6,57 \pm 0,46$ mm, diâmetro do átrio esquerdo de $7,49 \pm 1,14$ mm e a relação AE/AO de $1,15 \pm 0,19$. Os autores não realizaram o exame previamente em animais não anestesiados, comparando os índices com os já obtidos em literatura ou com outros protocolos anestésico-sedativos; assim, concluíram que o protocolo é uma boa alternativa quando a sedação é necessária, não provocando alterações nos valores ecocardiográficos.

Pariaut (2009) realizou exames ecocardiográficos de coelhos anestesiados, não informando o protocolo ou número de animais utilizados, relatando valores da espessura do septo interventricular na sístole de $3,05 \pm 0,45$ mm e na diástole de $2,03 \pm 0,37$ mm; parede livre do VE na sístole de $3,48 \pm 0,45$ mm e na diástole de $2,16 \pm 0,25$ mm e diâmetro do VE na sístole de $10,05 \pm 1,22$ mm e na diástole de $14,37 \pm 1,49$ mm. Foram calculados também os valores da FE em $30,13 \pm 2,93\%$ e o diâmetro da aorta em $8,26 \pm 0,76$ mm, diâmetro do átrio esquerdo em $9,66 \pm 1,14$ mm e a relação AE/AO de $1,17 \pm 0,14$.

Pariaut (2009) observou que o átrio esquerdo e direito de coelhos são comparáveis em tamanho e as artérias

aorta e pulmonar principal têm diâmetros similares, semelhantemente ao observado nos demais mamíferos. A relação AE/AO de coelhos calculada por este autor foi de 1,0 a 1,5.

2.6 EXAME ELETROCARDIOGRÁFICO

O eletrocardiograma (ECG) é o exame mais comumente utilizado para o diagnóstico de alterações elétricas do coração (Tilley, 1992). As principais indicações do seu uso são: mensurar a frequência cardíaca, registrar e avaliar o ritmo cardíaco caracterizando as arritmias; verificar se toda onda P é seguida de um complexo QRS e permitir avaliar sua normalidade; registrar, reconhecer, mensurar e analisar as ondas P, T e o complexo QRS bem como monitorar os batimentos cardíacos durante procedimentos cirúrgicos e ainda estudar a influência do exercício e de substâncias químicas sobre o funcionamento cardíaco (Mir et al., 2000).

Os primeiros registros eletrocardiográficos no Brasil envolvendo o gênero *Mascagnia* foram realizados por Saad et al. (1970), que administraram *M. pubiflora* a quatro cobaias ($\frac{1}{2}$ da dose letal [DL – 8g/kg], DL, 1,5 DL e 2DL). A cobaia que recebeu $\frac{1}{2}$ DL não teve alterações do traçado. A cobaia que iria receber 2DL foi descartada, pois apresentou inversão de onda T previamente à intoxicação. As cobaias que receberam DL e 1,5DL apresentaram sinais de intoxicação, manifestados por alterações na onda T, considerado pelas autoras como similar a um coração isquêmico, compatível com lesões do miocárdio. O complexo QRS apresentou aumento na onda Q, aumento na onda S e supradesnivelamento do segmento ST. A que recebeu 1,5DL apresentou arritmia do tipo ventricular com decréscimo progressivo da onda S,

com diminuição progressiva da condição animal, sendo que o animal entrou em fibrilação cardíaca assim que se iniciou uma convulsão, ocorrendo à morte logo em seguida.

Silveira et al. (2006) utilizaram cinco coelhos NZ, machos adultos, para avaliar os efeitos das frações fitoquímicas (taninos, flavanóides, alcalóides e saponinas) no ECG. Os animais foram submetidos ao eletrocardiograma as seis e 54 horas após o início do experimento. No primeiro ECG, seis horas após, os animais que receberam as frações de alcalóides, flavanóides e taninos apresentaram fenestração de onda R descendente e supradesnivelamento de segmento ST. No segundo ECG, 54 horas após, os animais que receberam alcalóides e taninos continuaram a manifestar as mesmas alterações, sendo que o supradesnivelamento de segmento ST passou de 0,05mV para 0,20mV nos animais que receberam a fração de taninos. Estas alterações eletrocardiográficas são normalmente observadas em situações de hipóxia, infarto agudo do miocárdio e diminuição dos níveis de potássio. Como as frações de alcalóides, taninos e flavonóides causaram alterações eletrocardiográficas nos coelhos, os autores acreditam que as diferentes frações isoladas da *M. rigida* poderiam agir em sinergismo, sendo responsáveis pelas alterações cardíacas.

Lago et al. (2009) avaliaram ovinos intoxicados experimentalmente com 20g/kg de extrato aquoso de *M. rigida* durante três e sete dias através de exames eletrocardiográficos diários até o sétimo dia. Não foram observadas alterações que caracterizassem arritmias ou afecções que indicassem alterações no sistema de condução cardíaco, mas ocorreu um aumento significativo da frequência cardíaca 10 minutos após o exercício nos dois protocolos seguidos.

Como particularidade de espécies com frequência cardíaca (FC) alta e ciclo cardíaco curto, como os coelhos, no ECG destas espécies a onda T (ou U, se presente) não retorna a linha isoeletrica, aproximando-se da onda P. Liu et al. (2000) utilizam o método de extrapolação manual da onda T (ou U), que vai até a linha isoeletrica virtual sob a onda P (Liu et al., 2000), sendo este método também recomendado por Farkas et al. (2004). Quando a onda U está presente, o intervalo QU passa a corresponder a duração do potencial de ação ventricular (Ritsema van Eck et al., 2003).

O uso da onda P e do complexo QRS para avaliar mudanças na morfologia cardíaca, como dilatação ou hipertrofia de câmaras cardíacas, não é recomendado, pois pouco se sabe sobre as alterações eletrocardiográficas associadas a doenças cardíacas em coelho (Pariat, 2009) e, em seres humanos, este exame não é sensível na avaliação de câmaras cardíacas, devendo ser utilizado a ecoDopplercardiografia ou radiografia para esta finalidade.

Cães cardiopatas apresentam aumento do intervalo QT, provocado substancialmente pela alteração do complexo QRS, que se prolonga (Koyama et al., 2004). O aumento do QT em seres humanos está correlacionado à disfunção ventricular esquerda e diminuição da fração de encurtamento (Davey et al., 2000). Em coelhos, o intervalo QT(U) prolongado está estatisticamente associado aos efeitos pró-arrítmicos de certas drogas que geram uma arritmia com risco de morte, chamada *torsade de pointes* (Carlsson et al., 1990; Farkas et al., 1998; Lu et al., 2000; Mazur et al., 1999).

2.7 EXAME ELETROCARDIOGRÁFICO CONTÍNUO (HOLTER)

Infelizmente, o ECG realizado durante o exame físico tem limitada habilidade em detectar certas arritmias, pois é realizado em repouso e por curto período de tempo (Miller et al., 1999; Cote e Ettinger, 2005). Dessa forma, a eletrocardiografia ambulatorial por longo período (ou monitorização Holter) consiste no teste não invasivo ideal para demonstrar e quantificar a frequência e a complexidade de arritmias por longos períodos (Sisson et al., 1999; Nogueira et al., 2006).

O registro eletrocardiográfico contínuo (Holter) constitui-se em uma modalidade de diagnóstico não-invasiva, comumente utilizada em medicina humana para avaliar o ritmo cardíaco em várias situações (Leomil Neto et al., 2002). O Holter é a monitorização cardíaca durante 24 horas que fornece detalhes do ritmo cardíaco do paciente, o número total e o tipo de complexos anormais, assim como o período específico do dia em que ocorreram. O clínico pode avaliar as variações de comportamento do animal no período de registro (Möise e Defrancesco, 1995; Côté et al., 1999; Meurs et al., 2001; Snyder et al., 2001), correlacionando o resultado do exame com os sinais clínicos manifestados em cada momento (Leomil Neto et al., 2002).

O Holter aumenta drasticamente a habilidade do clínico em: detectar distúrbios do ritmo cardíaco, particularmente de eventos transientes; quantificar a frequência e complexidade dos distúrbios do ritmo cardíaco; correlacionar essas anormalidades com os sinais clínicos e avaliar a eficácia do tratamento antiarrítmico. Em medicina veterinária o Holter é indicado para o diagnóstico de possíveis arritmias em pacientes com síncope, isquemia do miocárdio ou cardiomiopatias. Mesmo se o episódio de síncope não ocorrer durante o registro do Holter, informações sobre o ritmo cardíaco podem ser de grande valia para elucidar a sua causa. Tratando-se de arritmias, a monitorização pelo Holter é útil na avaliação da malignidade e frequência de arritmias atriais e ventriculares paroxísticas (Miller e Calvert, 1992).

Alguns estudos já foram realizados utilizando o sistema Holter para avaliação do sistema de condução cardíaco em modelos experimentais leporinos (Pogwizd, 1995; Opthof et al., 2000; McCue et al., 2008) e demonstraram sensibilidade do exame em detectar arritmias em coelhos.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFMG (CETEA), sob o protocolo número 187/08 em 12 de novembro de 2008 (certificado em anexo). A planta utilizada neste experimento foi coletada

nos Canteiros de Plantas Tóxicas da Escola de Veterinária da UFMG (Figura 4), tendo exsicata de referência própria depositada no Herbário de Botânica do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da UFMG, sob o número BHCB 100819.



Figura 4 – Arbusto de *Mascagnia rigida* do canteiro de Plantas Tóxicas da Escola de Veterinária da UFMG.

3.1 EXPERIMENTO-PILOTO

3.1.1 Protocolo de sedação

A velocidade de processamento dos aparelhos de ecoDopplercardiografia alteram significativamente a qualidade da imagem obtida durante o exame. Outro fator envolvido é a frequência cardíaca. Em coelhos, a frequência cardíaca em repouso é 218 ± 4 bpm (Marano et al., 1996), mas essa pode se apresentar bastante elevada nos animais não acostumados à manipulação, dificultando a mensuração ecocardiográfica (Pennock et al., 1997). Diante disso, o objetivo desse piloto foi determinar o melhor protocolo de sedação para realização do exame ecoDopplercardiográfico com menor

interferência nas mensurações da função cardíaca.

Dois protocolos de sedação descritos na literatura foram avaliados: protocolo nº1 (Flecknell et al., 2007) e protocolo nº2 (Fontes-Souza et al., 2008).

Foram utilizados 20 coelhos Nova Zelândia (NZ) brancos, com cinco meses de idade, massa corporal média de 3,2kg, divididos em dois grupos de 10 animais cada (G1 e G2):

G1- 2mg/kg de maleato de midazolam e 20mg/kg de cloridrato de cetamina SC (Fontes-Souza et al., 2008).

G2- 1mg/kg de maleato de midazolam IM (Flecknell et al., 2007).

Todos os procedimentos ecoDopplercardiográficos foram realizados conforme descrito por Stypmann et al. (2007) e Fontes-Souza et al. (2008) para coelhos seguindo as recomendações da Sociedade Americana de Ecocardiografia. Para a realização do exame de ecoDopplercardiografia, os animais tiveram seus olhos vendados, aguardando um período de 10 minutos após sedação para início das mensurações. O animal foi posicionado em decúbito lateral, utilizando-se as regiões paraesternais direita e esquerda, do terceiro ao sexto espaços intercostais, sendo este posicionamento bastante utilizado nas pesquisas com coelhos (Thomas et al., 1993, Pennock et al., 1997; Gan et al., 2000; Fontes-Souza et al., 2008).

Os dois protocolos foram eficazes em relação à contenção dos animais e duração da sedação. Em relação às mensurações ecoDopplercardiográficas, foram obtidos menores valores de frequência cardíaca (FC) e fração de ejeção (FE) ($P < 0,05$) com o uso de maleato de midazolam IM (grupo G2). Esse grupo também apresentou maiores valores para o diâmetro do VE na sístole, volume sistólico final do VE e diâmetro aórtico (Anexo 1).

Segundo Reusch (2005), o maleato de midazolam na dose de 0,5 a 1,0mg/kg IM produz resultados satisfatórios na sedação e apresenta efeito limitado sobre o sistema cardiovascular. O mesmo resultado foi observado nesse experimento-piloto em coelhos.

Alguns autores relatam que o cloridrato de cetamina sensibiliza o miocárdio ao efeito arritmogênico da adrenalina (Bednarski et al., 1988), entretanto, há

relatos de diminuição da arritmia induzida pela adrenalina com uso desse fármaco (Niiya, 1990; Nunes et al., 1999). O efeito arritmogênico dos anestésicos não é desejável em estudos de arritmogenicidade de fármacos ou substâncias tóxicas, podendo mascarar seus efeitos. O cloridrato de cetamina também causa alterações no estado contrátil das fibras miocárdicas por sua ação no tônus simpático (White et al., 1982) prejudicando a avaliação dos efeitos de substâncias ativas sobre a contratilidade miocárdica.

O cloridrato de cetamina isolado aumenta os valores de PA e FC em pessoas saudáveis e com função normal do sistema nervoso simpático (White et al., 1982) provocando menores valores de volume sistólico, aumento do inotropismo cardíaco e da resistência vascular periférica (Nocite et al., 1977). Já a contenção química com cloridrato de cetamina e maleato de midazolam é relacionada à depressão cardiorrespiratória mínima (Dupras et al., 2001). Nesse piloto observou-se que, a associação do maleato de midazolam e cloridrato de cetamina provocou, em coelhos, maiores valores de FC e FE quando comparado ao uso isolado do maleato de midazolam.

Os resultados obtidos sugerem maior eficácia do maleato de midazolam comparado à sua associação com o cloridrato de cetamina. Foi observada sedação satisfatória e menor alteração dos parâmetros ecoDopplercardiográficos com valores fisiológicos menores e sem estimulação simpatomimética, permitindo a realização de um exame de melhor qualidade. Desta forma, o maleato de midazolam foi escolhido para o estudo dos efeitos dos extratos de *M. rigida* em coelhos.

3.1.2 Experimento piloto 1

Material e Métodos

Para obtenção do extrato, foram colhidas 5kg de folhas maduras de *Mascagnia rigida* no Canteiro de Plantas Tóxicas da Escola de Veterinária da UFMG - Belo Horizonte (MG) em maio de 2009.

As folhas maduras recém-colhidas foram separadas, pesadas e trituradas em liquidificador¹, na proporção de 200g de folhas para 400ml de água ultra-pura. O material foi colocado em banho ultrassônico² por 30 minutos, com objetivo de aumentar a extração dos constituintes químicos da planta. Após descanso de 10 minutos, este material foi peneirado, permanecendo em repouso por 24 horas. Formaram-se duas fases distintas: uma solúvel e outra insolúvel em água, que foram separadas. Apenas a fase solúvel foi utilizada para a confecção do extrato solúvel em água, que foi submetida à filtração em papel filtro³ e concentrada em rotavapor a 70°C em 80 rotações por minuto (rpm), ambos a vácuo⁴.

Para o cálculo da concentração da amostra em equivalente de matéria seca (MS), cinco folhas de *M. rigida* foram pesadas e colocadas na estufa em quintuplicata durante 30 minutos. Após desidratação, essas foram novamente pesadas⁵, obtendo-se o valor médio de 35% de MS. Obteve-se assim uma solução com concentração final de

4,27g/ml de MS de extrato solúvel em água de *M. rigida* e pH de 5,6.

O extrato foi acondicionado em seringas de 20ml, sob temperatura de -20°C, sendo descongelado três horas antes da administração em geladeira⁶ (4°C). Após este período, o extrato foi colocado em banho ultrassônico por 10 minutos para homogeneização, previamente à administração.

Para a avaliação da toxicidade do extrato aquoso de *M. rigida*, utilizou-se um coelho NZ branco, com cinco meses de idade e 3,2kg (coelho nº1). Este animal, proveniente da Fazenda da Escola de Veterinária da UFMG (Igarapé) foi alojado em gaiola própria para coelho recebendo água e ração comercial *ad libitum*.

Diariamente (às 14h), durante 10 dias consecutivos, após jejum alimentar de 30 minutos, foram administrados 6,3ml de extrato solúvel por via nasoesofágica⁷, equivalente a 8,4g/kg de MS de *M. rigida*. O animal foi observado durante seis horas após administração do extrato durante todo o período experimental pelo mesmo examinador.

Para avaliação do perfil sanguíneo, amostras de sangue (4ml) foram coletadas na veia marginal da orelha, por meio de contenção física, previamente à administração do extrato (tempo zero) e nos dias 3, 5, 7, 9 e 11, sempre no mesmo horário (07:30 horas).

Cerca de 1,0ml de sangue foi acondicionado em tubo contendo 100µl de solução de ácido

¹ Liquidificador industrial Beccaro®.

² Branson 1510 – Branson® Ultrasonic Cleaner 1510R-MT - USA

³ Papel Filtro Qualy - J. Prolab. Comercio de Produtos Laboratoriais - PR/Brasil. Raio 6cm, espessura 205µm, poros 14µm.

⁴ Dia Pump® Compressor Aspirador Modelo CA.

⁵ Bioprecisa eletronic balance – modelo FA2104N.

⁶ Comunicação pessoal – Dra. Vany Ferraz – Laboratório de Cromatografia – ICEX – UFMG.

⁷Sonda uretral n. 6 em PVC – Markmed®.

etilenodiaminotetraacético (EDTA)⁸ a 10% para determinação do número total de leucócitos e eritrócitos e concentração de hemoglobina em contador eletrônico veterinário⁹ e do volume globular em tubos de microhematócrito¹⁰ centrifugado¹¹ a 9.000rpm por 10 minutos. Após leitura, os tubos foram quebrados e o plasma foi utilizado para dosagem das proteínas totais por refratometria¹². Os índices hematimétricos (VGM, HGM e CHGM) foram calculados segundo Thrall (2007).

Foram confeccionados esfregaços sanguíneos em duplicata em lâminas de vidro (26 x 76mm)¹³, corados com solução de Panótico¹⁴ para contagem diferencial de leucócitos e de plaquetas pelo método de Fônio (Ferreira Neto et al.,1982).

Os outros 3ml de sangue foram coletados em tubos sem anticoagulante, submetidos à centrifugação¹⁵ a 3.000rpm por 10 minutos para separação do soro, que foi congelado a -20°C. O soro foi utilizado para determinações de creatina quinase (CK), creatina quinase fração MB (CK-MB), lactato desidrogenase (LDH), aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina (FA), magnésio (Mg²⁺), cloreto (Cl⁻), cálcio (Ca²⁺), fósforo (P), uréia e creatinina utilizando-

se kits¹⁶ comerciais em aparelho analisador bioquímico¹⁷ por método cinético, com exceção de CK e CK-MB, que foram avaliadas utilizando-se outros kits¹⁸ e um segundo aparelho analisador bioquímico¹⁹. O potássio (K⁺) também foi mensurado no soro por meio de leitura em espectrofotômetro²⁰ por método colorimétrico.

A troponina I cardíaca (cTnI) foi analisada utilizando o soro, por teste semi-quantitativo de imunocromatografia²¹, cuja sensibilidade é superior a 0,5ng/ml de cTnI na amostra.

Para realização de exames de eletrocardiografia (ECG), eletrocardiografia contínua (Holter) e ecoDopplercardiografia, o coelho foi submetido à sedação com 1mg/kg de maleato de midazolam²² IM. Os exames de ECG e ecoDopplercardiografia foram realizados em ambiente tranqüilo e escuro, com o animal de olhos vendados para maior tranquilização.

Os ECG foram realizados com o animal previamente sedado no tempo zero e uma hora após a administração do extrato nos dias 3, 5, 7 e 9. O animal foi posicionado em decúbito lateral direito, conectando os eletrodos específicos, conforme descrito por Tilley (1992), em adesivos cutâneos²³. No

⁸ EDTA, P.A. – Ácido etilenodiaminotetraacético; P.M. 372,24; Reagen – Quimibrás Indústrias Químicas S.A - Rio de Janeiro – RJ.

⁹ CELM DA 500@ - CELM – Cia Equipadora de Laboratórios Modernos – Barueri – SP.

¹⁰ Micron Glass® - São Paulo – SP.

¹¹ Centrifuga para microhematócrito Microspin.

¹² Refratômetro Ningbo Utech International CO. LTD.

¹³ Lâminas para microscopia Exacta – Perfecta – São Paulo – SP.

¹⁴ Panótico LB Laborlin – produtos para laboratório LTD. Pinhais – PR – Brasil.

¹⁵ Centrifuga Excelsa Baby, Fanem, modelo 208N.

¹⁶ Synermed® International Inc. Westfield – USA.

¹⁷ Cobas Mira - Roche – GMI – Global Medical Instrumentations, Inc. – Ramsey – EUA.

¹⁸ Bioclin CK-NAC e CK-MB – Quibasa Química Básica – Belo Horizonte – MG.

¹⁹ TP Analyser Basic - Termo Plate®.

²⁰ Espectrofotômetro EF1 - Metronic Instrumentos Científicos Ltda; 110V.

²¹ Troponina I Test - Bioeasy – Belo Horizonte – MG.

²² Dormire® - Midazolam 50mg (5mg/ml) – Cristália Produtos Químicos Farmacêuticos – São Paulo - SP

²³ Eletrodo Cardiológico 3M - modelo 2223BR.

eletrocardiógrafo digital²⁴ foram registradas as derivações bipolares padrão (DI, DII, DIII) e unipolares amplificadas (aVR, aVF e aVL), analisando o ritmo, frequência cardíaca, amplitude e duração das ondas P, T e do complexo QRS e duração do intervalo PR e QT(U). Os traçados eletrocardiográficos foram capturados na velocidade de 50 milímetros por segundo (mm/seg) e sensibilidade 2N (1mV = 2cm) (Pariaut, 2009) durante cinco minutos. Os intervalos RR foram mensurados no início dos complexos QRS consecutivos (onda R) de todo o traçado, dando uma leitura superior a 25 intervalos.

A derivação escolhida para a mensuração das ondas e intervalos foi a bipolar I (DI) pela melhor estabilização e visualização das ondas eletrocardiográficas. O intervalo QT foi mensurado do início do complexo QRS até o final da onda T, definido pelo retorno a linha de base (linha isoeétrica) no segmento TP (Arini et al., 2000), seguindo o método descrito por Farkas et al. (2004). Os valores dos intervalos eletrocardiográficos foram obtidos pela média da mensuração de três intervalos consecutivos em uma única derivação, na qual o final do intervalo QT foi claramente observado (Mazur et al., 1999).

A correção do intervalo QT pela variação da frequência cardíaca, uma vez que a frequência cardíaca contribui inversamente com o intervalo QT, foi realizada através da fórmula de Carlsson (Carlsson et al., 1993), frequentemente utilizada em pesquisas envolvendo avaliação eletrocardiográfica de coelhos (Carlsson et al., 1993; Mazur et al., 1999; Anderson et al., 2000; Gbadebo et al., 2002; Wang et al., 2008).

²⁴ Eletrocardiógrafo - mod. ECGPCVET software versão 1.10- Tecnologia Eletrônica Brasileira S.A.

Os exames de Holter foram realizados no tempo zero e no quinto dia após o início da administração do extrato solúvel em água de *M. rigida*. Após sedação, tricotomia e limpeza local prévia fixaram-se adesivos com os eletrodos na pele do animal nos mesmos locais padronizados para as derivações pré-cordiais (Tilley, 1992). O eletrodo branco na localização do rV2, o vermelho em V2 e o preto em V4. Posteriormente, foram fixados esparadrapos²⁵ para maior aderência e uma atadura de crepe²⁶ foi colocada ao redor do tórax do animal, na região dos eletrodos, para garantir maior fixação e segurança dos cabos. O aparelho foi acondicionado em um bolso dorsal de um colete confeccionado em tecido resistente e em conjunto com um colar cervical que foram utilizados durante todo o exame, conforme sugerido por Cavalcanti et al. (2007). Entretanto, a utilização deste colar cervical pode inferir em estresse em coelhos, interferindo na qualidade e resultados do exame de Holter.

O coelho permaneceu todo o período do exame em gaiola individual, o qual foi monitorado por um tempo médio de 14 horas, anotando as atividades do animal em diário próprio, sempre pelo mesmo examinador. Os dados registrados no cartão magnético²⁷ foram analisados em software específico²⁸ e reavaliados cuidadosamente pelo mesmo examinador, por se tratar de um software desenvolvido para exames humanos. A análise dos traçados visou o diagnóstico e quantificação das arritmias cardíacas.

²⁵ Missner® - Missner & Missner Ltda. Blumenau - SC.

²⁶ PolarFix® - Polar Medical Indústria e Comércio de Produtos Hospitalares S.A. – Mauá – SP.

²⁷ Flash Memory Card – 64 Mb – Cardio's®.

²⁸ Cardios Smart Professional CS 540 – Cardio's®.

Os exames ecocardiográficos²⁹ foram realizados no tempo zero, para descartar quaisquer alterações cardíacas, e no oitavo dia após administração do extrato para avaliação da função motora cardíaca. Todos os procedimentos ecocardiográficos foram executados conforme descrito por Fontes-Souza et al. (2008) para coelhos, que seguiram as recomendações da Sociedade Americana de Ecocardiografia. O animal foi posicionado em decúbito lateral, utilizando-se as regiões paraesternais direita e esquerda, do terceiro ao sexto espaços intercostais, sendo este posicionamento utilizado nas pesquisas com esta espécie (Thomas et al., 1993; Pennock et al., 1997; Gan et al., 2000; Fontes-Souza et al., 2008).

A região foi previamente tricotomizada, utilizando-se gel condutor³⁰ para a realização do exame de ecocardiografia. Avaliaram-se os modos bidimensional e M, segundo Stypmann et al. (2007), realizando três mensurações de cada variável e utilizando o valor de suas médias (Stypmann et al., 2007; Silva et al., 2008a). Foram mensurados os parâmetros para avaliação dos índices de função sistólica cardíaca: fração de ejeção (FE) e de encurtamento sistólico do ventrículo esquerdo (% Δ D) e a frequência cardíaca (FC) do animal. A fração de ejeção foi obtida segundo a equação de Teichholz, que fornece uma boa correlação com as mensurações invasivas do débito cardíaco (Boon, 1998).

No 11º dia, decidiu-se triplicar a dose oferecida ao animal, fornecendo o extrato às 8:00, 12:00 e 15:00h e realizando o último ECG uma hora após essa última administração. Por causa dos resultados obtidos no ECG, decidiu-se

²⁹ Esaote® Modelo Caris Plus- transdutor setorial multifrequencial de 5,0/7,5 MHz

³⁰ Gel condutor para eletro e ecocardiografia Mercur®.

pela eutanásia do coelho no 12º dia após o início da administração do extrato solúvel em água de *M. rigida*. O animal recebeu 4mg/kg de cloridrato de xilazina³¹ intravenoso (IV) e, após cinco minutos, foi administrado 90mg/kg de tiopental sódico³² IV, protocolo este preconizado pelo CETEA - UFMG. Mediante certificação de óbito, o coelho foi encaminhado ao setor de Patologia da UFMG.

Após análise macroscópica do animal, o coração, pulmões, fígado e rins foram seccionados, fixados em formol neutro tamponado a 10%³³. Posteriormente, foram desidratados em soluções de concentração de álcool etílico³⁴ crescente, diafanizados em xilol³⁵ e incluídos em parafina histológica³⁶ (Prophet, 1992). Cortes histológicos de 4 μ m³⁷ foram desparafinizados em xilol, hidratados em concentrações decrescentes de álcool etílico, corados com soluções de hematoxilina³⁸ e eosina³⁹ e desidratados em concentrações crescentes de álcool etílico. As lamínulas foram fixadas nas lâminas com bálsamo do Canadá⁴⁰ e após secagem, procedeu-se a análise morfológica do material, em microscópio óptico com ocular de 10x e objetivas de 10, 20 e 40x.

³¹ Virbaxyl 2%, frasco com 10 mL – Virbac®.

³² Tiopental sódico 1 g - Cristália Produtos Químicos Farmacêuticos – São Paulo – SP.

³³ Formol estabilizado - Indalabor – Indaiá Laboratório Farmacêutico Ltda – Dores do Indaiá - Brasil.

³⁴ Álcool Etílico 95% P.A. - ACS; PM: 46,07 – Quimex - Indústria brasileira.

³⁵ Xilol P.A. – ACS; PM: 106,17. Dinâmica® Reagentes Analíticos – Indústria brasileira.

³⁶ Parafina Histológica Synth (56°-58°C) – Labsynth Produtos para Laboratórios Ltda – Diadema - SP - Brasil.

³⁷ Micrômetro Hyrax M15 – no. Série 46504 - Zeiss - Alemanha.

³⁸ Hematoxilina – Merck, Darmstadt.

³⁹ Eosina – Merck, Darmstadt.

⁴⁰ Synth 100ml – Labsynth Produtos para Laboratório LTDA. Diadema – SP.

Resultados e Discussão

A administração do extrato solúvel em água de *M. rigida* na dose de 8,4g/kg de

MS não produziu nenhuma alteração clínica durante os 11 dias avaliados.

Tabela 1 – Valores hematológicos do coelho nº1, antes e após administração de extrato solúvel em água de *M. rigida* em diferentes tempos.

Tempo (dias)	Eritrócitos ($\times 10^6/\mu\text{l}$)	Leucócitos ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	HGB (g/dl)	HCT (%)	PT (g/dl)	VGM (fl)	HGM (pg)	CHGM (g/dl)
0	6,28	8,5	11,3	34	6,6	54,14	17,99	33,23
3	5,84	9,7	11,2	38	6,4	65,06	19,17	29,47
5	6,06	10,4	11,4	36	6,8	59,40	18,81	31,66
7	5,68	10,7	10,6	34	6,4	59,86	18,66	31,17
9	5,85	10,6	10,6	34	6,4	58,12	18,12	31,17
11	5,63	10,4	10,4	34	6,2	60,39	18,47	30,58

HGB – hemoglobina; HCT – hematócrito; PT – proteínas totais; VGM – volume globular médio; HGM – hemoglobina globular média; CHGM – concentração de hemoglobina globular média.

Os valores do eritrograma e o número total de leucócitos (Tabela 1) mantiveram-se dentro dos valores de referência estimados por Quesenberry (1994). Entretanto, segundo Jain (1993) houve aumento no número de leucócitos,

a partir do terceiro dia. No nono e 11º dia, foram observados os maiores valores percentuais e absolutos de heterófilos e os menores valores de linfócitos (Tabela 2).

Tabela 2 – Diferencial leucocitário (relativo e absoluto) do coelho nº1 antes e após administração de extrato solúvel em água de *M. rigida* em diferentes tempos.

Tempo (dias)	Heterófilos		Linfócitos		Eosinófilos		Monócitos		Basófilos	
	%	($\times 10^3/\mu\text{l}$)	%	($\times 10^3/\mu\text{l}$)	%	($\times 10^3/\mu\text{l}$)	%	($\times 10^3/\mu\text{l}$)	%	($\times 10^3/\mu\text{l}$)
0	30	2.550	61	5.185	3	255	6	510	0	0
3	28	3.686	67	6.499	0	0	2	194	3	291
5	26	2.704	66	6.864	1	97	6	624	1	104
7	29	3.103	70	7.490	0	0	0	0	1	107
9	35	3.710	53	5.618	2	212	5	530	1	106
11	38	3.952	57	5.928	1	104	2	208	2	208

Os valores de ALT aumentaram três dias após a administração do extrato de *M. rigida* e se mantiveram altos até o 11º dia, ficando acima dos valores de referência propostos por Mader (1997). Os valores de AST também apresentaram aumento no terceiro dia, ficando acima dos limites propostos por Mader (1997) e Kaneko et al. (2008). Houve oscilação da AST e nos dias 5 e 11, os valores também ultrapassaram o limite máximo (47 U/l) proposto por Kaneko et al. (2008) nos dias 5 e 11.

Estes resultados indicam uma discreta lesão hepática ou uma indução dos microsossomais hepáticos, sem lesão dos ductos biliares, já que a FA não se alterou (Tabela 3).

Não houve aumento sérico de LDH, e os maiores valores de CK total e da fração MB foram observados no 11º dia. Todavia, o aumento na porcentagem de CK-MB (72,54%) que ocorreu no quinto dia (Tabela 3) foi considerado significativo, apesar de a troponina ser negativa.

Tabela 3 – Enzimas hepáticas e musculares do coelho nº1 antes e após administração de extrato solúvel em água de *M. rigida* em diferentes tempos.

Tempo (dias)	ALT (U/l)	AST (U/l)	FA (U/l)	LDH (U/l)	CK (U/l)	CK-MB (U/l)	CK-MB/CK (%)	Troponina
0	68	44	38	66	1.465,9	620,9	42,36	Negativo
3	150	114	41	57	747,0	143,3	19,18	Negativo
5	125	63	29	85	998,7	724,5	72,54	Negativo
7	92	38	25	37	1.143,2	176,5	15,44	Negativo
9	84	34	36	35	2.940,1	337,6	11,48	Negativo
11	103	67	44	99	2.444,0	1.067,7	43,69	Negativo

ALT – alanina aminotransferase; AST – aspartato aminotransferase; FA – fosfatase alcalina; LDH – lactato desidrogenase; CK – creatinina quinase; CK-MB – fração miocárdica da CK; CK-MB/CK – porcentagem da CK-MB.

Os valores de uréia, creatinina, cálcio e fósforo não apresentaram alterações significativas. Ocorreu hipomagnesemia

nos dias 5 e 7 e hipocalemia no dia 11 (Tabela 4).

Tabela 4 – Uréia, creatinina, cálcio (Ca^{2+}), magnésio (Mg^{2+}), cloro (Cl^-), fósforo e potássio séricos do coelho nº1 antes e após administração de extrato solúvel em água de *M. rigida* em diferentes tempos.

Tempo (dias)	Uréia (mg/dl)	Creatinina (mg/dl)	Ca^{2+} (mg/dl)	Mg^{2+} (mg/dl)	Cl^- (mEq/l)	Fósforo (mg/dl)	Potássio (mmol/l)
0	24	0,6	10,0	0,9	93	3,3	3,53
3	32	1,4	12,3	2,4	107	4,4	4,14
5	23	0,8	12,5	1,3	102	4,2	3,58
7	27	1,2	12,5	1,1	103	4,2	4,08
9	27	1,2	13,4	2,1	101	3,9	3,78
11	32	0,9	12,4	2,0	98	4,3	3,06

O exame de Holter realizado no quinto dia de administração do extrato solúvel de *M. rigida* não relevou alterações de ritmo, assim como os eletrocardiogramas seriados realizados até o nono dia. Os índices funcionais do VE também não apresentaram alteração após oito dias de administração do extrato solúvel em

água de *M. rigida*. Após triplicar a dose, o ECG apresentou contrações ventriculares prematuras unifocais (VPC's) de origem no ventrículo esquerdo (Figura 5), que podem ter ocorrido em resposta ao estímulo de despolarização precoce pelo aumento abrupto na dose administrada.

Tabela 5 – Índices funcionais sistólicos do ventrículo esquerdo do coelho nº1, antes e oito dias após a administração de extrato solúvel em água de *M. rigida*.

Tempo (dias)	FC (bpm)	FE (%)	% Δ D (%)
0	217	78	43
8	188	77	42

FC – frequência cardíaca; FE – fração de ejeção sistólica do ventrículo esquerdo; % Δ D – porcentagem de encurtamento sistólico do ventrículo esquerdo.



Figura 5 – Eletrocardiogramas do coelho nº1. A - ECG demonstrando um complexo ventricular prematuro (VPC) (seta laranja). B – ECG do mesmo coelho com mais um VPC. Observar que os VPC's são monomórficos (ou unifocais) e a presença da pausa compensatória (DI, 50mm/s, 2N).

Não foram observadas alterações dignas de nota na macro e microscopia.

Após a análise dos resultados, especialmente de ECG, decidiu-se

utilizar uma dose maior (30g/kg de MS de *M. rigida*), próxima à dose administrada no 11º dia para o coelho nº 1, para um segundo animal.

3.1.3 Experimento piloto 2

Material e Métodos

Um segundo coelho (nº2), NZ macho, com seis meses de idade e 3,3kg recebeu diariamente, durante nove dias consecutivos, após jejum alimentar de 30 minutos, 12ml de extrato solúvel (divididos em duas administrações, às 08:30 e 14:30 horas), correspondendo a uma dose diária de 30g/kg de MS de *M. rigida*.

A avaliação clínica e do perfil sanguíneo, a eutanásia e os exames anatomopatológicos foram realizados com a mesma metodologia utilizada para o coelho nº1, descrita anteriormente.

Os exames de ECG e ecocardiográficos⁴¹ também foram realizados com a mesma metodologia, exceto pelos tempos, no qual foi realizado mais um ECG no 11º dia e o ecocardiograma que foi realizado no nono dia.

⁴¹ EcoDopplercardiógrafo HP Sonos 100 CF – Hewlett Packard – transdutor 2,5 a 7,5 MHz.

Resultados e Discussão

Tabela 6 – Valores hematológicos do coelho n°2 antes e após administração de extrato solúvel em água de *M. rigida* em diferentes tempos.

Tempo (dias)	Eritrócitos (x10 ⁶ /μl)	Leucócitos (x10 ³ /μl)	HGB (g/dl)	HCT (%)	PT (g/dl)	VGM (fl)	HGM (pg)	CHGM (g/dl)
0	7,13	8,81	13,1	39	6,2	53	18,4	37,7
3	7,89	6,55	14,7	40	6,4	52	18,6	35,6
5	6,46	7,25	11,7	36	6,0	52	18,2	35,0
7	6,25	8,61	11,6	36	6,0	53	18,6	35,1
9	5,28	9,20	10,2	32	5,8	60	19,2	31,9
11	5,20	10,80	9,80	31	5,2	59	18,8	32,3

HGB – hemoglobina; HCT – hematócrito; PT – proteínas totais; VGM – volume globular médio; HGM – hemoglobina globular média; CHGM – concentração de hemoglobina globular média.

Clinicamente, o coelho n°2 apresentou poliúria acentuada, que se iniciou no terceiro dia de administração dos extratos e anorexia, a partir do quinto dia, que perduraram por todo o experimento. No final do período experimental (11 dias), o animal havia perdido 8,5% de sua massa corporal (2,8kg).

Os valores de eritrócitos, hemoglobina e hematócrito diminuíram gradativamente do quinto ao 11° dia (Tabela 6) após administração dos extratos de *M. rigida*, e essas variáveis, exceto os eritrócitos, apresentaram valores abaixo dos limites proposto por Jain (1993). No 11° dia, o eritrograma apresentou uma diminuição acentuada ficando também, abaixo do limite estabelecido por Quesenberry (1994). Neste tempo (11° dia), o animal apresentou uma anemia normocítica

normocrômica, acompanhada da diminuição da proteína total. Provavelmente, a diminuição do eritrograma seja decorrente do seqüestro de eritrócitos realizado pelo baço, conforme relatado por Melo (1998) quando intoxicou caprinos com a *Tetrapteryx multiglandulosa*, planta da mesma família da *M. rigida*.

Segundo Campbell (2004) e Jain (1993) houve leucocitose apenas 11° dia após administração de *M. rigida* (Tabela 6). O diferencial leucocitário manteve-se dentro dos valores de referência (Tabela 7), porém a relação H:L alterou-se no terceiro e quinto dias, decorrente do aumento do número relativo dos heterófilos e diminuição do número de linfócitos, conforme Campbell (2004), quando comparados com os valores basais

Tabela 7 – Diferencial leucocitário (relativo e absoluto) do coelho n°2 antes e após administração de extrato solúvel em água de *M. rigida* em diferentes tempos.

Tempo (dias)	Heterófilos		Linfócitos		Eosinófilos		Monócitos		Basófilos	
	%	(x10 ³ /μl)	%	(x10 ³ /μl)	%	(x10 ³ /μl)	%	(x10 ³ /μl)	%	(x10 ³ /μl)
0	26	2.291	74	6.519	0	0	0	0	0	0
3	47	3.079	49	3.210	0	0	1	66	3	197
5	43	3.118	52	3.770	2	145	2	145	1	73
7	33	2.841	65	5.597	0	0	2	172	0	0
9	30	2.760	62	5.704	3	276	1	92	4	368
11	29	3.132	58	6.264	3	324	0	0	2	216

Os valores de ALT aumentaram em relação ao tempo zero no terceiro (aumento de 67%), nono (aumento de 88%) e 11º (aumento de 121%) dias após administração do extrato de *M. rigida* (Tabela 7), porém sem ultrapassar os limites de normalidade propostos por Mader (1997) e Kaneko et al. (2008). AST e FA (Tabela 7) não alteraram durante todo o período de avaliação. Percebe-se com esses resultados, uma diferença do coelho nº1 em relação ao coelho nº2. Como o coelho nº1 apresentou, em alguns momentos, valores de ALT e AST acima dos limites, era de se esperar que o coelho nº2 apresentasse valores ainda maiores, em virtude da dose administrada, o que não ocorreu.

Houve um aumento de 205,9% da enzima LDH três dias após a administração do extrato de *M. rigida* (Tabela 8) quando comparado com os valores basais (tempo zero). Todavia, o

valor observado de 104U/l, não ultrapassou os limites superiores de 139U/l e 123U/l propostos por Mader (1997) e Kaneko et al. (2008), respectivamente.

A CK total apresentou um acentuado aumento nos terceiro, sétimo, nono e 11º dias. Segundo Kramer e Hoffmann (1997), CK e LDH por serem citosólicas e de tamanho pequeno, conseguem ultrapassar a membrana celular, mesmo que não exista um dano tecidual grande. Constatou-se aumento da porcentagem de CK-MB a partir do terceiro dia (82,9% U/l), sendo que seu valor máximo chegou a 90,8% no quinto dia (Tabela 8), resultado este também observado no coelho nº1, que no quinto dia após a administração do extrato da *M. rigida* apresentou o maior valor percentual da fração MB. Ressalta-se que em humanos o percentual da MB constitui 20 a 30% da CK total (Camarozano e Henriques, 1996).

Tabela 8 – Enzimas hepáticas e musculares do coelho nº2, antes e após administração de extrato solúvel em água de *M. rigida* em diferentes tempos.

Tempo (dias)	ALT (U/l)	AST (U/l)	FA (U/l)	LDH (U/l)	CK (U/l)	CK-MB (U/l)	CK/CK-MB (%)	Troponina
0	24	73	28,5	34	149,4	74,5	49,9	Negativo
3	40	62	10,5	104	1.352,8	1.122,0	82,9	Negativo
5	21	46	20,0	56	278,2	252,6	90,8	Negativo
7	23	44	21,0	42	1.045,8	914,7	87,5	Negativo
9	45	53	18,0	88	1.084,6	837,0	77,2	Negativo
11	53	40	13,5	95	1.835,7	1.181,9	64,4	Negativo

ALT – alanina aminotransferase; AST – aspartato aminotransferase; FA – fosfatase alcalina; LDH – lactato desidrogenase; CK – creatinina quinase; CK-MB – fração miocárdica da CK; CK-MB/CK – porcentagem da CK-MB.

Não houve alteração dos valores de uréia após administração dos extratos de *M. rigida* segundo Mader (1997) (13 a 29U/l), excetuando-se os valores do tempo zero e nono dia que apresentaram discretamente acima. Provavelmente, os valores observados sofreram influência

nutricional, reforçados pela ausência de alterações nos valores de creatinina (Tabela 8).

Não houve alteração dos valores de eletrólitos (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cl^- , K^+ e fósforo) segundo os valores de referência (Tab.9).

Tabela 9 – Uréia, creatinina, cálcio (Ca^{2+}), magnésio (Mg^{2+}), cloro (Cl^-), fósforo e potássio séricos do coelho nº2 antes e após administração de extrato solúvel em água de *M. rigida* em diferentes tempos.

Tempo (dias)	Uréia (mg/dl)	Creatinina (mg/dl)	Ca^{2+} (mg/dl)	Mg^{2+} (mg/dl)	Cl^- (mEq/l)	Fósforo (mg/dl)	Potássio (mmol/l)
0	31	0,9	13,4	2,4	106	3,4	5,32
2	24	0,9	13,4	3,2	101	4,3	5,42
3	21	0,9	12,0	2,9	102	4,5	4,11
5	27	0,8	11,8	2,3	101	4,3	5,93
7	28	1,3	11,9	2,6	102	4,5	4,87
9	30	1,0	12,3	2,8	101	4,8	4,78
11	23	1,8	12,3	2,4	102	4,4	4,35

Não foram observadas alterações eletrocardiográficas (convencional e Holter) dignas de nota. Houve diminuição da FE (86,0 para 50,7%) e da % Δ D (51,3 para 23,3%) e aumento da frequência cardíaca (FC) (184 para

230bpm) no nono dia (Tabela 10). À necropsia, foram encontradas sufusões pulmonares, que pode ter sido decorrente do método de eutanásia utilizado e dilatação cardíaca.

Tabela 10 – Parâmetros ecocardiográficos do ventrículo esquerdo do coelho nº2, antes e nove dias após a administração de extrato solúvel em água de *M. rigida*.

Tempo (dias)	FC (bpm)	%ΔD (%)	FE (%)	SIVd (cm)	DVEs (cm)	DVEd (cm)	PPVEd (cm)
0	184	86	51	0,2	0,615	1,265	0,255
9	230	51	23	0,2	1,22	1,593	0,236

FC – frequência cardíaca; FE – fração de ejeção sistólica do ventrículo esquerdo; % Δ D – porcentagem de encurtamento sistólico do ventrículo esquerdo; SIVd – espessura do septo interventricular na sístole; DVEs – diâmetro do ventrículo esquerdo na sístole; DVEd – diâmetro do ventrículo esquerdo na sístole; PPVEd – espessura da parede posterior do ventrículo esquerdo na diástole.

Como a dose de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* foi capaz de causar aumento da CK total, CKMB, da proporção de CK-MB e diminuição da

função ventricular sistólica cardíaca, esta foi escolhida para o experimento principal.

3.2 EXPERIMENTO PRINCIPAL

3.2.1 Preparo fitoquímico dos extratos

Para obtenção dos extratos, 12kg de folhas maduras de *M. rigida* foram colhidas em julho de 2009 e processadas conforme descrito no item 3.1.2 (Material e Métodos). Neste período, a temperatura máxima média foi de 23°C e mínima média de 17°C, a umidade relativa do ar por volta de 63% e precipitação total de chuva foi de 13 mm (site Zoover©, 2009). O local tem como característica o clima tropical de altitude, com altitude média de 858 metros (site SuaPesquisa©, 2009).

As duas fases (solúvel e insolúvel em água) (Figura 6) foram utilizadas para a confecção dos extratos. Estas fases foram separadas, formando os dois tipos de extratos: o extrato solúvel em água foi submetido à filtração a vácuo em papel filtro⁴² e o extrato insolúvel em água foi novamente peneirado. O processamento do material continuou seguindo a metodologia (Material e Métodos) do experimento piloto um (item 3.1.2).



Figura 6 – Extrato aquoso de *M. rigida*, demonstrando as frações solúvel (superior, amarronzada) e insolúvel (inferior, esverdeada) em água.

⁴² Papel Filtro Qualy - J. Prolab. Comercio de Produtos Laboratoriais - PR/Brasil. Raio 6cm, espessura 205µm, poros 14µm.

As concentrações finais corresponderam a 4,42g/ml de MS da fração solúvel e 2,71g/ml de MS da fração insolúvel de *M. rigida*, com pH final de 5,54.

Previamente ao resfriamento dos extratos solúvel e insolúvel em água, foram coletadas amostras para a análise cromatográfica (1ml). A análise cromatográfica dos extratos foi realizada em condições isocráticas, em sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)⁴³ em coluna ODS Hypersil⁴⁴ de 250 x 4,6mm e 5µm⁴⁵.

As condições cromatográficas utilizadas foram: fluxo 1,0ml/minuto; comprimento de onda UV de 210 e 254nm; fase móvel utilizada: solução de metanol e ácido fosfórico 0,5% em água e gradiente de 0 a 100% de metanol em 30 minutos.

3.2.2 Animais e Local

Coelhos NZ branco foram obtidos da Fazenda Experimental da UFMG – Fazenda Igarapé (Igarapé-MG) com cerca de dois meses de idade, pesando em média 2,0kg. Os animais foram desverminados⁴⁶ e alojados em gaiolas metálicas individuais 90x90x40cm, respeitando um período de quarentena para adaptação e ganho de peso em baia própria na Escola de Veterinária da UFMG, recebendo água e ração comercial para coelhos⁴⁷ *ad libitum*. Todos os animais foram manejados

⁴³ Cromatógrafo a Líquido Shimadzu Série 20A – Shimadzu do Brasil.

⁴⁴ ODS Hypersil® - Thermo Hypersil-Keystone - Bellefonte, PA United States.

⁴⁵ SUPELCO® - Sigma-Aldrich - St. Louis, MI United States.

⁴⁶ Ivermectina Mectimax 1% - Agener União Saúde Animal – Brasil.

⁴⁷ Nature Multivita - Socil Evialis®

segundo as normas e recomendações do Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFMG.

Após constatação de salubridade por meio de exames de eletrocardiografia, ecoDopplercardiografia, Holter e perfil sanguíneo, nove coelhos com idade média de 5,6 meses e peso médio de 3,54kg foram distribuídos aleatoriamente em três grupos experimentais (n=3) que receberam: água como placebo, grupo controle (GC) e extratos equivalentes a 30g/kg de MS de *M. rigida*: solúvel em água (GS) e insolúvel em água (GI).

Diariamente, durante oito dias consecutivos e após jejum alimentar de 30 minutos, foram administrados por via nasoesofágica⁴⁸ (Figura 7), cerca de 30ml de água ultra-pura para o grupo controle (GC), 26ml de extrato solúvel em água ultra-pura de *M. rigida* (GS) e 36ml de extrato insolúvel em água ultra-pura (GI). Os volumes foram divididos em duas administrações diárias às 08:30 e 14:30 horas.

Os volumes dos extratos, solúvel e insolúvel, foram calculados a partir das concentrações descritas anteriormente (3.2.1 Preparo fitoquímico dos extratos). Estes volumes foram diferentes entre si pela dificuldade em concentrar mais o extrato insolúvel em água, que continha muito material denso.



Figura 7 – Introdução da sonda via nasoesofágica em coelho.

⁴⁸Sonda uretral n. 6 em PVC – Markmed®.

3.2.3 Sedação

Para minimizar efeito de estresse sob a frequência cardíaca (FC) e permitir a realização de exames de eletrocardiografia (ECG), eletrocardiografia contínua (Holter) e ecoDopplercardiografia, os coelhos receberam contenção química sedativo-anestésica, determinada no experimento-piloto.

Os animais foram previamente sedados (10 minutos) para a realização dos exames com 1mg/kg de maleato de midazolam⁴⁹ IM (Flecknell et al., 2007). Para os exames de ECG e ecoDopplercardiografia, os coelhos tiveram os seus olhos vendados e foram colocados em ambiente tranquilo e escuro para maior tranquilização. Os animais sempre foram manipulados pela mesma pessoa, para minimizar o estresse. Salienta-se que a sedação dos animais foi realizada sempre após a coleta de sangue.

3.2.4 Exames Clínicos e Laboratoriais

Avaliação Clínica

Os animais foram observados durante seis horas consecutivas após administração dos extratos, durante todo o período experimental, pelo mesmo avaliador.

Exames hematológicos e bioquímicos

As amostras de sangue (4,0ml) foram coletadas sempre no mesmo horário (07:30 horas), na veia marginal da orelha, por meio de contenção física, antes (tempo zero), e após a administração dos extratos nos dias 3 (T1), 5 (T2), 7 (T3) e 9 (T4).

⁴⁹ Dormire® - Midazolam 15mg (5mg/ml) – Cristália Produtos Químicos Farmacêuticos – São Paulo - SP

Os exames hematológicos foram realizados conforme descrito anteriormente, no item 3.1.2 do experimento piloto 1 (Material e Métodos).

O sangue com anticoagulante (EDTA) foi centrifugado a 3.000rpm por 10 minutos para obtenção do plasma, que foi utilizado para determinação da concentração de potássio (K^+), da proteína total e das proteínas fracionadas. O potássio (K^+) foi dosado por método colorimétrico por meio de leitura em espectrofotômetro⁵⁰. Os valores de proteínas plasmáticas totais foram obtidos por refratometria⁵¹. O fracionamento das proteínas foi realizado por eletroforese utilizando cuba eletroforética⁵² horizontal com fitas de acetato de celulose em tampão Veronal⁵³, coradas com Ponceau 0,1%⁵⁴ e analisadas em software⁵⁵ específico para determinar os valores percentuais e absolutos de albumina e globulinas (α , β e γ), segundo técnica descrita por Naoum (1990).

Os exames sorológicos (CK, CK-MB, AST, ALT, FA, LDH, cálcio, fósforo, magnésio, cloretos, uréia, creatinina, glicose e troponina I cardíaca) também foram realizados conforme descrito anteriormente (item 3.1.2 – Experimento piloto 1 – Material e Métodos).

Eletrocardiografia

Os exames eletrocardiográficos foram realizados no tempo zero, previamente antes da administração dos extratos e uma hora após a administração dos extratos nos dias 3 (T1), 5 (T2) e 7 (T3), com os animais previamente sedados com 1mg/kg de maleato de midazolam IM.

O exame eletrocardiográfico seguiu a metodologia descrita no experimento piloto 1 (Ítem 3.1.2 – Material e Métodos).

Há diferenças na duração do intervalo QT entre as derivações eletrocardiográficas; este fenômeno é definido como dispersão da repolarização (Malik e Batchvarov, 2000). Para excluir o efeito da dispersão da repolarização, o intervalo QT foi mensurado na mesma derivação durante todo o experimento (Farkas et al., 2004). A derivação escolhida foi a derivação bipolar I pela melhor estabilização e visibilização das ondas eletrocardiográficas. O intervalo QT foi mensurado do início do complexo QRS até o final da onda T, definido pelo retorno a linha de base (linha isoeétrica) no segmento TP (Arini et al., 2000), seguindo o método descrito por Farkas et al. (2004). Os valores dos intervalos eletrocardiográficos foram obtidos pela média da mensuração de três intervalos consecutivos em uma única derivação, na qual o final do intervalo QT foi claramente observado (Mazur et al., 1999).

⁵⁰ Espectrofotômetro EF1 - Metronic Instrumentos Científicos Ltda; 110v.

⁵¹ Refratômetro Ningbo Utech International CO. LTD.

⁵² Cuba Fonte para eletroforese ARGOS 12 - Techow Instrumentos Científicos Ltda – São Paulo- Brasil.

⁵³ Tampão Veronal – ácido acetilbarbitúrico - obtido na Faculdade de Farmácia da UFMG e barbiturato de sódio.

⁵⁴ Ponceau S PM=760,58. VETEC Química fina LTDA. Duque de Caixias – RJ.

⁵⁵ Sistema para Eletroforese - SE-250 - CELM - Cia Equipadora de Laboratórios Modernos – Barueri – SP.

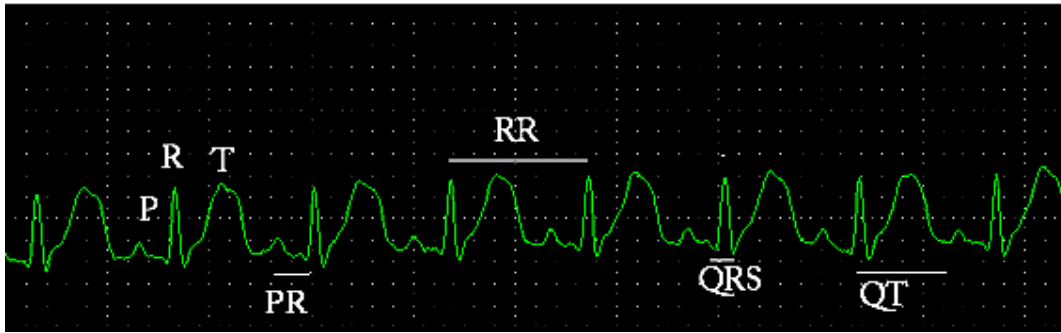


Figura 8 – Eletrocardiografia computadorizada feita em um coelho do grupo controle. Observar as ondas P, R e T, complexo QRS e intervalos PR e QT (DI, 50mm/s, 2N).

A correção do intervalo QT pela variação da frequência cardíaca, uma vez que a frequência cardíaca contribui inversamente com o intervalo QT, foi realizada através da fórmula de Carlsson (QTcC) (Carlsson et al, 1993), frequentemente utilizada em pesquisas envolvendo avaliação eletrocardiográfica

de coelhos (Carlsson et al, 1993; Mazur et al., 1999; Anderson et al., 2000; Gbadebo et al., 2002; Wang et al., 2008). Além disso, foi utilizada a fórmula de Fridericia (QTcF) (Fridericia, 1920) de correção de QT por ser uma fórmula bastante usada em medicina veterinária (Lago et al., 2009).

$$QTcC = QT - 0,175(RR - 300)$$

Fórmula de Carlsson

$$QTcF = QT \sqrt[3]{RR}$$

Fórmula de Fridericia

Eletrocardiografia contínua (Holter)

Os exames de Holter foram realizados no tempo zero, previamente à administração dos extratos e no nono dia (T4) após o início da administração dos extratos. Apenas um animal de cada grupo foi submetido ao exame de Holter, pela limitação de equipamento.

A realização exame (Figura 9A) procedeu-se conforme descrito no item 3.1.2 (Experimento piloto 1 – Material e Métodos).

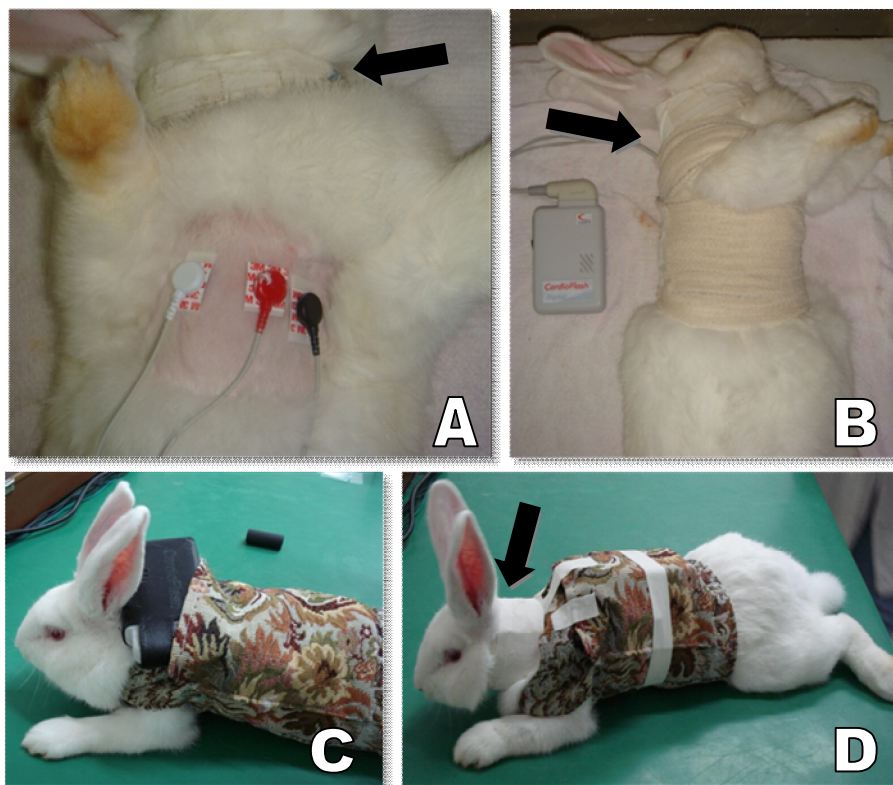


Figura 9 – Exame de Holter em coelho. A - Eletrodos para o exame de Holter fixados na pele do coelho. Notar o uso do colar cervical (setas pretas). B - Proteção dos eletrodos e cabos com atadura crepom. C - Aparelho de Holter (Cardios®) acondicionado em bolsa externa dorsal para realização do exame. D - Aparelho de Holter já posicionado e acionado – exame em execução.

EcoDopplercardiografia

Os exames ecoDopplercardiográficos⁵⁶ foram realizados no tempo zero, para descartar animais portadores de quaisquer alterações cardíacas e obtenção dos valores basais, e no nono dia após administração dos extratos para avaliação da função motora cardíaca.

Todos os procedimentos ecoDopplercardiográficos foram realizados conforme descrito no item 3.1.2 (Experimento piloto 1 – Material e Métodos).

Os animais foram posicionados em decúbito lateral (Figura 10) para avaliação dos modos bidimensional, M,

Doppler pulsado e por mapeamento de fluxo de cores, em método descrito segundo Fontes-Souza et al. (2008), realizando três mensurações de cada variável, utilizando o valor de suas médias (Silva et al., 2008a).

Os volumes ventriculares esquerdos na sístole e diástole e a fração de ejeção foram obtidos segundo a equação de Teichholz, que fornece uma boa correlação com as mensurações invasivas do débito cardíaco (Boon, 1998). No modo Doppler pulsado foram avaliadas as velocidades máximas dos fluxos mitral e aórtico.

⁵⁶ EcoDopplercardiógrafo HP Sonos 100 CF – Hewlett Packard – transdutor 2,5 a 7,5 MHz.

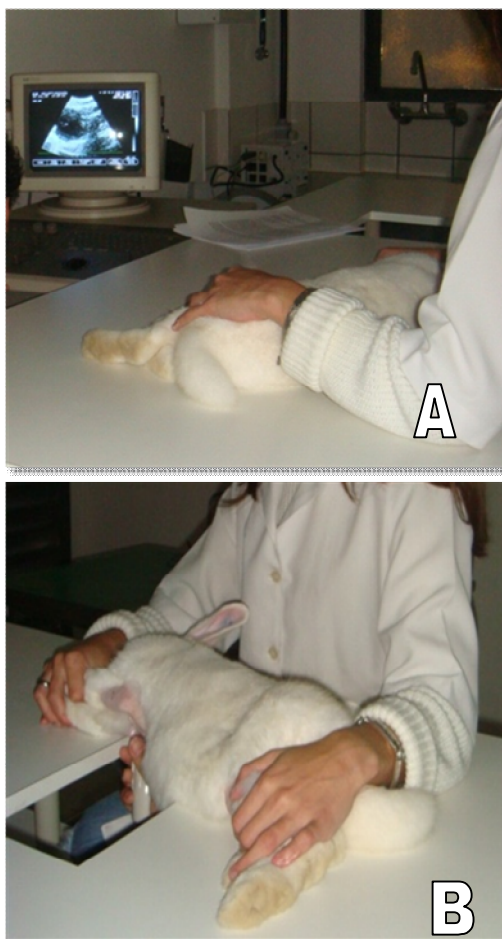


Figura 10 – EcoDopplercardiografia em coelho. A - Coelho posicionado para realização do exame, após ser sedado com 1mg/kg de midazolam IM. B – Detalhe da contenção mínima do animal.

3.2.5 Eutanásia

A eutanásia foi realizada no 11º dia após o início da administração dos extratos da *Mascagnia rigida* (GS e GI) ou de água ultra-pura (GC). Deve ser ressaltado que os animais receberam os extratos durante oito dias consecutivos e no nono dia, foram realizados os exames de ecoDopplercardiografia e Holter. Os animais receberam 4mg/kg de cloridrato de xilazina⁵⁷ intravenoso (IV), e após cinco minutos, foi administrado 90mg/kg de tiopental sódico⁵⁸ IV, protocolo este

⁵⁷ Virbaxyl 2%, frasco com 10 mL – Virbac®.

⁵⁸ Tiopental sódico 1 g - Cristália Produtos Químicos Farmacêuticos – São Paulo – SP.

preconizado pelo CETEA - UFMG. Os animais não apresentaram qualquer manifestação física de dor ou desconforto durante o procedimento, observando-se ausência de pulso e choque de ponta cardíaco cinco minutos após a infusão. Mediante certificação de óbito, os animais foram encaminhados ao setor de Patologia da UFMG para avaliação macro e microscópica.

3.2.6 Avaliação Anatomopatológica

Após análise macroscópica dos animais, os órgãos submetidos à análise histopatológica (coração, cérebro, cerebelo, rins, baço, fígado e pulmões) foram processados e avaliados conforme descrito no item 3.1.2 (Experimento piloto 1 – Material e Métodos).

3.2.7 Análise Estatística

O delineamento experimental aplicado foi o inteiramente casualizado com parcelas subdivididas, onde as parcelas foram os grupos e as subparcelas, os tempos. Para avaliação de normalidade e homocedasticidade, foram utilizados os testes de Lilliefors e Bartlett, respectivamente. As variáveis que não apresentaram distribuição normal sofreram transformação radical (beta e gamaglobulinas, relação albumina: globulina, leucócitos, porcentagem de monócitos, CK, CK-MB e CK-MB/CK) ou logarítmica+1 (massa corporal, proteína total, alfa-2-globulina, cloretos, creatinina e magnésio), apresentando normalidade em uma destas transformações. Os dados referentes aos diferentes grupos e tempos foram colocados em tabelas e analisados pelos programas de computador Graphpad Instat⁵⁹ para triagem e SISVAR⁶⁰, para análise de variância (ANOVA) e para os testes SNK (demais variáveis) e Duncan (AST e LDH). Com o objetivo

⁵⁹ GraphPad Software, Inc. - Instat – USA.

⁶⁰ SISVAR® - UFLA – Brasil.

de verificar o efeito dos tratamentos sobre os tempos, as médias foram comparadas por estes testes, com nível de significância de 5% ($P < 0,05$).

Os resultados das alterações clínicas e ritmos cardíacos obtidos pelo Holter e ECG, o resultado da troponina sérica, avaliação hematológica e de alguns parâmetros ecoDopplercardiográficos foram submetidos à análise descritiva.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 ANÁLISE CROMATOGRÁFICA

As análises cromatográficas realizadas por meio da HPLC forneceram perfis cromatográficos para cada extrato em dois comprimentos de onda distintos (210 e 254nm). Os cromatogramas foram sobrepostos para comparação dos constituintes em cada extrato (Figuras 11 e 12). Comparando-se os cromatogramas dos extratos é nítida a diferença entre eles. Observa-se a presença de um número maior de compostos no extrato solúvel do que no insolúvel. Esta diferença já seria esperada, pois estes compostos solúveis em água são mais polares do que os insolúveis e, portanto, nas condições cromatográficas utilizadas

(coluna de fase reversa) os componentes polares saem primeiramente. Pode-se notar alguns picos acima de 26 minutos, eluídos com 100% de metanol, que aparecem nos dois extratos. Como as condições de análise utilizadas beneficiam apenas o extrato solúvel, o cromatograma do extrato insolúvel não corresponde ao seu perfil real, pois contém substâncias apolares, não-cromatografadas nestas condições. Porém, pode-se concluir pelos perfis cromatográficos dos dois extratos que esses são quimicamente diferentes entre si.

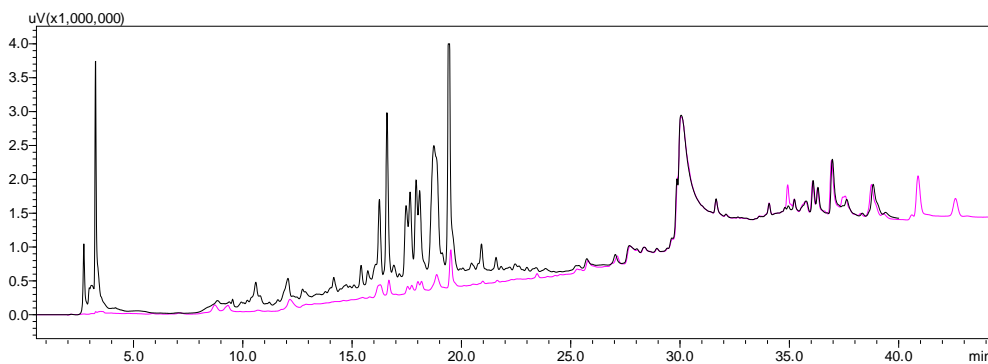


Figura 11 – Cromatograma dos extratos aquosos de *Mascagnia rigida* realizados através de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) em comprimento de onda de UV de 210nm.

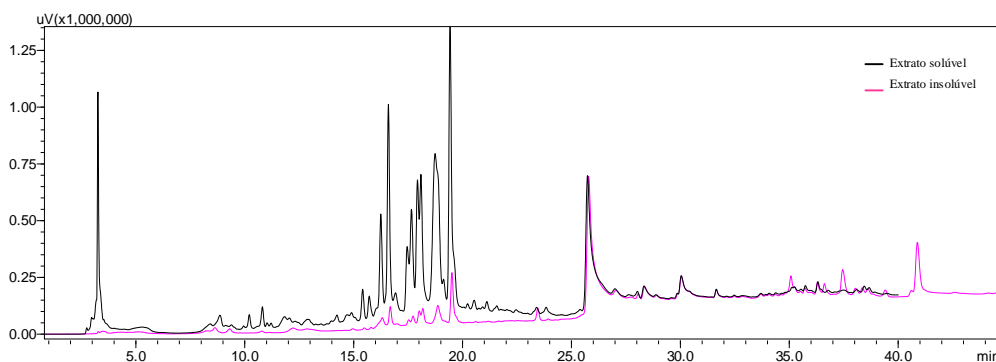


Figura 12 – Cromatograma dos extratos aquosos de *Mascagnia rigida* realizados através de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) em comprimento de onda de UV de 254nm.

Melo e colaboradores (2008) realizaram a extração aquosa da *M. rigida*, fracionando-a em soluções ricas em saponinas, taninos, flavanóides e alcalóides. Estes compostos são compostos polares, todos solúveis em água, segundo Matos (1988). Até o presente momento não foram encontrados na literatura cromatogramas de extratos de *M. rigida*.

A determinação de todos os constituintes fitoquímicos de extratos botânicos é importante para garantir a confiabilidade e repetibilidade de pesquisas farmacológicas e clínicas, para entender suas atividades biológicas e possíveis efeitos colaterais de compostos ativos e para reforçar o controle da qualidade de produtos vegetais (He, 2000). Outra importância de obter-se cromatogramas de extratos de plantas é para a compreensão da atividade biológica e comparar diretamente algumas amostras para ver se há os mesmos componentes fitoquímicos em diferentes amostras (Liang et al., 2004).

4.2 ALTERAÇÕES CLÍNICAS E LABORATORIAIS

4.2.1 Avaliação clínica

Durante o período de observação, nenhum coelho que recebeu o extrato solúvel ou o insolúvel em água de

Mascagnia rigida apresentou sinais clínicos de intoxicação. Vários autores (Tokarnia et al., 1961; Santos, 1975; Paraguassu, 1983; Tokarnia et al., 1987; Tokarnia et al., 1994; Pereira et al., 1996; Medeiros et al., 2000; Tokarnia et al., 2000; Medeiros et al., 2002; Lago, 2007; Cunha, 2008; Vasconcelos et al., 2008a; Vasconcelos et al., 2008b) observaram em seus trabalhos diversos sinais clínicos em animais intoxicados por *M. rigida*, entre eles dificuldade em caminhar, apatia, tremores musculares, movimentos de pedagem, vocalizações, dispnéia, decúbito e morte.

A ausência de sinais clínicos de intoxicação nos animais deste experimento, em contraposição a estes diversos autores, pode ter ocorrido mediante a utilização de um período de administração curto ou de realmente não ter conseguido chegar a uma dose que provocasse intoxicação, justamente por ter se utilizado apenas um animal na determinação da dose (experimento piloto), representando variação da sensibilidade individual.

Não foi detectada alteração ($P>0,05$) de massa corporal durante a administração dos extratos de *Mascagnia rigida* entre os grupos e nos diferentes tempos, conforme demonstrado na Tabela 11 e Gráfico 1.

Tabela 11 – Massa corporal média* (kg) de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

Tempo (T) (dias)	Massa corporal (kg)		
	Grupo Controle	Grupo Solúvel	Grupo Insolúvel
Tempo zero	3,63 ± 0,15	3,77 ± 0,25	3,23 ± 0,21
T1 – 3 dias	3,67 ± 0,15	3,63 ± 0,15	3,27 ± 0,23
T2 – 5 dias	3,63 ± 0,21	3,63 ± 0,15	3,27 ± 0,23
T3 – 7 dias	3,63 ± 0,21	3,67 ± 0,15	3,23 ± 0,29
T4 – 9 dias	3,63 ± 0,21	3,60 ± 0,35	3,23 ± 0,29

CV (%) Massa corporal: 7,81

*Não houve diferença estatística pela análise de variância ($P>0,05$).

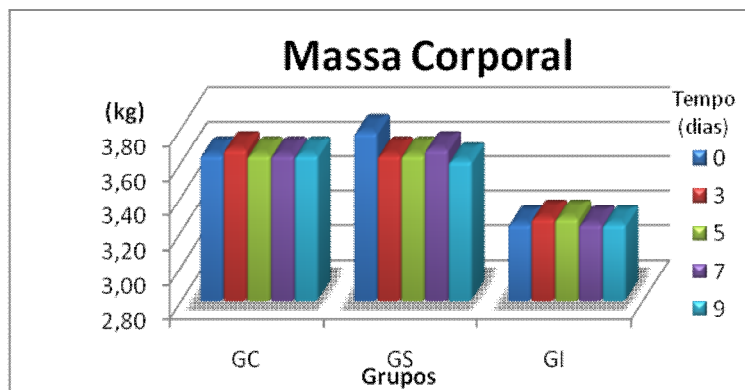


Gráfico 1 - Massa corporal média (kg) de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel em água (GI) de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

Tokarnia et al. (1961) relataram que bovinos intoxicados experimentalmente por *M. rigida* apresentaram perda de apetite, assim como também observado por Lago et al. (2009) em ovinos. Os coelhos mantiveram sua massa corporal dentro dos limites de referência para a espécie em sua faixa etária (Quesenberry, 1994), o que permite concluir que extratos de *M. rigida* não causaram diminuição de consumo de alimentos ou perda significativa de massa corporal durante o tempo avaliado.

4.2.2 Hemograma

A administração dos extratos de *M. rigida* não alteraram os valores médios dos eritrócitos (Tabela 12) (Gráfico 2), entretanto a concentração de hemoglobina diminuiu estatisticamente

($P < 0,05$) nos grupos que receberam os extratos (GS e GI) (Gráfico 3): no terceiro dia (T1) no GI e, no quinto dia (T2), no GS. Esta diminuição manteve-se até o nono dia (T4) em ambos os grupos, quando comparada com o tempo zero. Todos esses valores médios que foram estatisticamente diferentes ficaram abaixo do limite mínimo proposto por Jain (1993) que é de 12,4mg/dl de hemoglobina. Todavia, quando se compara os valores propostos por Quesenberry (1994) (10,0 a 17,4mg/dl de hemoglobina), em nenhum momento a concentração de hemoglobina ficou abaixo do limite mínimo. Em relação ao hematócrito, no GS e GI, houve diminuição estatística ($P < 0,05$) (Gráfico 4), a partir do quinto dia (T2), diminuição esta que se manteve até o nono dia (T4).

Tabela 12 – Valores médios de eritrócitos* (RBC x 10⁶ cels/μl), hemoglobina (HGB - g/dl) e hematócrito (HCT - %) de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

	Tempo (T) (dias)	Grupos		
		Grupo Controle	Grupo Solúvel	Grupo Insolúvel
RBC (x 10 ⁶ cels/μl)	Tempo zero	6,29 ± 0,34	6,59 ± 0,50	6,75 ± 1,28
	T1 – 3 dias	6,07 ± 0,31	6,46 ± 1,07	5,77 ± 0,72
	T2 – 5 dias	6,80 ± 1,48	6,16 ± 0,94	5,78 ± 0,60
	T3 – 7 dias	6,34 ± 0,88	6,08 ± 0,89	6,39 ± 1,41
	T4 – 9 dias	5,80 ± 0,08	5,45 ± 0,78	5,57 ± 0,53
CV (%): 13,54				
HGB (g/dl)	Tempo zero	12,27 ± 0,46 ^{ab}	12,93 ± 0,57 ^a	13,03 ± 1,16 ^a
	T1 – 3 dias	12,20 ± 0,35 ^{ab}	12,97 ± 1,27 ^a	11,83 ± 1,14 ^b
	T2 – 5 dias	13,03 ± 1,69 ^a	11,77 ± 0,86 ^b	11,43 ± 0,86 ^b
	T3 – 7 dias	11,93 ± 0,40 ^{ab}	11,70 ± 0,87 ^b	11,07 ± 0,55 ^b
	T4 – 9 dias	11,50 ± 0,36 ^b	11,00 ± 0,82 ^b	10,67 ± 0,81 ^b
CV(%): 8,84				
HCT (%)	Tempo zero	37,00 ± 1,73 ^a	38,67 ± 2,52 ^{ab}	39,67 ± 3,21 ^a
	T1 – 3 dias	36,67 ± 1,15 ^a	40,67 ± 2,52 ^a	37,67 ± 2,52 ^{ab}
	T2 – 5 dias	37,00 ± 1,00 ^a	37,67 ± 2,52 ^b	36,67 ± 2,31 ^{bc}
	T3 – 7 dias	36,67 ± 1,15 ^a	36,67 ± 2,08 ^b	34,67 ± 1,15 ^c
	T4 – 9 dias	36,00 ± 0,00 ^a	36,33 ± 2,89 ^b	35,67 ± 2,08 ^{bc}
CV(%): 6,16				

*Não houve diferença estatística pela análise de variância (P>0,05).

As médias seguidas das mesmas letras minúsculas não diferem estatisticamente entre os tempos (colunas), submetidas à análise de variância e ao teste SNK (P<0,05).

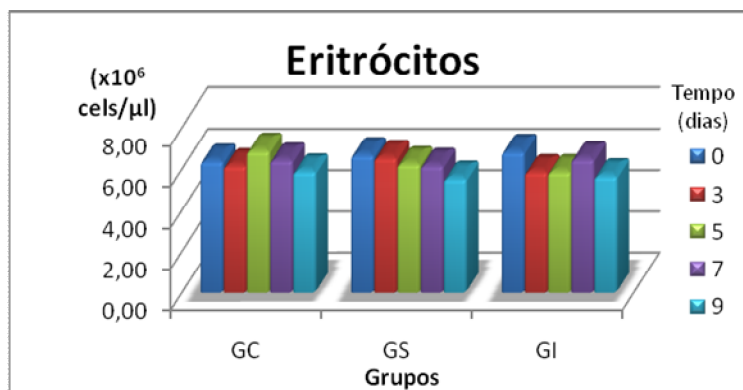


Gráfico 2 - Valores médios de eritrócitos (x 10⁶ cels/μl) de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

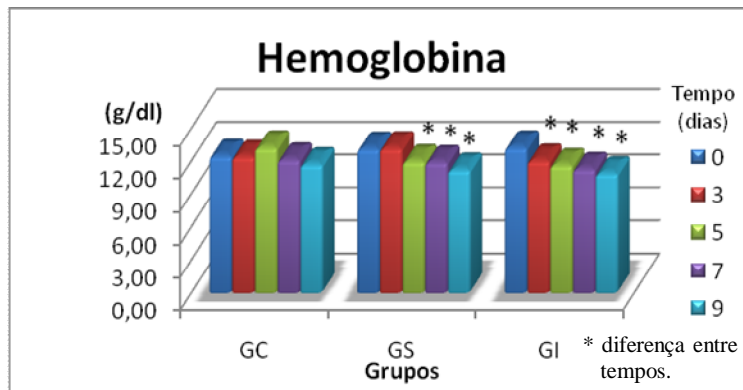


Gráfico 3 - Valores médios de hemoglobina (g/dl) de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

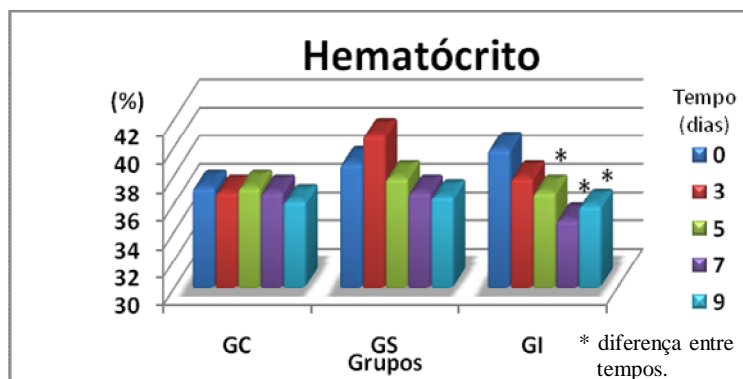


Gráfico 4 - Valores médios do hematócrito (%) de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

Os índices hematimétricos (VGM, HGM e CHGM) estão apresentados na Tabela 13 e nos Gráficos 5 a 7, observando uma diminuição significativa nos valores de HGM entre o terceiro dia (T1) e o sétimo dia (T3) no GI. Os demais índices hematimétricos (VGM e CHGM) não

apresentaram diferença estatística ($P > 0,05$). O HGM apresentou esta diferença devido ao aumento do número de eritrócitos e diminuição da hemoglobina do sétimo em relação ao terceiro dia.

Tabela 13 – Valores médios dos índices hematimétricos: Volume Globular Médio* (VGM - fl), Hemoglobina Globular Média (HGM - pg.) e Concentração de Hemoglobina Globular Média* (CHGM - g/dl) de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

	Tempo (T) (dias)	Grupos		
		Grupo Controle	Grupo Solúvel	Grupo Insolúvel
VGM (fl)	Tempo zero	58,8 ± 3,7	58,7 ± 2,4	59,6 ± 6,8
	T1 – 3 dias	60,5 ± 3,7	63,8 ± 7,9	65,8 ± 8,2
	T2 – 5 dias	55,8 ± 9,7	61,6 ± 5,2	63,7 ± 2,9
	T3 – 7 dias	58,4 ± 6,1	61,1 ± 8,2	55,7 ± 9,4
	T4 – 9 dias	62,0 ± 1,1	67,1 ± 4,8	64,2 ± 3,0
CV(%): 9,91				
HGM (pg.)	Tempo zero	19,5 ± 1,2 ^a	19,7 ± 0,7 ^a	19,5 ± 2,0 ^{ab}
	T1 – 3 dias	20,1 ± 0,7 ^a	20,2 ± 1,5 ^a	20,5 ± 0,9 ^a
	T2 – 5 dias	19,4 ± 1,6 ^a	19,2 ± 1,5 ^a	19,8 ± 0,7 ^{ab}
	T3 – 7 dias	19,0 ± 1,9 ^a	19,4 ± 1,5 ^a	17,7 ± 2,8 ^b
	T4 – 9 dias	19,8 ± 0,8 ^a	20,3 ± 1,5 ^a	19,2 ± 1,2 ^{ab}
CV(%): 7,11				
CHGM (g/dl)	Tempo zero	33,2 ± 0,3	33,5 ± 1,3	33,5 ± 0,7
	T1 – 3 dias	33,3 ± 1,0	31,8 ± 1,7	33,8 ± 2,4
	T2 – 5 dias	35,2 ± 3,6	31,2 ± 0,6	31,0 ± 0,8
	T3 – 7 dias	32,5 ± 0,7	31,9 ± 2,0	32,4 ± 0,5
	T4 – 9 dias	31,9 ± 1,0	30,3 ± 0,7	30,8 ± 0,9
CV(%): 5,57				

*Não houve diferença estatística pela análise de variância (P>0,05).

As médias seguidas das mesmas letras minúsculas não diferem estatisticamente entre os tempos (colunas), submetidas à análise de variância e ao teste SNK (P<0,05).

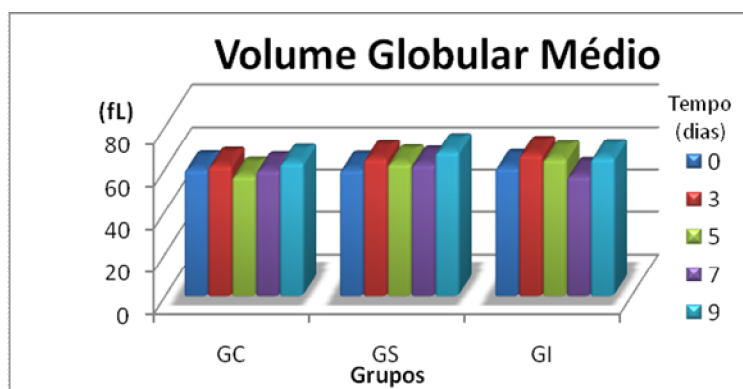


Gráfico 5 - Volume Globular Médio (fl) de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

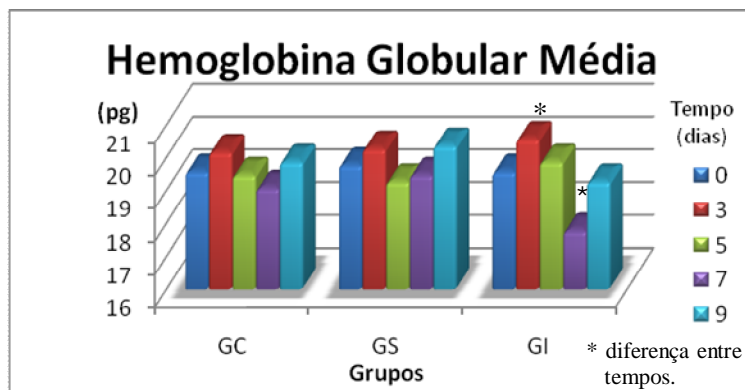


Gráfico 6 - Hemoglobina Globular Média (pg) de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

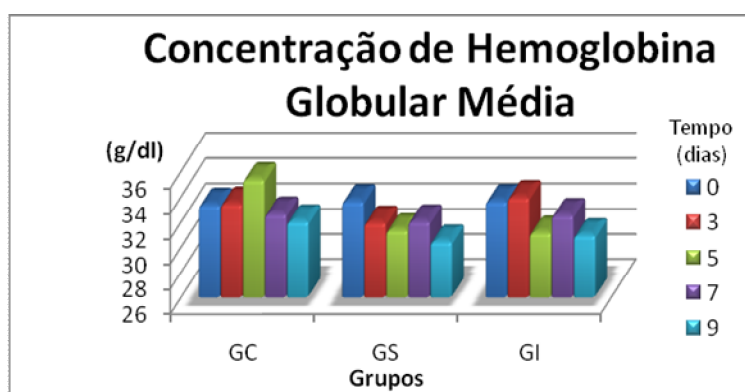


Gráfico 7 - Concentração de Hemoglobina Globular Média (g/dl) de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

Não existem relatos na literatura sobre a ação hemolítica ou vasculotóxica da *M. rigida*, embora vários autores já tenham descrito a grande quantidade de saponinas presentes nessa planta (Lago, 2007, Melo et al., 2008, Cobucci et al., 2009a). Apesar de se conhecer a ação tóxica, hemolítica, das saponinas, o que seria esperado era o aumento e não a diminuição dos valores de hemoglobina.

A diminuição dos valores de hemoglobina e do hematócrito podem ter ocorrido devido ao seqüestro esplênico ou hepático, conforme também sugerido por Melo (1998), quando forneceu folhas de *Tetrapteryx multiglandulosa*, planta tóxica que também pertencente à família Malpighiaceae, durante seis semanas às cabras gestantes. A autora observou diminuição dos valores de eritrócitos e

hemoglobina nas duas primeiras semanas após a administração da planta e hipotetizou que a presença de algumas substâncias presentes na *T. multiglandulosa* poderiam ter causado algum efeito tóxico sobre a parede do eritrócito, o que levaria à hemocaterese sem hemoglobinúria.

Santos (1975) forneceu diariamente, durante 30 dias, 4g/kg de *M. rigida*, proveniente do município de Pedra Azul (MG), em diferentes estágios de maturação para 12 bovinos, não encontrando alterações no hemograma desses animais. Entretanto, quando Melo et al. (2005) administram extrato aquoso da *M. rigida* (20g/kg) para ovelhas Santa Inês durante três e sete dias

consecutivos, foi relatada anemia normocítica normocrômica.

Melo et al. (2008) administraram diferentes frações (alcalóides, saponinas, taninos e flavanóides) extraídas de *M. rigida* para camundongos relatando menores valores de eritrócitos, hemoglobina e hematócrito e das proteínas totais no grupo que recebeu a fração de taninos (18g/kg), o que resultou em hemodiluição. É bem conhecido que os taninos condensados podem se ligar às proteínas formando um complexo (tanino condensado-proteína) impedindo sua absorção.

Os resultados do eritrograma encontrados neste estudo corroboram os

achados de Melo (1998), Melo et al. (2005) e Melo et al. (2008).

4.2.3 Plaquetas

Apesar de terem sido observadas diferenças na contagem total de plaquetas entre os tempos nos grupos GC e GI (Tabela 14 e Gráfico 8), todos os valores médios após a administração dos extratos (GS e GI) e de água ultra-pura (GC) são estatisticamente iguais aos valores do tempo zero (valores basais). Houve uma diferença ($P < 0,05$) no GC entre T1 e T4 e no GI entre T1 e T3. Esta alteração não foi clinicamente significativa, pois os valores estão dentro dos limites de referência para a espécie (Quesenberry, 1994).

Tabela 14 – Valores médios de plaquetas ($\times 10^3/\mu\text{l}$) de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

Tempo (T) (dias)	Plaquetas ($\times 10^3/\mu\text{l}$)		
	Grupo Controle	Grupo Solúvel	Grupo Insolúvel
Tempo zero	292,40 \pm 14,28 ^{ab}	303,81 \pm 33,87 ^a	303,22 \pm 94,28 ^{ab}
T1 – 3 dias	377,32 \pm 54,48 ^a	285,23 \pm 60,59 ^a	279,12 \pm 86,70 ^b
T2 – 5 dias	331,15 \pm 26,80 ^{ab}	249,63 \pm 55,12 ^a	341,91 \pm 128,82 ^{ab}
T3 – 7 dias	357,76 \pm 57,87 ^{ab}	331,37 \pm 128,46 ^a	384,42 \pm 113,43 ^a
T4 – 9 dias	268,96 \pm 17,01 ^b	277,46 \pm 58,93 ^a	355,91 \pm 50,31 ^{ab}

CV PLT (%): 23,82

As médias seguidas das mesmas letras minúsculas não diferem estatisticamente entre os tempos (colunas), submetidas à análise de variância e ao teste SNK ($P < 0,05$).

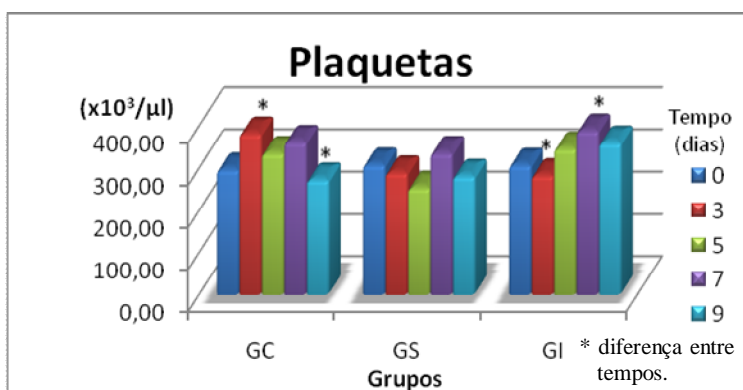


Gráfico 8 - Valores médios de plaquetas ($\times 10^3/\mu\text{l}$) de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

Somente foi encontrado um trabalho (Melo et al., 2008) que avaliou o número de plaquetas na intoxicação por *M. rigida*. Os autores observaram diminuição no número de plaquetas em camundongos quando administraram 18g/kg da fração de taninos de *M. rigida*.

Salienta-se que neste estudo, as plaquetas foram contadas pelo método de Fônio e, por se tratar de um método de contagem manual, existe a possibilidade de erros.

Nos esfregaços sanguíneos, observaram-se também agregados plaquetários (até seis plaquetas), macroplaquetas e ativação de plaquetas após avaliação morfológica. As macroplaquetas e agregados plaquetários estavam presentes na maioria das lâminas e em pequeno número (uma a duas

observações por lâmina), independente de grupo ou tempo. Já as plaquetas ativadas estavam presentes em um número menor de animais, também independente do grupo e do tempo avaliado. Reações inflamatórias causam alterações morfológicas nas plaquetas (Stockham e Scott, 2002), porém neste estudo elas foram discretamente observadas.

4.2.4 Leucograma

O número de leucócitos totais está representado na Tabela 15 e Gráfico 9. Somente o grupo que recebeu extrato solúvel em água (GS) apresentou aumento estatístico ($P < 0,05$) dos leucócitos no sétimo e nono dias quando comparado com o tempo zero. Segundo Campbell (2004), houve leucocitose nesses tempos.

Tabela 15 – Valores médios de leucócitos totais (WBC x 10^3 cels/ μ l) de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

Tempo (T) (dias)	WBC (x 10^3 cels/ μ l)		
	Grupo Controle	Grupo Solúvel	Grupo Insolúvel
Tempo zero	8,60 \pm 1,04 ^a	8,10 \pm 0,46 ^b	9,40 \pm 2,17 ^a
T1 – 3 dias	9,57 \pm 1,55 ^a	8,20 \pm 0,98 ^b	9,70 \pm 2,34 ^a
T2 – 5 dias	9,03 \pm 0,99 ^a	9,80 \pm 1,47 ^{ab}	9,77 \pm 1,65 ^a
T3 – 7 dias	9,37 \pm 1,04 ^a	10,73 \pm 1,76 ^a	9,60 \pm 1,81 ^a
T4 – 9 dias	9,07 \pm 0,85 ^a	11,10 \pm 2,39 ^a	10,70 \pm 2,34 ^a

CV (%) WBC: 17,78

As médias seguidas das mesmas letras minúsculas não diferem estatisticamente entre os tempos (colunas), submetidas à análise de variância e ao teste SNK ($P < 0,05$).

Todavia, de acordo com Jain (1993), houve leucocitose no GS, no quinto, sétimo e nono dias, e no GI em todos os

momentos avaliados após administração do extrato de *M. rigida*.

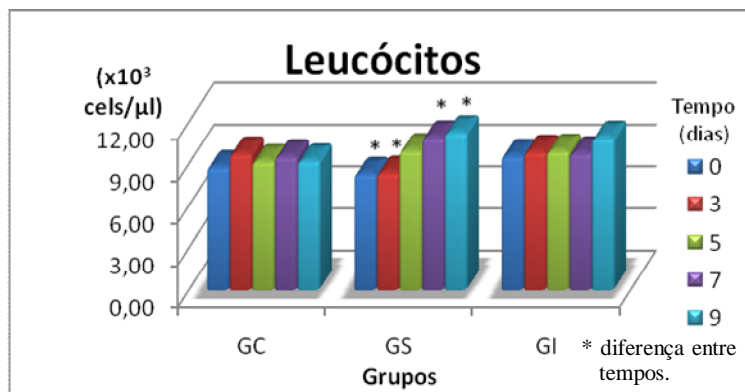


Gráfico 9 - Leucócitos totais ($\times 10^3$ cels/ μ l) de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

Os valores absolutos de linfócitos não apresentaram diferença estatística ($P > 0,05$), embora seja observado seu aumento progressivo ao longo do tempo nos grupos tratados (GS e GI) (Tabela 16 e Gráfico 10).

Os valores absolutos de heterófilos foram significativamente maiores que os valores basais ($P < 0,05$) no GS (Gráfico 11), em T1 (3 dias), T3 (7 dias) e T4 (9 dias).

Tabela 16 – Valores médios absolutos de linfócitos* e heterófilos ($\times 10^3$ cels/ μ l) de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

	Tempo (T) (dias)	Grupos		
		Grupo Controle	Grupo Solúvel	Grupo Insolúvel
Linfócitos ($\times 10^3$ cels/ μ l)	Tempo zero	6,00 \pm 1,00 ^a	5,92 \pm 0,99 ^b	6,14 \pm 0,99 ^a
	T1 – 3 dias	6,33 \pm 1,55 ^a	4,74 \pm 1,04 ^b	6,25 \pm 1,78 ^a
	T2 – 5 dias	5,74 \pm 0,50 ^a	6,65 \pm 0,93 ^a	6,20 \pm 1,50 ^a
	T3 – 7 dias	6,00 \pm 1,15 ^a	6,56 \pm 0,65 ^a	6,31 \pm 1,52 ^a
	T4 – 9 dias	5,94 \pm 0,75 ^a	6,81 \pm 1,59 ^a	6,70 \pm 1,86 ^a
CV(%): 18,96				
Heterófilos ($\times 10^3$ cels/ μ l)	Tempo zero	2,12 \pm 0,66 ^a	1,78 \pm 0,78 ^c	3,00 \pm 1,46 ^a
	T1 – 3 dias	2,78 \pm 0,46 ^a	3,12 \pm 0,19 ^{ab}	3,54 \pm 1,31 ^a
	T2 – 5 dias	2,73 \pm 0,19 ^a	2,29 \pm 0,65 ^{bc}	3,65 \pm 1,25 ^a
	T3 – 7 dias	2,97 \pm 0,42 ^a	3,64 \pm 1,35 ^a	3,23 \pm 1,31 ^a
	T4 – 9 dias	2,68 \pm 0,21 ^a	3,41 \pm 0,82 ^{ab}	3,99 \pm 0,98 ^a
CV(%): 32,24				

*Não houve diferença estatística pela análise de variância ($P > 0,05$).

Médias seguidas das mesmas minúsculas não diferem estatisticamente entre os tempos (colunas), submetidas à análise de variância e ao teste SNK ($P < 0,05$).

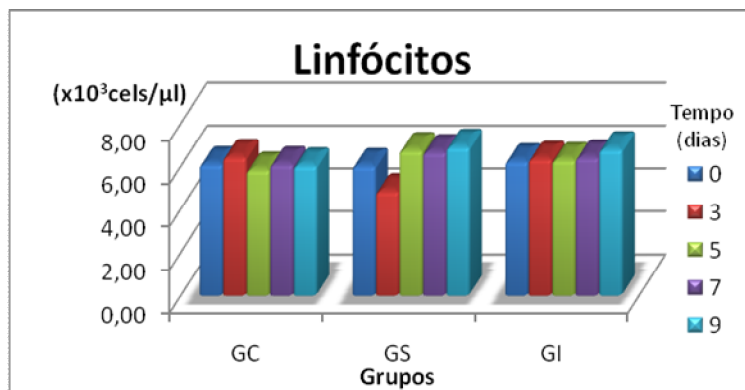


Gráfico 10 - Valores absolutos médios de linfócitos ($\times 10^3$ cels/ μ l) de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

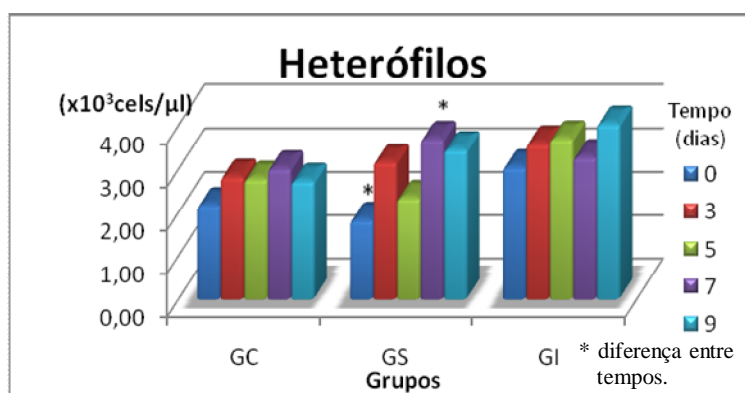


Gráfico 11 - Valores absolutos médios de heterófilos ($\times 10^3$ cels/ μ l) de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

Em relação aos valores relativos de linfócitos e heterófilos, ocorreu diminuição estatística ($P < 0,05$) de linfócitos e aumento de heterófilos em T1 (3º. dia) no GS ($P < 0,05$) (Tabela 17 e Gráficos 12 e 13).

Notou-se diminuição significativa ($P < 0,05$) na relação H:L no GS no terceiro dia (T1), resultante do aumento

de heterófilos e diminuição dos linfócitos. Em coelhos, a proporção H:L e a contagem absoluta de heterófilos parecem ser indicadores de distúrbios inflamatórios e, frente à infecções, são índices mais confiáveis que a contagem total de leucócitos (Jain, 1993; Campbell, 2004). Campbell (2004), descreve a relação H:L em coelhos adultos sadios de 35: 60.

Tabela 17 – Valores relativos médios de linfócitos e heterófilos (%) e relação heterófilos:linfócitos de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

	Tempo (T) (dias)	Grupos		
		Grupo Controle	Grupo Solúvel	Grupo Insolúvel
Linfócitos (%)	Tempo zero	69,67 ± 7,09 ^a	73,00 ± 11,14 ^a	65,33 ± 3,51 ^a
	T1 – 3 dias	65,67 ± 5,51 ^a	57,33 ± 6,35 ^b	64,00 ± 3,00 ^a
	T2 – 5 dias	63,67 ± 2,52 ^a	68,00 ± 1,73 ^{ab}	63,00 ± 4,36 ^a
	T3 – 7 dias	63,67 ± 8,86 ^a	61,67 ± 6,35 ^{ab}	65,33 ± 7,51 ^a
	T4 – 9 dias	65,67 ± 2,89 ^a	61,33 ± 3,06 ^{ab}	62,00 ± 4,36 ^a
CV(%): 9,06				
Heterófilos (%)	Tempo zero	24,67 ± 7,51 ^a	22,00 ± 9,85 ^b	26,67 ± 0,58 ^a
	T1 – 3 dias	29,33 ± 5,13 ^a	38,67 ± 7,23 ^a	32,00 ± 3,61 ^a
	T2 – 5 dias	30,33 ± 1,53 ^a	23,00 ± 3,61 ^b	30,67 ± 6,03 ^a
	T3 – 7 dias	32,00 ± 5,57 ^a	33,33 ± 9,29 ^{ab}	29,67 ± 6,51 ^a
	T4 – 9 dias	29,67 ± 2,31 ^a	30,67 ± 2,89 ^{ab}	35,00 ± 1,73 ^a
CV(%): 21,23				
H:L	Tempo zero	24,67 : 69,67 ^a	22,00 : 73,00 ^b	26,67 : 65,33 ^a
	T1 – 3 dias	29,33 : 65,67 ^a	38,67 : 57,33 ^a	32,00 : 64,00 ^a
	T2 – 5 dias	30,33 : 63,67 ^a	23,00 : 68,00 ^b	30,67 : 63,00 ^a
	T3 – 7 dias	32,00 : 63,67 ^a	33,33 : 61,67 ^{ab}	29,67 : 65,33 ^a
	T4 – 9 dias	29,67 : 65,67 ^a	30,67 : 61,33 ^{ab}	35,00 : 62,00 ^a
CV(%): 29,09				

Médias seguidas das mesmas minúsculas não diferem estatisticamente entre os tempos (colunas), submetidas à análise de variância e ao teste SNK (P<0,05).

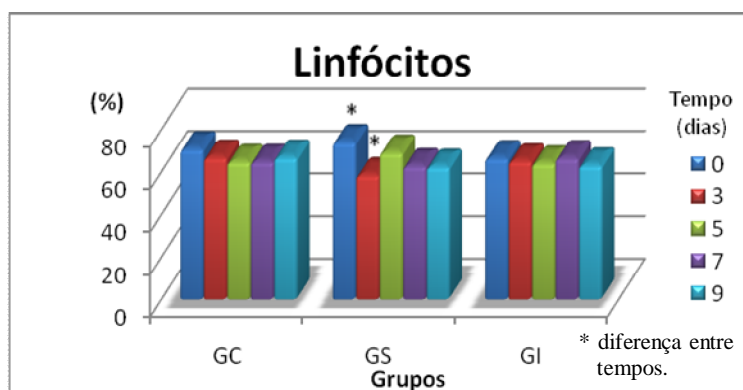


Gráfico 12 - Valores relativos médios de linfócitos (%) de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

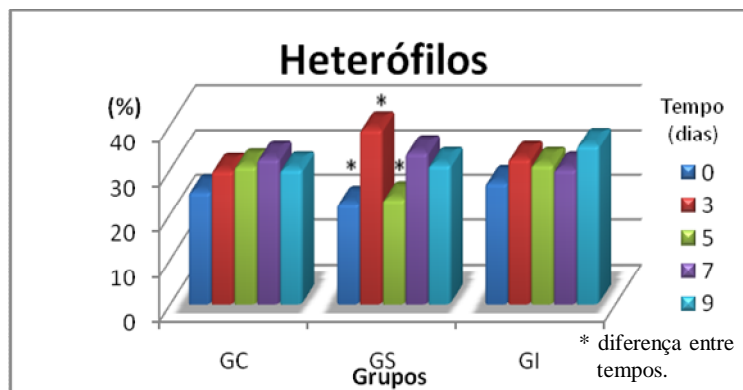


Gráfico 13 - Valores relativos médios de heterófilos (%) de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

Não foi observada a presença de neutrófilos jovens (bastonetes) na circulação após a intoxicação, indicando que a heterofilia foi uma resposta fisiológica, com recrutamento de células maduras. Não foram observadas respostas tóxicas leucocitárias na análise dos esfregaços sanguíneos, tais como heterófilos tóxicos, monócitos ativados ou hipersegmentação. Também não foram encontradas alterações inflamatórias ou infecciosas à análise anatomopatológica nos animais estudados dos diferentes grupos deste experimento que justificassem esses resultados.

De forma diferente, Lago (2007), estudando o efeito tóxico de *M. rigida*, não observou alteração nos valores da contagem total e diferencial de leucócitos de ovinos que receberam 20g/kg de extrato aquoso durante três e sete dias consecutivos.

Melo et al. (2008) relataram que as frações ricas em taninos (9 e 18g/kg) e flavanóides (9g/kg) de *M. rigida* diminuíram o número de leucócitos decorrente da redução do número de segmentados e linfócitos. Os autores atribuíram a influência do estresse crônico na diminuição leucocitária, que ocorre devido à atividade dos hormônios adrenocorticais nas condições de estresse (Thrall, 2007).

Estatisticamente, não houve diferença ($P>0,05$) nos valores absolutos e relativos de monócitos, eosinófilos e basófilos (Tabelas 18 e 19 e Gráficos 14 a 19), corroborando com o estudo de Lago (2007). Entretanto, Melo et al. (2008) observaram maiores valores de monócitos em camundongos que receberam 27g/kg da fração de taninos da *M. rigida*.

Tabela 18 – Valores absolutos médios de monócitos*, eosinófilos* e basófilos* ($\times 10^3$ cels/ μ l) de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

	Tempo (T) (dias)	Grupos		
		Grupo Controle	Grupo Solúvel	Grupo Insolúvel
Monócitos ($\times 10^3$ cels/ μ l)	Tempo zero	0,21 \pm 0,20	0,24 \pm 0,07	0,59 \pm 0,35
	T1 – 3 dias	0,36 \pm 0,22	0,16 \pm 0,02	0,18 \pm 0,07
	T2 – 5 dias	0,28 \pm 0,20	0,56 \pm 0,15	0,47 \pm 0,43
	T3 – 7 dias	0,18 \pm 0,19	0,28 \pm 0,24	0,26 \pm 0,08
	T4 – 9 dias	0,15 \pm 0,12	0,59 \pm 0,20	0,19 \pm 0,11
CV(%): 74,01				
Eosinófilos ($\times 10^3$ cels/ μ l)	Tempo zero	0,13 \pm 0,12	0,06 \pm 0,10	0,03 \pm 0,05
	T1 – 3 dias	0,03 \pm 0,05	0,03 \pm 0,05	0,12 \pm 0,21
	T2 – 5 dias	0,09 \pm 0,09	0,06 \pm 0,06	0,00 \pm 0,00
	T3 – 7 dias	0,10 \pm 0,10	0,03 \pm 0,05	0,06 \pm 0,06
	T4 – 9 dias	0,09 \pm 0,01	0,15 \pm 0,01	0,11 \pm 0,02
CV(%): 115,99				
Basófilos ($\times 10^3$ cels/ μ l)	Tempo zero	0,03 \pm 0,05	0,10 \pm 0,12	0,13 \pm 0,12
	T1 – 3 dias	0,06 \pm 0,10	0,14 \pm 0,06	0,08 \pm 0,14
	T2 – 5 dias	0,19 \pm 0,25	0,23 \pm 0,17	0,07 \pm 0,06
	T3 – 7 dias	0,11 \pm 0,19	0,22 \pm 0,14	0,15 \pm 0,04
	T4 – 9 dias	0,17 \pm 0,15	0,13 \pm 0,13	0,03 \pm 0,05
CV(%): 101,59				

*Não houve diferença estatística à análise de variância ($P > 0,05$).

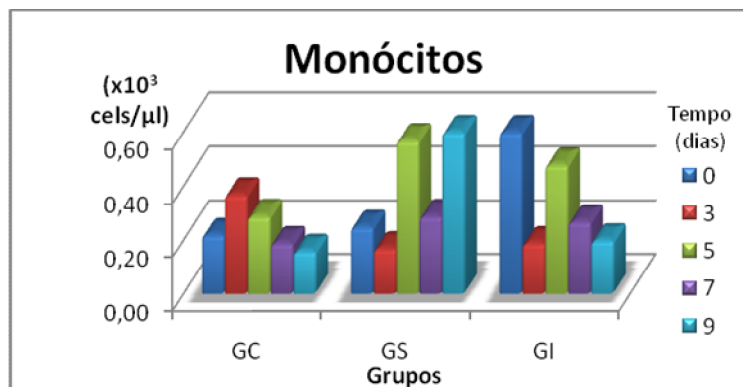


Gráfico 14 - Valores absolutos médios de monócitos ($\times 10^3$ cels/ μ l) de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

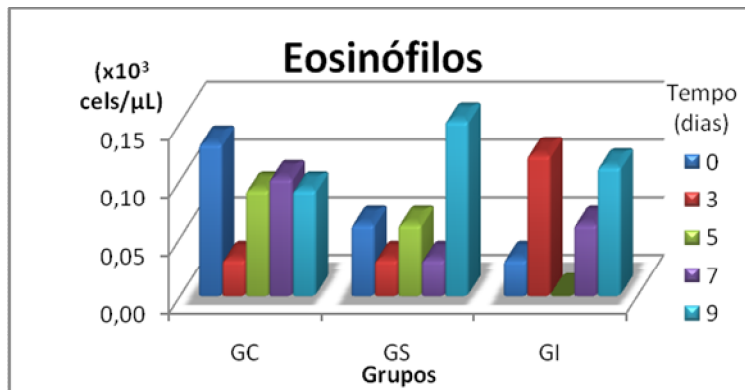


Gráfico 15 - Valores absolutos médios de eosinófilos ($\times 10^3$ cels/ μ l) de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

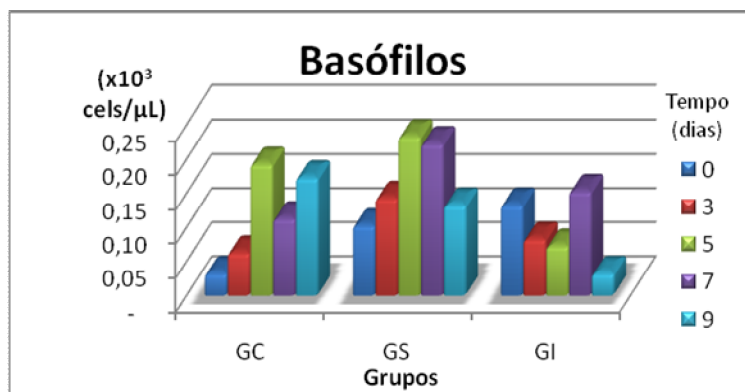


Gráfico 16 - Valores absolutos médios de basófilos ($\times 10^3$ cels/ μ l) de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

Tabela 19 – Valores relativos médios de eosinófilos*, monócitos* e basófilos* (%) de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

	Tempo (dias)	Grupos		
		Grupo Controle	Grupo Solúvel	Grupo Insolúvel
Eosinófilos (%)	Tempo zero	1,67 ± 1,53	0,67 ± 1,15	0,33 ± 0,58
	T1 – 3 dias	0,33 ± 0,58	0,33 ± 0,58	1,00 ± 1,73
	T2 – 5 dias	1,00 ± 1,00	0,67 ± 0,58	0,00 ± 0,00
	T3 – 7 dias	1,00 ± 1,00	0,33 ± 0,58	0,67 ± 0,58
	T4 – 9 dias	1,00 ± 0,00	1,33 ± 0,58	1,00 ± 0,00
CV(%): 109,85				
Monócitos (%)	Tempo zero	2,33 ± 2,08	3,00 ± 1,00	6,00 ± 2,65
	T1 – 3 dias	4,00 ± 2,65	2,00 ± 0,00	2,00 ± 1,00
	T2 – 5 dias	3,00 ± 2,00	6,00 ± 2,65	5,00 ± 5,00
	T3 – 7 dias	2,00 ± 2,00	2,67 ± 2,52	2,67 ± 0,58
	T4 – 9 dias	1,67 ± 1,15	5,33 ± 1,53	2,00 ± 1,73
CV(%): 71,65				
Basófilos (%)	Tempo zero	0,33 ± 0,58	1,33 ± 1,53	1,67 ± 1,53
	T1 – 3 dias	0,67 ± 1,15	1,67 ± 0,58	1,00 ± 1,73
	T2 – 5 dias	2,00 ± 2,65	2,33 ± 1,53	0,67 ± 0,58
	T3 – 7 dias	1,33 ± 2,31	2,00 ± 1,00	1,67 ± 0,58
	T4 – 9 dias	2,00 ± 1,73	1,33 ± 1,53	0,33 ± 0,58
CV(%): 99,66				

*Não houve diferença estatística pela análise de variância (P>0,05).

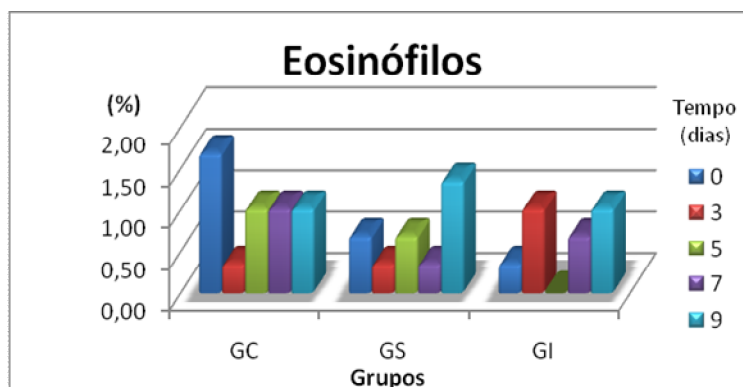


Gráfico 17 - Valores relativos médios de eosinófilos (%) de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

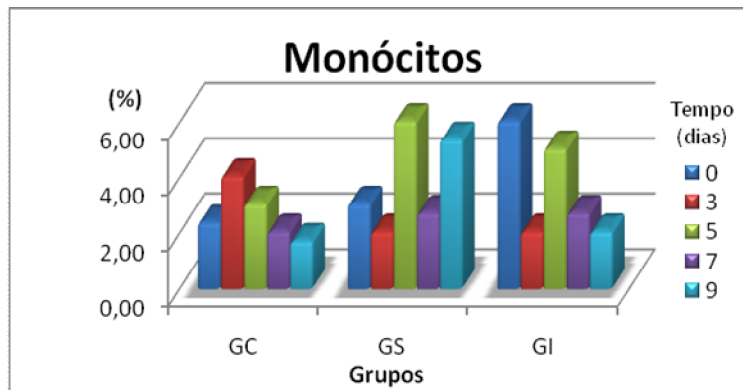


Gráfico 18 - Valores relativos médios de monócitos (%) de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

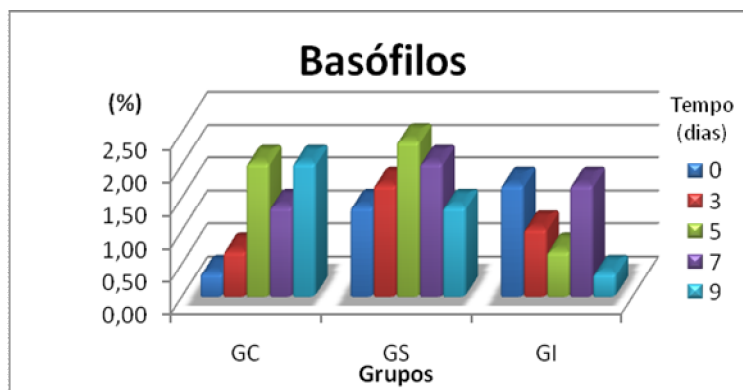


Gráfico 19 - Valores relativos médios de basófilos (%) de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

4.2.5 Perfil protéico eletroforético

O proteinograma dos animais está apresentado na Tabela 20 e Gráfico 20 e revela ausência de diferença estatística entre grupos e tempos ($P > 0,05$) indicando que a administração de extratos de *M. rigida* não causou danos que cursam com hipoproteinemia, liberação de proteínas inflamatórias e de

resposta antigênica. A mesma observação é válida para os constituintes protéicos fracionados através de eletroforese: albumina, alfa-1-globulina, alfa-2-globulina, betaglobulina e gamaglobulina, que estão representados nas Tabelas 20 e 21 e ilustradas nos Gráficos 21 e 24 a 27.

Tabela 20 – Valores médios de proteína total*, albumina plasmática*, globulinas plasmática* (g/dl) e relação albumina-globulina (A:G)* de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

	Tempo (T) (dias)	Grupos		
		Grupo Controle	Grupo Solúvel	Grupo Insolúvel
Proteína plasmática (g/dl) CV(%): 3,99	Tempo zero	6,53 ± 0,12	6,60 ± 0,53	6,60 ± 0,20
	T1 – 3 dias	6,40 ± 0,20	6,40 ± 0,35	6,33 ± 0,12
	T2 – 5 dias	6,40 ± 0,00	6,30 ± 0,10	6,53 ± 0,23
	T3 – 7 dias	6,67 ± 0,23	6,20 ± 0,00	6,60 ± 0,35
	T4 – 9 dias	6,33 ± 0,12	6,20 ± 0,20	6,60 ± 0,40
Albumina (g/dl) CV(%): 57,95	Tempo zero	4,17 ± 0,68	4,34 ± 1,10	4,63 ± 0,57
	T1 – 3 dias	4,50 ± 0,32	4,41 ± 0,45	4,05 ± 0,25
	T2 – 5 dias	3,98 ± 0,53	4,42 ± 0,31	4,47 ± 0,28
	T3 – 7 dias	4,72 ± 0,40	4,33 ± 0,10	4,58 ± 0,42
	T4 – 9 dias	4,78 ± 0,39	4,05 ± 1,00	4,71 ± 0,69
Globulinas (g/dl) CV(%): 25,56	Tempo zero	2,36 ± 0,72	2,26 ± 1,47	1,97 ± 0,45
	T1 – 3 dias	1,90 ± 0,13	1,99 ± 0,61	2,28 ± 0,14
	T2 – 5 dias	2,42 ± 0,53	2,01 ± 0,03	2,07 ± 0,19
	T3 – 7 dias	1,95 ± 0,50	1,94 ± 0,21	2,02 ± 0,11
	T4 – 9 dias	1,54 ± 0,30	2,15 ± 0,80	1,89 ± 0,61
Relação A:G CV(%): 35,77	Tempo zero	1,91 ± 0,75	2,70 ± 1,81	2,49 ± 0,53
	T1 – 3 dias	2,38 ± 0,34	2,43 ± 1,12	1,78 ± 0,36
	T2 – 5 dias	1,75 ± 0,68	2,20 ± 0,14	2,19 ± 0,39
	T3 – 7 dias	2,55 ± 0,73	2,24 ± 0,28	2,28 ± 1,43
	T4 – 9 dias	3,20 ± 0,88	2,21 ± 1,39	2,83 ± 0,11

*Não houve diferença estatística pela análise de variância (P>0,05).

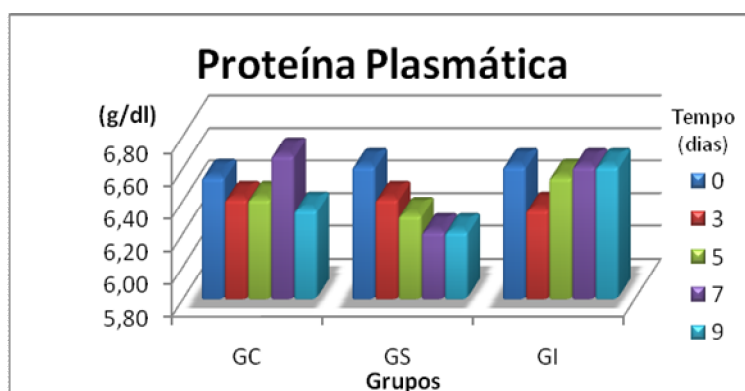


Gráfico 20 - Proteína plasmática (g/dl) de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

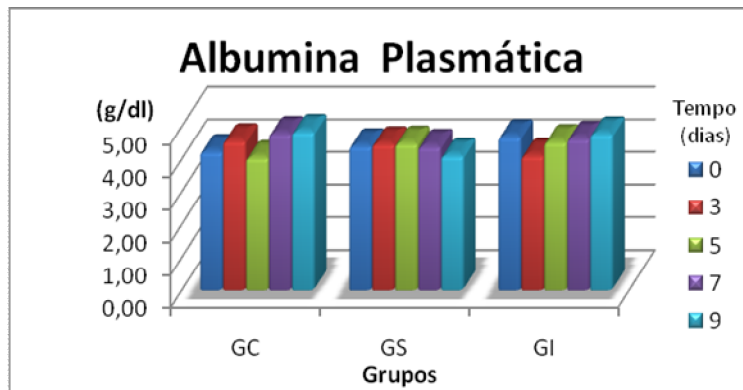


Gráfico 21 - Albumina plasmática (g/dl) de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

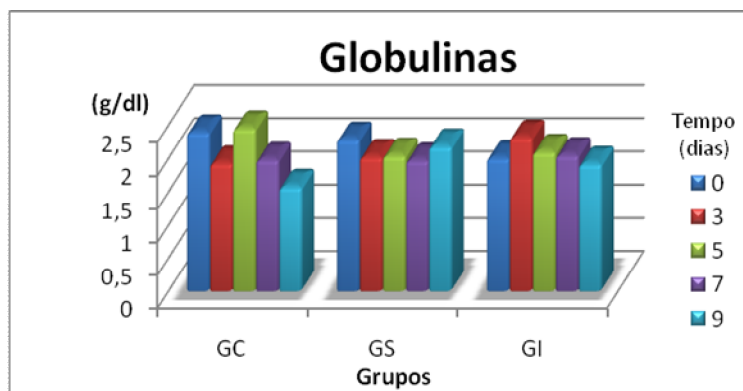


Gráfico 22 - Valores médios de globulinas (g/dl) de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

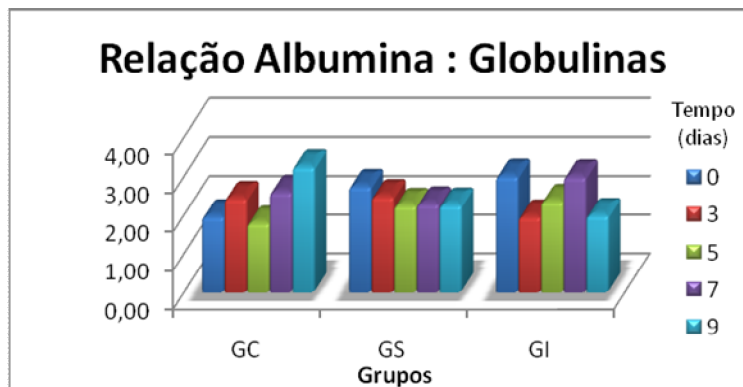


Gráfico 23 - Relação albumina:globulinas de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

Lago (2007) não observou alterações em proteínas totais, albumina e globulinas em ovinos intoxicados com 20g/kg de *Mascagnia rigida* em suspensão aquosa durante três e sete dias consecutivos. Melo et al. (2008) relataram menores

valores de proteínas totais de camundongos que receberam, durante sete dias consecutivos, 18g/kg e 27g/kg do extrato de taninos de *M. rigida*.

Os valores médios de proteína plasmática encontrados neste estudo estão de acordo com os de Mader (1997) (5,5 a 8,3g/dl) e Kaneko et al. (2008) (6,14 a 6,76g/dl). Entretanto, os resultados basais do perfil protéico de todos os grupos diferiram dos resultados de Campbell (2004), com uma variação de 54,6 a 79,0% de albumina, 1,6 a 8,2% de alfa-1; 0,8 a 17,6% de alfa-2; 5,6 a 15,8% de beta e 1,8 a 14,8% de gamaglobulinas, além da relação A:G, de 0,89 a 3,49.

Os valores de gamaglobulinas não apresentaram diferença estatística ($P>0,05$), assim como as alfa (1 e 2) e betaglobulinas. Mader (1997) considerou valores séricos normais de gamaglobulinas de 1,50 a 2,80g/dl, valores estes muito semelhantes aos encontrados neste estudo. Já Opperl et al. (1988) encontraram valores de IgG de coelhos, entre 0,7 a 1,18g/dl, o que corresponde cerca de 90% das gamaglobulinas.

Tabela 21 – Valores médios de alfa*, beta* e gamaglobulinas* (g/dl) de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

	Tempo (T) (dias)	Grupos		
		Grupo Controle	Grupo Solúvel	Grupo Insolúvel
Alfa-1 (g/dl)	Tempo zero	0,37 ± 0,10	0,37 ± 0,42	0,25 ± 0,09
	T1 – 3 dias	0,27 ± 0,08	0,21 ± 0,13	0,33 ± 0,08
	T2 – 5 dias	0,42 ± 0,06	0,25 ± 0,20	0,46 ± 0,11
	T3 – 7 dias	0,30 ± 0,08	0,21 ± 0,06	0,50 ± 0,40
	T4 – 9 dias	0,26 ± 0,02	0,22 ± 0,16	0,35 ± 0,34
CV(%): 58,56				
Alfa-2 (g/dl)	Tempo zero	0,71 ± 0,70	0,79 ± 0,75	0,35 ± 0,33
	T1 – 3 dias	0,36 ± 0,15	0,50 ± 0,38	0,58 ± 0,49
	T2 – 5 dias	0,43 ± 0,29	0,65 ± 0,31	0,61 ± 0,21
	T3 – 7 dias	0,42 ± 0,09	0,39 ± 0,39	0,49 ± 0,23
	T4 – 9 dias	0,29 ± 0,06	0,49 ± 0,46	0,36 ± 0,31
CV(%): 72,03				
Beta (g/dl)	Tempo zero	0,79 ± 0,32	0,75 ± 0,56	0,59 ± 0,26
	T1 – 3 dias	0,57 ± 0,04	0,63 ± 0,14	0,64 ± 0,03
	T2 – 5 dias	0,96 ± 0,34	0,70 ± 0,23	0,72 ± 0,10
	T3 – 7 dias	0,57 ± 0,27	0,64 ± 0,22	0,59 ± 0,13
	T4 – 9 dias	0,43 ± 0,06	0,75 ± 0,41	0,56 ± 0,19
CV(%): 37,51				
Gama (g/dl)	Tempo zero	0,49 ± 0,21	0,34 ± 0,33	0,78 ± 0,61
	T1 – 3 dias	0,71 ± 0,13	0,65 ± 0,40	0,73 ± 0,38
	T2 – 5 dias	0,61 ± 0,50	0,40 ± 0,46	0,27 ± 0,04
	T3 – 7 dias	0,67 ± 0,11	0,70 ± 0,44	0,45 ± 0,45
	T4 – 9 dias	0,56 ± 0,17	0,69 ± 0,29	0,62 ± 0,38
CV(%): 57,95				

*Não houve diferença estatística pela análise de variância ($P>0,05$).

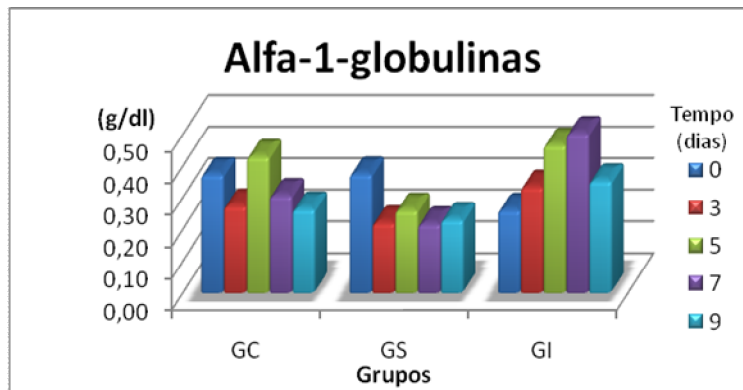


Gráfico 24 - Alfa-1-globulinas (g/dl) de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel em água (GI) de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

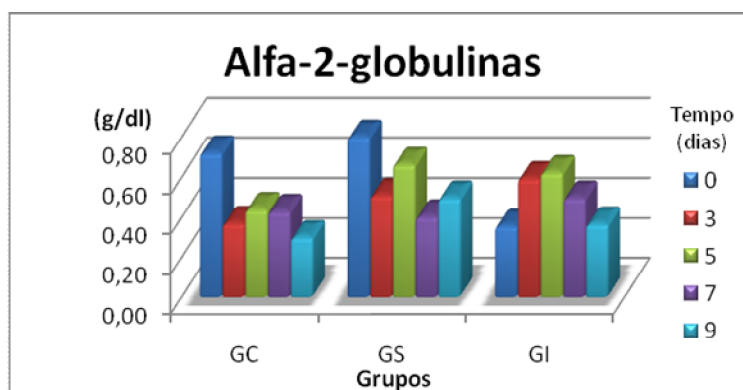


Gráfico 25 - Alfa-2-globulinas (g/dl) de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

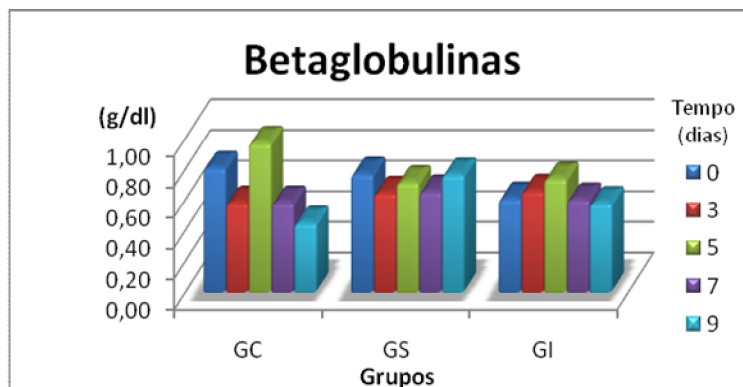


Gráfico 26 - Betaglobulinas (g/dl) de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

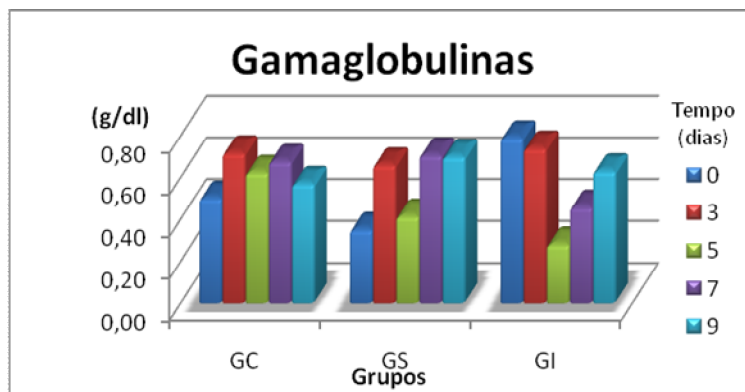


Gráfico 27 - Gamaglobulinas (g/dl) de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

4.2.6 Perfil bioquímico sérico e plasmático

Os resultados da dosagem de uréia e creatinina, apresentados na Tabela 22 e Gráfico 28 e 29, tiveram como objetivo a avaliação da função renal. A administração dos extratos solúvel e insolúvel de *M. rigida* não causou alteração na função renal dos animais destes grupos nos tempos estudados ($P > 0,05$), conforme também relatado por

Lago (2007) após administrar 20g/kg de suspensão aquosa de *M. rigida* para ovinos durante três e sete dias consecutivos. De acordo com Mader (1997) (13 a 29mg/dl de uréia e 0,5 a 2,5mg/dl de creatinina) não há caracterização de azotemia nestes animais.

Tabela 22 - Valores séricos médios de uréia* e creatinina* (mg/dl) de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

	Tempo (T) (dias)	Grupos		
		Grupo Controle	Grupo Solúvel	Grupo Insolúvel
Uréia (mg/dl)	Tempo zero	18,67 ± 2,89	22,33 ± 2,31	21,00 ± 2,00
	T1 – 3 dias	21,00 ± 6,56	18,33 ± 1,15	19,00 ± 1,00
	T2 – 5 dias	19,67 ± 2,31	18,67 ± 3,51	17,00 ± 2,65
	T3 – 7 dias	18,67 ± 2,52	22,00 ± 4,36	21,00 ± 1,00
	T4 – 9 dias	18,33 ± 3,06	20,67 ± 5,51	20,33 ± 4,16
CV(%): 16,02				
Creatinina (mg/dl)	Tempo zero	1,17 ± 0,99	1,00 ± 0,10	1,10 ± 0,10
	T1 – 3 dias	0,90 ± 0,10	1,07 ± 0,15	0,97 ± 0,06
	T2 – 5 dias	1,27 ± 0,35	1,27 ± 0,40	1,00 ± 0,10
	T3 – 7 dias	0,87 ± 0,81	0,83 ± 0,15	0,93 ± 0,31
	T4 – 9 dias	1,50 ± 0,62	0,83 ± 0,15	0,87 ± 0,12
CV(%): 37,34				

*Não houve diferença estatística, submetidos à transformação logarítmica +1 (creatinina), pela análise de variância ($P > 0,05$).

Os animais não foram submetidos a exercícios, inanição, uso de corticóides, assim como o aumento de ingestão de proteínas, que poderiam levar ao

aumento da produção de uréia ou creatinina, embora esta última seja menos influenciada pela dieta protéica que a uréia (Finco, 1997).

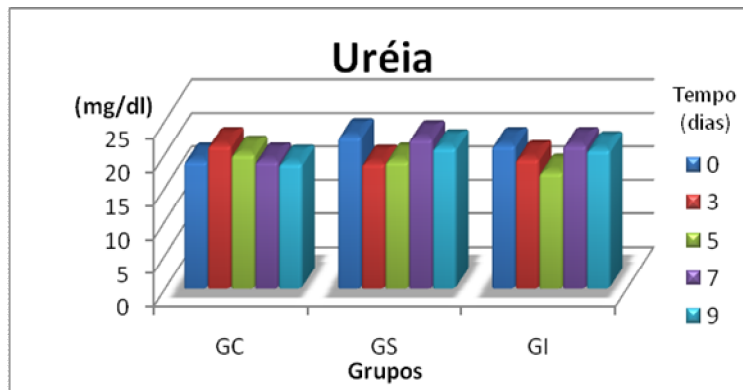


Gráfico 28 - Valores séricos médios de uréia (mg/dl) de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

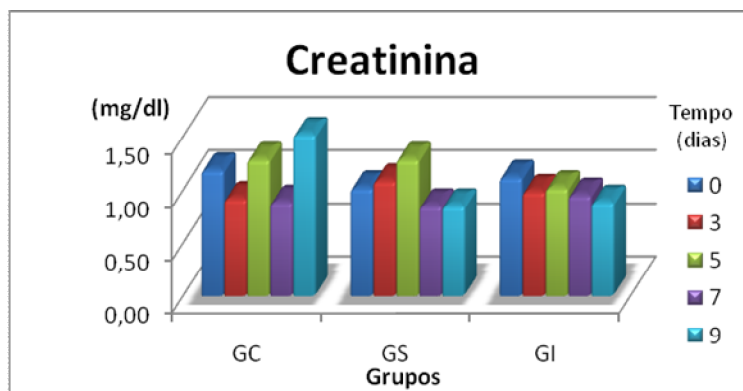


Gráfico 29 - Valores séricos médios de creatinina (mg/dl) de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

Vários trabalhos indicam a degeneração hidrópico-vacuolar dos túbulos contorcidos distais como a principal lesão causada por *Mascagnia* sp. (Tokarnia et al. 1987; Tokarnia et al., 1994; Gava et al., 1998; Vasconcelos et al., 2008a; Vasconcelos et al., 2008b), porém sem o acompanhamento de urinálise e da avaliação de provas bioquímicas da função renal. Portanto, não existe um paralelo entre a degeneração hidrópico-vacuolar e a função renal. Segundo Campbell (2004), é necessária perda de 50 a 75% da função renal para o aparecimento de azotemia e para isto, a classificação da alteração morfológica teria que ser de moderada a intensa.

Os trabalhos dos autores que relataram a degeneração hidrópico-vacuolar em

animais intoxicados por *M. rigida* não classificam o grau de acometimento histopatológico. Porém, como é descrito polaciúria em animais intoxicados por *M. rigida* (Santos, 1975; Lago, 2007), a degeneração dos túbulos contorcidos distais seria condizente com este sinal clínico, uma vez a parte final desta estrutura renal é responsável pela reabsorção de água e sódio e secreção de potássio (Guyton e Hall, 2006).

Lago (2007) não encontrou alteração histopatológica nos rins que indicasse comprometimento da sua função e hipotetizou que a polaciúria, que também foi observada por Santos (1975) em bovinos intoxicados por folhas e frutos de *M. rigida*, possa ter ocorrido devido ao aumento da taxa de filtração

glomerular causada pelo aumento da frequência cardíaca.

Os valores de fosfatase alcalina (FA) não apresentaram diferença estatística

($P > 0,05$) neste estudo (Tabela 23 e Gráfico 30). Segundo Kaneko et al. (2008) (106,2 a 133,8U/l), os valores de FA encontram abaixo dos valores de referência para a espécie.

Tabela 23 - Valores séricos médios de fosfatase alcalina* (FA - U/l) de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

Tempo (T) (dias)	FA (U/l)		
	Grupo Controle	Grupo Solúvel	Grupo Insolúvel
Tempo zero	59,33 ± 21,83	68,33 ± 20,84	35,33 ± 8,50
T1 – 3 dias	50,00 ± 15,59	42,33 ± 7,57	35,67 ± 11,59
T2 – 5 dias	45,67 ± 18,50	46,67 ± 21,20	46,33 ± 16,01
T3 – 7 dias	38,67 ± 13,20	51,67 ± 15,31	40,33 ± 15,31
T4 – 9 dias	43,67 ± 26,50	43,33 ± 15,50	44,33 ± 10,07

CV FA: 35,04%

*Não houve diferença estatística pela análise de variância ($P > 0,05$).

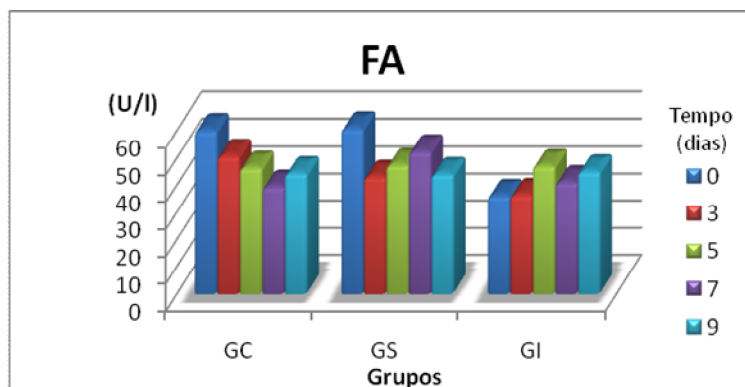


Gráfico 30 - Valores séricos médios de fosfatase alcalina (FA - U/l) de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

As frações solúvel e insolúvel em água de *M. rigida* não foram capazes de causar alterações nos valores séricos de FA na dose de 30g/kg de MS. Os resultados diferem de Santos (1975) que observou aumento da FA após a administração de folhas e frutos de *M. rigida* a 12 bovinos durante 30 dias. Como a FA é utilizada como índice colestático, podendo indicar obliteração de ductos biliares, o tempo da administração (efeito cumulativo) pode ser um fator importante.

Os animais que receberam o extrato insolúvel (GI) de *M. rigida* apresentaram diminuição sérica de ALT ($P < 0,05$) (Tabela 24 e Gráfico 31) no terceiro (T1) e nono dias (T4) quando comparados aos valores basais (tempo zero). Neste mesmo grupo, também foi observada uma diminuição sérica de AST ($P < 0,05$) no terceiro (T1) e sétimo dias (T3).

Os animais que receberam o extrato solúvel (GS) apresentaram diminuição sérica de AST ($P < 0,05$) no quinto dia (T2).

Tabela 24 - Valores séricos médios de alanina aminotransferase (ALT - U/l) e aspartato aminotransferase (AST - U/l) de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

		Tempo (T) (dias)	Grupos		
			Grupo Controle	Grupo Solúvel	Grupo Insolúvel
ALT (U/l)		Tempo zero	76,33 ± 21,73 ^a	118,33 ± 39,93 ^a	138,67 ± 13,8 ^a
		T1 – 3 dias	64,67 ± 21,55 ^a	114,67 ± 7,02 ^a	65,67 ± 3,79 ^b
		T2 – 5 dias	113,33 ± 13,43 ^a	96,67 ± 38,14 ^a	138,33 ± 19,40 ^a
		T3 – 7 dias	79,33 ± 5,51 ^a	109,67 ± 35,36 ^a	102,67 ± 40,02 ^{ab}
		T4 – 9 dias	97,33 ± 69,40 ^a	100,00 ± 29,14 ^a	85,33 ± 17,50 ^b
CV(%):33,56					
AST (U/l)		Tempo zero	62,00 ± 26,46 ^b	88,00 ± 21,63 ^a	87,67 ± 16,62 ^a
		T1 – 3 dias	54,00 ± 34,83 ^b	77,00 ± 2,65 ^{ab}	44,00 ± 13,45 ^c
		T2 – 5 dias	98,00 ± 60,63 ^a	53,33 ± 14,84 ^b	59,67 ± 17,79 ^{abc}
		T3 – 7 dias	78,00 ± 57,38 ^{ab}	60,67 ± 9,29 ^{ab}	45,67 ± 10,02 ^{bc}
		T4 – 9 dias	77,00 ± 43,86 ^{ab}	73,67 ± 30,35 ^{ab}	78,00 ± 33,45 ^{ab}
CV(%):43,69					

Médias seguidas das mesmas minúsculas não diferem estatisticamente entre os tempos (colunas), submetidas à análise de variância, ao teste SNK (ALT) e teste Duncan (AST) (P<0,05).

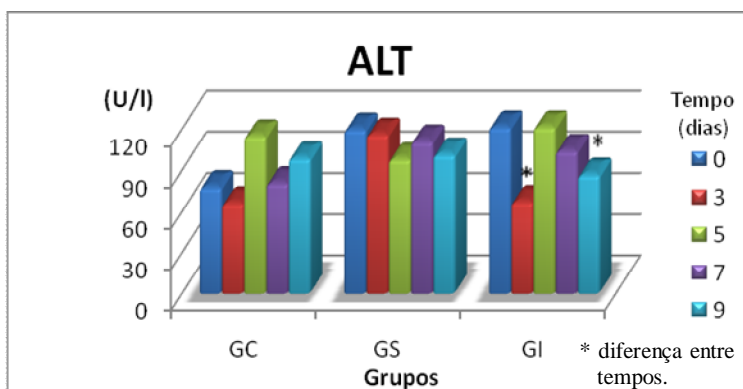


Gráfico 31 - Valores séricos médios de alanina aminotransferase (ALT - U/l) de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

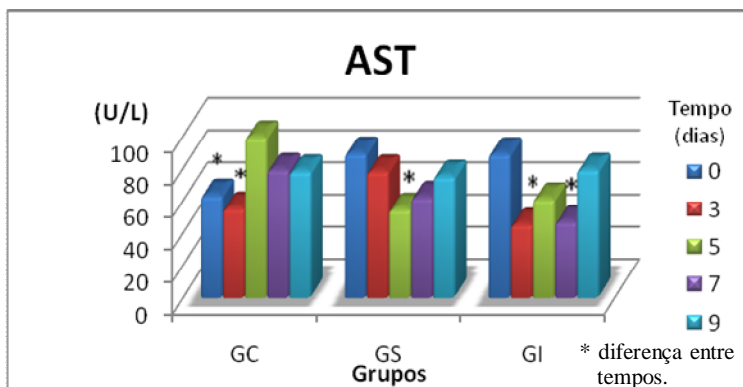


Gráfico 32 - Valores séricos médios de aspartato aminotransferase (AST - U/l) de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

Diferentemente do relatado por estes autores, neste trabalho observou-se diminuição da concentração sérica das enzimas ALT e AST. A diminuição da concentração plasmática de enzimas se deve a três fatores: diminuição de processo lesional, quando em valores altos, diminuição de sua produção, como em caso de hepatopatias crônicas ou mecanismos inibitórios e aumento de sua excreção (Stockham e Scott, 2002). Como não ocorreu lesão hepática e os animais não eram portadores de hepatopatia crônica, suspeita-se que tenha ocorrido inibição da produção das enzimas de forma semelhante à descrita por Melo (1998) após intoxicação experimental em caprinos pela *Tetrapteryx multiglandulosa* (Malpighiaceae).

Santos (1975) observou aumento da AST em 12 bovinos que receberam folhas e frutos de *M. rigida* durante 30 dias. Lago (2007) não observou aumento sérico de AST em ovinos intoxicados durante três e sete dias por *M. rigida*. Melo et al. (2008) constataram que 9g/kg de extratos aquosos de *M. rigida* (taninos, flavanóides, alcalóides e saponinas) não causaram alteração de AST e ALT. Entretanto, após duplicar ou triplicar a dose inicial (18g/kg e 27g/kg), houve aumento de AST, sem aumento da ALT.

Saad et al. (1970) relataram valores mais elevados tanto de AST (119,6 U/I) como de ALT (66,1U/I) nos animais intoxicados quando comparados com os animais saudáveis (26,69 U/I de AST e 20,01 U/I de ALT) em cobaias intoxicadas por *M. pubiflora*.

Com relação à enzima lactato desidrogenase (LDH) (Tabela 25 e Gráfico 33), esta apresentou diferença estatística ($P < 0,05$) nos grupos tratados (GS e GI). No GS, houve diminuição de LDH em T2, T3 e T4 (quinto ao nono dia) quando comparado com os valores basais (tempo zero). No GI, houve diminuição bem marcante em T2 (quinto dia), com posterior retorno aos valores normais.

Segundo Mader (1997), a LDH apresentou-se abaixo dos valores de referência para a espécie (34 - 129U/I) no quinto e sétimo dia (T2 e T3) do GS e no quinto dia (T2) do GI. É interessante salientar que, a diminuição de LDH ocorreu nos mesmos momentos nos quais ocorreram a diminuição do hematócrito. A LDH foi o primeiro marcador com perfil de isoenzima utilizado na medicina veterinária para detectar lesões específicas, e é formada por várias isoenzimas presentes em alguns tecidos e eritrócitos, o que poderia justificar sua diminuição.

Tabela 25 - Valores séricos médios de lactato desidrogenase* (LDH - U/I) de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

Tempo (T) (dias)	LDH (U/I)		
	Grupo Controle	Grupo Solúvel	Grupo Insolúvel
Tempo zero	57,00 ± 27,84 ^a	89,67 ± 24,83 ^a	63,67 ± 21,39 ^a
T1 – 3 dias	61,67 ± 22,81 ^a	55,00 ± 1,00 ^{ab}	38,70 ± 13,67 ^{ab}
T2 – 5 dias	57,00 ± 6,00 ^a	29,63 ± 16,00 ^b	15,63 ± 2,49 ^b
T3 – 7 dias	43,33 ± 7,57 ^a	24,67 ± 2,52 ^b	52,67 ± 32,19 ^a
T4 – 9 dias	67,67 ± 44,46 ^a	36,67 ± 3,21 ^b	48,33 ± 13,01 ^{ab}

CV(%) LDH: 50,12

As médias seguidas das mesmas letras minúsculas não diferem estatisticamente entre os tempos (colunas), submetidas à análise de variância e ao teste Duncan ($P < 0,05$).

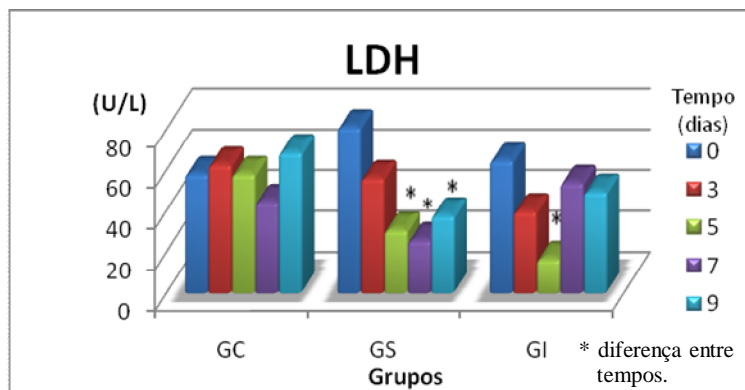


Gráfico 33 - Valores séricos médios de lactato desidrogenase (LDH - U/l) de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

Melo et al. (2008) avaliaram o comportamento da LDH em camundongos intoxicados com frações de *M. rigida* (saponinas, taninos, flavanóides e alcalóides) e não encontraram alterações significativas. Os autores atribuíram esse fato à grande oscilação da LDH no seu estudo.

Os valores médios de CK, CK-MB e % de MB não apresentaram diferença estatística ($P > 0,05$) significativa (Tabela 26 e Gráfico 34 a 36). Lum (1979) descreve valores de CK total em coelhos ente 1.078 a 1.245U/l, e apesar dos grupos GS e GI apresentarem em alguns

momentos valores acima do limite superior, o grupo controle também mostrou os mesmos resultados.

A porcentagem de CK-MB em relação ao valor total de CK fornece um dado confiável quando se avalia uma possível lesão do miocárdio, pois valores aumentados de CK-MB acompanhados de aumento de CK podem ser resultantes de esforço físico, por exemplo. Porém, quando se observa aumento de CK-MB não acompanhado de aumento da CK total, a porcentagem da isoenzima MB fica elevada, comprovando-se lesão no músculo cardíaco (Melo et al., 2008).

Tabela 26 - Valores séricos médios de creatina quinase* (CK - U/l), de fração MB da creatina quinase* (CK-MB - U/l) e porcentagem relativa de CK-MB* (CK-MB/CK - %) de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

	Tempo (T) (dias)	Grupos		
		Grupo Controle	Grupo Solúvel	Grupo Insolúvel
CK (U/l)	Tempo zero	1112,07 ± 496,21	1006,73 ± 198,40	577,80 ± 190,73
	T1 – 3 dias	928,03 ± 378,36	778,10 ± 250,56	669,40 ± 270,00
	T2 – 5 dias	1776,80 ± 577,36	1195,73 ± 432,18	1021,57 ± 649,33
	T3 – 7 dias	1927,03 ± 702,35	1559,73 ± 1111,17	1268,93 ± 1085,59
	T4 – 9 dias	1905,87 ± 847,49	1165,43 ± 668,12	616,27 ± 205,03
CV(%): 57,42				
CK-MB (U/l)	Tempo zero	363,73 ± 214,02	413,67 ± 178,01	230,43 ± 177,92
	T1 – 3 dias	505,40 ± 346,66	276,30 ± 46,55	135,47 ± 55,25
	T2 – 5 dias	361,03 ± 136,12	320,00 ± 165,85	213,17 ± 58,56
	T3 – 7 dias	317,87 ± 88,62	224,50 ± 142,39	287,10 ± 212,00
	T4 – 9 dias	486,27 ± 142,70	577,70 ± 578,02	300,30 ± 116,33
CV(%): 64,77				
CK-MB/ CK (%)	Tempo zero	35,89 ± 27,49	43,68 ± 26,17	43,33 ± 29,88
	T1 – 3 dias	51,19 ± 15,02	38,77 ± 15,38	25,66 ± 21,92
	T2 – 5 dias	20,39 ± 5,59	25,40 ± 6,25	24,35 ± 9,47
	T3 – 7 dias	17,20 ± 4,74	15,06 ± 4,33	27,44 ± 14,46
	T4 – 9 dias	29,90 ± 15,18	45,01 ± 22,57	48,13 ± 2,95
CV(%): 55,68				

*Não houve diferença estatística pela análise de variância (P>0,05).

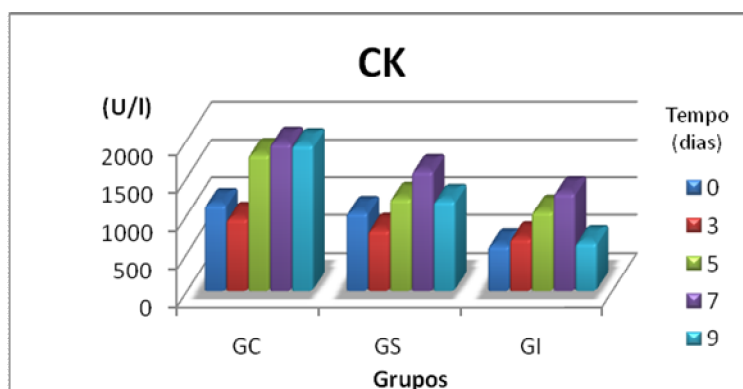


Gráfico 34 - Valores séricos médios de creatina quinase (CK - U/l) de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

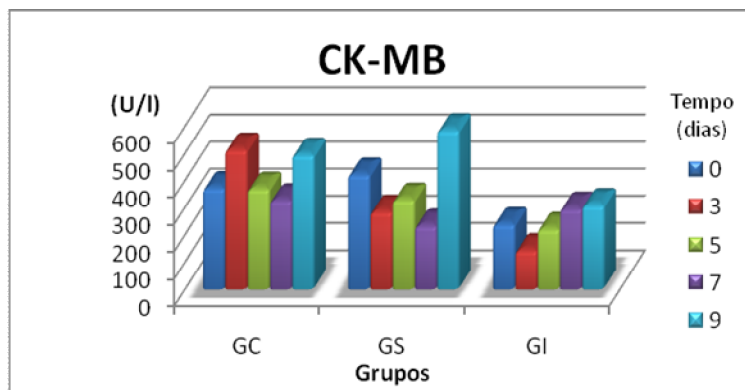


Gráfico 35 - Valores séricos médios de creatina quinase fração MB (CK-MB - U/l) de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

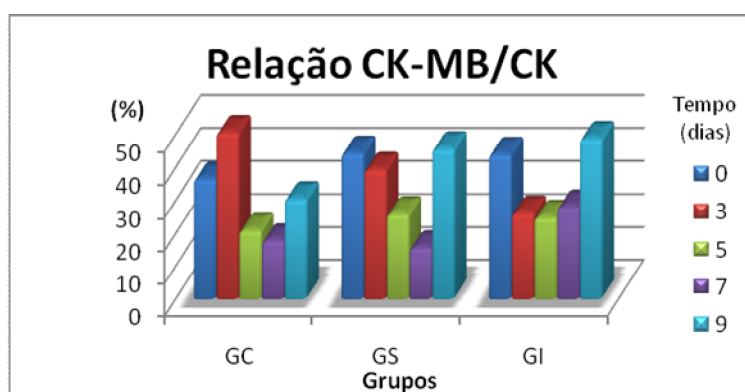


Gráfico 36 - Relação CK-MB/CK (%) de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

No estudo de Melo et al. (2008), a fração de alcalóides de *M. rigida* nas doses de 18 e 27g/kg foram capazes de causar um aumento de cerca de 80% de CK-MB em camundongos experimentalmente intoxicados. Saponinas na dose de 9 e 18g/kg causaram um aumento de cerca de 70% de CK-MB. Os autores concluíram que, especialmente os alcalóides possuem ação tóxica sobre os cardiomiócitos.

A mensuração da troponina em kits comerciais é de alta qualidade no diagnóstico específico de lesões de miocárdio em humanos (Bodor et al., 1992; Cupo e Hering, 2002; Meki et al., 2003; Diniz et al., 2007). A maior vantagem deste teste é a habilidade em detectar lesões miocárdicas que são indetectáveis por métodos enzimáticos

convencionais, com alta sensibilidade e especificidade em seres humanos (Cupo e Hering, 2002).

A mensuração da Troponina I (cTnI) revelou resultados negativos em todos os animais em todos os tempos e o seu uso como marcador específico indica que não houve lesão miocárdica. A concentração normal de cTnI em coelhos saudáveis varia em torno de $1,2$ a $1,4 \times 10^{-4}$ ng/ml (Jasinska et al., 2006). Como o teste imunocromatográfico utilizado reage apenas na presença de concentrações acima de 0,5ng/ml, não se descarta a possibilidade de ter havido lesões com a liberação de pequenas quantidades de cTnI. Porém, lesões cardíacas experimentais em coelhos com o uso deste marcador revelam aumentos muito maiores que esse limite (Horton et

al., 1995), com concentrações plasmáticas de até 2ng/ml (Pinelli et al., 2002).

De acordo com os resultados do perfil muscular (AST, CK, CK-MB, CK-MB/CK e troponina) não houve lesão do miocárdio após a administração dos extratos de *M. rigida* (solúvel e insolúvel) no tempo proposto por este estudo.

Não foi observada diferença estatística ($P>0,05$) nas mensurações sérica de potássio, conforme demonstrado na Tabela 27 e Gráfico 37. Segundo referências de Kaneko et al. (2008) (4,8 a 5,8mmol/l), os valores apresentaram discreta diminuição no grupo controle (GC) no quinto dia (4,34mmol/l) e no grupo insolúvel (GI) nos sétimo e nono dias (4,27 e 4,32 mmol/l). De acordo com a classificação de Mader (1997) (3,6 a 6,9mmol/l), estes valores estão dentro dos limites de normalidade.

O potássio participa de todo o potencial

elétrico ventricular através da bomba de sódio-potássio-ATPase. A elevação do potássio sérico (hipercalemia) pode produzir onda P larga e achatada, QRS largo e onda T pontiaguda. Já a sua diminuição (hipocalemia) produz onda T achatada ou até sua inversão (Ramos e Souza, 2007).

A hipocalemia ocorre quando há saída do potássio do compartimento extracelular para o intracelular, diminuição do consumo dietético ou aumento da perda de potássio pelos rins, trato digestivo ou pele. As causas renais, poliúria e aumento do fluxo tubular renal podem promover maior excreção de potássio (Stockham e Scott, 2002). Neste estudo, não houve alteração de dieta dos animais em nenhum momento e não foi observada poliúria. Por ser demarcadamente intracelular, lesões celulares causariam aumento nas concentrações séricas deste eletrólito (Carlson, 1997), o que também não foi observado.

Tabela 27 - Valores plasmáticos médios de potássio* (mmol/l) de coelhos após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

Tempo (T) (dias)	Potássio (mmol/l)		
	Grupo Controle	Grupo Solúvel	Grupo Insolúvel
Tempo zero	5,34 ± 0,74	5,76 ± 0,78	4,86 ± 1,31
T1 – 3 dias	5,05 ± 1,16	4,77 ± 0,76	4,92 ± 0,74
T2 – 5 dias	4,34 ± 0,42	5,24 ± 0,53	5,03 ± 1,46
T3 – 7 dias	4,94 ± 0,32	5,89 ± 1,74	4,27 ± 0,21
T4 – 9 dias	4,88 ± 0,20	4,82 ± 1,26	4,32 ± 0,23

CV (%) Potássio: 17,94

*Não houve diferença estatística pela análise de variância ($P>0,05$).

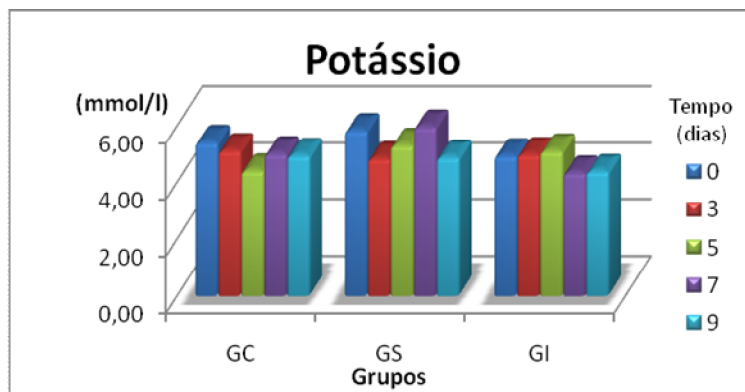


Gráfico 37 - Valores plasmáticos médios de potássio (mmol/l) de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

No GS houve diminuição estatística de cálcio sérico ($P < 0,05$) no quinto dia (T2) conforme demonstrado na Tabela 28 e Gráfico 38. Segundo as referências de Kaneko et al. (2008) (5,8 a 14,0mg/dl), a concentração sérica de cálcio permaneceu dentro dos valores de referência nos grupos que receberam os extratos de *M. rigida* (solúvel e insolúvel). Já os valores de fósforo, foram significativamente diferentes ($P < 0,05$) em relação aos tratamentos e tempos. Em relação aos grupos, foram observados menores valores de fósforo em T2 (5 dias) no GI quando comparado com o grupo controle (GC) e em relação ao tempo, houve diminuição nos seus valores em T3 (7 dias) no GI. Os animais do GI apresentaram discreta hipofosfatemia a partir do T2, segundo

referências de Mader (1997) (4,0 a 6,9mg/dl) e Kaneko et al. (2008) (3,70 a 4,62mg/dl).

O cálcio participa da contração cardíaca e da condução do estímulo elétrico ventricular, sendo um íon importante da fase de platô (fase 2), que corresponde ao intervalo Q-T (Kittleson, 1998). Havendo distúrbio de cálcio, o ECG mostrará intervalo QT curto na hipercalcemia e intervalo QT longo na hipocalcemia (Ramos e Souza, 2007). O cálcio também mantém uma relação de homeostase com o fósforo: o aumento de fósforo pode alterar o cálcio ionizado na medida em que aumenta o cálcio ligado a este íon e diminui o cálcio ionizado, importante para a contração muscular esquelética e cardíaca.

Tabela 28 - Valores séricos médios de cálcio* e fósforo (mg/dl) de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

	Tempo (T) (dias)	Grupos		
		Grupo Controle	Grupo Solúvel	Grupo Insolúvel
Ca²⁺ (mg/dl)	Tempo zero	13,73 ± 0,83 ^a	14,83 ± 1,40 ^a	12,80 ± 0,62 ^a
	T1 – 3 dias	13,80 ± 0,61 ^a	12,93 ± 0,40 ^{ab}	12,97 ± 0,90 ^a
	T2 – 5 dias	14,27 ± 0,60 ^a	12,30 ± 0,10 ^b	12,30 ± 1,11 ^a
	T3 – 7 dias	12,83 ± 0,95 ^a	13,70 ± 0,52 ^{ab}	13,20 ± 1,15 ^a
	T4 – 9 dias	13,43 ± 0,81 ^a	13,20 ± 0,53 ^{ab}	13,40 ± 0,96 ^a
CV(%): 7,22				
P (mg/dl)	Tempo zero	4,93 ± 0,32 ^{Aab}	4,30 ± 0,95 ^{Aa}	5,13 ± 0,32 ^{Aa}
	T1 – 3 dias	4,87 ± 0,42 ^{Aab}	4,60 ± 2,00 ^{Aa}	4,73 ± 0,35 ^{Aab}
	T2 – 5 dias	5,60 ± 0,70 ^{Aa}	4,70 ± 0,53 ^{ABa}	3,67 ± 0,72 ^{Bab}
	T3 – 7 dias	3,87 ± 0,71 ^{Ab}	4,77 ± 0,31 ^{Aa}	3,53 ± 0,06 ^{Ab}
	T4 – 9 dias	4,40 ± 0,56 ^{Aab}	4,70 ± 0,17 ^{Aa}	3,67 ± 0,31 ^{Aab}
CV(%): 18,43				

Médias seguidas das mesmas letras maiúsculas não diferem estatisticamente entre os grupos (linhas) e seguidas das mesmas letras minúsculas não diferem estatisticamente entre os tempos (colunas), submetidas à análise de variância e ao teste SNK (P>0,05).

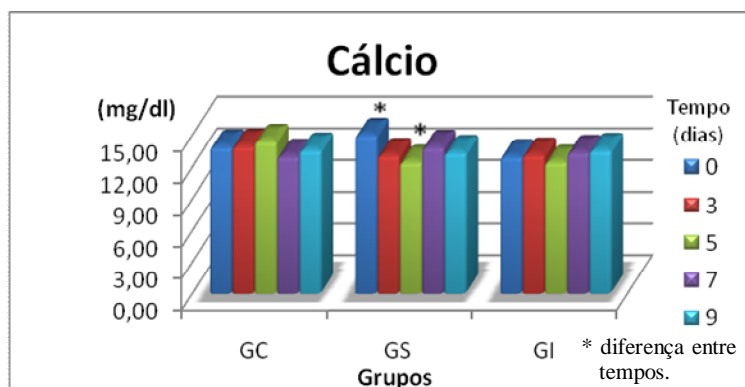


Gráfico 38 - Valores séricos médios de cálcio (mg/dl) de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

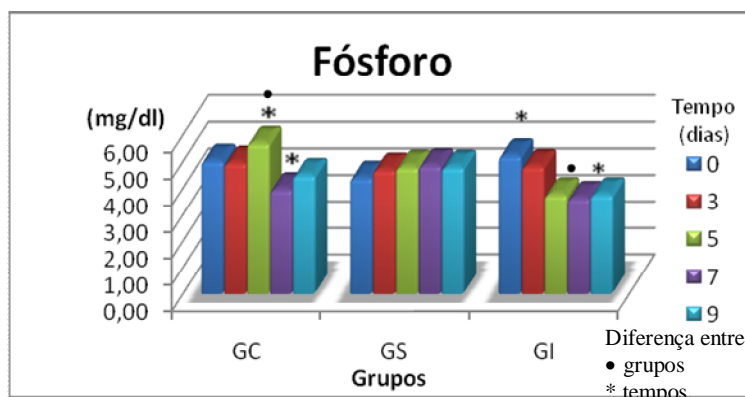


Gráfico 39 - Valores séricos médios de fósforo (mg/dl) de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

Santos (1975) não observou alterações nos valores de fósforo e cálcio em bovinos intoxicados por folhas e frutos de *M. rigida* (4g/kg) durante 30 dias. Em ovinos, Lago (2007) demonstrou que o extrato aquoso de *M. rigida* (20g/kg) administrado durante três e sete dias não alterou os níveis séricos de fósforo e potássio, mas alterou o de cálcio, entre o segundo e sétimo dia de avaliação.

Os valores séricos de magnésio foram estatisticamente diferentes ($P < 0,05$) em relação aos tempos e grupos. Os grupos

que receberam extratos de *M. rigida* (GS e GI) apresentaram menores valores de magnésio em relação ao grupo controle (GC) no quinto dia (T2). Essa mesma diminuição nos grupos GS e GI, também foi observada em relação ao tempo (T2), quando comparado com os valores basais (Tzero) (Tabela 29 e Gráfico 40).

De acordo com referência de Kaneko et al. (2008), os valores séricos de magnésio (2,09 a 2,41mg/dl) apresentaram-se diminuídos em T3 (7 dias) do GC, T2 (5 dias) do GS e do GI.

Tabela 29 - Valores séricos médios de magnésio (mg/dl) de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

Tempo (T) (dias)	Grupo Controle	Mg ²⁺ (mg/dl)	Grupo Solúvel	Grupo Insolúvel
Tempo zero	2,13 ± 0,21 ^{Aab}		2,50 ± 0,44 ^{Aa}	2,27 ± 0,21 ^{Aa}
T1 – 3 dias	2,27 ± 0,31 ^{Aab}		2,60 ± 0,40 ^{Aa}	2,23 ± 0,15 ^{Aa}
T2 – 5 dias	2,47 ± 0,31 ^{Aa}		1,87 ± 0,42 ^{Bb}	1,47 ± 0,06 ^{Bb}
T3 – 7 dias	1,90 ± 0,10 ^{Ab}		2,23 ± 0,23 ^{Aa}	2,23 ± 0,15 ^{Aa}
T4 – 9 dias	2,17 ± 0,32 ^{Aab}		2,47 ± 0,23 ^{Aa}	2,40 ± 0,36 ^{Aa}

CV (%) Magnésio: 16,62

Médias seguidas das mesmas letras maiúsculas não diferem estatisticamente entre os grupos (linhas) e seguidas das mesmas letras minúsculas não diferem estatisticamente entre os tempos (colunas), submetidas à análise de variância, à transformação logarítmica +1 e ao teste SNK ($P < 0,05$).

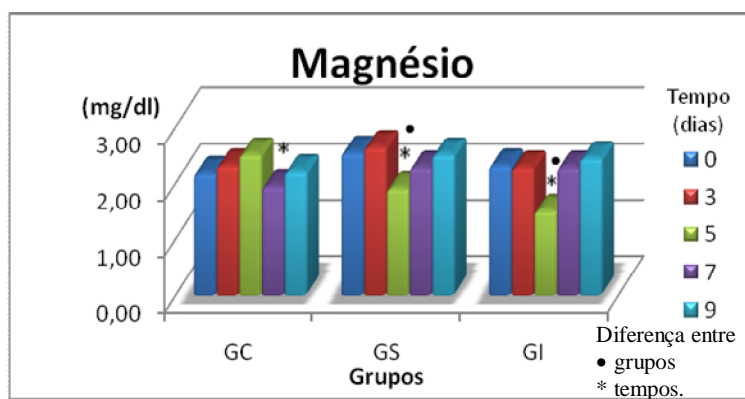


Gráfico 40 - Valores séricos médios de magnésio (mg/dl) de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

Pereira et al. (1996) não encontraram alterações séricas do magnésio em caprinos experimentalmente intoxicados com folhas verdes e secas de *M. rigida* (5 a 20g/kg).

O magnésio é um importante regulador de múltiplos processos cardiovasculares, incluindo a condução elétrica do miocárdio e contratilidade, o fluxo transmembrana de cálcio, transporte de

potássio, tônus do músculo liso vascular, reatividade coronariana e síntese de óxido nítrico (Noronha et al., 2002). Na medida em que o magnésio é um cofator essencial para a manutenção do potencial transmembrana do miocárdio, a hipomagnesemia diminui o limiar para arritmias (Booth et al., 2003).

Os efeitos tóxicos de *M. rigida* na fibra cardíaca podem estar associados com a capacidade ou não desta planta em causar hipomagnesemia, predispondo ao aparecimento de arritmias, uma das possíveis hipóteses de causa de morte súbita na intoxicação.

Os resultados desta pesquisa demonstraram diminuição de magnésio,

cálcio e fósforo cinco dias após a administração de extratos aquosos de *M. rigida* para coelhos, diferindo dos resultados de Santos (1975), que relatou ausência de variação nos valores de fósforo e cálcio de bovinos intoxicados por folhas e frutos de *M. rigida* (4g/kg) durante 30 dias. Todavia, Pereira et al. (1996) relataram que as folhas verdes e secas de *M. rigida* (5 a 20g/kg) alteraram as concentrações séricas de potássio, fósforo e magnésio em caprinos.

No quinto dia experimental (T2), os animais do GI apresentaram aumento significativo ($P < 0,05$) de cloretos (Tabela 30 e Gráfico 41).

Tabela 30 - Valores séricos médios de cloretos (mEq/l) de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

Tempo (T) (dias)	Cl (mEq/l)		
	Grupo Controle	Grupo Solúvel	Grupo Insolúvel
Tempo zero	110,00 ± 6,00 ^a	116,67 ± 8,62 ^a	120,67 ± 3,06 ^b
T1 – 3 dias	112,33 ± 7,64 ^a	116,00 ± 17,35 ^a	130,67 ± 1,53 ^{ab}
T2 – 5 dias	111,67 ± 4,73 ^a	114,67 ± 16,26 ^a	133,00 ± 3,00 ^a
T3 – 7 dias	110,33 ± 9,45 ^a	113,33 ± 9,45 ^a	126,33 ± 3,51 ^{ab}
T4 – 9 dias	107,00 ± 0,00 ^a	111,00 ± 16,46 ^a	130,00 ± 5,57 ^{ab}

CV (%) Cloretos: 9,56

As médias seguidas das mesmas letras minúsculas não diferem estatisticamente entre os tempos (colunas), submetidas à análise de variância e ao teste SNK ($P < 0,05$).

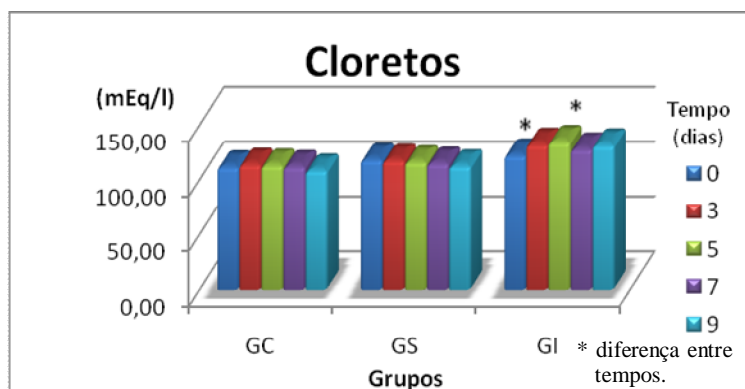


Gráfico 41 - Valores séricos médios de cloretos (mEq/l) de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

Segundo Campbell (2004), ocorreu hipercloremia no grupo extrato insolúvel (GI) aos três, cinco, sete e nove dias (T1, T2, T3 e T4) (89 - 120mEq/l). Podem ser citadas afecções que cursam com hipercloremia como a insuficiência renal aguda, acidose metabólica, síndrome nefrótica, diabetes insipidus, na hiperfunção adrenocortical e hiperparatireoidismo (Stockham e Scott, 2002), que também aumentariam os

níveis de cálcio. Insuficiência renal deve ser descartada neste estudo pela avaliação de função renal que se apresentou normal e diabetes insipidus pela ausência de poliúria.

As concentrações séricas de glicose não apresentaram alterações dignas de nota neste estudo, conforme demonstrado na Tabela 31 e Gráfico 42.

Tabela 31 - Valores séricos médios de glicose (mg/dl) de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

Tempo (T) (dias)	Glicose (mg/dl)		
	Grupo Controle	Grupo Solúvel	Grupo Insolúvel
Tempo zero	111,00 ± 17,35 ^{ab}	118,33 ± 11,93 ^a	110,00 ± 3,46 ^a
T1 – 3 dias	102,67 ± 14,36 ^b	121,33 ± 8,62 ^a	122,67 ± 10,07 ^a
T2 – 5 dias	131,67 ± 17,21 ^a	118,00 ± 10,39 ^a	114,67 ± 7,02 ^a
T3 – 7 dias	112,00 ± 14,73 ^{ab}	119,33 ± 1,53 ^a	116,00 ± 1,00 ^a
T4 – 9 dias	123,67 ± 22,68 ^{ab}	115,33 ± 7,02 ^a	108,00 ± 2,65 ^a

CV Glicose: 10,30%

As médias seguidas das mesmas letras minúsculas não diferem estatisticamente entre os tempos (colunas), submetidas à análise de variância e ao teste SNK (P<0,05).

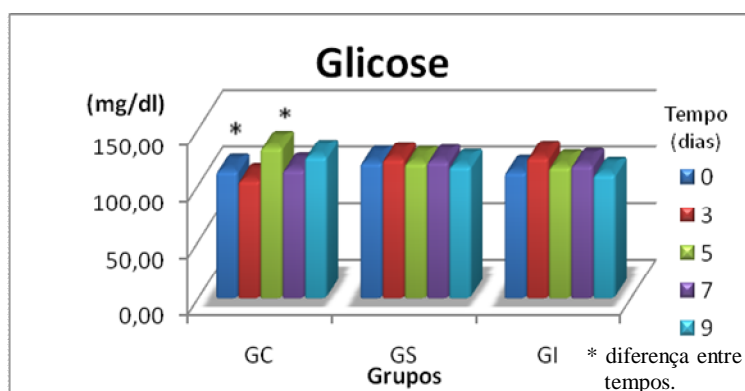


Gráfico 42 - Valores séricos médios de glicose (mg/dl) de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

Segundo Mader (1997), os valores de glicose estão dentro dos limites de referência para a espécie (75 – 155 mg/dl), podendo concluir que não houve estresse, que provocaria hiperglicemia pela liberação de glicocorticóides e catecolaminas (Stockham e Scott, 2002) ou hipoglicemia devido jejum prolongado, hiporexia/anorexia ou má-

absorção provocada pelos constituintes tóxicos da *Mascagnia rigida* e sua manifestação clínica.

As alterações dos perfis hematológico e bioquímico de coelhos que receberam 30g/kg de MS do extrato solúvel em água de *M. rigida* concentraram-se no quinto dia de administração. Essas

alterações foram expressas pela diminuição do hematócrito, da concentração de hemoglobina, AST, LDH, cálcio e magnésio e nos leva à hipótese de que no quinto dia foi observado o maior efeito tóxico da planta. As variáveis hematológicas permaneceram diminuídas ao longo do tempo, porém as concentrações séricas de eletrólitos recuperaram-se, indicando uma desintoxicação. As variáveis hematológicas não se recuperaram tão prontamente devido a possível presença de antígenos na superfície eritrocitária ou resposta dependência da no resposta medular que demanda um período maior de tempo.

Nos coelhos, o extrato insolúvel em água de *M. rigida* provocou aumento de cloretos e diminuição do fósforo também no quinto dia. A *M. rigida* alterou os perfis hematológicos e bioquímicos dos coelhos, e supõe-se que essas alterações devam ser mais expressivas no extrato total (fração solúvel e insolúvel em água), devido a ação sinérgica de vários compostos químicos, conforme descrito por Melo et al. (2008).

Uma das hipóteses é que, a alteração eletrolítica, como um dos efeitos tóxicos da *Mascagnia rigida*, poderia desestabilizar o potencial de repouso das membranas celulares e afetar várias vias metabólicas dependentes destes íons. Sendo o coração um órgão dependente do equilíbrio hidroeletrolítico para formação e condução do impulso elétrico, denota-se o potencial cardiotoxicidade da planta. Apesar da arritmia ser suposta por alguns autores como sendo uma das possíveis causas de morte súbita na intoxicação por *M. rigida*, ela ainda não foi demonstrada experimentalmente, porém não deve ser descartada. Mais estudos são necessários, avaliando os efeitos cumulativos da planta e os mecanismos que contribuem para a “morte súbita”.

4.2.7 Frequência cardíaca

A frequência cardíaca (FC) média no tempo zero dos nove animais (GC, GS e GI) após a administração do midazolam foi de 210 ± 15 bpm. Marano et al. (1996) mensuraram a FC de coelhos Nova Zelândia por telemetria, sem nenhuma restrição ou medicação e relataram um valor médio de 218 ± 4 bpm, semelhante ao obtido com o protocolo sedativo proposto nesse trabalho, indicando grande proximidade aos valores fisiológicos de FC em repouso. Este protocolo também apresentou valores de FC menores do que os de coelhos anestesiados com cloridrato de cetamina (20mg/kg) e maleato de midazolam (2mg/kg) SC (262 ± 37 bpm) (Fontes-Souza et al., 2008) e menores que o de animais não anestesiados (234 ± 26 bpm) (Stypmann et al., 2007). Porém, a FC apresentou-se alta em comparação aos coelhos que receberam cloridrato de cetamina e α -2-agonistas (xilazina ou medetomidina) (198 ± 37 e 155 ± 29 bpm, respectivamente) (Fontes-Souza et al., 2006; Stypmann et al., 2007), provavelmente devido ao efeito bradicardizante dos α -2-agonistas.

4.2.8 Eletrocardiografia

A média da FC variou apenas nos animais do GS, com aumento ($P < 0,05$) entre o terceiro e sétimo dia (T1 a T3), conforme demonstrado na Tabela 32 e Gráfico 43. Todas as médias da FC estão dentro da faixa de normalidade para leporinos (Levine e Bristol, 1942; Praag, 2005; Pariaut, 2009). Entretanto, devido a grande similaridade dos valores, apesar da diferença estatística, aos animais do GC, a esta alteração atribui-se os efeitos simpatomiméticos do estresse, que atuam aumentando a frequência cardíaca.

Tabela 32 – Valores médios de frequência cardíaca (bpm) no exame eletrocardiográfico de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

Tempo (T) (dias)	FC (bpm)		
	Grupo Controle	Grupo Solúvel	Grupo Insolúvel
Tempo zero	216,67 ± 7,57 ^a	203,33 ± 27,32 ^b	246,33 ± 38,21 ^a
T1 – 3 dias	236,00 ± 25,71 ^a	257,67 ± 23,76 ^a	231,33 ± 28,36 ^a
T2 – 5 dias	254,33 ± 22,55 ^a	249,00 ± 13,75 ^a	229,67 ± 22,68 ^a
T3 – 7 dias	231,33 ± 19,01 ^a	244,67 ± 16,26 ^a	231,33 ± 20,03 ^a

CV (%) FC: 10,42

As médias seguidas das mesmas letras minúsculas não diferem estatisticamente entre os tempos (colunas), submetidas à análise de variância e ao teste SNK (P<0,05).

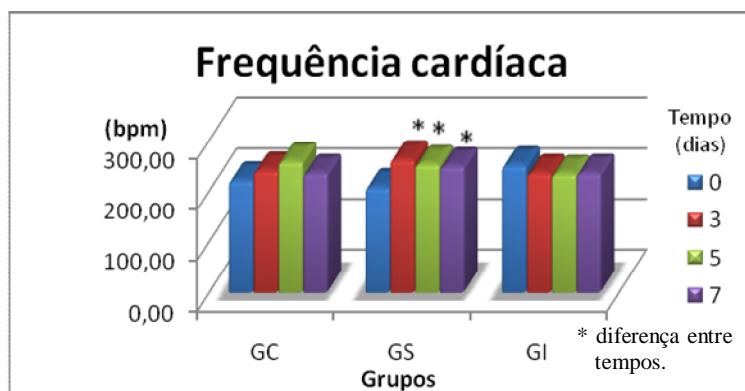


Gráfico 43 - Frequência cardíaca média no exame eletrocardiográfico de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

Lago et al. (2009) observaram aumento da FC em repouso de ovinos experimentalmente intoxicados com suspensão aquosa de folhas de *M. rigida* (20g/kg) durante três e sete dias consecutivos. Estes autores encontraram aumentos maiores da FC durante o esforço físico.

Segundo Puddu et al. (1983), citado por Koyama et al. (2004), pelo menos no homem e aparentemente também no cão, as doenças cardíacas se relacionam diretamente à frequência cardíaca (FC), que por sua vez, aumenta em intensidade para compensar o débito insuficiente.

Em animais que apresentaram “morte súbita” associados à intoxicação por *Mascagnia rigida*, a taquicardia foi um dos sinais citados como evidentes

imediatamente antes da morte (Paraguassú, 1983; Tokarnia et al., 1994; Pinheiro et al., 1996).

A diminuição crônica do débito cardíaco leva à diminuição da pressão arterial, ativando mecanismos compensatórios, como o sistema nervoso simpático (SNS) e o sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA), que tentam restabelecê-la (Synder, 1991; Knight, 1992). Os mecanismos compensatórios ativados durante a ICC são os principais responsáveis pela progressão da doença primária (Calvert, 1991; Roth, 1993; De Moraes, 2000). Vasoconstrição, taquicardia e aumento da contratilidade intensificam o consumo de oxigênio pelo miocárdio, diminuindo a vida útil de suas células (Pedersen, 1996).

Não foi observada diferença estatística significativa ($P>0,05$) na amplitude da onda P (Tabela 33 e Gráfico 44). Uma vez que a amplitude das ondas varia muito de acordo com a derivação elétrica utilizada, Levine e Bristol (1942) avaliaram as alterações eletrocardiográficas de coelhos nas derivações bipolares e encontraram valor médio da amplitude da onda P de 0,03 mV e variação de -0,02 a 0,13 mV na derivação I (DI).

A duração da onda P foi menor ($P<0,05$) no T1 em relação aos grupos tratados (GS e GI), conforme ilustrado no Gráfico 45. Considerando-se como valores de referência para duração da onda P de 15 a 40 mseg (Praag, 2005) e de 20 a 40 mseg (Pariaut, 2009), esta alteração mesmo estatisticamente significativa, não apresenta importância clínica.

Tabela 33 – Amplitude* (mV) e duração (mseg) média da onda P no exame eletrocardiográfico de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

	Tempo (T) (dias)	Grupos		
		Grupo Controle	Grupo Solúvel	Grupo Insolúvel
P (mV)	Tempo zero	0,05 ± 0,02	0,05 ± 0,02	0,05 ± 0,01
	T1 – 3 dias	0,07 ± 0,02	0,03 ± 0,01	0,05 ± 0,02
	T2 – 5 dias	0,05 ± 0,02	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,02
	T3 – 7 dias	0,04 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,04 ± 0,02
CV(%): 39,18				
P (mseg)	Tempo zero	37,00 ± 6,08 ^A	31,33 ± 2,89 ^A	30,67 ± 0,58 ^A
	T1 – 3 dias	39,33 ± 3,21 ^A	24,67 ± 3,51 ^B	29,00 ± 2,65 ^B
	T2 – 5 dias	35,67 ± 3,06 ^A	26,00 ± 5,20 ^A	29,33 ± 3,51 ^A
	T3 – 7 dias	35,67 ± 6,66 ^A	26,00 ± 2,65 ^A	26,67 ± 5,03 ^A
CV(%): 18,89				

*Não houve diferença estatística pela análise de variância ($P>0,05$).

As médias seguidas das mesmas letras maiúsculas não diferem estatisticamente entre os grupos (linhas), submetidas à análise de variância e ao teste SNK ($P<0,05$).

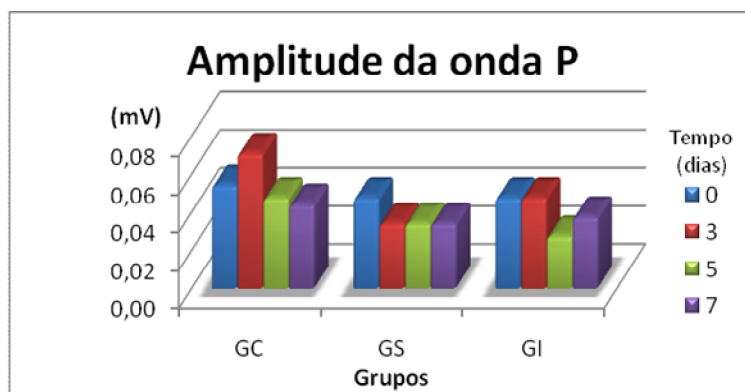


Gráfico 44 - Amplitude média das ondas P (mV) no exame eletrocardiográfico de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

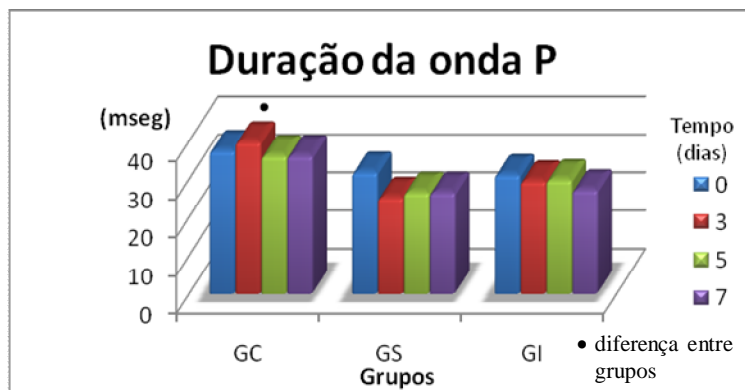


Gráfico 45 - Duração média das ondas P (mseg) no exame eletrocardiográfico de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rígida* em diferentes tempos.

O intervalo PR apresentou diferença estatística ($P < 0,05$) entre grupos e tempos de tratamento (Tabela 34 e Gráfico 46), quando comparado ao grupo controle (GC). Com relação aos grupos, o GS apresentou diminuição significativa ($P < 0,05$) de PR do Tzero ao sétimo dia e, no GI, este se apresentou semelhante ao controle apenas em T2 (5

dias). Com relação aos tempos, no GS houve diminuição significativa ($P < 0,05$) a partir do terceiro dia, permanecendo até o sétimo dia de administração. A diminuição no GS ocorreu devido ao aumento da FC (Tabela 32), sendo que intervalos eletrocardiográficos são inversamente proporcionais à FC.

Tabela 34 - Duração média do intervalo PR (mseg) no exame eletrocardiográfico de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rígida* em diferentes tempos.

Tempo (T) (dias)	PR (mseg)		
	Grupo Controle	Grupo Solúvel	Grupo Insolúvel
Tempo zero	79,67 ± 7,02 ^{Aa}	69,00 ± 6,08 ^{Ba}	61,33 ± 2,52 ^{Ba}
T1 – 3 dias	74,67 ± 5,69 ^{Aa}	54,33 ± 5,03 ^{Bb}	62,00 ± 2,65 ^{Ba}
T2 – 5 dias	74,00 ± 4,58 ^{Aa}	55,67 ± 5,77 ^{Bb}	65,33 ± 4,51 ^{Aa}
T3 – 7 dias	74,33 ± 5,51 ^{Aa}	60,67 ± 5,13 ^{Bb}	60,67 ± 3,51 ^{Ba}

CV(%) PR: 13,63

Médias seguidas das mesmas letras maiúsculas não diferem estatisticamente entre os grupos (linhas) e seguidas das mesmas letras minúsculas não diferem estatisticamente entre os tempos (colunas), submetidas à análise de variância e ao teste SNK ($P < 0,05$).

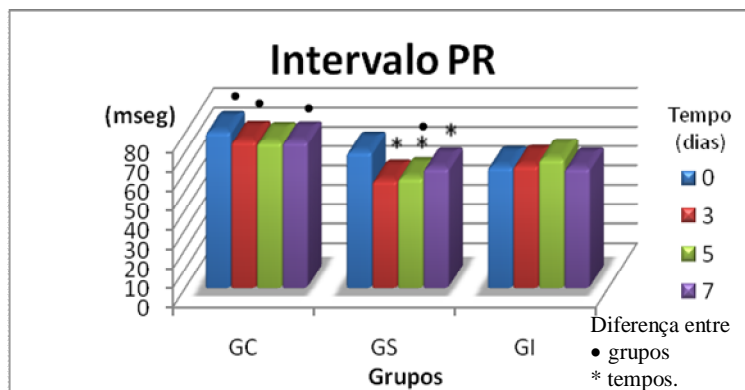


Gráfico 46 - Duração do intervalo PR (mseg) no exame eletrocardiográfico de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rígida* em diferentes tempos.

Levine e Bristol (1942) relataram que o intervalo PR no coelho varia de 60 a 90 mseg, com média de 70 mseg. Portanto, no terceiro e quinto dias do grupo solúvel (GS) os valores médios de PR (mseg) estão abaixo do limite mínimo estipulado por estes autores. Praag (2008) observou valores entre 50 a 100 mseg e Pariaut (2009), valores entre 50 e 70 mseg. Pela classificação de Praag (2008), todos os valores observados em todos os grupos e tempos (Tabela 34) estão dentro dos limites estabelecidos. Entretanto, pela classificação de Pariaut (2009), todos os valores médios do intervalo PR dos animais do GC estão acima do limite máximo (70mseg). Ressalta-se que os animais do grupo controle não apresentaram distúrbios de condução elétrica cardíaca durante o período avaliado. A diferença dos valores deste estudo em relação ao de referência de Pariaut (2009) pode ter ocorrido devido a uma maior FC dos animais do seu estudo, que interfere inversamente com a duração do intervalo PR. O valor do intervalo PR não ultrapassou 87 mseg, conforme observado também por Levine e Bristol (1942).

Observa-se que na Tabela 35 e Gráficos 47 e 48, as amplitudes das ondas R e T também variaram estatisticamente ($P < 0,05$). A onda R apresentou diferença estatística no GS: sofreu aumento em T1 e T2, seguido de queda significativa no T3, mas mantendo-se dentro dos limites de normalidade para a espécie. Levine e Bristol (1942) descrevem a amplitude de R entre 0,00 a 0,80 mV, com valor médio de 0,13 mV em DI. Segundo estes autores, não houve significado clínico na alteração da amplitude da onda R. O aumento da amplitude da onda R pode indicar aumento de VE (Tilley, 1992).

A onda T apresentou diferença entre os grupos, menor ($P < 0,05$) em T1 nos GS e GI, mas manteve-se dentro dos valores normais para a espécie. Cerca de 52,78% dos ECG tiveram a onda T maior que 25% da onda R, inclusive no Tzero. Levine e Bristol (1942) descrevem a amplitude de T de -0,12 a 0,44, com média de 0,11 mV em DI. Segundo estes autores, também não houve significado clínico na alteração da amplitude da onda T.

Tabela 35 – Amplitude média da onda R e T (mV) de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

	Tempo (T) (dias)	Grupos		
		Grupo Controle	Grupo Solúvel	Grupo Insolúvel
R (mV)	Tempo zero	0,18 ± 0,03 ^a	0,19 ± 0,11 ^{ab}	0,14 ± 0,06 ^a
	T1 – 3 dias	0,19 ± 0,03 ^a	0,21 ± 0,08 ^a	0,16 ± 0,06 ^a
	T2 – 5 dias	0,15 ± 0,03 ^a	0,22 ± 0,09 ^a	0,16 ± 0,06 ^a
	T3 – 7 dias	0,15 ± 0,02 ^a	0,15 ± 0,09 ^b	0,16 ± 0,09 ^a
CV(%): 35,73				
T (mV)	Tempo zero	0,16 ± 0,05 ^A	0,11 ± 0,09 ^A	0,06 ± 0,04 ^A
	T1 – 3 dias	0,18 ± 0,06 ^A	0,06 ± 0,01 ^B	0,07 ± 0,05 ^B
	T2 – 5 dias	0,13 ± 0,04 ^A	0,05 ± 0,07 ^A	0,05 ± 0,05 ^A
	T3 – 7 dias	0,13 ± 0,03 ^A	0,09 ± 0,03 ^A	0,07 ± 0,07 ^A
CV(%): 63,91				

Médias seguidas das mesmas letras maiúsculas não diferem estatisticamente entre os grupos (linhas) e seguidas das mesmas letras minúsculas não diferem estatisticamente entre os tempos (colunas), submetidas à análise de variância, transformação logarítmica +1 (R) e ao teste SNK (P<0,05).

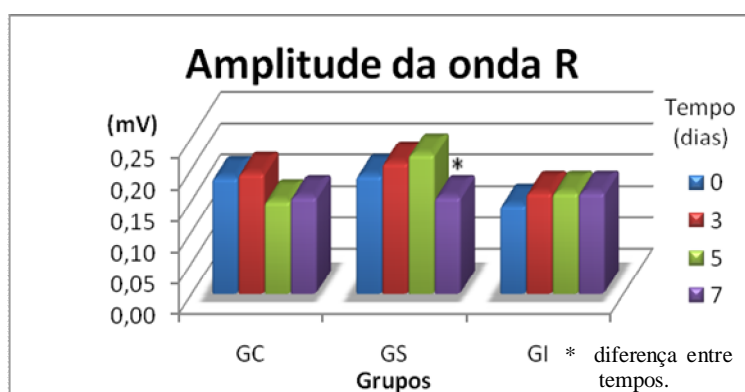


Gráfico 47 - Amplitude média das ondas R (mV) no exame eletrocardiográfico de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

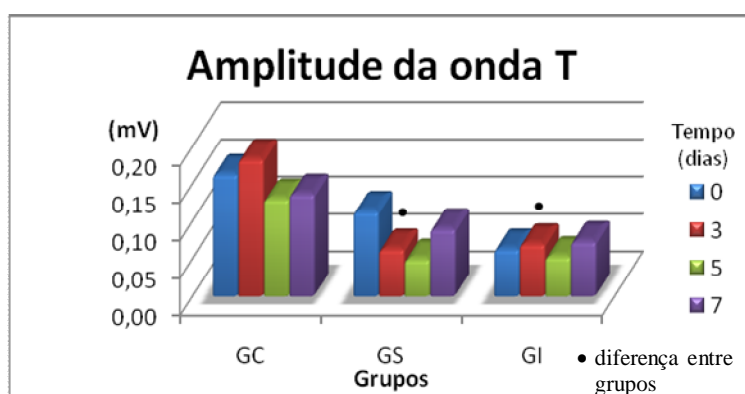


Gráfico 48 - Amplitude média das ondas T (mV) no exame eletrocardiográfico de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

Silveira et al. (2006) administraram e avaliaram diferentes frações fitoquímicas de *M. rigida* a cinco coelhos durante três

dias consecutivos, com ECG as seis e 52 horas após a primeira administração. As frações de alcalóides, taninos e

flavonóides causaram alterações eletrocardiográficas nos coelhos, tais como supradesnívelamento ST e fenestração em onda R descendente.

Apenas um animal do GS teve inversão da onda T no T1 (terceiro dia), entretanto a concentração plasmática de potássio estava dentro dos valores de referência para a espécie. A esta alteração, pode-se responsabilizar o efeito hipoxêmico (Tilley, 1992) da taquicardia provocada pelo estresse. Este animal também foi submetido ao exame de Holter, conforme será descrito posteriormente. O desvio máximo do segmento ST nunca excedeu 1,0 mm (ou 0,1 mV), conforme observado também por Levine e Bristol (1942).

A inversão da polaridade da onda T em ECG seriados não é considerado normal. Estas alterações transitórias da onda T podem ser conseqüentes de hipóxia miocárdica em decorrência da taquicardia, mas podem ocorrer também em doenças miocárdicas, distúrbios hidro-eletrolíticos, doenças metabólicas e intoxicações (Tilley, 1992).

Alterações na amplitude da onda T foram relatadas na intoxicação por

glicosídeos cardíacos de *Tylecodon wallichii* em cobaias (Naudé e Schultz, 1982), mas esses resultados ocorreram em conjunto com alterações no complexo QRS e intervalo QT nos momentos que anteciparam a morte dos animais, semelhante ao que ocorreu no trabalho de Saad et al. (1970).

A duração do QRS também não apresentou diferença estatística significativa ($P > 0,05$) nos grupos que receberam os extratos de *Mascagnia rigida*, conforme demonstrado na Tabela 36 e Gráfico 49. Segundo referências, o complexo QRS de coelhos pode variar de 20 a 60 mseg (Praag, 2005) e de 30 a 40 mseg (Levine e Bristol, 1942; Pariaut, 2009). Neste estudo, a duração do complexo QRS variou de 43 a 59 mseg, estando dentro dos limites de referência proposto por Praag (2008). Porém, de acordo com os valores de referência de Levine e Bristol (1942) e Pariaut (2009), a duração do complexo QRS revelou-se aumentado. Este aumento não apresenta significado clínico, uma vez que também foi observado nos animais do grupo controle (GC) e no Tzero de todos os grupos.

Tabela 36 – Duração média do complexo QRS (mseg) no exame eletrocardiográfico de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

Tempo (T) (dias)	QRS (mseg)		
	Grupo Controle	Grupo Solúvel	Grupo Insolúvel
Tempo zero	53,33 ± 4,93 ^{ab}	56,33 ± 3,79 ^a	48,67 ± 5,13 ^a
T1 – 3 dias	52,67 ± 2,89 ^{ab}	54,00 ± 1,73 ^a	45,33 ± 1,53 ^a
T2 – 5 dias	48,00 ± 3,00 ^b	53,33 ± 1,53 ^a	47,00 ± 2,65 ^a
T3 – 7 dias	56,00 ± 1,73 ^a	51,00 ± 5,29 ^a	48,00 ± 4,00 ^a

CV(%) QRS: 8,93

As médias seguidas das mesmas letras minúsculas não diferem estatisticamente entre os tempos (colunas), submetidas à análise de variância e ao teste SNK ($P < 0,05$).

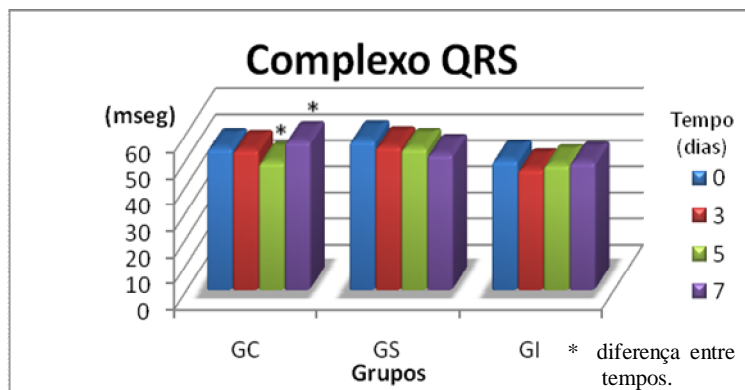


Gráfico 49 - Duração do complexo QRS (mseg) no exame eletrocardiográfico de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

Apesar dos animais estarem em posicionamento idêntico quando os ECG foram realizados nos diferentes dias, observaram-se mudanças na voltagem das ondas P, no complexo QRS e nas ondas T (Tabelas 33, 35 e 36) incluindo nos animais do grupo controle. Esta observação também foi feita por Levine e Bristol, (1942) que avaliaram mudanças espontâneas no ECG de 23 coelhos sadios, sem contenção química ou física, realizados a cada 48 horas, durante duas semanas, sempre no mesmo horário e condições.

Os autores observaram que mudanças mínimas no posicionamento dos eletrodos já alteravam notoriamente o traçado eletrocardiográfico. Em diversos instantes não havia intervalo isoelétrico entre o complexo QRS e a onda T. Neste estudo, apesar dos animais estarem sedados, o período de sedação pode não ter sido suficiente para modular a ação do sistema simpático, ocorrendo aumento da FC decorrente de manipulação e estresse. Outro fator que altera os valores eletrocardiográficos é a dispersão da repolarização (Malik e Batchvarov, 2000).

Por causa do pouco conhecimento sobre as mudanças eletrocardiográficas associadas às doenças cardíacas nos coelhos, o uso da onda P e mudanças na

morfologia do complexo QRS para avaliar dilatação ou hipertrofia de câmaras cardíacas não é recomendado (Pariaut, 2009). Um importante parâmetro utilizado no diagnóstico de doenças cardíacas é a duração do intervalo QT. Esse intervalo é associado com a duração do potencial de ação dos músculos ventriculares e aumenta em cardiopatas (Tilley, 1992; Koyama et al., 2004).

O intervalo QT apresentou diferença estatística ($P < 0,05$) no GS, com diminuição de seus valores a partir do terceiro dia de administração do extrato solúvel de *M. rigida* (Tabela 37 e Gráfico 50). Valores de referência do intervalo QT são de 80 a 160 mseg (Praag, 2005), 128 a 150 mseg (Alexander et al., 1999) e 123 a 171 mseg (Brunner et al., 2008). Entretanto, a duração do intervalo QT é inversamente proporcional à FC, e pode gerar conflitos durante sua análise em condições de taquicardia, pois mesmo que ele esteja prolongado, esse efeito pode estar mascarado pelo aumento da FC, tornando difícil concluir sobre seus resultados. Considerando também que diferentes frequências cardíacas ocorreram nos coelhos, é importante excluirmos o efeito da FC sobre o intervalo QT.

Muitas fórmulas de correção do intervalo QT foram desenvolvidas para seres humanos e podem ter aplicabilidade limitada em outras espécies (Hayes et al., 1994). Em análises eletrocardiográficas de coelhos é recomendada a fórmula de Carlsson (Carlsson et al, 1993) para a correção do intervalo QT (QTcC). Esta fórmula foi utilizada em vários estudos

eletrocardiográficos desta espécie (Carlsson et al, 1993; Mazur et al., 1999; Anderson et al., 2001; Gbadebo et al., 2002; Wang et al., 2008). Foi utilizada também a fórmula de Fridericia para a correção do intervalo QT (QTcF), complementando a sua avaliação por ser uma fórmula bastante utilizada em medicina veterinária (Lago et al., 2009).

Tabela 37 – Valores médios do intervalo QT, QTcC* e QTcF* (mseg) no exame eletrocardiográfico de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

	Tempo (T) (dias)	Grupos		
		Grupo Controle	Grupo Solúvel	Grupo Insolúvel
QT (mseg)	Tempo zero	167,33 ± 15,63 ^a	166,67 ± 6,81 ^a	154,67 ± 13,65 ^a
	T1 – 3 dias	165,33 ± 10,21 ^a	149,00 ± 8,19 ^b	156,67 ± 2,31 ^a
	T2 – 5 dias	157,33 ± 18,77 ^a	155,67 ± 9,50 ^b	160,00 ± 6,93 ^a
	T3 – 7 dias	159,00 ± 12,49 ^a	157,33 ± 11,50 ^b	158,33 ± 9,07 ^a
CV(%): 6,69				
QTcC (mseg)	Tempo zero	171,30 ± 13,98	166,78 ± 4,23	163,83 ± 10,21
	T1 – 3 dias	172,92 ± 5,58	160,49 ± 4,77	163,20 ± 4,98
	T2 – 5 dias	168,30 ± 15,47	165,93 ± 7,23	166,42 ± 6,92
	T3 – 7 dias	165,88 ± 10,34	166,78 ± 11,07	165,16 ± 10,43
CV(%): 5,10				
QTcF (mseg)	Tempo zero	180,79 ± 10,87	168,64 ± 17,28	189,32 ± 21,21
	T1 – 3 dias	194,03 ± 11,22	191,14 ± 7,02	180,72 ± 20,59
	T2 – 5 dias	198,72 ± 10,81	193,47 ± 1,98	183,40 ± 17,97
	T3 – 7 dias	183,26 ± 11,61	192,28 ± 16,32	182,99 ± 20,91
CV(%): 7,95				

*Não houve diferença estatística pela análise de variância (P>0,05).

As médias seguidas das mesmas letras minúsculas não diferem estatisticamente entre os tempos (colunas), submetidas à análise de variância e ao teste SNK (P<0,05).

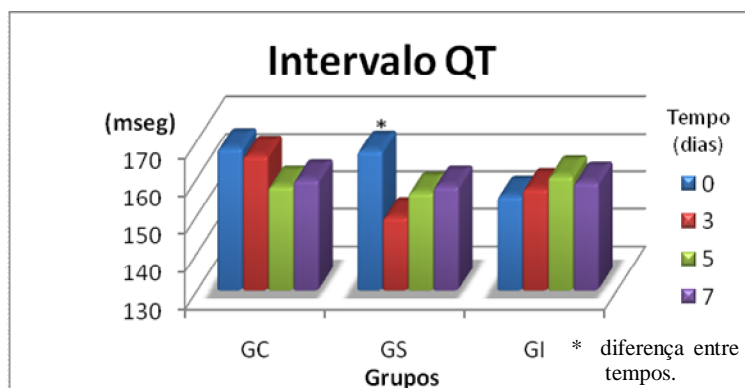


Gráfico 50 - Intervalo QT (mseg) no exame eletrocardiográfico de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

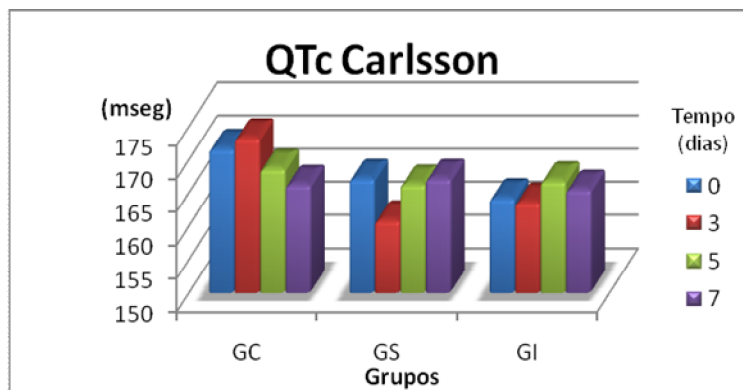


Gráfico 51 - Intervalo QTcC (mseg) no exame eletrocardiográfico de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

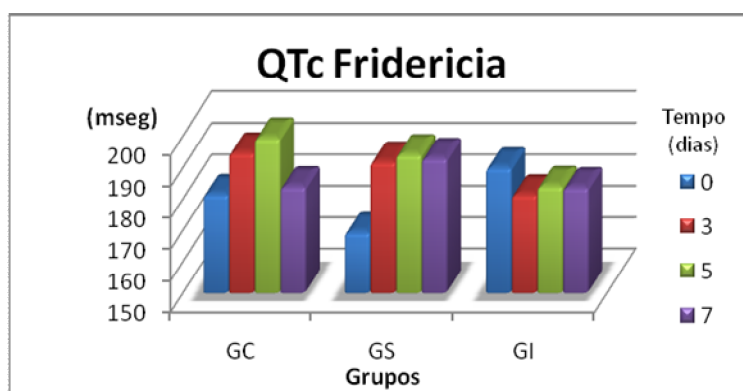


Gráfico 52 - Intervalo QTcF (mseg) no exame eletrocardiográfico de coelhos após administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de 30g/kg de MS de *Mascagnia rigida* em diferentes tempos.

No presente experimento não foi observada diferença estatística ($P > 0,05$) dos intervalos QTcC e QTcF em relação aos grupos e tempos (Tabela 37 e Gráficos 51 e 52). O QTcC de referência para coelhos NZ adultos e corrigida pela fórmula de Carlsson é de 142 a 157mseg (Wang et al., 2008). Como foi utilizado o método de extrapolação do intervalo QT(U), e este não foi utilizado por Wang et al. (2008), há uma tendência de ampliação da mensuração do intervalo QT. Farkas et al. (2004) compararam o método convencional e o de extrapolação realizado por vários autores e observaram também o aumento deste intervalo na extrapolação do QT(U). Entretanto Farkas et al., (2002)

descreveram o QTc, pelo método de extrapolação e pela fórmula de Carlsson, em 173 ± 2 ms. Segundo estes autores, não foi observado aumento do QT nos grupos experimentais.

Lago (2007) não observou alterações no QTcF em ovinos experimentalmente intoxicados com 20g/kg de extrato aquoso de *M. rigida* durante três e sete dias consecutivos. Yu e colaboradores (2010) utilizaram o QTcF em coelhos utilizados como modelo experimental de isquemia miocárdica e não observaram alterações segundo esta fórmula de correção.

Os resultados indicam que *M. rigida* não causou comprometimento cardíaco

suficiente para aumentar o QTcC e QTcF. Entretanto, é preciso ressaltar que a intoxicação em grau discreto pode não ser suficiente para que isso ocorra. Desse modo, pode-se pressupor que o tempo de administração ou a dose utilizada de *M. rigida* podem não ter sido suficientes para causar anormalidades no potencial de ação ventricular.

Lago et al. (2009), avaliando ovinos que receberam 20g/kg de *M. rigida* durante três e sete dias consecutivos, também não encontraram alterações eletrocardiográficas nestes animais e, se elas ocorreram, foram muito discretas e não puderam ser demonstradas.

O aumento do intervalo QTc pode ser causado por alterações na regulação de nervos autonômicos, alterações nos canais iônicos dos miócitos ventriculares, alteração nos baroreceptores, distúrbios hidroeletrólíticos como a hipocalcemia e hipocalcemia e administração de antiarrítmicos ou medicamentos psicotrópicos (Koyama et al., 2004), que também deformam a onda T ou induzem o aparecimento da onda U em coelhos (Farkas et al., 2004). A onda U é comumente presente em coelhos anestesiados (Farkas et al., 2004). Apesar de ter ocorrido distúrbios eletrolíticos neste estudo, sua magnitude pode não ter sido suficiente para causar alterações no intervalo QTcC.

O ritmo cardíaco foi sinusal em quase todos os animais e tempos, exceto em dois animais do GI que apresentaram arritmia sinusal, um no T1 e outro no T2. Esse tipo de arritmia não implica em alterações clínicas e cardíacas importantes. Os traçados eletrocardiográficos não apresentaram alterações que caracterizassem arritmia de importância clínica na intoxicação por *M. rigida*. A morfologia do complexo P-QRS-T na derivação DI não apresentou

alterações que indicassem afecções no tecido de condução.

Em relação ao complexo QRS, houve variação individual em todos os animais, principalmente no GC e nos animais dos GS e GI antes da administração dos extratos de *M. rigida* (Tzero), o que também foi demonstrado por Lago et al. (2009) em ovinos do grupo controle. As alterações que foram observadas podem ocorrer devido a grande variabilidade dos mecanismos vagais, extrema mobilidade do coração de coelhos, produzindo inevitáveis mudanças na posição também relatadas por Katz et al. (1934) no coração do cão e, conseqüentemente, do eixo elétrico do coração ou de mudanças eletroquímicas intrínsecas no próprio coração (Levine e Bristol, 1942).

O fato de não terem sido observadas alterações que caracterizassem arritmia neste e nos traçados de outros estudos (Silveira et al., 2006; Lago et al., 2009) pode ser porque elas ocorrem somente momentos antes da morte, como observados na *M. pubiflora* (Saad et al., 1970), sendo necessário monitoramento constante para detectá-las (Diniz et al., 2007).

4.2.9 Eletrocardiografia contínua (Holter)

Até o momento, não foram encontrados trabalhos que utilizaram o Holter para a avaliação de coelhos intoxicados.

O exame de Holter em coelhos exige uma especial atenção, principalmente em relação ao posicionamento dos eletrodos. Devido ao pequeno tamanho do tórax, os eletrodos foram colocados segundo as recomendações do exame para neonatos humanos⁶¹: colocar os eletrodos o mais

⁶¹ Comunicação pessoal – Professora Dra. Ruthnéa Aparecida Lázaro Muzzi – Clínica Médica de Pequenos Animais – UFLA.

distante possível, de acordo o posicionamento recomendado, retirar o eletrodo laranja e isolar os eletrodos separadamente. Para o posicionamento correto dos eletrodos, foi necessário sedação dos animais.

Coelhos são animais muito ativos e curiosos e, devido a isto, todo cuidado em relação à proteção do equipamento é bem-vindo. Neste caso, além do colete para acomodar o equipamento, confeccionado em tecido resistente, usou-se o colar cervical.

Os exames de Holter deste trabalho foram realizados durante 14 horas> entretanto, ocorreram várias interferências observadas na leitura do exame, dando um tempo médio de sete horas de boa leitura. O exame foi realizado em um animal por vez, em um animal de cada grupo (controle, solúvel e insolúvel) por limitação de equipamento e em apenas um animal por grupo, constituindo-se em três exames de tempo zero e três exames no nono dia, após os oito dias de administração diária.

Foi observado em um coelho do grupo controle (GC), no tempo zero, a presença de um único complexo ventricular

premature isolado (VPC) durante todo o exame de Holter (Figura 13). A presença de um único VPC não apresenta significado clínico e nem implica em disfunção elétrica cardíaca. Complexos ventriculares prematuros são impulsos originados de um foco ventricular ectópico, decorrente do aumento de automaticidade. Eles não trafegam pelo sistema de condução, mas pela musculatura, estendendo-se aos ventrículos com um atraso, gerando um complexo QRS bizarro (Tilley, 1992).

Existe um grande número de cães que apresentam VPC's em corações saudios, sem causas aparentes (Tilley, 1992). Traçados durante luta, contenção e durante a infusão de soluções na veia marginal da orelha em coelhos mostraram frequentes extrassístoles ventriculares, com ritmo bigeminal ou trigeminal, mas não foram observados no animal sem contenção física (Levine e Bristol, 1942).

Todos os demais exames de Holter, tanto de tempo zero quanto pós-administração dos extratos (nono dia) não apresentaram distúrbios de ritmo ou alterações de condução que caracterizassem arritmia nestes animais.



Figura 13 – Ilustração do exame de eletrocardiografia contínua (Holter) do coelho dois do grupo controle (GC), tempo zero, apresentando um único complexo ventricular prematuro (seta).

4.2.10 EcoDopplercardiografia

A velocidade máxima do fluxo aórtico apresentou-se menor em relação aos tempos ($P < 0,05$) no nono dia no GI (Tabela 38 e Gráfico 53). Salienta-se que um animal do GI foi o responsável por desviar a média (58,80 cm/s). Observou-se também diminuição no GS, embora não significativa. Em relação à velocidade máxima do fluxo mitral não houve diferença estatística ($P > 0,05$) em relação aos tempos e grupos, mas a média geral do GI foi maior (Gráfico 49). A frequência cardíaca (FC) apresentada pelos coelhos não permitiu individualização das ondas E e A mitral. Não foi observado em nenhum momento e em nenhum animal refluxo atrial pelo modo Doppler colorido.

Observa-se diminuição da velocidade máxima do fluxo aórtico no GI, que pode ter ocorrido em detrimento da função sistólica cardíaca, representado pela diminuição da fração de ejeção (FE) e de encurtamento sistólico do VE (ΔD).

O aumento da velocidade do fluxo mitral neste mesmo grupo pode ter ocorrido em virtude de uma possível disfunção diastólica, representada pelo aumento da relação AE/Ao que será comentada adiante. A disfunção diastólica restringe o enchimento ventricular, e o maior resíduo intra-atrial gerará aumento da força contrátil da câmara, com conseqüentes maiores volume ejetado e contribuição da câmara para o enchimento do VE (Weitzel, 1989).

Tabela 38 – Valores médios da velocidade máxima do fluxo aórtico (V_{maxVA} - cm/s) e mitral* (V_{maxVM} - cm/s) ao exame ecoDopplercardiográfico de coelhos antes e nove dias após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de *Mascagnia rigida*.

	Tempo (T) (dias)	Grupos		
		Grupo Controle	Grupo Solúvel	Grupo Insolúvel
V_{maxVA} (cm/s) CV(%): 17,39	Tempo zero	91,99 ± 4,97 ^a	99,70 ± 4,11 ^a	90,42 ± 5,28 ^a
	T1 – 9 dias	89,50 ± 2,68 ^a	87,88 ± 4,30 ^a	74,46 ± 14,29 ^b
V_{maxVM} (cm/s) CV(%): 10,94	Tempo zero	60,75 ± 8,59	67,45 ± 5,54	77,75 ± 13,68
	T1 – 9 dias	68,12 ± 6,24	66,51 ± 15,44	85,19 ± 11,65

*Não houve diferença estatística pela análise de variância ($P > 0,05$).

As médias seguidas das mesmas letras minúsculas não diferem estatisticamente entre os tempos (colunas), submetidas à análise de variância e ao teste SNK ($P < 0,05$).

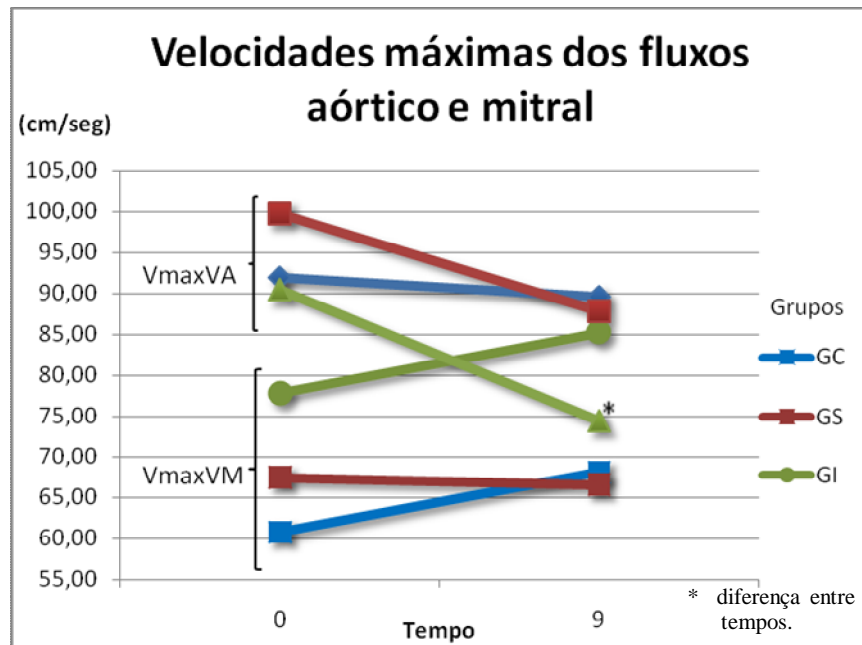


Gráfico 53 - Velocidade máxima do fluxo aórtico (VmaxVA) e mitral (VmaxVM) ao exame ecoDopplercardiográfico de coelhos antes e nove dias após a administração nasoesofágica de água ultrapura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de *Mascagnia rigida*.

Os valores de referência obtidos em literatura (Gan et al., 2004; Fontes-Souza et al., 2006; Stypmann et al., 2007; Fontes-Souza et al., 2008; Pariaut, 2009) apresentaram-se menores aos valores deste estudo, principalmente devido a influencia dos protocolos anestésicos sobre a função cardíaca. Devido ao efeito depressor ou estimulante dos diversos protocolos anestésicos utilizados nas pesquisas ecoDopplercardiográficas em coelhos sob a função cardíaca, conforme explicado anteriormente, utilizaremos os resultados do experimento-piloto (em anexo) para comparação dos valores obtidos.

Não houve diferença estatística ($P > 0,05$) entre os grupos e entre os tempos no que se refere $\% \Delta D$ e FE do ventrículo esquerdo (Tabela 39 e Gráfico 54). Entretanto, a FE e a $\% \Delta D$ apresentaram um aumento de 4% e 7% entre Tzero e T5, respectivamente, no GC, enquanto que nos grupos tratados (GS e GI),

observou-se diminuição de 15,4% na FE e 23,1% na $\% \Delta D$ no GS e de 14% na FE e 20,5% na $\% \Delta D$ no GI.

A redução na fração de ejeção e de encurtamento, observadas após a administração dos extratos (solúvel e insolúvel) de *M. rigida*, indicam prejuízos à função sistólica ventricular (Kittleson e Kienle, 1998; Silva et al., 2008a), provavelmente por ação de algum constituinte tóxico desta planta na fibra cardíaca.

Saad et al. (1970) isolaram glicosídeos cardioativos nas folhas da *M. pubiflora*. Nascimento e Habermel (1995) isolaram dois glicosídeos de *M. affs rigida*. Os glicosídeos cardioativos são substâncias com poderosa ação sobre o miocárdio (Tárraga, 2002), grupo este que participam os digitálicos, que reduzem a ativação do sistema nervoso simpático (Bonagura et al., 2006) e do sistema renina-angiotensina-aldosterona (Sisson e Thomas, 1995; Bonagura et al.,

2006), além de possuírem efeito inotrópico positivo (Braunwald, 1985). O mecanismo responsável por induzir inotropismo positivo dos digitálicos implica no aumento da disponibilidade de cálcio intracelular (Hoppe e Erdmann, 2005), que ocorre através da inibição reversível da sódio-potássio ATPase, por meio de ligação específica na face extracitoplasmática da sub-unidade alfa desta enzima.

Devido à ação destes glicosídeos cardíacos na fibra cardíaca, era esperado um aumento da função sistólica, e não seu prejuízo, conforme os resultados

aqui obtidos. Supõe-se que outros constituintes tóxicos presentes na planta sejam responsáveis pelo prejuízo da função sistólica cardíaca ou que as mensurações realizadas no modo M possam ter sido representativas, devido à dificuldade inerente do próprio exame na espécie leporina.

Um outro efeito tóxico dos glicosídeos cardíacos é o efluxo de potássio das células do miocárdio, elevando o potássio extracelular (Hamlin, 2007), o que também não foi observado neste estudo.

Tabela 39 – Média do percentual de encurtamento sistólico* (% Δ D - %) e da fração de ejeção* (FE - %) do ventrículo esquerdo ao exame ecoDopplercardiográfico de coelhos antes e nove dias após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de *Mascagnia rigida*.

	Tempo (T) (dias)	Grupos		
		Grupo Controle	Grupo Solúvel	Grupo Insolúvel
FE (%) CV(%): 9,75	Tempo zero	70,39 ± 3,95	73,99 ± 7,37	77,37 ± 0,93
	T1 – 9 dias	73,78 ± 2,41	62,57 ± 8,07	66,57 ± 6,40
% Δ D (%) CV(%): 14,46	Tempo zero	36,66 ± 2,96	40,09 ± 6,23	42,13 ± 1,36
	T1 – 9 dias	39,22 ± 2,11	30,83 ± 5,48	33,47 ± 4,80

*Não houve diferença estatística pela análise de variância, (P>0,05).

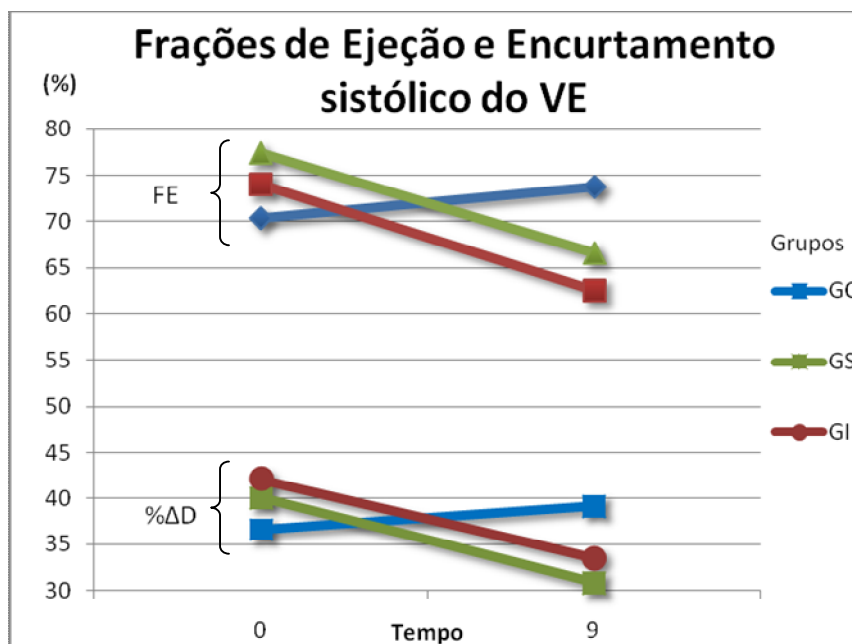


Gráfico 54 - Fração de ejeção (FE) e de encurtamento (% Δ D) sistólico do ventrículo esquerdo ao exame ecoDopplercardiográfico de coelhos antes e nove dias após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de *Mascagnia rigida*.

A literatura demonstra grande variação nos valores de referência da FE, bem como para as outras variáveis ecoDopplercardiográficas em coelhos anestesiados ou não. Neste trabalho, foi utilizada a fórmula de Teichholz para obtenção dos valores dos volumes cardíacos. Stypmann et al. (2007) utilizaram a fórmula de Simpson e Fontes-Souza et al. (2006; 2008) a fórmula cúbica para a obtenção das FE, que é outro fator, além do protocolo anestésico, que impossibilita a comparação dos valores obtidos. No experimento piloto a FE e a % Δ D foi de $75,05 \pm 5,76\%$ e $40,68 \pm 5,08\%$ em coelhos sedados com maleato de midazolam (1mg/kg IM). Segundo esta referência e os valores do GC, houve diminuição da FE e % Δ D após tratamento nos GS e GI.

Semelhantemente ao encontrado por Lago et al. (2009), houve diminuição da FE e % Δ D em animais intoxicados por *M. rigida*, embora também não estatisticamente significativa ($P > 0,05$). Estes autores encontraram valores de % Δ D em ovinos intoxicados durante três e sete dias de 32,4% e 29,5%, respectivamente, sendo que no grupo-controle suas médias mantiveram-se semelhantes aos valores de referência para a espécie. A conclusão de que a *M. rigida* afetou a fração de encurtamento foi reforçada por um ovino, que apresentou redução da % Δ D em 60% (34,8% para 13,6%) após a administração da planta, o que representa alteração de grande significado clínico. Nesse experimento, um coelho do GS teve redução da % Δ D

em 39% (43,7% para 26,5%) e um coelho do GI, em 34% (43,2% para 28,6%).

Entretanto, sabe-se que a função sistólica cardíaca, representada pela mensuração da FE e % Δ D, depende de uma série de fatores, incluindo a pré-carga, pós-carga, contratilidade, distensibilidade, sincronia na contração e frequência cardíaca (Boon, 1998), que por si dependem de vários outros fatores. Estes fatores podem ter influenciado as mensurações realizadas, principalmente em relação à % Δ D, que, avaliada pelo método de Teichholz, pode ter influenciado mais ainda a efetividade desta avaliação nestes animais.

Não houve diferença estatística significativa ($P > 0,05$) em relação os volumes diastólicos e sistólicos finais do VE, porém, no GS e GI, observou-se aumento do volume sistólico, enquanto que no controle, houve diminuição (Tabela 40 e Gráfico 55).

A diminuição da contratilidade do ventrículo esquerdo causa diminuição do volume de ejeção, contribuindo para o aumento do volume sistólico final do VE, diminuindo o débito cardíaco (Kittleson e Kienle, 1998). No GI, ela não foi acompanhada por aumento de volume diastólico pela presença da disfunção diastólica, que pode ter comprometido o enchimento ventricular. O aumento do volume sistólico final no GS no nono dia torna-se justificado pela diminuição da % Δ D neste grupo e disfunção sistólica, como também observada no GI.

Tabela 40 - Média dos volumes diastólico final* (VDFVE - ml) e sistólico final* (VSFVE - ml) do ventrículo esquerdo ao exame ecoDopplercardiográfico de coelhos antes e nove dias após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de *Mascagnia rigida*.

	Tempo (T) (dias)	Grupos		
		Grupo Controle	Grupo Solúvel	Grupo Insolúvel
VDFVE (ml) CV (%): 32,94	Tempo zero	5,07 ± 0,96	5,62 ± 1,21	4,06 ± 1,98
	T1 – 9 dias	4,02 ± 0,50	4,54 ± 2,44	3,39 ± 0,96
VSFVE (ml) CV (%): 42,24	Tempo zero	1,48 ± 0,31	1,42 ± 0,37	0,91 ± 0,42
	T1 – 9 dias	1,05 ± 0,14	1,77 ± 1,11	1,11 ± 0,26

*Não houve diferença estatística pela análise de variância (P>0,05).

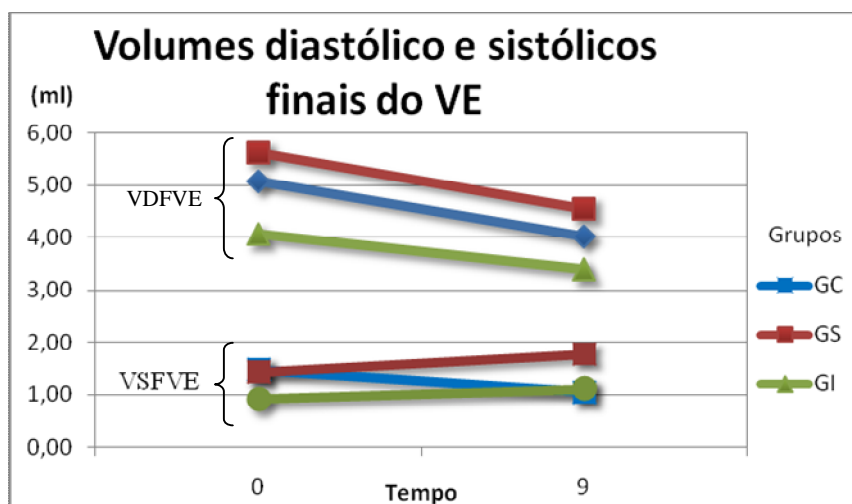


Gráfico 55 - Volumes diastólico final (VDFVE - ml) e sistólico final (VSFVE - ml) do ventrículo esquerdo ao exame ecoDopplercardiográfico de coelhos antes e nove dias após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de *Mascagnia rigida*.

A relação átrio esquerdo:aorta (AE/AO) apresentou diferença (P<0,05) entre os tempos no GI (Tabela 41 e Gráfico 56), indicando aumento do AE. O GI

apresentou o menor valor dessa relação no tempo zero, revelando uma diferença após o tratamento.

Tabela 41 – Relação átrio esquerdo-aorta (AE/Ao) ao exame ecoDopplercardiográfico de coelhos antes e nove dias após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de *Mascagnia rigida*.

Tempo (T) (dias)	AE/Ao		
	Grupo Controle	Grupo Solúvel	Grupo Insolúvel
Tempo zero	1,44 ± 0,11 ^a	1,79 ± 0,03 ^a	1,26 ± 0,19 ^b
T1 – 9 dias	1,64 ± 0,22 ^a	1,63 ± 0,09 ^a	1,63 ± 0,08 ^a

CV(%) AE/Ao: 13,34

As médias seguidas das mesmas letras minúsculas não diferem estatisticamente entre os tempos (colunas), submetidas à análise de variância e ao teste SNK (P<0,05).

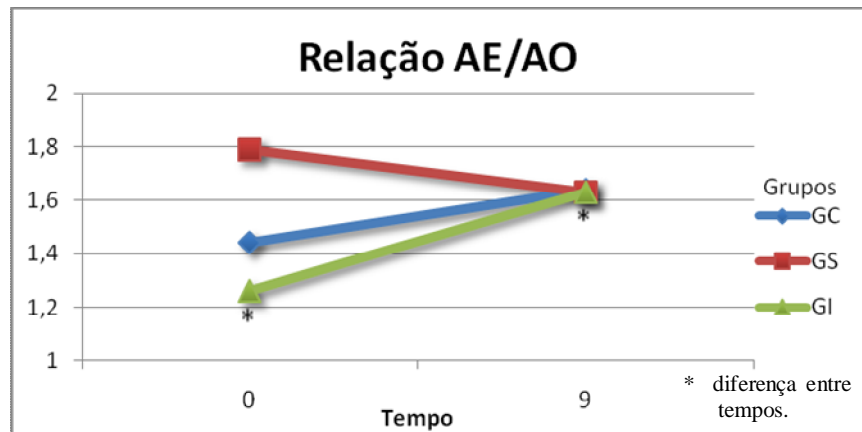


Gráfico 56 - Relação átrio esquerdo-aorta (AE/AO) ao exame ecoDopplercardiográfico de coelhos antes e nove dias após a administração nasoesofágica de água ultra-pura (GC), extrato solúvel (GS) e extrato insolúvel (GI) em água de *Mascagnia rigida*.

De acordo com Basnight et al. (1991), o tamanho do AE sofre grande influência dos mesmos fatores que determinam o enchimento ventricular (pré-carga, pós-carga, contratilidade, distensibilidade, contração e frequência cardíaca) (Boon, 1998), constituindo-se, desse modo, em um parâmetro que reflete a duração e o grau da disfunção lusitropica. Por essa razão, tem sido considerado que a dimensão do AE é um potente preditor de eventos adversos em várias situações clínicas, como na disfunção diastólica (Simek et al., 1995; Prichett et al., 2005), independentemente da presença de doença cardiovascular, de disfunção sistólica do VE e de hipertrofia ventricular (Prichett et al., 2005).

A alteração da relação AE/AO provocada pelo aumento do AE no GI indica comprometimento diastólico cardíaco, de complacência ou relaxamento ventricular, que podem ou não alterar a fração de ejeção (Mesquita et al., 2004). Como há uma resistência ao enchimento ventricular, o átrio esquerdo contrai-se mais, provocando aumento da velocidade do fluxo atrial conforme observado anteriormente; porém, nem todo o volume é comportado no VE, fazendo com que o átrio sofra dilatação para acomodar o retorno venoso (aumento de pré-carga).

A despeito da possibilidade de ter havido um possível comprometimento cardíaco pela administração de *M. rigida*, os resultados ecoDopplercardiográficos indicam que *M. rigida* acomete a função cardíaca, nas condições deste experimento. As diminuições das frações de ejeção e encurtamento e do volume sistólico final do VE observados no GS e GI após intoxicação refletem disfunção sistólica do VE.

Os resultados indicam que há indícios de diminuição da função sistólica cardíaca nos grupos tratados (GS e GI), demonstrado pela diminuição das frações de ejeção e encurtamento e aumento dos volumes sistólicos finais do VE. Há também indícios de diminuição da função diastólica cardíaca no GI, representado pelo aumento da relação AE:AO e aumento do AE. A intoxicação aparentemente causou lesão miocárdica, com possível resposta de diminuição do relaxamento ou aumento da complacência ventricular, resultando em déficit diastólico nos animais que receberam extrato insolúvel em água e déficit sistólico nos animais que receberam extratos solúvel e insolúvel em água, detectados por meio da ecoDopplercardiografia. Ressalta-se que para tal afirmação, seriam necessários estudos envolvendo Doppler tecidual,

que não estava disponível no momento, indicando novos objetivos e metodologias para estudos futuros.

Lago (2007) também observou diminuição da função sistólica ventricular de ovinos experimentalmente intoxicados durante três e sete dias consecutivos e não encontrou lesões cardíacas na avaliação anatomo-patológica. Este autor sugeriu que os constituintes tóxicos da *M. rigida* afetariam a função cardíaca de alguma forma ainda não conhecida, muitas vezes não havendo tempo para produzir alterações morfológicas que possam ser facilmente identificadas à histopatologia. Os resultados da avaliação cardíaca e anatomo-patológica deste estudo corroboraram com os de Lago (2007).

4.3 ACHADOS ANATOMOPATOLÓGICOS

Neste trabalho, não foram observadas alterações anatomopatológicas decorrentes de intoxicação por *M. rigida* em nenhum animal dos grupos solúvel e insolúvel, concordando com maior parte da literatura (Tokarnia et al., 1961; Santos, 1975; Tokarnia et al., 1994; Tokarnia et al., 2000).

Semelhantemente ao relatado em literatura (Tokarnia et al., 1961; Santos, 1975; Tokarnia et al., 1991; Tokarnia et al., 1994; Tokarnia et al., 2000; Lago, 2007) não foram observadas alterações significativas, tanto macro quanto microscópicas, nos coelhos deste experimento. Segundo os exames anatomopatológicos, as alterações podem ter sido influenciadas pela dieta (degeneração hepática moderada) e protocolo de eutanásia propostos (congestão renal moderada), pois as mesmas foram visíveis nos animais do grupo controle. Apenas um animal do GS e dois do GI apresentaram edema pulmonar discreto, que podem ter sido

decorrentes do procedimento de eutanásia.

Tokarnia et al. (1987), Lago (2007) e Vasconcelos et al. (2008a) encontraram lesões relatadas por outros autores como originadas da intoxicação por *M. rigida* em animais que receberam placebo.

Vasconcelos et al. (2008) administraram diferentes doses de *M. rigida* (2,5 a 10g/kg fresca x seca) a coelhos e observaram leve evidênciação do padrão lobular hepático, discreta vacuolização e necrose individual de hepatócitos, edema e congestão pulmonares, vacuolização do citoplasma das células do epitélio dos túbulos contorcidos distais que também apresentavam núcleo picnótico.

Não foram visualizadas alterações macro ou microscópicas nos corações, cerebelos e cérebros dos animais de todos os grupos experimentais, conforme também relatado por Santos (1975).

Medeiros et al. (2002) observaram hepatomegalia, congestão e degeneração hepática moderada em coelhos intoxicados com doses de 1,25 a 10g/kg de folhas secas. Tokarnia et al. (1987; 1994) descrevem a degeneração hidrópico-vacuolar nas células do epitélio dos túbulos contorcidos distais do rim como a lesão de maior significado na intoxicação por *M. rigida*, porém esta alteração não foi encontrada em nenhum dos animais deste experimento. Este tipo de lesão também foi observada em coelhos intoxicados com *Arrabidaea bilabiata* (Jabour et al., 2006). Certas substâncias tóxicas ao rim e que cursam também com nefrose tubular afetam, sobretudo, os túbulos contorcidos (Maxie, 1993; Jones et al. 2000).

Muitas das lesões presentes em coelhos intoxicados com *M. rigida* são similares às de coelhos intoxicados com *A.*

bilabiata (Jabour et al., 2006) e por *Palicourea aeneofusca* (Vasconcelos et al., 2008a). As três plantas se caracterizaram por ausência de lesões significativas à necropsia (Tokarnia et al., 1991; Tokarnia et al., 1994; Jabour et al., 2006; Vasconcelos et al., 2008a) e ao exame histopatológico as lesões mais importantes caracterizaram-se, nos rins, por degeneração hidrópico-vacuolar das células epiteliais dos túbulos contornados distais, no fígado por vacuolização difusa do citoplasma e necrose de hepatócitos, além de congestão nos rins, fígado, coração e pulmões (Tokarnia et al. 1987; Tokarnia et al., 1994; Jabour et al., 2006; Vasconcelos et al., 2008a; Vasconcelos et al., 2008b). Outras lesões provocadas por *A. bilabiata* foram presença de esférulas eosinofílicas nos sinusóides hepáticos e fibras cardíacas com eosinofilia aumentada (Jabour et al., 2006), esta última também descrita por Tokarnia et al. (1961 e 1990) na intoxicação por *M. rigida*.

5. CONCLUSÕES

Pode-se concluir que os extratos de *Mascagnia rigida* (solúvel e insolúvel em água):

- a) são quimicamente diferentes entre si, com uma maior concentração de grupamentos fitoquímicos no extrato solúvel;
- b) na dose de 30g/kg de MS, após a administração diária por oito dias, não causaram alterações dos sinais clínicos, dos perfis protéico-eletroforético, renal, hepático e muscular, eletrocardiográficos (convencional e Holter) e nem histopatológicas;

- c) prejudicaram a função cardíaca, demonstrada pela redução da fração de ejeção e de encurtamento sistólico.

O extrato de *Mascagnia rigida* solúvel em água (30g/kg de MS) causou:

- a) diminuição da concentração de hemoglobina e do hematócrito de coelhos a partir do quinto dia;
- b) aumento do número de leucócitos de coelhos a partir do sétimo dia, decorrente do aumento dos linfócitos e heterófilos;
- c) diminuição de cálcio e magnésio séricos ao quinto dia;
- d) alterações ecoDopplercardiográficas sugestivas de disfunção sistólica.

O extrato de *Mascagnia rigida* insolúvel em água (30g/kg de MS) causou:

- a) diminuição da concentração de hemoglobina e do hematócrito de coelhos a partir do terceiro dia;
- b) diminuição de fósforo a partir do quinto dia;
- c) aumento de cloretos ao quinto dia e diminuição de fósforo sérico no quinto dia;
- d) alterações ecoDopplercardiográficas sugestivas de disfunção sistólica e diastólica.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados clínicos, laboratoriais, eletro e ecoDopplercardiográficos do presente estudo, associados aos demais relatos de literatura sugerem que a *M. rigida* possui mais de um princípio tóxico, presentes tanto na fração solúvel quanto na insolúvel em água e que, apesar de poderem afetar vários órgãos de maneira distinta, o coração é especificamente sensível e o mais provável de ser o maior responsável pelo menos como a causa da morte súbita.

Caracteriza-se o quadro de intoxicação como subagudo, apresentando efeito cumulativo. O fato de animais morrerem sem terem apresentado lesões cardíacas, como relatado em diversos estudos, também sugere que a principal ação do tóxico neste órgão provavelmente seja devido às suas características farmacológicas, que afetariam a função cardíaca de alguma forma ainda não conhecida, muitas vezes não havendo

tempo para produzir alterações morfológicas que possam ser facilmente identificadas à histologia.

Outros estudos são recomendados com esta planta, utilizando material vegetal e padronizado por cromatografia líquida de alta eficiência, aumentando-se a dose ou o período de administração proposto, sobretudo com monitoração eletrocardiográfica contínua por um período maior e estudos com Doppler tecidual, que complementa a avaliação do Doppler convencional e é mais sensível na avaliação da contração miocárdica.

Ainda especula-se que a causa de morte súbita seja o desenvolvimento de uma arritmia cardíaca e que mais fatores poderão estar envolvidos na disfunção, culminando em insuficiência cardíaca congestiva.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMCOVÁ, M.; ŠIMŮNEK, T.; KAISEROVÁ, H.; et al. *In vitro* and *in vivo* examination of cardiac troponins as biochemical markers of drug-induced cardiotoxicity. *Toxicology*, v.237, n.1-3, p.218-228, 2007.
- ALEXANDER, L. K.; KEENE, B. W.; YOUNT, B. L.; et al. ECG Changes after rabbit coronavirus infection. *J. Electrocardiol.*, v.32, n.1, p.21-31, 1999.
- ANDERSON, M. E.; MAZUR, A.; YANG, T.; et al. Potassium current antagonist properties and proarrhythmic consequences of quinolone antibiotics. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, v.296, n.3, p.806-810, 2001.
- ANDERSON, W. R. Eight segregates from the neotropical genus *Mascagnia* (Malpighiaceae). *Novon St. Louis Mo.*, v.16, p.168-204, 2006.
- ARINI, P. D.; QUINTEIRO, R. A.; VALVERDE, E. R.; et al. Evaluation of QT interval dispersion in a multiple electrodes recording system versus 12-lead standard ECG in an *in vitro* model. *A. N. E.*, v.5, n.2, p.125-132, 2000.
- BALADRIN, M. F.; KLOKE, J. A.; WURTELE, E. S.; et al. Natural plant chemicals. Source of industrial and medicinal materials. *Science*, v.228, p.1054-1060, 1985.
- BARBOSA, R. R.; RIBEIRO FILHO, M. R.; SILVA, I. P.; et al. Plantas tóxicas de interesse pecuário: importância e formas de estudo. *Acta Veterinaria Brasileira*, v.1, n.1, p.1-7, 2007.
- BASNIGHT, M. A.; GONZALEZ, M. S.; KERSHENOVICH, S. C.; et al. Pulmonary venous flow velocity: relation to hemodynamics, mitral flow velocity and left atrial volume, and ejection fraction. *J. Am. Soc. Echoc.*, v.4, p.547-58, 1991.
- BATATINHA, M. J. M.; DE SOUZA SPINOSA, A. H.; BERNARDI, M. M. Toxic effects of *Mascagnia rigida* in laboratory animals. *Vet. Hum. Toxicol.*, v.30, n.3, p.259, 1988.
- BEDNARSKI, R. M.; SAMS, R. A.; MAJORS, L. J. Reduction of the ventricular arrhythmogenic dose of epinephrine by ketamine administration in halothane-anesthetized cats. *Am. J. Vet. Res.*, v.46, p.350-354, 1988.
- BODOR, G. S.; PORTER, S.; LANDT, Y.; et al. Development of monoclonal antibodies for an assay of cardiac troponin I and preliminary results in suspected cases of myocardial infarction. *Clin. Chem.*, v.38, p.2203-2214, 1992.
- BONAGURA, J. D.; LEHMKUHL, L. B.; MORAIS, H. A. Fluid and diuretic therapy in heart failure. In: DIBARTOLA, S. P. *Fluid, electrolyte and acid-base disorders in small animal practice*. 3a. ed, Saunders Elsevier. p. 550-552, 702 pgs. Sto Missouri, 2006.
- BOON, J. A. (Ed). *Manual of veterinary echocardiography*. Evaluation of size, function, and hemodynamics. Baltimore: Willians e Wilkins, 1998, p.151-260.
- BOOTH, J. V.; PHILLIPS-BUTE, B.; MCCANTS, C. B.; et al. Low serum magnesium level predicts major adverse cardiac events after coronary artery bypass graft surgery. *Am. Heart. J.*, v.145, p.1108-1113, 2003.

- BRAUNWALD, E. Effects of digitalis on the normal and the failing heart. *Journal of American College of Cardiology*, v. 5, p. 51A-59A, 1985.
- BRUNNER, M.; PENG, X.; LIU, G. X.; et al. Mechanisms of cardiac arrhythmias and sudden death in transgenic rabbits with long QT syndrome. *J. Clin. Invest.*, v.118, n.6, p.2246-2259, 2008.
- CALVERT, C. A. Effect of medical therapy on survival of patients with dilated cardiomyopathy. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.*, v.21, p.919-930, 1991.
- CAMARGO, M. C. R.; TOLEDO, M. C. F. Teor de cafeína em cafés brasileiros. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, v.18, n.4, 1998.
- CAMARGO, M. C. R.; TFOUNI, S. A. V.; VITORINO, S. H. P. et al. Determinação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAS) em guaraná em pó (*Paullinia cupana*). *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, v.26, n.1, 2006.
- CAMAROZANO, A. C. A.; HENRIQUES, L. M. G. Uma macromolécula capaz de alterar o resultado da CK-MB e induzir ao erro no diagnóstico do infarto agudo do miocárdio. *Arq. Bras. Cardiol.*, v.66, p.143-147, 1996.
- CAMPBELL, T. W. Hematologia de Mamíferos: Animais de Laboratório e Espécies Variadas. In: THRALL, M. A.; BAKER, D. C.; CAMPBELL, T. W.; et al. (Eds.). *Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária*. São Paulo : Editora Roca, 2004, p.208-210.
- CARDINET, G. H. Skeletal Muscle Function. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. (Eds.). *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 5. ed. San Diego: Academic Press, 1997, p.407-440.
- CARLSON, G. P. Fluid, Eletrolyte and Acid-base Balance. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. (Eds.). *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 5. ed. San Diego: Academic Press, 1997, p.485-516.
- CARLSSON, L.; ALMGREN, O.; DUKER, G. QTU-prolongation and torsades de pointes induced by putative class III antiarrhythmic agents in the rabbit: etiology and interventions. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, v.16, p.276-285, 1990.
- CARLSSON, L.; DREWS, L.; DUKER, G.; et al. Attenuation of proarrhythmias related to delayed repolarization by low-dose lidocaine in the anesthetized rabbit. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, v.267, p.1076-1080, 1993.
- CARVALHO, R. O.; ARAÚJO, R. B.; SILVA, E. F. Ecocardiografia modo Doppler pulsado em gatos clinicamente saudáveis. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.58, p.333-340, 2006.
- CARVALHO, P. S. L.; PEREIRA, G. G.; PETRUS, L. C. et al. Avaliação de alguns parâmetros ecocardiográficos do gato-do-mato (*Leopardus tigrinus*) mantido em cativeiro e submetido à anestesia com xilazina e quetamina. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v. 59, p. 695-699, 2007.
- CAVALCANTI, G. A. O. ; NOGUEIRA, R. B. ; GONCALVES, F. S. ; ARAÚJO, R. B. ; MUZZI, R. A. L. ; SAMPAIO, G. R. Influência da utilização de colar elizabetano ou colar cervical em cães submetidos à eletrocardiografia contínua (Holter). *Rev. Ciên. da Vida - UFRRJ*, v.27, p.461-463, 2007.

- CHARLES, J. C.; ELLIOTT, J. M.; NICHOLLS, M. G.; et al. Natriuretic peptides maintain sodium homeostasis during chronic volume loading post-myocardial infarction in sheep. *Clin. Sci.*, v.104, p.429-436, 2003.
- CHEEKE, P. R. (Ed). *Natural toxicants in feeds, Forages, and Poisonous Plants*. 2. ed. Danville: Interstate Publishers, 1998. 479p.
- CHEN, G. R.; SUN, L. T.; LEE, Y. H.; et al. Characteristics of blood in common carp, *Cyprinus carpio*, exposed to low temperatures. *J. App. Aquac.*, v.5, p.21-31, 1995.
- CIOLA, R. (Ed). *Fundamentos da cromatografia a líquido de alto desempenho: HPLC*. São Paulo: Edgard Blucher, 1998. 179p.
- COBUCCI, G. C.; MELO, M. M.; LABARRÈRE, C. R.; et al. Estudo fitoquímico preliminar da *Mascagnia rigida*. In: XVIII SEMANA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFMG, 2009, Belo Horizonte. Anais da XVIII Semana de Iniciação Científica da UFMG, 2009a.
- COBUCCI, G. C.; MELO, M. M.; LABARRÈRE, C. R.; et al. Disfunção cardíaca na intoxicação experimental com extrato aquoso de *Mascagnia rigida*. In: XVIII SEMANA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFMG, 2009, Belo Horizonte. Anais da XVIII Semana de Iniciação Científica da UFMG, 2009b.
- COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. (Eds). *Introdução a métodos cromatográficos*. 5. ed., Campinas : Editora da Unicamp, 1993, 279p.
- COSTA, A. F. (Ed). *Farmacognosia*. 4. ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1986, 1031p.
- CÔTÉ, E.; CHARUVA STRA, E.; RICHTER, K. Event-based cardiac monitoring in small animal practice. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*, v.21, p.1025-1033, 1999.
- CÔTÉ, E.; ETTINGER, S. J. Electrocardiography and cardiac arrhythmias. In: ETTINGER, S.J.; FELDMAN, E.C. (Eds). *Textbook of veterinary internal medicine*. 6. ed. St. Louis: Elsevier Saunders, 2005, p.1040-1076.
- COUCEIRO, J. E. M.; SILVA, A. C. C.; SILVA, J. A. Observações e ensaios sobre a alegada intoxicação de bovinos por plantas, no Estado de Pernambuco. In: XV CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, Rio de Janeiro, p. 45-46, 1976.
- CUNHA, L. C.; GORNI AK, S. L.; HARAGUCHI, M.; et al. *Palicourea marcgravii* e *Mascagnia rigida* : um estudo por cromatografia em camada delgada (CCD). In: II SIMPÓSIO DE PÓS- GRADUAÇÃO E XV SEMANA CIENTÍFICA PROF. DR. BENJAMIN EURICO MALUCELLI, 2006, São Paulo, CD-ROM (Resumo).
- CUNHA, L. C. *Avaliação dos efeitos tóxicos da Mascagnia rigida em ratos. Estudo anatomopatológico*. Comparação entre metodologias cromatográficas para detecção do fluoracetato de sódio. 2008. 100f.: il. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo – São Paulo.
- CUPO, P.; HERING, S. E. Cardiac troponin I release after severe scorpion envenoming by *Tityus serrulatus*. *Toxicon*, v.40, n.6, p.823-830, 2002.

- DAVEY, P. P.; BARLOW, C.; HART, G. Prolongation of the QT interval in heart failure occurs at low but not high heart rates. *Clin. Sci.*, v.98, p.603-610, 2000.
- DE MORAIS, H. A. Pathophysiology of heart failure and clinical evaluation of cardiac function. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. (Eds), *Textbook of Veterinary Internal Medicine*, 5^a.ed. Philadelphia : W.B. Saunders, 2000, p. 692-713.
- Di STASI, L. C. (Ed). *Plantas Mediciniais: Arte e Ciência*. UNESP. Brasil. 1995, 230p.
- DINIZ, P. P. V. P.; SCHWARTZ, D. S.; COLLICCHIO-ZUANAZE, R. C. Cardiac trauma confirmed by cardiac markers in dogs: two case reports. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.59, p.85-89, 2007.
- DÖBEREINER, J.; TOKARNIA, C. H.; SILVA, M. F. Intoxicação por *Arrabidaea bilabiata* (Bignoniaceae) em bovinos na Região Amazônica do Brasil. *Pesq. Vet. Bras.*, v.3. n.1, p.17-24, 1983.
- DUPRAS, J.; VACHON, P.; CUVELLIEZ, S.; et al. Anesthesia of the New Zealand rabbit using the combination of tiletamine–zolazepam and ketamine–midazolam with or without xylazine. *Can. Vet. J.*, v.42, p.455–460, 2001.
- ECKERSALL, P. D. Proteins, Proteomics, and the Dysproteinemias In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. (Eds.). *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 6. ed. San Diego: Academic Press, 2008, p. 122, 124-127.
- FARKAS, A.; LEPRÁN, I.; PAPP, J. G. Y. Comparison of the antiarrhythmic and proarrhythmic effect of almokalant in anaesthetised rabbits. *Eur. J. Pharmacol.*, v.346, p.245-253, 1998.
- FARKAS, A.; LEPRÁN, I.; PAPP, J. G. Y. Proarrhythmic effects of intravenous quinidine, amiodarone, D-sotalol and almokalant in the anesthetized rabbit model of *torsade de pointes*. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, v.39, p.287–297, 2002.
- FARKAS, A.; BATEY, A. J.; COKER, S. J. How to measure electrocardiographic QT interval in the anaesthetized rabbit. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods*, v.50, p.175-185, 2004.
- FERNANDES, N. S.; MACRUZ, R. Toxicidade da “corona”, *Mascagnia pubiflora* (Juss.) Griseb. (*Malpighiaceae*). *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, v.31, p.1-4, 1964.
- FERREIRA NETO, J. M.; VIANA, E.; MAGALHAES, L. M. (Eds). *Patologia Clínica Veterinária*. 2. ed. Belo Horizonte: Rabelo, 1982, 279p.
- FINCO, R. D. Kidney Function. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. (Eds.). *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 5. ed. San Diego: Academic Press, 1997, p.441-484.
- FLECKNELL, P. A.; RICHARDSON, C. A.; POPOVIC, A. Laboratory Animals. In: TRANQUILLI, W. J.; THURMON, J. C.; GRIMM, K. A. (Eds.). *Lumb and Jones Veterinary Anaesthesia*. 4. ed., Oxford : Blackwell Publishing, 2007, p.765-784.
- FONTES-SOUSA, A. P.; BRAS-SILVA, C.; MOURA, C.; et al. M-mode and Doppler echocardiographic reference values for male New Zealand white rabbits. *Am. J. Vet. Res.*, v.67, p.1725–1729, 2006.

- FONTES-SOUZA, A. P.; MOURA, C.; CARNEIRO, C. S.; et al. Echocardiographic evaluation including tissue Doppler imaging in New Zealand white rabbits sedated with ketamine and midazolam. *Vet. J.*, p.1-6, 2008.
- FRIDERICIA, L. S. Die systolendauer im elektrokardiogramm bei normalen menschen und bei herzkranken. *Acta Med. Scand.*, v. 53, p. 469-486, 1920.
- GALEN, R. S.; REIFFEL, J. A.; GAMBINO, S. R. Diagnosis of acute myocardial infarction. Relative efficiency of serum enzyme and isoenzyme measurements. *J. Am. Med. Assoc.*, v.232, n.2, p.145-147, 1975.
- GAN, L.; WIKSTROM, J.; BRANDT-ELIASSON, U.; et al. Amplitude and velocity of mitral annulus motion in rabbits. *ECHOCARDIOGRAPHY: A Journal of CV Ultrasound & Allied Tech.*, v.21, n.4, p.313-317, 2004.
- GAVA, A.; CRISTANI, J.; BRANCO, J. V.; et al. Mortes súbitas em bovinos causadas pela ingestão de *Mascagnia sp.* (Malpighiaceae) no Estado de Santa Catarina. *Pesq. Vet. Bras.*, v.18, n.2, p.16-20, 1998.
- GIL, A. G.; SILVAN, G.; ILLERA, M.; et al. The effects of anesthesia on the clinical chemistry of New Zealand white rabbits. *Contemp. Top. Lab. Anim. Sci.*, v.43, p.25-29, 2004.
- GBADEBO, T. D.; TRIMBLE, R. W.; KHOO, M. S. C.; et al. Calmodulin inhibitor W-7 unmasks a novel electrocardiographic parameter that predicts initiation of *torsade de pointes*. *Circulation*, v.105, p.770-774, 2002.
- GREENE, S. A.; THURMON, J. C. Xylazine - a review of its pharmacology and use in veterinary medicine. *J. Vet. Pharmacol. Ther.*, v.11, n.4, p.295-313, 1988.
- GRISEBACH, A. Malpighiaceae. In: MARTIUS, K. (Ed.). *Flora Bras.*, v.11, n.1, p.1-24, 1858.
- GUYTON, A. C.; HALL, J. E. (Eds.). Urine Formation by the Kidneys: II. Tubular Processing of the Glomerular Filtrate. Chapter 27. Unit V. In:___ *Textbook of Medical Physiology*. 11.ed. Philadelphia Elsevier : Saunders, 2006, p.336, 1115p.
- HAMLIN, R. L.; Animal models of ventricular arrhythmias. *Pharmacology & Therapeutics*, v. 113, p. 276-295, 2007.
- HARAGUCHI, M.; YOKOSUKA, A.; KAWAKAMI, S. et al. Saponinas triterpênicas nos frutos de *Stryphnodendrum fissuratum*. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 29, 2006, Águas de Lindóia. *Anais...* São Paulo: Sociedade Brasileira de Química, 2006. Disponível em: <<https://sec.s bq.org.br/cd29ra/resumos/T1315-2.pdf>> Acesso em: 30 out. 2008.
- HAYES, E.; PUGSLEY, M. K.; PENZ, W. P. et al. Relationship between QaT and RR intervals in rats, guinea pigs, rabbits, and primates. *J Pharmacol Toxicol Methods*, v.32, n.4, p.201-207, 1994.
- HE, X. G. On-line identification of phytochemical constituents in botanical extracts by combined high-performance liquid chromatographic-diode array detection-mass spectrometric techniques. *J. Chromatogr. A.*, v.880, n.1-2, p.203-232, 2000.

- HETLAND, O.; DICKSTEIN, K. Cardiac troponins I and T in patients with suspected acute coronary syndrome: a comparative study in a routine setting. *Clin. Chem.*, v.44, n.7, p.1430-1436, 1998.
- HOBBS, B. A.; RAOLHALL, T. G.; SPRENKEL, T. L.; et al. Comparison of several combinations for anesthesia in rabbits. *Am. J. Vet. Res.*, v.52, n.5, p.669-674, 1991.
- HOPPE, U. C.; BÖHM, M.; DIETZ, R.; HANRATH, P.; KROEMER, H. K.; OSTERPEY, A. SCHMALTZ, A. A. ERDMANN, E. Leitlinien zur Therapie der chronischen Herzinsuffizienz. *Zeitschrift für Kardiologie*, v. 94, p. 488-509, 2005.
- HORTON, J. W.; GARCIA, N. M.; WHITE, D. J.; et al. Postburn cardiac contractile function and biochemical markers of postburn cardiac injury. *J. Am. Coll. Surg.*, v.181, n.4, p.289-298, 1995.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. Produção da Pecuária Municipal 2008 : Efetivo de bovinos cresce 1,3% após dois anos de redução. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php?id_noticia=1499&id_pagina=1>. Acessado em fevereiro 2010.
- JABOUR, F. F.; SEIXAS, J. N.; TOKARNIA, C. H.; et al. Variação da toxidez de *Arrabidaea bilabiata* (Bignoniaceae) em coelhos. *Pesq. Vet. Bras.*, v.26, n.3, p.171 - 176, 2006.
- JAIN, N. C. (Ed). *Essentials of veterinary hematology*. Comparative hematologic features of some avian and mammalian species – Rabbits. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993, p.69, 417p.
- JASIŃSKA, M.; OWCZAREK, J.; ORSZULAK-MICHALAK, D. The influence of simvastatin at high dose and diltiazem on myocardium in rabbits, the biochemical study. *Acta Pol. Pharm.*, v.63, n.5, p.386-390, 2006.
- JONES, D. J.; STEHLING, M. D.; ZAUDER, M. D. Cardiovascular responses to diazepam and midazolam maleate in the dog. *Anesthesiology*, n.51, p.430-434, 1979.
- JONES, T. C.; HUNT, R. D.; KING, N. W. (Eds). *Patologia Veterinária : Sistema urinário*. 6. ed. São Paulo : Editora Manole, 2000, cap.24, p.1146.
- KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. (Eds). *Clinical Biochemistry of Domestic Animals : Appendix IX Blood analyte reference values in some laboratory animals*. 5. ed. Philadelphia : Academic Press, 2008, p. 881-887.
- KATZ, L. N.; SOSKIN, S.; FRISCH, R. Variations in contour of the records found in serial electrocardiogram of the dog. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, v.32, p.208, 1934.
- KITTLESON, M.D. Pathophysiology of heart failure. In: KITTLESON, M.D.; KIENLE, R.D. *Small Animal Cardiovascular Medicine*. St. Louis : Mosby, 1998, 1.ed, Cap. 5, p.72.
- KNIGHT, D. H. Fisiopatologia da insuficiência cardíaca. In: ETTINGER, S. J. *Tratado de Medicina Interna Veterinária*. São Paulo: Manole, 1992. p.944-969.

- KOYAMA, H.; YOSHII, H.; YABU, H.; et al. Evaluation of QT interval prolongation in dogs with heart failure. *J. Vet. Med. Sci.*, v.66, n.9, p.1107-1111, 2004.
- KRAMER, J. W.; HOFFMANN, W. E. Clinical Enzimology. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. (Eds). *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 5. ed. San Diego : Academic Press, 1997, p.303-325.
- LAGO, E. P. *Intoxicação experimental em ovinos por Mascagnia rigida (A. Juss.) Griseb. (Malpighiaceae): estudo fitoquímico, fitoanatómico e aspectos clínicos, laboratoriais e ecocardiográficos*. 2007. 65p.: il. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Minas Gerais – Belo Horizonte.
- LAGO, E. P.; MELO, M. M.; ARAÚJO, R. B.; et al. Perfis eletrocardiográfico e ecodoppler cardiográfico de ovinos após ingestão da suspensão aquosa de *Mascagnia rigida* Griseb. (Malpighiaceae). *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.61, n.4, p.853-862, 2009.
- LEFEBVRE, H. P.; TOUTAIN, P. L.; BRET, L. et al. Compared kinetics of plasma creatine kinase activity in rabbits after intramuscular injection of different preparations of skeletal muscle. *Vet. Res.*, v.24, p.468-476, 1993.
- LEFEBVRE, H. P.; LAROUTE, V.; BRAUN, J. P. et al. Non-invasive and quantitative evaluation of post-injection muscle damage by pharmacokinetic analysis of creatine kinase release. *Vet. Res.*, v.27, p.343-361, 1996.
- LEOMIL NETO, M.; LARSSON, M. H. M. A.; PEREIRA, L.; et al. Padronização da monitorização eletrocardiográfica por 24 horas em cães. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.54, n.2, 2002.
- LEVINE, H. D.; BRISTOL, N. H. Spontaneous changes in the normal rabbit electrocardiogram. *Am. Heart J.*, p.209-214, 1942.
- LIANG, Y.; XIE, P.; CHAN, K. Quality control of herbal medicines. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.*, v.812, p.53-70, 2004.
- LOMBARD, C.W. Normal values of the canine M-mode echocardiogram. *Am. J. Vet. Res.*, v.45, n.10, p.2015-2018, 1984.
- LU, H. R.; REMEYSEN, P.; DE CLERCK, F. Nonselective I_{Kr}-blockers do not induce torsades de pointes in the anesthetized rabbit during α_1 -adrenoceptor stimulation. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, v.36, p.728-736, 2000.
- LUENGO, M. T. L. Flavanóides. *OFFARM*, v.21, n.4, p.108-114, 2002.
- LUM, G. Preparation and stability of a liquid creatine kinase isoenzyme control from rabbit serum. *Clin. Chem.*, v.25, n.6, p.873-876, 1979.
- LUMEIJ, J. T. Avian Clinical Biochemistry. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. (Eds.). *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 6. ed. San Diego: Academic Press, 2008, p. 854.
- MADER, D. R. Rabbits. Basic approach to veterinary care. In: HILLYER, E. V.; QUESENBERY, K. E. (Eds). *Ferrets, rabbits, and rodents - Clinical medicine and surgery*. Philadelphia : W. B. Saunders Company, 1997, p.160-168.
- MALIK, M.; BATCHVAROV, V. N. Measurement, interpretation and clinical potential of QT dispersion. *Journal of the American College of Cardiology*, v. 36, p. 1749-66, 2000.

- MARANO, G.; GRIGIONI, M.; TIBURZI, F.; et al. Effects of isoflurane on cardiovascular system and sympathovagal balance in New Zealand white rabbits. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, v.28, p.513-518, 1996.
- MARQUES, T. C.; CARDOSO, M. G.; SALVADOR, S. C.; et al. Plantas tóxicas para bovinos na Região de Minas Gerais e Goiás. Ministério da Educação - Universidade Federal de Lavras : UFLA, ano XII, n.130, 2006, 69p.
- MATOS, J. F. A. (Ed). *Introdução à fitoquímica experimental*. Fortaleza : UFC, 1988, 128p.
- MAZUR, A.; RODEN, D. M.; ANDERSON, M. E. Systemic administration of calmodulin antagonist W-7 or protein kinase A inhibitor H-8 prevents *torsade de pointes* in rabbits. *Circulation*, v.100, n.24, p.2437-2442, 1999.
- MAXIE, M. G. The urinary system. In: JUBB, K. V. F.; KENNEDY, P. C.; PALMER N. (Eds.). *Pathology of Domestic Animals*, 4. ed., v.2, 1993. San Diego : Academic Press, p.447-538.
- McCUE, J. D.; SWINGEN, C.; FELDBERG, T.; et al. The real estate of myoblast cardiac transplantation: negative remodeling is associated with location. *J. Heart Lung Transplant.*, v.27, n.1, p.116-123, 2008.
- McDONALD, G.; MILLIGAN, L. Ionic, osmotic and acid-base regulation in stress. In: IWANA, G.W.; PICKERING, A.D.; SUMPTER, J.P.; et al (Eds.) *Fish stress and health in aquaculture*. Cambridge: University Press, 1997, p.119-144.
- MEDEIROS, R. M. T.; NETO, S. A. G.; BARBOSA, R. C.; et al. Sudden bovine death from *Mascagnia rigida* in Northeastern Brazil. *Vet Hum. Toxicol.*, v.44, n.5, p.286-288, 2002.
- MEKI, A. R. M. A.; MOHAMED, Z. M. M.; EL-DEAN, Z. M. M. Significance of assessment of serum cardiac troponin I and interleukin-8 in scorpion envenomed children. *Toxicon*, v.41, p.129-137, 2003.
- MELLO, E. M. M.; FERNANDES, J. S. Contribuição ao estudo de plantas tóxicas brasileiras. *Serviço de Informação Agrícola, Ministério da Agricultura*, Rio de Janeiro, 1941.
- MELO, M. M. *Estudo fitoquímico e intoxicação experimental pela *Tetrapteryx multiglandulosa* A. JUSS. (Malpighiaceae) em cabras gestantes*. 1998, 306p.:il. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- MELO, M. M.; COSTA, M. E. R.; CUNHA, M. P. et al. Ovine blood profile after *Mascagnia rigida* intoxication. In: CONGRESSO LATINOAMERICANO DE BUIATRIA, 12., 2005. *Anais ... Valdivia*, 2005. v.1, p.286-287.
- MELO, M. M. Plantas que causam intoxicação aguda. *Caderno Técnico de Veterinária e Zootecnia*, n.49, p.4-9, 2006.
- MELO, M. M.; VERÇOSA JÚNIOR, D.; PINTO, M. C. L.; et al. Intoxicação experimental com extratos de *Mascagnia rigida* (Malpighiaceae) em camundongos. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.60, n.3, p.631-640, 2008.
- MESQUISA, E. T.; SOCRATES, J.; RASSI, S.; et al. Insuficiência Cardíaca com Função Sistólica Preservada. *Arq. Bras. Cardiol.*, v.82, n.4, 2004.

- MEURS, K. M.; SPIER, A. W.; WRIGHT, N. A.; et al. Comparison of in-hospital versus 24-hour ambulatory electrocardiography for detection of ventricular premature in mature boxers. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.218, p.222-224, 2001.
- MILLER, M.S.; CALVERT, C.A. Special methods for diagnosing arrhythmias. In: TILLEY, L.P. (Ed.) *Essentials of canine and feline electrocardiography*. 3.ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1992. p.289-319.
- MILLER, R. H.; LEHMKUHL, L. B.; BONAGURA, J. D.; et al. Retrospective analysis of the clinical utility of ambulatory electrocardiographic (Holter) recordings in syncope dogs: 44 cases (1991 - 1995). *J. Vet. Intern. Med.*, v.13, p.111-122, 1999.
- MIR, S. A.; NAZKI, A. R.; RAINA, R. Comparative electrocardiographic studies, and differing effects of pentazocine on ECG, heart and respiratory rates in young sheep and goats. *Small Rumin. Res.*, v.37, p.13-17, 2000.
- MÖISE, N. S.; DEFRANCESCO, T. Twenty-four-hour ambulatory electrocardiography (Holter monitoring). In: BONAGURA, J. D. (Ed). *KIRK'S current veterinary therapy. XII: Small animal practice*. Philadelphia: W.B. Saunders, 1995. p.792-799.
- MUDERS, F.; ELSNER, D. Animal models of chronic heart failure. *Pharmacol. Res.*, v.41, p.605-612, 2000.
- NAOUM, P. C. (Ed). *Eletroforese: técnicas e diagnósticos*. São Paulo: Livraria Santos. 1990, 174p.
- NASCIMENTO, M. S. Flavonóides da *Mascagnia pubiflora*. In: 18ª REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 1995, Caxambú. *Anais da 18ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química*, 1995.
- NASCIMENTO, M. S.; HABERMEHL, G. G. Two naphtho-pyrone glycosides from *Mascagnia rigida*. *Fitoterapia*, v.46, p.539-542, 1995.
- NAUDÉ, T. W.; SCHULTZ, A. Studies on South African cardiac glycosides II. Observations on the clinical and haemodynamic effects of cotyledoside. *Onderstepoort J. Vet. Res.*, v.49, p.247-254, 1982.
- NETO, F. R. A.; NUNES, D. S. S. (Eds). *Cromatografia: Princípios básicos e técnicas afins*. 1.ed., Ed. Interciência : Rio de Janeiro, 2003, p. 25-30.
- NIIYA, S. The effect of ketamine on epinephrine-induced arrhythmias in dogs anesthetized with halothane-nitrous oxide. *Masui*, v.39, n.12, p.1652-1659, 1990.
- NOCITE, J. R.; VICHI, F. L.; MAGALDI, A. J. B. Ketamina e hipertensão arterial nefrogênica. *Ver. Bras. Anestesiol.*, ano 27, n.2, 1977.
- NOGUEIRA, R. B.; MUZZI, R. A. L.; HERRERA, D. S.; et al. Avaliação do ritmo cardíaco em cães da raça Boxer saudáveis pela eletrocardiografia contínua (Holter). *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.58, n.1, p.133-136, 2006
- NORONHA, J. L.; MATUSCHAK, G. M. Magnesium in critical illness: metabolism, assessment, and treatment. *Intensive Care Med.*, v.28, p.667-79, 2002.
- NUNES, N.; MASSONE, F.; POMPERMAYER, L. G.; et al. Atividade antiarritmogênica da levomepromazina em cães submetidos à anestesia pela quetamina. *Cienc. Rural*, v.29, n.2, p.291-295, 1999

- NUNES, S. G. Controle de plantas invasoras em pastagens cultivadas nos cerrados. Embrapa Gado de Corte, 2001. Disponível em <<http://www.cnpqc.embrapa.br/publicacoes/doc/doc117/03principais.html>>. Acesso em: 24 ago. 2008.
- NWUDE, N.; PARSONS, L. E.; ADAUDI, A. O. Acute toxicity of the leaves and extracts of *Dichapetalum barteri* (engl.) in mice, rabbits and goats. *Toxicology*, v.7, n.1, p.23-29, 1977.
- OOI, D. S.; ISOLATO, P. A.; VEINOT, J. P. Correlation of antemortem serum creatine kinase, creatine kinase-MB, troponin I, and troponin T with cardiac pathology. *Clin. Chem.*, v.46, n.3, p.338-344, 2000.
- OLIVEIRA, A. C.; OLIVEIRA, G. C.; PARAGUASSU, A. A.; et al. Intoxicação por um "tingui" (*Mascagnia rigida* Griseb.) em caprinos na Bahia. In: XVI CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 1978, Salvador. *Anais...* Bahia, 1978, p.172 (Resumo).
- OPPEL, K.; BARDOS, L.; PUTZATAI, A. Quantitative determination of serum total protein, albumin and IgG concentration in rabbit. *Bull. Osaka Prefect. Univ., Ser. B Agric. Life Sci.*, Godollo, n.1, p.43, 1988.
- OPTHOF, T.; CORONEL, R.; RADEMAKER, H. M. E.; et al. Changes in sinus node function in a rabbit model of heart failure with ventricular arrhythmias and sudden death. *Circulation*, v.101, p.2975-2980, 2000.
- OSWEILER, G. D.; CARSON, T. L.; BUCK, W. B.; et al. *Clinical and diagnostic veterinary toxicology*. 3. ed, Dubuque, Iowa : Kendall/Hunt Publishing Company, 1985, 494p.
- PARAGUASSU, A. A. *Intoxicação experimental por Mascagnia rigida (Malpighiaceae) em caprinos no nordeste do Brasil*. 1983. 65f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Itaguaí, RJ.
- PARIAUT, R. Cardiovascular Physiology and Disease of the rabbit. *Vet. Clin. North Am. Exot. Anim. Pract.*, v.12, p.135-144, 2009.
- PEDERSEN, H. D. Effects of Mild Mitral Valve Insufficiency, Sodium Intake, and Place of Blood Sampling on the Renin-Angiotensin System in Dogs. In: *Acta Vet. Scand.*, v. 37, p.109-118, 1996.
- PEDONE, M. D.; CASTRO, I.; HATEM, D.; et al. Variações de parâmetros da função diastólica do ventrículo esquerdo de acordo com a idade através da Ecocardiografia com Doppler Tissular. *Arq. Bras. Cardiol.*, v.83, n.6, p.462-465, 2004.
- PENNOCK, G. D.; YUN, D. D.; AGARWAL, P. G.; et al. Echocardiographic changes after myocardial infarction in a model of left ventricular diastolic dysfunction. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, v.273, p.2018-2029, 1997.
- PEREIRA, A. S.; SANTOS, L. F. L.; NUNES-PINHEIRO, D. C. S. Alterações bioquímicas e patológicas em caprinos intoxicados por tinguí (*Mascagnia rigida*). In: CONGRESSO PANAMERICANO DE CIÊNCIAS VETERINÁRIAS, 1996, Campo Grande. *Anais...* Campo Grande, v.1, p.152, 1996.

- PINELLI, A.; TRIVULZIO, S.; TOMASONI, L. et al. Cardiac necrosis markers associated with low nitric oxide levels in the plasma of rabbits after treatment with vasopressin: protective effects of nitroglycerin administration. *Pharmacol. Res.*, v.45, n.6, p.427-434, 2002.
- PINHEIRO, D. C. S. N.; PEREIRA, A. S.; SANTOS, L. F. L. Intoxicação experimental em caprinos sem raça definida com tinguí (*Mascagnia rigida* Malpighiaceae). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 1997, Goiânia. *Anais...* Goiânia: v.1, 1996, p.14.
- POGWIZD, S. M. Nonreentrant mechanisms underlying spontaneous ventricular arrhythmias in a model of nonischemic heart failure in rabbits. *Circulation*, v.92, p.1034-1048, 1995.
- PRAAG, E. *Cardiac Disease of Rabbits* : Cardiology and techniques to detect cardiac diseases in rabbits . Março de 2005. MEDIRABBIT Copyright 2003-2008. Disponível em: <<http://www.medirabbit.com>>. Acessado em out 2008.
- PRITCHETT, A. M.; MAHONEY, D. W.; JACOBSEN, S. J.; et al. Diastolic dysfunction and left atrial volume. *J. Am. Coll. Cardiol.*, v.45, p.87-92, 2005.
- PROPHET, E. B.; MILLS, B.; ARRIGTON, J. B. *AFIP Laboratory Methods in Histotechnology*. Washington: Am. Registry of Pathology, 1992, 278p.
- PUPO, N. I. H. Pastagens e forrageiras: pragas, doenças, plantas invasoras e tóxicas, controles. *Instituto Campineiro de Ensino Agrícola*, Campinas, p.275, 1984.
- QUESENBERRY, K. E. Rabbits. In: BICHARD, S. J.; SHERDING, R. G. (Eds.). *Saunders Manual of Small Animal Practice*. Philadelphia : WB Saunders, 1994, 1346p.
- RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D.C. et al. (Eds). *Clínica Veterinária: um tratado de doenças de bovinos, ovinos, caprinos, suínos e eqüídeos*. 9.ed. London : W.B. Saunders, p.1631-1636, 2000, 1877p.
- RAMIREZ, E. Y.; PALANCA, I. M.; PABLO-BLANCO, J. B. et al. Arritmias cardíacas en el perro y el gato. In: BELERENIAN, G. C.; MUCHA, C. J.; CAMACHO, A. A. *Afecciones Cardiovasculares em pequeños animales*. Buenos Aires : Inter-Médica Editorial, 2001, p. 259-288.
- RAMOS, G.; FRUTOS, P.; GIRÁLDEZ, F. J. et al. Los compuestos secundarios de las plantas em la nutrición de los herbívoros. *Archivos de Zootecnia*, v.47, n.180, p.597-620, 1998.
- RAMOS, A. P.; SOUZA, B. S. Eletrocardiograma: princípios, conceitos e aplicações. *Centro de estudos de Fisiologia do Exercício – CEFE*, 2007, 15p.
- REHDER, V. L. G.; RODRIGUES, M. V. N.; SARTORATTO, A. et al. Dosagem de artemisinina em *Artemisia annua* L. por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por índice de refração. *Rev. Bras. Farmacogn.*, v.12, s.1, 2002.
- REUSCH, B. Investigation and management of cardiovascular disease in rabbits. *In Pract.*, v.27, p.418–25, 2005.
- RIET-CORREA, F; MEDEIROS, R. M. T. Intoxicação por plantas em ruminantes no Brasil e no Uruguai: importância econômica, controle e riscos para a saúde pública. *Pesq. Vet. Bras.*, v.21, n.1, p.38-42, 2001.

- RIET-CORREA, F.; MEDEIROS, R. M. T.; DANTAS, A. F. M. Plantas Tóxicas da Paraíba. *Centro de Saúde e de Tecnologia Rural/SEBRAE/PB*, Patos, p.1-58, 2006a.
- RIET-CORREA, F.; MEDEIROS, R. M. T.; TOKARNIA, C. H.; et al. Toxic plants for livestock in Brazil: toxic species, economic impact and public health. In: *Proc. 8TH INT. SYMPOSIUM ON POISONOUS PLANTS*, Logan, Utah, 2006b.
- RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L.; LEMOS, R. A. A.; et al. (Eds). Plantas que produzem morte súbita. In:_____. *Doenças de Ruminantes e Equídeos*. 3.ed, Rio Grande do Sul: Editora Palloti, 2007, v.2, p.191-194.
- RITSEMA VAN ECK, H. J.; KORS, J. A.; VAN HERPEN, G. The U wave in the electrocardiogram: a solution for a 100-year-old riddle. *Cardiovasc. Res.*, v.67, p.256 - 262, 2005.
- ROBBERS, J.; SPEEDIE, M.; TYLER, V. E. (Eds). *Pharmacognosy and pharmacobiotechnology*. Baltimore: Lea & Febiger, 1996, 177p.
- ROCHA E SILVA, M. O problema das plantas tóxicas no Estado de São Paulo. *Biológico*, v.6, n.3, p.59-66, 1940.
- ROTH, A.L. Use of angiotensin-converting inhibitors in dogs with congestive heart failure. *Compend Contin Educ Vet.*, v.15, p.1240-1244, 1993.
- ROTH, D. M.; SWANEY, J. S.; DALTON, N. D.; et al. Impact of anesthesia on cardiac function during echocardiography in mice. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, v.282, n.6, p.H2134–H2140, 2002.
- SAAD, A. D.; ANDRADE, S. O.; AGUIAR, A. A. The toxic effects of *Mascagnia pubiflora* (Juss.) Griseb. *Anais da Academia Brasileira de Ciência*, v.42, p.235-244, 1970.
- SANFORD, T. D.; COLBY, E. D. Effect of xylazine and ketamine on blood pressure, heart rate and respiratory rate in rabbits. *Lab. Anim. Sci.*, v.30, n.3, p.519-523, 1980.
- SANTOS, H. L. *Aspectos clínicos, laboratoriais e anatomo-histopatológicos na intoxicação experimental de bovinos pela Mascagnia rigida*. Tese (Mestrado em Medicina Veterinária). 1975, 36 p. Resumo em Arqs Esc. Vet., UFMG, Belo Horizonte, v.27, n.3, p.398-399, 1975.
- SCHAEFER, A.; MEYER, G. P.; BRAND, B.; et al. Effects of anesthesia on diastolic function in mice assessed by echocardiography. *Echocardiography*, v.22, n.8, p.665-670, 2005.
- SCHENKEL, E. P.; ZANINNIN, M.; MENTZ, L. A. et al. Plantas tóxicas. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G. et al. (Eds). *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 3.ed. Editora UFRGS – Rio Grande do Sul, 2001.
- SILVA, E. F. *Índices ecodopplercardiográficos de função ventricular esquerda em cães das raças Boxer e Schnauzer miniatura*. 2005. 33p il. Dissertação (Mestrado) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- SILVA, D. M.; RIET-CORREA, F.; MEDEIROS, R. M. T.; et al. Plantas tóxicas para ruminantes e equídeos no Seridó Ocidental e Oriental do Rio Grande do Norte. *Pesq. Vet. Bras.*, v.26, n.4, p.223-236, 2006.

- SILVA, E. F.; MELO, M. B.; MUZZI, R. A. L.; et al. Índices ecoDopplercardiográficos de função ventricular esquerda em cães das raças Boxer e Schnauzer Miniatura. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.60, n.1, p.71-75, 2008a.
- SILVA, P.; LIRA, R. A.; BARBOSA, R. R.; et al. Intoxicação natural pelas folhas de *Mascagnia rigida* (Malpighiaceae) em ovinos – Comunicação científica. *Arqs Inst. Biol. Anim.*, v.75, n.2, p.229-233, 2008b.
- SILVEIRA, J. B.; MELO, M. M.; VERÇOSA JÚNIOR, D.; et al. Avaliação eletrocardiográfica de coelhos submetidos a administração oral de diferentes frações de *Mascagnia rigida*. In: XV SEMANA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFMG, 2006, Belo Horizonte. *Anais da XV Semana de Iniciação Científica da UFMG*. Belo Horizonte: Pró-Reitoria de Pesquisa, 2006. v.1.
- SIMEK, C. L.; FELDMAN, M. D.; HABER, H. L. Relationship between left ventricular wall thickness and left atrial size: comparison with other measures of diastolic function. *J. Am. Soc. Echocardiogr.*, v. 8, p. 37-47, 1995.
- SISSON, D. ; O'GRADY, M.R.; CALVERT, C.A. Myocardial diseases of dogs. In: FOX, P.R.; SISSON, D.; MOISE, N.S. (Eds.) *Textbook of canine and feline cardiology*. 2.ed. Philadelphia: W.B. Sanders, 1999. p. 581-619.
- SISSON, D. D.; THOMAS, W. P. Afecções do Miocárdio. In: ETTINGER, S.J., FELDMAN, E.C. *Tratado de Medicina Interna Veterinária*. 4ed. Rio de Janeiro: Editora Manole, 1995. p.1382-1429.
- SNYDER, P. S. Canine hypertensive disease. *Compend Contin Educ Vet.*, v.13, p.1785-1792, 1991.
- SNYDER, P.S.; COOKE, K.L.; MURPHY, S.T. et al. Electrocardiographic findings in dogs with motor vehicle-related trauma. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, v.37, p.55-63, 2001.
- SOTO-BLANCO, B.; PACÍFICO, S. I.; LIRA, R. A.; et al. Intoxicação natural pelas folhas de *Mascagnia rigida* (Malpighiaceae) em ovinos. In: VII CONGRESSO BRASILEIRO DE BUIATRIA, em CD-ROM. (Resumo), 2007.
- SREEKANTH, P.; NARAYANA, K.; SHRIDHAR, N. B.; et al. Toxicity studies of *Calycopteris floribunda* Lam. in calf, rabbit and rat. *J. Ethnopharmacol.*, v.107, p.229–233, 2006.
- STOCKHAM, S. L.; SCOTT, M. A. (Eds.). *Fundamentals of Veterinary Clinical Patology*. Blackwell Publishing, 1a ed., 2002, 610p.
- STYPMANN, J.; ENGELEN, M. A.; BREITHARDT, A.; et al. Doppler echocardiography and Tissue Doppler Imaging in the healthy rabbit: Differences of cardiac function during awake and anaesthetised examination. *Int. J. Cardiol.*, v.115, p.164–170, 2007.
- SUAPESQUISA.com. Cidade de Belo Horizonte. Disponível em: <http://www.suapesquisa.com/cidadesbrasil/asileiras/cidade_belo_horizonte.htm>, acessado em 09 de out. 2009.

- TÁRRAGA, K. M. Medicamentos que atuam no Sistema Cardiovascular: inotrópicos positivos e medicamentos vasodilatadores. In: SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. *Farmacologia aplicada à Medicina Veterinária*, 3ª. ed., 2002, Rio de Janeiro – RJ, Guanabara Koogan, p. 265-269, 752pgs.
- TENNANT, B. C. Hepatic function. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. (Eds.) *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 5.ed. Philadelphia : Academic Press, 1997, p.327-352.
- THOMAS, W. P.; GABER, C. E.; JACOBS, G. J. et al. Recommendations for standards in transthoracic two-dimensional echocardiography in the dog and cat. The echocardiography Committee of the Specialty of Cardiology, American College of Veterinary Internal Medicine. *J. Vet. Intern. Med.*, v.7, p.247-252, 1993.
- THOMPSON, J. P. Moléstias Imunológicas. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. (Eds.) *Tratado de Medicina Interna Veterinária*. 4.ed. São Paulo : Manole, 1997, p.2616-2666.
- THRALL, M. A. (Ed). *Veterinary hematology and clinical chemistry*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2004. 518p.
- TILLEY, L. P. (Ed). *Essentials of canine and feline electrocardiography: interpretation and treatment*. 3.ed. Philadelphia : Lea & Febiger, 1992. 470p.
- TOKARNIA, C. H.; CANELLA, C. F. C.; DÖBEREINER, J. Intoxicação por um “tingui” (*Mascagnia rigida* Griseb.) em bovinos no Nordeste do Brasil. *Arq. Inst. Biol. Anim.*, v.4, p.203-215, 1961.
- TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J. Intoxicação por *Mascagnia pubiflora* em bovinos no Estado de Mato Grosso. *Pesq. Agropec. Bras.*, v. 8, p. 61-68, 1973.
- TOKARNIA, C. TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J.; PEIXOTO, P. V. Intoxicação por *Mascagnia aff. rigida* (Malpighiaceae) em bovinos no Norte do Espírito Santo. *Pesq. Vet. Bras.*, v.5, n.3, p.77-91, 1985.
- TOKARNIA C. H.; DÖBEREINER J.; CANELLA, C. Intoxicação experimental por *Mascagnia rigida* (Malpighiaceae) em coelhos. *Pesq. Vet. Bras.*, v.7, n.1, p.11-16, 1987.
- TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J.; PEIXOTO, P. V. Aspectos clínico-patológicos complementares da intoxicação por algumas plantas tóxicas brasileiras. *Pesq. Vet. Bras.*, v.14, n.4, p.111-122, 1994.
- TOKARNIA, C. H.; GAVA, A.; BRITO, M. F.; et al. Intoxicação experimental em coelhos por *Mascagnia sp* (Malpighiaceae) procedente do Estado de Santa Catarina. *Pesq. Vet. Bras.*, v.18, n.2, p.61-64, 1998.
- TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J.; PEIXOTO, P. V. *Plantas Tóxicas do Brasil*. Rio de Janeiro : Editora Helianthus, 2000, p.26-27, 320p.
- VASCONCELOS, J. S.; RIET-CORREA, F.; DANTAS, A. F. M.; et al. Mortes súbitas causadas por *Palicourea aeneofusca* e *Mascagnia rigida* na Zona da Mata Paraibana. *Pesq. Vet. Bras.*, v.28, n.10, p.457-460, 2008a.
- VASCONCELOS, J. S.; RIET-CORREA, F.; DANTAS, A. F. M.; et al. Intoxicação por *Mascagnia rigida* (Malpighiaceae) em ovinos e caprinos. *Pesq. Vet. Bras.*, v.28, n.10, p.521-526, 2008b.
- TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J.

- VATNER, S. F.; BRAUNWALD, E. Cardiovascular control mechanisms in the conscious state. *N. Engl. J. Med.*, v.293, n.19, p.70–976, 1975.
- VILLAR, D.; DÍAZ, J. J. O (Eds.). *Plantas tóxicas de interés veterinario. Casos clínicos*. 1. ed. Barcelona: Masson. 2006, 177p.
- YU, M.; BOZEK, J.; GUARALDI, M. et al. Cardiac imaging and safety evaluation of BMS747158, a novel PET myocardial perfusion imaging agent, in chronic myocardial compromised rabbits. *J Nucl Cardiol*, 2010. [Epub ahead of print]
- WANDT, B.; BOJO, L.; HATLE, L. et al. Left ventricular contraction pattern changes with age in normal adults. *J. Am. Soc. Echoc.*, v.11, p.857–863, 1998.
- WANG, S.; DUSTING, G. J.; MAY, C. N. et al. 3',4'-Dihydroxyflavonol reduces infarct size and injury associated with myocardial ischaemia and reperfusion in sheep. *Br. J. Pharmacol.*, v.142, p.443-452, 2004.
- WANG, W.; ROBERTSON, C.; DHALLA, A. K.; et al. Antitortadogenic effects of (±)-N-(2,6-Dimethyl-phenyl)-(4[2-hydroxy-3-(2-methoxyphenoxy)propyl]-1-piperazine (Ranolazine) in anesthetized rabbits. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, v.325, n.3, p.875–881, 2008.
- WEITZEL, L. H. Avaliação das funções sistólica e diastólica do ventrículo esquerdo na doença coronariana. *Rev. Bras. Ecocardiografia*, v. 2, p. 25-46, 1989.
- WHITE, P. F.; WAY, W.; TREVOR, A. J. Ketamine – its pharmacology and therapeutic uses. *Anesthesiology*, n.56, p.199-236, 1982.
- ZOOVER – Crítica de férias. Tempo Hotel Max Savassi Apart Service. Disponível em: <<http://www.zoover.pt/brasil/brasil/belo-horizonte/max-savassi-apart-service/hotel/tempo>>. Acessado em julho de 2009.

8. ANEXOS

Quadro 1 – Valores de referência de ecoDopplercardiografia de coelhos Nova Zelândia machos obtidos no experimento-piloto no protocolo de maleato de midazolam (1mg/kg IM) (n=10) e midazolam-cetamina (2mg/kg e 20mg/kg SC) (n=10).

	Mensuração	Midazolam	Midazolam e ketamina	CV (%)	F	p
	Machos	10	10			
	Idade (meses)	5	5			
	Massa (kg)	3,2	3,0			
	FC (bpm)	217 ± 12	236 ± 17	06.489	8.532	0,00913
	dAE (mm)	11,00 ± 1,05	10,80 ± 1,00	11.556	0.125	ns
	dAO (mm)	7,80 ± 1,20	6,60 ± 0,70	13.857	7.747	0,01227
	AE/AO	1,47 ± 0,25	1,64 ± 0,13	12.848	3.385	0,08233
Ventrículo esquerdo	VE (mL)	3,57 ± 1,10	2,87 ± 1,03	33.022	2.131	0,16153
	SIVd (mm)	2,77 ± 0,40	2,57 ± 0,27	12.570	1.716	0,20669
	DVEd (mm)	13,61 ± 1,68	12,17 ± 1,90	13.926	3.224	0,08939
	DVEs (mm)	8,23 ± 1,10	6,76 ± 1,50	17.483	6.303	0,02182
	PPVEd (mm)	2,87 ± 0,24	2,88 ± 0,52	14.046	0.005	ns
	VSFVE (mL)	12,55 ± 3,97	7,76 ± 3,88	38.671	7.469	0,01366
	VDSVE (mL)	4,82 ± 1,38	3,65 ± 1,36	32.405	3.659	0,0718
	FE (%)	73,69 ± 4,94	79,23 ± 6,70	07.697	4.437	0,04947
	%ΔD (%)	40,68 ± 5,08	45,23 ± 8,24	15.364	4.026	0,06007
Fluxo pulmonar	VTI (cm/s)	7,23 ± 0,75	7,39 ± 1,38	15.205	0.105	ns
	Vmax (cm/s)	87,29 ± 8,73	92,01 ± 10,49	10.951	3.203	0,09034
	Vmed (cm/s)	50,50 ± 3,44	49,60 ± 5,50	09.163	0.193	ns
Fluxo mitral	Vmax (cm/s)	67,84 ± 10,96	62,69 ± 9,67	15.837	1.244	0,27933
	Pgmax (mmHg)	1,84 ± 0,45	1,67 ± 0,54	27.613	0.280	ns
Fluxo aórtico	Vmax (cm/s)	92,27 ± 7,95	87,37 ± 13,71	12.479	0.954	ns
	Vmed (cm/s)	49,75 ± 5,07	47,70 ± 6,49	11.955	0.619	ns

F tabelado de 4,41 para 1 grau de liberdade e resíduo 18. F(tabelado)<F(calculado)

ns= não significativo

FC = frequência cardíaca; dAE = diâmetro do átrio esquerdo; dAO = diâmetro da artéria aorta; AE/AO = relação entre átrio esquerdo e artéria aorta; VE = volume ejetado; SIVd = espessura do septo interventricular na diástole; DVEd = diâmetro diastólico do VE; DVEs = diâmetro sistólico do VE; PPVEd = espessura da parede livre do VE na diástole; VSFVE = volume sistólico final do VE; VDFVE = volume diastólico final do VE; FE = fração de ejeção; %ΔD = fração de encurtamento; VTI = velocidade integral do fluxo; Vmax = velocidade máxima do fluxo; Vmed = velocidade média do fluxo; Pgmax = pressão máxima; Pgmed = pressão média.

FÓRMULAS

- ❖ Fração de encurtamento:

$$FE (\%) = \frac{ddVE - dsVE}{ddVE} \times 100$$

- ❖ Volumes ventriculares esquerdos (fórmula de Teichholz):

$$VDFVE = \frac{7 \times (ddVE)^3}{(2,4 + ddVE)}$$

$$VSFVE = \frac{7 \times (dsVE)^3}{(2,4 + dsVE)}$$

- ❖ Fração de ejeção:

$$(\% \Delta D) = \frac{VDFVE - VSFVE}{VDFVE} \times 100$$

- ❖ Intervalo QT corrigido:

Fórmula de Carlsson

$$QTcC = QT - 0,175(RR - 300)$$

Fórmula de Fridericia

$$QTcF = QT \sqrt[3]{RR}$$

ddVE = diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo; dsVE = diâmetro sistólico do ventrículo esquerdo; VDFVE = volume diastólico final do ventrículo esquerdo; VSFVE = volume sistólico final do ventrículo esquerdo; RR = intervalo RR



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
COMITÊ DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL
- C E T E A -

CERTIFICADO

Certificamos que o **Protocolo nº 187/2008**, relativo ao projeto intitulado "**Avaliação cardíaca após intoxicação experimental com extratos de *Mascagnia rigida* (A. Juss.) Griseb. (Malpighiaceae) em coelhos (*Oryctolagus cuniculus*)**", que tem como responsável(is) **Marília Martins Melo**, está(ão) de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal, adotados pelo **Comitê de Ética em Experimentação Animal (CETEA/UFMG)**, tendo sido aprovado na reunião de **12/ 11/2008**.

Este certificado expira-se em **12/ 11/ 2013**.

CERTIFICATE

We hereby certify that the **Protocol nº 187/2008**, related to the project entitled "**Cardiac evaluation after experimental intoxication by extracts of *Masgania rigida* (A. Juss.) Grised. (Malpighiaceae) in rabbits (*Oryctolagus cuniculus*)**", under the supervisors of **Marília Martins Melo**, is in agreement with the Ethical Principles in Animal Experimentation, adopted by the **Ethics Committee in Animal Experimentation (CETEA/UFMG)**, and was approved in **November 12, 2008**.

This certificate expires in **November 12, 2013**.

Belo Horizonte, 18 de Novembro de 2008.

Prof. Humberto Pereira Oliveira
Coordenador do CETEA/UFMG

Universidade Federal de Minas Gerais
Avenida Antônio Carlos, 6627 – Campus Pampulha
Unidade Administrativa II – 2º Andar, Sala 2005
31270-901 - Belo Horizonte, MG - Brasil
Telefone: (31) 3499-4516 – Fax: (31) 3499-4592
www.ufmg.br/bioetica/cetea - cetea@prpq.ufmg.br