

Perfil bioquímico sanguíneo na intoxicação experimental com extrato de *Mascagnia rigida* (A. Juss.) Griseb. (Malpighiaceae) em coelhos

[Biochemistry profile after experimental intoxication by extract of *Mascagnia rigida* (A. Juss.) Griseb. (Malpighiaceae) in rabbits]

L.R. Borboleta¹, C.R. Labarrère¹, A.F.C. Ribeiro¹, F.O. Paes-Leme², P.R.O. Paes²,
N.M. Ocarino², M.M. Melo^{2*}

¹Aluna de pós-graduação - EV-UFGM - Belo Horizonte, MG

²Escola de Veterinária - UFGM
Caixa Postal 567
30123-970 - Belo Horizonte, MG

RESUMO

Avaliou-se o perfil bioquímico sanguíneo na intoxicação por *Mascagnia rigida*, uma planta tóxica que gera problema econômico para a pecuária, por causar morte súbita. Nove coelhos Nova Zelândia, machos, com massa corporal média de 3,54kg, foram distribuídos em três grupos (G) (n=3). Os animais receberam, durante oito dias consecutivos, o equivalente a 30g/kg de matéria seca da planta em dois tipos de extratos: solúvel em água (GS) e insolúvel em água (GI), e formou-se também o grupo-controle (GC). Os exames bioquímicos foram realizados previamente ao início do experimento até o nono dia. A administração dos extratos da *Mascagnia rigida* causou alterações eletrolíticas que podem justificar alguns sinais clínicos observados e atuar de forma significativa na *causa mortis*.

Palavras-chave: coelho, *Mascagnia rigida*, planta tóxica, perfil bioquímico

ABSTRACT

A study was carried out to evaluate the biochemical profile in *Mascagnia rigida* poisoning, a toxic plant that generates a significant economic problem to livestock, causing "sudden death". Nine New Zealand rabbits, male, 3,54kg mean body weight were divided into three groups (G) (n = 3). The animals received the equivalent of 30g/kg of dry matter in two types of extracts: water-soluble (GS) and insoluble in water (GI), and the control group (CG) (ultra-pure water) for eight consecutive days. Biochemical exams were done prior to the beginning of the experiment until the ninth day. It was concluded that the administration of extracts of *Mascagnia rigida* cause electrolyte imbalances that may justify some clinical signs and act significantly in the cause of death.

Keywords: rabbit, *Mascagnia rigida*, toxic plant, biochemical profile

INTRODUÇÃO

Mascagnia rigida Griseb, da família Malpighiaceae, é uma das plantas tóxicas mais importantes do estado de Minas Gerais, principalmente no norte e nordeste, onde é conhecida popularmente como salsa-rosa e suma-roxa (Melo, 2006).

Sob condições naturais, a intoxicação por *M. rigida* acomete principalmente bovinos (Medeiros *et al.*, 2002), sendo descrita também em ovinos e caprinos (Vasconcelos *et al.*, 2008) e jumentos (Silva *et al.*, 2006). Experimentalmente, além das espécies descritas, a planta mostrou-se tóxica para coelhos (Medeiros *et al.*, 2002; Cobucci *et al.*, 2009), ratos (Cunha, 2008) e camundongos (Melo *et al.*, 2008).

Recebido em 7 de abril de 2011

Aceito em 5 de agosto de 2011

*Autor para correspondência (*corresponding author*)

E-mail: mariliamm@ufmg.br

Alguns trabalhos descreveram os sinais clínicos e as alterações histológicas decorrentes da intoxicação por *M. rigida* em diversas espécies, mas poucos estudaram as alterações bioquímicas. Diante de tal contexto, este trabalho teve o objetivo de realizar um estudo dos perfis hepático, renal, cardiomuscular e dos eletrólitos após a administração da *Mascagnia rigida* utilizando o coelho como modelo experimental.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados nove coelhos, machos, da raça Nova Zelândia branco, com seis meses de idade e com massa corporal média de 3,54kg. Inicialmente, os animais foram desverminados (Ivermectina Mectimax 1% – Agener União Saúde Animal – Brasil.) e alojados em gaiolas metálicas individuais de 90x90x40cm, respeitando um período de quarentena, recebendo água e ração comercial (Nature Multivita – Socil Evialis®) *ad libitum*.

Para obtenção dos extratos, 12kg de folhas maduras de *Mascagnia rigida* foram colhidas no canteiro de plantas tóxicas da Escola de Veterinária da UFMG, em Belo Horizonte, MG, em julho de 2009. A planta utilizada tem exsiccata própria depositada no Herbário de Botânica do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG, sob o número BHCB 100819.

As folhas maduras recém-colhidas foram trituradas em liquidificador com água ultrapura, na proporção de 200g para 400mL de água ultrapura. O material resultante foi colocado em banho ultrassônico por 30 minutos e, após descanso de 10 minutos, foi peneirado, obtendo-se uma solução aquosa. Esta solução foi mantida em repouso em geladeira por 24 horas, formando duas fases distintas. As fases foram separadas em duas soluções: uma solúvel e outra insolúvel em água, ambas concentradas a vácuo (Dia Pump® Compressor Aspirador Modelo CA) em rotavapor, a 70°C em 80rpm.

Para o cálculo do equivalente em matéria seca (MS) e concentração da amostra, foram aliqüotadas cinco folhas de *M. rigida*, pesadas e colocadas na estufa em quintuplicata durante 30 minutos. Após a desidratação, foram novamente pesadas, obtendo-se o valor médio de 35% de MS. As concentrações finais da solução foram de 4,42g/mL de MS de extrato solúvel e 2,71g/mL

de MS de extrato insolúvel de *M. rigida*, com pH de 5,54.

Os extratos foram congelados sob temperatura de -20°C em seringas de 20mL, e três horas antes da administração aos animais, foram retirados do freezer e mantidos em geladeira a 4°C, após o que foram submetidos ao banho ultrassônico (Branson 1510 – Branson® Ultrasonic Cleaner 1510R-MT – USA) por 10 minutos, para homogeneização.

Os coelhos foram distribuídos em três grupos (n=3) e receberam durante oito dias consecutivos, pela via nasoesofágica (Sonda uretral n. 6 em PVC – Markmed®), 30mL de água ultrapura para formar o grupo-controle (GC); ou 26mL de extrato aquoso de *M. rigida* solúvel em água ultrapura equivalente a 30g/kg de MS da planta para formar o grupo solúvel (GS); ou 36mL de extrato aquoso de *M. rigida* insolúvel em água ultrapura equivalente a 30g/kg de MS da planta para formar o grupo insolúvel (GI). Todos os extratos foram divididos em duas administrações diárias, às 8h e 30min e às 14h e 30min.

Amostras de sangue, 4mL, foram obtidas da veia marginal da orelha, antes, dia 0, e após a administração dos extratos, nos dias três, cinco, sete e nove. Cerca de 3mL coletados em tubos sem anticoagulante foram submetidos à centrifugação (Centrífuga Excelsa Baby, Fanem, modelo 208N) a 1500G, para separação do soro, o qual foi utilizado para determinações de fosfatase alcalina (FA), alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), lactato desidrogenase (LDH), creatina quinase (CK), CK fração MB (CK-MB), troponina, ureia, creatinina, magnésio (Mg²⁺), cálcio (Ca²⁺), fósforo (P), cloretos (Cl) e glicose por método cinético em aparelho analisador bioquímico (Cobas Mira – Roche – GMI – Global Medical Instrumentations, Inc., Ramsey – EUA). Colheu-se 1,0mL de sangue em tubo com anticoagulante EDTA, que foi centrifugado a 3.000rpm por 10 minutos para obtenção do plasma, utilizado para determinação da concentração de potássio (K⁺), por meio de leitura em espectrofotômetro (Espectrofotômetro EF1 – Metronic Instrumentos Científicos Ltda.) por método colorimétrico (Potássio – Doles Reagentes e Equipamentos para Laboratórios Ltda. – Goiânia – GO).

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente ao acaso, com parcelas subdivididas, sendo as parcelas os grupos, e as subparcelas os tempos. Para avaliação de normalidade e homocedasticidade, foram utilizados os testes de Lilliefors e Bartlett, respectivamente. As variáveis que não apresentaram distribuição normal, tais como CK, CK-MB e CK-MB/CK, sofreram transformação radicial, e outras, como cloretos, creatinina e magnésio, sofreram transformação logarítmica+1. Os dados referentes aos diferentes grupos e tempos foram analisados pelos programas Graphpad Instat® (GraphPad Software, Inc. – Instat – USA) para triagem, SISVAR® (SISVAR® – UFLA – Brasil) para análise de variância (P<0,05) e análise de regressão (r²>40%). Para os grupos experimentais não foram realizados os testes de hipótese em razão de pequeno grau de liberdade do ensaio.

O projeto de pesquisa foi aprovado pelo CETEA – Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFMG (certificado 187/08).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o período de observação, nenhum coelho dos diferentes grupos experimentais apresentou sinais clínicos de intoxicação. Os valores de FA não apresentaram alteração em relação ao tempo no grupo-controle e nos extratos solúvel e insolúvel. Apesar de os valores de FA (Tab. 1) apresentaram-se abaixo do limite inferior para o coelho proposto por Kaneko *et al.* (2008), 106,2–133,8U/L, nem todos os intervalos de referência refletem com fidelidade os achados esperados na população de interesse. A não correspondência aos valores de referência torna-se irrelevante em razão de os grupos experimentais terem sido constituídos de animais previamente saudáveis e de não terem sido observadas alterações desta enzima nos grupos em relação aos tempos de observação.

Tabela 1. Valores séricos médios de fosfatase alcalina (FA), alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST) de coelhos submetidos à administração de água ultrapura (controle), extrato solúvel e extrato insolúvel em água de *Mascagnia rigida* por via nasoesofágica em diferentes tempos

	Tempo (dias)	Grupo-controle	Grupo solúvel	Grupo insolúvel
FA (U/L)	0	59,33±21,83	68,33±20,84	35,33±8,50
	3	50,00±15,59	42,33±7,57	35,67±11,59
	5	45,67±18,50	46,67±21,20	46,33±16,01
	7	38,67±13,20	51,67±15,31	40,33±15,31
	9	43,67±26,50	43,33±15,50	44,33±10,07
Equação		<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>
ALT (U/L)	0	76,33±21,73	118,33±39,93	138,67±13,8
	3	64,67±21,55	114,67±7,02	65,67±3,79
	5	113,33±13,43	96,67±38,14	138,33±19,40
	7	79,33±5,51	109,67±35,36	102,67±40,02
	9	97,33±69,40	100,00±29,14	85,33±17,50
Equação		<i>ns</i>	<i>ns</i>	y=136,11-52,20(dias) +14,59(dias) ² -1,05(dias) ³ r ² =59,56%
AST (U/L)	0	62,00±26,46	88,00±21,63	87,67±16,62
	3	54,00±34,83	77,00±2,65	44,00±13,45
	5	98,00±60,63	53,33±14,84	59,67±17,79
	7	78,00±57,38	60,67±9,29	45,67±10,02
	9	77,00±43,86	73,67±30,35	78,00±33,45
Equação		<i>ns</i>	<i>ns</i>	y=86,28-16,54 (dias) + 1,71 (dias) ² r ² =78,54%

Coefficientes de variação: FA - 35,0%; ALT - 33,6% e AST- 43,7%.

ns: não significativo pela análise de variância (P>0,05).

Todavia os resultados de FA desta pesquisa diferem dos encontrados por Santos (1975), o qual relatou aumento da FA após a administração de folhas e frutos de *M. rigida* a 12 bovinos durante 30 dias. Como a FA é utilizada como índice colestático e pode indicar obliteração de ductos biliares, o tempo da administração da planta – efeito cumulativo – pode ter sido um fator importante, já que os coelhos receberam *M. rigida* durante oito dias consecutivos.

ALT e AST apresentaram diferença significativa ($P < 0,05$) em relação ao tempo apenas no grupo insolúvel (Tab. 1). A ALT teve comportamento cúbico, e a AST quadrático. O ponto mínimo calculado para a AST, 46,28U/L, segundo a equação quadrática para r^2 de 78,5%, ocorreu no sexto dia. Todos os valores de AST – grupos controle, solúvel e insolúvel nos diferentes tempos – ficaram dentro dos limites estabelecidos por Mader (1997) de 14 a 113U/L. Para os valores de ALT, segundo esse mesmo autor, 48 a 80U/L, podem ser inferidas as mesmas observações feitas em relação à FA.

A enzima citossólica ALT é encontrada em hepatócitos e células musculares esqueléticas dos animais e, como é encontrada em altos níveis em hepatócitos, é utilizada como um marcador usual de injúria hepática. AST é encontrada em diferentes tipos celulares incluindo hepatócitos, eritrócitos e miócitos cardíacos e musculares. Entretanto é mais útil nas avaliações hepatocelular e muscular por causa da sua alta atividade nas células desses tecidos. Como não foi observado aumento de ALT e AST nos coelhos após administração dos extratos de *M. rigida*, pode-se inferir que eles não foram capazes de causar lesão hepática.

Diferentemente deste trabalho, Santos (1975) observou aumento da AST em 12 bovinos que receberam folhas e frutos de *M. rigida* durante 30 dias. Melo et al. (2008) relataram que as frações de *M. rigida* – taninos, flavanoides, alcaloides e saponinas – na dose de 9g/kg, 18g/kg e 27g/kg, não causaram alteração de ALT em camundongos, entretanto provocaram aumento de AST. Saad et al. (1970), ao estudarem os efeitos tóxicos de uma outra espécie de *Mascagnia*, *M. pubiflora*, relataram valores mais elevados tanto de ALT – 66,1U/L – como de AST – 119,6 U/L – em cobaias intoxicadas, quando comparados com animais

saudáveis, 20,01U/L de ALT, e 26,69U/L de AST. Todavia, Lago (2007) não observou aumento sérico de AST em ovinos que receberam solução aquosa equivalente a 20g/kg de *M. rigida* durante três e sete dias.

A diminuição da concentração plasmática de enzimas se deve a três fatores: diminuição de processo lesional, quando em valores altos; diminuição de sua produção, como em caso de hepatopatias crônicas ou mecanismos inibitórios; e aumento de sua excreção (Stockham e Scott, 2008). Como não ocorreu lesão hepática, suspeita-se que tenha havido inibição da produção dessas enzimas de forma semelhante à descrita por Melo (1998) após intoxicação experimental em caprinos pela *Tetrapteryx multiglandulosa* (Malpighiaceae).

A LDH alterou-se nos grupos solúvel e insolúvel, apresentando comportamento linear no solúvel e quadrático no insolúvel (Tab. 2). O ponto mínimo estimado pela equação no grupo insolúvel, 30,12U/L, ocorreu no quarto dia, para $r^2=60,6\%$. Segundo Mader (1997), as concentrações séricas de LDH no quinto e sétimo dias do GS e no quinto dia do GI estiveram abaixo do valor mínimo de referência para a espécie, 34-129U/L. De forma semelhante ao observado nas enzimas ALT e AST no grupo insolúvel, houve diminuição significativa de LDH nos grupos solúvel e insolúvel.

A LDH é uma enzima presente em vários tecidos, entre eles os de musculatura estriada e esquelética, principalmente em músculos de contração rápida (Campbell, 2004). Todavia, essa enzima, assim como a AST, é pouco específica, tornando necessária a avaliação de outras enzimas, como a CK e a CK-MB, além da troponina, uma subunidade de proteína estrutural muscular (Pinto et al., 2010; Ribeiro et al., 2010) para confirmar lesão muscular. A porcentagem de CK-MB em relação ao valor total de CK fornece um dado confiável quando se avalia uma possível lesão do miocárdio, pois valores aumentados de CK-MB acompanhados de aumento de CK podem ser resultantes de esforço físico, por exemplo. Porém, quando se observa aumento de CK-MB não acompanhado de aumento da CK total, a porcentagem dessa isoenzima fica elevada, comprovando lesão específica do músculo cardíaco (Melo et al., 2008).

Perfil bioquímico sanguíneo...

Tabela 2. Valores médios de lactato desidrogenase (LDH) sérica (U/L) de coelhos submetidos à administração de água ultrapura (controle), extrato solúvel e extrato insolúvel em água de *Mascagnia rigida* por via nasoesofágica em diferentes tempos

	Tempo (dias)	Grupo-controle	Grupo solúvel	Grupo insolúvel
LDH (U/L)	0	57,00±27,84	89,67±24,83	63,67±21,39
	3	61,67±22,81	55,00±1,00	38,70±13,67
	5	57,00±6,00	29,63±16,00	15,63±2,49
	7	43,33±7,57	24,67±2,52	52,67±32,19
	9	67,67±44,46	36,67±3,21	48,33±13,01
Equação		ns	y=78,13-6,46(dias) r ² =72,96%	y=63,20-13,56(dias)+1,39(dias) ² r ² =60,56%

Coefficiente de variação: LDH - 50,1%.

ns: não significativo pela análise de variância (P>0,05).

Não foram observadas alterações (P>0,05) nos valores séricos médios de CK, CK-MB e % CK-MB nos diferentes tempos dos grupos (Tab. 3),

fato justificado pelos altos CV e desvio-padrão observados.

Tabela 3. Valores médios de creatina quinase total (CK) e da fração MB (CK-MB) séricas (U/L) e da porcentagem relativa de CK-MB (%) de coelhos submetidos à administração de água ultrapura (controle), extrato solúvel e extrato insolúvel em água de *Mascagnia rigida* por via nasoesofágica em diferentes tempos

	Tempo (dias)	Grupo-controle	Grupo solúvel	Grupo insolúvel
CK (U/L)	0	1112,07±496,21	1006,73±198,40	577,80±190,73
	3	928,03±378,36	778,10±250,56	669,40±270,00
	5	1776,80±577,36	1195,73±432,18	1021,57±649,33
	7	1927,03±702,35	1559,73±1111,17	1268,93±1085,59
	9	1905,87±847,49	1165,43±668,12	616,27±205,03
Equação		ns	ns	ns
CK-MB (U/L)	0	363,73±214,02	413,67±178,01	230,43±177,92
	3	505,40±346,66	276,30±46,55	135,47±55,25
	5	361,03±136,12	320,00±165,85	213,17±58,56
	7	317,87±88,62	224,50±142,39	287,10±212,00
	9	486,27±142,70	577,70±578,02	300,30±116,33
Equação		ns	ns	ns
CK-MB/CK (%)	0	35,89±27,49	43,68±26,17	43,33±29,88
	3	51,19±15,02	38,77±15,38	25,66±21,92
	5	20,39±5,59	25,40±6,25	24,35±9,47
	7	17,20±4,74	15,06±4,33	27,44±14,46
	9	29,90±15,18	45,01±22,57	48,13±2,95
Equação		ns	ns	ns

Coefficientes de variação: CK - 57,4%; CK-MB - 64,8%; CK-MB/CK (%) - 55,7%.

ns: não significativo pela análise de variância (P>0,05).

A mensuração da troponina I (cTnI) apresentou resultados negativos em todos os coelhos e em todos os tempos, e o seu uso como marcador específico indica que não houve lesão miocárdica. A concentração normal de cTnI em coelhos sadios varia de 0,012 a 0,014ng/dL (Jasinska *et al.*, 2006). Como o teste

imunocromatográfico utilizado reage apenas na presença de concentrações acima de 0,5ng/mL, não é possível descartar a possibilidade de ter havido lesões com liberação de pequena quantidade de cTnI. Porém, lesões cardíacas experimentais em coelhos com o uso desse marcador revelaram aumentos maiores que esse

limite (Horton *et al.*, 1995), com concentrações plasmáticas de até 2ng/mL (Pinelli *et al.*, 2002).

Os resultados desta pesquisa diferiram dos de Melo *et al.* (2008), que, após administração das frações de alcaloides e saponinas da *M. rigida*, relataram aumento de 84% e 70%, respectivamente, de CK-MB em camundongos, concluindo que, especialmente os alcaloides encontrados na *M. rigida* possuem ação tóxica sobre os cardiomiócitos. De forma semelhante, Cobucci *et al.* (2009) relataram valores de 90,8% da porcentagem de CK-MB no oitavo dia de administração de 30g/kg do extrato solúvel em água de *M. rigida* a um coelho.

Os resultados da dosagem de ureia e creatinina (Tab. 4) tiveram como objetivo a avaliação da função renal. A administração dos extratos solúvel e insolúvel de *M. rigida* não causou alteração na função renal dos animais nos tempos estudados ($P>0,05$), conforme também relatado por Lago (2007), após administrar 20g/kg de suspensão aquosa de *M. rigida* para ovinos durante três e sete dias consecutivos. De acordo com valores de referência de Mader (1997), 13 a 29mg/dL de ureia e 0,5 a 2,5mg/dL de creatinina não resultaram em azotemia nos animais estudados.

Tabela 4. Valores médios de ureia e creatinina séricas de coelhos submetidos à administração de água ultrapura (controle), extrato solúvel e extrato insolúvel em água de *Mascagnia rigida* por via nasoesofágica em diferentes tempos

	Tempo (dias)	Grupo-controle	Grupo solúvel	Grupo insolúvel
Ureia (mg/dL)	0	18,67±2,89	22,33±2,31	21,00±2,00
	3	21,00±6,56	18,33±1,15	19,00±1,00
	5	19,67±2,31	18,67±3,51	17,00±2,65
	7	18,67±2,52	22,00±4,36	21,00±1,00
	9	18,33±3,06	20,67±5,51	20,33±4,16
Equação		<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>
Creatinina (mg/dL)	0	1,17±0,99	1,00±0,10	1,10±0,10
	3	0,90±0,10	1,07±0,15	0,97±0,06
	5	1,27±0,35	1,27±0,40	1,00±0,10
	7	0,87±0,81	0,83±0,15	0,93±0,31
	9	1,50±0,62	0,83±0,15	0,87±0,12
Equação		<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>

Coefficientes de variação: Ureia – 16,0%; Creatinina – 37,3%.

ns: não significativo à transformação quadrática (creatinina), pela análise de variância ($P>0,05$).

Alguns trabalhos relataram degeneração hidrópico-vacuolar dos túbulos contorcidos distais como a principal lesão causada pela *M. rigida* (Gava *et al.*, 1998; Vasconcelos *et al.*, 2008), porém sem acompanhamento de urinálise e avaliação de provas bioquímicas da função renal. Portanto, não existe paralelo entre degeneração hidrópico-vacuolar dos túbulos contorcidos distais e da função renal. Segundo Campbell (2004), é necessária a perda de 50 a 75% da função renal para o aparecimento de azotemia e, para isso, a classificação da alteração morfológica teria que ser de moderada a intensa.

Os trabalhos de autores que relataram degeneração hidrópico-vacuolar em animais intoxicados por *M. rigida* não classificaram o grau de acometimento histopatológico. Porém,

como foi descrito polaciúria em animais intoxicados por *M. rigida* (Santos, 1975; Lago, 2007), a degeneração dos túbulos contorcidos distais poderia levar a esse sinal clínico, uma vez que essa estrutura renal em sua parte final é responsável pela reabsorção de água e sódio e secreção de potássio (Guyton e Hall, 2006).

Lago (2007) não encontrou alteração histológica nos rins de ovinos intoxicados com *M. rigida* que indicasse comprometimento de função e sugeriu que a polaciúria também observada por Santos (1975) em bovinos intoxicados por folhas e frutos de *M. rigida* possa ter ocorrido em razão do aumento da taxa de filtração glomerular causada pelo aumento da frequência cardíaca. Portanto, pode-se observar que, pela avaliação dos perfis hepático, renal e cardiomuscular, os

Perfil bioquímico sanguíneo...

extratos – solúvel e insolúvel em água – de folhas de *M. rigida* não causaram alterações que comprometessem a função desses órgãos.

Em relação aos eletrólitos, não foi observada diferença estatística ($P>0,05$) na mensuração sérica de potássio (Tab. 5). Segundo Kaneko *et al.* (2008), os valores de potássio, 4,8 a 5,8mmol/L, apresentaram discreta diminuição no grupo controle, no quinto dia, 4,34mmol/L, e no grupo insolúvel, nos sétimo e nono dias, 4,27 e 4,32mmol/L, respectivamente. De acordo com a classificação de Mader (1997), os valores

encontrados neste estudo estão dentro dos limites normais de 3,6 a 6,9mg/dL.

Em relação ao magnésio, houve alteração ($P>0,05$) nos tempos dos grupos estudados. Essa variável teve comportamento quadrático no GI ($r^2=43,3\%$) com ponto mínimo ocorrendo no quinto dia, enquanto no GC e no GS ocorreu melhor ajustamento ao modelo cúbico, $r^2=41,4\%$ e $60,3\%$, respectivamente. Segundo Kaneko *et al.* (2008), os valores séricos de magnésio deste trabalho, 2,09 a 2,41mg/dL, apresentaram-se diminuídos no quinto dia dos grupos GS e GI, e no sétimo dia do GC.

Tabela 5. Valores médios de potássio plasmático e magnésio sérico de coelhos submetidos à administração de água ultrapura (controle), extrato solúvel e extrato insolúvel em água de *Mascagnia rigida* por via nasoesofágica em diferentes tempos

	Tempo (dias)	Grupo controle	Grupo solúvel	Grupo insolúvel
Potássio (mmol/L)	0	5,34±0,74	5,76±0,78	4,86±1,31
	3	5,05±1,16	4,77±0,76	4,92±0,74
	5	4,34±0,42	5,24±0,53	5,03±1,46
	7	4,94±0,32	5,89±1,74	4,27±0,21
	9	4,88±0,20	4,82±1,26	4,32±0,23
Equação		<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>
Magnésio (mg/dL)	0	2,13±0,21	2,50±0,44	2,27±0,21
	3	2,27±0,31	2,60±0,40	2,23±0,15
	5	2,47±0,31	1,87±0,42	1,47±0,06
	7	1,90±0,10	2,23±0,23	2,23±0,15
	9	2,17±0,32	2,47±0,23	2,40±0,36
Equação		$y=2,11+0,27(\text{dias})$ $-0,07(\text{dias})^2+0,004(\text{dias})^3$ $r^2=41,04\%$	$y=2,52+0,16(\text{dias})$ $-0,08(\text{dias})^2+0,007(\text{dias})^3$ $r^2=60,27\%$	$y=2,33-0,21(\text{dias})$ $+0,02(\text{dias})^2$ $r^2=43,28\%$

Coefficientes de variação: potássio - 17,9%; magnésio - 16,6%.
ns: não significativo pela análise de variância ($P>0,05$).

A hipocalcemia ocorre quando há saída do potássio do compartimento extracelular para o intracelular, diminuição do consumo dietético ou aumento da perda de potássio pelos rins, trato digestivo ou pele. As causas renais, poliúria e aumento do fluxo tubular renal, podem promover maior excreção de potássio (Stockham e Scott, 2008). Neste estudo, não houve alteração da dieta dos animais em nenhum momento e tampouco foi observada poliúria. Já a hipercalcemia resultante de miotoxicidade poderia exercer um efeito disrritmogênico (prolongação de Q-T e alta amplitude) sobre o coração (Kaneko *et al.*, 2008). Por ser intracelular, as lesões celulares causariam aumento nas concentrações séricas desse eletrólito (Carlson,

1997), o que também não foi observado neste estudo.

Pereira *et al.* (1996) não encontraram alterações séricas do magnésio em caprinos experimentalmente intoxicados com folhas verdes e secas de *M. rigida* (5 a 20g/kg). O magnésio é um importante regulador de múltiplos processos cardiovasculares, incluindo a condução elétrica do miocárdio e a contratilidade, o fluxo transmembrana de cálcio, o transporte de potássio, o tônus do músculo liso vascular, a reatividade coronariana e a síntese de óxido nítrico (Noronha e Matuschak, 2002). Na medida em que o magnésio é um cofator essencial para a manutenção do potencial

transmembrana do miocárdio, a hipomagnesemia diminui o limiar para arritmias (Booth *et al.*, 2003). Os efeitos tóxicos de *M. rigida* na fibra cardíaca podem estar associados com a capacidade ou não dessa planta em causar hipomagnesemia, que poderia predispor ao aparecimento de arritmias e ser uma possível causa de morte súbita na intoxicação.

A concentração sérica de cálcio diminuiu significativamente ($P < 0,05$) no GS (Tab. 6). A variável apresentou comportamento quadrático, com r^2 de 71,2% e ponto mínimo ocorrendo no sexto dia, 12,48mg/dL. Os valores de cálcio mantiveram-se dentro dos valores de referência para a espécie propostos por Kaneko *et al.* (2008), de 5,8 a 14,0mg/dL. O cálcio participa da contração cardíaca e da condução do estímulo elétrico ventricular, sendo um íon importante da fase de platô (fase 2), que corresponde ao

intervalo Q-T (Lago *et al.*, 2009). Havendo distúrbio de cálcio, o ECG mostrará intervalo QT curto na hipercalcemia e intervalo QT longo na hipocalcemia (Ramos e Souza, 2007). O cálcio também mantém uma relação de homeostase com o fósforo: o aumento de fósforo pode alterar o cálcio ionizado na medida em que aumenta o cálcio ligado a este íon e diminui o cálcio ionizado, importante para as contrações muscular esquelética e cardíaca.

Os animais dos grupos GC e GI apresentaram alterações ($P < 0,05$) do fósforo ao longo do tempo, entretanto não se observou ajuste do GC aos modelos de regressão propostos (Tab. 6). No GI, seu comportamento foi linear ao longo do tempo, com r^2 de 81,4%. Ocorreu discreta hipofosfatemia a partir do quinto dia, segundo Mader (1997), 4,0 a 6,9mg/dL, e Kaneko *et al.* (2008), 3,70 a 4,62mg/dL.

Tabela 6. Valores médios de cálcio e fósforo séricas de coelhos submetidos à administração de água ultrapura (controle), extrato solúvel e extrato insolúvel em água de *Mascagnia rigida* por via nasoesofágica em diferentes tempos

	Tempo (dias)	Grupo-controle	Grupo solúvel	Grupo insolúvel
Cálcio (mg/dL)	0	13,73±0,83	14,83±1,40	12,80±0,62
	3	13,80±0,61	12,93±0,40	12,97±0,90
	5	14,27±0,60	12,30±0,10	12,30±1,11
	7	12,83±0,95	13,70±0,52	13,20±1,15
	9	13,43±0,81	13,20±0,53	13,40±0,96
Equação		<i>ns</i>	$y=14,71-0,73(\text{dias})+0,06(\text{dias})^2$ $r^2=71,16\%$	<i>ns</i>
Fósforo (mg/dL)	0	4,93±0,32	4,30±0,95	5,13±0,32
	3	4,87±0,42	4,60±2,00	4,73±0,35
	5	5,60±0,70	4,70±0,53	3,67±0,72
	7	3,87±0,71	4,77±0,31	3,53±0,06
	9	4,40±0,56	4,70±0,17	3,67±0,31
Equação P(mg/dL)		$y=5,16-0,08(\text{dias})$ $r^2=23,03\%$	<i>ns</i>	$y=5,05-0,19(\text{dias})$ $r^2=81,43\%$

Coefficientes de variação: cálcio – 7,2% e fósforo – 18,4%.
ns: não significativo pela análise de variância ($P > 0,05$).

Os resultados desta pesquisa demonstraram diminuição de magnésio, cálcio e fósforo após administração do extrato aquoso de *M. rigida* para coelhos, diferindo dos resultados de Santos (1975), que relatou não variação nos valores de fósforo e cálcio de bovinos intoxicados por folhas e frutos de *M. rigida* (4g/kg) durante 30 dias. Todavia, Pereira *et al.* (1996) observaram que 5 a 20g/kg de folhas verdes e secas de *M.*

rigida causaram alterações nas concentrações séricas de potássio, fósforo e magnésio em caprinos.

A mensuração de cloretos apresentou, no grupo insolúvel, seu ponto máximo no sexto dia, 131,33mEq/L (Tab. 7), segundo a regressão quadrática e r^2 de 67,2% ($P > 0,05$). De acordo com Campbell (2004), ocorreu hiperclorêmia no

Perfil bioquímico sanguíneo...

grupo extrato insolúvel aos três, cinco, sete e nove dias após, 89 – 120mEq/L. Podem ser citadas afecções que cursam com hiperclorêmia, como a insuficiência renal aguda, acidose metabólica, síndrome nefrótica, diabetes insipidus, na hiperfunção adrenocortical e

hiperparatireoidismo (Stockham e Scott, 2008), que também aumentariam os níveis de cálcio. Insuficiência renal deve ser descartada neste estudo pela avaliação da função renal que se apresentou normal e diabetes insipidus, pela ausência de poliúria.

Tabela 7. Valores médios de cloretos séricos (mEq/l) de coelhos submetidos à administração de água ultrapura (controle), extrato solúvel e extrato insolúvel em água de *Mascagnia rigida* por via nasoesofágica em diferentes tempos

Tempo (dias)	Cl ⁻ (mEq/l)		
	Grupo-controle	Grupo solúvel	Grupo insolúvel
0	110,00±6,00	116,67±8,62	120,67±3,06
3	112,33±7,64	116,00±17,35	130,67±1,53
5	111,67±4,73	114,67±16,26	133,00±3,00
7	110,33±9,45	113,33±9,45	126,33±3,51
9	107,00±0,00	111,00±16,46	130,00±5,57
Equação	<i>ns</i>	<i>ns</i>	$y=121,47+3,47(\text{dias}) - 0,305(\text{dias})^2$ $r^2=67,21\%$

Coefficiente de variação: Cl⁻ - 9,56%.

ns: não significativo pela análise de variância (P>0,05).

As concentrações séricas de glicose também não apresentaram alterações em relação aos tempos estudados (Tab. 8) e estão dentro dos limites de referência para a espécie de 75 a 155mg/dL (Mader, 1997). Pode-se afirmar que não houve estresse, que resultaria em hiperglicemia pela

liberação de glicocorticoides e catecolaminas (Stockham e Scott, 2008) ou hipoglicemia devido ao jejum prolongado, hiporexia/anorexia ou má absorção provocada pelos constituintes tóxicos da *Mascagnia rigida* e sua manifestação clínica.

Tabela 8. Valores médios de glicose sérica (mg/dL) de coelhos submetidos à administração de água ultrapura (controle), extrato solúvel e extrato insolúvel em água de *Mascagnia rigida* por via nasoesofágica em diferentes tempos

Tempo (dias)	Glicose (mg/dL)		
	Grupo-controle	Grupo solúvel	Grupo insolúvel
T zero	111,00±17,35	118,33±11,93	110,00±3,46
T1	102,67±14,36	121,33±8,62	122,67±10,07
T2	131,67±17,21	118,00±10,39	114,67±7,02
T3	112,00±14,73	119,33±1,53	116,00±1,00
T4	123,67±22,68	115,33±7,02	108,00±2,65
Equação	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>

Coefficiente de variação: Glicose - 10,3%.

ns: não significativo pela análise de variância (P>0,05).

Fica evidente que tanto o extrato solúvel como o extrato insolúvel de *M. rigida* possuem propriedades capazes de causar alterações eletrolíticas. Uma das hipóteses é que a alteração eletrolítica, como um dos efeitos tóxicos da *M. rigida*, poderia desestabilizar o potencial de repouso das membranas celulares e afetar várias vias metabólicas dependentes desses íons. Sendo o coração um órgão dependente do equilíbrio hidroeletrólítico para formação e condução do

impulso elétrico, denota-se um possível potencial cardiotoxico da planta. Alguns autores sugerem que a arritmia cardíaca seja uma das possíveis causas de morte súbita na intoxicação por *M. rigida*, todavia isso ainda não foi comprovado experimentalmente. Os efeitos cumulativos da *M. rigida* e os mecanismos que contribuem para a morte súbita, contudo, não foram estudados.

CONCLUSÕES

Não houve alteração das funções hepática, cardiocirculatória e renal de coelhos experimentalmente intoxicados com os extratos aquosos de *M. rigida*. Entretanto, ocorreram alterações no magnésio, cálcio, fósforo e cloretos, sugerindo que a intoxicação por *M. rigida* pode, também, ser decorrente de alterações eletrolíticas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BOOTH, J.V.; PHILLIPS-BUTE, B.; McCANTS, C.B et al. Low serum magnesium level predicts major adverse cardiac events after coronary artery bypass graft surgery. *Am. Heart J.*, v.145, p.1108-1113, 2003.
- CAMPBELL, T.W. Hematologia de mamíferos: Animais de laboratório e espécies variadas. In: THRALL, M.A.; BAKER, D.C.; CAMPBELL, T.W et al. (Eds.). *Hematologia e bioquímica clínica veterinária*. São Paulo: Roca, 2004. 582p.
- CARLSON, G.P. Fluid, electrolyte and acid-base balance. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. (Eds.). *Clinical biochemistry of domestic animals*. 5.ed. San Diego: Academic, 1997. p.485-516.
- COBUCCI, G.C.; MELO, M.M.; LABARRÈRE, C.R et al. Disfunção cardíaca na intoxicação experimental com extrato aquoso de *Mascagnia rigida*. In: SEMANA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFMG, 18., 2009, Belo Horizonte. *Anais...* Belo Horizonte: UFMG, 2009.
- CUNHA, L.C. *Avaliação dos efeitos tóxicos da Mascagnia rigida em ratos: estudo anatomopatológico; comparação entre metodologias cromatográficas para detecção do fluoracetato de sódio*. 2008. 100f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP.
- 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. *Pesqui. Vet. Bras.*, v.18, p.16-20, 1998.
- GUYTON, A.C.; HALL, J.E. (Eds.). Urine formation by the kidneys: II. Tubular processing of the glomerular filtrate. In:___ *Textbook of medical physiology*. 11.ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2006. p.336.
- HORTON, J.W.; GARCIA, N.M.; WHITE, D.J. et al. Postburn cardiac contractile function and biochemical markers of postburn cardiac injury. *J. Am. Coll. Surg.*, v.181, p.289-298, 1995.
- JASINSKA, M.; OWCZAREK, J.; ORSZULAK-MICHALAK, D. The influence of simvastatin at high dose and diltiazem on myocardium in rabbits, the biochemical study. *Acta Pol. Pharm.*, v.63, p.386-390, 2006.
- KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. (Eds.). Blood analyte reference values in some laboratory animals. In:___ *Clinical biochemistry of domestic animal*. 5.ed. Philadelphia: Academic, 2008. Appendix IX, p. 881-887.
- LAGO, E.P. *Intoxicação experimental em ovinos por Mascagnia rigida (A. Juss.) Griseb. (Malpighiaceae): estudo fitoquímico, fitoanatómico e aspectos clínicos, laboratoriais e ecocardiográficos*. 2007. 65f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.
- LAGO, E.P.; MELO, M.M.; ARAÚJO, R.B. et al. Perfis eletrocardiográfico e ecodopplercardiográfico de ovinos após ingestão da suspensão aquosa de *Mascagnia rigida* Griseb. (Malpighiaceae). *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.61, p.853-862, 2009.
- MADER, D.R. Rabbits: basic approach to veterinary care. In: HILLYER, E.V.; QUESENBERRY, K.E. (Eds.). *Ferrets, rabbits, and rodents: clinical medicine and surgery*. Philadelphia: W.B. Saunders, 1997. p.160-168.
- MEDEIROS, R.M.T.; NETO, S.A.G.; BARBOSA, R.C. et al. Sudden bovine death from *Mascagnia rigida* in Northeastern Brazil. *Vet. Hum. Toxicol.*, v.44, p.286-288, 2002.
- MELO, M. M. *Estudo fitoquímico e intoxicação experimental pela Tetrapteryx multiglandulosa A. JUSS. (Malpighiaceae) em cabras gestantes*. 1998. 306f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.

- MELO, M.M. Plantas que causam intoxicação aguda. *Cad. Tec. Vet. Zootec.*, n.49, p.4-9, 2006.
- MELO, M.M.; VERÇOSA JÚNIOR, D.; PINTO, M.C.L. *et al.* Intoxicação experimental com extratos de *Mascagnia rigida* (Malpighiaceae) em camundongos. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.60, p.631-640, 2008.
- NORONHA, J.L.; MATUSCHAK, G.M. Magnesium in critical illness: metabolism, assessment, and treatment. *Intensive Care Med.*, v.28, p.667-679, 2002.
- PEREIRA, A.S.; SANTOS, L.F.L.; NUNES-PINHEIRO, D.C.S. Alterações bioquímicas e patológicas em caprinos intoxicados por tinguí (*Mascagnia rigida*). In: CONGRESSO PANAMERICANO DE CIÊNCIAS VETERINÁRIAS. 15., 1996, Campo Grande, MS. *Anais...* Campo Grande: Associação Panamericana de Ciências Veterinárias, 1996. v.1, p.152.
- PINELLI, A.; TRIVULZIO, S.; TOMASONI, L. *et al.* Cardiac necrosis markers associated with low nitric oxide levels in the plasma of rabbits after treatment with vasopressin: protective effects of nitroglycerin administration. *Pharmacol. Res.*, v.45, p.427-434, 2002.
- PINTO M.C.L.; MELO M.B.; CRUZ M.L. *et al.* Cardiorespiratory evaluation of juvenile rats experimentally envenomed with *Tityus serrulatus* venom. *J. Venom Anim. Toxins incl. Trop. Dis.*, v.16, p.253-267, 2010.
- RAMOS, A.P.; SOUZA, B.S. *Eletrocardiograma: princípios, conceitos e aplicações.* [s.l.]: Centro de Estudos de Fisiologia do Exercício – CEFÉ, 2007. 15p.
- RIBEIRO, E. L.; PINTO, M.C.L.; LABARRÈRE, C.R. *et al.* Biochemical profile of dogs experimentally envenomed with *Tityus serrulatus* scorpion venom. *Toxicon*, v.55, p.1125-1131, 2010.
- SAAD, A.D.; ANDRADE, S.O.; AGUIAR, A.A. The toxic effects of *Mascagnia pubiflora* (Juss.) Griseb. *An. Acad. Bras. Cienc.*, v.42, p.235-244, 1970.
- SANTOS, H.L. *Aspectos clínicos, laboratoriais e anatomo-histopatológicos na intoxicação experimental de bovinos pela Mascagnia rigida.* 1975. 36f. Tese (Mestrado) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.
- SILVA, D.M.; RIET-CORREA, F.; MEDEIROS, R.M.T. *et al.* Plantas tóxicas para ruminantes e equídeos no Seridó Ocidental e Oriental do Rio Grande do Norte. *Pesqui. Vet. Bras.*, v.26, p.223-236, 2006.
- STOCKHAM, S.L.; SCOTT, M.A. (Eds.). Introductory concepts. In: ____. *Fundamentals of veterinary clinical pathology.* 2.ed. Iowa: Blackwell, 2008. p.20.
- VASCONCELOS, J.S.; RIET-CORREA, F.; DANTAS, A.F.M. *et al.* Intoxicação por *Mascagnia rigida* (Malpighiaceae) em ovinos e caprinos. *Pesqui. Vet. Bras.*, v.28, p.521-526, 2008.