

**Universidade Federal de Minas Gerais
Escola de Veterinária
Colegiado dos Programas de Pós-Graduação**

**INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL EM OVINOS POR
M. rigida (A. Juss.) Griseb. (*Malpigiaceae*): ESTUDOS
FITOQUÍMICO, FITOANATÔMICO E ASPECTOS CLÍNICOS,
LABORATORIAIS E ECOCARDIOGRÁFICOS.**

Ernani Paulino do Lago

**Belo Horizonte
2007**

Ernani Paulino do Lago

**INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL EM OVINOS POR
M. rigida (A. Juss.) Griseb. (*Malpigiaceae*): ESTUDOS
FITOQUÍMICO, FITOANATÔMICO E ASPECTOS CLÍNICOS,
LABORATORIAIS E ECOCARDIOGRÁFICOS.**

Tese apresentada à Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciência Animal.

Área de concentração: Medicina e Cirurgia Veterinárias

Orientadora: Prof^ª. Marília Martins Melo

**Belo Horizonte
Escola de Veterinária da UFMG
2007**

L177i Lago, Ernani Paulino do, 1963-
Intoxicação experimental em ovinos por *M. rigida* (A. Juss.) Griseb.
(Malpighiaceae) : estudos fitoquímico, fitoanatômico e aspectos clínicos,
laboratoriais e ecocardiográficos / Ernani Paulino do Lago. – 2007.
65 p. : il.

Orientador: Marília Martins Melo
Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de
Veterinária
Inclui bibliografia

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

CDD – 636.308 96

FOLHA DE ASSINATURA DA BANCA

Verso folha de assinatura (BRANCO)

DEDICATÓRIA

À minha querida irmã
Maria Nancy do Lago,
falecida a 3 de julho de 2005.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por tudo!

Ao professor Dr. Roberto Baracat de Araújo, pela orientação, amizade e apoio incondicional durante os momentos mais difíceis.

À minha orientadora Professora Dra. Marília Martins Melo, pelo norteamento desta pesquisa e pela rigorosa orientação, que serão eternamente úteis para minha vida profissional.

Ao professor Dr. Ernane Fagundes do Nascimento, pela orientação, correções finais de texto.

Aos colegas Euler Fraga Silva e Marcos Barrouin pela valiosa amizade, incansável apoio e pela realização e interpretação dos exames eletro e ecocardiográficos, fundamentais para este estudo.

A todos do laboratório de Toxicologia: Durval, Paulo Gabriel, Elaine, Márcia, Joseane, Mariana e Eduardo pelo auxílio imprescindível na execução do experimento e de todas as análises laboratoriais.

A todos do laboratório de Patologia, especialmente Marilene, pela amizade e apoio.

Aos professores Antonio Último, Paulo Marcos, Elias Facury, Rafael Faleiros, Rogéria Serakides, Roberto Guedes, Martinho, Iran Borges, Lygia M. F. Passos e demais professores da Escola de Veterinária, pela amizade e apoio durante todo o curso.

Às professoras Ana Maria DantasBarros e Rosy Mary dos Santos Isaias, pela orientação nos estudos fitoquímico e fitoanatômico.

Ao especialista Sobral e à Dra Vany Ferraz pela inestimável amizade e orientação nos aspectos botânicos e químicos deste trabalho.

À professora Silvia Guatimosim (ICB-UFMG), professores Saad (UFPE) e Luiz David Murgas (UFLA), pelos valiosos ensinamentos de fisiologia cardiovascular.

À professora Ruthnéa A. Muzzi (UFLA) pelo auxílio na correção das interpretações ecocardiográficas.

Agradeço especialmente à Dra. Gerusa Correa, por todas análises estatísticas, à Patrícia Coutinho, pelas necropsias e leitura de lâminas, à Eliana Silva, pela formatação final da tese e à Neide Judith, pelo apoio; pessoas que para mim foram verdadeiros anjos na terra.

Aos professores Tokarnia (UFRRJ), Márcia Silva Nascimento (UFPE), Rosane Medeiros (UFMG), Diana Célia Souza (UECE), Fabiana G. Xavier (FMVZ-USP), Lúcia Cunha (FMVZ-USP) e Aliomar Arlego Paraguassú (UFBA), todos pesquisadores da *M. rigida* e que me forneceram valiosas informações a respeito desta planta e colaboraram na compreensão dos resultados deste trabalho.

À Coordenadoria do Colegiado dos cursos de Pós-Graduação, pelo apoio e auxílio à pesquisa e às secretárias Nilda e Heloísa, pela simpatia e atenção constantes.

Às Diretorias da Escola de Veterinária e Hospital Veterinário pela disponibilização dos meios necessários ao desenvolvimento da pesquisa.

À Universidade Federal de Viçosa e CAPES pela oportunidade de realização deste treinamento.

A todos os professores e amigos do Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa, pelo apoio e solidariedade frente a todas espécies de dificuldades encontradas para conclusão deste treinamento.

Finalmente, ao professor Dr. Luiz Alberto do Lago, meu irmão e amigo, em todos os momentos dessa jornada terrena.

SUMÁRIO

RESUMO	13
ABSTRACT	14
1. INTRODUÇÃO	15
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
2.1 ESPÉCIES TÓXICAS DE <i>Mascagnia</i> NO BRASIL.....	16
2.1.1 <i>Mascagnia pubiflora</i> (Juss.) Griseb.....	16
2.1.2 <i>Mascagnia affinis rigida</i>	17
2.1.3 <i>Mascagnia elegans</i>	17
2.1.4 <i>M. rigida</i> (A. Juss.) Griseb.....	17
2.2 ELETROCARDIOGRAMA.....	19
2.2.1 Estudos eletrocardiográficos na intoxicação por plantas em ovelhas.....	20
2.3 ECODOPPLERCARDIOGRAMA.....	21
2.3.1 Estudos ecoDopplercardiográficos em ovelhas.....	21
2.3.2 Estudos ecoDopplercardiográficos na intoxicação por plantas em ovelhas.....	22
2.4 ESTUDO FITOQUÍMICO.....	22
2.5 ESTUDO FITOANATÔMICO.....	22
3. MATERIAL E MÉTODOS	23
3.1 ESTUDO FITOQUÍMICO.....	24
3.2 ESTUDO FITOANATÔMICO.....	25
3.3 INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL.....	25
3.3.1 Avaliações clínicas.....	26
3.3.2 Avaliações eletrocardiográficas.....	27
3.3.3 Avaliações ecoDopplercardiográficas.....	27
3.3.4 Avaliações laboratoriais.....	27
3.3.5 Necropsias, colheita e processamento das amostras para histopatologia.....	27
3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	28
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
4.1 ESTUDO FITOQUÍMICO.....	28
4.2 ESTUDO FITOANATÔMICO.....	30
4.3 AVALIAÇÕES CLÍNICAS.....	32
4.3.1 Sinais clínicos.....	32
4.3.2 Evolução do quadro clínico.....	36
4.3.3 Relação entre exercício físico e morte súbita.....	37

4.3.4	Parâmetros clínicos.....	38
4.4	AVALIAÇÕES ELETROCARDIOGRÁFICAS.....	40
4.5	AVALIAÇÕES ECODOPPLERCARDIOGRÁFICAS.....	46
4.6	AVALIAÇÕES LABORATORIAIS.....	54
4.6.1	Bioquímica sérica.....	54
4.6.2	Hematologia.....	55
4.7	RESULTADOS DE NECROPSIA E HISTOPATOLÓGICOS.....	55
5.	CONCLUSÕES	55
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55
7.	ANEXO	61

LISTA DE TABELAS

Tab. 1	Grupos experimentais, identificação, peso, doses diárias e totais administradas.....	26
Tab. 2	Frequência cardíaca, em repouso, de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias G3) (batimentos por minuto).....	38
Tab. 3	Frequência de movimentos ruminiais de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias G3) (movimentos a cada 5 minutos).....	39
Tab. 4	Frequência respiratória de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias G3) (movimentos por minuto).....	39
Tab. 5	Temperatura retal de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias G3) (graus centígrados).....	40
Tab. 6	Valores percentuais médios em relação aos tipos de ondas registradas nos eletrocardiogramas (DII) de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3), em repouso, e as respectivas frequências cardíacas, batimentos por minuto (bpm).....	40
Tab. 7	Valores percentuais médios em relação aos tipos de ondas registradas nos eletrocardiogramas (DII) de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3), após exercício físico por 10 minutos e as respectivas frequências cardíacas (batimentos por minuto).....	41
Tab. 8	Frequência cardíaca de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3), registradas no eletrocardiograma durante repouso (batimentos por minuto, média ± desvio padrão).....	42
Tab. 9	Frequência cardíaca de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3), registradas no eletrocardiograma após 10 minutos de exercício (batimentos por minuto, média ± desvio padrão).....	42

Tab. 10	Intervalo Q-T de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3), em repouso (segundos, média ± desvio padrão).....	43
Tab. 11	Intervalo Q-T de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3), após 10 minutos de exercício (segundos, média ± desvio padrão).....	44
Tab. 12	Intervalo Q-T corrigido (Fridericia, 1920) de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3), em repouso (segundos, média ± desvio padrão).....	45
Tab. 13	Intervalo Q-T corrigido (Fridericia 1920) de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3), após 10 minutos de exercício (segundos, média ± desvio padrão).....	45
Tab. 14	Intervalo R-R de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3), em repouso (segundos, média ± desvio padrão).....	46
Tab. 15	Intervalo R-R de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3), após 10 minutos de exercício (segundos, média ± desvio padrão).....	46
Tab. 16	Espessura do septo em sístole de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3), em mm.....	49
Tab. 17	Espessura do septo em diástole de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) (mm, média ± desvio padrão).....	49
Tab. 18	Diâmetro interno do ventrículo esquerdo em sístole de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) (mm, média ± desvio padrão).....	49
Tab. 19	Diâmetro interno do ventrículo esquerdo em diástole de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) (mm, média ± desvio padrão).....	50
Tab. 20	Espessura da parede do ventrículo esquerdo em sístole de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) (mm, média ± desvio padrão)..	50
Tab. 21	Espessura da parede do ventrículo esquerdo em diástole de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) (mm, média ± desvio padrão)..	50
Tab. 22	Separação septal do ponto E da válvula mitral de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) (mm, média ± desvio padrão).....	51
Tab. 23	Percentual de encurtamento sistólico do ventrículo esquerdo de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) (%)......	52
Tab. 24	Fração de ejeção do ventrículo esquerdo de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) (%)......	53

Tab. 25	Concentração de AST de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) (UI/L, média ± desvio padrão).....	61
Tab. 26	Concentração de GGT de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) (UI/L, média ± desvio padrão).....	61
Tab. 27	Concentração de cálcio sérico de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) (mg/dl, média ± desvio padrão).....	61
Tab. 28	Concentração de Fósforo de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) (mg/dl, média ± desvio padrão).....	61
Tab. 29	Concentração de potássio de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) (mmol/l, média ± desvio padrão).....	62
Tab. 30	Concentração de Proteínas Totais de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) (g/dl, média ± desvio padrão).....	62
Tab. 31	Concentração de Albumina de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) (g/dl).....	62
Tab. 32	Concentração de Globulinas de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) (g/dl, média ± desvio padrão).....	62
Tab. 33	Concentração de Creatinina de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) (mg/dl, média ± desvio padrão).....	62
Tab. 34	Hemácias de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) ($\times 10^6/\mu\text{l}$).....	63
Tab. 35	Hemoglobina de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) (g/dl).....	63
Tab. 36	Hematócrito de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) (%).....	63
Tab. 37	Volume globular médio de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) (fl).....	63
Tab. 38	Concentração hemoglobínica globular média de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) (%).....	64
Tab. 39	Número médio de leucócitos de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) ($\times 10^3/\text{mm}^3$).....	64

Tab. 40	Valores relativos de linfócitos de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) (%).....	64
Tab. 41	Valores relativos de neutrófilos de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) (%).....	64
Tab. 42	Valores relativos de monócitos de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) (%).....	64
Tab. 43	Valores relativos de eosinófilos de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) (%).....	65
Tab. 44	Valores relativos de basófilos de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) (%).....	65
Tab. 45	Valores relativos de bastonetes de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) (%).....	65

LISTA DE FIGURAS

Fig. 1	<i>M. rigida</i> Griseb, frutos e partes utilizadas para caracterização da da planta.....	23
Fig. 2	<i>M. rigida</i> Griseb, no canteiro de plantas tóxicas da EV-UFGM.....	28
Fig. 3	Anatomia microscópica das epidermes e estômatos da <i>M. rigida</i> Griseb.....	31
Fig. 4	Anatomia microscópica do mesofilo, caule e nervura central da <i>M. rigida</i> Griseb.....	31
Fig. 5	Ovino 1, com sinais apatia após a administração oral de suspensão de folhas trituradas de <i>M. rigida</i> durante 3 dias consecutivos, equivalente a uma dose de 20g/kpv/dia da planta.	34
Fig. 6	Ovino 1, com sinais de apatia e apresentando decúbito esternal após a administração oral de suspensão de folhas trituradas de <i>M. rigida</i> durante 3 dias consecutivos, equivalente a uma dose de 20g/kpv/dia da planta.....	34
Fig. 7	Imagem ecocardiográfica ilustrativa, Modo B, de ovino normal, obtida obtida na posição paraesternal.....	47
Fig. 8	Imagem ecocardiográfica ilustrativa, Modo M, do ovino 1, utilizada para obtenção dos índices funcionais.....	48
Fig. 9	Valores ecocardiográficos, Modo M, do ovino 1 antes da administração da suspensão aquosa de <i>Mascagnia rigida</i> Griseb onde se verifica o valor de 34,8% para a da fração de encurtamento sistólico (FS).....	51
Fig. 10	Valores ecocardiográficos, Modo M, do ovino 1 após 3 dias de administração da suspensão aquosa de <i>Mascagnia rigida</i> Griseb onde se verifica o valor de apenas 13,6% para a fração de encurtamento sistólico (FS).....	52
Fig. 11	Perfil da fração de encurtamento sistólico do ventriculo esquerdo de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de <i>Mascagnia rigida</i> Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) (%).....	53

Fig. 12	Perfil da fração de ejeção do ventrículo esquerdo de ovinos do grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de <i>Mascagnia rigida</i> Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) (%).....	53
---------	---	----

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Resultados do estudo fitoquímico das folhas de <i>M. rigida</i>	29
Quadro 2	Evolução e intensidade dos principais sinais clínicos apresentados pelo ovino 1, que morreu após ser submetido à intoxicação experimental pela <i>M. rigida</i> , durante 3 dias.	33
Quadro 3	Evolução e intensidade dos principais sinais clínicos apresentados por ovinos submetidos à intoxicação experimental pela <i>M. rigida</i> , durante 3 dias (G2) e 7 dias (G3)	33

RESUMO

Esta pesquisa teve por objetivos identificar os grupos químicos presentes na *M. rigida*, as características microscópicas de suas folhas e caule, além de avaliar os efeitos da intoxicação experimental em ovinos sob os aspectos clínicos, ecocardiográficos, anátomo-histopatológicos e laboratoriais. Foram utilizados 15 ovinos Santa Inês com sete meses e pesando em média 27 Kg., divididos em três grupos: G1, (controle); G2, 20 g/kg/pv de folhas de *M. rigida*, durante três dias e G3, 20 g/kg/pv folhas de *M. rigida*, durante sete dias. As folhas de *M. rigida* foram trituradas com água e administradas via oral através de sonda. A *M. rigida* contém polifenóis, taninos, flavonóides, saponinas e alcalóides quaternários. As características anatômicas foram: células epidérmicas adaxiais poligonais, abaxiais sinuosas e estômatos anomocíticos; mesofilo simples com células alongadas, parênquima paliádico simples, com células mais altas do que largas, parênquima lacunoso estratificado, com células globosas; nervura central com drusas; caule com células epidérmicas menores e quadrangulares, parênquima estratificado, floema secundário lignificado e xilema radial. *M. rigida* foi tóxica para ovinos e os sinais clínicos foram: apatia, intolerância ao exercício e polaciúria. Um ovino apresentou tremores musculares, decúbito, pedalagem, vocalizações e morte súbita, durante esforço físico. *M. rigida* aumentou a frequência cardíaca, diminuiu a fração de ejeção e de encurtamento sistólico. Não foram observadas alterações eletrocardiográficas, laboratoriais ou anátomo-histopatológicas.

Palavras-Chave: *M. rigida*, ovinos.

ABSTRACT

The objectives of this research were to identify chemical groups of toxicological relevance in *M. rigida*, to study the microscopic characteristics of its leaves and stem, to verify if sheep is susceptible to intraruminal administration of *M. rigida* and to assess the clinical, electrocardiographic, echocardiographic and clinicopathological effects. Fifteen male Santa Inês sheep, divided in three groups, were used: G1 – treated with water; G2 – treated with *M. rigida* (20 g/kg/day) for three days; G3 – treated with *M. rigida* (20 g/kg/day) for seven days. All treatments were administered by an orogastric tube. Polyphenols, tannins, flavonoids, saponins and quaternary alkaloids were detected on the phytochemical analyses. The following anatomical characteristics were identified in *M. rigida* leaves: polygonal adaxial cells, sinuous abaxial cells, anomocytic stomata; mesophyll built as single layer of elongated adaxial cells, palisade parenchyma in single layer, lacunous stratified parenchyma; central vein containing crystals, and arch shaped vascular system. The characteristics of *M. rigida* stem were: small and square shaped epidermic cells; thickened collenchyme cells, and stratified parenchyma; lignified secondary phloem, radial xylem. *M. rigida* produced clinical signs such as depression, exercise intolerance, and pollakuria. One sheep had sudden death during exercise. *M. rigida* administration produced an increase in heart rate, a decrease in fractional ejection, and fractional shortening. No electrocardiographic or clinicopathological changes were detected.

Key words: *M. rigida*, sheep.

1. INTRODUÇÃO

Muitas plantas consideradas tóxicas para ruminantes fazem parte da flora de pastagens naturais. Embora essas plantas sejam consideradas, de maneira geral, pouco palatáveis, muitas delas podem ser ingeridas acidentalmente com a pastagem ou mesmo voluntariamente no período da seca, quando há escassez de alimentos.

Embora seja difícil calcular o prejuízo causado por essas plantas, acredita-se que ele seja significativo. Riet-Correa & Medeiros (2001), estimam que morram anualmente entre 800.000 e 1.120.000 de bovinos, por ação de plantas tóxicas no Brasil.

Atenção especial tem sido dada às plantas que causam intoxicação aguda, quando a morte é precedida apenas por um breve período de sinais clínicos. Elas têm sido agrupadas como plantas que causam “morte súbita”. Esse tipo de intoxicação desperta grande interesse devido à forma como os casos se apresentam, sobrevivendo a morte em curto período de tempo após o início dos sinais clínicos e muitas vezes envolvendo grande número de animais. Além disso, pouco se sabe sobre seus princípios tóxicos, o modo como agem nos animais e quais outras espécies podem ser acometidas, além da bovina.

No Brasil existem cerca de doze espécies destas plantas, dentre elas destacam-se as do gênero *Mascagnia* (Malpighiaceae), (Gava et al., 1998; Tokarnia et al., 2000). Essas espécies formam o grupo de plantas tóxicas mais importante e mais numeroso do Brasil, que segundo estimativas, é responsável por 60% das mortes em bovinos. As plantas deste grupo causam intoxicação superaguda e não são encontradas alterações significativas à necropsia. Os animais, aparentemente saudáveis, caem quando movimentados, morrendo em questão de minutos (Tokarnia et al., 1990). Segundo esses mesmos autores o quadro clinicopatológico causado por essas plantas, sugere que elas possuem princípios tóxicos que interferem no funcionamento do coração e resultam em insuficiência cardíaca aguda fatal.

A toxicidade de plantas do gênero *Mascagnia* (Malpighiaceae) é relatada desde a década de 40

(Rocha & Silva, 1940). Segundo relatórios produzidos pela Embrapa Gado de Corte (Nunes, 2001), *Mascagnia* é considerada atualmente, uma das mais importantes plantas invasoras das pastagens cultivadas nos cerrado da região centro-oeste do Brasil, região importante na crescente expansão da pecuária extensiva para atender a demanda nacional e internacional. Torna-se evidente o grande potencial dessa planta para causar prejuízos na atividade pecuária.

Entre as plantas do gênero *Mascagnia* consideradas tóxicas para os animais domésticos, a espécie *M. rigida* Griseb (*Malpighiaceae*), ainda não foi devidamente estudada.

Com relação às espécies ruminantes afetadas, os casos naturais têm sido relatados somente em bovinos e, experimentalmente, a intoxicação também ocorreu em caprinos (Paraguassú, 1983; Pinheiro et al., 1996), entretanto, no momento em que a ovinocultura se encontra em expansão em nosso estado, é necessário pesquisar se ovinos também são sensíveis à intoxicação por *M. rigida* Griseb, tendo em vista que seus hábitos de pastejo se assemelham aos dos bovinos (Leite, 2005).

Apesar de ser considerada uma planta que causa morte súbita devido a lesões cardíacas, até o momento não foram realizados estudos sobre a função cardíaca para confirmar esta afirmação, além do que não se conhece com precisão, quais os principais constituintes químicos presentes em suas folhas.

Esta pesquisa teve por objetivo principal estudar a sensibilidade da espécie ovina à intoxicação por *M. rigida* e, principalmente, seus efeitos sobre a função cardíaca, através das análises eletrocardiográficas e ecoDopplercardiográficas. Foram avaliadas ainda as alterações clínicas e realizados exames laboratoriais (hematológicos e bioquímicos séricos). Também se realizou um estudo fitoanatômico e fitoquímico, objetivando identificar as características anatômicas da planta e os principais grupos de constituintes ativos presentes em suas folhas.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Segundo Tokarnia et al., (2000), até o momento, cinco espécies de *Mascagnia* já foram relatadas no Brasil como sendo tóxicas. Todas elas são arbustos escandentes conhecidos também como cipós e tem frutos alados sob forma samaróide. Possuem o sistema radicular bem desenvolvido e ocorrem, preferencialmente, em terras férteis. Os animais ingerem as folhas destas plantas em qualquer época do ano, porém a intoxicação é mais frequente quando as plantas estão em brotação, o que as torna mais tenras e macias. Como têm sistema radicular muito desenvolvido, essas plantas brotam muito rapidamente depois das primeiras chuvas ou após as queimadas, favorecendo o aparecimento dos casos de intoxicação nessas épocas. Com base nos sinais clínicos e achados histopatológicos, considera-se que todas têm as mesmas propriedades tóxicas, que afetam os tecidos cardíacos causando a morte do animal, supostamente por insuficiência cardíaca aguda. O início dos sinais de intoxicação é súbito, animais, aparentemente saudáveis, morrem rapidamente. Geralmente os animais são encontrados mortos sem terem apresentado sinais de intoxicação. À necropsia geralmente não são encontradas lesões.

2.1. ESPÉCIES TÓXICAS DE *Mascagnia* NO BRASIL

2.1.1. *Mascagnia pubiflora* (Juss.) Griseb.

É uma das *Mascagnia* spp. tóxicas mais importantes no sul da região Centro-Oeste (Mato Grosso do Sul) e áreas vizinhas (Goiás, Minas Gerais e São Paulo), sendo mais conhecida popularmente pelos nomes de “corona” e “cipó prata”. É provavelmente uma das primeiras espécies a serem foram estudadas (Rocha & Silva, 1940; Fernandez & Macruz, 1964; Saad et al., 1970; Tokarnia & Döbereiner, 1973; Parreira, 1980; Döbereiner et al., 1986).

As primeiras suspeitas de intoxicação e experimentos envolvendo a *M. pubiflora* ocorreram na década de 40 (Rocha & Silva, 1940). Esses pesquisadores, baseando em relatos de criadores, intoxicaram experimentalmente cobaias com folhas de uma planta suspeita de causar morte em bovinos no Estado de Mato Grosso e noroeste do Estado de São Paulo, identificada posteriormente como *Mascagnia pubiflora*, e causaram a morte dos animais após 4 horas da administração da planta.

Posteriormente, na década de 60, outros trabalhos vieram a confirmar a importância de *M. pubiflora* como planta causadora de morte súbita. Fernandes & Macruz (1964) realizaram importante experimento com *M. pubiflora* em bovinos, caprinos, eqüinos, coelhos e cobaias. Dos seis bovinos que receberam a planta, três animais morreram, e esses resultados permitiram verificar que a ingestão de 4g por quilo de peso vivo levava o animal a morte em aproximadamente 24 horas. A planta, no entanto, não foi tóxica para um eqüino e um caprino que também receberam a planta. Para coelhos e cobaias a planta foi administrada por via oral, na forma de extrato aquoso obtido mediante a trituração da planta em solução fisiológica e posteriormente filtrada em gaze, causando a morte dos animais. Os autores concluíram ainda que, principalmente, a brotação é mais tóxica para bovinos, e que a planta perdia sua toxicidade pela secagem natural ou quando seus extratos eram fervidos.

Na tentativa de elucidar quais seriam os constituintes secundários presente em *M. pubiflora* e os seus efeitos tóxicos, Saad et al. (1970) conduziram os primeiros estudos químicos com a planta. Foram analisados os extratos das folhas e dos frutos de acordo com os recursos laboratoriais da época e testados esses extratos em cobaias. Os resultados não permitiram aos autores determinar a composição da fração tóxica, limitando apenas a sugerir a ausência de alcalóides, bem como a não exclusão de glicosídeos biologicamente ativos, que por suas supostas propriedades químicas especiais, não foram demonstrados na pesquisa.

Tokarnia & Döbereiner (1973) identificaram *M. pubiflora* como causa importante de mortandades em bovinos no sul do Estado de Mato Grosso e determinaram que a dose tóxica variava de 5 a 20g/kg/p.v de folhas frescas, levando os animais à morte súbita, com um final dramático, após breve período de sinais clínicos, que consistiram, principalmente, em relutância em se levantar, andar rígido, tremores musculares e movimentos de pedalagem. Esses autores verificaram ainda, que a planta não causava tolerância ou efeito acumulativo nos animais, mas que a morte poderia ser precipitada pelo exercício físico.

M. pubiflora foi utilizada nas pesquisas com bovinos realizadas por Parreira (1980). O autor

administrou por via intravenosa, extratos alcoólicos da planta, colhida em três épocas diferentes e comparou com os resultados da administração de 5 e 10 g/kg/p.v. das folhas da planta, por via oral. Nenhum dos animais que recebeu os extratos morreu. No entanto, os animais que receberam as folhas da planta na dose de 10g/kg/pv. morreram de forma súbita, entre 20 e 48 horas após a administração. Não foram realizados testes para identificar quais grupos químicos estariam presentes nesses extratos, mas os resultados permitem concluir que sua preparação pode não ter sido adequada para manter o princípio tóxico da planta em quantidade suficiente para causar intoxicação.

Döbereiner et al. (1986) realizaram experimento com folhas e frutos dessecados de *M. pubiflora*, administrando em coelhos, através de sonda gástrica após o material ter sido finamente moído. Os autores concluíram que o coelho é sensível à intoxicação, tanto pelas folhas quanto pelos frutos e que poderia ser utilizado como modelo experimental, para realizar novos estudos sobre essa planta.

Nascimento (1995) isolou glicosídeos flavonóides das folhas dessecadas de *M. pubiflora*. O extrato metanólico analisado, repetidamente através de cromatografia, revelou a presença das substâncias quercetin-3-*o*-rutinosídeo, quercetin-3-*o*-galactosídeo, caempferol-3-*o*-rutinosídeo e caempferol-3-*o*-galactosídeo, entretanto, este mesmo autor concluiu que estes compostos não representam os princípios tóxicos da planta.

2.1.2. *Mascagnia affinis rigida*

Outra espécie do gênero *Mascagnia* que também foi incriminada como sendo causa de mortes súbitas em bovinos no norte do estado do Espírito Santo (Tokarnia et al., 1985b). Esta espécie foi identificada como sendo *Mascagnia aff. rigida*, devido a diferenças vegetativas da planta no campo e também por ela ter sido experimentalmente mais tóxica do que *M. rigida* e com pequeno efeito acumulativo. Estes autores realizaram vários experimentos, tanto com as folhas frescas quanto dessecadas, em doses únicas ou repetidas e concluíram que é uma espécie muito mais tóxica do que a *M. rigida*, causando a morte dos animais com doses de até 0,6g por quilo de peso vivo. Estes mesmos

autores também testaram esta planta em coelhos (Tokarnia et al., 1985a) e verificaram que esta espécie também foi sensível e poderia ser utilizada para novos estudos.

Um dos mais importantes experimentos do ponto de vista fitoquímico realizados com a *Mascagnia aff. rigida* foi realizado por Nascimento e Habermehl (1995). Esses pesquisadores analisaram o extrato metanólico das folhas desta espécie, com finalidades terapêuticas para a medicina humana, e relataram a presença de compostos fenólicos. Os principais compostos relatados foram duas nafto- γ -pironas. Entretanto, esses autores não realizaram estudos com animais, para a verificação da relação entre esses compostos e os efeitos tóxicos da planta.

2.1.3. *Mascagnia elegans*

As referências sobre essa espécie de *Mascagnia* são escassas. Segundo Tokarnia et al. (2000) sua distribuição é limitada a uma pequena região do estado de Pernambuco e, sob condições naturais, intoxica apenas bovinos.

2.1.4. *M. rigida* (A. Juss.) Griseb.

É a espécie mais conhecida, mais difundida e mais importante em Minas Gerais, principalmente no norte e nordeste do Estado, onde é conhecida popularmente como “salsarosa” e “suma-roxa”. Também ocorre em grande parte da região Nordeste do Brasil, principalmente no Ceará onde é conhecida popularmente como “tingui” e “timbó”. Nesta região, essa planta já foi considerada uma das mais freqüentemente apontada, pelos criadores, como sendo tóxica para o gado (Tokarnia et al., 1961).

Tem a seguinte descrição botânica: Liana. Folhas elípticas, levemente apiculadas, glabras, areolado-venosas, pecioladas, o segundo par de nervuras secundárias ocasionalmente com glândulas na face abaxial; inflorescências em racemos axilares ou terminais, pubéculos; pedicelos articulados na metade proximal do comprimento; bractéolas duas, ovado-lanceoladas; cálice com oito glândulas; pétalas amarelas, subinteiras, a lâmina brevemente obovado-oblonga, pilosa na face abaxial; sâmaras pubéculas, arredondado-trapeziformes,

com alas laterais distintas e crista dorsal breve (Grisebach, 1858).

M. rigida é uma planta do agreste e do sertão, mas ocorre sobretudo nos locais mais frescos. Sob condições naturais intoxica apenas bovinos, entretanto, a intoxicação foi reproduzida experimentalmente em caprinos (Pinheiro et al., 1996; Paraguassú, 1983) e coelhos (Tokarnia et al., 1987).

Segundo Tokarnia et al. (2000) os bovinos ingerem as folhas de *M. rigida* indiscriminadamente, em qualquer época do ano, mas a intoxicação ocorre principalmente na época da seca. Entretanto é necessário ressaltar que isso pode ser verdade apenas em parte, pois no período de seca propriamente dita, geralmente a planta se torna amarelada, suas folhas, em grande parte, caem no solo. Provavelmente a fase mais crítica para os animais se intoxicarem é durante a fase de brotação, na qual ela é mais tóxica. Isso ocorre durante as primeiras chuvas, quando as pastagens ainda não brotaram, mas que esta planta já está com grande quantidade de brotos, devido ao seu sistema radicular muito desenvolvido. A brotação também pode ocorrer após as queimadas, também considerado um período de maior número de casos.

Fato interessante relatado pelos criadores e por Tokarnia et al. (1961), é que os bovinos ingerem a planta e não apresentam sinais clínicos a menos que sejam exercitados. 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 retirados da pastagem com cuidado, sem provocar muito esforço físico, para outro local próximo onde a planta não esteja presente, os animais podem se desintoxicar em cerca de duas semanas, após esse período, os bovinos poderiam ser movimentados normalmente, sem apresentarem sinais de intoxicação.

Ainda segundo Tokarnia et al. (2000), os experimentos com *M. rigida* têm apresentado resultados muito variados e ainda não se conseguiu determinar sua dose tóxica. Nos experimentos realizados por esses autores, 50g/kg/p.v., em dose única, foi capaz de matar um bovino, mas outro animal sobreviveu com uma dose de 94g/por quilo de peso vivo. Em

outro experimento com doses repetidas, um bovino que ingeriu apenas 5g por quilo de peso vivo, durante tres dias, teve morte súbita enquanto outro que ingeriu a mesma quantidade por 30 dias consecutivos, não demonstrou sinais clínicos da intoxicação. Nesses experimentos os autores não conseguiram demonstrar que a movimentação dos animais, seja um fator capaz de desencadear a morte dos animais.

Santos (1975) administrou diariamente, durante 30 dias, as folhas e frutos de *M. rigida*, provenientes do município de Pedra Azul, Minas Gerais, em diferentes estagios de maturação, por via oral, na dose de 4g/kg/p.v. para doze bovinos. Dos cinco bovinos que receberam a planta madura apenas um morreu no 17^o dia, enquanto que dos cinco animais que receberam a planta em brotação, apenas dois morreram no quinto e 13^o dia. O autor observou presença de muco nas fezes e polaciúria. As mortes foram de forma súbita, sempre precedida por queda, tremores musculares e movimentos de pedalagem. Os autores observaram ainda albuminúria, aumento de aspartato-aminotransferase e fosfatase alcalina, entretanto os níveis de cálcio e fósforo, bem como os valores do eritrograma não se modificaram. O autor concluiu que os exames laboratoriais não foram suficientes para caracterização de um quadro de intoxicação.

Experimentos com caprinos foram realizados por Paraguassú (1983). Esse autor também relatou grande variação na dose capaz de intoxicar esta espécie, sendo que a menor dose capaz de intoxicar esta espécie foi de 20g/kg/p.v., mas que outro caprino, que recebeu 41,5g/kg/p.v., não apresentou sinais clínicos. Esse autor observou que a movimentação dos animais contribuiu para o aparecimento do quadro tóxico.

Batatinha et al. (1988) estudaram os efeitos dos extratos de *M. rigida* em animais de laboratório. Amostra 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 utilizada de 4mg/kg/p.v. não foi capaz de produzir intoxicação nos ratos, camundongos, cobaias ou nos 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 coletadas no estado da Bahia foram colhidas de plantas somente com folhas maduras, mais velhas, enquanto que as amostras do estado do Ceará eram provenientes de plantas em plena brotação.

Pereira et al. (1997) também realizaram experimento com caprinos utilizando *M. rigida* proveniente do estado do Ceará. Os animais foram divididos em grupos, que receberam doses de 5, 10, 15 e 20g/kg/p.v. Apenas as doses de 10, 15 e 20g induziram a morte de todos os animais, sobretudo, quando eram exercitados. Os principais sinais clínicos observados foram: atonia ruminal, timpanismo, polaciúria, apatia, tremores musculares, relutância em caminhar, queda, decúbito esterno-abdominal, decúbito lateral, vocalizações, movimentos de pedlagem e morte.

Recentemente Medeiros et al. (2002), relataram um surto de morte súbita na região do agreste do estado da Paraíba, onde em um rebanho de 129 vacas, 40 animais apresentaram sinais de intoxicação, sendo que 20 vacas morreram e 20 sobreviveram. Os autores verificaram a presença da *M. rigida*, colheram as folhas e administraram em coelhos, nas doses de 1,25 a 5g/kg/p.v., observando a morte dos animais logo após a administração da planta. 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/p.v, o que causou a morte de apenas um animal e que recebeu a maior dose. Através destes experimentos eles concluíram que a *M. rigida* era a causa da morte das vacas na primeira propriedade mas, por outro lado, demonstraram, mais uma vez, a grande variação da toxicidade da planta.

2.2. ELETROCARDIOGRAMA

O coração é especificamente afetado por várias plantas de importância toxicológica em ruminantes. Estas incluem grande variedade de plantas, de várias famílias, que possuem glicosídeos cardíacos, fluoroacetato e constituintes que causam miocardite, insuficiência cardíaca congestiva e morte súbita (Schultz et al., 1972).

O eletrocardiograma é considerado um método auxiliar de avaliação do sistema circulatório. É um exame que fornece um registro gráfico da diferença de potencial variável, que ocorre sobre a superfície do corpo, como resultado da atividade elétrica dentro do coração, associada à despolarização e à repolarização do miocárdio. A diferença de potencial na superfície do corpo é a soma dessa atividade e, em qualquer instante, a atividade elétrica no coração registra como um único vetor dipolar, que tem polaridade, magnitude e direção (Radostitis et al., 2000).

A polaridade é determinada pela carga sobre a superfície das células, enquanto a magnitude e a direção são determinadas pela massa muscular, que está sendo despolarizada ou repolarizada, e a soma dos vetores (Radostitis et al., 2000).

As principais indicações do seu uso são: mensurar a frequência cardíaca, registrar e avaliar o ritmo cardíaco e detectar, registrar, analisar e caracterizar 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).

Existe uma grande quantidade de informações sobre normalidades e anormalidades registradas no eletrocardiograma de pessoas, mas somente um número limitado de estudos tem sido realizado em animais domésticos, e a maioria desses trabalhos se resume a estudos no cão e no equino. Entretanto, os ovinos são pequenos ruminantes que oferecem uma série de vantagens para uso em pesquisa: são de fácil disponibilidade, possuem tamanho adequado para obtenção de amostras e podem ser mantidos a baixo custo em instalações simples. Apesar disso, a bibliografia relativa aos padrões e técnicas eletrocardiográficas nesta espécie ainda é escassa (Tório et al., 1997; Mir et al., 2000).

Um dos primeiros estudos eletrocardiográficos em ovelhas foi realizado por Schultz et al. (1972). Esses autores tiveram como objetivo estudar os padrões normais do registro eletrocardiográfico na espécie ovina. Foram utilizadas 31 ovelhas merino, das quais foram

obtidos registros eletrocardiográficos nas derivações I, II, III, aVR, aVL e aVF e estudadas a frequência cardíaca, a amplitude e duração das ondas P e T e o complexo QRS. A frequência cardíaca variou de 60 a 197 e a média de duração dos intervalos PR, QRS e QT foram: 0,102, 0,046 e 0,262 segundos, respectivamente. Entretanto, os autores concluíram que houve uma grande variação individual, sobretudo na onda T.

Tório et al. (1997) estudaram os parâmetros eletrocardiográficos basais em 37 ovelhas da raça galega. Estes autores utilizaram a derivação DII, para medir e estudar a amplitude e duração das ondas P e T, o complexo QRS, os intervalos PR, RR, QT, o segmento ST, a frequência e o ritmo cardíaco. Concluíram que houve grande variabilidade na morfologia do complexo QRS, a onda P foi presente e positiva em 100% dos casos, mas a onda T variou podendo ser positiva (71,9%) ou bifásica (28,1%); o intervalo QT teve duração média de 0,262 segundo e a frequência cardíaca média foi de 119 batimentos por minuto.

2.2.1. Estudos eletrocardiográficos na intoxicação por plantas em ovelhas

Em alguns estudos com plantas tóxicas em ovelhas têm sido utilizados registros eletrocardiográficos para avaliar seu efeito sobre a condução no tecido cardíaco (Aslani et al., 2004; Botha et al., 1997; Van Der Walt et al., 1990; Schultz et al., 1972).

Aslani et al. (2004) administraram, através de sonda gástrica, folhas secas e trituradas de *Nerium oleander*, planta tóxica que possui além de glicosídeos cardíacos, substâncias como glicosídeos cianogênicos que liberam cianetos e outros, como substâncias semelhantes à estricnina, a seis ovinos machos de um a treze meses de idade, com 25 a 30 Kg e realizaram registros eletrocardiográficos. Cinco ovelhas morreram após a administração da planta e apresentaram bradicardia e taquicardia sinusal, arritmia sinusal, bloqueio A-V de primeiro e segundo grau, depressão no segmento ST e finalmente fibrilação ventricular. Entretanto, apesar de ter recebido a mesma dose da planta, uma ovelha sobreviveu apresentando apenas sinais moderados de intoxicação e nenhuma alteração no eletrocardiograma.

Botha et al. (1997) avaliaram os efeitos do glicosídeo cardíaco cotiledosídeo, isolado de *Tyledocon wallichii* (Harv.), no funcionamento cardíaco de ovelhas da raça merino. Os animais apresentaram os sinais típicos da intoxicação caracterizados por tremores, paresia e decúbito. Entretanto, nenhuma anormalidade eletrocardiográfica foi detectada durante o experimento e os autores concluíram que o cotiledosídeo, nas condições do experimento, não afetou a atividade elétrica do coração.

Van Der Walt et al. (1990), estudaram os efeitos da fração tóxica da *Pachistigma pygmaeun* (Rubiaceae), planta tóxica causadora de morte súbita em ovelhas. Vinte e oito ovelhas foram utilizadas no experimento e as mudanças no segmento ST, no eletrocardiograma, foram utilizadas como indicadores de isquemia aguda do miocárdio. Os autores concluíram que a fração tóxica causou significativas mudanças na função cardíaca, traduzidas por extra-sístoles ventriculares e aumento na amplitude das ondas T registradas no eletrocardiograma e concluíram, que a causa das mortes que ocorrem em algumas ovelhas, de forma súbita, e por isso chamada de “doença rápida”, pode ser devido à isquemia do miocárdio associado a arritmias.

Schultz et al. (1982), estudaram os efeitos do fluoroacetato no eletrocardiograma de ovelhas. Os autores utilizaram 17 ovelhas merino, que receberam o fluoroacetato em vários níveis de dosagem através de sonda estomacal. Em seguida foram realizados registros eletrocardiográficos para confirmar o aparecimento de arritmias, redução da amplitude da onda T, prolongamento do intervalo PR e finalmente fibrilação ventricular, alterações relatadas como sendo associadas à intoxicação por plantas que contêm esse princípio tóxico. Os autores verificaram que as alterações no eletrocardiograma ocorreram naqueles ovinos que apresentaram sinais de intoxicação aguda, mas houve uma grande variação nos casos subagudos e nenhuma alteração eletrocardiográfica ocorreu num dos animais. Os autores concluíram, que as alterações no registro eletrocardiográfico, em casos de intoxicação por fluoroacetato, podem não ser consideradas específicas para o diagnóstico, apesar de serem úteis em casos de pesquisa para avaliar os sinais de distúrbio cardíaco.

No Brasil, o único estudo eletrocardiográfico envolvendo o gênero *Mascagnia* foi realizado por Saad et al. (1970), que conduziram os primeiros registros eletrocardiográficos com a *M. pubiflora*, administradas a duas cobaias. Uma cobaia não apresentou qualquer alteração no traçado, porém a segunda apresentou sinais de intoxicação, manifestados por alterações no perfil da onda T, considerado pelos autores como similar a um coração isquêmico sendo que, em seguida, apresentou um traçado compatível com lesões no miocárdio. O complexo QRS apresentou aumento na onda Q, aumento na onda S e supra-segmento T, sendo que o coração entrava em fibrilação assim que a convulsão se iniciava. Próximo da morte, os animais diminuíram os batimentos cardíacos de 300 para 220.

2.3. ECODOPPLERCARDIOGRAMA

Ecocardiografia é o termo utilizado para o estudo da ultra-sonografia cardíaca. Essa técnica tem sido muito utilizada para estudar o coração e as doenças cardíacas. Animais são frequentemente utilizados nas pesquisas e experimentos na medicina humana (Dodíc et al., 2001; Charles et al., 2003; Moainie et al., 2002ab; Devlin et al., 2000), mas não há muitos trabalhos com objetivos exclusivos para estudos em cardiologia veterinária, sobretudo com a espécie ovina (Moses & Ross, 1987; Kirberger & Van Den Berg, 1993; Pretorius et al., 1988;).

Segundo Boon (1998) o estudo ecoDopplercardiográfico é um método dinâmico, não invasivo e não ionizante, para avaliação da função cardíaca. Ele permite obter dados sobre tamanho das câmaras e demais estruturas cardíacas, bem como informações hemodinâmicas.

2.3.1. Estudos ecoDopplercardiográficos em ovelhas

Na medicina veterinária um dos primeiros estudos ecocardiográficos em ovelhas, foi realizado por Moses e Ross (1987), com objetivo de estabelecer valores normais para a espécie. Os autores gravaram ecocardiogramas, modo-M, de 21 ovelhas e compararam os 15 parâmetros obtidos com o peso corporal e a frequência cardíaca, utilizando equações de regressão linear. Os autores mediram, durante a sístole e a

diástole, o diâmetro interno dos ventrículos esquerdo e direito, a espessura do septo, a espessura da parede ventricular, a fração de ejeção e a fração de encurtamento e obtiveram os valores que consideraram normais para a espécie, levando em conta o peso dos animais e a frequência cardíaca. Finalmente concluíram que os parâmetros funcionais são geralmente similares a outras espécies, mas que alguns parâmetros podem ser influenciados pela taxa cardíaca e, principalmente, pelo tamanho corporal dos animais.

Em estudos para medicina humana Dodíc et al. (2001) avaliaram, através da ecocardiografia, a redução na reserva funcional cardíaca e hipertrofia ventricular esquerda, utilizando ovelhas adultas. Para isso, tiveram que formar um grupo controle, contribuindo assim para o estabelecimento dos valores normais para a espécie. Os autores utilizaram seis animais de sete anos de idade e os valores obtidos foram: 349 ± 40 milímetros para o diâmetro interno do ventrículo esquerdo na diástole, 257 ± 49 milímetros para o diâmetro interno do ventrículo esquerdo na sístole, 106 ± 15 milímetros para a espessura do septo na sístole e 91 ± 18 milímetros para a espessura do septo na diástole. A fração de encurtamento foi de 42 ± 12 , porém foi obtida em animais anestesiados.

Charles et al. (2003) utilizaram ovelhas em suas pesquisas para medicina humana, com a finalidade de verificar o efeito de peptídeos natriuréticos na manutenção da homeostase do sódio durante o pós infarto de miocárdio. Os autores utilizaram seis ovelhas como grupo controle e verificaram que a fração de ejeção normal foi de $48,5 \pm 1,4$.

Moainie et al. (2002b) avaliaram o ovino como modelo para pós-infarto na cardiomiopatia dilatada. A fração de ejeção inicial nos animais foi de $41,15 \pm 6,68$ que, após o infarto, aumentou para $44,53 \pm 14,65$, porém na segunda semana diminuiu para $33,78 \pm 4,38$ e na terceira semana foi de $27,98 \pm 11,75$.

Devlin et al. (2000) também utilizaram a espécie ovina como modelo para estudar a insuficiência cardíaca. Os parâmetros utilizados por estes autores para confirmar o sucesso do modelo foram a fração de ejeção e segmento ST. A

fração de ejeção inicial foi de 68% e, após o infarto, diminuiu para 33% e houve elevação do segmento ST.

2.3.2. Estudos ecoDopplercardiográficos na intoxicação por plantas em ovelhas

Com relação ao uso do ecocardiograma para estudos com plantas tóxicas a literatura é escassa. Pretorius et al. (1988) estudaram a correlação entre o ritmo de galope em ovelhas intoxicadas por *Pachystigma pygmaeum* (Schltr) Robyns, com as mudanças em amplitude com parâmetros hemodinâmicos. Os autores utilizaram oito ovelhas da raça merina, às quais administraram, por fistula ruminal, folhas de *P. pygmaeum* até que os sinais clínicos de insuficiência cardíaca fossem observados. Foram registrados os parâmetros hemodinâmicos, entretanto as medidas das câmaras cardíacas em sístole e diástole, assim como as frações de encurtamento e de ejeção não foram estudadas.

2.4. ESTUDO FITOQUÍMICO

Estudos fitoquímicos são de grande interesse para a ciência, especialmente porque as plantas possuem metabólitos secundários. Considerados produtos finais do metabolismo, estes metabólitos não são utilizados para nutrição, mas têm importância para as plantas que os sintetizam, pois podem fornecer proteção contra o ataque de microrganismos patogênicos, sendo que alguns possuem atividade farmacológica, outros são considerados tóxicos para o homem ou animais ou simplesmente considerados fatores antinutricionais (Silva et al., 2005). Questões demográficas e, conseqüentemente, variáveis ambientais como fatores meteorológicos (umidade relativa, radiação solar, ângulo solar zenital, sazonalidade, temperatura, pluviometria), assim como fatores agro-químico-físicos (razões macro e micronutrientes do solo e fertilidade), podem afetar a produção destas substâncias. Fatores como a longevidade da planta e a sazonalidade durante a amostragem, para realização de estudos sobre suas atividades farmacológicas ou tóxicas, podem implicar em variações das concentrações dos diferentes princípios ativos de interesse (Silva et al., 2005; Botha et al., 2001). Entre os principais constituintes químicos detectáveis através de análises fitoquímicas estão: ácidos graxos, alcalóides, bases quaternárias, catequinas,

chalconas, eteróides, fenóis simples, flavonas, flavonóides, glicerina, quinonas, resinas, saponinas, taninos catéquicos triterpenóides e xantonas (Silva et al., 2005).

Excelentes revisões e artigos sobre compostos secundários de plantas podem ser encontrados na literatura (Ramos et al., 1998; Makkar, 2003, Silva et al., 2005). Entretanto, a grande maioria dos estudos realizados está voltada para as possíveis atividades farmacológicas destas substâncias para uso na medicina humana (Wang et al., 2004), para controle alternativo de pragas e doenças na agricultura (Bettioli et al., 2005; Moreira et al., 2005). Enquanto que na zootecnia muitas plantas de interesse para alimentação animal têm seus constituintes estudados, principalmente por suas possíveis atividades antinutricionais (Bhat et al., 1998).

Na medicina veterinária a fitoquímica também tem sido estudada em plantas presentes em áreas de pastagem e que podem ser consumidas pelos animais, sobretudo quando estas plantas são suspeitas de produzirem efeitos tóxicos (Burke e Carrigan, 1982; Botha et al., 2001; Pfister et al., 2001) e também extratos brutos de plantas tem sido popularmente testados, empiricamente, para controle alternativo de ecto e endo parasitas dos animais domésticos.

Outras espécies de *Mascagnia* já foram estudadas, entretanto, no que se refere especificamente à *M. rigida* Griseb, nenhum trabalho foi encontrado na literatura, em relação aos seus constituintes fitoquímicos, e o seu princípio tóxico permanece desconhecido (Tokarnia et al., 2000).

2.5. ESTUDO FITOANATÔMICO

O conhecimento da anatomia de uma planta é basicamente utilizado nos estudos de sistemática vegetal, para diferenciação botânica ou para classificação taxonômica de novas espécies. Os estudos microscópicos geralmente são realizados em todas as partes da planta; caule, raiz, folha, flor, fruto, através de microtécnicas apropriadas para estudos com vegetais. Este tipo de pesquisa é específico para estudos botânicos (Oliveira e Akisue, 2000), entretanto tem sido utilizada por alguns pesquisadores (Griess & Rech, 1997; Schiessl et al., 1997), na medicina veterinária como auxílio diagnóstico em casos de suspeita

de intoxicação por plantas, através da análise dos resíduos vegetais encontrados no sistema digestivo dos animais intoxicados.

Griess & Rech (1997), diagnosticaram intoxicação aguda ocorrida em eqüinos por *Ranunculus acris* L. e *Ficaria ranunculoides* L. utilizando a fitoanatomia. Os autores examinaram, microscopicamente, o conteúdo estomacal de dois cavalos que morreram e estavam em pastagem onde havia uma grande quantidade de ranúnculo e identificaram as referidas espécies desta planta naquele conteúdo.

Schiessl et al. (1997) estudaram vinte e cinco amostras de conteúdo estomacal e intestinal de animais intoxicados, principalmente cavalos e ruminantes. Em nove casos ficou comprovada a presença de plantas tóxicas através do exame microscópico das estruturas vegetais. Entretanto, os autores relataram que este método, apesar de poder ser de utilidade para elucidar casos de intoxicação, apresenta muitas dificuldades devido à grande complexidade da composição do conteúdo estomacal dos herbívoros, no qual a planta tóxica pode estar presente apenas em pequena quantidade. Além disso, seria necessária uma boa coleção de amostras preparadas para comparação, além do que as amostras colhidas nos animais podem se deteriorar facilmente.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho compreendeu o estudo fitoquímico, realizado no Departamento de Fitoquímica da Escola de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG); o estudo fitoanatômico, realizado no Departamento de Botânica do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG; e a intoxicação experimental, desenvolvida no Hospital Veterinário da Escola de Veterinária da UFMG. O projeto de pesquisa foi submetido e aprovado no Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFMG (CETEA), sob o protocolo número 032/05.

Foram utilizadas amostras da *M. rigida* (Griseb.) em estado fresco, colhidas diariamente durante o mês de junho de 2005, no canteiro de Plantas Tóxicas da Escola de Veterinária da UFMG, município de Belo Horizonte, Minas Gerais, com altitude aproximada de 800 metros e temperatura média anual de 21° C. Amostras da planta (fig. 1) foram enviadas ao Departamento de Botânica da UFMG e identificadas como sendo *M. rigida* (A. Juss.) Griseb. (Malpighiaceae). Uma exsicata de referência foi depositada no Herbário de Botânica - ICB – UFMG sob o número BHCB 100819.



Figura 1 – *M. rigida* Griseb, frutos e partes utilizadas para caracterização da planta

3.1. ESTUDO FITOQUÍMICO

Para contribuir com a elucidação dos princípios tóxicos contidos em *M. rigida* Griseb, amostras da planta utilizadas no experimento foram analisadas fitoquimicamente através de extração e marcha química analítica, para verificação qualitativa da presença de constituintes ativos.

Pesquisou-se heterosídeos antracênicos, heterosídeos flavônicos, heterosídeos sapônicos, heterosídeos cardiotônicos, polifenóis, taninos, alcalóides terciários e alcalóides quaternários, através dos métodos modificados por Dantas-Barros & Paiva (1988) e também de acordo com as técnicas descritas por Costa (1986). Cumarinas foram pesquisadas segundo Wagner et al., (1984). Todas as análises foram realizadas no laboratório de farmacognosia do Departamento de Fitoquímica da Escola de Farmácia da UFMG. Para cada grupo constituinte procederam-se as seguintes técnicas:

Para pesquisa de heterosídeos antracênicos aqueceu-se num tubo de ensaio, 2g das folhas picadas de *M. rigida* com 15 ml de ácido clorídrico a 4%, por 10 minutos em banho-maria. Filtrou-se depois de frio em algodão e agitou-se o filtrado em um funil de separação, com sete ml de éter etílico, separando a camada etérea em um tubo de ensaio e adicionando no fundo do tubo dois ml de hidróxido de potássio 0,5N. O teste é considerado positivo quando se desenvolve um anel rosa, que pode passar a vermelho-violeta, quando aquecido em banho-maria.

Para heterosídeos flavônicos foi colocado em um tubo de ensaio 2g das folhas picadas de *M. rigida* com 15 ml de metanol e aquecido por alguns minutos em banho-maria. Filtrou-se em papel depois de frio para uma cápsula e em seguida o material foi evaporado em banho-maria até a secura. Junto ao resíduo foram colocados 3 ml de solução de ácido bórico e 1 ml de ácido oxálico e evaporado novamente até secura. O novo resíduo foi dissolvido, depois de frio, em 10 ml de éter etílico. Se o resultado for positivo a solução adquire fluorescência amarelo-esverdeada, quando observada sob lâmpada ultravioleta.

Na pesquisa de heterosídeos sapônicos procedeu-se o seguinte: em um béquer foram colocados 15 ml de água destilada com 2g das folhas picadas da planta. Juntou-se, gota a gota, uma solução de

carbonato de sódio até a neutralização. Aqueceu-se até a fervura e filtrou-se em algodão depois de frio e transferiram-se 5 ml para um tubo de ensaio. Completou-se o volume para 10 ml com água destilada, agitou-se o tubo por 15 segundos e em seguida colocado em repouso para leitura. Após 15 minutos se ainda permanecer um anel de pelo menos 1 cm de altura o teste foi considerado positivo.

Para heterosídeos cardiotônicos três gramas de folhas picadas de *M. rigida* foram agitadas em um erlenmeyer com 20 ml de água destilada e mantido a temperatura ambiente por 2 horas. O líquido foi filtrado em um funil de separação e extraído com sete ml de clorofórmio. A camada clorofórmica foi tratada com quatro gotas de reativo de Kedde. Cor rósea forte ou violeta aparece nessa camada em presença desses compostos.

Para o teste para polifenóis e taninos dois gramas de folhas picadas de *M. rigida* foram aquecidas em um tubo de ensaio com 15 ml de água destilada por 10 minutos em banho-maria. A solução foi filtrada e dividida em dois tubos de ensaio: A e B. No tubo A foram adicionadas três gotas de cloreto férrico a 1%. No tubo B foram adicionados cinco ml de cloreto de sódio a 2% e posteriormente cinco ml de gelatina a 1%. A presença de cor verde-castanha no tubo A indica a presença de polifenóis e a formação de um precipitado denso no tubo B indica a presença de taninos.

Na pesquisa de alcalóides terciários e quaternários três gramas de folhas picadas de *M. rigida* foram tratadas com 20 ml de ácido clorídrico, em um béquer em banho-maria durante 15 minutos. A solução foi filtrada em papel de filtro, alcalinizada até pH 8-9 com carbonato de sódio 1M e extraída com 10 ml de clorofórmio. As duas camadas foram separadas. A camada aquosa foi tratada com ácido até pH 5 e então adicionado gotas de reagente de Dragendorff, para evidenciar a presença de alcalóides quaternários. A camada clorofórmica foi novamente extraída com 5 ml de ácido clorídrico e as duas camadas foram separadas. A nova solução aquosa obtida foi adicionada de gotas de reagente de Dragendorff, para evidenciar a presença de alcalóides terciários. A formação de precipitado na camada aquosa indica presença de alcalóides quaternários, e na

camada clorofômica indica presença de alcalóides terciários.

Para pesquisa de cumarinas aqueceu-se em banho-maria 2g de folhas picadas de *M. rigida* com 15 ml de metanol 70% e filtrou-se após esfriar. Dez ml do extrato foram transferidos para uma cápsula e evaporados em banho-maria até a secura. Retomou-se o resíduo com 10 ml de etanol e, com o auxílio de um tubo capilar, fez-se com o extrato etanólico duas manchas fortes de 1,5 cm de diâmetro em papel de filtro. Aplicou-se sobre as manchas, uma gota de solução alcoólica de hidróxido de potássio 1,0 mol/L. As manchas foram expostas à luz UV₃₆₆ e observadas se houve modificação na fluorescência da mancha alcalinizada. O desenvolvimento de fluorescência azulada forte, bem visível na mancha alcalinizada, indica a presença de cumarina. A cumarina não substituída apresenta fluorescência à luz UV somente após o tratamento com KOH. Os derivados de cumarinas são fluorescentes à luz UV e, por adição de KOH, essa fluorescência se intensifica.

Uma amostra de suspensão de folhas trituradas *M. rigida* preparada do mesmo modo que para administração aos animais foi submetida a análises químicas no Departamento de Química da UFMG para confirmação dos constituintes fitoquímicos. A suspensão foi analisada da seguinte forma: após a decantação a suspensão foi filtrada em papel de filtro a vácuo; o sobrenadante, um líquido marrom amarelado transparente e espumante, foi reduzido por 5 vezes por liofilização e fracionado por partição, isto é, extração por solventes. Os extratos obtidos foram analisados para a classe química principal pelo método de prospecção de constituintes químicos de extratos de plantas através de espectrometria de infravermelho (Matos, 1988).

3.2. ESTUDO FITOANATÔMICO

O estudo anatômico da planta compreendeu a descrição macroscópica observada em seu habitat e a descrição microscópica da folha, considerando-se as regiões da nervura central, terço médio e epiderme, segundo as técnicas descritas por Kraus e Arduin (1997). Estas análises foram realizadas no Departamento de Botânica do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG.

Para o estudo das estruturas do mesófilo, da nervura central e do caule, fragmentos de *M. rigida* com cerca de 1 cm², sadios foram cortados à mão livre, utilizando-se placa de isopor como apoio; os cortes foram feitos com lâmina e corados pelo safrablau, montados em lâmina e laminula e, em seguida fotografados. E para o estudo das epidermes, folhas jovens sadias da planta foram cortadas, maceradas, coradas pela fuccina e fotografadas.

3.3. INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL

Foram utilizados 15 ovinos Santa Inês, machos, clinicamente sadios, com idade média de sete meses e pesando em média, 27 Kg. Os animais vieram do mesmo rebanho, situado no município de Curvelo, Minas Gerais, onde se encontravam em regime de criação extensiva em pastagens naturais e cultivadas. Os ovinos foram mantidos em baias de alvenaria do Hospital Veterinário da Escola de Veterinária da UFMG e receberam alimentação constituída de forragem verde picada de capim elefante (*Pennisetum purpureum*), feno de gramínea, ração granulada comercial, sal mineral para ovinos em fase de crescimento e água à vontade.

Todos os ovinos receberam coccidiostático¹, endectoparasiticida² e ficaram em observação durante 15 dias. Nesse período os animais foram pesados e submetidos a exames clínicos diários, a testes bioquímicos, hematológicos, eletrocardiográficos e ecodopplercardiográficos, sendo considerados saudáveis por não apresentarem nenhuma alteração clínica durante estas avaliações.

Após esse período, os ovinos foram divididos aleatoriamente em três grupos de cinco ovinos. Cada grupo foi alojado em uma baia, sob as mesmas condições de alimentação citadas anteriormente. Os seguintes grupos experimentais foram estabelecidos:

Grupo 1: controle, receberam placebo (apenas água); G2: receberam 20 g/kg/p.v de folhas de *M. rigida*, durante três dias consecutivos e G3: receberam 20 g/kg/p.v de folhas de *M. rigida*, durante sete dias consecutivos.

¹ Coccifin – Lab. Ouro Fino

² Ivermectin - Lab. Merial

As folhas de *M. rigida* foram utilizadas em estado fresco, colhidas diariamente. As plantas que deram origem a este material vegetal eram plantas adultas e verificou-se que suas folhas estavam maduras. A quantidade de folhas necessária para cada ovino era pesada e triturada com água em liquidificador de modo a se obter uma suspensão a ser administrada por via oral através de sonda adaptada a uma bomba manual.

Antes de ser administrada, a suspensão aquosa foi peneirada em peneira de poliéster, com dois milímetros (2mm²), de espaçamento entre os fios, para evitar entupimento na sonda no momento da administração. Para minimizar possíveis perdas de princípios ativos no resíduo que ficava retido na peneira, este resíduo era novamente triturado com água, peneirado e prensado; em seguida novamente diluído com água e prensado novamente, sendo o líquido resultante adicionado ao volume de suspensão

que já tinha sido peneirado anteriormente. Para evitar volumes desproporcionais a ser administrado a cada animal, o volume final era também ajustado com água, de acordo com o peso do animal. Uma amostra desta suspensão foi submetida a análises no Departamento de Química da UFMG, para confirmação da presença dos constituintes fitoquímicos que já haviam sido encontrados na triagem fitoquímica, assegurando que esses princípios estivessem realmente sendo administrados aos animais. A suspensão finalmente utilizada era constituída de um líquido espumoso, espesso, verde escuro e com grande quantidade de partículas vegetais em suspensão, e foi administrado na quantidade de 60ml/kg, o que corresponde a uma ingestão de 20g/kg/p.v de *M. rigida*. As doses recebidas por cada animal, de acordo com o peso, se encontram na Tab. 1.

Tabela 1 – Grupos experimentais, identificação, peso, doses diárias e totais administradas.

Grupos	Número do animal	Peso dos animais (kg)	Dose diária de suspensão* de	
			<i>M. rigida</i> mL	<i>M. rigida</i> mL
G1 Controle	7	23.0	-	-
	8	30.0	-	-
	9	29.0	-	-
	11	29.0	-	-
	14	32.0	-	-
G2 3 dias	1	22.5	1350	4050
	2	23.0	1380	4140
	3	23.0	1380	4140
	13	29.5	1770	5310
	15	29.5	1770	5310
G3 7 dias	4	23.5	1410	9870
	5	24.8	1488	10416
	6	28.0	1680	11760
	10	29.0	1740	12180
	12	26.5	1590	11130

*20g/60ml, o que corresponde a uma ingestão de 20g/kpv de *M. rigida*.

3.3.1. Avaliações clínicas

Cada animal foi avaliado clinicamente, imediatamente antes de receber a primeira dose da suspensão, o que correspondeu ao tempo zero (T0), e depois, a cada 24 horas, até o oitavo dia,

correspondendo assim aos tempos T1, T2, T3, T4, T5, T6 e T7. O exame físico compreendeu avaliação da temperatura retal, das mucosas aparentes, frequência cardíaca, frequência respiratória, frequência e tônus dos movimentos ruminiais, defecação, micção, alterações no

comportamento em repouso e após exercício físico de 10 minutos e estado geral.

3.3.2. Avaliações eletrocardiográficas

Os exames eletrocardiográficos foram realizados antes da primeira dose (T0), após 24 horas (T1) e depois a cada 48 horas (T3, T5 e T7), para verificação de possíveis anormalidades de condução elétrica. Os registros eletrocardiográficos³ tomados tanto com o animal em repouso como após exercício físico, constituindo assim dois registros para cada tempo. Os animais foram examinados em decúbito lateral esquerdo, em mesa apropriada, sendo necessária apenas leve contenção manual. Todos os registros foram feitos em papel eletrocardiográfico termo-sensível, em 25 e 50mm/seg., seguindo as derivações clássicas (Tilley, 1992). Foram avaliadas as frequências cardíacas antes e após o exercício, as ondas P, T, o complexo QRS, o intervalo RR, o intervalo QT e QT corrigido conforme Fridericia (1920), aparência do segmento ST e o comportamento geral do traçado. Para a realização do exercício físico os animais eram movimentados (tocados) individualmente por 10 minutos, com finalidade de verificar o efeito do esforço físico sobre a frequência cardíaca e ocorrência de morte súbita

3.3.3. Avaliações ecoDopplercardiográficas

Os exames ecoDopplercardiográficos também foram realizados antes da primeira dose (T0), e depois com 72 horas (T3) e 168 horas (T7), para verificação do aparecimento de possíveis disfunções cardíacas e anormalidades anatômicas. Utilizou-se aparelho⁴ da Escola de Veterinária, composto pelos modos bidimensional, M e Doppler pulsado, contínuo e mapeamento em cores, com transdutor de varredura setorial mecânica de 2,5 a 7,5 MHz. Todos os exames foram gravados em videoteipe⁵. Os animais foram examinados em mesa apropriada, sendo necessária apenas leve contenção manual. Foram mensuradas e registradas: a espessura do septo em sístole e diástole, o diâmetro interno do ventrículo esquerdo na sístole e na diástole, o percentual de encurtamento sistólico, a fração de ejeção do

ventrículo esquerdo, a separação septal do ponto E da válvula mitral e a espessura da parede do ventrículo esquerdo durante a sístole e a diástole. Todos os posicionamentos e mensurações dos parâmetros ecoDopplercardiográficos seguiram as mesmas recomendações para cão (Boon, 1998), que por sua vez seguem basicamente as mesmas recomendações para estudos em humanos, mas que são bem aceitos para estudos em medicina veterinária (Kirberger & Van Den Berg, 1993; Boon, 1998; Kittleson & Kienle, 1998).

3.3.4. Avaliações laboratoriais

Para análises laboratoriais foram colhidas amostras de sangue com e sem anticoagulante (Na₂EDTA), de todos os animais, em todos os tempos do experimento, em frascos de vidro de cinco e 10ml, a vácuo, por punção da jugular, sempre no mesmo horário e após o exame físico. O soro obtido foi submetido à análises bioquímicas de aspartato-aminotransferase (AST), gama-glutamilttransferase (GGT), proteínas totais, albumina, creatinina, cálcio (Ca), fósforo (P) e potássio (K), utilizando Kits comerciais^{6,7,8}. Também foram colhidas amostras para análises hematológicas, sendo a contagem de hemácias realizada em câmara de Neubauer, a dosagem de hemoglobina pelo método de cianometahemoglobina e o volume globular pelo micrométodo, com posterior leitura em cartão para microhematócrito. Foram calculados o volume globular médio (VGM) e a concentração de hemoglobina globular média (CHGM), para classificação morfológica das anemias (Ferreira Neto et al., 1982). esfregaços sanguíneos foram preparados utilizando sangue fresco e sem anticoagulante, corados pelo método de May-Gruenwald-Giemsa, para avaliação morfológica e contagem diferencial de leucócitos (Ferreira Neto et al., 1982).

3.3.5. Necropsias, colheita e processamento das amostras para histopatologia.

Após a morte, procedeu-se a necropsia, com atenção especial ao exame do coração; vários cortes foram realizados no coração, acompanhando os sulcos coronários

³ Eletrocardiógrafo Ecafex ECG.40 – FUMBEC

⁴ HP Sonos 100 CF

⁵ Vídeo Gravador Sony

⁶ Bioclin

⁷ Quibasa Química Básica SA

⁸ Doles

longitudinais e seções transversais. Fragmentos dos seguintes órgãos foram colhidos: coração (ventrículo esquerdo, ventrículo direito, septo e válvulas), pulmão, baço, fígado, rins, cérebro, bulbo e cerebelo, destinados a exame histopatológico. Os ovinos que não morreram foram eutanasiados no último dia do experimento, por meio de sobredose de anestésico geral⁹ (Tiopental sódico 40mg/Kpv). No laboratório de histopatologia da Escola de Veterinária da UFMG os fragmentos de tecidos colhidos durante a necropsia foram fixados em formol tamponado a 10%, recortados, desidratados, diafanizados, incluídos em parafina, laminados a 5 micrômetros, corados pela técnica da hematoxilina-eosina e examinados ao microscópio de luz.

3.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com arranjo em parcelas subdivididas, onde as parcelas foram os grupos e as subparcelas os tempos. Para verificar o efeito dos tratamentos sobre as variáveis paramétricas estudadas, elas tiveram suas médias

comparadas pelo teste de Duncan, com nível de significância de 5% ($P < 0,05$).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. ESTUDO FITOQUÍMICO

O extrato de folhas picadas de *M. rigida* (fig. 2), preparadas para pesquisa de heterosídeos antracênicos não desenvolveu anel rosa, após a adição de hidróxido de potássio e mesmo quando aquecido em banho-maria, não desenvolveu anel vermelho-violeta, sendo assim considerado negativo para esses constituintes. Da mesma forma o extrato preparado para pesquisa de heterosídeos cardiotônicos não apresentou cor rósea forte ou violeta, após a adição de gotas do Reativo de Kedde e também no extrato preparado para pesquisa de cumarinas não foi observado o desenvolvimento de fluorescência azulada forte, bem visível, na mancha alcalinizada quando colocada sob a luz UV, indicando ausência também desses dois grupos de constituintes.



Figura 2 – *M. rigida* Griseb, no canteiro de plantas tóxicas da EV-UFMG

⁹ Thiopentax – Lab. Cristália

Por outro lado, extratos preparados para as pesquisas de flavonóides, saponinas, alcalóides quaternários, taninos e polifenóis apresentaram reação positiva para esses constituintes. Análises de espectrometria de infravermelho realizadas

com a suspensão de folhas trituradas *M. rigida* administrada aos animais confirmaram os resultados da triagem fitoquímica. Os resultados fitoquímicos estão sumariados no quadro 1.

Quadro 1 – Resultados do estudo fitoquímico das folhas de *M. rigida*

Costituente	Resultado [*]
Heterosídeos antracênicos	-
Heterosídeos cardiotônicos	-
Cumarinas	-
Polifenóis	+++
Taninos	++
Heterosídeos flavônicos (flavanóides)	+++
Heterosídeos saponínicos (saponinas)	+++
Alcalóides quaternários	+++

* - negativo; + reação discreta; ++ reação moderada; +++ reação intensa

Não foram encontradas na literatura informações a respeito da constituição química da *M. rigida*. Entretanto uma comparação pode ser feita com os estudos realizados em outras espécies de *Mascagnia* e também em relação à sua importância como substâncias biologicamente ativas.

Os taninos são substâncias de grande distribuição no reino vegetal incluindo plantas que normalmente são pastejadas por ruminantes domésticos ou selvagens, sendo que estes constituintes possuem pelo menos dois grupos distintos, os taninos condensados, os quais são insolúveis, portanto tóxicos para as mucosas do trato digestivo e os taninos hidrolizáveis, os quais são solúveis e potencialmente tóxicos sistemicamente (Costa, 1986), quando estas substâncias são absorvidas, especialmente nos órgãos fígado e rins onde causam necrose (Itakura et al. 1987). Resultados positivos para compostos fenólicos e grande quantidade e variedade de taninos também foram relatados para a *Mascagnia* aff. *rigida*, planta de grande semelhança tóxica com *M. rigida* (Nascimento, 1991), sendo que uma catequina, tanino que ocupa uma posição intermediária, combinando elementos hidrolizáveis e condensados (Ramos et al., 1998; Bhat et al., 1998), foi identificada recentemente em *M. pubiflora* (Zanella et al., 2006). O fato de os ovinos deste experimento apresentarem hipotonia ruminal e redução do

apetite (ver quadro 3), além de recusarem ingerir espontaneamente as folhas de *M. rigida* sugere que os taninos possam estar relacionados a esses sinais clínicos, o que é segundo Makkar (2003), descrito pela literatura.

Em relação aos heterosídeos flavônicos a literatura evidencia que também *M. pubiflora* apresenta este grupo de constituintes (Nascimento, 1995), entretanto não foram considerados de importância toxicológica para essa planta e também não são citados como causa de mortes em bovinos em vários trabalhos de toxicologia (Tokarnia et al., 2000; Villar & Díaz, 2006). Ademais, a literatura cita que possuem grande atividade biológica benéfica como antioxidante e vasodilatador (Wang et al., 2004), tornando pouco provável que tenham algum envolvimento na toxicidade da *M. rigida*. Apesar disso as micções frequentes observadas nos ovinos, podem estar relacionadas pois efeitos diuréticos destes compostos são mencionados pela literatura fitoterápica (Luengo, 2002). Por outro lado, é preciso considerar que os flavonóides formam um grupo de compostos polifenólicos muito extenso, pela grande variedade química e também pela ampla ocorrência no reino vegetal, (Costa, 1986; Luengo, 2002), sendo necessários mais estudos para identificar quais flavonóides estão presentes e testá-los isoladamente *in vivo*.

Heterosídeos saponícos são de grande importância toxicológica, consideradas como sendo princípio tóxico de várias plantas de interesse na agropecuária e em geral são de difícil absorção e geralmente seus efeitos tóxicos ocorrem no trato digestivo (Radostitis et al., 2000; Tokarnia et al., 2000; Villar & Díaz, 2006; Haraguchi et al., 2006). Esses compostos são heterosídeos nos quais açúcares solúveis estão ligados a um radical denominado de aglicona, que pode ser um esteróide (saponina esteroidal) ou um triterpeno (saponina triterpênica), formam espuma quando agitadas na água e possuem atividades irritantes e hemolíticas devido a sua estrutura química (Schenkel et al., 2001; Robbers et al., 1996). As saponinas triterpênicas são as mais abundantes e sua ação lipofílica facilita sua complexação com fosfolipídeos de membranas celulares alterando a permeabilidade das mesmas ou até causando 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. Folhas de *Bulnesia sarmientii*, que contém saponinas tóxicas, causam, entre outros sinais, alterações nos batimentos cardíacos, atonia ruminal e também micções frequentes (Radostitis et al., 2000), o que pode ser compatível, pelo menos em parte, aos achados clínicos observados nos ovinos deste experimento.

Alcalóides são compostos heterocíclicos nitrogenados, geralmente de caráter alcalino, sendo que os alcalóides terciários são dotados de diversas atividades farmacológicas e são os princípios tóxicos de muitas plantas (Ramos et al., 1998; Tokarnia et al., 2000; Vilar & Díaz, 2006), enquanto que os quaternários têm menor importância toxicológica (Costa, 1986). Na presente pesquisa observou-se que a *M. rigida* utilizada, não apresentou alcalóides terciários, pela ausência de precipitado na camada clorofórmica. Somente alcalóides quaternários foram positivos, causando precipitado na camada aquosa. Apesar dos alcalóides terciários estarem

relacionados diretamente com o funcionamento cardíaco, há evidências na literatura que eles não estão presentes em outra espécie de *Mascagnia* (Saad et al., 1970). Desta forma, o estudo fitoquímico da *M. rigida* revelou a presença de grupos de constituintes fitoquímicos de grande importância toxicológica, sendo necessário, entretanto novas pesquisas para identificação das diferentes substâncias de cada grupo e posteriormente testá-las isoladamente *in vivo*.

4.2. ESTUDO FITOANATÔMICO

Observou-se que as características botânicas da planta utilizada neste experimento corresponderam àquelas descritas na literatura para *M. rigida* Griseb (Malpighiaceae) (Grisebach, 1858), e sua identificação foi confirmada por especialistas do Departamento de Botânica da UFMG.

Na Figura 3 estão apresentadas as características anatômicas microscópicas das epidermes e estômatos da *M. rigida* Griseb. Observa-se que as células da epiderme adaxial de *M. rigida* apresentam formato predominantemente poligonal (Fig. 3A). As células da epiderme abaxial apresentam contorno com grande sinuosidade e pode-se notar ainda o alongamento destas células evidenciando a região da nervura secundária e grande quantidade de estômatos na epiderme abaxial (Fig. 3B), sendo que esses estômatos são do tipo anomocítico e apresentam células guarda bem definidas (Fig. 3C). Observa-se também completa ausência de pilosidades, que juntamente com as características dos estômatos são estruturas importantes para reconhecer tecidos de determinada planta em material de rúmem ou estômago em casos de intoxicação, de acordo com os relatos de Schiessl et al., (1997).

Na Figura 4 estão apresentadas as características anatômicas microscópicas das regiões do mesofilo, da nervura central e do caule da *M. rigida* Griseb.

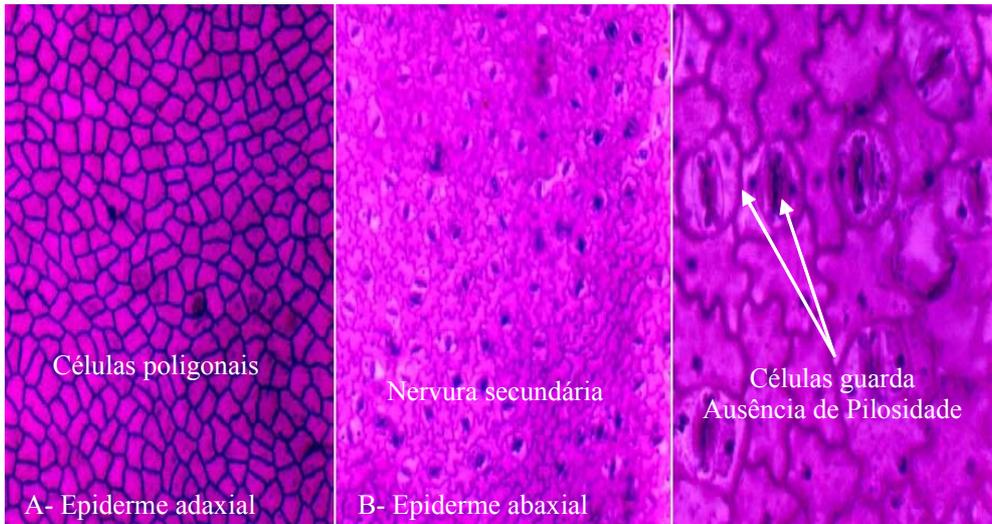


Figura 3 – Anatomia microscópica das epidermes e estômatos da *M. rigida* Griseb.

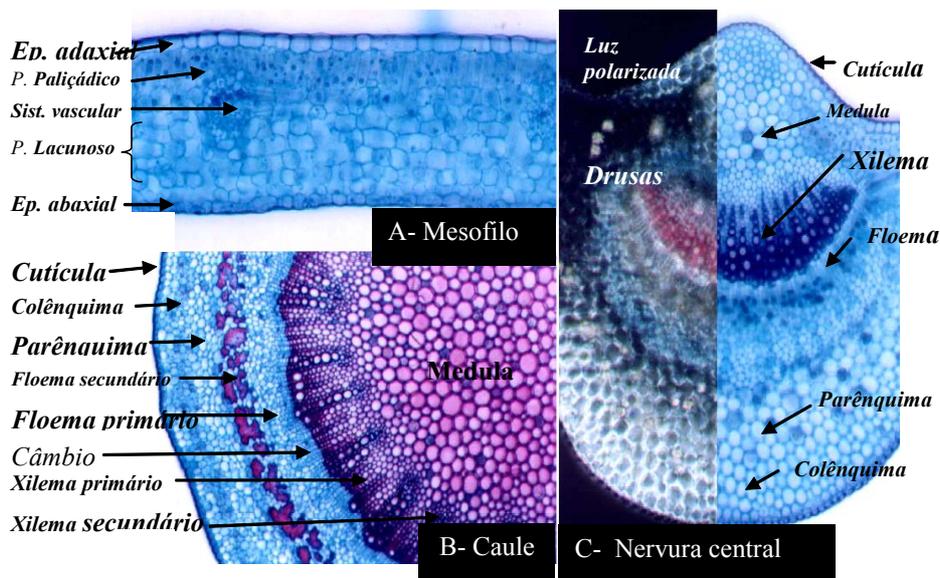


Figura 4 – Anatomia microscópica do mesofilo, caule e nervura central da *M. rigida* Griseb

Na região do mesofilo (Fig. 4A) é evidenciada seqüencialmente a epiderme da face adaxial, o parênquima paliádico, o parênquima lacunoso contendo também o sistema vascular e a epiderme da face abaxial. Observa-se que as células da epiderme adaxial apresentam-se dispostas em camada única, recoberta pela cutícula, e são um pouco mais alongadas que as células da camada abaxial. Situado logo abaixo da epiderme adaxial o parênquima paliádico (clorofiliano) é formado por uma única camada de células que são mais alongadas, apresentam

paredes delgadas e são predominantemente mais altas do que largas. O parênquima lacunoso apresenta aproximadamente seis a sete camadas de células de formato globoso e ligeiramente poligonal. O sistema vascular nesta região é abundante e é representado pelas nervuras secundárias, onde se observa o xilema (vermelho) e floema (azul), em disposição colateral. As células da epiderme abaxial estão dispostas em camada única, recobertas por cutícula mais delgada. Nesta epiderme também podem ser observados vários estômatos

parcialmente seccionados. Estas estruturas também podem ser identificadas em amostras de material que foi ingerido pelos animais, sendo o estudo fitoanatômico útil como auxiliar no diagnóstico da intoxicação por plantas. Em material de conteúdo estomacal de equino o formato das células epidérmicas, assim como as camadas celulares e disposição das células guarda em relação aos estômatos foram consideradas características importantes para o reconhecimento de espécies tóxicas que foram ingeridas pelo animal (Griess & Rech (1997).

No caule (Fig. 4B) é evidenciada, seqüencialmente, a cutícula, epiderme, o colênquima e o parênquima cortical, os floemas secundário e primário, a região do meristema cambial (câmbio), os xilemas secundário e primário e a região medular (central). Observa-se que as células da epiderme no caule se apresentam ligeiramente menores do que as do mesofilo e com formato predominantemente quadrangular. Na camada cortical o colênquima apresenta-se com células mais espessadas, para auxiliar na sustentação, e o parênquima também é estratificado. Observa-se que o floema secundário apresenta-se lignificado (fibroso), seguido pelo floema primário (azul) e a região do câmbio. O xilema é radial, representando o tecido de condução de seiva bruta, com o parênquima secundário mais espessado e lignificado. Tanto no colênquima como no xilema e na medula podem ser evidenciados os cristais (drusas) muito abundantes. Pela literatura as drusas representam principalmente cristais de oxalato de cálcio (Oliveira & Akisue, 2000), sugerindo que estas estruturas devam ser mais bem estudadas nesta planta devido às implicações do cálcio no funcionamento cardíaco.

Na região da nervura central (Fig. 4C) observa-se que as células da epiderme adaxial e abaxial encontram-se dispostas também em uma única camada (camada simples), e são recobertas pela cutícula, de aspecto semelhante à do mesofilo. O parênquima paliçádico apresenta-se interrompido na posição central, onde aparecem apenas as células do parênquima cortical, que nesta região, encontram-se envolvendo parcialmente o parênquima medular. Delimitando todo o sistema vascular, encontra-se a camada cortical, apresentando o seu parênquima com numerosos cristais (drusas) e o colênquima, onde as células

apresentam-se também em várias camadas e com a parede ligeiramente espessada. O sistema vascular apresenta-se em forma de arco (colateral), imerso no parênquima cortical, com a parte côncava voltada para a superfície adaxial. O xilema contém células lignificadas (vermelho) e encontra-se na posição central do arco, delimitado pelo floema, que contém celulose e hemicelulose (azul). Através da luz polarizada podem-se evidenciar numerosos cristais (drusas) presentes em todas as camadas e principalmente na camada cortical. As drusas são estruturas consideradas importantes na diferenciação de plantas, mesmo em material que já sofreu digestão parcial no rúmen, conforme descrito por Schiessl et al., (1997).

Os resultados deste estudo demonstram que a *M. rigida* possui características microanatômicas que podem ser utilizadas na sua identificação em tecidos vegetais no rúmen de animais possivelmente intoxicados. É necessário ressaltar que em países com grande extensão de pastagens naturais como o Brasil, poderão surgir maiores dificuldades no uso dessa técnica, pela grande complexidade da composição do conteúdo ruminal dos herbívoros em função da diversidade de plantas pastejadas, somando-se ao fato de que neste material a planta tóxica pode estar presente apenas em pequena quantidade. Por outro lado, estudos dessa natureza poderão ser muito úteis futuramente, quando boas coleções de amostras preparadas estiverem disponíveis para comparação, principalmente em regiões onde houver predominância de pastagens cultivadas.

4.3. AVALIAÇÕES CLÍNICAS

4.3.1. Sinais clínicos

Todos os ovinos dos Grupos 2 e 3, que receberam a suspensão de folhas trituradas de *M. rigida* apresentaram apatia, intolerância ao exercício físico, aumento da frequência cardíaca em repouso, inapetência, polaciúria e hipotonia ruminal. Um ovino morreu após cinco dias. As principais manifestações clínicas, sua evolução e intensidade estão apresentadas no Quadro 2 (ovino 1, que morreu) e Quadro 3 (demais animais intoxicados). Os cinco animais do Grupo Controle (G1) não apresentaram nenhuma alteração clínica durante todo período experimental.

Quadro 2 – Evolução e intensidade dos principais sinais clínicos apresentados pelo ovino 1, que morreu após ser submetido à intoxicação experimental pela *M. rigida*, durante três dias.

Sinais Clínicos	Tempos					
	0	1	2	3	4	5
Micções freqüentes		+	++	+		
Deprimido, apático		+	++	++	+++	+++
Aumento no tempo de repouso		+	+	+	++	+++
Intolerância ao exercício			+	+++	+++	+++
Dispneia durante o exercício			+	+	+	++
Posição de conforto			+	++	++	+++
Inapetência			+	+	++	+++
Mucosas pálidas						+
Hipotonia ruminal		++	++	++	++	++
Prostração durante exercício				+	+	+++
Decúbito esterno-abdominal			+	+	+	+
Decúbito lateral, pedalagem, vocalização e morte						+

+ discreta ou presente; ++ moderada; +++ intensa

No Quadro 2 observa-se que o ovino 1 (Figs. 5 e 6), que recebeu a suspensão de *M. rigida* por três dias consecutivos (G2), apresentou as primeiras manifestações clínicas no dia seguinte à primeira administração. Estes sinais evoluíram e o animal morreu no quinto dia, após manifestar o que diversos autores denominam de “morte

súbita” (Santos, 1975; Paraguassú, 1983; Pinheiro et al., 1996; Tokarnia et al., 2000), caracterizados por tremores musculares, queda, decúbito esterno-abdominal seguido de decúbito lateral, movimentos de pedalagem, vocalizações e morte.

Quadro 3 – Evolução e intensidade dos principais sinais clínicos apresentados por ovinos submetidos à intoxicação experimental pela *M. rigida*, durante três dias (G2) e sete dias (G3).

Principais Sinais clínicos	Grupos	Tempos							
		0	1	2	3	4	5	6	7
Inapetência, apatia, maior tempo em repouso, hipotonia ruminal e micções freqüentes.	G2*	-	+	++	++	+	+	-	-
	G3	-	+	++	++	++	++	++	+
Posição de conforto, (decúbito esternal, pescoço distendido, observado pelo menos uma vez ao dia).	G2*	-	-	+	++	+	+	-	-
	G3	-	-	+	++	++	++	++	+
Dispneia durante exercício	G2* ¹	-	-	+	+	+	+	-	-
	G3 ²	-	-	-	+	+	+	+	+
Prostração durante exercício	G2* ¹	-	-	-	+	+	+	-	-
	G3 ²	-	-	-	+	+	+	+	+

- Ausente; + discreta ou presente; ++ moderada

* Exceto Ovino 1 este grupo que morreu durante o exercício.

¹ Somente ovinos n2 e n3

² Somente ovinos n4 e n5

Pelo quadro 3 observa-se que nos quatro animais restantes do grupo 2 e nos cinco animais do Grupo 3 as primeiras alterações clínicas também

foram manifestadas no dia seguinte após terem recebido a primeira dose (T1). Em geral esses sinais eram constatados em grau discreto, mas

aumentavam de intensidade para um grau moderado após doses sucessivas. Entretanto no grupo 2, com exceção do ovino 1 que morreu, verificou-se ainda que após a última administração da suspensão aquosa da planta os sinais clínicos se tornavam discretos novamente,

desapareceram até o final do experimento, sugerindo que tenha havido uma desintoxicação, fato este também observado por Tokarnia et al., (2000), em bovinos após a interrupção da ingestão de *M. rigida*.



Figura 5 – Ovino 1, com sinais de apatia após a administração oral de suspensão de folhas trituradas de *M. rigida* durante três dias consecutivos, equivalente a uma dose de 20g/kg/pv/dia da planta.



Figura 6 – Ovino 1, com sinais de apatia e apresentando decúbito externo após a administração oral de suspensão de folhas trituradas de *M. rigida* durante três dias consecutivos, equivalente a uma dose de 20g/kg/pv/dia da planta.

Não foram encontrados dados a respeito de intoxicação por *M. rigida* em ovinos, entretanto uma comparação pode ser feita entre os sinais observados nos animais deste experimento com aqueles relatados por outros autores em bovinos sob condições naturais de intoxicação e também em outras espécies sob condições experimentais.

Os sinais mais precoces da intoxicação foram: apatia, indisposição física e redução no apetite. Esses ocorreram tanto nos ovinos que receberam a planta por três dias consecutivos (G2) quanto nos que a receberam por sete dias (G3). Em condições experimentais há evidências de que esses também sejam os primeiros sinais observados em bovinos, de acordo com Tokarnia et al., (1961) e Santos, (1975), e em caprinos (Paraguassú, 1983; Pinheiro et al., 1996); relatados como depressão geral, diminuição e até perda do apetite, e recusa em caminhar. Outra observação é que os ovinos apresentaram apatia antes mesmo de terem sido exercitados pela primeira vez. Essa observação está de acordo com o observado em outros trabalhos (Batatinha et al., 1988; Tokarnia et al., 1994) em experimentos com bovinos e coelhos.

Em casos de intoxicação natural esses sinais em geral não são relatados (Medeiros et al., 2002; Tokarnia et al., 1961). Uma explicação para isso, pode ser a falta de observação mais freqüente dos animais nesses casos. Além disso, se o animal não estiver muito afetado, esses sinais podem ser autolimitantes porque ele procura naturalmente um estado de equilíbrio, permanecendo mais tempo em repouso, evitando esforço físico, o que caracterizaria uma estabilização dos sinais clínicos seguido da sua regressão, conforme observado em ovinos deste experimento. Assim, em uma pastagem contaminada por *M. rigida* a observação de animais apáticos e relutantes ao esforço físico, embora sejam sinais um tanto inespecíficos, podem ser considerados uma evidência bastante consistente de que estejam intoxicados, o que é útil principalmente nas situações em que não tenha havido mortes, podendo assim evitá-las.

Micções freqüentes foram observadas nos animais dos Grupos 2 e 3 deste experimento. Uma explicação para isso poderia ser o efeito diurético da quantidade de água administrada com a planta. Entretanto, os animais do grupo controle, que também receberam a mesma

quantidade de água (placebo), não apresentaram esses sinais, sugerindo que *M. rigida* possa produzir um efeito diurético discreto nos animais. Essa sugestão é reforçada pela polaciúria que também foi observada em experimentos conduzidos por Santos, (1975), e Pinheiro et al., (1996), com bovinos ou caprinos, mesmo quando somente as folhas de *M. rigida* foram ingeridas pelos animais. Esses achados também foram citados em experimentos com outras espécies de *Mascagnia* (Couceiro et al. 1976; Parreira, 1980; Tokarnia et al., 1985b).

No presente estudo não foram realizadas medições de volume urinário ou urinálise, para comprovar se houve poliúria associada à polaciúria, porém aumento na freqüência de micção sem aumento do volume urinário geralmente ocorre em processos obstrutivos ou infecciosos das vias urinárias, que por sua vez causariam sinais clínicos próprios, os quais não ocorreram nos ovinos, sugerindo que o mais provável é que tenha havido algum grau de poliúria. Saponinas, que foram detectadas na análise fitoquímica da *M. rigida*, são compostos citados como tendo atividade diurética (Ramos et al., 1998).

O mecanismo para explicar as micções freqüentes pode ser complexo. Pela literatura, na maioria dos casos de intoxicação por *M. rigida*, não são encontradas lesões histopatológicas características, mas em alguns animais lesões nos túbulos renais são descritas (Tokarnia et al., 2000). Mesmo que sejam inconstantes e em baixa freqüência, a existência destas lesões seria mais condizente com redução na micção, e não com a polaciúria observada nos ovinos deste experimento. Não foram encontrados trabalhos que relacionem detalhadamente alterações na função renal e micção em animais intoxicados por *M. rigida*, mas em ovelhas intoxicadas pela planta nefrotóxica *Nolletia gariepina*, os autores relataram que a produção de urina em geral foi aumentada, apesar de que nos animais que morreram houve oligúria e anúria antes da morte devido à necrose tubular renal (Meintjes et al., 2005). Também na intoxicação por *Neriun oleander* em ovelhas, efeitos diuréticos foram observados (Aslani et al., 2004). Esses resultados indicam que, embora possa parecer paradoxal, polaciúria ou redução no fluxo urinário podem ocorrer dependendo do estágio em que se encontra o quadro de a intoxicação e do grau de

comprometimento renal. Ademais os grupos de constituintes químicos encontrados em *M. rigida* são muito amplos, podendo ser possível de conterem substâncias capazes de produzirem efeitos distintos nos rins, sendo que nas intoxicações brandas o efeito diurético pode ser predominante e ser observado clinicamente, enquanto nas intoxicações severas as lesões renais poderiam ser graves o suficiente para diminuir a taxa de filtração e assim suplantam o efeito diurético, e inclusive serem observadas histopatologicamente, como ocorre em alguns casos.

No presente experimento não foram encontradas alterações histopatológicas nos rins que indicassem comprometimento da sua função, e isso está de acordo com o fato de também não terem sido encontradas alterações nas dosagens de creatinina sérica, o que indica que a taxa de filtração glomerular não foi diminuída e, portanto não houve insuficiência renal nos ovinos, a despeito de ter havido polaciúria. Esses resultados, associados aos da literatura, podem sugerir que a diurese discreta causada pela *M. rigida*, conforme ocorreu nos animais deste experimento, ocorra através de outros mecanismos que não sejam por lesões nos túbulos renais, como por exemplo, o aumento na frequência cardíaca, e precisam ser mais bem estudados.

Sinais de dispnéia foram observados em dois ovinos dos Grupos 2 e 3, durante e principalmente ao final do exercício. Há evidências de que esses sinais também ocorrem em bovinos intoxicados naturalmente por *M. rigida* durante sua movimentação para outra pastagem e em caprinos sob intoxicação experimental após terem sido exercitados (Medeiros et al., 2002; Paraguassú, 1983). Uma explicação para esse fato pode ser a própria demanda aumentada de oxigênio durante o esforço físico. Entretanto, os animais do grupo controle não apresentavam esse sinal, sugerindo que *M. rigida* possa afetar a capacidade do coração em oxigenar os tecidos em situações de grande esforço físico. Entretanto, não puderam ser evidenciadas alterações no segmento ST dos registros eletrocardiográficos, e uma razão para isso pode ser o fato de a dispnéia ter ocorrido somente em poucos animais ou, o que é mais provável, é que não ocorreram alterações significativas nos tecidos de condução, o que não

exclui a possibilidade de ter havido disfunção cardíaca.

4.3.2. Evolução do quadro clínico

As manifestações dos primeiros sinais de intoxicação ocorreram de forma aguda. Situação semelhante foi relatada em experimentos com caprinos (Paraguassú, 1983; Tokarnia et al., 1994), e bovinos (Tokarnia et al., 1961), mas em coelhos os sinais surgiram mais rapidamente (cerca de 2 horas), quando uma suspensão de folhas de *M. rigida* foi administrada diretamente no estômago (Batatinha et al., 1988). Estas observações sugerem que o(s) princípio(s) tóxico(s) não têm grandes dificuldades para absorção, o que pode estar associado a uma grande solubilidade do mesmo. Por outro lado os ovinos do Grupo 2 (exceto o animal 1) demoraram um pouco mais de tempo para se restabelecerem clinicamente após a última administração da suspensão de *M. rigida* do que demoraram para manifestar os sinais clínicos após a primeira dose, sugerindo que a eliminação, embora também seja rápida, possa não ser tão simples quanto a absorção. A morte do animal 1 deste mesmo grupo sugere também que haja uma sensibilidade diferenciada entre os indivíduos.

Também foi observado neste experimento que o esforço físico causado pelo exercício por 10 minutos exacerbou os sinais já presentes anteriormente, mas esse efeito era evidente somente durante o exercício. A literatura não é bastante clara sobre o efeito do exercício no aparecimento e intensidade dos primeiros sinais clínicos em situações onde não ocorre morte (Tokarnia et al., 2000). Entretanto, os resultados deste trabalho demonstraram que o exercício não é imprescindível para a manifestação dos sinais de intoxicação. Por outro lado, a exacerbação dos sinais clínicos durante o exercício sugere que o esforço físico causa momentaneamente uma situação de grande fragilidade na função cardíaca, relacionando-se assim diretamente com o aparecimento da morte do animal que estiver mais afetado. Ademais, incoordenação, tremores musculares, decúbito lateral, pedalagem e vocalização que ocorrem na chamada “morte súbita” são indícios de hipóxia cerebral, de acordo com Aslani et al., (2004).

Outro fato observado foi que os animais do Grupo 2 recuperaram-se clinicamente ao final do experimento, apesar de um animal desse grupo ter morrido (ovino 1). No Grupo 3, mesmo tendo recebido a suspensão de *M. rigida* por mais tempo, não se registrou morte e os sinais clínicos tornaram-se discretos novamente, apesar de todos eles terem ficado apáticos e deprimidos. Há evidências de que esse comportamento possa ocorrer, sendo que na intoxicação experimental por *M. rigida* foi relatado que animais se recuperaram mesmo após os 30 dias de ingestão (Santos, 1975), e situação idêntica ao do Grupo 2 ocorreu em experimento onde bovinos se recuperaram após terem manifestado sinais de apatia e redução no apetite, enquanto um que se apresentou mais apático, morreu após três dias da última administração da planta (Tokarnia et al., 1961). Essa recuperação de animais aparentemente intoxicados também ocorreu em caprinos (Paraguassú, 1983) e também vacas intoxicadas naturalmente recuperaram após terem sido deixadas em repouso (Tokarnia et al., 1961; Medeiros et al., 2002).

Os resultados deste experimento sugerem que ovinos intoxicados por *M. rigida* possam se recuperar se a causa for retirada e que a morte não é uma constante nesses animais, mas, por outro lado, também indicam que o animal está sob o efeito dos princípios tóxicos de *M. rigida*. Esses resultados reforçam os de experimentos anteriores, que indicaram que os sinais clínicos de intoxicação não evoluem continuamente, cujo fim invariavelmente seria a morte. Aparentemente os animais adquirem um estado de susceptibilidade de morte pelo efeito do princípio tóxico e, embora a morte possa ocorrer a qualquer momento e principalmente durante a movimentação, as pesquisas apontam que esse estado de susceptibilidade não é permanente e ocorre apenas enquanto o animal estiver ingerindo a planta. Esta susceptibilidade diminui se for cessado o período de ingestão e o animal retorna ao estado normal de saúde após certo tempo, caracterizando um período de desintoxicação, fato demonstrado pela recuperação de animais que ficam em repouso.

Em relação aos sinais de morte súbita manifestados pelo ovino 1 (quadro 2), os trabalhos evidenciam que esses sinais foram semelhantes aos que precederam a morte de bovinos (Santos, 1975), e aos que foram

apresentados por caprinos, que morreram intoxicados experimentalmente por *M. rigida* em trabalhos realizados por Paraguassú, (1983) e Pinheiro et al., (1996). Nesse ovino verificou-se também que os sinais clínicos que envolveram a morte tiveram evolução superaguda, sobrevivendo a morte aproximadamente 3 minutos após o início destes sinais. Há indícios em vários experimentos e relatos de campo que após iniciados os sinais da intoxicação a morte sobrevem sempre de forma superaguda (Tokarnia et al., 1961; Santos, 1975; Tokarnia et al., 1994; Pinheiro et al., 1996; Medeiros et al., 2002), tendo variação de minutos.

Em síntese, os sinais de intoxicação e sua evolução foram semelhantes e apresentaram as mesmas variações em relação aos que já tinham sido relatados por outros autores em bovinos em condições naturais ou experimentais (Tokarnia et al., 1961; Santos, 1975; Medeiros et al., 2002) e em caprinos sob condições experimentais (Paraguassú, 1983; Pinheiro et al., 1996). Por outro lado, a baixa incidência de morte nos ovinos deste experimento sugere a presença de vários outros fatores influenciando a gravidade da intoxicação, podendo ser o fato de as folhas utilizadas estarem maduras, ou a dose insuficiente, ou mesmo que ocorra maior resistência de ovinos aos efeitos de *M. rigida*.

4.3.3. Relação entre exercício físico e morte súbita

A respeito da possível relação entre exercício físico e ocorrência de morte observou-se nesse experimento que um ovino morreu durante o exercício. Entretanto outros nove ovinos que também foram exercitados nas mesmas condições não morreram. De acordo com a literatura, muitos autores consideram que o exercício seja o causador da morte dos animais intoxicados por plantas do gênero *Mascagnia* (Fernandes & Macruz, 1964; Tokarnia & Döbereiner, 1973; Parreira, 1980; Gava et al., 1998; Tokarnia et al., 2000). Para *M. rigida* isso parece ser verdade nos relatos de intoxicação natural em bovinos, onde na maioria dos casos a movimentação dos animais foi o evento desencadeador da morte (Tokarnia et al., 1961; Medeiros et al., 2002), entretanto analisando a literatura específica para a intoxicação experimental por *M. rigida* observa-se que há uma grande variação nos resultados em relação

ao efeito do exercício físico. Em situações experimentais os trabalhos demonstraram que nem sempre foi necessário exercitar os animais para causar a morte, enquanto que animais submetidos ao exercício nem sempre morreram (Santos, 1975; Paraguassú, 1983; Pinheiro et al., 1996). Fato interessante é que essa variação ocorre independente da dose ou do tempo de administração (Tokarnia et al., 1961; Tokarnia et al., 1994) e também inclusive em alguns animais intoxicados naturalmente onde não se sabia a dose ingerida ou o tempo de ingestão (Tokarnia et al., 1961; Medeiros et al., 2002).

A razão para essa variação nos resultados poderia ser devido a diferentes metodologias empregadas para se exercitar os animais, gerando situações onde nem sempre o esforço físico seja efetivo, portanto não sendo suficiente para causar a morte. Por outro lado pode haver circunstâncias em que o grau de comprometimento cardíaco seja intenso e impossível de manter a vida, mesmo o animal estando em repouso, permitindo

haver casos de ser apenas necessário breve período de esforço, como por exemplo, para levantar-se ou movimentar-se bruscamente por qualquer motivo, ou até mesmo situações de estresse para ocorrer morte, além do que pode haver animais de diferentes sensibilidades ao princípio tóxico.

Em resumo, no que diz respeito ao efeito do exercício sobre a morte súbita por *M. rigida*, os resultados deste experimento associado aos resultados de outros trabalhos, indicam que ele seja importante para ocorrer a morte, 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.

4.3.4. Parâmetros clínicos

As médias dos parâmetros clínicos mensurados nos ovinos estão apresentados nas Tabelas 2 a 5.

Tabela 2 – Frequência cardíaca*, em repouso, de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de *M. rigida* Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias G3) (batimentos por minuto).

Grupos	Tempo decorrido desde a administração da suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> (dias)							
	0	1	2	3	4	5	6	7
G1	76,2 ^{aA}	75,6 ^{aB}	74,4 ^{aB}	78,4 ^{aB}	75,2 ^{aB}	78,0 ^{aB}	78,8 ^{aB}	78,4 ^{aB}
G2	76,8 ^{eA}	97,2 ^{abA}	99,6 ^{aA}	99,2 ^{aA}	91,0 ^{bcA}	86,5 ^{cdB}	85,0 ^{cdeAB}	80,5 ^{deB}
G3	76,0 ^{eA}	100,4 ^{abA}	102,8 ^{aA}	97,2 ^{abcA}	96,8 ^{abcA}	96,0 ^{bcA}	93,2 ^{cdA}	88,4 ^{dA}

Médias com letras diferentes maiúsculas na coluna e minúsculas na linha diferem entre si pelo teste de Duncan, (P<0,05)

CV: 7,15

* 70 a 90, faixa de normalidade para ovinos (Pugh, 2002)

Analisando-se a Tabela 2, observa-se que as frequências cardíacas, em repouso, dos Grupos 2 e 3 foram significativamente maiores que o controle (G1) nos tempos 1-4, sendo que o G3 continuou sendo maior também nos tempos 5-7. Aumento na frequência cardíaca em repouso é um indicio bastante consistente de que a função cardíaca esteja alterada de alguma forma. Reforçando a hipótese de que a planta possa aumentar esta frequência observa-se ainda na Tabela 2 que as taxas no Tempo 0 de todos os grupos estavam estatisticamente iguais e dentro da faixa de normalidade para a espécie, e que o Grupo Controle (G1) permaneceu assim em todos os tempos até o fim do experimento,

enquanto que os grupos G2 e G3, após a administração da planta, alcançaram frequências significativamente maiores que o próprio T0 nos tempos 1-6 (G2) e 1-7 (G3), e inclusive acima da faixa de normalidade nos tempos 1-4 (G2) e 1-6 (G3). Na literatura não foram encontrados estudos detalhados sobre a influência desta planta nas taxas de batimentos cardíacos. Entretanto, as pesquisas apontam que pelo menos nos animais que apresentaram “morte súbita”, a taquicardia foi um dos sinais citados como evidentes imediatamente antes da morte (Paraguassú, 1983; Tokarnia et al., 1994; Pinheiro et al., 1996).

Tabela 3 – Frequência de movimentos ruminais* de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de *M. rigida* Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) (movimentos a cada 5 minutos).

Grupos	Tempo decorrido desde a administração da suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> (dias)							
	0	1	2	3	4	5	6	7
G1	8,6 ^{bcA}	9,0 ^{ba}	8,2 ^{ca}	8,8 ^{ba}	9,0 ^{ba}	9,0 ^{ba}	9,0 ^{ba}	10,0 ^{aA}
G2	8,0 ^{aB}	8,0 ^{aA}	6,8 ^{aA}	7,6 ^{aB}	7,2 ^{aB}	7,2 ^{aB}	7,0 ^{aB}	7,2 ^{aB}
G3	7,8 ^{abB}	8,4 ^{aA}	7,2 ^{bcA}	7,6 ^{abcB}	6,6 ^{cb}	7,0 ^{bcB}	7,0 ^{bcB}	5,6 ^{dc}

Médias com letras diferentes maiúsculas na coluna e minúsculas na linha diferem entre si pelo teste de Duncan, (P<0,05)

CV: 8,33

* 7 a 14 , faixa de normalidade (Pugh, 2002)

De acordo com a Tabela 3 as médias das frequências dos movimentos ruminais permaneceram dentro da faixa de normalidade para a espécie (Pugh, 2002), durante todo o experimento. Embora as frequências de movimentos ruminais tenham sido estatisticamente menores nos Grupos 2 e 3 nos tempos 0, 3, 4, 5, 6 e 7 , isso não representa significado clínico por estarem dentro da normalidade. Por outro lado observou-se durante o exame físico que a força de contração que causa esses movimentos era menor nos animais tratados, caracterizando uma hipotonia ruminal. Esta observação consiste em indício de que a fermentação ruminal pode ter sofrido alguma

alteração. Em outros experimentos também ficou evidenciado envolvimento da movimentação ruminal durante a intoxicação por *M. rigida*, mas a causa para isso não foi discutida (Paraguassú, 1983), entretanto no caso dos ovinos acredita-se que a redução no apetite e, portanto, na ingestão de alimentos fibrosos pode estar relacionada, e isto é suportado pela literatura específica (Pugh, 2002).

Não houve diferença estatística entre as médias das frequências de movimentos respiratórios dos grupos de tratamento em relação às do Grupo controle, conforme pode ser observado na Tabela 4.

Tabela 4 – Frequência respiratória de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de *M. rigida* Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) (movimentos por minuto).

Grupos	Tempo decorrido desde a administração da suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> (dias)							
	0	1	2	3	4	5	6	7
G1	24,8	24,4	23,2	22,0	22,8	22,4	23,2	23,6
G2	29,6	27,2	25,2	26,0	24,5	25,0	24,5	26,0
G3	28,8	27,8	28,4	26,8	26,8	26,4	26,0	26,8

Não houve diferença estatística pelo teste de Duncan, (P<0,05)

CV: 10,6

Com relação à temperatura retal, todas as médias permaneceram dentro da faixa de normalidade. Na literatura há evidências de que a *M. rigida* não causa alteração neste parâmetro clínico

(Paraguassú, 1983). Na Tabela 5 são apresentadas as médias das temperaturas observadas nos ovinos.

Tabela 5 – Temperatura retal* de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de *M. rigida* Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) (graus centígrados).

Grupos	Tempo decorrido desde a administração da suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> (dias)							
	0	1	2	3	4	5	6	7
G1	38,8	38,6	38,9	38,6	38,8	38,8	38,8	39,0
G2	38,7	39,0	39,2	38,7	38,7	38,8	38,8	38,8
G3	38,9	39,2	39,4	39,0	38,9	38,8	39,2	38,6

* 38,6 a 40 graus centígrados, faixa de normalidade para ovinos (Pugh, 2002)

Em síntese, a frequência cardíaca foi o parâmetro clínico alterado de forma consistente nos ovinos nas condições deste experimento. O fato de isso ocorrer em condições de repouso é um forte indício de que os princípios tóxicos de *M. rigida* afetam a função cardíaca, seja direta ou indiretamente.

4.4. AVALIAÇÕES ELETROCARDIOGRÁFICAS

A análise da onda P, do perfil do complexo QRS e onda T no tempo Zero (T0) de cada grupo e na média dos demais tempos desses grupos estão apresentadas juntamente com as respectivas frequências cardíacas nas Tabelas 6 (repouso) e 7 (exercício).

Tabela 6 – Valores percentuais médios em relação aos tipos de ondas registradas nos eletrocardiogramas (DII) de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de *M. rigida* Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3), em repouso, e as respectivas frequências cardíacas (batimentos por minuto).

Tipo da onda	Forma	Média do tempo 0 (%)			Média dos tempos 1 a 7 (%)		
		G1	G2	G3	G1	G2	G3
Onda P		100	100	100	100	100	100
Onda QS		80		0	20		42,1
Onda QR		20		60	80		47,36
Onda RS		0		40	0		5,26
QRS		0		0	0		5,26
Onda T (+)		40	40	60	30	57,2	75
Onda T bifásica		60	60	40	70	42,8	25
Frequência (bpm)		92	104	103	102	118	121

Observou-se que o ritmo cardíaco foi sinusal em todos os animais, entretanto as frequências cardíacas médias durante os exames eletrocardiográficos foram sempre acima da frequência normal para a espécie, podendo então se considerar que predominou uma taquicardia sinusal durante o exame em todos os animais, provavelmente devido ao estresse relacionado ao manejo e contenção dos animais para o exame.

Aumento significativo de batimentos cardíacos durante exames eletrocardiográficos em ovinos normais também foram relatadas (Schultz et al., 1972; Tório et al., 1997; Mir et al., 2000). Não foram observadas alterações na morfologia dos traçados que caracterizassem algum tipo de arritmia, nos momentos do período experimental em que foram obtidos.

Tabela 7 – Valores percentuais médios em relação aos tipos de ondas registradas nos eletrocardiogramas (DII) de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de *M. rigida* Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3), após exercício físico por 10 minutos e as respectivas frequências cardíacas (batimentos por minuto).

Tipo da onda	Forma	Média do tempo 0 (%)			Média dos tempos 1 a 7 (%)		
		G1	G2	G3	G1	G2	G3
Onda P		100	100	100	100	100	100
Onda QS		80		25	95		20
Onda QR		20		50	5		55
Onda RS		0		25	0		20
QRS		0		0	0		5
Onda T (+)		80	100	75	85	92,8	85
Onda T bifásica		20	0	25	15	7,2	15
Frequência (bpm)		125	128	121	134	154	156

A onda P estava presente, positiva e uniforme em todos os animais de todos os grupos, não se alterando durante o experimento, tanto em repouso quanto após exercício. De acordo com a literatura, a onda P em ovinos é positiva na maioria das derivações, e na derivação DII foi demonstrado que ela ocorreu dessa forma em 100% das ovelhas estudadas por Schultz et al., (1972) e Tório et al., (1997), semelhante ao que ocorreu neste experimento, podendo-se deduzir que *M. rigida* possivelmente, não afetou a despolarização atrial.

Já em relação ao complexo QRS houve uma grande variação individual em todos os animais, tanto no Grupo controle quanto nos grupos de tratamento, inclusive entre o Grupo controle e o tempo 0 dos Grupos 2 e 3, quando ainda não haviam recebido nenhuma dose de *M. rigida*. As ondas QS e QR foram as mais frequentes, mas também ocorreram em menor porcentagem as ondas RS e QRS. Outros estudos demonstraram haver uma grande variação no perfil do complexo QRS de ovelhas clinicamente sadias (Schultz et al., 1972; Tório et al., 1997) e mesmo em ovelhas intoxicadas por plantas sabidamente contendo glicosídeos cardíacos, anormalidades significativas não puderam ser confirmadas (Botha et al., 1997).

A onda T apresentou-se bifásica ou positiva, sendo essa variação presente em todos os grupos. Observou-se que a forma positiva foi

predominante após o exercício físico em todos os animais de todos os grupos e em condições de repouso nos animais dos Grupos 2 e 3 durante a administração da planta (T1 a T7), provavelmente devido à frequência cardíaca média ter sido maior nesses animais mesmo antes do exercício.

Alterações na amplitude da onda T foram relatadas na intoxicação por glicosídeos cardíacos de *Tylecodon wallichii* em cobaias (Naudé & Schultz, 1982), mas estes resultados ocorreram em conjunto com alterações também no complexo QRS e intervalo QT nos momentos que anteciparam a morte dos animais, semelhante ao que ocorreu em outro trabalho envolvendo cobaias (Saad et al., 1970). Em ovelhas intoxicadas por *Pachystigma pygmaeum* também foram observadas alterações na onda T, que consistiram em aumento e inversão, consideradas pelos autores como sinais típicos de isquemia do miocárdio (Van Der Walt et al., 1990), entretanto as plantas deste gênero causam intoxicação com evolução muito diferente de *M. rigida*, com características de cronicidade, e tais alterações foram observadas em condições experimentais logo após a administração intravenosa do extrato ativo da planta.

Por outro lado os resultados desse experimento coincidem com outros artigos consultados onde a variação ocorrida na onda T parece ser uma característica normal do eletrocardiograma de

ovinos, que admite esses dois perfis sem necessariamente indicar doença (Schultz et al., 1972; Tório et al., 1997; Ker et al., 2003).

Em síntese, o perfil do complexo P-QRS-T de ovinos, nas condições desse experimento, apresentou variação individual muito grande, não permitindo que fossem identificadas alterações

que pudessem ser atribuídas à intoxicação por *M. rigida*.

As médias das frequências cardíacas registradas nos eletrocardiogramas, durante repouso e logo após exercício físico estão apresentados nas Tabelas 8 e 9, respectivamente.

Tabela 8 – Frequência cardíaca de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de *M. rigida* Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3), registradas no eletrocardiograma durante repouso (batimentos por minuto, média \pm desvio padrão).

Grupos	Tempo decorrido desde a administração da suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> (dias)				
	0	1	3	5	7
G1	92 ^{aA} ± 16	95 ^{aA} ± 23	113 ^{aA} ± 12	93 ^{aA} ± 28	108 ^{aA} ± 17
G2	104 ^{bA} ± 5	118 ^{bA} ± 26	156 ^{aA} ± 42	102 ^{bA} ± 16	95 ^{bA} ± 234
G3	103 ^{aA} ± 29	131 ^{aA} ± 27	134 ^{aA} ± 43	124 ^{aA} ± 21	96 ^{aA} ± 11

Médias com letras diferentes maiúsculas na coluna e minúsculas na linha diferem entre si pelo teste de Duncan, ($P < 0,05$)
CV: 20,0

Tabela 9 – Frequência cardíaca de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de *M. rigida* Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3), registradas no eletrocardiograma após 10 minutos de exercício (batimentos por minuto, média \pm desvio padrão).

Grupos	Tempo decorrido desde a administração da suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> (dias)				
	0	1	3	5	7
G1	125 ^{bA} ± 18	132 ^{abB} ± 20	136 ^{abB} ± 20	119 ^{bB} ± 16	149 ^{aA} ± 6
G2	128 ^{bcA} ± 11	166 ^{abA} ± 15	184 ^{aA} ± 34	154 ^{bA} ± 50	112 ^{cB} ± 21
G3	121 ^{cA} ± 30	159 ^{abA} ± 22	183 ^{aA} ± 23	152 ^{bA} ± 23	130 ^{cbB} ± 41

Médias com letras diferentes maiúsculas na coluna e minúsculas na linha diferem entre si pelo teste de Duncan, ($P < 0,05$)
CV: 13,7

Em repouso (Tab. 8), a análise das frequências cardíacas registradas nos eletrocardiogramas mostrou que não houve nenhuma diferença estatística entre as médias dos grupos de tratamento e a média do Grupo controle em nenhum dos tempos. Entretanto se observarmos os números da Tabela 8, no que diz respeito às médias de cada grupo de tratamento ao longo do tempo, eles sugerem que a *M. rigida* produza algum efeito sobre essa frequência. Além disso, a

frequência média, em repouso, dos ovinos durante a administração de *M. rigida* (118 para o G2 e 121 para o G3), foram maiores que a média do controle (102 bpm), (Tab. 6). A razão disso não ter sido demonstrado estatisticamente quando comparados com o Grupo controle pode ser provavelmente devido a outras fontes de variação, como por exemplo, estresse nos animais devido ao manuseio, por mais cuidadoso que tenha sido o exame, causando aumento na

freqüência em todos os animais e dificultando sua análise. Além disso, pode haver sensibilidade individual dos animais aos princípios tóxicos de *M. rigida*.

Taxas de batimento cardíaco obtidas no eletrocardiograma são difíceis de serem comparadas devido ao grande número de influências que podem sofrer de várias fontes. Schultz et al., (1972), já haviam descrito 60 a 197 batimentos por minuto (bpm) em eletrocardiogramas de 31 ovelhas normais, indicando a grande variação a que estão sujeitos os animais durante o exame. Posteriormente Tório et al., (1997), também encontraram média muito alta, de 119 bpm, durante os registros eletrocardiográficos de ovinos normais.

Por outro lado, após o exercício (Tab. 9), as freqüências cardíacas médias dos animais dos grupos de tratamento (2 e 3) foram estatisticamente maiores que as do controle nos tempos 1 até 5. O fato de que esse resultado estatístico não se manteve no último tempo, mesmo no grupo que recebeu a planta por 7 dias, pode sugerir pelo menos duas possíveis explicações: uma é que a relutância em se movimentar apresentada pelos animais intoxicados tenha dificultado que o exercício seja promovido adequadamente; a outra é que nesse tempo estes animais não estavam mais recebendo a planta e teoricamente sob menor efeito dos princípios tóxicos da mesma, sobretudo no Grupo 2.

A literatura é escassa a respeito da freqüência cardíaca normal em ovinos tomadas no eletrocardiograma sob condições de exercício, ou mesmo intoxicadas por plantas que causam morte súbita. Pelo menos na intoxicação

experimental com fluoracetato em ovelhas, um aumento significativo na freqüência e indícios de aumento na contratilidade cardíaca foi observado (Schultz et al., 1982), enquanto em cães a freqüência cardíaca foi maior naqueles que apresentaram insuficiência cardíaca (Koyama et al., 2004).

Diante dos fatos acima pode-se concluir que, sob condições de esforço físico, *M. rigida* causou freqüências cardíacas, tomadas no eletrocardiograma, significativamente maiores em ovinos, o que poderia predispor a arritmias cardíacas. O mecanismo pelo qual isso ocorre ainda não é conhecido e precisa ser mais bem investigado. Uma hipótese é a de que o princípio tóxico atue diretamente no coração causando redução no débito cardíaco e assim desencadeando uma taquicardia compensatória (devido a baixa tensão de oxigênio circulante), sobretudo durante esforço muscular acentuado. Outra hipótese pode ser efeito direto na liberação de catecolaminas ou mesmo mimetizando seus efeitos.

Outro 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 pacientes sofrendo de doenças cardíacas (Tilley, 1992; Koyama et al., 2004).

As médias dos intervalos QT registrados nos eletrocardiogramas, durante repouso e logo após exercício físico, estão apresentados nas Tabelas 10 e 11, respectivamente.

Tabela 10 – Intervalo Q-T de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de *M. rigida* Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3), em repouso (segundos, média \pm desvio padrão).

Grupos	Tempo decorrido desde a administração da suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> (dias)				
	0	1	3	5	7
G1	0,316 ^{aA} $\pm 0,030$	0,296 ^{aA} $\pm 0,040$	0,248 ^{aA} $\pm 0,020$	0,284 ^{aA} $\pm 0,043$	0,276 ^{aA} $\pm 0,029$
G2	0,272 ^{bcA} $\pm 0,030$	0,250 ^{bcB} $\pm 0,020$	0,234 ^{cA} $\pm 0,030$	0,280 ^{abA} $\pm 0,020$	0,315 ^{aA} $\pm 0,034$
G3	0,268 ^{aA} $\pm 0,020$	0,220 ^{bB} $\pm 0,010$	0,216 ^{bA} $\pm 0,030$	0,240 ^{abA} $\pm 0,031$	0,268 ^{aA} $\pm 0,017$

Médias com letras diferentes maiúsculas na coluna e minúsculas na linha diferem entre si pelo teste de Duncan, ($P < 0,05$) CV: 10,3

Tabela 11 – Intervalo Q-T de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de *M. rigida* Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3), após 10 minutos de exercício (segundos, média ± desvio padrão).

Grupos	Tempo decorrido desde a administração da suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> (dias)				
	0	1	3	5	7
G1	0,248 ^{aA} ±0,020	0,244 ^{aA} ±0,020	0,232 ^{aA} ±0,010	0,244 ^{aA} ±0,032	0,220 ^{aA} ±0,024
G2	0,236 ^{abcA} ±0,020	0,222 ^{bcA} ±0,020	0,204 ^{cAB} ±0,040	0,248 ^{abA} ±0,033	0,277 ^{aA} ±0,026
G3	0,244 ^{aA} ±0,030	0,188 ^{cB} ±0,010	0,164 ^{cB} ±0,020	0,200 ^{bcA} ±0,028	0,236 ^{abA} ±0,043

Médias com letras diferentes maiúsculas na coluna e minúsculas na linha diferem entre si pelo teste de Duncan, (P<0,05)

CV: 10,2

Não houve aumento do QT nos grupos tratados em relação ao controle em nenhum momento, tanto em repouso (Tab. 10) quanto após exercício (Tab. 11). A literatura a respeito da duração do intervalo QT, mesmo em ovelhas normais em repouso, é muito diversa em função das diferentes frequências cardíacas observadas, entretanto esses resultados foram semelhantes aos de Tório et al. (1997), que encontraram média de 0,262 segundos para uma média de 119 bpm, também aos de Schultz et al. (1972), que relataram valores de 0,227 e 0,301 segundos para frequências de 142 e 79 bpm respectivamente e aos de Mir et al. (2000), que encontraram duração de 0,307 em frequência de 105 bpm.

Por outro lado, analisando o comportamento do QT em cada grupo separadamente verificou-se que nos grupos tratados, tanto em repouso quanto após o exercício, houve diminuição significativa durante a administração da planta, o que não ocorreu no Grupo controle. Por esse fato ele chegou a ser inclusive menor em ambos os grupos de tratamento em relação aos animais não tratados no tempo 1, durante o repouso (Tab. 10), sendo que após o exercício essa diferença se manteve no Grupo 3 e abrangeu também o tempo 3 (Tab. 11). Isso sugere que nos animais tratados pode ter havido interferência de outra fonte de variação, e nesse caso as análises prévias apontam para que ela seja o aumento na frequência cardíaca, sobretudo após exercício.

Segundo Puddu, et. al., (1983), citados por Koyama et al. (2004), pelo menos no homem e aparentemente também no cão, as doenças cardíacas se relacionam diretamente à frequência, que por sua vez aumenta em intensidade variada para compensar a insuficiência no débito. Se a

duração do intervalo QT é inversamente proporcional à frequência, isso gera conflito durante sua análise em condições de taquicardia, pois mesmo que ele esteja prolongado, esse efeito pode estar mascarado, tornando difícil concluir sobre seus resultados.

Considerando que diferentes taxas cardíacas ocorreram nos ovinos, sobretudo em condições de exercício, é importante excluirmos ou minimizarmos seu efeito sobre o intervalo QT. Algumas fórmulas foram propostas para corrigir a duração do intervalo QT em medicina humana, em situações de diferentes frequências cardíacas. As mais utilizadas baseiam-se principalmente na divisão do QT simples pela raiz quadrada ou cúbica do intervalo RR, que em síntese é o intervalo entre um batimento e outro, promovendo assim certa homogeneidade nas taxas e permitindo melhor visualização do comportamento real do QT (Fridericia, 1920).

Não há fórmula específica para uso em medicina veterinária, a maioria dos estudos utiliza aquelas empregadas para estudos em humanos. Pelo menos em cães a correção do QT baseada na raiz cúbica, apresentou melhores resultados (Koyama et al., 2004) e foi também aplicada neste experimento, de acordo com a fórmula de Fridericia apresentada a seguir.

$$QTc = \frac{QT}{\sqrt[3]{RR}}$$

Os resultados finais da análise estatística aplicada ao intervalo QT corrigido e as médias dos grupos nos diferentes tempos estão apresentados nas Tabelas 12 (em repouso) e 13 (após exercício).

Tabela 12 – Intervalo Q-T corrigido (Fridericia, 1920) de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de *M. rigida* Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3), em repouso (segundos, média ± desvio padrão).

Grupos	Tempo decorrido desde a administração da suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> (dias)				
	0	1	3	5	7
G1	0,363 ^{aA} ±0,020	0,343 ^{abA} ±0,030	0,309 ^{cA} ±0,020	0,322 ^{bcA} ±0,022	0,334 ^{abcAB} ±0,018
G2	0,326 ^{aB} ±0,030	0,311 ^{abB} ±0,010	0,317 ^{aA} ±0,020	0,333 ^{aA} ±0,025	0,364 ^{aA} ±0,034
G3	0,318 ^{aB} ±0,010	0,284 ^{bcB} ±0,010	0,276 ^{cA} ±0,020	0,304 ^{abA} ±0,024	0,312 ^{abB} ±0,019

Médias com letras diferentes maiúsculas na coluna e minúsculas na linha diferem entre si pelo teste de Duncan, (P<0,05)
CV: 4,7

Tabela 13 – Intervalo Q-T corrigido (Fridericia 1920) de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de *M. rigida* Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3), após 10 minutos de exercício (segundos, média ± desvio padrão).

Grupos	Tempo decorrido desde a administração da suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> (dias)				
	0	1	3	5	7
G1	0,315 ^{aA} ±0,020	0,315 ^{aA} ±0,030	0,297 ^{aA} ±0,030	0,300 ^{aAB} ±0,027	0,298 ^{aA} ±0,029
G2	0,303 ^{aA} ±0,020	0,311 ^{aA} ±0,030	0,293 ^{aA} ±0,050	0,334 ^{aA} ±0,031	0,340 ^{aA} ±0,024
G3	0,304 ^{aA} ±0,010	0,259 ^{abB} ±0,010	0,237 ^{baA} ±0,030	0,271 ^{abB} ±0,025	0,300 ^{aA} ±0,034

Médias com letras diferentes maiúsculas na coluna e minúsculas na linha diferem entre si pelo teste de Duncan, (P<0,05)
CV: 7,8

De acordo com as Tabelas 12 e 13, mesmo após a correção do intervalo QT, em nenhum momento os mesmos foram maiores nos grupos tratados em relação ao Grupo controle. Elas também demonstram que, assim como observado anteriormente quando se analisou o QT simples, em determinados momentos o QTc foi menor nos animais tratados, provavelmente devido à frequência aumentada. Por outro lado comprometimento discreto pode ocorrer sem alterações no intervalo QTc, sendo que essa situação ficou demonstrada nos experimentos de Koyama et. al., (2004), onde mesmo o grupo de 58 cães sabidamente acometidos por grau leve de insuficiência cardíaca, não apresentaram aumento no intervalo QTc, o qual continuou sendo até menor do que o de cães normais, pelo fato de terem maiores frequências. Isso sugere que a influência da frequência cardíaca sobre o

QT predomina mesmo em grau leve de doença, e só a partir de uma gravidade maior é que essa influência é superada por outro mecanismo, cujo efeito é oposto, ou seja, prolonga o QT.

Considerando que nenhum método de correção é perfeito e que o encurtamento do intervalo QT também pode ser relacionado a condições patológicas (Naudé & Schultz, 1982; Tilley, 1992), até que se estabeleça sua verdadeira correlação com insuficiência cardíaca e frequência em ovinos quaisquer suposições podem ser meras especulações e precisam ser mais bem investigadas.

As médias dos intervalos RR registrados nos eletrocardiogramas, durante repouso e logo após exercício físico, estão apresentados nas Tabelas 14 e 15, respectivamente.

Tabela 14 – Intervalo R-R de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de *M. rigida* Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3), em repouso (segundos, média \pm desvio padrão).

Grupos	Tempo decorrido desde a administração da suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> (dias)				
	0	1	3	5	7
G1	0,661 ^{aA} $\pm 0,100$	0,644 ^{aA} $\pm 0,120$	0,531 ^{aA} $\pm 0,050$	0,694 ^{aA} $\pm 0,190$	0,565 ^{aA} $\pm 0,095$
G2	0,578 ^{aA} $\pm 0,030$	0,531 ^{abA} $\pm 0,130$	0,406 ^{bA} $\pm 0,100$	0,601 ^{aA} $\pm 0,100$	0,657 ^{aA} $\pm 0,130$
G3	0,611 ^{aA} $\pm 0,120$	0,472 ^{aA} $\pm 0,100$	0,480 ^{aA} $\pm 0,130$	0,492 ^{aA} $\pm 0,083$	0,634 ^{aA} $\pm 0,086$

Médias com letras diferentes maiúsculas na coluna e minúsculas na linha diferem entre si pelo teste de Duncan, (P<0,05)
CV: 14,5

Tabela 15 – Intervalo R-R de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de *M. rigida* Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3), após 10 minutos de exercício (segundos, média \pm desvio padrão).

Grupos	Tempo decorrido desde a administração da suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> (dias)				
	0	1	3	5	7
G1	0,488 ^{aA} $\pm 0,070$	0,466 ^{aA} $\pm 0,080$	0,447 ^{aA} $\pm 0,060$	0,508 ^{aA} $\pm 0,065$	0,220 ^{bB} $\pm 0,024$
G2	0,471 ^{aA} $\pm 0,040$	0,363 ^{bB} $\pm 0,030$	0,334 ^{bB} $\pm 0,050$	0,420 ^{aA} $\pm 0,110$	0,546 ^{aA} $\pm 0,097$
G3	0,516 ^{aA} $\pm 0,120$	0,384 ^{bcAB} $\pm 0,060$	0,331 ^{cB} $\pm 0,040$	0,401 ^{abcA} $\pm 0,062$	0,490 ^{abA} $\pm 0,120$

Médias com letras diferentes maiúsculas na coluna e minúsculas na linha diferem entre si pelo teste de Duncan, (P<0,05)
CV: 14,2

O intervalo RR representa o intervalo entre um batimento e outro e da mesma forma que o QT varia inversamente à frequência. Considerando esse aspecto ele teve o comportamento correspondente ao que aconteceu com a frequência cardíaca analisada anteriormente, tanto em repouso quanto após o exercício. Sua análise individual não demonstrou anormalidades e foram relativamente uniformes nos traçados de todos os animais, indicando que não houve arritmias.

Considerando todas as análises realizadas nos traçados eletrocardiográficos dos ovinos deste experimento, somente a frequência cardíaca que mostrou aumento. Este resultado é importante e sugere que outras alterações possam ocorrer, entretanto para que sejam detectadas é imprescindível que os registros eletrocardiográficos sejam tomados com maior

frequência ou até mesmo durante todo o período experimental.

4.5. AVALIAÇÕES ECODOPPLERCARDIOGRÁFICAS

Imagens ecocardiográficas de boa qualidade foram obtidas com os animais em decúbito lateral, utilizando-se as regiões paraesternais direita e esquerda, do terceiro ao quinto espaços intercostais, sendo este posicionamento bastante utilizado nas pesquisas com ovelhas (Kirberger & Van Den Berg, 1993; Dodic et al., 2001; Huang et al., 2004). Imagens satisfatórias também podem ser conseguidas em decúbito esternal (Borenstein et al., 2006) e em estação (Moses & Ross, 1987; Kirberger & Van Den Berg, 1993). Parece não haver dificuldade em se conseguir boas imagens ecocardiográficas nessa espécie, entretanto segundo Kirberger & Van Den Berg (1993), nos exames realizados em decúbito lateral devem ser tomados cuidados em

relação ao aparecimento de timpanismo que possa comprometer o fluxo sanguíneo para o coração, e nesse caso há necessidade de interromper o exame e colocar o animal em estação até a eructação. Nesse experimento não foi observado timpanismo em nenhum animal durante o exame.

No modo bidimensional (Fig. 7), também conhecido como ecocardiografia em tempo real, foram visualizados os aspectos anatômicos, principalmente válvulas, grandes vasos e câmaras cardíacas, não sendo observada nenhuma anormalidade em qualquer dos animais e em

nenhum momento. Também não foram detectadas presença de massas, alterações vegetativas, defeitos valvulares ou efusões pericárdicas. Sob este ponto de vista todos os ovinos de todos os grupos estavam normais e mantiveram-se assim durante o período de tratamento. Em experimentos com ovelhas também não foram relatados anormalidades no modo bidimensional logo após terem sido submetidas a situações onde a função cardíaca foi significativamente afetada (Devlin et al., 2000; Moainie et al., 2002b; Huang et al., 2004; Borenstein et al., 2006; Rabbani et al., 2006).

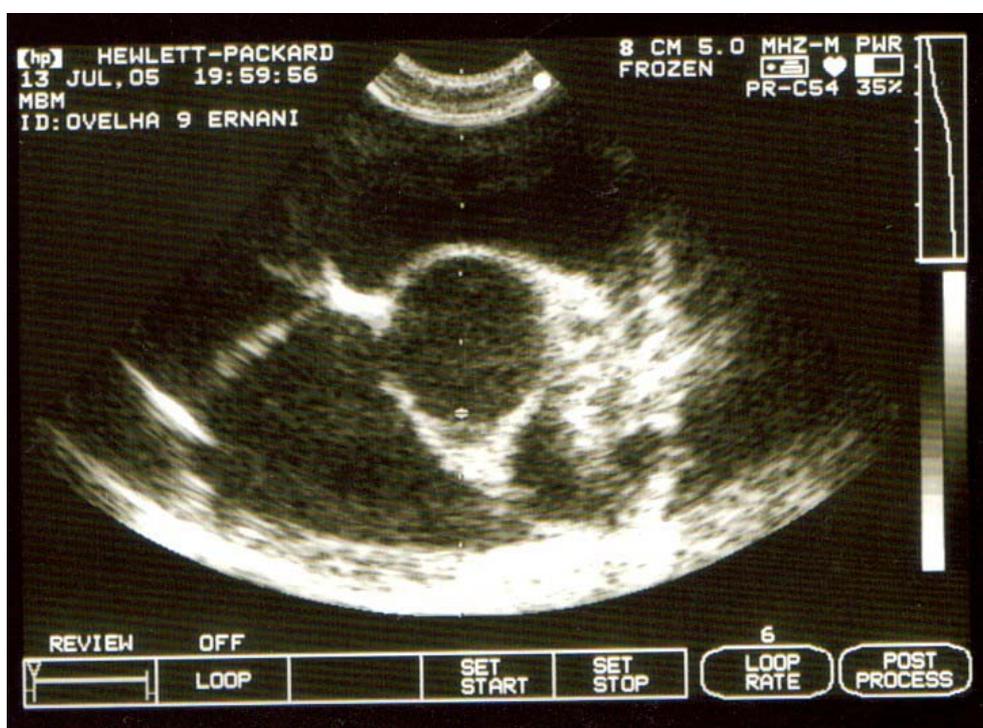


Figura 7 – Imagem ecocardiográfica, modo bidimensional, de ovino normal, obtida obtida na posição paraesternal.

No modo Doppler foi observado principalmente o fluxo sanguíneo através das válvulas, sua velocidade e características. Foram utilizadas as cores convencionais para designar as propriedades do fluxo, sendo o azul, quando o fluxo se afasta do transdutor e o vermelho quando vão em direção ao transdutor. Cores verdes e amarelas representam um padrão misto, tipo mosaico, e indicam fluxos turbulentos, de alta velocidade. Quando o fluxo é normal, chamado de laminar, é caracterizado por um padrão homogêneo de cor, vermelho ou azul, de acordo com a direção do fluxo (Kittleson &

Kienle, 1998). Não foi detectado em nenhum dos animais e em nenhum momento qualquer alteração que indicasse algum tipo de obstrução, regurgitação ou turbulência do fluxo sanguíneo, sendo que nesses aspectos todos os ovinos de todos os grupos também estavam normais e mantiveram-se assim durante o período de tratamento.

No modo-M (Fig. 8), foram obtidas ao final da sístole e da diástole as seguintes medidas: espessura do septo ventricular, diâmetro interno do ventrículo esquerdo e espessura da parede

posterior do ventrículo esquerdo. Também foi obtida a medida da separação septal do ponto E da válvula mitral e os índices funcionais do ventrículo esquerdo, representados pela fração de encurtamento sistólico e fração de ejeção. Todos os procedimentos foram realizados adaptando-se

as técnicas para a espécie canina, que por sua vez seguem basicamente as mesmas recomendações para estudos em humanos, mas que são bem aceitos para estudos em medicina veterinária (Kirberger & Van Den Berg, 1993; Boon, 1998; Kittleson & Kienle, 1998).

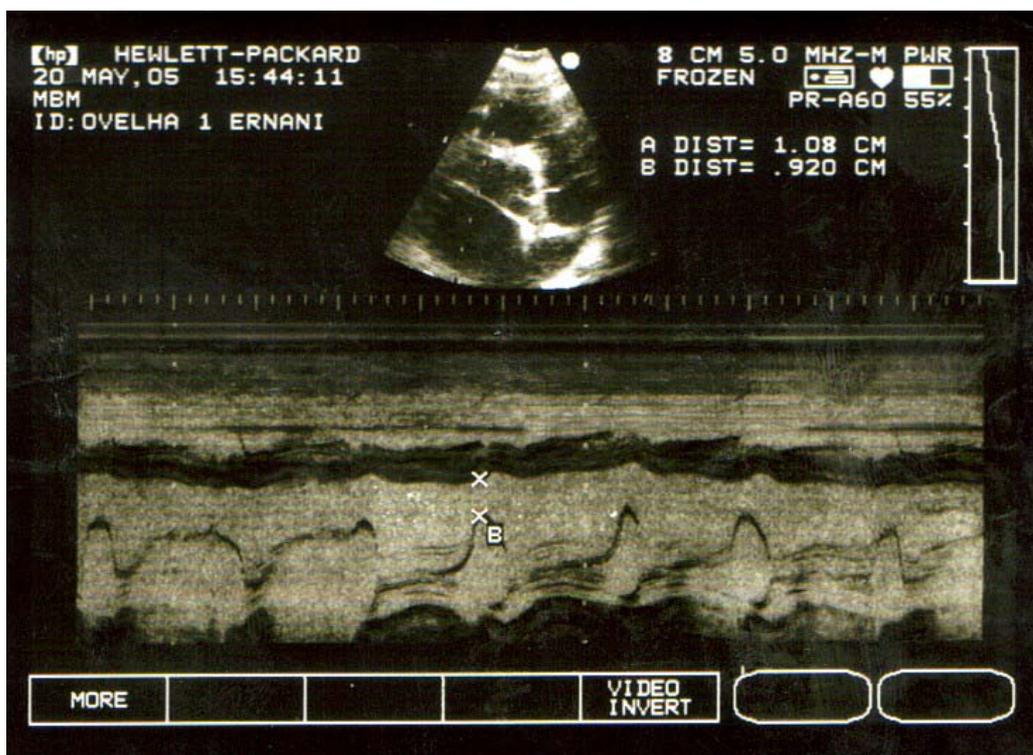


Figura 8 – Imagem ecocardiográfica, Modo M, do ovino 1, utilizada para obtenção dos índices funcionais.

Nenhuma das mensurações dimensionais obtidas através do modo-M apresentou diferenças significativas entre os grupos ou entre os tempos, permitindo inferir que *M. rigida*, nas condições deste experimento não causou nenhum indício de dilatação ventricular ou hipertrofia do septo ou da parede ventricular. Ademais, considerando que as dimensões correlacionam-se com o peso corporal, elas mantiveram-se dentro da faixa de normalidade para a espécie, preconizado por

Moses & Ross, (1987). Alterações significativas nestas dimensões só puderam ser observadas após um período acima de 30 dias em alguns modelos de insuficiência cardíaca crônica reproduzida em ovelhas (Devlin et al., 2000; Huang et al., 2004).

Nas Tabelas 16 a 22 são apresentadas as médias das dimensões obtidas no modo-M.

Tabela 16 – Espessura do septo em sístole de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de *M. rigida* Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) (mm, média \pm desvio padrão).

Grupos	Tempo decorrido da administração da suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> (dias)		
	T0	T3	T7
G1	10,77 $\pm 0,87$	10,59 $\pm 1,38$	12,06 $\pm 1,40$
G2	9,37 $\pm 0,73$	10,34 $\pm 1,77$	10,89 $\pm 1,24$
G3	9,34 $\pm 1,40$	9,71 $\pm 0,97$	9,78 $\pm 0,69$

Não houve diferença estatística pelo teste de Duncan, ($P > 0,05$)
CV: 12,2

Tabela 17 – Espessura do septo em diástole de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de *M. rigida* Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) (mm, média \pm desvio padrão).

Grupo	Tempo decorrido desde a administração da suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> (dias)		
	T0	T3	T7
G1	7,17 $\pm 1,00$	7,23 $\pm 0,69$	7,50 $\pm 0,75$
G2	6,85 $\pm 0,52$	8,13 $\pm 0,97$	7,52 $\pm 0,80$
G3	7,63 $\pm 0,78$	7,67 $\pm 1,08$	7,75 $\pm 1,03$

Não houve diferença estatística pelo teste de Duncan, ($P > 0,05$)
CV: 10,3

Tabela 18 – Diâmetro interno do ventrículo esquerdo em sístole de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de *M. rigida* Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) (mm, média \pm desvio padrão).

Grupo	Tempo decorrido desde a administração da suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> (dias)		
	T0	T3	T7
G1	20,50 $\pm 2,23$	21,16 $\pm 2,15$	20,98 $\pm 1,65$
G2	21,18 $\pm 1,58$	23,22 $\pm 4,16$	19,20 $\pm 1,91$
G3	21,66 $\pm 2,72$	22,34 $\pm 3,80$	23,36 $\pm 2,06$

Não houve diferença estatística pelo teste de Duncan, ($P > 0,05$)
CV: 10,6

Tabela 19 – Diâmetro interno do ventrículo esquerdo em diástole de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de *M. rigida* Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) (mm, média ± desvio padrão).

Grupo	Tempo decorrido desde a administração da suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> (dias)		
	T0	T3	T7
G1	33,62 ±2,08	33,92 ±2,60	35,80 ±2,46
G2	33,80 ±1,44	34,54 ±2,65	33,12 ±1,17
G3	33,50 ±2,63	33,40 ±1,82	33,46 ±1,90

Não houve diferença estatística pelo teste de Duncan, (P>0,05)
CV: 5.0

Tabela 20 – Espessura da parede do ventrículo esquerdo em sístole de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de *M. rigida* Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) (mm, média ± desvio padrão).

Grupos	Tempo decorrido da administração da suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> (dias)		
	T0	T3	T7
G1	11,35 ±0,88	11,20 ±1,00	12,28 ±1,51
G2	11,08 ±0,33	11,56 ±1,20	11,37 ±1,50
G3	10,84 ±1,09	10,68 ±1,00	10,19 ±1,25

Não houve diferença estatística pelo teste de Duncan, (P>0,05)
CV: 10.2

Tabela 21 – Espessura da parede do ventrículo esquerdo em diástole de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de *M. rigida* Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) (mm, média ± desvio padrão).

Grupos	Tempo decorrido da administração da suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> (dias)		
	T0	T3	T7
G1	6,03 ±1,05	6,89 ±0,81	5,42 ±0,60
G2	6,92 ±0,71	7,94 ±1,46	5,79 ±1,13
G3	6,77 ±1,01	6,88 ±0,60	6,44 ±0,72

Não houve diferença estatística pelo teste de Duncan, (P>0,05)
CV: 11.24

Tabela 22 – Separação septal do ponto E da válvula mitral de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de *M. rigida* Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) (mm, média ± desvio padrão).

Grupo	Tempo decorrido desde a administração da suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> (dias)		
	T0	T3	T7
G1	4,89 ±0,62	3,71 ±1,16	5,08 ±0,74
G2	4,13 ±0,37	4,50 ±0,24	4,34 ±0,27
G3	3,69 ±0,34	4,48 ±0,51	4,49 ±0,44

Não houve diferença estatística pelo teste de Duncan, (P>0,05)
CV: 15,77

Em relação aos índices funcionais estudados, a comparação com a literatura indica que a *M. rigida* causou redução nesses índices, pois verificou-se que a fração de encurtamento foi mais baixa nos animais tratados em relação aos valores normais de 37,2% (Moses & Ross, 1987), 42% (Dodic et al., 2001), e 40% (Rabbani et al., 2006) descritos na literatura para ovelhas normais. Nesse experimento ela foi apenas 32,4% no Grupo 2 e menor ainda, 29,5%, no Grupo 3 ao fim da administração da planta (T3 e

T7 respectivamente), enquanto que as médias do Grupo controle (G1) mantiveram-se muito semelhantes aos valores normais relatados por aqueles autores. A conclusão de que a *M. rigida* afetou a fração de escurtamento é reforçada pelas figuras 9 e 10, onde observa-se que no ovino 1 houve uma redução de 34,8 para 13,6 após a administração da planta, o que representa diminuição de 60% e constitui alteração de grande significado clínico.

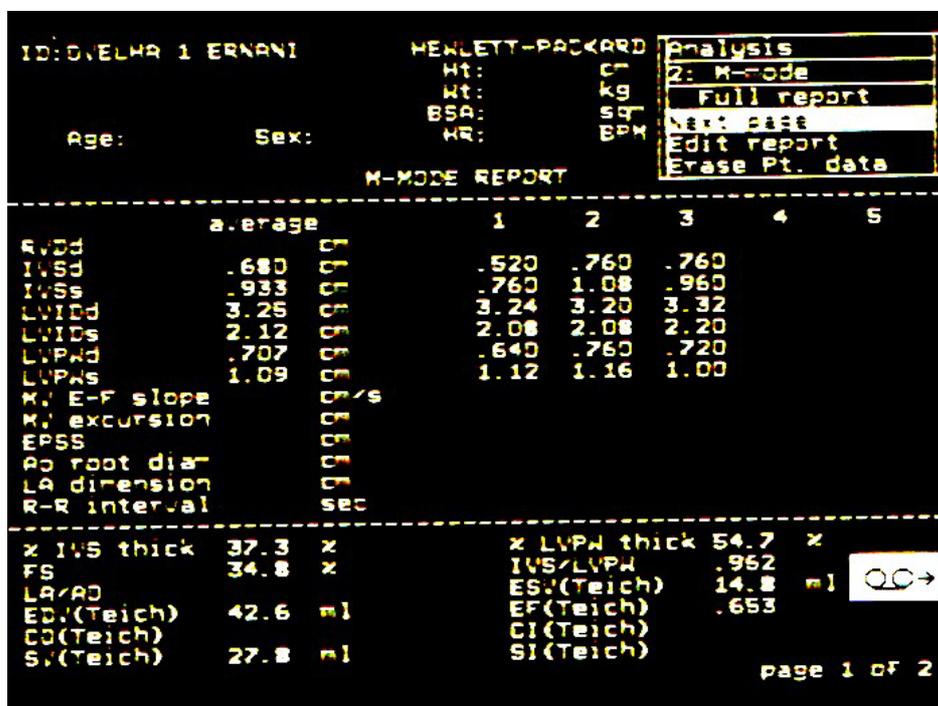


Figura 9– Valores ecocardiográficos, Modo M, do ovino 1 antes da administração da suspensão aquosa de *Mascagnia rigida* Griseb onde se verifica o valor de 34,8% para a fração de encurtamento sistólico (FS).

ID: OVELHA 1 ERNANI		HEWLETT-PACKARD		20 MAY 05		
Age:		Sex:		Ht: cm	16:02:41	
				Wt: kg		
				BSA: sqm		
				HR: BPM		
M-MODE REPORT						
	average		1	2	3	4
RVDD		cm				
IVSd	.800	cm	.800	.800	.800	.800
IVSs	.935	cm	1.05	.840	.950	.900
LVIDd	3.57	cm	3.70	3.52	3.65	3.40
LVIDs	3.08	cm	2.70	3.28	3.45	2.90
LVPWd	.872	cm	.950	.840	.850	.850
LVPWs	.957	cm	1.15	.680	1.00	1.00
MV E-F slope		cm/s				
MV excursion		cm				
EPSS		cm				
Ao root diam		cm				
LA dimension		cm				
R-R interval		sec				
% IVS thick	16.9	%		% LVPW thick	9.74	%
FS	13.6	%		IVS/LVPW	.917	
LA/AO				ESV(Teich)	37.4	ml
EDV(Teich)	53.3	ml		EF(Teich)	.298	
CO(Teich)				CI(Teich)		
SV(Teich)	15.9	ml		SI(Teich)		

Figura 10 – Valores ecocardiográficos, Modo M, do ovino 1 após 3 dias de administração da suspensão aquosa de *Mascagnia rigida* Griseb onde se verifica o valor de apenas 13,6% para a fração de encurtamento sistólico (FS).

Também para a fração de ejeção, os valores foram mais baixos nos animais tratados em relação aos valores normais de 68% (Devlin et al., 2000) e 71% (Rabbani et al., 2006). Nesse experimento ela foi apenas 60,72% no Grupo 2 e menor ainda, 54,64%, no Grupo 3 ao fim da administração da planta (T3 e T7 respectivamente), enquanto que as médias do Grupo controle (G1) mantiveram-se muito semelhantes aos valores normais de literatura.

Assim, apesar de a análise estatística não ter evidenciado que a função cardíaca foi afetada por *M. rigida* (Tabelas 23 e 24), a comparação com a literatura indica que isso tenha ocorrido. Ademais, a redução dos índices funcionais, sobretudo a fração de encurtamento foi o achado de maior significado observado durante a realização dos exames EcoDopplercardiográficos, havendo redução de até 50% em alguns ovinos.

Tabela 23 – Percentual de encurtamento sistólico do ventrículo esquerdo de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de *M. rigida* Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) (%).

Grupos	Tempo decorrido da administração da suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> (dias)		
	T0	T3	T7
G1	39,04	37,61	41,34
G2	37,28	32,42	41,97
G3	35,48	33,30	29,52

Não houve diferença estatística pelo teste de Duncan, ($P > 0,05$)
CV: 12,5

Tabela 24 – Fração de ejeção do ventrículo esquerdo de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de *M. rigida* Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) (%).

Grupos	Tempo decorrido da administração da suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> (dias)		
	T0	T3	T7
G1	70,44	68,60	73,14
G2	68,10	63,38	73,07
G3	66,38	60,72	54,64

Não houve diferença estatística pelo teste de Duncan, ($P > 0,05$)
CV: 9.4

Reforçando a conclusão de que a *M. rigida* afeta a função cardíaca, as Tabelas 23 e 24, assim como as Figuras 11 e 12, demonstram que as médias dos índices foram numericamente menores nos animais tratados, sobretudo nos animais que receberam a planta durante mais

tempo (G3) e que esses índices voltavam a ser normais após a última administração da planta, como observado nos animais tratados por 3 dias (G2); além do mais esse comportamento é condizente com a evolução das observações clínicas discutidas anteriormente.

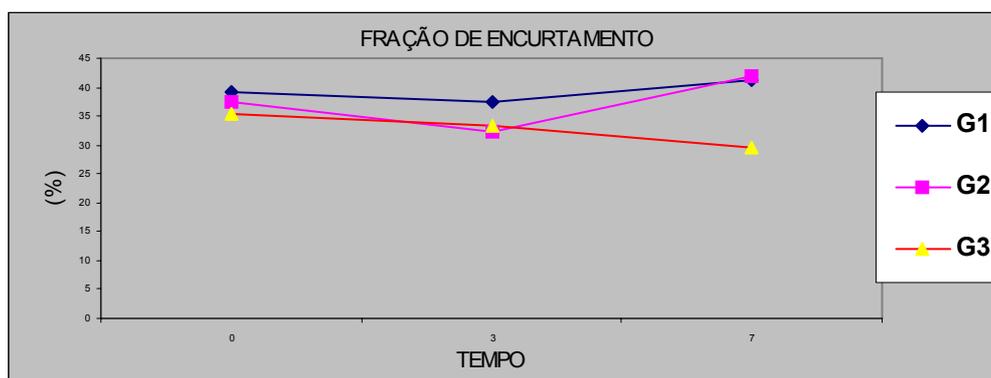


Figura 11 – Perfil da fração de encurtamento sistólico do ventrículo esquerdo de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de *Mascagnia rigida* Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) (%).

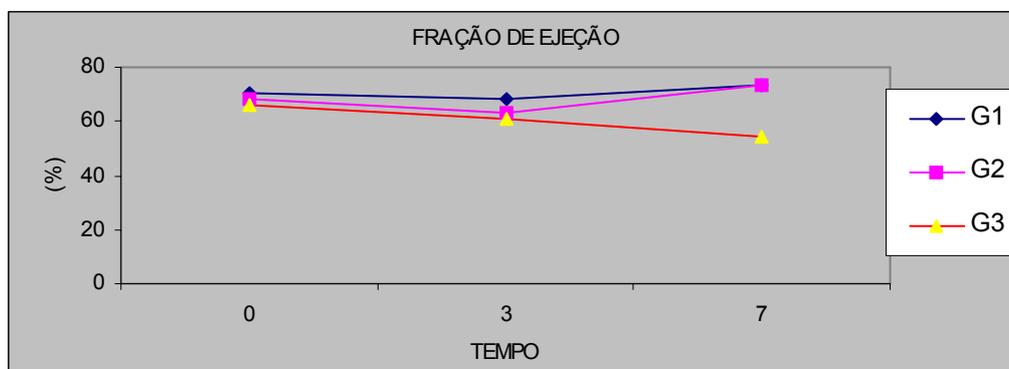


Figura 12 – Perfil da fração de ejeção do ventrículo esquerdo de ovinos do grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de *Mascagnia rigida* Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) (%).

O percentual de encurtamento sistólico do ventrículo esquerdo consiste basicamente na diferença percentual do diâmetro menor do ventrículo no final da diástole e da sístole. É uma variável relacionada à contratilidade miocárdica, conhecida como índice funcional do ventrículo esquerdo. Da mesma forma, a fração de ejeção também é um índice funcional utilizado para avaliar a função ventricular, representando o volume ejetado como uma porcentagem do volume diastólico final do ventrículo esquerdo, estimado pelo modo-M (Kittleson & Kienle, 1998).

Redução na fração de encurtamento e na fração de ejeção ocorre frequentemente nos estágios iniciais da insuficiência cardíaca e são indicativos de que a função ventricular está sendo afetada (Kittleson & Kienle, 1998). Apesar da possibilidade de ter havido um possível comprometimento cardíaco pela administração de *M. rigida* a taxa de mortalidade foi muito baixa nos animais tratados. Uma explicação para isso pode ser a de que quando a função ventricular diminui, uma hierarquia de sistemas neurohumorais é progressivamente estimulado para manter a perfusão tecidual nos órgãos vitais (Charles et al., 2003), podendo inclusive o aumento da frequência cardíaca observada nos ovinos tratados ser um efeito da ativação desses sistemas.

O aumento da frequência cardíaca é o mais simples e mais efetivo mecanismo para aumentar o débito cardíaco, entretanto taxas muito altas, acima de certo limite, podem ser ineficientes e pode haver uma diminuição no débito. Isso ocorre devido principalmente a um encurtamento do tempo diastólico, o que limitaria o adequado enchimento dos ventrículos e também a oxigenação do miocárdio do ventrículo esquerdo, o qual ocorre principalmente durante a diástole. Adicionalmente o miocárdio passa a requerer e gastar mais oxigênio em uma situação em que o aporte coronário pode estar relativamente diminuído, deixando evidente sua fragilidade em situações de taquicardia (Swenson & Reece, 1996).

Nos ovinos tratados por *M. rigida* ficou evidente um aumento excessivo na frequência cardíaca em relação aos ovinos não tratados em condições de exercício. Somando-se a isso a redução na função ventricular observada no

ecoDopplercardiograma, pode-se pressupor que em animais mais gravemente intoxicados um possível mecanismo para a fase final da morte súbita causada por essa planta seja a baixa oxigenação do miocárdio devido a uma redução relativa no fluxo coronário associado ao maior consumo de oxigênio em situações de grande esforço físico.

Segundo Huang et al. (2004), interferência no fluxo coronário é o método mais usado para causar infarto ou dano isquêmico no coração e reproduzir insuficiência cardíaca em modelos experimentais com ovelhas. A isquemia produzida nessas condições foi suficiente para causar arritmias, principalmente fibrilação ventricular e morte por insuficiência cardíaca aguda em muitos animais, mesmo não tendo sido encontradas alterações histopatológicas (Devlin et al., 2000; Rabbani et al., 2006). Estas observações, associadas aos resultados desse experimento, apontam para que o mais provável determinante da morte súbita seja a arritmia.

Em relação à via pela qual *M. rigida* inicia o processo de intoxicação que vai culminar com a morte súbita, as discussões a esse respeito até o momento são apenas hipóteses em função da grande complexidade dos mecanismos que regulam o funcionamento cardíaco, até que sejam mais bem investigados. Para tal, experimentos devem ser desenvolvidos utilizando material vegetal padronizado, métodos permanentes de monitoração eletrocardiográficas e demais variáveis no sangue, realizar mais testes bioquímicos que demonstrem danos cardíacos além de também utilizar substâncias farmacológicas como, por exemplo, bloqueadores de receptores específicos. Paralelamente devem ser realizados experimentos com coração ou tecido cardíaco *in vitro*, sob efeito dos diferentes constituintes químicos presentes na *M. rigida*, e pesquisar as reações que ocorrem em vários aspectos, principalmente nos canais iônicos.

4.6. AVALIAÇÕES LABORATORIAIS

4.6.1. Bioquímica sérica

Não houve nenhuma diferença estatística com significado clínico entre os grupos ou entre os tempos para todas as variáveis estudadas. Somente o cálcio apresentou diferença estatística

para o Grupo 2. Entretanto, esse grupo apresentou nível mais baixo que o Grupo controle mesmo no T0, e o Grupo Controle também apresentou variações ao longo dos tempos, indicando que outros fatores podem ter influenciado os resultados dessa variável. Essas variações também não apresentaram importância clínica, dentro das condições do experimento. As médias dos valores dos exames laboratoriais de bioquímica sérica de todos os tempos do período experimental e sua análise estatística estão apresentadas nas Tabelas 25 a 33 do Anexo.

4.6.2. Hematologia

A administração da suspensão aquosa de *M. rigida* Griseb não afetou nenhuma das variáveis estudadas durante o período experimental. As médias dos valores hematológicos dos ovinos de todos os grupos em todos os tempos do período experimental e sua análise estatística estão apresentadas nas Tabelas 34 a 45 do Anexo.

4.7. RESULTADOS DE NECROPSIA E HISTOPATOLÓGICOS

Além do ovino 1 (G2), que morreu, todos os ovinos que receberam tratamento com a planta e um ovino do grupo controle foram necropsiados imediatamente após terem sido submetidos à eutanásia. Não foram observadas alterações macroscópicas em todos os órgãos de todos os animais necropsiados e também os exames anatomo-histopatológicos não revelaram alterações significativas, concordando com maior parte da literatura (Tokarnia et al., 1961; Santos, 1975; Tokarnia et al., 1994, Tokarnia et al., 2000)

Em síntese, os resultados clínicos e ecocardiográficos e fitoquímicos do presente estudo, associados aos demais relatos de literatura sugerem que a *M. rigida* possui mais de um princípio tóxico, 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. O fato de haver relatos de animais morrerem sem terem apresentado lesões cardíacas, 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.

5. CONCLUSÕES

Considerando as condições em que foi realizada esta pesquisa e de acordo com os resultados obtidos, pode-se concluir que:

1. A *M. rigida* possui grupos de constituintes fitoquímicos de importância toxicológica, principalmente saponinas e taninos.
2. As características microanatômicas da *M. rigida* podem servir de subsídio para sua identificação em tecidos vegetais no rúmen de animais possivelmente intoxicados.
3. As folhas frescas de *M. rigida* são tóxicas para ovinos jovens quando administradas experimentalmente por via oral, trituradas com água, em uma dose equivalente a 20 gramas de folhas por quilo de peso vivo.
4. A *M. rigida* acomete a função cardíaca, demonstrada pela taquicardia, significativamente maior em condições de repouso e principalmente durante o esforço físico, pela redução na fração de ejeção e na fração de encurtamento sistólico em ovinos intoxicados.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASLANI, M. R.; MOVASSAGHI, A. R.; MOHRI, M. et al. Clinical and pathological aspects of experimental oleander (*Nerium oleander*) toxicosis in sheep. *Vet. Res. Commun.*, v. 28, p. 609-616, 2004.
- BATATINHA, M. J. M.; DE-SOUZA-SPINOSA, A. H.; BERNARDI, M. M. Toxic effects of *M. rigida* in laboratory animals. *Vet. Hum. Toxicol.*, v. 30, n. 3, p. 259, 1988.
- BETTIOL, W.; GHINI, R.; MORANDI, M. A. B. Alguns métodos alternativos para o controle de doenças de plantas disponíveis no Brasil. In: VENZON, M.; PAULA JÚNIOR, T. J. P.;

- PALLINI, A. *Controle alternativo de pragas e doenças*. Viçosa: EPAMIG/CTZM-UFV, 2005. p. 163-183.
- BHAT, T. K.; SINGH, B.; SHARMA, O. P. Microbial degradation of tannins – a current perspective. *Biodegrad.*, v. 9, p. 343-347, 1998.
- BOON, J. A. *Manual of veterinary echocardiography*. Baltimore: Williams & Wilkins, 1998. 261p.
- BORENSTEIN, N.; BRUNEVAL, P.; BEHR, L. et al. An ovine model of chronic heart failure: echocardiographic and tissue Doppler imaging characterization. *J. Card. Surg.*, v. 21, p. 50-56, 2006.
- BOTHA, C. J.; RUNDBERGET, T.; WILKINS, A. L. et al. Seasonal variation in cotyledoside concentration of *Tylecodon wallichii* (Harv.) Tölken subsp. *wallichii* sampled in a krimpsiekte-prevalent region. *Onderstepoort J. Vet. Res.*, v. 68, p. 1-9, 2001.
- BOTHA, C. J.; VAN DER LUGT, J. J.; ERASMUS G. L. et al. Krimpsiekte associated with thalamic lesions, induced by the neurotoxic cardiac glycoside, cotyledoside, isolated from *Tylecodon wallichii* (Harv.) toelken subsp. *wallichii*. *Onderstepoort J. Vet. Res.*, v. 64, p. 189-194, 1997.
- BOURKE, C. A.; CARRIGAN, M. J. Mechanisms underlying *Phalaris aquatica* “sudden death” syndrome in sheep. *Aust. Vet. J.*, v. 69, p. 165-167, 1992.
- 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. *Clinic. Sci.*, v. 104, p. 429-436, 2003.
- COSTA, A. F. *Farmacognosia*. 4. ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1986. 1031p.
- COUCEIRO, J. E. M.; SILVA, J. A. Observações e ensaios sobre a alegada intoxicação de bovinos por plantas, no Estado de Pernambuco. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 15, Rio de Janeiro. *Anais...* Rio de Janeiro: UFRRJ, 1976. 9p.
- DANTAS BARROS, A. M.; PAIVA, R. L. R. *Roteiro prático de farmacognosia I*. Belo Horizonte: Faculdade de Farmácia - UFMG, 1988. 38p.
- DEVLIN, G.; MATTHEWS, K.; McCracken, G.; STUART, S. et al. An ovine model of chronic stable heart failure. *J. Cardiac Fail.*, v. 6, n. 2, p. 140-143, 2000.
- DÖBEREINER, J.; GAVA, A.; CONSORTE, L. B. et al. Intoxicação experimental por *Mascagnia pubiflora* (Malpighiaceae) em coelhos. *Pes. Vet. Bras.*, v. 6, n. 2, p. 51-57, 1986.
- DODIC, M.; SAMUEL, C.; MORITZ, K. et al. Impaired cardiac functional reserve and left ventricular hypertrophy in adult sheep after prenatal dexamethasone exposure. *Circ. Res.*, v. 89, p. 623-629, 2001. Disponível em: <<http://circres.ahajournals.org/cgi/content/full/89/7/623>> Acesso em: 31 mar. 2006.
- FERNANDEZ, N. S.; MACRUZ, R. Toxicidade da “corona” - *Mascagnia pubiflora* (Juss.) Griseb (Malpighiaceae). *Arq. Inst. Biol.*, v. 31, n. 1, p. 1-4, 1964.
- FERREIRA NETO, J. M.; VIANA, E. S.; MAGALHÃES, L. M. *Patologia Clínica Veterinária*, 2. ed. Belo Horizonte: Rabelo, 1982. 293p.
- FRIDERICIA, L. S. Die systolendauer im elektrokardiogramm bei normalen menschen und bei herzkranken. *Acta Med. Scand.*, v. 53, p. 469-486, 1920.
- 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.
- GRIESS, D.; RECH, J. Diagnostic d’une intoxication aiguë par des renoncules (*Ranunculus acris* L. et *Ficaria ranunculoides* L.) chez le cheval. *Revue Méd. Vét.*, v. 148, n. 1, p. 55-60, 1997.
- GRISEBACH, A. Malpighiaceae. In: MARTIUS, K. (org.). *Flora Bras.*, v. 11, n. 1, p. 1-24, 1858.

- 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.sbq.org.br/cd29ra/resumos/T1315-2.pdf>> Acesso em: 30 out. 2006.
- HUANG, Y.; HUNYOR, S. N.; JIANG, L. et al. Remodeling of the chronic severely failing ischemic sheep heart after coronary microembolization: functional, energetic, structural and cellular responses. *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.*, v. 286, p. 2141-2150, 2004.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. Banco de dados agregados. Sistema IBGE de recuperação automática - SIDRA, 1996. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/pecua/default.asp>>. Acesso em: 08 maio 2007.
- ITAKURA, Y.; HABERMEHL, G.; MEBS, D. Tannins occurring in the toxic Brazilian plant *Thiloa glaucocarpa*. *Toxicon.*, v. 25, n. 12, p. 1291-1300, 1987.
- JAIN, N. C. *Schalm's veterinary hematology*. 4. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1986. 1221p.
- KER, J.; WEBB, E. C.; KER, J. A. et al. The heart remembers: observations of cardiac memory in the Doper sheep heart. *J. Vet. Res.*, v. 70, p. 299-305, 2003.
- KIRBERGER, M.; VAN DEN BERG, J. S. Pulsed wave Doppler echocardiographic evaluation of intracardiac blood flow in normal sheep. *Res. Vet. Sci.*, v. 55, p. 189-194, 1993.
- KITTLESON, M. D.; KIENLE, R. D. *Small animal cardiovascular medicine*. 1. ed. St. Louis: Mosby, 1998. 603p.
- 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.
- KRAUS, J. E.; ARDUIN, A. *Manual básico de métodos em morfologia vegetal*. Seropédica: EDUR, 1997.
- LEITE, R. S.; *Identificação e avaliação de plantas pastejadas por caprinos pertencentes ao projeto Cabras Comunitárias do Médio Jequitinhonha*. 2005. 71f. il. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- LUENGO, M. T. L. Flavonoides. *OFFARM*, v. 21, n. 4, p. 108-114, 2002.
- MAKKAR, H. P. S. Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. *Small Rumin. Res.*, v. 49, p. 241-256, 2003.
- MATOS, J. F. A. *Introdução à fotoquímica experimental*. Fortaleza: UFC, 1988. 128p.
- MEDEIROS, R. M.; NETO, S. A.; BARBOSA, R. C. et al. Sudden bovine death from *M. rigida* in northeastern Brazil. *Vet. Hum. Toxicol.*, v. 44, n. 5, p. 286-288, 2002.
- MEINTJES, R. A.; BOTHA, C. J.; PROZESKY, L. Toxicity, pathophysiology and pathology in sheep following doping of the nephrotoxic plant *Nolletia gariepina* (DC) Matf. *Onderstepoort J. Vet. Res.*, v. 72, p. 39-53, 2005.
- 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.
- MOAINIE, S. L.; GORMAN III, J. H.; GUY, T. S. et al. An ovine model of postinfarction dilated cardiomyopathy. *Ann. Thorac. Surg.*, v. 74, p. 753-760, 2002b.
- MOAINIE, S. L.; GUY, T. S.; GORMAN III, J. H. et al. Infarct restraint attenuates remodeling and reduces chronic ischemic mitral regurgitation after postero-lateral infarction. *Ann. Thorac. Surg.*, v. 74, p. 444-449, 2002a.
- MOREIRA, M. D.; PINCANÇO, M. C.; SILVA, E. M. da. et al. Uso de inseticidas botânicos no controle de pragas. In: VENZON, M.; PAULA JÚNIOR, T. J. P.; PALLINI, A. *Controle*

- alternativo de pragas e doenças*. Viçosa: EPAMIG/CTZM-UFV, 2005. p. 89-120.
- MOSES, B. L.; ROSS, J. N. Jr. M-mode echocardiographic values in sheep. *Am. J. Vet. Res.*, v. 48, n. 9, p. 1313-1318, 1987.
- NASCIMENTO, M. S. Flavonóides da *Mascagnia pubiflora*. In: 18 Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 1995, Caxambú. 18 Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 1995.
- NASCIMENTO, M. S. Inhaltstoffe aus *M. rigida* und *Mascagnia pubiflora*. 1991. 149f. Tese (Doutorado em Química) – Chemisches Institut Tierärztliche Hochschule Hannover. Hannover.
- NASCIMENTO, M. S.; HABERMEHL, G. G. Two naphtho- γ -pyrone glycosides from *M. rigida*. *Fitoterapia*, v. 66, n. 6, 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, 247-254, 1982.
- NUNES, S. G. Controle de plantas invasoras em pastagens cultivadas nos cerrados. Embrapa Gado de Corte, 2001. Disponível em <<http://www.cnpge.embrapa.br/publicacoes/doc/doc117/03principais.html>>. Acesso em: 24 ago. 2004.
- OLIVEIRA, F. de; AKISUE, G. *Fundamentos de farmacobotânica*. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2000. 178p.
- PARAGUASSÚ, A. A. *Intoxicação experimental por M. rigida (Malpighiaceae) em caprinos no nordeste do Brasil*. 1983. 65f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Itaguaí.
- PARREIRA, V. F. *Aspectos clínicos e anatomo-histopatológicos da intoxicação experimental de bovinos pela Mascagnia pubiflora (Juss) Gris., "Timbó"*. 1980. 31f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- PEREIRA, A. S. da; SANTOS, L. F. L.; PINHEIRO, D. C. S. Alterações eletrolíticas no sangue de caprinos inducidas pela administração oral de tingüi (*M. rigida* Griseb.) VI Encontro de Iniciação Científica da UECE, 1997. v. 1, p. 218-218.
- PFISTER, J. A.; PANTER, K. E.; GARDNER, D. R. et al. Alkaloids as anti-quality factors in plants on western U.S. rangelands. *J. Range Manage.*, v. 54, p. 447-461, 2001.
- PINHEIRO, D. C. S. N.; PEREIRA, A. S.; SANTOS, L. F. L. Intoxicação experimental em caprinos sem raça definida com tingüi (*M. rigida* Malpighiaceae). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA. 1996. *Anais...* Goiânia, 1996. v. 1, p. 14.
- PRETORIUS, P. J.; VAN ROOYEN, J. M.; VAN RYSSSEN, J. C. J. et al. Experimental gallop rhythm in sheep with gousiekte: correlation of changes in amplitude with haemodynamic parameters. *Onderstepoort J. Vet. Res.*, v. 55, p. 221-225, 1988.
- PUGH, D. G. *Sheep & goat medicine*. 1. ed. Philadelphia: Saunders, 2002. 468p.
- RABBANI, S.; AHMADI, H.; FAYAZZADEH, E. et al. Induced myocardial infarction using ligation of the left anterior descending coronary artery major diagonal branch: development of an ovine model. *J. Tehran Heart Center*, v. 1, n. 2, p. 89-93, 2006.
- RADOSTITIS, O. M.; GAY, C. C.; HINCHICLIFF, K. W. *Veterinary medicine*. 9. ed. Philadelphia: Saunders, 2000. 1877p.
- RAMOS, G.; FRUTOS, P.; GIRÁLDEZ, F. J. et al. Los compuestos secundarios de las plantas en la nutrición de los herbívoros. *Arch. Zootec*, v. 47, n. 180, p. 597-620, 1998.
- 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.

- ROBBERS, J.; SPEEDIE, M.; TYLER, V. E. *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.
- SAAD, A. D.; ANDRADE, S. O.; AGUIAR, A. A. The toxic effects of *Mascagnia pubiflora* (Juss.) Griseb. *An. Acad. Brasil. Ciênc.*, v. 42, p. 235-244, 1970.
- SANTOS, H. L. *Aspectos clínicos, laboratoriais e anátomo-histopatológicos, na intoxicação experimental de bovinos pela M. rigida (Juss) Gr.* 1975. 36f. il. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- 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, 2001.
- SCHIESSL, B.; CHIZZOLA, R.; FRANZ, Ch. Untersuchung von magen-und darminhalten auf pflanzliche reste zum nachweis von pflanzenvergiftungen – möglichkeiten und grenzen. *Wien. Tierärztl Mschr.*, v. 84, p. 39-46, 1997.
- SCHULTZ, R. A.; PRETORIUS, P. J.; TERBLANCHE, M. An electrocardiographic study of normal sheep using a modified technique. *Onderstepoort J. Vet. Res.*, v. 39, n. 2, p. 97-106, 1972.
- SCHULTZ, R. A.; COETZER, J. A. W.; KELLERMAN, T. S. et al. Observations on the clinical, cardiac and histopathological effects of fluoroacetate in sheep. *Onderstepoort J. Vet. Res.*, v. 49, p. 237-245, 1982.
- SILVA, M. B.; ROSA, M. B.; BRASILEIRO, B. G. et al. Desenvolvimento de produtos à base de extratos de plantas para o controle de doenças de plantas. In: VENZON, M.; PAULA JÚNIOR, T. J. P.; PALLINI, A. *Controle alternativo de pragas e doenças*. Viçosa: EPAMIG/CTZM-UFV, 2005. p. 221-246.
- SWENSON, M. J.; REECE, W. O. *Dukes. Fisiologia dos animais domésticos*. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. 856p.
- TILLEY, L. P. *Essentials of canine and feline electrocardiography: interpretation and treatment*. 3. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1992. 470 p.
- TOKARNIA, C. H.; CANELA, C. F. C.; DÖBEREINER, J. Intoxicação por um “tingui” *M. rigida* Gr., 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. 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, 1985b.
- TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J.; CANELLA, C. F. 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.; DÖBEREINER, J.; PEIXOTO, P. V. *Plantas tóxicas do Brasil*. 1. ed. Rio de Janeiro: Helianthus, 2000. 220p.
- TOKARNIA, C. H.; PEIXOTO, P. V.; DÖBEREINER, J. Intoxicação por *Mascagnia aff. rigida* (Malpighiaceae) em coelhos. *Pesq. Vet. Bras.*, v. 5, n. 4, p. 121-128, 1985a.
- TOKARNIA, C. H.; PEIXOTO, P. V.; DÖBEREINER, J. Poisonous plants affecting heart function of cattle in Brazil. *Pesq. Vet. Bras.*, v. 10, n. 1-2, p. 1-10, 1990.
- TÓRIO, R.; CANO, M.; MONTES, A. et al. Comparison of two methods for

- electrocardiographic analysis in Gallega sheep. *Small Rumin. Res.*, v. 24, p. 239-246, 1997.
- VAN DER WALT, J. J.; VAN ROOYEN, J. M.; LÖTTER, A. P. A comparison of haemodynamic and vasoconstrictory responses in sheep with a toxic fraction from *Pachystigma pygmaeum* and with the plant material. *Onderstepoort J. Vet. Res.*, v. 57, p. 157-161, 1990.
- VILLAR, D.; DÍAZ, J. J. O. *Plantas tóxicas de interés veterinario. Casos clínicos*. 1. ed. Barcelona: Masson. 2006. 177p.
- 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. *Brit. J. Pharmacol.*, v. 142, p. 443-452, 2004.
- ZANELLA, D. F. P.; GARCEZ, W. S.; GARCEZ, F. R. et al. Estudo químico de plantas tóxicas para o gado – *Mascagnia pubiflora* (A. Juss) Griseb. Malpighiaceae. 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/T0996-1.pdf>>. Acesso em: 20 nov. 2006.
- WAGNER, H.; BLADT, S. & ZGAINSKI, E.M. *Plant drug analysis*. Springer-Verlag, Berlin. 1984. 320p.

7. ANEXO

Tabela 25 – Concentração de AST de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de *M. rigida* Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) (UI/L, média ± desvio padrão).

Grupos	Tempo decorrido desde a administração da suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> (dias)							
	0	1	2	3	4	5	6	7
G1	40,0 ±2,5	43,0 ±8,4	42,2 ±9,4	41,0 ±8,8	41,2 ±5,9	46,2 ±14,0	43,8 ±12,0	38,0 ±5,6
G2	38,6 ±9,6	46,4 ±21,0	44,2 ±13,0	40,6 ±4,2	47,0 ±3,9	40,0 ±10,0	39,5 ±4,3	36,7 ±9,0
G3	42,6 ±15,0	48,6 ±21,0	49,2 ±21,0	44,6 ±18,0	55,4 ±21,0	54,8 ±23,0	46,0 ±17,0	53,2 ±9,7

Não houve diferença estatística pelo teste de Duncan, (P>0,05)
CV: 5,24

Tabela 26 – Concentração de GGT de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de *M. rigida* Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) (UI/L, média ± desvio padrão).

Grupos	Tempo decorrido desde a administração da suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> (dias)							
	0	1	2	3	4	5	6	7
G1	78 ±25	92 ±27	79 ±30	79 ±26	87 ±40	87 ±28	87 ±39	85 ±30
G2	48 ±21	42 ±19	44 ±14	49 ±15	50 ±12	53 ±23	50 ±20	49 ±21
G3	63 ±24	69 ±28	69 ±27	59 ±25	67 ±20	57 ±18	61 ±26	59 ±22

Não houve diferença estatística pelo teste de Duncan, (P>0,05)
CV: 4,44

Tabela 27 – Concentração de cálcio sérico de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de *M. rigida* Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) (mg/dl, média ± desvio padrão).

Grupos	Tempo decorrido desde a administração da suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> (dias)							
	0	1	2	3	4	5	6	7
G1	9,3 ^{abA} ±0,47	8,9 ^{abcA} ±0,9	7,7 ^{cdA} ±1,3	7,1 ^{cdB} ±0,9	7,8 ^{cdB} ±1,1	8,4 ^{bcdB} ±1,0	8,7 ^{abcA} ±1,5	10,0 ^{aA} ±1,0
G2	7,8 ^{eB} ±0,8	8,5 ^{deA} ±0,9	9,0 ^{cdA} ±1,6	10,6 ^{abA} ±1,0	10,1 ^{abcA} ±0,2	11,3 ^{aB} ±0,9	9,6 ^{bcdA} ±0,4	9,2 ^{cdA} ±0,6
G3	9,6 ^{aA} ±0,6	9,1 ^{aA} ±1,0	8,2 ^{aA} ±1,4	8,0 ^{aB} ±1,4	8,1 ^{aB} ±1,5	9,2 ^{aB} ±0,7	8,5 ^{aA} ±0,6	8,9 ^{aA} ±0,8

Médias com letras diferentes maiúsculas na coluna e minúsculas na linha diferem entre si pelo teste de Duncan, (P>0,05)
CV: 10,1

Tabela 28 – Concentração de Fósforo de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de *M. rigida* Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) (mg/dl, média ± desvio padrão).

Grupos	Tempo decorrido desde a administração da suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> (dias)							
	0	1	2	3	4	5	6	7
G1	7,54 ±1,14	6,51 ±1,97	5,85 ±1,03	6,04 ±0,29	6,73 ±1,13	5,65 ±1,63	7,76 ±2,07	5,80 ±0,41
G2	5,36 ±1,17	4,94 ±1,33	4,77 ±1,11	5,89 ±2,38	5,97 ±2,17	5,87 ±1,21	4,57 ±0,11	5,81 ±2,60
G3	6,83 ±2,8	6,90 ±4,14	5,18 ±1,70	3,84 ±1,70	5,34 ±1,97	5,42 ±3,75	6,00 ±2,33	6,56 ±1,40

Não houve diferença estatística pelo teste de Duncan, (P>0,05)
CV: 10,8

Tabela 29 – Concentração de potássio de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de *M. rigida* Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) (mmol/l, média ± desvio padrão).

Grupos	Tempo decorrido desde a administração da suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> (dias)							
	0	1	2	3	4	5	6	7
G1	4,74 ±1,84	4,44 ±2,01	4,72 ±1,55	5,45 ±1,20	4,92 ±0,64	4,93 ±1,07	4,80 ±1,40	4,78 ±1,11
G2	5,71 ±1,75	5,26 ±1,73	4,25 ±1,86	5,21 ±0,98	6,0 ±1,1	6,26 ±1,88	4,44 ±0,86	5,30 ±1,57
G3	4,15 ±1,04	4,02 ±1,20	4,37 ±1,52	4,92 ±1,73	4,08 ±1,02	5,62 ±1,80	5,10 ±1,21	4,17 ±0,7

Não houve diferença estatística pelo teste de Duncan, (P>0,05)

CV: 17,8

Tabela 30 – Concentração de Proteínas Totais de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de *M. rigida* Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) (g/dl, média ± desvio padrão).

Grupos	Tempo decorrido desde a administração da suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> (dias)							
	0	1	2	3	4	5	6	7
G1	6,01 ±0,6	6,23 ±0,80	5,44 ±0,78	6,14 ±1,10	6,44 ±1,32	6,27 ±1,40	6,55 ±1,31	6,56 ±1,30
G2	8,12 ±2,74	8,02 ±3,47	7,40 ±3,43	9,15 ±4,55	9,30 ±4,90	8,87 ±2,58	6,40 ±1,61	8,21 ±2,87
G3	8,04 ±2,82	7,61 ±3,89	7,41 ±1,57	7,12 ±1,46	5,56 ±1,03	6,20 ±0,36	6,32 ±1,47	5,90 ±0,47

Não houve diferença estatística pelo teste de Duncan, (P>0,05)

CV: 33

Tabela 31 – Concentração de Albumina de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de *M. rigida* Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) (g/dl).

Grupos	Tempo decorrido desde a administração da suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> (dias)							
	0	1	2	3	4	5	6	7
G1	3,42	3,66	3,33	3,52	3,45	3,42	3,58	3,78
G2	3,75	3,32	3,48	3,43	3,13	3,73	3,02	3,09
G3	4,19	4,79	4,46	4,03	3,84	3,74	4,08	4,04

Não houve diferença estatística pelo teste de Duncan, (P>0,05)

CV: 21,0

Tabela 32 – Concentração de Globulinas de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de *M. rigida* Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) (g/dl, média ± desvio padrão).

Grupos	Tempo decorrido desde a administração da suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> (dias)							
	0	1	2	3	4	5	6	7
G1	2,59 ±0,63	2,57 ±0,73	2,10 ±0,70	2,62 ±1,10	3,0 ±1,64	2,85 ±1,5	2,96 ±1,42	2,79 ±1,25
G2	4,37 ±2,07	4,71 ±3,06	3,91 ±2,92	5,72 ±4,3	6,17 ±4,42	5,13 ±2,5	3,38 ±1,0	5,12 ±2,74
G3	3,85 ±0,84	2,82 ±2,73	2,95 ±0,21	3,10 ±1,14	1,72 ±0,95	2,46 ±0,44	2,55 ±1,96	1,86 ±0,90

Não houve diferença estatística pelo teste de Duncan, (P>0,05)

CV: 61,1

Tabela 33 – Concentração de Creatinina de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de *M. rigida* Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) (mg/dl, média ± desvio padrão).

Grupos	Tempo decorrido desde a administração da suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> (dias)							
	0	1	2	3	4	5	6	7
G1	0,84 ±0,44	1,24 ±0,56	0,90 ±0,50	0,80 ±0,37	0,70 ±0,31	0,99 ±0,83	0,93 ±0,70	1,26 ±0,70
G2	1,01 ±0,08	1,20 ±0,04	1,20 ±0,16	1,05 ±0,44	1,02 ±0,04	1,08 ±0,10	0,99 ±0,08	0,96 ±0,08
G3	0,88 ±0,32	0,87 ±0,23	0,95 ±0,36	0,78 ±0,26	0,93 ±0,22	0,86 ±0,26	0,88 ±0,36	0,96 ±0,27

Não houve diferença estatística pelo teste de Duncan, (P>0,05)

CV: 19,7

Tabela 34 – Hemácias* de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de *M. rigida* Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) ($\times 10^6/\mu\text{l}$).

Grupos	Tempo decorrido desde a administração da suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> (dias)							
	0	1	2	3	4	5	6	7
G1	8,9	8,4	8,7	8,7	9,2	9,8	9,6	9,5
G2	7,5	7,7	8,4	7,8	7,2	6,6	6,5	7,1
G3	10,1	9,6	10,0	9,9	9,0	8,2	11,9	9,3

Não houve diferença estatística pelo teste de Duncan, (P>0,05)

CV: 26,2

* 8 a 16 $\times 10^6/\mu\text{l}$ = Valor normal para a espécie (Ferreira Neto et al., 1982)

Tabela 35 – Hemoglobina* de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de *M. rigida* Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) (g/dl).

Grupos	Tempo decorrido desde a administração da suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> (dias)							
	0	1	2	3	4	5	6	7
G1	8,5	9,1	8,9	8,9	9,5	10,1	9,4	9,5
G2	8,6	8,6	9,3	8,6	8,2	7,9	8,1	7,5
G3	9,5	9,5	9,2	9,2	7,8	6,5	10,9	8,7

Não houve diferença estatística pelo teste de Duncan, (P>0,05)

CV: 22,8

* 8 a 16 g/dl = Valor normal para a espécie (Ferreira Neto et al., 1982)

Tabela 36 – Hematócrito* de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de *M. rigida* Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) (%).

Grupos	Tempo decorrido desde a administração da suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> (dias)							
	0	1	2	3	4	5	6	7
G1	30,6	31,0	30,0	30,0	30,2	30,4	29,4	29,4
G2	26,5	26,2	28,4	25,5	25,2	25	24,9	23,6
G3	29,2	29,6	29,1	28,3	25,6	23,0	34,6	27,1

Não houve diferença estatística pelo teste de Duncan, (P>0,05)

CV: 20,1

*24 a 50% = Valor normal para a espécie (Ferreira Neto et al., 1982)

Tabela 37 – Volume globular médio* de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de *M. rigida* Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) (fl).

Grupos	Tempo decorrido desde a administração da suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> (dias)							
	0	1	2	3	4	5	6	7
G1	34,6	36,9	34,5	34,3	32,8	31,4	30,7	31,7
G2	35,7	34,4	34,1	34,0	40,0	46,0	42,0	35,6
G3	29,9	31,7	30,0	30	30,3	30,6	29,3	31,4

Não houve diferença estatística pelo teste de Duncan, (P>0,05)

CV: 15,4

*23 a 48 fl = Valor normal para a espécie (Ferreira Neto et al., 1982)

Tabela 38 – Concentração hemoglobínica globular média* de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de *M. rigida* Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) (%).

Grupos	Tempo decorrido desde a administração da suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> (dias)							
	0	1	2	3	4	5	6	7
G1	27,9	29,3	29,9	29,9	31,5	33,1	32,1	32,4
G2	32,4	32,7	33,1	34,6	33,0	31,4	32,1	31,0
G3	32,5	31,9	31,5	32,2	30,4	29,0	31,5	31,8

Não houve diferença estatística pelo teste de Duncan, (P>0,05)

CV: 8,6

*29 a 35 % = Valor normal para a espécie (Ferreira Neto et al., 1982)

Tabela 39 – Número médio de leucócitos* de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de *M. rigida* Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) ($\times 10^3/\text{mm}^3$).

Grupos	Tempo decorrido desde a administração da suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> (dias)							
	0	1	2	3	4	5	6	7
G1	5,2	4,8	5,2	6,2	6,4	6,6	8,1	6,4
G2	7,7	6,7	12,3	11,5	10,7	10,0	8,7	8,3
G3	10,8	8,8	10,6	9,3	8,1	7,0	10,8	7,1

Não houve diferença estatística pelo teste de Duncan, (P>0,05)

CV: 41,42

* 4 a $12 \times 10^3/\text{mm}^3$ = Valor normal para a espécie (Ferreira Neto et al., 1982)

Tabela 40 – Valores relativos de linfócitos* de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de *M. rigida* Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) (%).

Grupos	Tempo decorrido desde a administração da suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> (dias)							
	0	1	2	3	4	5	6	7
G1	49	49	49	52	45	50	50	56
G2	55	49	48	48	46	49	60	53
G3	55	47	50	50	50	43	43	47

Não houve diferença estatística pelo teste de Duncan, (P>0,05)

CV: 26,5

* 40 a 75= Valor normal médio para ovinos (Jain, 1986).

Tabela 41 – Valores relativos de neutrófilos* de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de *M. rigida* Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) (%).

Grupos	Tempo decorrido desde a administração da suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> (dias)							
	0	1	2	3	4	5	6	7
G1	45	48	47	42	51	46	46	41
G2	41	48	47	46	49	48	37	42
G3	42	49	46	44	44	54	54	48

Não houve diferença estatística pelo teste de Duncan, (P>0,05)

CV: 28,7

* 10 a 50= Valor normal médio para ovinos (Jain, 1986).

Tabela 42 – Valores relativos de monócitos de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de *M. rigida* Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) (%).

Grupos	Tempo decorrido desde a administração da suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> (dias)							
	0	1	2	3	4	5	6	7
G1	4,4	2,6	3,0	5,2	3,6	2,8	2,8	2,4
G2	3,4	2,6	4,0	5,0	4,4	3,0	2,7	4,0
G3	2,0	2,6	2,6	3,6	3,6	2,2	2,2	3,6

Não houve diferença estatística pelo teste de Duncan, (P>0,05)

CV: 53,7

* 0 a 6 = Valor normal médio para ovinos (Jain, 1986).

Tabela 43 – Valores relativos de eosinófilos de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de *M. rigida* Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) (%).

Grupos	Tempo decorrido desde a administração da suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> (dias)							
	0	1	2	3	4	5	6	7
G1	1,2	0,8	1,0	1,0	0,8	1,8	1,8	0,8
G2	0,8	0,2	0,4	0,5	0,4	0,0	0,2	0,5
G3	1,2	0,6	1,4	1,6	1,6	0,4	0,4	0,8

Não houve diferença estatística pelo teste de Duncan, (P>0,05)

CV: 137

* 0 a 10 = Valor normal médio para ovinos (Jain, 1986).

Tabela 44 – Valores relativos de basófilos de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de *M. rigida* Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) (%).

Grupos	Tempo decorrido desde a administração da suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> (dias)							
	0	1	2	3	4	5	6	7
G1	0,2	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,2
G2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
G3	0,0	0,0	0,2	0,2	0,2	0,0	0,0	0,0

Não houve diferença estatística pelo teste de Duncan, (P>0,05)

CV: 438

* 0 a 3 = Valor normal médio para ovinos (Jain, 1986).

Tabela 45 – Valores relativos de bastonetes de ovinos do Grupo controle (G1) e de ovinos que receberam suspensão aquosa de *M. rigida* Griseb consecutivamente durante três dias (G2) e sete dias (G3) (%).

Grupos	Tempo decorrido desde a administração da suspensão aquosa de <i>M. rigida</i> (dias)							
	0	1	2	3	4	5	6	7
G1	0,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,2	0,2
G2	0,0	0,2	0,0	0,2	0,2	0,0	0,0	0,0
G3	0,4	0,0	0,0	0,2	0,2	0,4	0,4	0,6

Não houve diferença estatística pelo teste de Duncan, (P>0,05)

CV: 270