

Efeito protetor da acetamida sobre as intoxicações experimentais em ratos por monofluoroacetato de sódio e por algumas plantas brasileiras que causam morte súbita¹

Tiago C. Peixoto², Laura I. Oliveira², Saulo A. Caldas², Francisco E.A. Catunda Junior³, Mário G. Carvalho⁴, Ticiano N. França⁵ e Paulo V. Peixoto^{6*}

ABSTRACT- Peixoto T.C., Oliveira L.I., Caldas S.A., Catunda Junior F.E.A., Carvalho M.G., França T.N. & Peixoto P.V. 2011. [The protective effect of acetamide on experimental poisoning by sodium monofluoroacetate and Brazilian sudden death causing plants in rats.] Efeito protetor da acetamida sobre as intoxicações experimentais em ratos por monofluoroacetato de sódio e por algumas plantas brasileiras que causam morte súbita. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 31(11):938-952. Projeto Sanidade Animal Embrapa/UFRRJ, Seropédica, RJ 23890-000, Brazil. E-mail: peixotop@ufrjr.br

The protective effect of acetamide in poisoning by sodium monofluoroacetate (MF) and by eight Brazilian sudden death causing plants (BSDCP) (*Palicourea marcgravii*, *P. juruana*, *Pseudocalymma elegans*, *Arrabidaea bilabiata*, *Amorimia (Mascagnia) rigida*, *M. pubiflora*, *Amorimia (Mascagnia) exotropa* and *M. aff. rigida*) was studied using rats. Additionally the clinical and pathological picture of the poisoning was described. In these experiments 33 Wistar rats (*Rattus norvegicus albinus*) were used. Nine rats ate spontaneously the fresh leaves of *P. marcgravii* at amounts of 2.0 and 4.0g/kg. Two of the rats received orally single doses of acetamide (2.0 and 4.0g/kg) one minute before the plant was supplied. A third rat received 4.0g/kg of acetamide after consumption of 4.0g/kg of the plant and showed severe symptoms of poisoning. In the experiments with MF, doses of 4.0 and 8.0mg/kg were administered to four rats. The interval between the administration of either acetamide and concentrated plant extracts or MF ranged from 2 to 4 hours; the dose of acetamide ranged from 2.0 to 8.0g/kg. In the experiments with concentrated extracts of eight BSDCP, 20 rats were orally poisoned with single or repeated doses. Acetamide, when previously administered, prevented the appearance of clinical signs and death in all of the rats poisoned by MF, as well as of the ones poisoned by fresh *P. marcgravii* leaves and by the concentrated extracts of each of the other BSDCP. These rats were re-subjected to the same experimental protocol, yet without the administration of acetamide. In these experiments, all of the rats evidenced clinical signs and death (except *M. aff. rigida*). All of the rats showed mild to markedly engorged atria, and sometimes also of the cranial and caudal vena cava. In three of the rats, there was a moderate right and left cardiac dilatation. The liver of all rats was slightly or markedly congested, with lobular pattern in some. There was frothy liquid on the cut surface of the lungs in three of the rats. The histopathology of the kidneys in six rats showed slight cytoplasmic swelling of the distal convoluted tubules and sometimes also of the collecting tubules. But only in four rats a vacuolar-hydropic degeneration with nuclear pyknosis was seen. Twenty-six rats showed liver congestion, three of them with compressive narrowing of the hepatic cords, and in eight

¹ Recebido em 9 de fevereiro de 2011.

Aceito para publicação em 19 de julho de 2011.

Parte da Tese de Doutorado do segundo autor, defendida na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Seropédica, RJ 23890-000, Brasil.

² Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Instituto de Veterinária, UFRRJ, Seropédica, RJ.

³ Curso de Pós-Graduação em Química, Instituto de Química, UFRRJ, Seropédica, RJ.

⁴ Departamento de Química, Instituto de Química, UFRRJ, Seropédica, RJ.

⁵ Departamento de Epidemiologia e Saúde Pública, Instituto de Veterinária, UFRRJ, Seropédica, RJ.

⁶ Departamento de Nutrição Animal e Pastagem, Instituto de Zootecnia, UFRRJ, Seropédica, RJ. Autor para correspondência: peixotop@ufrjr.br

rats shock corpuscles were observed; another three rats showed slight to moderate focal liver necrosis. A slight to moderate vacuolation of hepatocytes was observed in 16 rats. It can be concluded that acetamide had a protective effect, capable to prevent clinical signs and death of the rats poisoned by MF, and by fresh *P. marcgravi* leaves and concentrated extracts of seven other BSDCP. The clinical and pathological picture observed in the rats poisoned by MF and BSDCP, associated with the protective effect of acetamide, indicate that MF is the toxic principle responsible for death of the rats, and by extension, for the death of cattle that ate BSDCP.

INDEX TERMS: Acetamide, sodium monofluoroacetate poisoning, sudden death, rat.

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

cordões hepáticos, oito corpúsculos de choque; em outros três, necrose focal de discreta a moderada. Observou-se ainda, de discreta a moderada vacuolização de hepatócitos em 16 animais. Este trabalho demonstra que a acetamida possui acentuado efeito protetor, capaz de prevenir os sinais clínicos e evitar a morte dos ratos intoxicados por MF, folhas frescas de *P. marcgravi* e extratos concentrados de outras sete PBCMS. O quadro clínico-patológico observado nos ratos intoxicados pelo MF e pelas PBCMS deste estudo, associado ao efeito protetor da acetamida, confirma que o MF é o princípio tóxico responsável pela morte dos ratos, e, por extensão, também dos bovinos que ingeriram PBCMS.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Acetamida, intoxicação por monofluoroacetato de sódio, morte súbita, ratos.

INTRODUÇÃO

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

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

Há dúvidas, contudo, sobre qual substância, de fato, seria o princípio tóxico determinante do quadro clínico-patológico e do óbito dos animais, uma vez que diversos compostos, além do MF, têm sido isolados dessas plantas, entre eles alcalóides, saponinas, ácidos málico, palicúrico e mioctônico, salicilato de metila, cristais de oxalato de cálcio, tanóides, ácidos salicílico e o-metoxibenzóico, cafeína, alcalóides N-metiltiramina e 2-metiltetrahydro- β -carbolina.

Recentemente, demonstrou-se que o quadro clínico-patológico manifestado por bovinos (Nogueira et al. 2010) e ovinos (Peixoto et al. 2010) intoxicados experimentalmen-

Quadro 1. Principais dados sobre a coleta a planta e da metodologia empregada na preparação dos extratos concentrados de algumas plantas que causam "morte súbita" no rota-evaporador

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

*Dois extratos preparados, **Três extratos preparados.

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

Sabe-se que a administração de acetamida ($\text{CH}_3\text{CO-NH}_2$) a animais recém intoxicados por MF resulta em considerável efeito protetor. Adicionalmente, já foi demonstrado em ratos que o fornecimento desse antídoto, uma hora antes da intoxicação com *Palicourea marcgravii*, evita o aparecimento de sinais clínicos e da morte em 100% dos casos (Górniak et al. 1994). Ainda não foi demonstrado, entretanto, se a administração de acetamida é capaz de prevenir os sinais clínicos e evitar a morte de animais intoxicados pelas outras onze PBCMS. Essa demonstração comprovaria de forma prática que esse composto é o princípio tóxico determinante da morte dos animais intoxicados pelas PBCMS, o que forneceria subsídio para o desenvolvimento no país, de estudos genéticos, semelhantes aos que têm sido realizados na Austrália (Gregg et al. 1998) que visaram tornar bactérias ruminais capazes de metabolizar o MF, tornando-o inócuo.

O objetivo deste trabalho é avaliar e comparar o efeito protetor da acetamida na intoxicação de ratos por MF e por oito PBCMS (*Palicourea marcgravii*, *P. juruana*, *Pseudocalymma elegans*, *Arrabidaea bilabiata*, *Amorimia (Mascagnia) rigida*, *M. pubiflora*, *Amorimia (Mascagnia) exotropicalis* e *M. aff. rigida*), como forma indireta de definir se o MF é a causa da morte que ocorre em bovinos intoxicados por PBCMS, além de descrever o quadro clínico-patológico.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos e as necropsias foram realizados entre abril e dezembro de 2009 no biotério do Setor de Anatomia Patológica do Projeto Sanidade Animal, convênio Embrapa/UFRJ, Km 47, município de Seropédica, Rio de Janeiro. Foram utilizados 33 ratos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus albinus*) machos e fêmeas saudáveis, adultos, com pesos entre 193 e 550g, provenientes do biotério da Fundação Oswaldo Cruz, RJ.

Os ratos foram mantidos em salas apropriadas com ambiente climatizado (22 a 24°C) e iluminação por luz natural indireta; os animais foram alojados em caixas de polipropileno autoclavável medindo 22x50 x60cm (altura, largura e comprimento), com cantos arredondados. Machos e as fêmeas foram mantidos em caixas

Quadro 2. Principais dados sobre o delineamento experimental e desfecho do efeito protetor da acetamida na intoxicação experimental por monofluoroacetato de sódio em ratos

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

Quadro 3. Principais dados sobre o delineamento experimental e desfecho do efeito protetor da acetamida na intoxicação experimental com folhas frescas de *Panicourea marcravii* em ratos

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

separadas, com lotação máxima de três animais por caixa. Todas as caixas foram identificadas com etiquetas e cada animal recebeu uma numeração na cauda. A higienização das caixas (limpeza e troca de maravalha) era realizada a cada dois dias. Os animais foram adaptados ao local por um mês e a dieta era constituída de ração peletizada Labina® e água a vontade.

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

Intoxicação por monofluoroacetato de sódio (MF) e a administração de acetamida

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

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

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

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

Experimentos com a planta fresca

Inicialmente foram realizados experimentos-piloto nos quais foram oferecidas folhas frescas de *Palicourea marcgravii*, *Mascagnia pubiflora* ou *A. rigida*, no comedouro, contudo, apenas os ratos que receberam *P. marcgravii* ingeriram quantidades consideráveis da planta conforme demonstrado no Quadro 3. Desta forma, os animais que receberam *M. pubiflora* e *A. rigida* não foram considerados neste estudo, uma vez que ingeriram quantidades ínfimas da planta. Todos os ratos foram mantidos em jejum por 24 horas, antes da administração das plantas.

Foram oferecidas folhas frescas de *P. marcgravii* (folhas jovens e maduras) nas doses de 2,0 e 4,0g/kg para nove ratos, dos quais quatro receberam 2,0g/kg e, os outros cinco ratos 4,0g/kg. Toda a manipulação das folhas era feita com o uso de luvas de procedimento, uma vez que em experimentos preliminares, verificou-se que após as folhas serem manipuladas sem a utilização de luvas, os ratos dificilmente as ingeriam. Todos os ratos ingeriram espontaneamente folhas frescas de *P. marcgravii*,

sendo que a partir do quarto experimento (rato 19), verificamos que ao untar com bacon as folhas das plantas, os animais demonstravam maior interesse pelas folhas e ingeriam, quase sempre, toda a planta oferecida. A partir daí, essa metodologia foi adotada com sucesso nos experimentos subsequentes com *P. marcgravii*, embora sem êxito nos experimentos com *M. rigida* e *M. pubiflora*.

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

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

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

Experimentos com a planta dessecada

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

Preparação dos extratos. Os detalhes acerca da coleta das plantas, bem como da metodologia empregada na preparação dos extratos de cada planta encontram-se no Quadro 1. De um modo geral, adotou-se o seguinte protocolo: após a coleta de cada planta (brotação, folhas jovens e/ou maduras) em municípios do Estado do Rio de Janeiro (Seropédica, Rio Bonito ou Valença) e Pará (Inhagapi ou Ulianópolis), o material foi dessecado à sombra por pelo menos duas semanas e/ou em estufa à 37-40°C, por aproximadamente 24 horas. Em seguida, foram pulverizadas em moinho Wiley com malha 60 e, finalmente, conservadas em vidros de 250mL, hermeticamente fechados com tampa plástica e acondicionados em geladeira à 4°C. Posteriormente, o material pulverizado de cada planta era diluído em água (150 a 1000 mL), de acordo com o peso e a espécie da planta utilizada. O extrato aquoso obtido em cada etapa da fase experimental era acondicionado em becker de 500mL, homogeneizado com bastão de vidro e colocado em banho de ultra-som (Marca Unique Group - Modelo: USC-1450) por 30 minutos, em seguida, o extrato bruto era filtrado à vácuo. O extrato filtrado, obtido de cada planta foi concentrado por meio de rotaevaporador (evaporador rotativo - Marca Fisatom) com aquecimento de 50°C e rotatividade de 80rpm, sob vácuo. Cada extrato obtido foi concentrado no rota-evaporador até atingir o volume final desejado, para que não ultrapassasse a capacidade gástrica dos ratos (6,0mL). Esse material foi então acondicionado em frascos âmbar hermeticamente fechados e mantido em geladeira a 4°C até o momento da administração.

Intoxicação por extratos concentrados de PBCMS

Os principais dados sobre o delineamento experimental encontram-se no Quadro 4. Foram feitas administrações de doses únicas ou repetidas do extrato concentrado de cada planta, após

*Sigma-Aldrich, 3050 Spruce Street, St Louis, MO 63103 USA, <http://www.sigma-aldrich.com>

**Proquímios, Rua Coronel Tamarindo, 3010, Bangu, Rio de Janeiro, 21848-440, Brasil, <http://www.proquimios.com.br>

Quadro 4. Principais dados sobre o delineamento experimental e desfecho do efeito protetor da acetamida nas intoxicações experimentais por extratos aquosos de plantas que causam “morte súbita”

Identificação do rato (Reg. SAPP)	Sexo	Peso	Planta utilizada	Dose administrada	Data e hora do começo da administração do extrato	Número de administrações e volume administrado	Intervalo de tempo entre as administrações	Volume total administrado	Dose de acetamida	Data e hora da administração da acetamida	Desfecho
Rato 58 (31898)	Macho	425 g	<i>Palicourea maragravii</i>	23,5 g/kg	10/09/2009 08:10 h	1 x 4 ml	-	4 mL	-	-	Morreu
Rato 59 (31900)	Macho	410 g	<i>P. maragravii</i>	24 g/kg	23/09/2009 08:35 h	1 x 4 ml	-	4 mL	-	-	Morreu
Rato 67	Macho	472 g	<i>Palicourea juruana</i>	51 g/kg	04/11/2009 08:45 h	5 x 4 ml	3 horas	20 mL	-	-	Manifestou sintomas leves, mas não morreu
Rato 69 (31934)	Macho	464 g	<i>P. juruana</i>	108 g/kg	10/11/2009 09:30 h	1 x 6 ml e 1 x 3 ml	2 horas	9 mL	-	-	Morreu
Rato 70 (31940)	Macho	453 g	<i>P. juruana</i>	110 g/kg	25/11/2009 12:15 h	1 x 6 mL e 1 x 3 mL	3 horas	9 ml	6,0 g/kg (2,71 g)	21/11/2009 09:15 h	Sem sintomas
Rato 53 (31881)	Macho	410 g	<i>Pseudocalymma elegans</i>	110 g/kg	08/12/2009 13:40 h	1 x 6 mL e 1 x 3 mL	3 horas	9 ml	-	-	Morreu
Rato 71 (31942)	Macho	405 g	<i>P. elegans</i>	14 g/kg	19/08/2009 08:52 h	1 x 4 ml e 1 x 2 ml	6 horas	6 mL	-	-	Morreu
Rato 74 (31943)	Macho	510 g	<i>P. elegans</i>	11 g/kg	09/12/2009 13:30 h	1 x 6 ml	2 horas	6 mL	6,0 g/kg (2,43 g)	09/12/2009 09:45 h	Morreu
Rato 66 (31930)	Fêmea	293 g	<i>Arrabidaea bilabiata</i>	78 g/kg	23/12/2009 11:20 h	1 x 6 ml	-	6 ml	-	-	Morreu
Rato 68 (31935)	Fêmea	253 g	<i>A. bilabiata</i>	91 g/kg	04/11/2009 08:40 h	4 x 4 ml	4 horas	16 mL	-	-	Morreu
Rato 51	Macho	449 g	<i>Mascagnia aff. rigida</i>	27 g/kg	11/08/2009 11:05 h	2 x 3,2 ml	4 horas	6,4 mL	6,0 g/kg (1,51 g)	10/11/2009 09:20 h	Sem sintomas
Rato 52 (31880)	Macho	445 g	<i>Amorimia rigida</i>	45 g/kg	25/11/2009 09:05 h	2 x 2,28 ml	4 horas	4,57 mL	-	---	Morreu
Rato 54 (31893)	Macho	420 g	<i>A. rigida</i>	48 g/kg	01/09/2009 12:00 h	4 x 6 ml	2 horas	24 mL	-	-	Sem sintomas
Rato 55 (31897)	Macho	435 g	<i>A. rigida</i>	48 g/kg	19/08/2009 08:50 h	4 x 6 ml	2 horas	24 mL	-	-	Morreu
					01/09/2009 12:00 h	4 x 6 ml	2 horas	24 mL	2,0 g/kg (0,84 g)	01/09/2009 10:00 h	Morreu
					01/09/2009 12:05 h	4 x 6 ml	2 horas	24 mL	4,0 g/kg (1,74 g)	01/09/2009 10:05 h	Manifestou sintomas leves, mas não morreu
					08/09/2009 11:20 h	4 x 6 ml	2 horas	24 mL	-	-	Morreu

Quadro 4 (Cont.). Principais dados sobre o delineamento experimental e desfecho do efeito protetor da acetamida nas intoxicações experimentais por extratos aquosos de plantas que causam "morte súbita"

Identificação do rato (Reg. SAP)	Sexo	Peso	Planta utilizada	Dose administrada	Data e hora do começo da administração do extrato	Número de administrações e volume administrado	Intervalo de tempo entre as administrações	Volume total administrado	Dose de acetamida	Data e hora da administração da acetamida	Desfecho
Rato 57 (31896)	Macho	440 g	<i>A. rigida</i>	46 g/kg	02/09/2009 16:15 h	4 x 6 ml	2 horas	24 mL	4,0 g/kg (1,76 g)	02/09/2009 14:15 h	Manifestou sintomas leves, mas não morreu
Rato 56 (31894)	Macho	550 g	<i>Amorimia exotropica</i>	46 g/kg	08/09/2009 11:15 h	4 x 6 ml	2 horas	24 mL	-	-	Morreu
Rato 60 (31903)	Macho	467 g	<i>A. exotropica</i>	70 g/kg	02/09/2009 14:40 h	5 x 6 ml	3 horas	30 mL	-	-	Morreu
Rato 61 (31902)	Macho	474 g	<i>A. exotropica</i>	82 g/kg	24/09/2009 11:30 h	5 x 6 ml	3 horas	30 mL	6,0 g/kg (2,80 g)	24/09/2009 09:05 h	Sem sintomas
Rato 72 (31941)	Fêmea	260 g	<i>Mascagnia pubiflora</i>	82 g/kg	30/09/2009 11:30 h	5 x 6 ml	3 horas	30 mL	-	-	Morreu
Rato 73 (31944)	Fêmea	223 g	<i>M. pubiflora</i>	81 g/kg	24/09/2009 11:35 h	5 x 6 ml	3 horas	30 mL	6,0 g/kg (2,84 g)	24/09/2009 09:00 h	Sem sintomas
				231 g/kg	30/09/2009 11:30 h	5 x 6 ml	3 horas	30 mL	-	-	Morreu
				269 g/kg	02/12/2009 10:00 h	1 x 4 ml e 1 x 2 ml	3h e 30 min	6 ml	-	-	Morreu
				269 g/kg	02/12/2009 18:50 h	1 x 4 ml e 1 x 2 ml	3h e 30 min	6 ml	6 g/kg (1,33 g)	02/12/2009 14:50 h	Sem sintomas
				269 g/kg	16/12/2009 09:30 h	1 x 4 ml e 1 x 2 ml	3h e 30 min	6 ml	-	-	Morreu

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

50,4g da planta seca pulverizada _____ 10mL de extrato concentrado (vol. final do extrato concentrado)
Xg da planta _____ 4,57mL (vol. total administrado ao rato)

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

Com base nesse resultado, calculamos a dose:

Yg da planta _____ 1000g (1kg)
23,03g da planta _____ 253g (peso do rato 68)
Y = 91g/kg (dose considerada na intoxicação do rato 68)

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

Necropsia e histopatologia

Todos os ratos foram necropsiados imediatamente após a morte. Fragmentos de diversos órgãos foram coletados, fixados em formol 10%, processados rotineiramente para histopatologia e corados pela Hematoxilina e Eosina (HE).

RESULTADOS

Aspectos clínicos e toxicológicos

Os principais achados clínico-patológicos encontram-se no Quadro 5. Todos os ratos intoxicados pelo MF, bem como pelas folhas frescas de *P. marcravii* ou com extratos concentrados das plantas que causam morte súbita, que não receberam tratamento com acetamida, manifestaram sinais clínicos e morte, exceto o rato 67 intoxicado com 51g/kg *P. juruana*, que embora tenha manifestado sinais clínicos, não morreu. Além disso, o experimento-piloto realizado com o extrato concentrado *M. aff rigida* na dose de 27g/kg (rato 51) demonstrou que a planta coletada no município de Seropédica, RJ, não é tóxica, ou é de toxidez muito baixa, o que de fato, foi confirmado em um experimento complementar, realizado com um coelho (macho, adulto, clinicamente saudável e com 4,0kg de peso), que ingeriu espontaneamente 50g/kg da planta fresca oferecida no comedouro e não manifestou qualquer sinal clínico.

Quadro 5. Resultados das intoxicações experimentais com folhas frescas de *Palicourea marcgravii*, extratos aquosos de *P. marcgravii*, *P. juruana*, *Arrabidaea bilabiata*, *Pseudocalymma elegans*, *Amorimia rigida*, *A. exotropicalis*, *Mascagnia aff. rigida*, *M. pubiflora* e monofluoroacetato de sódio em ratos

Identificação do rato (Reg. SAP)	Planta administrada /MF	Dose	Início dos sinais clínicos após a administração	Evolução da intoxicação	Manifestações clínicas	Desfecho	Achados de necropsia
Rato 58 (31898)	<i>P. marcgravii</i>	23,5 g/kg	1 h e 6 min	2 h e 19 min	Apatia, pelos arrepiados, cianose, taquipnéia, prostração, cinco convulsões, decúbito, movimentos de pedalagem e morte.	Morte	Aurículas: leve a moderadamente ingurgitadas. Fígado: leve a moderadamente congestos.
Rato 59 (31900)	<i>P. marcgravii</i>	24 g/kg	1 h e 10 min	1 h e 25 min	Pelos arrepiados, apatia, taquipnéia, cianose, prostração, quatro convulsões, decúbito e morte.	Morte	Aurículas: moderadamente ingurgitadas. Fígado: leve a moderadamente congestos.
Rato 67	<i>P. juruana</i>	51 g/kg	4 h 19 min	-	Pelos arrepiados, apatia e duas convulsões.	Não morreu	-
Rato 69 (31934)	<i>P. juruana</i>	108 g/kg	2 h e 40 min	22 min	Apatia, inquietação, cianose, pelos arrepiados, taquipnéia, tremores musculares, duas convulsões e morte.	Morte	Aurículas, veia cava cranial e caudal: acentuadamente ingurgitadas. Fígado: moderadamente congestos e evidenciação do padrão lobular.
Rato 70 (31940)	<i>P. juruana</i>	110 g/kg	1 h 57 min	8 h e 8 min	Apatia, inquietação, cianose, pelos arrepiados, prostração, dispnéia, duas convulsões e morte.	Morte	Aurículas: moderadamente ingurgitadas. Fígado: acentuadamente congestos.
Rato 53 (31881)	<i>P. elegans</i>	14 g/kg	1 h e 14 min	9 h e 30 min	Pelos arrepiados, apatia, taquipnéia, cianose, tremores musculares e nove convulsões, movimentos de pedalagem e morte.	Morte	Aurículas: leve a moderadamente ingurgitadas. Fígado: leve a moderadamente congestos.
Rato 71* (31942)	<i>P. elegans</i>	14 g/kg	49 min	2 h e 51 min	Apatia, dispnéia, tremores musculares, uma convulsão e morte.	Morte	Aurículas, veia cava cranial e caudal - moderada a acentuadamente ingurgitadas. Fígado: moderadamente congestos.
Rato 74 (31943)	<i>P. elegans</i>	11 g/kg	55 min	1 h	Inquietação, taquipnéia, tremores, apatia, cianose, duas convulsões e morte.	Morte	Aurículas: acentuadamente ingurgitadas. Fígado: moderadamente congestos.
Rato 66 (31930)	<i>A. bilabiata</i>	78 g/kg	4 h e 52 min	14h e 28 min	Apatia, pelos arrepiados, taquipnéia, cianose e morte	Morte	Aurículas: levemente ingurgitadas. Fígado: moderadamente congestos.
Rato 68 (31935)	<i>A. bilabiata</i>	91 g/kg	4 h e 15 min	5 h e 3 min	Pelos arrepiados, apatia, cianose, tremores musculares, alterações comportamentais (saltou diversas vezes), uma convulsão e morte.	Morte	Aurículas: moderadamente ingurgitadas. Fígado: moderadamente congestos.
Rato 52 (31880)	<i>A. rigida</i>	45 g/kg	3 h e 35 min	3 h e 21 min	Pelos arrepiados, apatia, taquipnéia, tremores musculares, quatro convulsões, movimentos de pedalagem e morte.	Morte	Aurículas: levemente ingurgitadas. Fígado: levemente congestos.
Rato 54* (31893)	<i>A. rigida</i>	48 g/kg	10 h e 05 min	8 h e 40 min	Apatia, pelo arrepiado, uma convulsão e morte.	Morte	Aurículas: moderadamente ingurgitadas. Fígado: leve a moderadamente congestos.
Rato 55 (31897)	<i>A. rigida</i>	48 g/kg	06 h e 30 min	6 h	Apatia, pelos arrepiados, prostração, cianose, tremores musculares, taquipnéia, 29 convulsões e morte.	Morte	Aurículas e veia cava cranial e caudal: acentuadamente ingurgitadas. Fígado: moderadamente congestos e evidenciação do padrão lobular.
Rato 57 (31896)	<i>A. rigida</i>	46 g/kg	5 h e 58 min	2 h e 52 min	Pelos arrepiados, apatia, taquipnéia, cianose, tremores musculares, prostração, inquietação, alterações comportamentais (saltou diversas vezes, correu e rolou), postura atípica (sentado), decúbito lateral, espasmos musculares, 22 convulsões e morte.	Morte	Aurículas e veia cava cranial e caudal: acentuadamente ingurgitadas. Fígado: acentuadamente congestos.

* A dose administrada de acetamida não preveniu a morte, ** A administração de 4,0g/kg de acetamida, após o animal manifestar sinais clínicos graves evitou a morte do rato.

Quadro 5 (Cont.). Resultados das intoxicações experimentais com folhas frescas de *Palicourea marcgravii*, extratos aquosos de *P. marcgravii*, *P. juruana*, *Arrabidaea bilabiata*, *Pseudocalymma elegans*, *Amorimia rigida*, *A. exotropica*, *Mascagnia aff. rigida*, *M. pubiflora* e monofluoroacetato de sódio em ratos

Identificação do rato (Reg. SAP)	Planta administrada /MF	Dose	Início dos sinais clínicos após a administração	Evolução da intoxicação	Manifestações clínicas	Desfecho	Achados de necropsia
Rato 51	<i>Mascagnia aff. rigida</i>	27 g/kg	-	-	-	Não morreu	-
Rato 56 (31894)	<i>A. exotropica</i>	70 g/kg	5 h e 53 min	10 h e 37 min	Apatia, pelos arrepiados, tremores musculares, duas convulsões e morte.	Morte	Aurículas: levemente ingurgitadas. Fígado: moderadamente congestos.
Rato 60 (31903)	<i>A. exotropica</i>	82 g/kg	4 h e 19 min	7 h e 7 min	Apatia, pelos arrepiados, cianose, três convulsões, movimentos de pedalagem e morte.	Morte	Aurículas: moderadamente ingurgitadas. Fígado: leve a moderadamente congestos. Aurículas: moderadamente ingurgitadas.
Rato 61 (31902)	<i>A. exotropica</i>	81 g/kg	3 h e 40 min	4 h e 35 min	Pelos arrepiados, apático, convulsão, cianose, tremores musculares, movimentos de pedalagem, nove convulsões e morte.	Morte	Fígado: moderadamente congestos e evidenciação do padrão lobular. Pulmão: discreto edema, fluía espuma ao corte.
Rato 72 (31941)	<i>M. pubiflora</i>	231 g/kg	3 h	30 min	Pelos arrepiados, cianose, apatia, dispnéia, tremores musculares e morte.	Morte	Aurículas: moderadamente ingurgitadas. Fígado: leve a moderadamente congestos.
Rato 73 (31944)	<i>M. pubiflora</i>	269 g/kg	3 h e 7 min	2 h e 48 min	Inquietação, respiração abdominal, pelos arrepiados, duas convulsões e morte.	Morte	Aurículas: moderadamente ingurgitadas. Fígado: moderadamente congestos. Aurículas e veias cava caudal e cranial: acentuadamente ingurgitadas.
Rato 1 (31786)	<i>P. marcgravii</i>	2,0 g/kg	7 h e 35 min	56 min	Pelos arrepiados, apatia, tremores musculares e convulsão e morte.	Morte	Fígado: moderadamente congestos. Aurículas e veias cava caudal e cranial: acentuadamente ingurgitadas.
Rato 4 (31787)	<i>P. marcgravii</i>	1,7 g/kg	2 h e 54 min	1 h e 4 min	Pelos arrepiados, apatia, tremores musculares, duas convulsões, movimentos de pedalagem e morte.	Morte	Fígado: moderadamente congestos. Aurículas e veias cava caudal e cranial: acentuadamente ingurgitadas.
Rato 12 (31788)	<i>P. marcgravii</i>	2,0 g/kg	2 h e 54 min	5 h e 15 min	Apatia, pelos arrepiados, cianose, tremores musculares, duas convulsões e morte.	Morte	Fígado: acentuadamente congestos e evidenciação do padrão lobular. Aurículas e veias cava caudal e cranial: levemente ingurgitadas.
Rato 19 (31809)	<i>P. marcgravii</i>	1,7 g/kg	9 h e 19 min	1 h e 15 min	Apatia, pelos arrepiados, uma convulsão e morte.	Morte	Fígado: levemente congestos. Pulmão: leve edema (líquido espumoso) Aurículas, veias cava caudal e cranial: moderadamente ingurgitadas.
Rato 21 (31808)	<i>P. marcgravii</i>	2,2 g/kg	5 h e 7 min	2 h	Apatia, pelos arrepiados, ataxia, uma convulsão e morte.	Morte	Fígado: moderadamente congestos. Pulmão: leve edema, fluía espuma ao corte.
Rato 23**	<i>P. marcgravii</i>	4,0 g /kg	6 h e 38 min	-	Apatia, pelos arrepiados e uma convulsão.	Não morreu	-
Rato 24 (31806)	<i>P. marcgravii</i>	3,5 g/kg	4 h e 55 min	3 min	Apatia, cianose, pelos arrepiados, tremores musculares, uma convulsão e morte.	Morte	Fígado: moderadamente congestos.
Rato 25 (31805)	<i>P. marcgravii</i>	4,0 g /kg	2 h	1 h e 5 min	Pelos arrepiados, cianose, apatia, dispnéia, tremores musculares, duas convulsões e morte.	Morte	Aurículas: acentuadamente ingurgitadas. Fígado: marcada congestão e evidenciação do padrão lobular.

* A dose administrada de acetamida não preveniu a morte, ** A administração de 4,0g/kg de acetamida, após o animal manifestar sinais clínicos graves evitou a morte do rato.

Quadro 5 (Cont.). Resultados das intoxicações experimentais com folhas frescas de *Palicourea marcgravii*, extratos aquosos de *P. marcgravii*, *P. juruana*, *Arrabidaea bilabiata*, *Pseudocalymma elegans*, *Amorimia rigida*, *A. exotropica*, *Mascagnia aff. rigida*, *M. pubiflora* e monofluoroacetato de sódio em ratos

Identificação do rato (Reg. SAP)	Planta administrada /MF	Dose	Início dos sinais clínicos após a administração	Evolução da intoxicação	Manifestações clínicas	Desfecho	Achados de necropsia
Rato 26 (31807)	<i>P. marcgravii</i>	2,5 g/kg	2 h	4 h e 5 min	Pelos arrepiados, cianose, apatia, tremores musculares, uma convulsão, decúbito, movimentos de pedalagem e morte.	Morte	Aurículas, veias cava caudal e cranial: moderadamente ingurgitadas. Fígado: moderadamente congestos e evidenciação do padrão lobular.
Rato 65 (31907)	MF	4,0 mg/kg	1 h e 37 min	11 h e 13 min	Pelos arrepiados, apatia, decúbito, uma convulsão e morte	Morte	Aurículas, veia cava cranial e caudal: acentuadamente ingurgitadas. Fígado: moderadamente congestos.
Rato 64 (31908)	MF	8,0 mg/kg	33 min	4 h e 17 min	Pelos arrepiados, cianose, apatia, vocalização, tremores musculares, decúbito, prostração, dispnéia, três convulsões, movimentos de pedalagem e morte.	Morte	Aurículas: moderadamente ingurgitadas. Fígado: leve a moderadamente congestos.
Rato 62 (31927)	MF	8,0 mg/kg	46 min	7 min	Apatia, pelos arrepiados, uma convulsão, decúbito e morte	Morte	Aurículas: moderadamente ingurgitadas. Fígado: moderadamente congestos.
Rato 63 (31928)	MF	8,0 mg/kg	58 min	45 min	Pelos arrepiados, cianose, apatia, tremores musculares, uma convulsão, decúbito, movimentos de pedalagem e morte.	Morte	Aurículas, veia cava cranial e caudal: acentuadamente ingurgitadas. Fígado: acentuadamente congestos e evidenciação do padrão lobular.

* A dose administrada de acetamida não preveniu a morte, ** A administração de 4,0g/kg de acetamida, após o animal manifestar sinais clínicos graves evitou a morte do rato.

Início dos sinais clínicos

O tempo decorrido entre a administração das folhas frescas de *Palicourea marcgravii*, assim como dos extratos concentrados de cada planta utilizada ou MF e a manifestação dos primeiros sinais clínicos variou de 2h a 9h19min; 49min a 10h5min; 33min a 1h37min, respectivamente, conforme demonstrado no Quadro 5.

Evolução clínica

A evolução da intoxicação por folhas frescas de *P. marcgravii*, bem como pelos extratos concentrados das plantas

utilizadas ou MF variou de 3min a 5h15min; 22min a 14h e 28min; 45min a 11h13min, respectivamente, conforme apresentado no Quadro 5.

Quadro clínico geral

Nos 32 animais em que foram observados sinais clínicos, em geral, verificaram-se apatia, cianose em extremidades (cauda, focinho e orelha), pelos arrepiados, inquietação, dispnéia, respiração abdominal, taquipnéia, postura anormal, decúbito esterno-abdominal e lateral, tremores musculares, convulsões (Fig.1 e 2), cauda elevada, membros posteriores abduzidos, ata-



Fig.1. Intoxicação por monofluoroacetato de sódio (8,0mg/kg). Rato 63 durante quadro convulsivo.



Fig.2. Intoxicação por extratos concentrados de *A. exotropica* (70g/kg). Rato 56 em convulsão, com a cauda contraída.

xia, esticar de membros com movimentos de pedalagem, opistótono, respiração ofegante e morriam em poucos minutos.

Efeito protetor da acetamida

A acetamida, quando administrada previamente, evitou o aparecimento dos sinais clínicos e o óbito em todos os animais intoxicados por MF, bem como pelas folhas frescas de *P. marcgravii* e com os extratos concentrados de cada uma das outras PBCMS utilizadas (Quadros 2 a 4), exceto nos Ratos 54 e 71, que receberam 2,0 e 6,0g/kg de acetamida, respectivamente e, duas horas depois, foram intoxicados por extratos concentrados de *A. rigida* e *P. elegans*, nas doses de 48 e 14g/kg respectivamente, e morreram. Além desses animais, outros dois ratos (Ratos 55 e 57), que receberam 4,0g/kg de acetamida e, duas horas depois, foram intoxicados com extratos concentrados de *A. rigida* (48 e 46g/kg, respectivamente), manifestaram sintomas leves, mas não morreram.

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

Achados de necropsia

Os Ratos 58 e 61 intoxicados com extratos concentrados de *P. marcgravii* e *A. exotropa* desenvolveram *rigor mortis*, em 12 e 13 minutos, respectivamente, após a morte.

Todos os ratos apresentaram aurículas leve a acentuadamente ingurgitadas e, por vezes, também as veias cava cranial e caudal (Fig.3 e 4). Havia moderada dilatação cardíaca direita e esquerda em três animais (Ratos 1, 70 e 74). O fígado de todos os animais apresentava-se leve a acentuadamente congesto, e em alguns ratos, verificou-se evidência do padrão lobular (Ratos 12, 25, 26, 55, 61, 63 e 69) (Fig.4). Observaram-se ainda discreta a leve presença de líquido espumoso na superfície de corte dos pulmões (Ratos 19, 21 e 61).



Fig.3. Intoxicação por monofluoroacetato de sódio (8,0mg/kg). Rato 63 com aurículas acentuadamente ingurgitadas e fígado com evidência do padrão lobular.



Fig.4. Intoxicação por extrato concentrado de *Amorimia rigida* (48g/kg). Rato 55 com aurículas, veias cava caudal e cranial acentuadamente ingurgitadas.

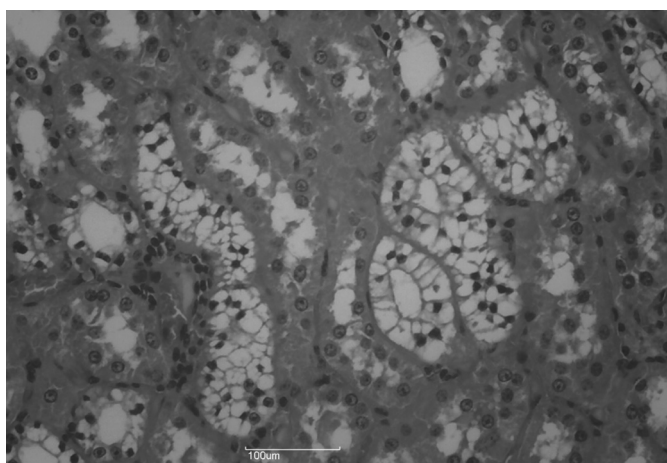


Fig.5. Intoxicação por *Palicourea marcgravii* (4,0g/kg). Degeneração hidrópico-vacuolar dos túbulos uriníferos contornados distais, associada à picnose nuclear (Rato 21). HE, obj.20x.

Achados histopatológicos

Os principais órgãos afetados foram os rins e o fígado. Nos rins de seis dos 30 animais havia leve a moderada tumefação citoplasmática dos túbulos uriníferos contornados distais e, por vezes, também nos túbulos coletores, mas somente em quatro deles (dois intoxicados por *P. marcgravii* (Ratos 12 e 21), um por *Pseudocalymma elegans* (rato 53) e outro por *A. exotropa* (Rato 60)) havia a clássica lesão de degeneração hidrópico-vacuolar com picnose nuclear evidente (Fig.5). Em dois animais (Ratos 53 e 54) observou-se picnose nuclear evidente ou de grau variável nos túbulos coletores. No fígado de 26 animais havia congestão e, destes, três apresentaram estreitamento compressivo dos cordões hepáticos, em oito corpúsculos de choque e em três, moderada a discreta necrose focal (Ratos 54, 57 e 74). Vacuolização de hepatócitos ocorreu em 16 animais e a intensidade da lesão variou de discreta a moderada. Nos demais órgãos não foram encontradas alterações significativas.

DISCUSSÃO

Nesse estudo, a administração de doses letais únicas de monofluoroacetato de sódio e de folhas frescas de *Palicourea marcgravii*, bem como de extratos aquosos de *P. marcgravii*,

P. juruana, *Pseudocalymma elegans*, *Arrabidaea bilabiata*, *Amorimia rigida*, *M. pubiflora* e *A. exotropicalis* aos ratos provocaram quadros clínico-patológicos semelhantes, caracterizados por sintomatologia, predominantemente nervosa, seguida de morte com evolução superaguda.

Clinicamente, os ratos manifestavam, em geral, evidentes sinais relacionados ao SNC, tais como convulsões, ataxia, tremores musculares, movimentos de pedalagem e opistótono. Adicionalmente, os animais apresentavam sinais menos específicos como apatia, cianose, pelos arrepiados, inquietação, dispnéia, respiração abdominal, taquipnéia, postura anormal, decúbito esterno-abdominal e lateral, prostração, respiração ofegante seguida de óbito. Quadro semelhante foi descrito em ratos (Pacheco & Carneiro 1932, Górnaiak 1986, 1988, Eckschmidt et al. 1989, Moraes 1993, Górnaiak et al. 1994, Pinto et al. 2008), camundongos, hamsters (Górnaiak 1986) e cobaios (Pacheco & Carneiro 1932, Górnaiak 1986) experimentalmente intoxicados com *P. marcgravii*, bem como em ratos que receberam extratos de *M. rigida* (Cunha 2008) e cobaios intoxicados com *P. elegans* (Tavares et al. 1974), além de ratos (Chenoweth & Gilman 1946, Egekeze & Oehme 1979, Foss 1948, Hayes et al. 1973, Eckschmidt et al. 1989, Moraes 1993, Górnaiak et al. 1994, Cunha 2008), hamsters (Chenoweth & Gilman 1946) e cobaios (Chenoweth & Gilman 1946, Quin & Clark 1947, Foss 1948) intoxicados por MF.

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

Esse sistema de classificação, porém, foi recentemente revisto e complementado, após profunda revisão de literatura relacionada à intoxicação por MF nas diferentes espécies de animais (Peixoto et al. 2010). Essa nova classificação proposta por esses autores foi estabelecida, em parte, com base em recentes estudos experimentais com MF em bovinos (Nogueira et al. 2010) e ovinos (Peixoto et al. 2010) e, foi fundamentada, também, em diversos trabalhos desenvolvidos com plantas tóxicas que contêm ou provavelmente contêm MF como princípio tóxico (Tokarnia et al. 2000). A classificação dos ratos na classe IV (Chenoweth & Gilman 1946), foi questionada (Peixoto et al. 2010), uma vez que os sinais clínicos considerados anteriormente para agrupar os ratos nessa classe, foram observados no dia seguinte à administração de MF e, assim mesmo, nos animais que sobreviveram (Chenoweth & Gilman 1946) e, portanto, não deveriam ter sido tão valo-

rizados. Além disso, foi apontado que controversamente, Chenoweth & Gilman (1946) também descreveram sintomas iniciais caracterizados por tremores, alteração postural, hiperexcitabilidade e convulsões tônicas provocadas por estímulos mecânicos (Peixoto et al. 2010). De fato, estudos posteriores demonstraram que ratos intoxicados por MF apresentam típica sintomatologia nervosa, caracterizada, em especial, por frequentes convulsões (Foss 1948, Egekeze & Oehme 1979, Cunha 2008). Em adição, observou-se que ratos e camundongos intoxicados por MF apresentavam sinais clínicos de origem nervosa idênticos aos manifestados por cobaios (Foss 1948). Convém lembrar que cobaios apresentam alterações nervosas semelhantes àquelas descritas em cães e, desta forma, são incluídos na categoria III, na qual a ação de MF é mais marcada sobre o SNC (Chenoweth & Gilman 1946). Com base nestes fatos, foi recentemente proposto que ratos e hamsters deveriam ser incluídos na categoria III (Peixoto et al. 2010), o que, também pode ser constatado nesse estudo.

Em relação à **evolução** da intoxicação, também foram observadas semelhanças entre os ratos que receberam folhas frescas de *P. marcgravii*, extratos concentrados das 7 PBCMS utilizadas, bem como aqueles intoxicados por MF. Esses animais apresentaram, em geral, evolução superaguda, muito semelhante àquela descrita nos experimentos com *P. marcgravii* em bovinos (Tokarnia & Döbereiner 1986), ovinos (Tokarnia et al. 1986) e coelhos (Peixoto et al. 1987), bem como em intoxicações naturais e experimentais com as outras PBCMS nas diversas espécies animais (Tokarnia et al. 2000). Apesar disso, os ratos exibiram acentuada prostração o que difere do observado em bovinos (Tokarnia et al. 2000) e coelhos (Peixoto et al. 1987) intoxicados por tais plantas.

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

No presente estudo, verificaram-se em seis ratos leve a moderada tumefação citoplasmática dos túbulos uriníferos contornados distais e, por vezes, também nos túbulos coletores, mas somente em quatro ratos (dois intoxicados por *P. marcgravii*, um por *P. elegans* e outro por *A. exotropicalis*) havia degeneração hidrópico-vacuolar com picnose nuclear, ainda assim pouco marcada, lesão semelhante à descrita em 1959 por Döbereiner & Tokarnia no rim de bovinos in-

toxicados com doses únicas de *P. marcgravii* e, mais tarde observada também no rim de bovinos intoxicados natural e experimentalmente com todas as outras plantas brasileiras que causam “morte súbita” (Tokarnia et al. 2000, Barbosa et al. 2003, Oliveira et al. 2004, Helayel 2008). Essa lesão foi apenas recentemente descrita no rim de ratos intoxicados por *P. marcgravii* (Pinto et al. 2008) e ainda não havia sido observada em ratos intoxicados por outras PBCMS. É interessante mencionar também que, a *degeneração hidrópico-vacuolar dos túbulos uriníferos contornados distais associada à picnose nuclear ainda não foi descrita como tal*, em ratos **intoxicados por MF**. De fato, a análise das fotomicrografias publicadas por Cater & Peters (1961), que estudaram as lesões renais induzidas pela inoculação intraperitoneal de fluorocitrato em ratos, permite a visualização de lesão semelhante à DHV, no entanto, essa lesão foi descrita como marcada “degeneração gordurosa” dos túbulos contornados (Peixoto et al. 2010).

Desta forma, em ratos, a clássica degeneração hidrópico-vacuolar com picnose nuclear é mais rara e menos evidente, dada a picnose e a tumefação citoplasmática serem menos pronunciadas do que a observada em bovinos e ovinos intoxicados por PBCMS ou MF. Além disso, em ratos, a autólise dos túbulos renais pode, em parte dos casos, ser microscopicamente semelhante à DHV incipiente, o que pode dar origem a interpretações equivocadas. O rato, portanto, não é um bom modelo experimental para o estudo dessa lesão renal.

A DHV, de uma forma geral, diferencia-se das degenerações que ordinariamente ocorrem nas células epiteliais do rim pela acentuada tumefação citoplasmática associada à evidente picnose nuclear e por sua peculiar distribuição seletiva, quase exclusiva, aos túbulos uriníferos contornados distais, uma vez que só ocasionalmente afeta também os túbulos retos (Tokarnia & Döbereiner 1986).

Com base no mecanismo de ação do MF, acredita-se que compostos precursores de acetato (referidos como “doadores de acetato”), como a **acetamida**, sejam capazes de reduzir a inibição competitiva do MF pelo mesmo sítio ativo (coenzima A) (Pattison 1959), como resultado, tais substâncias exerceriam efeito protetor nas intoxicações pelo MF, por impedirem ou reduzirem a ocorrência da chamada “síntese letal” (Egyed & Schultz 1986). De fato, a acetamida, quando administrada previamente em doses suficientemente altas foi capaz de evitar o aparecimento dos sinais clínicos ou a morte de todos os ratos intoxicados com MF, bem como por folhas frescas de *P. marcgravii* ou com extratos concentrados de cada uma das PBCMS utilizadas (*P. marcgravii*, *P. juruana*, *P. elegans*, *A. bilabiata*, *A. rigida*, *M. pubiflora* e *A. exotropica*).

Convém dizer que o efeito protetor da acetamida já havia sido demonstrado em ratos intoxicados intraperitonealmente com extrato aquoso *P. marcgravii* e por MF (Górniak et al. 1994), porém, curiosamente esses autores não mencionaram em suas conclusões que o MF seria o princípio tóxico determinante da morte dos animais intoxicados por essa planta, embora tenham concordado com outros pesquisadores que já apontavam a presença desse composto nas folhas de *P. marcgravii*.

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

Algumas considerações devem ser feitas em relação aos animais que, apesar de terem recebido acetamida, duas horas antes, da intoxicação com extratos concentrados de *A. rigida* nas doses de 46g/kg (Rato 57) ou 48 g/kg (Ratos 54 e 55) e de *P. elegans* na dose de 14g/kg (Rato 71), manifestaram sintomas (Ratos 55 e 57) e/ou morreram (Ratos 54 e 71). Em relação aos experimentos com *A. rigida*, esse achado pode, provavelmente, ser justificado, pelo menos em parte, devido ao fato do extrato concentrado dessa planta ter sido elaborado a partir de seus frutos, os quais são cerca de 20 vezes mais tóxicos do que suas folhas (Tokarnia et al. 2000), ou seja, muito mais tóxico do que os demais extratos das outras PBCMS utilizadas em nossos experimentos. Cabe ressaltar, ainda, que o rato que morreu (Rato 54), recebeu 2,0 g/kg de acetamida, já os outros dois ratos (Ratos 55 e 57), que manifestaram apenas sintomas leves e não morreram, receberam o dobro dessa dose, ou seja, 4,0g/kg de acetamida. Esse achado demonstra claramente que a eficácia da acetamida depende da dose administrada e da toxidez da planta em questão (Egyed & Schultz 1986). Também corrobora com esta hipótese o resultado obtido nos experimentos com extratos concentrados de *P. elegans*, uma vez que o Rato 71, intoxicado com 14g/kg, apesar de ter recebido previamente 6,0g/kg de acetamida morreu, já o Rato 74, que recebeu o extrato da planta na dose de 11g/kg, porém o dobro da dose de acetamida (12g/kg) não manifestou quaisquer sinais clínicos. É interessante mencionar que o mesmo rato (Rato 74), 13 dias depois foi intoxicado novamente com a mesma dose de *P. elegans*, porém sem acetamida e morreu.

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

Antes da comparação do efeito protetor da acetamida nas intoxicações por PBCMS e MF demonstrada neste estudo, já havia evidências circunstanciais de que o MF seria a causa, ou pelo menos um dos compostos importantes na determinação da morte dos animais que ingerem PBCMS. Efetivamente, já se demonstrou que o quadro clínico-patológico manifestado por bovinos (Nogueira et al. 2010) e ovinos (Peixoto et al. 2010) intoxicados de forma experimental com MF corresponde, em diversos aspectos, ao observado em casos de intoxicação por PBCMS e, que, a típica

DHV dos TCD associada à picnose nuclear, verificada no rim de bovinos intoxicados natural e experimentalmente com todas as PBCMS (Tokarnia et al. 2000, Barbosa et al. 2003, Oliveira et al. 2004, Helayel 2008) é uma lesão característica da intoxicação por MF em bovinos (Nogueira et al. 2010) e ovinos (Peixoto et al. 2010). Além disso, as diversas outras substâncias que já foram isoladas dessas plantas, em especial, de *P. marcgravii*, como alcalóides, saponinas, ácidos málico, palicúrico e mioctônico, salicilato de metila, cristais de oxalato de cálcio, tanóides, ácidos salicílico e o-metoxibenzóico, cafeína, alcalóides N-metiltiramina e 2-metiltetrahydro- β -carbolina (Peckolt 1868, Guimarães 1934, Mello & Fernandes 1940, Barnes & Gilbert 1960, Cascon & Mors 1962, Gagnin & Maravalhas 1969, Górnaiak 1988, Morita et al. 1989, Kemmerling 1996, Coelho et al. 2007) não induzem o quadro clínico-patológico de “morte súbita” e, muito menos à DHV. Não obstante, outros autores são da opinião que o MF não seria o princípio determinante das mortes dos animais que ingerem essas plantas (Habermehl 1986, González et al. 2000) ou que haveria outros compostos que poderiam causar a morte dos animais (Peckolt 1868, Guimarães 1934, Hoehne 1939, Mello & Fernandes 1940, Corrêa 1969, Górnaiak et al. 1986), ter efeito sinérgico com o MF (Kemmerling 1996) ou ainda contribuir para a toxicidade da planta (Górnaiak 1988, Coelho et al. 2007).

Embora Tokarnia e colaboradores acreditem que o MF também seja o princípio tóxico das outras PBCMS (Peixoto et al. 2011), ainda não haviam sido desenvolvidos, até hoje, estudos com a finalidade de detectar a possível presença do MF nas outras PBCMS ou de demonstrar que esse composto é o princípio tóxico dessas plantas. O presente estudo, no entanto, demonstra que a administração de acetamida é capaz de prevenir os sinais clínicos e evitar a morte de ratos intoxicados por *P. juruana*, *P. elegans*, *A. bilabiata*, *Amorimia rigida*, *M. pubiflora* e *A. exotropa* e confirma os dados, anteriormente descritos, referentes ao efeito protetor da acetamida na intoxicação por MF e *P. marcgravii* em ratos, o que *comprova de forma indireta, mas prática, que esse composto é o princípio tóxico determinante da morte dos animais intoxicados pelas PBCMS*. Tal comprovação fornece subsídio para o desenvolvimento no Brasil de estudos genéticos que envolvam a metabolização do MF por bactérias ruminais, semelhantes aos que têm sido realizados na Austrália (Gregg et al. 1998). A implementação dessa tecnologia no rebanho bovino brasileiro seria uma técnica profilática viável contra a intoxicação por plantas que contêm o MF como princípio ativo, que são incriminadas por milhares de mortes de bovinos adultos todos os anos.

REFERÊNCIAS

- Barbosa J.D., Oliveira C.M.C., Tokarnia C.H. & Riet-Correa F. 2003. Comparação da sensibilidade de bovinos e búfalos à intoxicação por *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae). *Pesq. Vet. Bras.* 23(4):167-172.
- Barnes R.A. & Gilbert M.E.A. 1960. Investigação química preliminar de várias plantas brasileiras: Presença de alcalóides, saponinas e outras substâncias. *Bolm Inst. Quím. Agric.*, Rio de J., 58:9-26.
- Cascon C.S & Mors W.B. 1962. Substâncias isoladas da *Palicourea marcgravii* St. Hil.: uma nova síntese da N-metil-tiramina. *Anais Assoc. Bras. Quím.* 21:53-60.
- Cater D.B. & Peters R.A. 1961. The occurrence of renal changes, resembling nephrosis, in rats poisoned with fluorocitrate. *Brit. J. Exp. Pathol.* 42:78-289.
- Corrêa P.M. 1969. Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Vol.4. IBDF, Rio de Janeiro. 765p.
- Chenoweth M.B. & Gilman A. 1946. Studies on the pharmacology of fluoroacetate. 1. Species response to fluoroacetate. *J. Pharm. Exp. Therap.* 87:90-103.
- Coelho E.G., Amaral A.C.F., Ferreira J.L.P., Santos A.G., Pinheiro M.L.B. & Silva J.R.A. 2007. Calcium oxalate crystals and methyl salicylate as toxic principles of the fresh leaves from *Palicourea longiflora*, an endemic species in the Amazon state. *Toxicol* 49:407-409.
- Cunha L.C. 2008. Avaliação dos efeitos tóxicos de *Mascagnia rigida* em ratos. Estudo anatomopatológico. Comparação entre metodologias cromatográficas para detecção do fluoroacetato de sódio. 2008. Dissertação de Mestrado em Patologia Experimental e Comparada, Universidade de São Paulo, SP. 100p.
- Döbereiner J. & Tokarnia C.H. 1959. Intoxicação de bovinos pela “erva-de-rato” (*Palicourea marcgravii* St. Hil.) no vale do Itapicuru, Maranhão. *Arqs Inst. Biol. Anim.*, Rio de J., 2:83-91.
- Eckschmidt M., Brizolla M., Tarragá D.P. & Palermo Neto J. 1989. Is monofluoroacetic acid the active neurotoxic principle in *Palicourea marcgravii*. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 22(8):975-977.
- Egekeze J.O. & Oehme F.W. 1979. Inorganic and organic fluoride concentrations in tissues after the oral administration of sodium monofluoroacetate (Compound 1080) to rats. *Toxicology* 15:43-53.
- Egyed M.N. & Schultz R.A. 1986. The efficacy of acetamide for the treatment of experimental *Dichapetalum cymosum* (gibflaar) poisoning in sheep. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 54:231-234.
- Foss G.L. 1948. The toxicology and pharmacology of methyl fluoroacetate (MFA) in animals, with some notes on experimental therapy. *Brit. J. Pharmacol.* 3:118-127.
- Gagnin M.A.H. & Maravalhas N. 1969. Ocorrência de alcalóides no gênero *Palicourea*. *Anais 20º Congresso Nacional de Botânica, Goiânia, Goiás*, p.91-105.
- Goh C.S.S., Hodgson D.R., Fearnside S.M., Heller J. & Malikides N. 2005. Sodium monofluoroacetate (Compound 1080) poisoning in dogs. *Aust. Vet. J.* 83(8):474-479.
- González B., Suárez-Roca H., Bravo A., Salas-Auvert R. & Avila D. 2000. Chemical composition and biological activity of extracts from *Arrabidaea bilabiata*. *Pharm. Biol.* 38(4):287-290.
- Górnaiak S.L. 1986. *Palicourea marcgravii*: estudos em animais de laboratório. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, USP, São Paulo. 160p.
- Górnaiak S.L. 1988. Intoxicação por *Palicourea marcgravii*: uma abordagem experimental. Tese de Doutorado, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, USP, São Paulo. 99p.
- Górnaiak S.L., Souza-Spinosa H., Palermo-Neto J., Ferro V.O. & Oliveira F. 1986. Chromatographic Isolation of caffeine from *Palicourea marcgravii*. *Vet. Hum. Toxicol.* 28(6):542.
- Górnaiak S.L., Palermo-Neto J. & Spinosa H.S. 1994. Effects of acetamide on experimentally-induced *Palicourea marcgravii* (St. Hil.) poisoning in rats. *Vet. Hum. Toxicol.* 36(2):101-102.
- Gregg K., Hamdorf B., Henderson K., Kopecny J. & Wong C. 1998. Genetically modified ruminal bacteria protect sheep from fluoroacetate poisoning. *Appl. Environ. Microbiol.* 64:3496-3498.
- Guimarães C.C. 1934. Herva de rato. *Vida Médica* 2:324-333.
- Habermehl G. 1986. Comunicação pessoal. (Apud Górnaiak et al. 1986)
- Hayes F.D., Short R.D. & Gibson J.E. 1973. Differential toxicity of monochloroacetate, monofluoroacetate and monoiodoacetate in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 26:93-102.
- Helayel M.A. 2008. Morte súbita em bovinos causada pela ingestão de *Pseudocalymma elegans* (Bignoniaceae) no município de Rio Bonito, RJ. Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária, Instituto de Vete-

- rinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 91p.
- Hoehne F.C. 1939. Plantas e Substâncias Vegetais Tóxicas e Mediciniais. Graphicas, São Paulo. 356p.
- Kemmerling W. 1996. Toxicity of *Palicourea marcgravii*: Combined effects of fluoroacetate, Nmethyltyramine and 2-methyltetrahydro-beta-carboline. *Zeitschrift für Naturforschung* 51(1/2):59-64.
- Krebs H.C., Kemmerling W. & Habermehl G. 1994. Qualitative and quantitative determination of fluoroacetic acid in *Arrabidaea bilabiata* and *Palicourea marcgravii* by F-NMR spectroscopy. *Toxicon* 32:909-913.
- Mello E.M.M. & Fernandes J.S. 1940. Contribuição ao estudo de plantas tóxicas brasileiras. Serviço de Publicidade Agrícola, Ministério da Agricultura, Rio de Janeiro. 50p.
- Moraes R.L. 1993. Comprovação química e biológica da presença de monofluoroacetato nas folhas de *Palicourea marcgravii* St. Hil. Tese Doutorado em Toxicologia, USP, São Paulo. 83p.
- Morita H., Ichihara Y. Takeya K., Watanabe K., Itokawa H. & Motidome M. 1989. A new alkaloid glycoside from the leaves of *Palicourea marcgravii*. *Plantas Mediciniais* 55(3):288-289.
- Nogueira V.A., França T.N., Peixoto T.C., Caldas S.A., Armien A.G. & Peixoto P. 2010. Intoxicação experimental por monofluoroacetato de sódio em bovinos: aspectos clínicos e patológicos. *Pesq. Vet. Bras.* 30(7):533-540.
- Oliveira M.M. 1963. Chromatographic isolation of monofluoroacetic acid from *Palicourea marcgravii*, St. Hil. *Experientia* 19:586.
- Oliveira C.M.C., Barbosa J.D., Macedo R.S.C., Brito M.F., Peixoto P.V. & Tokarnia C.H. 2004. Estudo comparativo da toxidez de *Palicourea juruana* (Rubiaceae) para búfalos e bovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 24(1):27-30.
- Ortis M. 2005. Comissão externa destinada a acompanhar as investigações sobre o envenenamento de animais ocorrido na Fundação Zoológico de São Paulo (envenenamento no Zoológico de São Paulo). Disponível em <www.camara.gov.br/sileg/integras/292702.pdf> Acesso em 14.8.09.
- Pacheco G. & Carneiro V. 1932. Estudos experimentais sobre plantas tóxicas. I. Intoxicação dos animais pela "erva-de-rato da mata". *Revta Assoc. Paul. Med. Vet.* 2(2/3):23-46.
- Pattison F.L. 1959. *Toxic Aliphatic Fluorine Compounds*. Elsevier Publishing, London. 227p.
- Peckolt T. 1868. Herva de rato. *Vida Médica* 2:324-333. (Apud Guimarães 1934)
- Peixoto P.V., Tokarnia C.H., Döbereiner J. & Peixoto C.S. 1987. Intoxicação experimental por *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae) em coelhos. *Pesq. Vet. Bras.* 7(4):117-129.
- Peixoto T.C., Nogueira V.A., Coelho C.D., Veiga C.C.P., Peixoto P.V. & Brito M.F. 2010. Aspectos clínico-patológicos e laboratoriais da intoxicação experimental por monofluoroacetato de sódio em ovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 30(12):1021-1030.
- Peixoto P.V., Nogueira V.A., França T.N., Peixoto T.C., Döbereiner J. & Tokarnia C.H. 2011. Relationship between a peculiar form of hydropic-vacuolar degeneration of the distal convoluted tubules, monofluoroacetate poisoning, and plants that cause "sudden death" in Brazil, p.365-372. In: Riet-Correa F, Pfister J., Schild A.L. & Wierenga T. (Eds), *Poisoning by Plants, Mycotoxins, and related Toxins*. CABI, London.
- Pinto L.F., Castilhos L.R., Telhado J., França T.N. Brito M.F. & Peixoto P.V. 2008. Effects of high diluted solutions of *Palicourea marcgravii* St. Hil. in rats poisoned by aqueous extracts of this plant. *Int. J. High Dilution Res.* 7(25):193-198.
- Quin J.I. & Clark R. 1947. Studies on the action of potassium monofluoroacetate (CH₂FCOOK) [*Dichapetalum cymosum* (Hook) Engl.] toxin on animals. *Onderstepoort J. Vet. Sci. Anim. Ind.* 22:241-246.
- Tavares M.I., Rezende A.M.L. & Döbereiner J. 1974. Intoxicação experimental por *Pseudocalymma elegans* em coelhos e cobaías. *Pesq. Agropec. Bras.* 9:91-94.
- Tokarnia C.H. & Döbereiner J. 1986. Intoxicação por *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae) em bovinos no Brasil. *Pesq. Vet. Bras.* 6(3):73-78.
- Tokarnia C.H., Peixoto P.V. & Döbereiner J. 1986. Intoxicação experimental por *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae) em ovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 6(4):121-131.
- Tokarnia C.H., Döbereiner J. & Peixoto P.V. 2000. *Plantas Tóxicas do Brasil*. Editora Helianthus, Rio de Janeiro. 310p.