



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
DOUTORADO EM CIÊNCIA ANIMAL

SEVERINO ANTONIO GERALDO NETO

**INTOXICAÇÃO POR *Marsdenia megalantha* Goyder & Morillo EM ANIMAIS DE
PRODUÇÃO**

MOSSORÓ-RN

2017

SEVERINO ANTONIO GERALDO NETO

INTOXICAÇÃO POR *Marsdenia megalantha* Goyder & Morillo EM ANIMAIS DE PRODUÇÃO

Tese apresentada ao Doutorado em Ciência Animal do Programa em Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), como requisito para obtenção do título de Doutor em Ciência Animal.

Linha de Pesquisa: Sanidade Animal

Orientador: Prof. Dr. Benito Soto Blanco - UFMG

Co-orientador: Prof. Dr. Jael Soares Batista - UFERSA

MOSSORÓ

2017

© Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tomar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

G354i Geraldo Neto, Severino Antonio.
 Intoxicação por *Marsdenia megalantha* Goyder &
 Morillo em animais de Produção / Severino Antonio
 Geraldo Neto. - 2017.
 79 f. : il.

 Orientador: Benito Soto Blanco.
 Coorientador: Jael Soares Batista.
 Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural
 do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em
 Ciência Animal, 2017.

 1. Apocynaceae. 2. Animais de Produção. 3.
 Intoxicação por plantas. 4. intoxicação em
 lactantes. 5. alterações neurológicas. I. Soto
 Blanco, Benito, orient. II. Soares Batista, Jael,
 co-orient. III. Título.

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC's) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (SISBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.

SEVERINO ANTONIO GERALDO NETO

INTOXICAÇÃO POR *Marsdenia megalantha* Goyder & Morillo EM ANIMAIS DE PRODUÇÃO

Tese apresentada ao Doutorado em Ciência Animal do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Doutor em Ciência Animal.

Linha de Pesquisa: Sanidade Animal

Defendida em: 12 / 07 / 2017

BANCA EXAMINADORA



Benito Soto-Blanco, interno, Prof. Dr. (UFMG)
Presidente



Felipe Pierezan, externo, Prof. Dr. (UFMG)
Membro Examinador



Marília Martins Melo, externo, Profa. Dra. (UFMG)
Membro Examinador



Jael Soares Batista, interno, Prof. Dr. (UFERSA)
Membro Examinador



Raimundo Alves Barreto, interno, Prof. Dr. (UFERSA)
Membro Examinador

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

SEVERINO ANTONIO GERALDO NETO – Nascido em Catolé do Rocha, RN, no dia 22.11.1978, filho de Manoel Geraldo Sobrimho e Maria do Socorro Figueiredo Lima. Graduou-se em Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Patos (1998-2003) Estagiou no Laboratório de Patologia e Toxologia do Hospital Veterinário da referida instituição de ensino. Foi voluntário em projeto de pesquisa com plantas tóxicas por um ano (2000) e Bolsista de iniciação científica por dois anos (2001-2002). Cursou iniciando em 2010 e finalizando em 2012. Esta agora concluindo agora com a finalização deste trabalho o Doutorado acadêmico em Ciência Animal (PPGCA/UFERSA) que iniciou em 2013 e está finalizando em 2017.

DEDICO

A Deus por sua infinita bondade, onisciência, misericórdia, proteção e direcionamento.

Aos meus pais: Manuel Geraldo Sobrinho e Maria do Socorro Figueiredo Lima que são um presente de Deus na minha vida. E sempre estiveram presentes em todos os momentos, mesmo às vezes estando longe. Por essa razão tenho certeza que essa conquista é fruto do imenso amor que sempre recebi.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus pelo dom da vida, por a ajuda e proteção, por sua força e presença constante, e por guiar-me à conclusão de mais uma preciosa etapa da minha vida.

Em seguida a meus pais Manuel Geraldo Sobrinho e Maria do Socorro de Figueiredo Lima, que me ensinaram a viver, e que com muita confiança, dedicação, força e amor, me proporcionaram a realização deste sonho, estando sempre presentes em todas as etapas da minha vida. Sendo sempre uma base forte onde sempre pude me apoiar para tomar muitas decisões difíceis na minha vida. E estas me permitiram chegar a mais essa vitória.

Agradeço também a todos os meus familiares que foram de grande importância para a realização deste sonho.

Ao Professor Dr. Benito Soto-Blanco pela orientação e compreensão que dedicou durante todas as etapas desta pós-graduação. E em especial a atenção e respeito que sempre teve durante todo este tempo, pelo exemplo de ser um excelente profissional e sempre dedicado e disposto a ajudar as pessoas. Agradeço muito a Deus por ter colocado um orientador tão especial em minha vida, além de excelente profissional, é uma excelente ser humano.

Ao Professor Dr. Jael Soares Batista pela co-orientação e por está sempre disponível para ajudar, e sempre com muita dedicação e carinho.

A todos os outros professores que foram muito importantes para que este sonho fosse alcançado.

A todos os meus amigos que de alguma forma me ajudaram a conquistar mais esta vitória dentre as muitas que ainda irei conquistar.

Ainda que eu falasse as línguas dos homens e dos anjos, e não tivesse amor, seria como o metal que soa ou como o sino que tine.

E ainda que tivesse o dom de profecia, e conhecesse todos os mistérios e toda a ciência, e ainda que tivesse toda a fé, de maneira tal que transportasse os montes, e não tivesse amor, nada seria.

E ainda que distribuísse toda a minha fortuna para sustento dos pobres, e ainda que entregasse o meu corpo para ser queimado, e não tivesse amor, nada disso me aproveitaria.

O amor é sofredor, é benigno; o amor não é invejoso; o amor não trata com leviandade, não se ensoberbece.

Não se porta com indecência, não busca os seus interesses, não se irrita, não suspeita mal; Não folga com a injustiça, mas folga com a verdade;

Tudo sofre, tudo crê, tudo espera, tudo suporta.

O amor nunca falha; mas havendo profecias, serão aniquiladas; havendo línguas, cessarão; havendo ciência, desaparecerá;

Porque, em parte, conhecemos, e em parte profetizamos;

Mas, quando vier o que é perfeito, então o que o é em parte será aniquilado.

Quando eu era menino, falava como menino, sentia como menino, discorria como menino,

mas, logo que cheguei a ser homem, acabei com as coisas de menino.

Porque agora vemos por espelho em enigma, mas então veremos face a face; agora conheço em parte, mas então conhecerei como também sou conhecido.

Agora, pois, permanecem a fé, a esperança e o amor, estes três, mas o maior destes é o amor.

O olho é a lâmpada do corpo. Se teu olho é bom, todo o teu corpo se encherá de luz. Mas se ele é mau, todo teu corpo se encherá de escuridão. Se a luz que há em ti está apagada, imensa é a escuridão.

Jesus Cristo

INTOXICAÇÃO POR *Marsdenia megalantha* Goyder & Morillo EM ANIMAIS DE PRODUÇÃO

GERALDO NETO, S. A. **Intoxicação por *marsdenia megalantha* Goyder & Morillo em animais de produção.** Tese (Doutorado em Sanidade Animal) – Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal – Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró – RN, Brasil, 2017.

RESUMO

As plantas do gênero *Marsdenia*, família Apocynaceae (Asclepiadoideae), apresentam distribuição mundial e apesar de diversas espécies deste gênero serem usadas na medicina tradicional asiática para o tratamento de dores reumáticas, inflamação, asma, sífilis e câncer. A *Marsdenia megalantha* que é um arbusto rupícola com raízes suculentas da região semi-árida do Brasil é mencionada por produtores rurais como a causa de intoxicação em bovinos, caprinos, ovinos, suínos, equino e asinino. São relatados os achados clínicos e patológicos da administração experimental de *M. megalantha* a ovinos, caprinos, bezerro e suíno. Foram administradas a três cabras, dois carneiros e um bezerro uma dose única por via oral de raízes recém-cortadas numa dose de 25 g de planta verde/kg de peso corporal; a outro carneiro e um suíno foram administradas a dose de 10 g/kg. A intoxicação ocorreu em todos os animais, exceto nas três cabras. Os sinais clínicos de intoxicação incluíram taquicardia, opistótono, timpanismo gasoso, dispneia, nistagmo, midríase, ataxia, andar rígido, decúbito e movimentos de pedalagem. A avaliação patológica mostrou necrose neuronal laminar segmentar, córtex telencefálico com aspecto esponjiforme e degeneração de células de Purkinje. O procedimento com papel de picrato não detectou cianeto nas raízes das plantas, mas a reação utilizada para a detecção de nitratos deu uma resposta fortemente positiva. Em um segundo experimento foram administradas a uma vaca, uma cabra e a uma ovelha com crias de aproximadamente 30 dias, doses de 10, 25 e 7 g/Kg, respectivamente. Tendo como objetivo avaliar se o princípio tóxico, ainda desconhecido, passava ou não pelo leite e se intoxicaria os animais lactantes. A administração durou 5 dias na vaca, 10 dias na ovelha e apenas três dias na cabra. E somente a cabra apresentou sinais clínicos de intoxicação, nenhum outro animal e nem suas crias apresentaram nenhum sinal clínico. Em conclusão, *M. megalantha* é uma planta que produz intoxicação aguda caracterizada principalmente por distúrbios nervosos, o princípio tóxico ou os princípios tóxicos não passaram pelo leite ou passaram em quantidades

insuficientes para causar intoxicação nas crias, o suíno foi a espécie mais sensível a e a cabra a mais resistente a intoxicação, e os produtores de animais de produção deveriam oferecer alimentos alternativos durante as estações de seca e início da estação das chuvas para evitar a ocorrência de intoxicação por esta planta.

Palavras-chave: Apocynaceae, Asclepiadoideae, Intoxicação por plantas, intoxicação em lactantes, alterações neurológicas.

ABSTRACT

The genus *Marsdenia* belongs to the Apocynaceae(Asclepiadoideae)family, are distributed worldwide and although several species of this genus are used in traditional Asian medicine for the treatment of rheumatic pain, inflammation, asthma, syphilis and cancer.*Marsdenia megalantha* is a rupicolous shrub with succulent roots of the semi-arid region of Brazil, is mentioned by farmers as the cause of intoxication in cattle, goats, sheep, pigs, equines and asinines. The clinical and pathological findings of the experimental administration of *M. megalantha* to sheep, goats, calf and swine are reported. Were dosed once orally with freshly chopped roots at dose of 25 g wet plant/kg bw; another sheep ad a pig were dosed with 10g wet plant/kg bw. Poisoning occurred in all of the animals except the three goats. Clinical signs of poisoning included tachycardia, opisthotonus, ruminal bloat, dyspnea, nystagmus, mydriasis, ataxia, and recumbence with paddling moviments. Pathological evaluation showed segmental laminar neuronal necrosis and spongiosis in the telencephalic cortex and degeneration of Purkinje cells. The picrate paper procedure detected no cyanide in the plant roots, but the reaction used for nitrate detection gave a strongly positive response. In a second experiment a dose of 10, 25 and 7 g / kg, respectively, was given to a cow, a goat and a sheep with calves of approximately 30 days. Aiming to assess whether the toxic principle, still unknown, passed through the milk and would be intoxicating the lactating animals. The administration lasted 5 days in the cow, 10 days in the sheep and only three days in the goat. And only the goat showed clinical signs of intoxication, no other animals nor their offspring showed any clinical signs. In conclusion, *M. megalantha* is a plant that produces acute intoxication characterized mainly by nervous disorders, the toxic principle or the toxic principles did not pass through the milk or passed in quantities insufficient to cause intoxication in the young, the pig was the species more sensitive to the goat The most resistant to intoxication, and producers of production animals should offer alternative foods during the dry season and early in the rainy season to avoid the occurrence of intoxication by this plant.

Keywords: Apocynaceae, Asclepiadoideae, Poisonous plants, Plant poisoning, neurological disorders.

LISTA DE FIGURAS

INTRODUÇÃO.....	16
Figura 1 <i>Marsdenia megalantha</i> : A – Folhas, B – Raízes, C – Flores e D - Fruto	19
Figura 2 A, B, C e D – Área invadida com a <i>Marsdenia megalantha</i>	20
Figura 3 <i>M. megalantha</i> – A, B, e C - Pequeno arbusto com folhas semi-suculentas, D – Raízes da planta contendo um látex viscoso	21
Figura 4 <i>M. megalantha</i> – A e B – Ainda com folhas no final do período seco do ano, e C e D – Apresentando rápida rebrota no início das chuvas	22
 CAPÍTULO II – INTOXICAÇÃO ESPONTÂNEA E EXPERIMENTAL POR <i>Marsdenia megalantha</i> GOYDER & MORILLO EM RUMINANTES E SUÍNO	
Figura 1 Trocaterização realizado no rúmem do bezerro para amenizar o timpanismo e evitar a morte do mesmo	46
Figura 2 Surto de intoxicação espontânea com <i>M. megalantha</i> em bovinos – A e B – Planta encontrada na área onde os animais estavam pastando em Santana dos Matos/RN, C e D – Bovinos intoxicados no mesmo município.	47
Figura 3 A, B, C e D – Bovino apresentando sintomatologia clínica neurológica em caso de intoxicação espontânea com <i>M. megalantha</i> no município de Angicos/RN	48
Figura 4 Caprinos apresentando sintomatologia clínica neurológica em surto de intoxicação por <i>M. megalantha</i> no município de Angicos /RN	49
Figura 5 Carneiro intoxicado experimentalmente por <i>M. megalantha</i> que ingeriu uma dose única de 25 g/kg de peso vivo e apresentou sintomatologia nervosa grave caracterizada por: A – incordenação motora, B – movimentos de pedalagem, C – opistótono, D e E – Rígidez muscular e opistótono, F – movimentos de pedalagem e timpanismo gasoso.	52
Figura 6 Bezerro intoxicado experimentalmente por <i>M. megalantha</i> que ingeriu uma dose de 25 g/kg de peso vivo e apresentou sintomatologia nervosa grave caracterizada por: A e B – Incoordenação motora, C – Opistótono, D – Rigidez muscular, E – movimentos de pedalagem e timpanismo gasoso e F – diminuição severa do tônus muscular da língua.	53

- Figura 7** Suíno intoxicado experimentalmente por *M. megalantha* após ingestão de 10 g/kg de peso vivo de raízes apresentando sintomatologia nervosa grave caracterizada por: A – incoordenação motora, B – movimentos de pedalagem, C e D – Rigidez muscular, E - hipersalivação e F - movimentos de pedalagem e vocalização. **54**
- Figura 8** Mucosa ruminal do carneiro intoxicado experimentalmente com a dose de 25 g/kg de peso vivo de raízes de *M. megalantha*, mostrando presença de vacuolização no citoplasma das células epiteliais mucosas, áreas focais de desprendimento do epitélio e edema moderado na submucosa, causando ruptura na arquitetura epitelial (HE, Bar = 180nm). **56**
- Figura 9** Cortéx telencefálico de bezerro (A) e carneiro (B) após ingestão de 25 g/kg de raízes da *M. megalantha*, apresentando necrose segmentar neuronal laminar com cromatólise evidente, núcleos picnóticos e vacúolos intracitoplasmáticos nos neurônios, aspecto esponjiforme e dilatação dos espaços perineural e perivascular (HE; A: Bar = 230 nm; B: Bar = 208 nm). **57**

Capítulo III Avaliação da toxicidade em ruminantes lactantes através do leite de fêmeas que ingeriram *M. marsdenia* GOYDER & MORILLO.

- Figura 1** *Marsdenia megalantha*: A – Raízes; B – Raízes trituradas; C – Raízes trituradas misturadas na ração no cocho da vaca; D – Vaca consumindo a ração com as raízes. **66**
- Figura 2** A - Raízes de *M. megalantha*; B – Raízes cortadas em cubos para serem fornecidas à ovelha; C – Baia onde a ovelha ficava alojada; D – Borrego mamando na ovelha. **67**
- Figura 3** A - Raízes de *M. megalantha*; B – Raízes cortadas em cubos para serem fornecidas à cabra; C – Baia onde a cabra ficava alojada; D – Cabrito mamando na cabra. **68**
- Figura 4** A - Cabrito mamando na cabra, B, C e D – Cabra apresentando sinais clínicos neurológicos da intoxicação caracterizados por: ataxia, tremores musculares, rigidez muscular, após movimentação, queda e muita dificuldade de ficar de pé novamente. **70**

ANEXO I – CONSIDERAÇÕES SOBRE A VARIABILIDADE MORFOLÓGICA DE *M. megalantha* GOYDER & MORILLO.

- Figura 1** *M. megalantha*: A – Arbusto; B, C e D – Trepadeira (liana)..... **74**
- Figura 2** *M. megalantha*: A – Trepadeira transplantada em área experimental. B – Planta arrancada com raiz para transplante. C – Transplante. C – Transplante e plantio realizado e galhos secando. D – Planta arrancada com raiz para transplante. C – Transplante e plantio realizado e galhos secando. D – Planta já com forma de arbusto..... **75**
- Figura 3** *M. megalantha*: A – Arbusto, transplantado para área experimental embaixo de uma árvore totalmente na sombra. B, C e D – Planta já com forma de trepadeira subindo na árvore..... **76**
- Figura 4** *M. megalantha*: A – arbusto verde (1 m diâmetro x 1 m de altura; B – arbusto seco de (0,7 m de diâmetro x 0,7 de altura); C – área cavada para retirar as raízes da planta para pesar (1,3 m x 2,8 m); D – Raízes arrancadas e pesadas (60 kg)..... **77**

LISTA DE TABELAS

CAPITULO 1 – EFEITOS FARMACOLÓGICOS E TOXICIDADE DAS PLANTAS DO GÊNERO *Marsdenia*. UMA REVISÃO DE LITERATURA

Tabela 1	Espécies do gênero <i>Marsdenia</i> encontradas no Brasil.....	32
-----------------	--	-----------

CAPÍTULO II – INTOXICAÇÃO ESPONTÂNEA E EXPERIMENTAL POR *Marsdenia megalantha* GOYDER & MORILLO EM RUMINANTES E SUÍNO

Tabela 1	Descrição dos animais por espécie utilizados no experimento com <i>M. megalantha</i> e as doses utilizadas para testar a toxicidade desta planta.....	45
-----------------	---	-----------

Tabela 2	Demonstrativo de animais por espécie usados no experimento com <i>M. megalantha</i> , discriminando as doses utilizadas e o temp de aparecimento dos sinais clínicos, da realização das necropsias e da recuperação dos animais testados.....	51
-----------------	---	-----------

CAPÍTULO III – AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE EM RUMINANTES LACTANTES ATRAVÉS DO LEITE DE FÊMEAS QUE INGERIRAM *M. megalantha* GOYDER MORILLO.

Tabela 1	Intoxicação experimental com a <i>M. megalantha</i> em bovino, caprino e ovino em lactação para avaliar a toxicidade desta planta para as fêmeas em lactação e para as crias lactantes.....	69
-----------------	---	-----------

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	18
2	OBJETIVOS.....	24
2.1	OBJETIVO GERAL.....	24
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	24
	REFERÊNCIAS.....	25
3	CAPITULO 1 – EFEITOS FARMACOLÓGICOS E TOXICIDADE DAS PLANTAS DO GÊNERO <i>Marsdenia</i> . UMA REVISÃO DE LITERATURA.....	27
3.1	RESUMO.....	28
3.2	INTRODUÇÃO.....	28
3.2.1	Compostos bioativos.....	29
3.2.2	Usos terapêuticos e ações farmacológicas.....	30
3.2.3	Toxicidade.....	32
3.3.4	Intoxicação espontânea em animais.....	34
3.2.5	Intoxicação experimental.....	35
3.3	Considerações finais.....	36
	REFERÊNCIAS.....	37
4	CAPÍTULO 2 – INTOXICAÇÃO ESPONTÂNEA E EXPERIMENTAL POR <i>Marsdenia megalantha</i> GOYDER & MORILLO EM RUMINANTES E SUÍNO.	
4.1	RESUMO.....	42
4.2	INTRODUÇÃO.....	43
4.3	MATERIAL E MÉTODOS.....	43
4.3.1	Identificação de casos naturais por meio de aplicação de questionário.....	43
4.3.2	Material Vegetal.....	43
4.3.3	Intoxicação experimental.....	44
4.4	RESULTADOS.....	47
4.4.1	Intoxicação espontânea.....	47
4.4.2	Intoxicação experimental.....	50
4.4.3	Análises químicas.....	57
4.5	DISCURSSÃO.....	57

4.6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	59
	REFERÊNCIAS.....	60
5.	AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE EM RUMINANTES LACTANTES ATRAVÉS DO LEITE DE FÊMEAS QUE INGERIRAM <i>Marsdenia megalantha</i> GOYDER & MORILLO.	
5.1	RESUMO.....	63
5.2	INTRODUÇÃO.....	63
5.3	MATERIAL E MÉTODOS.....	65
5.4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	68
5.5	CONCLUSÕES.....	71
	REFERÊNCIAS.....	72
	ANEXOS	74

1 INTRODUÇÃO

O gênero *Marsdenia* pertence à família Apocynaceae, subfamília Asclepiadoideae. Este gênero possui distribuição mundial, sendo mais encontrada nas regiões tropicais (RAPINI & PEREIRA, 2011).

Foram descritas várias substâncias no gênero *Marsdenia*, tais como: glicosídeos esteróides, principalmente derivados de pregnano (HAYASHI et al., 1980; ABE et al., 2000; GAO et al., 2009; WANG et al., 2006, 2010; GUPTA et al., 2011), alcalóides esteróides (GELLERT & SUMMONS, 1974), triterpenos (DOMINGUEZ et al., 1974) e derivados de conduritois (BALCI, 1997; KWON et al., 2002).

Algumas espécies de *Marsdenia* são conhecidas por causarem quadros de intoxicação nos animais domésticos (SILVA et al., 2006), embora sejam utilizadas tradicionalmente na medicina popular em diversos países asiáticos (HAYASHI et al., 1980; GAO et al., 2009; WANG et al., 2010; HAN et al., 2014a).

No Brasil este gênero está representado por dezenas de espécies, sendo encontradas apenas três espécies na região semi-árida, sendo a *Marsdenia megalantha* (Fig. 1), popularmente conhecida como “mata-calado”, endêmica nas regiões da caatinga, muito resistentes a condições adversas de clima e condições de solo, podendo crescer até sobre rochas graníticas (Fig. 2) (GOYDER & MORILLO, 1994; RAPINI & PEREIRA, 2011). Esta espécie é um arbusto de pequeno porte ou subarbusto, perene e que possui a características de serem semi-suculentas e que ainda produzem um látex viscoso em vários de seus órgãos (Fig. 3) (GOYDER & MORRILLO, 1994).

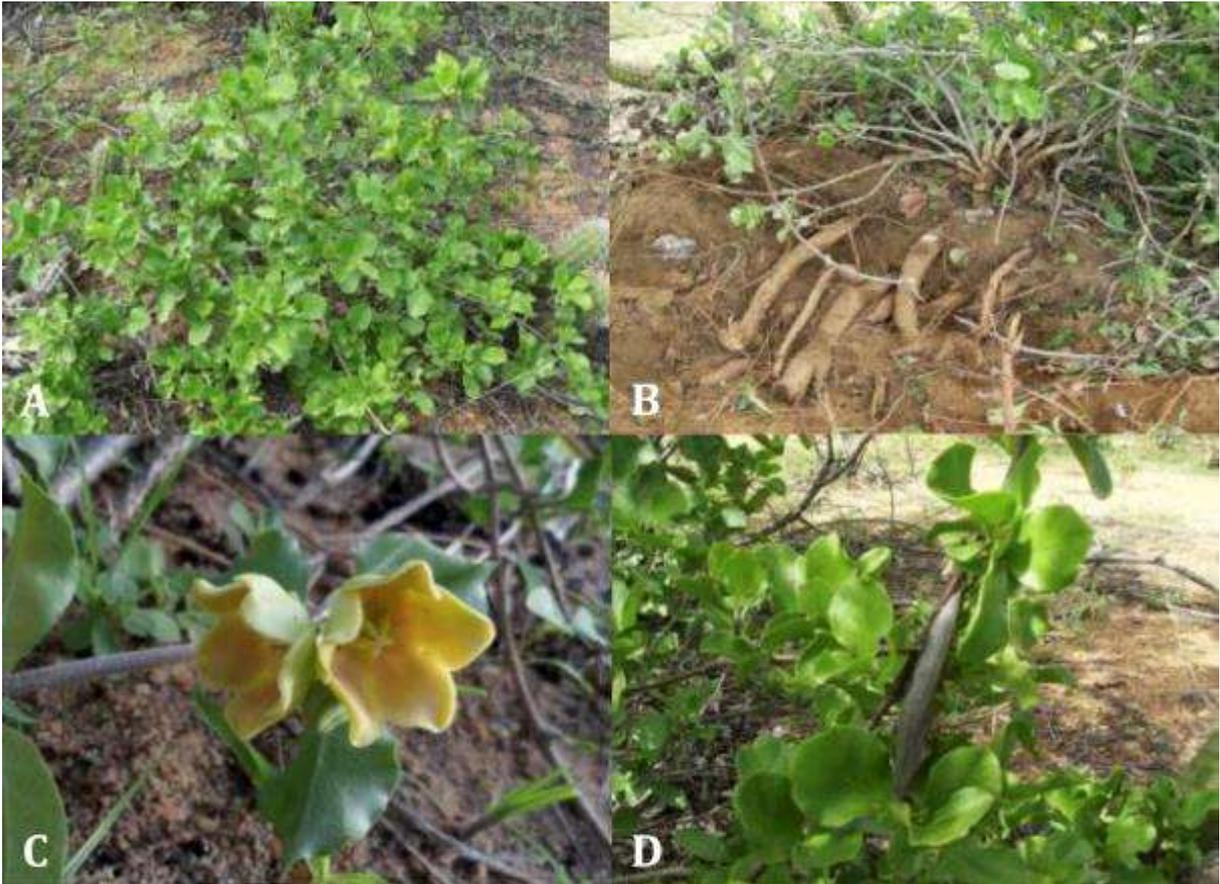


Figura 1 - *Marsdenia megalantha*: A- Folhas, B- Raízes, C- Flores e D- Fruto.

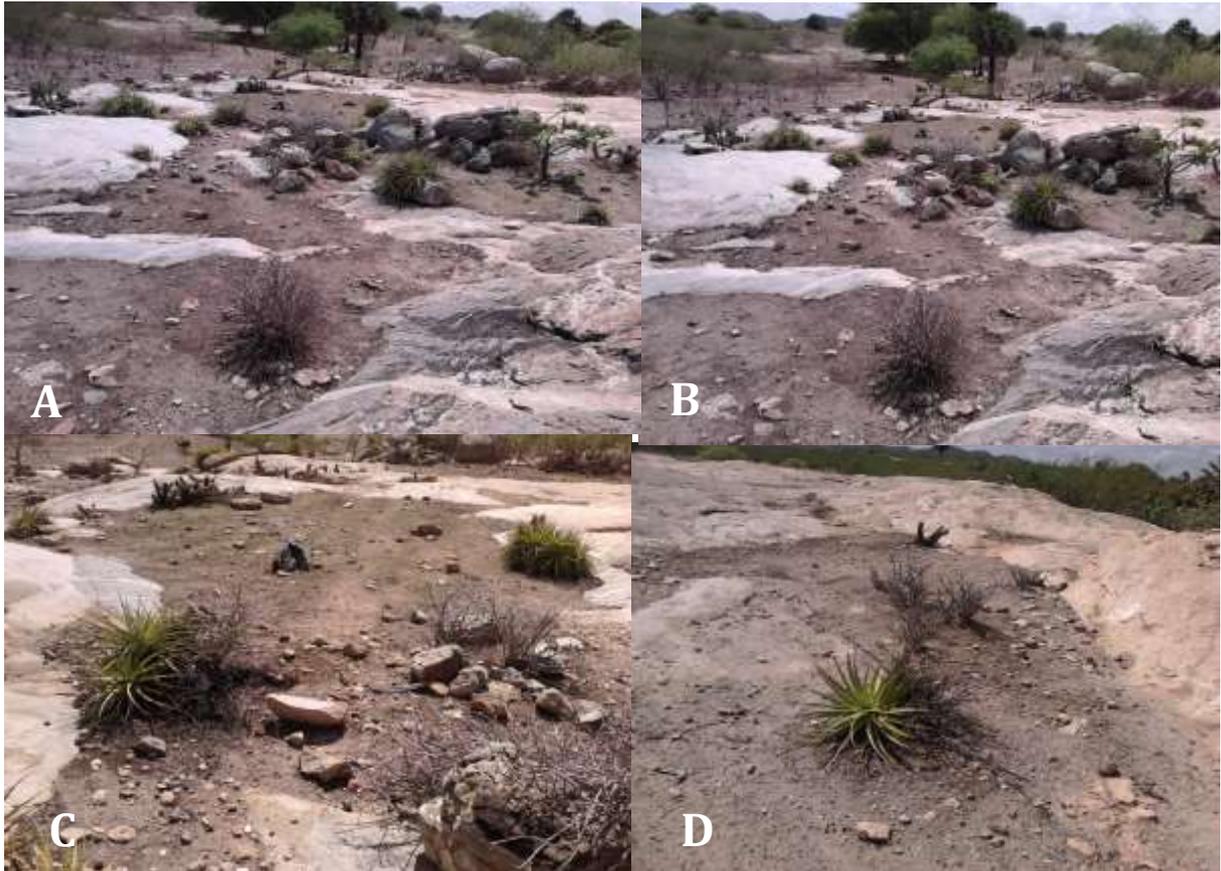


Figura 2 - A, B, C e D – Área de rochas com grande quantidade de *Marsdenia megalantha*.



Figura 3 - *M. megalantha*: A, B e C - Pequeno arbusto com folhas semi-suculentas, D – Raízes da planta contendo um látex viscoso.

Possui também a característica de apresentar-se verde em períodos de grande escassez hídrica, e de responder muito rápido as primeiras chuvas com o crescimento de suas folhas (Fig. 4). O que a torna um alvo ideal para os animais domésticos, favorecendo o aparecimento de casos de intoxicação.



Figura 4 - *M. megalantha*: A e B – Ainda com folhas no final do período seco do ano, C e D – Rebrotas no início das chuvas.

No estado do Rio Grande do Norte foram relatados 59 surtos de intoxicação espontânea, sendo seis com a *Marsdenia sp.*, em bovinos, ovinos e suínos (Silva et al., 2006) e 53 com a *M. megalantha* em bovinos, caprinos, ovinos, equino e asinino (GERALDO NETO et al., 2013a). Porém até o momento, só foi realizado um experimento testando duas espécies deste gênero, sendo que destas, a *M. megalantha* é a de maior importância no estado do Rio Grande do Norte por ser a única encontrada e descrita pelos produtores, técnicos agropecuários e veterinários (SILVA et al., 2006; GERALDO NETO et al., 2013a).

Portanto, apesar de já ter sido realizado um experimento com dois ovinos com esta planta, baseado no grande número de ocorrência de surtos de intoxicação espontânea relatados, na grande variedade de espécies acometidas, na gravidade do quadro clínico relatado, na falta de informações sobre a toxicidade desta planta nas diversas espécies, no desconhecimento sobre a sintomatologia clínica e lesões macro e microscópicas apresentadas pelos animais das diversas espécies intoxicadas, se faz necessário à realização de novos

experimentos na tentativa de obter mais informações sobre esta planta que vem causando graves prejuízos econômicos aos produtores desta região.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Avaliar a toxicidade do tubérculo de *Marsdenia megalantha* Goyder & Morillo em bovinos, ovinos, caprinos e suínos.

3.2 Específicos

- a) Revisar os aspectos terapêuticos da *Marsdenia*;
- b) Realizar levantamentos de casos de intoxicações naturais nas propriedades com a *M. megalantha*;
- c) Determinar a toxicidade para bovino, caprino, ovino e suíno;
- d) Determinar qual espécie é mais sensível à intoxicação;
- e) Descrever a sintomatologia clínica específica para cada espécie;
- f) Descrever as lesões macro e microscópicas apresentadas para cada espécie;
- g) Avaliar as crias lactantes após exposição de suas mães à *M. megalantha*;
- h) Identificar leite princípios tóxicos que possam estar causando o quadro de intoxicação.

REFERENCIAS

- ABE, F. et al. Marstomentosides O-T, polyoxypregnane glycosides from *Marsdenia tomentosa*. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 48, n. 1, p. 154-156, 2000.
- BALCI, M. Synthesis of conduritols and related compounds. **Pure & Applied Chemistry**, v. 69, n. 1, p. 97-104, 1997.
- DOMINGUEZ, X.A. et al. β -amyrin juarezate a novel ester from *Marsdenia pringlei* and triterpenes from *Asclepias linaria*. **Phytochemistry**, v. 13, n. 11, p. 2617-2618, 1974.
- GAO, Z.L. et al. Three new pregnane glycosides from *Marsdenia tinctoria*. **Helvetica Chimica Acta**, v. 92, n. 9, p. 1775-1781, 2009.
- GELLERT, E.; SUMMONS, R.E. Steroidal alkaloids of *Marsdenia rostrata*. III. Rostratamine and dihydrorostratamine. **Australian Journal of Chemistry**, v. 27, p. 919-921, 1974.
- GERALDO NETO, S.A. Intoxicações por plantas em animais de produção nas regiões Central e Oeste do Rio Grande do Norte. **Dissertação** (Mestrado em Ciência Animal), Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, 2012.
- GERALDO NETO, S. A., et al. Inquérito epidemiológico sobre plantas tóxicas das mesoregiões Central e Oeste do Rio Grande do Norte. **Ciencia Rural** [online]. vol.43, n.7, pp.1281-1287. ISSN 1678-4596. 2013a.
- GERALDO NETO, S.A. et al. Spontaneous and experimental poisoning by *Marsdenia megalantha* Goyder & Morillo in ruminants and a pig. **Toxicon**, v. 63, n. 1, p. 116-119, 2013b.
- GOYDER, D., MORILLO, G. A new species of *Marsdenia* (Asclepiadaceae) from N.E. Brazil. *Asklepios* 63, 18–23. 1994.
- GÜLTEKIN, M.S. et al. Cyclitols: conduritols and related compounds. **Current Organic Chemistry**, v. 8, n. 3, p. 1159-1186, 2004.
- GUPTA, V. et al. Pregnane and pregnane tetraglycoside from *Marsdenia roylei*. **Natural Product Research**, v. 25, n. 10, p. 959-973, 2011.
- HAN, S.Y. et al. Enhancement of gefitinib-induced growth inhibition by *Marsdenia tenacissima* extract in non-small cell lung cancer cells expressing wild or mutant EGFR. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 14, art.1652014, 2014a.
- HAYASHI, K. et al. Antitumor active glycosides from Condurango Cortex. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 28, n. 6, 1954-1958, 1980.
- HAYASHI, K. et al. Further investigation of antitumor condurangoglycosides with C-18 oxygenated aglycone. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 29, n. 9, p. 2725-2730, 1981.

KWON, Y.U. et al. Facile syntheses of all possible diastereomers of conduritol and various derivatives of inositol stereoisomers in high enantiopurity from myo-inositol. **Journal of Organic Chemistry**, v. 67, n. 10, p. 3327-3338, 2002.

PESSOA, C.R.M. et al. Poisoning by *Marsdenia hilariana* and *Marsdenia megalantha* (Apocynaceae) in ruminants. **Toxicon**, v. 58, p. 610-613, 2011.

RAPINI, A. Asclepiadaceae ou Asclepiadoideae (Apocynaceae). Conceitos distintos de agrupamento taxonômico. **Hoehnea**, v. 27, n. 2, p. 121-130, 2000.

RAPINI, A.; PEREIRA, J.F. Two new species of *Marsdenia* R. Br. (Apocynaceae: Asclepiadoideae) from the semi-arid region of Brazil. **Kew Bulletin**, v. 66, n. 1, 137- 142, 2011.

RAPINI, A. Taxonomy "under construction": advances in the systematics of Apocynaceae, with emphasis on the Brazilian Asclepiadoideae. **Rodriguésia**, v. 63, n. 1, p. 75-88, 2012.

SILVA, D.M. et al. Plantas tóxicas para ruminantes e eqüídeos no Seridó Ocidental e Oriental no Rio Grande do Norte. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 26, n. 4, p. 223- 236, 2006.

WANG, S. et al. Two new C21 Steroidal glycosides from *Marsdenia tenacissima* (ROXB.) WIGHT et ARN. **Chemical & Pharmaceutica Bulletin**, v. 54, n. 5, p. 696- 698, 2006.

WANG, X.L. et al. Further polyoxypregnane glycosides from *Marsdenia tenacissima*. **Journal of Asian Natural Products Research**, v. 12, n. 8, p. 654-661, 2010.

**3 CAPÍTULO I – EFEITOS FARMACOLÓGICOS E TOXICIDADE DAS PLANTAS
DO GÊNERO *Marsdenia*. UMA REVISÃO.**

Artigo publicado na Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal

3 CAPÍTULO 1 – EFEITOS FARMACOLÓGICOS E TOXICIDADE DAS PLANTAS DO GÊNERO *Marsdenia*. UMA REVISÃO.

3.1 RESUMO

As plantas do gênero *Marsdenia*, família Apocynaceae (Asclepiadoideae), apresentam distribuição mundial, embora se encontre predominantemente nas regiões tropicais. Diversas espécies de *Marsdenia* são usadas na medicina tradicional asiática para o tratamento de dores reumáticas, inflamação, asma, sífilis e câncer. Vários estudos fitoquímicos demonstraram a presença de glicosídeos esteroides, principalmente derivados de pregnano, além de alcaloides esteroides, triterpenos e conduritois. No entanto, casos espontâneos de intoxicação ocorreram em diversas espécies animais, podendo acometer também humanos. Assim, as plantas do gênero *Marsdenia* apresentam enorme potencial para descoberta de novos compostos para uso como medicamentos.

Palavras chave: Apocynaceae, Asclepiadoideade, fitoquímica, plantas medicinais, plantas tóxicas

3.2 INTRODUÇÃO

Diversas espécies do gênero *Marsdenia* são tradicionalmente utilizadas na medicina popular de vários países asiáticos (HAYASHI et al., 1980; GAO et al., 2009; WANG et al., 2010; HAN et al., 2014a). No entanto, esta planta também é conhecida por causar intoxicação fatal (SILVA et al., 2006; PESSOA et al., 2011; GERALDO NETO et al., 2013).

O gênero *Marsdenia* pertence à família Apocynaceae (Asclepiadoideae) (RAPINI & PEREIRA, 2011). A família Apocynaceae é formada por plantas angiospermas, de grande porte e herbáceas. Esta família possui distribuição predominantemente pantropical, porém possuem representantes na região temperada, e abrange cerca de 5.000 espécies distribuídas em cinco subfamílias: Ravolfioideae, Apocynoideae, Periplocoideae, Secamonoideae e Asclepiadoideae (RAPINI, 2000, 2012).

O gênero *Marsdenia* possui distribuição mundial, embora se encontre predominantemente nas regiões tropicais, ela compreende cerca de 300 espécies (RAPINI & PEREIRA, 2011). As espécies encontradas no Brasil estão apresentadas na Tabela 1.

Várias espécies de *Marsdenia* são muito resistentes às condições adversas de clima e condições de solo. Por exemplo, *Marsdenia megalantha* e *Marsdenia breviramosa* são espécies encontradas na região semi-árida do Brasil, que podem crescer sobre rochas graníticas (inselbergs) (GOYDER & MORILLO, 1994; RAPINI & PEREIRA, 2011).

3.2.1 Compostos Bioativos

Vários estudos sobre estas plantas do gênero *Marsdenia* mostraram que elas contêm glicosídeos esteróides, principalmente derivados de pregnano (HAYASHI et al., 1980; ABE et al., 2000; GAO et al., 2009; WANG et al., 2006, 2010; GUPTA et al., 2011), mas também alcalóides esteróides (GELLERT & SUMMONS, 1974), triterpenos (DOMINGUEZ et al., 1974) e derivados de conduritóis (BALCI, 1997; KWON et al., 2002). Os glicosídeos esteróides da *Marsdenia* apresentam, entre outras atividades, ação imunoestimulante, antitumoral, antiepiléptica e antiasmática (GUPTA et al., 2011), enquanto alguns conduritóis e seus derivados são inibidores de glicosidases, e possuem atividades antiemética, antileucêmicos e antibióticos (BALCI, 1997; KWON et al., 2002; GÜLTEKIN et al., 2004).

A primeira investigação química de *M. callosa* resultou no isolamento de triterpenos em conjunto com um conduritól, e uma mistura de b-sitosterol e estigmasterol. Dois dos triterpenos isolados foram a b-amirina juarezate e pelstatine B (MALDONADO & JUÁREZ-JAIMES, 2013). No entanto, estes triterpenos foram isolados de várias outras espécies de Apocynaceae, assim, uma isolou-se a partir de *Marsdenia pringlei* (DOMINGUEZ et al., 1974), enquanto que b-amirina juarezate e pelstatine B, juntamente com peltastina A de *Peltastes peltatus* (HUMBERTO et al., 2004). Além disto, um composto denominado conduritól foi isolado a partir de diferentes espécies, tais como *Marsdenia cundurango*, *Marsdenia tomentosa* e *Marsdenia pringlei* (DOMINGUEZ et al., 1974).

Estudos fitoquímicos com a *Marsdenia tenacissima* se concentraram nos derivados de polioxipregna. Cerca de 40 polioxipregnanos foram isolados a partir de seu caule (SINGHAL et al., 1980a,b; XIA et al., 2004). Foram identificados doze geninas polioxipregnanas, incluindo tenacigeninas A, B, e C (YANG et al., 1981), seis diésteres derivados da tenacigenina B (LUO et al., 1993a,b), dresgenina e marstenacigeninas A e B (QIU et al., 1996), isolados a partir do extrato metanólico do caule de *M. tenacissima*. Oito glicosídeos polioxipregnanânicos, denominados marsdenosídeos A-H, foram isolados a partir do extrato etanólico da haste desta planta, juntamente com seis glicósidos e duas agliconas polioxipregnanânicas (DENG et al., 2005). Nove glicosídeos derivados da tenacigenina B,

denominados como tenacissosídeos A-E (MIYAKAWA et al., 1986) e tenacissosídeos F-I (CHEN et al., 1999) também foram isolados do extrato do caule da planta, e cissogenina e seus análogos foram obtidos a partir das sementes da planta nativa da Índia (SINGHAL et al., 1980 a, b).

A quantidade de estudos fitoquímicos com outras espécies de *Marsdenia* é bem menos do que com a *M. tenacissima*. A partir das folhas frescas da *M. tomentosa*, foram obtidos quatro glicosídeos ciclitol, um tetrol, um pentol e cinco ciclitóis conhecidos (ABE et al., 1998). Um poli-hidroxi-1- cetoesteróide, a flavescina, foi isolado da *M. flavescens* (DUFF et al., 1973). Análise fitoquímica de galhos secos de *M. roylei* resultou no isolamento de uma trissacarídeo marial e uma diglicosídeo rolinose (KUMAR et al., 1999). Um triterpeno, denominado marsglobiferina, foi extraído do extrato etanólico do caule de *M. globifera* (QIU et al., 1993).

3.2.2 Usos terapêuticos e ações farmacológicas

As plantas do gênero *Marsdenia* vêm atraindo cada vez mais a atenção dos pesquisadores, pois este gênero sintetiza uma série de compostos bioativos que podem possuir propriedades farmacológicas benéficas para a saúde do homem, haja vista, que são amplamente utilizadas na medicina popular em alguns países. De fato, diversas espécies de *Marsdenia* são usadas na medicina tradicional asiática para tratar dores reumáticas, inflamação, asma, sífilis e câncer (HAYASHI et al., 1980; GAO et al., 2009; WANG et al., 2010; HAN et al., 2014a).

Vários compostos ativos isolados apresentaram atividade antitumoral (YOSHIMURA et al., 1983; HAYASHI et al., 1969) e antiepiléptica (MU et al., 1986), entre outras atividades. Dentre estes compostos estão principalmente os pregnanos e os seus glicosídeos, identificados em várias espécies do gênero *Marsdenia*, como a *M. condurango*, *M. formosa*, *M. incisia*, *M. koi*, *M. oreophila*, *M. tenacissima*, *M. thrysiflora* e *M. roylei* (DEEPAK et al., 1997). Os glicosídeos pregnânicos obtidos da *M. tenacissima* mostraram atividades anticâncer de antiasmática, antitraqueíte e reguladora da fertilidade (LUO et al., 1993a). Também a *Marsdenia koi* demonstrou boa atividade reguladora da fertilidade (YUAN et al., 1992).

O caule de *M. tenacissima*, conhecida como "Tong-Guang-teng" na medicina popular chinesa, e tem sido muito utilizado como um remédio para o tratamento de asma, cancro, amigdalite, faringite, traqueíte, cistite, e pneumonia na China (DENG et al., 2006; LI et al., 2007).

Foi verificado que extratos do caule de *M. tenacissima* apresentam atividade antiproliferativa frente ao carcinoma de Ehrlich (MIYAKAWA et al., 1986). Foi demonstrado que o extrato aquoso do caule desta mesma espécie apresenta atividade antiproliferativa frente às linhagens tumorais C-26 (carcinoma de cólon) e Hepal-6 (carcinoma hepático de rato) (WANG et al., 2006). Há relatos que extratos metanólicos do rizoma e raízes de *M. tenacissima* apresentaram a capacidade de diminuir a resistência as drogas da linhagem tumoral HepG2/Dox (hepatoma humano) (HU et al., 2008). Ainda, três derivados da tenacigenina B exibiram fraca citotoxicidade contra a linhagem de células KB-VI (LUO et al., 1993a,b). Os esteroides C-21 devem ser os responsáveis pelas atividades antineoplásicas de *M. tenacissima* (HAN et al., 2012).

Han et al. (2014b) relataram que o extrato da *M. tenacissima* possui efeito inibitório na atividade das enzimas CYP450 em microssomas hepáticos humanos e diminui o metabolismo gefitinib, catalisado pela enzima CYP3A4 recombinante e pela enzima CYP2D6. Esse extrato combinado com a gefitinib reduz a CYP3A4 e CYP2D6 mRNA. Então se pode observar que a concentração plasmática mais elevada de gefitinib pode ser observada com a administração desse extrato, e a combinação deste com o gefitinib poderia ser uma estratégia promissora para melhorar a eficácia dos tratamentos clínicos.

YE et al. (2014) observaram que o extrato etanólico da *M. tenacissima* apresentou efeitos antitumorais contra células neoplásicas hematológicas e induziu apoptose de células tumorais *in vitro* e *in vivo*, além do efeito antiangiogênico significativo *in vivo*. O múltiplo mecanismo de ação pode estar associado com a parada do ciclo celular ou com a indução de apoptose por meio de aumento da regulação das expressões proteicas de Bax, e dos genes caspase-9 e caspase-3 e diminuição da regulação das expressões dos genes CyclinD1 e Bcl-2 genes, com diminuição da densidade de microvasos no tumor.

Na China o extrato de *M. tenacissima* também tem sido utilizado tradicionalmente em humanos como um remédio para o tratamento de neoplasias hematológicas. Outros trabalhos que relataram que o extrato de *M. tenacissima* tem efeitos antitumorais e podem induzir a apoptose em algumas leucemias, linfomas e linhagens de células do mieloma, *in vitro*, incluindo NB4, Jurkat, Raji e RPMI8226 (LI et al., 2007; CHEN et al., 2009).

Outra espécie que vem sendo bastante estudada é a *M. condurango*. HAYASHI et al. (1981) demonstraram que o extrato da casca desta planta inibe a proliferação do carcinoma de Ehrlich. UMEHARA et al. (1994) observaram que o extrato metanólico da casca de *M. condurango* induz a diferenciação da linhagem leucêmica mieloide de ratos em fagócitos. Há

também um estudo verificando a ocorrência de atividade antioxidante de extratos etanólicos de folhas de *M. glabra* (TACHAKITTIRUNGROD et al., 2007).

A atividade sobre o sistema reprodutor também foi estudada. Neste sentido, o extrato etanólico das raízes de *Marsdenia tinctoria* apresentou ação ocitócica, inibidora da implantação embrionária e abortiva em ratos e camundongos (CHOWDHURY et al., 1994).

3.2.3 Toxicidade

Algumas espécies do gênero *Marsdenia* têm sido descritas como causa de morte de animais. *M. megalantha* é descrita como causa de intoxicações espontâneas em bovinos, caprinos, ovinos, suínos, equino e asinino e de intoxicações experimentais em bovinos, caprinos, ovinos e suínos (PESSOA et al., 2011; GERALDO NETO et al., 2013). Já a *M. hilariana* tem sido descrita como causa de intoxicações espontâneas em bovinos e de intoxicações experimentais em caprinos (PESSOA et al., 2011).

Tabela 1. Espécies do gênero *Marsdenia* encontradas no Brasil.

Espécies
<i>Marsdenia altissima</i> (Jacq.) Dugand
<i>Marsdenia amorimii</i> Morillo
<i>Marsdenia amylacea</i> (Barb.Rodr.) Malme
<i>Marsdenia bergii</i> Morillo
<i>Marsdenia brasiliensis</i> Decne.
<i>Marsdenia breviramosa</i> Rapini & Fontella
<i>Marsdenia caatingae</i> Morillo
<i>Marsdenia carvalhoi</i> Morillo & Carnevali
<i>Marsdenia dorothyae</i> Fontella & Morillo
<i>Marsdenia fontellana</i> Morillo & Carnevali
<i>Marsdenia glaziovii</i> (E.Fourn.) Spellman & Morillo
<i>Marsdenia hassleriana</i> Malme
<i>Marsdenia hatschbachii</i> Morillo
<i>Marsdenia heringeri</i> Fontella
<i>Marsdenia hilariana</i> E.Fourn.

Marsdenia loniceroides (Hook.) E.Fourn.
Marsdenia macrophylla (Humb. & Bonpl.) E.Fourn.
Marsdenia malmeana Rothe
Marsdenia megalantha Goyder & Morillo
Marsdenia montana Malme
Marsdenia nana Rapini & Fontella
Marsdenia neomanarae Morillo
Marsdenia pickelii Fontella & Morillo
Marsdenia queirozii Fontella
Marsdenia riparia Morillo & Spellman
Marsdenia rubrofusca E.Fourn.
Marsdenia sessilifolia (E.Fourn.) Fontella
Marsdenia sprucei Rothe
Marsdenia suberosa (E.Fourn.) Malme
Marsdenia thomasii Morillo
Marsdenia ulei Schltr. & Rothe
Marsdenia virgultorum (E.Fourn.) Malme
Marsdenia weddellii (E. Fourn.) Malme
Marsdenia zehntneri Fontella

Fonte: RAPINI & PEREIRA (2011), KOCH et al. (2012)

Acredita-se que essas espécies podem ser tóxicas também para humanos. Em Areia Branca (RN), um produtor relatou que há vários anos trabalhava arrancando raízes de arbustos em uma área que tinha a planta e, durante o trabalho, desenterrou com a enxada um pedaço do tubérculo da *Marsdenia*. Como desconhecia a planta naquela época, considerou que esta era bonita e suculenta, e resolveu ingerir um pedaço. Após algum tempo não especificado, relatou sentir formigamento na garganta, irritação nos olhos, sialorreia e forte dificuldade em respirar, chegando a acreditar que iria morrer. Estes sintomas duraram cerca de duas horas (GERALDO NETO, 2012).

3.2.4 Intoxicação espontânea em animais

Em um levantamento sobre casos de intoxicações por plantas na região ocidental e oriental da microrregião do Seridó do estado do Rio Grande do Norte (SILVA et al., 2006), foram observados seis surtos de intoxicação por *Marsdenia* sp. Em bovinos, os sinais clínicos caracterizaram-se por incoordenação, andar rígido, debilidade dos membros anteriores, decúbito esternal e, ocasionalmente, decúbito lateral. Em ovinos, os sinais foram incoordenação, tremores, salivação e decúbito, seguindo-se a morte em poucas horas. Também foram apontados casos espontâneos de intoxicação em suínos por *Marsdenia* sp (SILVA et al., 2006).

Foi realizado um levantamento dos casos de intoxicação em animais de produção em 35 municípios das microrregiões de Angicos, Serra de Santana, Macau, Vale do Assú e Mossoró, todos pertencentes ao Estado do Rio Grande do Norte. Foram observados um total de 53 surtos de intoxicação espontânea por *M. megalantha*, sendo estes relatados por produtores e veterinários em bovinos, caprinos, ovinos, um equino e um asinino, em quinze destas cidades. Os sinais relatados em bovinos incluíram incoordenação motora, tremores musculares, andar rígido, movimentos de pedalagem, dificuldade em levantar, salivação, quedas, decúbito, apatia, timpanismo e em alguns casos morte súbita. Em caprinos e ovinos, foram observados incoordenação motora, ataxia, andar rígido e tremores. No cavalo, foram relatados incoordenação motora, tremores e salivação. No asinino, houve incoordenação motora, tremores e quedas (GERALDO NETO et al., 2013).

Casos de intoxicação espontâneos por *M. hilariana* ocorreram em bovinos, e por *M. megalantha* em ovinos. Sendo que nos bovinos foi observado andar cambaleante, salivação excessiva, movimentos de mastigação, e estes sinais progrediram para uma incoordenação severa, decúbito lateral, dispneia e paresia. Já nos ovinos foram observados incoordenação, tremores, salivação, decúbito e morte em poucas horas (PESSOA et al., 2011).

Todos os casos relatados ocorreram durante a estação seca e início da estação chuvosa, assim, a exposição acidental pode ter sido causada pelo acesso limitado a alimentos pelos animais e pela exposição a pastos com a presença de grande quantidade desta planta (SILVA et al., 2006; PESSOA et al., 2011; GERALDO NETO et al., 2013).

3.2.5 Intoxicação experimental

Em um trabalho realizado em cabras intoxicadas experimentalmente com *M. hilariana*, foram observados tremores musculares, sonolência, paralisia da língua, perda de equilíbrio, paralisia flácida com decúbito externo e posteriormente lateral (PESSOA et al., 2011). Já em outro trabalho, realizado em ovelhas com *M. megalantha* os sinais foram: incoordenação grave, tremores de intenção, perda de equilíbrio e quedas (PESSOA et al., 2011).

Geraldo Neto et al. (2013), trabalhando com carneiros intoxicados experimentalmente, relataram a ocorrência de taquicardia, opistótono, timpanismo ruminal, dispneia, nistagmo, midriase, ataxia, movimentos de pedalagem. No bezerro, pulso jugular aumentado, hipersalivação, andar cambaleante, opistótono, timpanismo ruminal, hiperemia das mucosas, midriase, nistagmo, cegueira, vasos episclerais ingurgitados, diminuição do tônus muscular da língua, decúbito e movimentos de pedalagem. No suíno, os sinais clínicos foram semelhantes, com adição de vocalização.

No entanto, não foram observadas lesões macroscópicas ou histopatológicas significativas nas cabras intoxicadas experimentalmente com *M. hilariana* e nas ovelhas com *M. megalantha* (PESSOA et al., 2011). Já os animais intoxicados com *M. megalantha* apresentaram edema cerebral desenvolvido, hérnia tentorial e neuronal, morte neuronal na região frontal, temporal, parietal e occipital, tanto do cérebro e cerebelo (GERALDO NETO et al., 2013). As discrepâncias nas lesões patológicas podem ser atribuídas à toxicidade diferencial entre as espécies de plantas e influências sazonais.

Neste trabalho os caprinos apresentaram uma maior resistência à intoxicação experimental com esta planta do que os bovinos, ovinos e suíno (GERALDO NETO et al., 2013). Não se sabe qual seria o motivo para esta grande diferença de sensibilidade entre as espécies, mas é provável que os caprinos tenham maior capacidade de biotransformar os compostos tóxicos da planta.

Não se sabe ao certo qual é o princípio ativo responsável pela toxicidade para animais. Vários sinais clínicos que estão associados com a intoxicação por *M. megalantha* são semelhantes aos da intoxicação por cianeto. Na verdade, a intoxicação aguda por cianeto caracteriza-se clinicamente por taquipneia e hiperpneia, seguido de dispneia, midríase, fraqueza, colapso, movimentos de pedalagem e morte (NICHOLSON, 2007). No entanto, no teste do papel picrato foi negativo, demonstrando que *M. megalantha* não é uma planta cianogênica (GERALDO NETO et al., 2013).

A avaliação qualitativa revelou a presença de níveis perigosos de nitrato nas raízes de *M. megalantha*, indicando a possibilidade de intoxicação por este composto (GERALDO NETO et al., 2013). Porém, os sinais clínicos nesta intoxicação em bovinos incluem anorexia, dispneia, depressão ou hiperexcitabilidade, tremores, contrações abdominais, ataxia, cianose, e, em alguns casos, inchaço (MEDEIROS et al., 2003). A intoxicação por *M. megalantha* tem alguns sinais clínicos em comum com a intoxicação por nitrato, mas a maioria dos sinais não são causados por nitrato. Assim, nitrato pode ser um dos compostos tóxicos presentes na *M. megalantha*, mas outra substância ou substâncias devem contribuir para a sua toxicidade (GERALDO NETO et al., 2013).

Sinais clínicos semelhantes são encontrados também em casos de intoxicação com organofosforado, onde são observados dispneia, sialorreia, diarreia, tremores musculares, parestesia flácida, timpanismo, decúbito externo, posteriormente lateral e opistótono (CASTRO et al., 2007). Assim, é provável que a planta apresente algum composto com ação agonista colinérgica ou antagonista da colinesterase. Foi especulado que o composto tóxico responsável pela toxicidade da *Marsdenia* seja um grupo de glicosídeos esteroides denominados cinanchosídeos (PESSOA et al., 2011).

3.3 Considerações finais

As plantas do gênero *Marsdenia* apresentam enorme potencial para descoberta de novos compostos para uso como medicamentos. No entanto, faltam estudos fitoquímicos e farmacológicos utilizando estas plantas. Por outro lado, é importante o reconhecimento de plantas do gênero *Marsdenia* por apresentarem importância na clínica de grandes animais como fonte de intoxicação. São também necessários estudos visando o tratamento e a prevenção das intoxicações por estas plantas.

REFERÊNCIAS

- ABE, F. et al. Cyclitols and their glycosides from leaves of *Marsdenia tomentosa*. **Phytochemistry**, v. 47, n. 7, p. 1297-1301, 1998.
- ABE, F. et al. Marstomentosides O-T, polyoxypregnane glycosides from *Marsdenia tomentosa*. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 48, n. 1, p. 154-156, 2000.
- BALCI, M. Synthesis of conduritols and related compounds. **Pure & Applied Chemistry**, v. 69, n. 1, p. 97-104, 1997.
- CASTRO, M.B. et al. Intoxicação aguda por diazinon em bovinos. **Ciência Rural**, v. 37, n. 5, p. 1498-1501, 2007.
- CHEN, J.J. et al. New C21 steroidal glycosides from *Marsdenia tenacissima*. **Acta Botanica Yunnanica**, v. 21, n. 3, 369– 377. 1999.
- CHEN, B. et al. Effect of extract from *Marsdenia tenacissima* on Jurkat, Raji and RPMI8226 cells in vitro. **Chinese Journal of Biochemical Pharmaceutics**, v. 30, n. 3, p. 174-177, 2009.
- CHOWDHURY, A.K.A. et al. Antifertility principles from *Marsdenia tinctoria*: pharmacological and phytochemical studies. **Pure & Applied Chemistry**, v. 66, n. 10/11, p. 2343-2346, 1994.
- DEEPAK, D. et al. Pregnane glycosides. In: ANDERSEN, A. et al. (Eds.). *Progress in the Chemistry of Organic Natural Products*, v. 71. Vienna: Springer, p. 169-325. 1997.
- DEMARCO, D. et al. Laticíferos articulados anastomosados – novos registros para Apocynaceae. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 29, n. 1, p. 133-144, 2006.
- DENG, J. et al. Marsdenosides A-H, polyoxypregnane glycosides from *Marsdenia tenacissima*. **Phytochemistry**, v. 66, n. 9, p. 1040-1051, 2005.
- DENG, J. et al. Quantitation of seven polyoxypregnane glycosides in *Marsdenia tenacissima* using reversed-phase high-performance liquid chromatography-evaporative light-scattering detection. **Journal of Chromatography A**, v. 1116, n. 1-2, p. 83-88, 2006.
- DOMINGUEZ, X.A. et al. β -amyrin juarezate a novel ester from *Marsdenia pringlei* and triterpenes from *Asclepias linaria*. **Phytochemistry**, v. 13, n. 11, p. 2617-2618, 1974.
- DUFF, A.G. et al. Flavescin: A new 1- ketopolyhydroxypregnene from *Marsdenia flavescens*. **Phytochemistry**, v. 12, n. 12, p. 2943-2945, 1973.
- GAO, Z.L. et al. Three new pregnane glycosides from *Marsdenia tinctoria*. **Helvetica Chimica Acta**, v. 92, n. 9, p. 1775-1781, 2009.
- GELLERT, E.; SUMMONS, R.E. Steroidal alkaloids of *Marsdenia rostrata*. III. Rostratamine and dihydrorostratamine. **Australian Journal of Chemistry**, v. 27, p. 919-921, 1974.

GERALDO NETO, S.A. Intoxicações por plantas em animais de produção nas regiões Central e Oeste do Rio Grande do Norte. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal), Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, 2012.

GERALDO NETO, S.A. et al. Spontaneous and experimental poisoning by *Marsdenia megalantha* Goyder & Morillo in ruminants and a pig. **Toxicon**, v. 63, n. 1, p. 116-119, 2013. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0041010112008355>.

GÜLTEKIN, M.S. et al. Cyclitols: conduritols and related compounds. **Current Organic Chemistry**, v. 8, n. 3, p. 1159-1186, 2004.

GUPTA, V.S. et al. Pregnanes and pregnane glycosides from *Marsdenia roylei*. **Phytochemistry**, v. 64, n. 8, p. 1327-1333, 2003.

GUPTA, V. et al. Pregnane and pregnane tetraglycoside from *Marsdenia roylei*. **Natural Product Research**, v. 25, n. 10, p. 959-973, 2011.

HAN, S.Y. et al. *Marsdenia tenacissima* extract restored gefitinib sensitivity in resistant non-small cell lung cancer cells. **Lung Cancer**, v. 75, n. 1, p. 30-37, 2012.

HAN, S.Y. et al. Enhancement of gefitinib-induced growth inhibition by *Marsdenia tenacissima* extract in non-small cell lung cancer cells expressing wild or mutant EGFR. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 14, art.1652014, 2014a.

HAN, S.Y. et al. *Marsdenia tenacissima* extract inhibits gefitinib metabolism in vitro by interfering with human hepatic CYP3A4 and CYP2D6 enzymes. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 151, n. 1, p. 210- 217, 2014b.

HAYASHI, K. et al. Studies on the constituents of Asclepiadaceae plants (XXVI) Isolation of a new glycoside from *Dregea volubilis*. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 17, p. 2629- 2632, 1969.

HAYASHI, K. et al. Antitumor active glycosides from Condurango Cortex. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 28, n. 6, 1954-1958, 1980.

HAYASHI, K. et al. Further investigation of antitumor condurangoglycosides with C-18 oxygenated aglycone. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 29, n. 9, p. 2725-2730, 1981.

HU, Y-L. et al. Tenacigenin B derivatives reverse P-glycoprotein-mediated multidrug resistance in HepG2/Dox cells. **Journal of Natural Products**, v. 71, n. 6, p. 1049-1051, 2008. Disponível em: <http://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/np070458f>.

HUMBERTO, M.M. et al. Pentacyclic triterpene 5-phenylpenta-2,4-dienoyl esters from *Peltastes peltatus* (Vell.) Woodson. **Phytochemical Analysis**, v. 15, n. 6, p. 339- 344, 2004. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/pca.774/abstract>.

KOCH, I. et al. *Apocynaceae*. In: Lista de Espécies da Flora do Brasil. Rio de Janeiro, **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**, 2012.

- KUMAR, A. et al. Two oligosaccharides from *Marsdenia roylei*. **Phytochemistry**, 50, n. 8, p. 1353-1357, 1999.
- KWON, Y.U. et al. Facile syntheses of all possible diastereomers of conduritol and various derivatives of inositol stereoisomers in high enantiopurity from myo-inositol. **Journal of Organic Chemistry**, v. 67, n. 10, p. 3327-3338, 2002.
- LI, D. et al. Preliminary study on effects of Xiaoaiping injection on NB4 cells. **Chinese Journal of Biochemical Pharmaceutics**, v. 28, n. 4, p. 247-250, 2007.
- LUO, S.Q. et al. Polyoxypregnanes from *Marsdenia tenacissima*. **Phytochemistry**, v. 34, n. 6, p. 1615-1620, 1993a.
- LUO, S.Q. et al. Assignment of the proton and Carbon-13 NMR spectra of the C21 steroids 12b-O-acetyltencigenin A and tencigenin A by twodimensional NMR techniques and computer modeling. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 31, n. 3, p. 215-221, 1993b.
- MALDONADO, E.; JUÁREZ-JAIMES, V. Chemical constituents from *Marsdenia callosa*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 48, p. 219-221, 2013.
- MEDEIROS, R.M.T. et al. Intoxicação por nitratos e nitritos em bovinos por ingestão de *Echinochloa polystachya* (capim-mandante) e *Pennisetum purpureum* (capim-elefante) no sertão da Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 23, n. 1, p. 17-20, 2003.
- MIYAKAWA, S. et al. Five glycosides from the chinese drug 'tong-guang-san': the stems of *Marsdenia tenacissima*. **Phytochemistry**, v. 25, n. 12, p. 2861-2865, 1986.
- MU, Q. et al. Two new antiepilepsy compounds - ottophyllosides A and B. *Science in China Series B: Chemistry*, v. 29, n. 3, p. 295-301, 1986.
- NICHOLSON, S.S. Cyanogenic plants. In: GUPTA, R.C. (Ed.). **Veterinary Toxicology**. Elsevier, Amsterdam, p. 873-875, 2007.
- PESSOA, C.R.M. et al. Poisoning by *Marsdenia hilariana* and *Marsdenia megalantha* (Apocynaceae) in ruminants. **Toxicon**, v. 58, p. 610-613, 2011.
- QIU, S.X. et al. Further polyoxypregnanes from *Marsdenia tenacissima*. **Phytochemistry**, v. 41, n. 5, p. 1385-1388, 1996.
- QIU, S.X. et al. A triterpene from *Marsdenia globifera*. **Phytochemistry**, v. 34, n. 5, p. 1385-1387, 1993.
- RAPINI, A. Asclepiadaceae ou Asclepiadoideae (Apocynaceae). Conceitos distintos de agrupamento taxonômico. **Hoehnea**, v. 27, n. 2, p. 121-130, 2000.
- RAPINI, A. Taxonomy "under construction": advances in the systematics of Apocynaceae, with emphasis on the Brazilian Asclepiadoideae. **Rodriguésia**, v. 63, n. 1, p. 75-88, 2012.

RAPINI, A.; PEREIRA, J.F. Two new species of *Marsdenia* R. Br. (Apocyanaceae: Asclepiadoideae) from the semi-arid region of Brazil. **Kew Bulletin**, v. 66, n. 1, 137- 142, 2011.

SILVA, D.M. et al. Plantas tóxicas para ruminantes e eqüídeos no Seridó Ocidental e Oriental no Rio Grande do Norte. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 26, n. 4, p. 223- 236, 2006.

SINGHAL, S. et al. Cissogenin, a pregnane genin from *Marsdenia tenacissima*. **Phytochemistry**, v. 19, n. 11, p. 2427-2430, 1980a.

SINGHAL, S. et al. Tenasogenin, a pregnane ester from *Marsdenia tenacissima*. **Phytochemistry**, v. 19, n. 11, p. 2431-2433, 1980b.

TACHAKITTIRUNGROD, S. et al. Study on antioxidant activity of certain plants in Thailand: mechanism of antioxidant action of guava leaf extract. **Food Chemistry**, v. 103, n. 2, p. 381-388, 2007.

UMEHARA, K. et al. Studies on differentiation inducers. IV. Pregnane derivatives from Condurango cortex. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 42, n. 3, p. 611-616, 1994.

XIA, Z.H. et al. Pregnane glycosides from the stems of *Marsdenia tenacissima*. **Journal of Asian Natural Products Research**, v. 6, n. 2, p. 79-85, 2004.

WANG, S. et al. Two new C21 Steroidal glycosides from *Marsdenia tenacissima* (ROXB.) WIGHT et ARN. **Chemical & Pharmaceutica Bulletin**, v. 54, n. 5, p. 696- 698, 2006.

WANG, X.L. et al. Further polyoxypregnane glycosides from *Marsdenia tenacissima*. **Journal of Asian Natural Products Research**, v. 12, n. 8, p. 654-661, 2010.

YANG, R.Z. et al. The structures of tenacigenin A, B, and C. **Acta Botanica Yunnanica**, v. 3, n. 3, p. 271-278, 1981.

YE, B. et al. Anti-tumor activity and relative mechanism of ethanolic extract of *Marsdenia tenacissima* (Asclepiadaceae) against human hematologic neoplasm *in vitro* and *in vivo*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 153, n. 1, p. 258- 267, 2014.

YOSHIMURA, S. et al. Studies on the constituents of Asclepiadaceae plants. LVI. Isolation of new antitumor-active glycosides from *Dregea volubilis* (L.) BENTH. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 31, n. 11, p. 3971-3983, 1983.

YUAN, J.L. et al. The pregnane glycoside marsdekoiside A from *Marsdenia koi*. **Phytochemistry**, v. 31, n. 3, p. 1058- 1060, 1992.

**4 CAPÍTULO II – INTOXICAÇÃO ESPONTÂNEA E EXPERIMENTAL POR
Marsdenia megalantha GOYDER & MORILLO EM RUMINANTES E SUÍNO**

Parcialmente publicado na revista Toxicon

4. CAPÍTULO II – INTOXICAÇÃO ESPONTÂNEA E EXPERIMENTAL POR *Marsdenia megalantha* GOYDER & MORILLO EM RUMINANTES E SUÍNO

4.1 RESUMO

Marsdenia megalantha é um arbusto rupícola com raízes suculentas da região semi-árida do Brasil que é conhecido por causar intoxicação fatal em bovinos. Relatamos casos espontâneos de intoxicação por *M. megalantha* em bovinos, caprinos, ovinos e equino. Além dos achados clínicos e patológicos da administração experimental de *M. megalantha* a ovinos, caprinos, bezerro e suíno. Foram administradas a três cabras, dois carneiros e um bezerro por via oral, raízes recém-cortadas numa única dose de 25 g de planta verde/kg de peso vivo (p.v.). Um outro carneiro e um suíno foram administradas a dose de 10 g/kg p.v. A intoxicação ocorreu em todos os animais, exceto nas três cabras. Os sinais clínicos de intoxicação incluíram taquicardia, opistótono, timpanismo gasoso, dispneia, nistagmo, midríase, ataxia, andar rígido, decúbito e movimentos de pedalagem. A avaliação patológica mostrou necrose neuronal laminar segmentar, córtex telencefálico com aspecto esponjiforme e degeneração de células de Purkinje. O procedimento com papel de picrato não detectou cianeto nas raízes das plantas, mas a reação utilizada para a detecção de nitratos deu uma resposta fortemente positiva. Podemos concluir que *M. megalantha* é uma planta que produz intoxicação aguda caracterizada principalmente por distúrbios nervosos. Os produtores de animais de produção deveriam oferecer alimentos alternativos durante as estações de seca e início da estação das chuvas para evitar a ocorrência de intoxicação por esta planta.

Palavras-chave: Apocynaceae, Asclepiadoideade, Plantas tóxicas, intoxicação por plantas e Pecuária

4.2 INTRODUÇÃO

O género *Marsdenia* pertence à família Apocynaceae (Asclepiadoideae) e tem distribuição mundial, sendo em regiões tropicais. Compreende cerca de 300 espécies, 35 das quais são encontradas no Brasil (RAPINI & PEREIRA, 2011). Uma característica do género é a polinização ereta. *Marsdenia megalantha* Goyder & Morillo é um arbusto rupícola de até 60 cm de altura com raízes suculentas e espécies comumente encontradas na região semi-árida do Brasil (GOYDER & MORILLO, 1994) e é conhecido por causar intoxicação aguda em bovinos e principalmente ovinos. Os sinais clínicos de intoxicação incluem ataxia, tremores musculares, decúbito e morte após algumas horas de evolução clínica. Em cabras intoxicadas experimentalmente, não foram evidenciadas lesões patológicas e todas as ovelhas intoxicadas com *M. megalantha* se recuperaram (PESSOA et al., 2011). Relatos de intoxicação em outras espécies animais ainda não foram descritos.

O objetivo deste estudo foi relatar casos espontâneos de intoxicação por *M. megalantha* e descrever os achados clínicos e patológicos resultantes da administração experimental de raízes de *M. megalantha* a ovinos, caprinos, bezerros e suíno.

4.3 MATERIAL E MÉTODOS

4.3.1 Identificação de casos naturais por meio de aplicação de questionário

Para determinar os possíveis surtos naturais de intoxicação pela *Marsdenia megalantha*, foi realizado um levantamento sobre casos de intoxicação natural, onde 22 entrevistados (entre produtores e veterinários), da região central do Rio Grande do Norte, mencionaram surtos de intoxicação natural com esta planta. As perguntas foram referentes à frequência de ocorrência, espécies afetadas, sintomatologia observada, evolução do quadro e tratamento utilizado.

4.3.2 Material vegetal

Para a intoxicação experimental, foram utilizadas raízes de *M. megalantha* Goyder & Morillo de uma fazenda de Santana do Matos (05°57'28''S e 36°39'21''W), Rio Grande do

Norte, Brasil, que relatou surtos de intoxicação. As plantas foram colhidas manualmente e foram administradas no mesmo dia.

As amostras de raiz de *M. megalantha* coletadas para intoxicação experimental foram submetidas ao teste de papel picrato para detecção de cianeto (TOKARNIA et al., 2012) e foram pesquisados nitrato e nitrito pelo método do ácido fenol disulfônico, com e sem zinco metálico (VOGEL, 1987).

4.3.3 Intoxicação experimental

Foram utilizados três carneiros (14-21 kg), três cabras (20-30 kg), um bezerro (4 meses e 97 kg) e um suíno (4 meses e 25 kg). Todos os animais eram mestiços e clinicamente saudáveis. Pelo menos três dias antes do experimento, os animais foram colocados em baias coletivas, e posteriormente cada espécie foi separada em uma baia específica para facilitar a adaptação e posterior avaliação clínica. O feno de tifton (*Cynodon dactylon*), rações comerciais e suplementação mineral foram fornecidos aos ruminantes, enquanto o suíno foi alimentado com uma ração comercial adequada à espécie. Os alimentos e a água da torneira foram oferecidos ad libitum até 12 h antes dos ensaios experimentais.

As raízes foram cortadas manualmente em pequenos pedaços (1,5-2,0 cm) e administradas aos ruminantes por via oral. Para o suíno, a raiz foi misturada com melaço e colocada em sua calha. Uma dose de 25 g/kg foi administrada a três cabras, dois carneiros e ao bezerro. Um carneiro e o suíno receberam dose de 10 g/kg.

Tabela 1. Descrição dos animais por espécie utilizados no experimento com *M. megalanta* e as doses utilizadas para testar a toxicidade desta planta.

Identificação do animal	Espécie	Dose única administrada g/kg
1	Caprina	25
2	Caprina	25
3	Caprina	25
4	Ovina	25
5	Ovina	25
6	Ovina	10
7	Bovina	25
8	Suína	10

Os exames clínicos foram realizados antes da administração da planta e a cada hora. A avaliação clínica incluiu os seguintes aspectos: comportamento, atitude, marcha, avaliação clínica neurológica, acuidade visual através da resposta à ameaça, coloração das mucosas, preenchimento dos vasos epicondulares, temperatura retal, frequência cardíaca e respiratória, forma abdominal e frequência e intensidade de motilidade retículo-rúmen. No bovino, com o objetivo de adiar a morte e permitir maior evolução das lesões decorrentes da intoxicação, foi realizada a colocação de trocater ruminal para descompressão do timpanismo gasoso acentuado.



Figura 1 – Trocaterização realizada no rúmem do bezerro para amenizar o timpanismo.

Após a morte espontânea ou eutanásia *in extremis*, os animais afetados foram necropsiados. Os fragmentos de tecidos foram recolhidos, fixados em formalina tamponada a 10% e conservados em etanol a 95%. Os fragmentos fixos foram embebidos em parafina, cortados em fatias até uma espessura de 5 mm e corados com hematoxilina e eosina (HE).

4.4 RESULTADOS

4.4.1 Intoxicação espontânea

Um total de 53 surtos de intoxicação espontânea por *M. megalantha* foram relatados por fazendeiros e veterinários em animais domésticos em quinze cidades do Rio Grande do Norte, Nordeste. Dez focos ocorreram na cidade de Santana dos Matos (Fig. 2), sete em Angicos (Fig. 3 e Fig. 4) e Lajes, cinco em Porto do Mangue e São Rafael, três em Fernando Pedroza, Pedra Preta e Jucurutu, dois em Afonso Bezerra, Florânia e Grossos e um em Areia Branca, Bodó, Lagoa Nova e Tenente Laurentino. Os casos ocorreram durante o fim estação seca e início da estação chuvosa.



Figura 2 - Surto de intoxicação espontânea com *M. megalantha* em bovinos – A e B - Planta encontra na área onde os animais estavam pastando em Santana dos Matos/RN, C e D - Bovinos intoxicados no município de Santana dos Matos/RN.



Figura 3 – A, B, C e D – Bovino intoxicado espontaneamente apresentando sintomatologia clínica neurológica com *M. megalantha* no município de Angicos/RN.



Figura 4 - A, B, C e D - Caprinos apresentando sintomatologia clínica neurológica em surto de intoxicação espontânea por *M. megalantha* no município de Angicos/RN.

De um total de 888 bovinos em 37 rebanhos, 97 (11%) foram intoxicados, resultando em 68 mortes (70%). Dos 97 bovinos afetados, 21 foram bezerros (22%) e 18 dos bezerros morreram (86%). Os sinais clínicos nos bovinos afetados foram: ataxia em 91 animais (94%), tremores musculares em 70 animais (72%), andar rígido em 65 animais (67%), movimentos de pedalagem em 26 animais (27%), hipersalivação em 22 animais (23%), 21 animais (22%), decúbito em 18 animais (19%), morte súbita em sete animais (7%) e apatia em quatro animais (4%) e inchaço em três animais (3%). A morte ocorreu dentro de algumas horas a oito dias após a manifestação clínica. A necropsia foi realizada em três animais e revelou a superfície de corte do fígado, região cortical dos rins e a serosa intestinal com congestão e áreas focais de hemorragias.

Quarenta e um casos de intoxicação foram relatados em caprinos, com morbidade média de 5% e mortalidade de 78% (32 mortes). Em 21 animais (51%), ataxia em 13 animais (32%), morte súbita em 8 animais (20%) e dificuldade de ascensão, ataxia e espasmos

músculares em 1 animal (2%). A intoxicação também foi relatada em 40 ovinos e caprinos de um rebanho de 150 animais (27%), mas o número exato de animais afetados de cada espécie não é conhecido. Os sinais clínicos incluíram ataxia, marcha rígida e agitação, e morte ocorrida em 25 animais (62%). A intoxicação em um cavalo e um burro também foi relatada. O cavalo apresentou atáxia, tremores musculares e hipersalivação, mas se recuperou. Os sinais clínicos observados no burro incluíram ataxia, tremores, queda e morte.

4.4.2 Intoxicação experimental

Os dois carneiros tratados com 25 g/kg apresentaram taquicardia, opistótono, timpanismo gasoso, dispneia, ausência de acuidade visual, membranas mucosas hiperêmicas, nistagmo, midríase, ataxia, queda e decúbito com movimentos de pedalagem. Os sinais clínicos apareceram dentro de 1 h 40 min e 18 h após a administração da planta. O primeiro carneiro (Fig. 5) intoxicado morreu 33 min após o aparecimento dos sinais clínicos (ou 2 h e 13 min após a administração), e o outro foi eutanizado 7 horas após o início dos sintomas (ou 24 horas após a administração). O carneiro que ingeriu 10 g/kg de *M. Megalantha* apresentou sinais clínicos de intoxicação, incluindo timpanismo gasoso, mioclonia, dispnéia, desidratação, isolamento, depressão e queda. Uma hora e quatro minutos após o início da administração da planta, foi introduzida uma sonda intraruminal para retirada do gás. Quando o timpanismo gasoso reapareceu, o procedimento foi repetido, tanto a 3 h 30 min como a 9 h após o aparecimento dos primeiros sinais clínicos. Três dias após a administração da planta, ainda estava apresentando andar rígido e ataxia. No quarto dia, o único sinal clínico observado foi um andar ligeiramente rígido. Este animal foi totalmente recuperado e não foi utilizado em estudos anatomo-histopatológicos.

Os sinais clínicos, incluindo taquicardia e taquipnéia, foram observados no bezerro (Fig. 6) dentro de 1 h 5 min após a administração da planta. Aumento do pulso da jugular, hipersalivação e mioclonia foram observados dentro de 30 min após os primeiros sinais. Após mais de 30 minutos, o animal apresentou incoordenação motora, opistótono, timpanismo gasoso, membranas mucosas hiperêmicas, midríase, nistagmo, cegueira, vasos episcopais com congestão, diminuição do tônus muscular da língua, dispnéia, decúbito e movimentos de pedalagem. A eutanásia foi realizada *in extremis* 6 h e 25 min do início dos sinais clínicos (ou 7 h 30 min após a administração da planta). O suíno (Fig. 7) apresentou sinais clínicos semelhantes, com a adição de vocalização, dentro de 2 h 40 min da administração da planta. A eutanásia do suíno foi realizada *in extremis* 21 h e 20 min (ou 24 h após a administração da

planta). Nenhuma das três cabras experimentais tratadas com 25 g/kg apresentou sinais clínicos de intoxicação e, portanto, não foram utilizadas para estudos patológicos.

Tabela 2 – Demonstrativo de animais por espécie usados no experimento com *M. megalantha*, discriminando as doses utilizadas e o tempo de aparecimento dos sinais clínicos, da realização das necropsia e da recuperação dos animais testados.

Identificação do animal	Espécie	Dose única (g/kg)	Aparecimento		Recuperação total após início do aparecimento dos sinais clínicos
			dos sinais clínicos após término da administração da planta	Necropsia após início dos sinais clínicos	
1	Caprina	25	-	-	-
2	Caprina	25	-	-	-
3	Caprina	25	-	-	-
4	Ovina	25	1 h e 40 min	33 min	-
5	Ovina	25	18 h	7 h	-
6	Ovina	10	1h e 4 min	-	7 dias
7	Bovina	25	1 h e 5 min	6 h e 25 min	-
8	Suína	10	2h e 40 min	21 h e 20 min	-

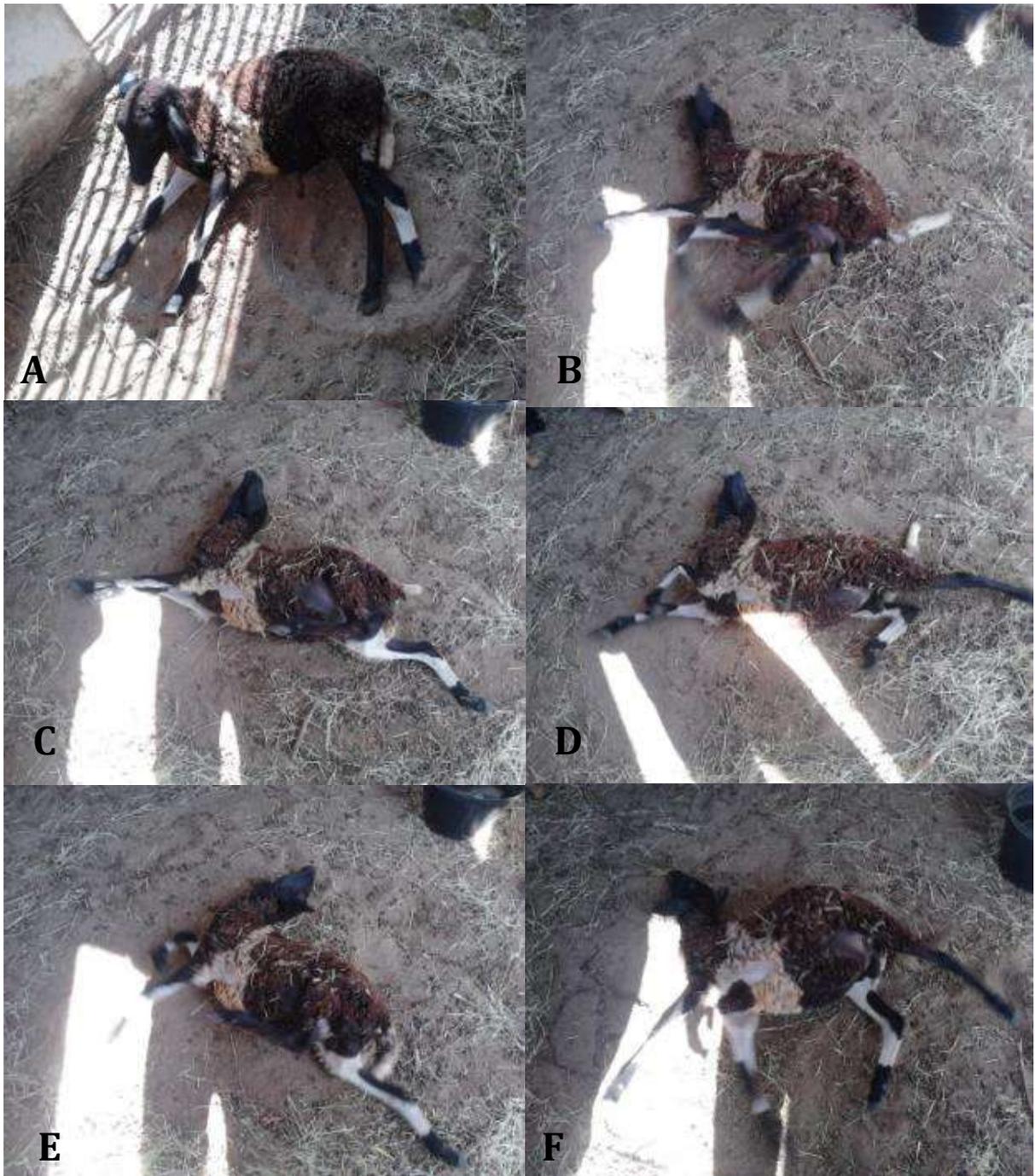


Figura 5 - Carneiro intoxicado experimentalmente por *M. megalantha* após a ingestão de uma dose única de 25 g/kg de peso vivo e apresentou sintomatologia nervosa grave caracterizada por: A - Incoordenação motora, B – Movimentos de pedalagem, C - Opistótono, D e E – Rígidez muscular e opistótono, F – Movimentos de pedalagem e timpanismo gasoso.



Figura 6 - Bezerro intoxicado experimentalmente por *M. megalantha* após a ingestão de uma dose única de 25 g/kg de peso vivo e apresentou sintomatologia nervosa grave caracterizada por: A e B - Incoordenação motora, C - Opistótono, D - Rígidez muscular, E - Movimentos de pedalagem e timpanismo gasoso e F - Diminuição severa do tônus muscular da língua.



Figura 7 - Suíno intoxicado experimentalmente por *M. megalantha* após a ingestão de uma dose única de 10 g/kg de peso vivo e apresentou sintomatologia nervosa grave caracterizada por: A - incoordenação motora, B – Movimentos de pedalagem, C e D – Rígidez muscular, E - Hipersalivação, F – Movimentos de pedalagem e vocalização.

Os achados de necropsia na primeira ovelha tratada com 25 g/kg incluíram prolapso retal, timpanismo gasoso ruminal intenso e intestino bastante distendido com presença de gases. Na segunda ovelha, que apresentou maior evolução clínica, os achados adicionais incluíram hemorragia ecocitótica dos pulmões, edema pulmonar moderado, áreas focais de

hemorragia no fígado, vesícula biliar distendida, hemorragia corticomedular nos rins, bexiga distendida, inchaço ruminal e intestinal, e fezes secas no intestino. No exame do sistema nervoso central (SNC), observou-se: ligeira assimetria do hemisfério cerebral esquerdo com áreas focais de descoloração amarelada, congestão meníngea, achatamento dos giros e hérnia cerebelar, indicando edema cerebral. Alterações grosseiras no bezerro incluíam inchaço ruminal e intestinal, vesícula biliar distendida e omaso compactado. A mucosa ruminal apresentou vários graus de vermelhidão, áreas de erosão (cerca de 0,2 cm) e edema seroso. As alterações no SNC do bezerro foram similares às do ovino; entretanto, no bezerro, as alterações ocorreram principalmente no hemisfério cerebral direito. Além disso, observou-se hemorragia subdural na superfície dorsal do cérebro e tronco encefálica, provavelmente causada pelo trauma da queda. A necropsia do suíno revelou um estômago distendido com gás, inchaços nos intestinos, vesícula biliar e bexiga distendidos. No SNC evidenciaram-se hemorragia subdural cerebral e edema cerebral difuso (caracterizados por aplanamento dos giros e hérnia cerebelar).

Em todos os animais ruminantes, a observação histológica da mucosa ruminal revelou a presença de vacuolização no citoplasma das células epiteliais mucosas, áreas focais de desprendimento do epitélio e edema moderado na submucosa, causando ruptura na arquitetura epitelial (Fig. 8). As principais alterações histopatológicas foram observadas no córtex telencefálico e incluíram necrose segmentar neuronal laminar com cromatólise evidente, núcleos picnóticos e vacúolos intracitoplasmáticos nos neurônios, aspecto esponjiforme, infiltração de células de Gitter, dilatação dos espaços perineural e perivascular (Virchow-Robin) (Fig. 9). No cerebelo, as células de Purkinje apresentaram degeneração caracterizada por cromatólise central e núcleos picnóticos. No suíno, as lesões no SNC foram moderadas mas mais disseminadas, afetando os córtices dos lobos telencefálicos occipital, temporal, parietal e frontal. Em contraste, nenhuma alteração microscópica no sistema digestivo foi evidente neste animal.



Figura 8 - Mucosa ruminal do carneiro que recebeu 25 g/kg de raízes de *Marsdenia megalantha*, mostrando presença de vacuolização no citoplasma das células epiteliais mucosas, áreas focais de desprendimento do epitélio e edema moderado na submucosa, causando ruptura na arquitetura epitelial (HE, Bar = 180 μ m).

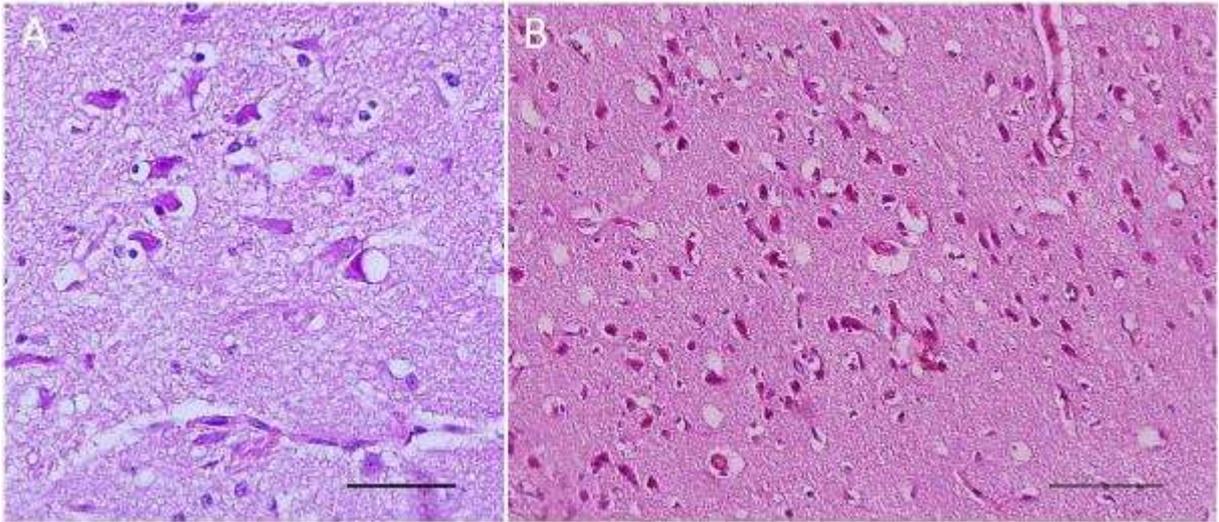


Figura 9 - Córtex telencefálico de bezerro (A) e carneiro (B) que receberam 25 g/kg de raízes de *Marsdenia megalantha*, apresentando necrose segmentar neuronal laminar com cromatólise evidente, núcleos picnóticos e vacúolos intracitoplasmáticos nos neurônios, espongiose e dilatação dos espaços perineural e perivascular (HE;A: Bar = 230 μ m; B: Bar = 208 μ m).

4.4.3 Análises químicas

As amostras de raiz de *M. megalantha* coletadas para intoxicação experimental foram submetidas à detecção de cianeto, nitrato e nitrito. O teste de papel de picrato revelou ausência do cianeto nas raízes de *M. megalantha*.

Por outro lado, a detecção de nitrato deu uma resposta fortemente positiva, mas foi negativa para o nitrito.

4.5 DISCUSSÃO

Ocorreram casos espontâneos de intoxicação por *M. megalantha* em bovinos, caprinos, ovinos, equino e burro. Casos de intoxicação por *Marsdenia hilariana* em bovinos e ovinos (PESSOA et al., 2011), bem como intoxicação de suínos por *Marsdenia* sp. (SILVA et al., 2006). Todos os casos relatados ocorreram durante o final da estação seca e do início da estação chuvosa; Assim, a exposição acidental pode ter sido causada pelo acesso limitado aos alimentos por animais de pastejo nestas estações. Em todas as espécies, os sinais neurológicos incluíram ataxia, tremores e morte súbita. Estes achados suportam os de um relatório anterior

(PESSOA et al., 2011). Por razões que não foram esclarecidas neste estudo, as cabras se mostraram mais resistentes à intoxicação experimental do que ovelhas e o bezerro.

Os sinais clínicos desta intoxicação são bem similares aos encontrados na Polioencefalomalacia (PEM), que são incoordenação, decúbito, opistótono, movimentos de pedalagem, andar em círculos, ataxia, sialorreia, nistagmo e cegueira (SANT'ANA et al., 2009).

Em relato de ovelhas intoxicadas por *M. hilariana*, não foram observadas lesões macroscópicas ou histopatológicas significativas na necropsia (PESSOA et al., 2011). Em nosso estudo, os animais desenvolveram edema cerebral, hérnia tentorial e morte neuronal nos lobos frontal, temporal, parietal e occipital do cérebro e do cerebelo após intoxicação experimental. As discrepâncias nas lesões patológicas podem ser atribuídas à toxicidade diferencial entre as espécies de plantas e às influências sazonais e regionais sobre o teor de toxinas.

As lesões macroscópicas também são bem semelhantes as encontradas na polioencefalomalacia, onde o encéfalo pode estar tumefeito por edema com achatamento dos giros cerebrais e herniação da porção caudal do telencéfalo, cerebelo e do vermes do cerebelo pelo forame magno. As lesões no córtex telencefálico podem variar desde uma pequena alteração na cor (marrom-amarelada) da substância cinzenta até necrose, caracterizada por amolecimento (malácia) e grande alteração da cor do córtex do telencéfalo (STORTS, 1998). Esta semelhança também ocorre nas lesões microscópicas, onde o córtex telencefálico apresenta necrose neuronal laminar, edema perivascular e perineural em diferentes graus no córtex e na substância branca subjacente e hipertrofia do endotélio. Ocorre necrose de liquefação do córtex telencefálico com remoção do tecido cortical necrótico através dos macrófagos espumosos, conhecidos como células gitter (STORTS, 1998).

Baseado em todas estas semelhanças dos sinais clínicos, lesões macro e microscópicas podemos afirmar que neste experimento a *M. megalantha* causou polioencefalomalacia nos animais testados. No entanto é necessário outros experimentos para avaliar as possíveis causas deste quadro de intoxicação. Já que a PME em ruminantes pode ter várias causas, incluindo intoxicação por enxofre (GOULD, 2000; KUL et al., 2006), intoxicação por sal associada à privação de água (SCARRATT et al., 1985), intoxicação por chumbo (TRAVERSO et al., 2004), mudança brusca de pastos ruins para outros de ótima qualidade (MORO et al., 1994) e a ingestão de plantas ricas em tiaminases (RAMOS et al., 2005).

O composto tóxico responsável pela intoxicação por *Marsdenia* não é conhecido, mas especulou-se que um glicosídeo esteróide semelhante ao cynanchoside pode ser responsável

(PESSOA et al., 2011). De fato, os cynanchosides foram isolados de espécies de *Cynanchum*, e a ingestão de *Cynanchum ellipticum* resulta em uma síndrome nervosa em cavalos e ruminantes (BOTHÁ & NAUDÉ, 2002). Vários sinais clínicos associados a intoxicação por *M. megalantha* são semelhantes aos promovidos pelo cianeto. De fato, a intoxicação aguda por cianeto é clinicamente caracterizada por dificuldade de apreensão, taquipneia e hiperpneia, seguido de dispnéia, midríase, fraqueza, colapso, movimento de pedalagem e morte (NICHOLSON, 2007). Entretanto, a pesquisa de cianeto pelo teste do papel do picrato foi negativa. Assim, pode-se concluir que *M. megalantha* não é uma planta cianogênica.

Uma avaliação qualitativa revelou a presença de níveis tóxicos de nitrato nas raízes de *M. megalantha*, indicando grande potencial de intoxicação por nitratos. Os sinais clínicos observados na intoxicação por nitrato em bovinos incluem anorexia, dispneia, depressão ou hiperexcitabilidade, tremores, contrações abdominais, ataxia, cianose e, em alguns casos, inchaço (MEDEIROS et al., 2003). A intoxicação por *M. megalantha* tem alguns sinais clínicos comuns a intoxicação por nitratos, mas a maioria dos achados aqui descritos não são causados por plantas contendo nitrato. Assim, o nitrato pode ser um dos compostos tóxicos presentes na *M. megalantha*, mas outra substância ou substâncias podem também contribuir para a sua toxicidade.

Conclui-se que *M. megalantha* é uma planta tóxica que produz intoxicação aguda caracterizada principalmente por distúrbios nervosos.

4.6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Portanto, os produtores de animais de produção devem fornecer uma suplementação com volumosos aos seus animais durante o período final da estação seca até início da estação chuvosa, onde vai haver uma baixíssima disponibilidade de forragem, e conseqüentemente um maior risco da ingestão dessa planta e possíveis casos de intoxicação. Estudos futuros são necessários para determinar o mecanismo exato de intoxicação e a terapêutica apropriada.

REFERÊNCIAS

- BOTHA, C. J.; NAUDÉ, T. W. Plant poisonings and mycotoxicoses of importance in horses in Southern Africa. **Journal of the South African Veterinary Association**, v. 73, p. 91–97, 2002.
- GOYDER, D.; MORILLO, G. A new species of *Marsdenia* (Asclepiadaceae) from N.E. Brazil. **Asklepios**, v. 63, p. 18–23, 1994.
- GOULD, D. H. Update on sulphur-related polioencephalomalacia. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 16, p.481-496, 2000.
- MEDEIROS, R. M. T. et al. Intoxicação por nitratos e nitritos em bovinos por ingestão de *Echinochloa polystachya* (capim-mandante) e *Pennisetum purpureum* (capim-elefante) no sertão da Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 23, p. 17–20, 2003.
- MORO, L.; NOGUEIRA, R. H. G.; CARVALHO, A. U.; MARQUES, D. C. Relato de três casos de polioencefalomalacia em bovinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 46, p.409-416, 1994.
- NICHOLSON, S. S. Cyanogenic plants. In: GUPTA, R. C. (Ed.), **Veterinary Toxicology**. Elsevier, Amsterdam, 2007. pp. 873–875.
- PESSOA, C. R. M. et al. Poisoning by *Marsdenia hilariana* and *Marsdenia megalantha* (Apocynaceae) in ruminants. **Toxicon**, v. 58, p. 610–613, 2011.
- RAMOS, J. J.; FERRER, L. M.; GARCÍA, L.; FERNÁNDEZ, A.; LOSTE, A. Polioencephalomalacia in adult sheep grazing pastures with prostate pigweed. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 46, p.59-61, 2005.
- RAPINI, A.; PEREIRA, J. F. Two new species of *Marsdenia* R. Br. (Apocyanaceae: Asclepiadoideae) from the semi-arid region of Brazil. **Kew Bulletin**, v. 66, p. 137–142, 2011.
- SANT'ANA, F. J. F.; LEMOS, R. A. A.; NOGUEIRA, A. P. A.; TOGNI, M.; TESSELE, B.; BARROS, C. S. L. Polioencefalomalacia em ruminantes. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 29, p.681-694, 2009.
- SCARRATT, W. K.; COLLINS, T. J.; SPONENBERG, D. P. Water deprivation sodium chloride intoxication in a group of feeder lambs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 186, p.977-978, 1985.
- SILVA, D. M. et al. Plantas tóxicas para ruminantes no Seridó Ocidental e Oriental do Rio Grande do Norte. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.26, p. 223–236, 2006.
- STORTS, R. W. **Sistema nervoso central**, p. 358-363. In: Carlton W. W. & McGavin M. D. (Ed.) **Patologia Veterinária Especial de Thomson**. 2nd. Ed. Artmed, Porto Alegre. 672p., 1998.
- TOKARNIA, C. H. et al. **Plantas Tóxicas do Brasil**, 2a ed. Helianthus, Rio de Janeiro, 2012.

TRAVERSO, S. D.; LORETTI, A. P.; DONINI, M. A.; DRIEMEIER, D. Lead poisoning in cattle in southern Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 56, p.418-421, 2004.

VOGEL, A. I. **Qualitative Inorganic Analysis**, 6a ed. Longman, London, 1987.

**CAPÍTULO 3 – AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE EM RUMINANTES LACTANTES
ATRAVÉS DO LEITE DE FÊMEAS QUE INGERIRAM *Marsdenia megalantha*
GOYDER & MORILLO**

5. CAPÍTULO 3 – AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE EM RUMINANTES LACTANTES ATRAVÉS DO LEITE DE FÊMEAS QUE INGERIRAM *Marsdenia megalantha* GOYDER & MORILLO

5.1 RESUMO

Marsdenia megalantha, arbusto conhecido como mata-calado, é descrito como causa de intoxicações espontâneas em bovinos, caprinos, ovinos, suínos, equino, asinino e de intoxicações experimentais em bovinos, caprinos, ovinos e suínos. Este estudo teve o objetivo de avaliar a possibilidade de o princípio tóxico desta planta ser transferido pelo leite em quantidades suficientes para causar intoxicação nos animais lactantes. Foi administrado a uma vaca e a uma ovelha em lactação 10 e 7 g da planta/kg de peso vivo durante cinco e 10 dias respectivamente, e nenhuma cria apresentou sinal clínico de intoxicação. Já a cabra em lactação que recebeu 25 g/kg durante três dias, apresentou após 24 horas da última dosagem, sinais clínicos neurológicos caracterizados por: ataxia, tremores musculares, rigidez muscular, e, quando agitados, caíam e tinham muita dificuldade de levantar. A ausência de sintomatologia clínica nas crias das três espécies estudadas durante o experimento, nas doses e período administrados, indica que provavelmente o princípio tóxico desta planta não seja transferido pelo leite em quantidades suficientes para causar intoxicação nos animais lactantes.

5.2 INTRODUÇÃO

O gênero *Marsdenia* possui distribuição mundial (RAPINI & PEREIRA, 2011). Dentre estas espécies estão *Marsdenia megalantha* e *Marsdenia hilariana*, ambas conhecidas como mata-calado e descritas como responsáveis pela morte de animais que consumam seus tubérculos. *M. megalantha* foi identificada como responsável por intoxicações espontâneas em bovinos, caprinos, ovinos, suínos, equinos e asininos (PESSOA et al., 2011; GERALDO NETO et al., 2013); a intoxicação foi reproduzida experimentalmente em bovinos, caprinos, ovinos e suínos (GERALDO NETO et al., 2013). Já a *M. hilariana* tem sido descrita como causa de intoxicações espontâneas em bovinos e de intoxicações experimentais em caprinos (PESSOA et al., 2011). A intoxicação é geralmente grave e fatal, com sinais clínicos

incluindo taquicardia, opistótono, timpanismo gasoso, dispneia, nistagmo, midríase, ataxia, andar rígido, decúbito e movimentos de pedalagem (PESSOA et al., 2011; GERALDO NETO et al., 2013). O princípio tóxico responsável por esta intoxicação ainda é desconhecido.

Além das intoxicações dos animais por meio do consumo direto da *M. megalantha*, existe a possibilidade de o princípio tóxico ser excretado pelo leite das fêmeas lactante que consomem esta planta, e que este princípio esteja em quantidade suficiente para intoxicar as suas crias. Além disto, o homem poderia estar exposto a este princípio através do leite ou dos outros produtos derivados dos animais, como é bem conhecido com outras plantas tóxicas (RIET-CORREA & MEDEIROS, 2001). Vários estudos demonstraram que princípios ativos tóxicos de diversas plantas passaram pelo leite em quantidade suficiente para causar intoxicação em quem consuma este leite, como é o caso do ptaquilosídeo da *Pteridium aquilinum* (samambaia) no homem e em animais, (VILLALOBOS-SALAZAR, 1985; ALONSO-AMELOT et al., 1996; ALONSO-AMELOT et al., 1998; WILSON et al., 1998; FRANÇA et al., 2002; ALONSO-AMELOT e AVERDANO, 2001; ALONSO-AMELOT e AVERDANO, 2002; CRUZ & BRACARENSE, 2004). E o princípio tóxico ainda desconhecido da *Ipomoea asarifolia* (salsa) que é mencionada como causa de intoxicação em cordeiros lactantes confinados enquanto as ovelhas pastavam em área invadida pela planta. (ARAÚJO et al., 2008; FREITAS et al., 2011) e em bezerros (CARVALHO et al., 2014). Em experimentos realizados com *Ipomoea asarifolia* foi comprovado que esta planta causa intoxicação nas crias pelo consumo do leite das ovelhas (CARVALHO et al., 2014) e dos camundongos (LOPES, 2013). Outro caso é o leite de vacas mantidas em pastagens contendo *Eupatorium rugosum*, nos Estados Unidos, que é responsável por uma doença conhecida como enfermidade do leite (“milksickness”) quando consumido por humanos (RIET-CORREA & MEDEIROS, 2001).

Baseado em todos estes casos onde os princípios tóxicos passam pelo leite em quantidade suficiente para causar intoxicação e na grande ocorrência de mortalidade perinatal nos animais, o objetivo deste trabalho foi avaliar se o princípio tóxico, ainda desconhecido, da *M. megalantha* passaria pelo leite em quantidade suficiente para causar intoxicação nas crias de bovinos, caprinos e ovinos.

5.3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado na Fazenda Bela Vista no Município de Angicos/RN, onde o proprietário possui uma criação de bovinos e caprinos leiteiros e de ovinos de corte. O produtor cedeu os animais das três espécies para serem usados no experimento. Sendo assim, os animais continuaram no mesmo ambiente e com o mesmo manejo que estavam acostumados. Os animais da propriedade eram mantidos em uma área de pastagem nativa e eram trazidos para as cocheiras uma vez ao dia para fornecimento de uma ração composta por: farelo de milho, farela de trigo, soja e capim elefante. Estes animais recebiam água e sal mineral *ad libitum*. Foi escolhida uma vaca mestiça de aproximadamente cinco anos de idade e pesando 350 kg no primeiro mês de lactação, uma ovelha da raça Morada Nova pesando 35 kg e uma cabra da raça Parda Alpina pesando 25 kg, ambas com 20 dias de lactação.

As raízes da planta foram coletadas em uma propriedade rural na qual foi relatado o surto mais grave de intoxicação, localizada no município de Santana dos Matos/RN. Cada coleta de planta foi realizada para dois dias de administração. Após a coleta, as raízes foram levadas para a fazenda onde foi realizado o experimento. Estas raízes eram diariamente trituradas em uma forrageira e pesadas para fornecimento aos animais nos cochos misturado com a alimentação que eles recebiam normalmente.

O experimento foi iniciado com uma vaca em lactação de 350 kg de peso vivo, com um bezerro de aproximadamente 30 dias de vida. A quantidade administrada foi de 3,5 kg (10 g/kg de peso vivo) da planta triturada na forrageira e misturada à ração que o animal estava recebendo (Fig. 1). No primeiro dia ela comeu bem, no segundo já demorou um pouco mais. No terceiro e quarto dia ela teve de ficar amarrada ao cocho por umas duas horas para que pudesse comer tudo. No quinto dia ela refugava ir para seu cocho; quando foi presa à força no cocho, nem cheirava a ração, mas após três horas acabou consumindo toda a ração.

Na ovelha com 35 kg, foram administrados 245 g (7g/kg de peso vivo) durante 10 dias (2,45 kg de planta ao todo) (Fig. 2). Na cabra com 25 kg, foram administrados 625 g (25 g/kg de peso vivo) durante 3 dias (1,875 kg de planta ao todo) (Fig. 3). Estas administrações foram realizadas cortando a raiz da planta em cubos de 0,5 cm e fornecendo manualmente de forma forçada pela boca dos animais até que eles ingerissem toda a dose desejada.



Figura 1 - *Marsdenia megalantha*: A- raízes; B- Raízes trituradas; C- Raízes trituradas misturadas na ração no cocho da vaca; D- Vaca consumindo a ração com as raízes.

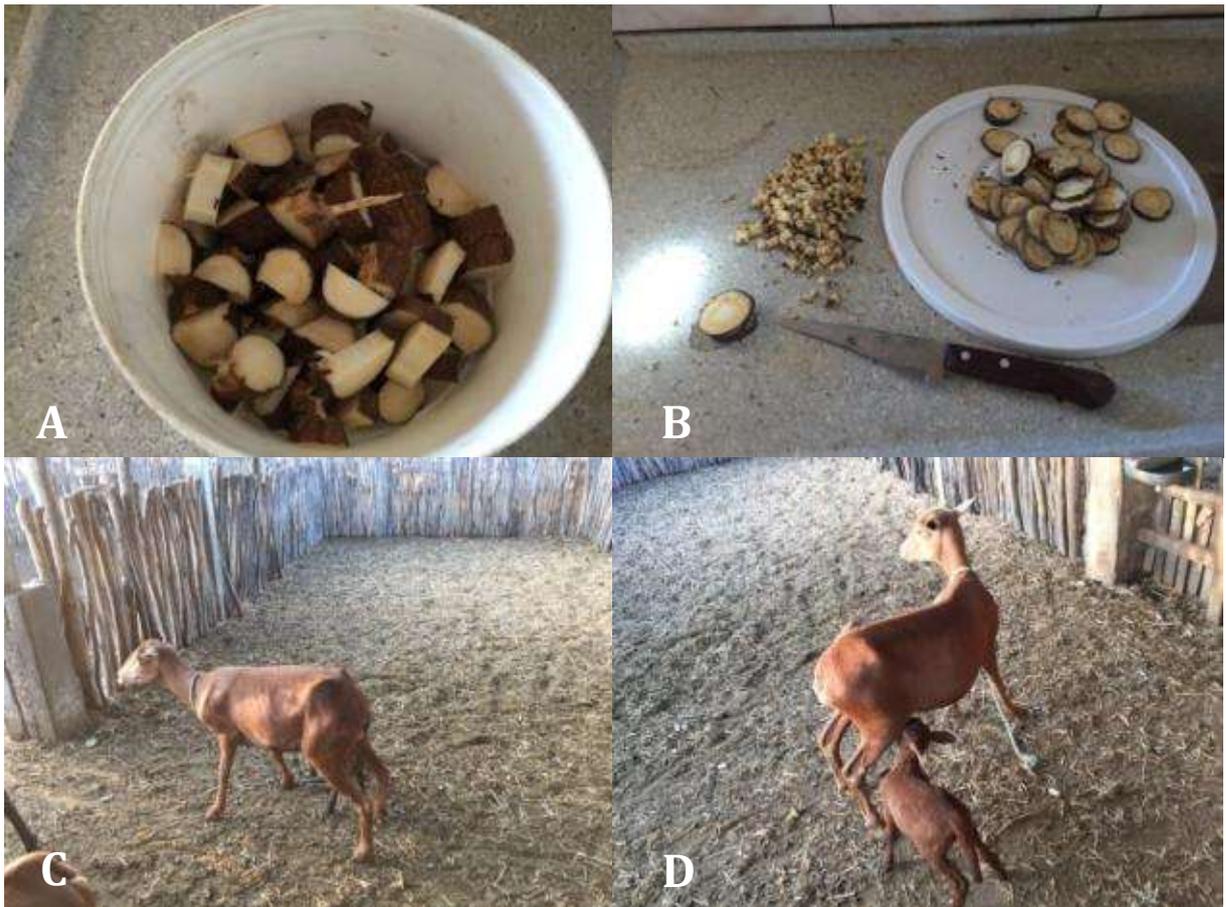


Figura 2 - A - Raízes de *Marsdenia megalantha*; B - Raízes cortadas em cubos para serem fornecidas à ovelha; C - Baía onde a ovelha ficava presa; D - Borrego mamando na ovelha.



Figura 3 - A - Raízes de *Marsdenia megalantha*; B - Raízes cortadas em cubos para serem fornecidas à cabra; C - Baía onde a cabra ficava presa; D - Cabrito mamando na cabra.

5.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A transferência de toxinas pelo leite é conhecida em decorrência da ingestão de diversas espécies de plantas tóxicas. Por exemplo, foi verificado experimentalmente que na ingestão de *Pteridium aquilinum* por vacas, 8,6% do total ingerido de seu princípio tóxico, o ptaquilosídeo, foram eliminados pelo leite durante 5 dias (ALONSO-AMELOT et al., 1998). Esta eliminação do ptaquilosídeo no leite não ocorre apenas em vacas, mas também em éguas, jumentas, ovelhas e cabras (FRANCESCO et al., 2011).

Neste experimento a vaca e a ovelha consumiram 10 e 7 g da planta/kg de peso vivo durante cinco e dez dias, respectivamente (Tabela 1). No entanto, nenhuma destas fêmeas nem seus filhotes apresentaram qualquer sinal clínico de intoxicação. Em experimento anterior com uma dose única de 10 g/kg de peso vivo um carneiro apresentou sinais clínicos de intoxicação, caracterizados por sintomatologia nervosa (GERALDO NETO et al., 2013b). Durante a lactação, as fêmeas apresentam alterações metabólicas para adaptação a esta fase fisiológica. Foi verificado que a eliminação de agentes tóxicos pelo leite pode reduzir a

toxicidade para a mãe (SOTO-BLANCO & GÓRNIAC, 2003). No presente estudo, se houve esta eliminação pelo leite na vaca e na ovelha, a quantidade eliminada foi insuficiente para promover efeitos tóxicos nos filhotes.

Tabela 1 - Intoxicação experimental com *Marsdenia megalantha* em bovino, caprino e ovino em lactação para avaliar se a toxidade da planta para as fêmeas em lactação e para as crias lactantes.

Identificação (N°)	Espécie	Dose (g/kg)	N° de doses administradas	Aparecimento dos sinais clínicos após última administração (Horas)		Recuperação ou eutanásia e necropsia
				Crias lactantes	Fêmeas em lactação	
1	Bovina	10	5	Ausentes	Ausentes	Ausente
2	Caprina	25	3	Ausentes	24	Recuperação após 7 dias
3	Ovina	7	10	Ausentes	Ausentes	Ausente

A cabra que consumiu 25 g/kg da planta apresentou 24 horas após a terceira dose, sinais clínicos neurológicos caracterizados por ataxia, tremores musculares, rigidez muscular e, quando estimulada, caía com muita dificuldade para se levantar (Fig. 4). Esta cabra se recuperou totalmente uma semana depois da última administração da planta. Os sinais clínicos observados são comuns a todas as espécies de animais intoxicados por esta planta (PESSOA et al., 2011; GERALDO NETO et al., 2013). A intoxicação da cabra neste experimento diferiu do observado em experimento anterior, que verificou que esta planta administrada na mesma dosagem, mas em dose única, não causou efeitos tóxicos em três caprinos (GERALDO NETO et al., 2013). A maior sensibilidade da cabra no presente estudo pode ser resultado de variação individual na sensibilidade à intoxicação ou mesmo das alterações metabólicas para adaptação à lactação. Da mesma forma como ocorreu com a vaca e a ovelha, se a cabra apresentou eliminação láctea do princípio tóxico da planta, a quantidade eliminada foi insuficiente para promover toxicidade no filhote.

Nem sempre é possível reproduzir experimentalmente a intoxicação indireta de animais lactentes pelo consumo do leite de fêmeas que consumiram o agente tóxico. Um exemplo ocorreu com a planta *Ipomoea asarifolia*. Foram observados casos espontâneos de ovelhas e vacas que consumiram folhas desta planta, cujos filhotes lactentes apresentaram sinais clínicos de intoxicação pela planta apesar de não terem acesso, indicando a ocorrência

da transferência do princípio tóxico, ainda desconhecido, pelo leite (FREITAS et al., 2011; CARVALHO et al., 2014). No entanto, esta intoxicação via leite não foi reproduzida experimentalmente em ovinos lactentes, apesar de suas mães terem apresentado sinais clínicos da intoxicação (FREITAS et al., 2011). A forma ideal para a determinação da ocorrência da eliminação láctea de um agente tóxico é a sua identificação no leite, e a transferência láctea é confirmada pela presença do composto no sangue do animal lactente (SOTO-BLANCO & GÓRNIAC, 2003). No entanto, estes procedimentos não puderam ser realizados, pois o princípio tóxico ou os princípios tóxicos da *M. megalantha* ainda são desconhecidos. Assim, a hipótese de eliminação deste princípio pelo leite em níveis insuficientes para causar sinais clínicos de intoxicação.



Figura 4. A - Cabrito mamando na cabra, B, C e D - Cabra apresentando sinais clínicos neurológicos da intoxicação caracterizados por: ataxia, tremores musculares, rigidez muscular, e quando agitados caíam e tinham muita dificuldade de ficar de pé novamente.

5.5 CONCLUSÕES

A ausência de sintomatologia clínica nas crias das três espécies estudadas durante o experimento, nas doses e períodos administrados, indica que provavelmente o princípio tóxico desta planta não seja passado pelo leite, ou passe em uma quantidade insuficiente para causar a intoxicação ou passe de uma forma inativada. No entanto, outros trabalhos devem ser realizados para confirmar estes resultados.

REFERÊNCIAS

- ALONSO-AMELOT, M. E. et al. Bracken ptaquiloside in milk. **Nature**, London, n. 382, p. 587, 1996.
- ALONSO-AMELOT, M. E. et al. Excretion through milk, of ptaquiloside in Bracken-fed cown. A quantitative assessment. **Lait**, v. 78, n. 4, p. 413-423, 1998.
- ALONSO-AMELOT, M.E. & AVENDANO, M. 2001. Possible association between gastric cancer and bracken fern in Venezuela: an epidemiologic study. **Int. J. Câncer**. 91: 252–259.
- ALONSO-AMELOT, M.E.; AVENDANO, M. Human carcinogenesis and bracken fern: a review of the evidence. **Current Medicinal Chemistry**, v.9, p.675-686, 2002.
- CARVALHO F. K. L., et al. Intoxicação por *Ipomoea asarifolia* em bovinos e ovinos no Rio Grande do Norte. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, n. 11, p. 1073-1076, 2014.
- CRUZ, G. D.; BRACARENSE, A. P. F. R. L. Toxicidade da samambaia (*Pteridium aquilinum*(L.) Kuhn) para a saúde animal e humana. **Semana: Ciências Agrárias**, v. 25, n. 3, p. 249-258, 2004.
- FRANÇA, T. N., et al. Enfermidades determinadas pelo princípio radiomimético de *Pitiridium aquilinum* (Polypodiaceae). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 22, n. 3, p. 85-96, 2002.
- FRANCESCO, B. et al. A new very sensitive method of assessment of ptaquiloside, the major bracken carcinogen in the milk of farm animals. **Food Chemistry**, v. 124, p. 660-665, 20011.
- FREITAS, F.J.C., et al. Surtos de intoxicação por *Ipomoea asarifolia* (salsa) em cordeiros e cabritos lactentes. **Veterinária e Zootecnia**, v. 18, n. 4, supl. 3, p. 548-551, 2011.
- GERALDO NETO, S.A. et al. Spontaneous and experimental poisoning by *Marsdenia megalantha* Goyder & Morillo in ruminants and a pig. **Toxicon**, v. 63, n. 1, p. 116-119, 2013.
- LOPES J.R.G. 2013. Efeitos da administração de diferentes concentrações de folhas de *Ipomoea asarifolia* na ração de camundongos e eliminação da toxina tremogênica pelo leite. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Campina Grande, PB. 40p.
- PESSOA, C.R.M. et al. Poisoning by *Marsdenia hilariana* and *Marsdenia megalantha* (Apocynaceae) in ruminants. **Toxicon**, v. 58, p. 610-613, 2011.
- RAPINI, A.; PEREIRA, J.F. Two new species of *Marsdenia* R. Br. (Apocyanaceae: Asclepiadoideae) from the semi-arid region of Brazil. **Kew Bulletin**, v. 66, n. 1, 137- 142, 2011.

RASMSEN, L. H. Ptaquiloside na environmental hazard. Occurrence and fate of a Bracken (*Pteridium sp*) toxin in terrestrial environments. 2003. 124 p. Thesis (PhD) – **The Royal Veterinary and Agricultural University**, Denmark, 2003.

RIET-CORREA F. & MEDEIROS R.M.T. Intoxicações por plantas em ruminantes no Brasil e no Uruguai: importância econômica, controle e risco para a saúde pública. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 21, n. 1, p. 38-42, 2001.

SOTO-BLANCO, B. & GÓRNIAK, S.L. Milk transfer of cyanide and thiocyanate: cyanide exposure by lactation in goats. **Veterinary Research**, v. 34, n.2, p. 213-220, 2003.

VILLALOBOS-SALAZAR, J. Carcinogenicidad del *Pteridium aquilinum* y alta incidencia del cancer gastric en Costa Rica. **Revista Costa Rica de Ciências Médicas**, San José, v. 6, p. 131-139, 1985.

WILSON, D. et al. Should we be frightened of bracken. A review of the evidence. **Journal of Epidemiology and Community Health**, London, v. 52, p. 812-817, 1998.

ANEXOS

ANEXO A

CONSIDERAÇÕES SOBRE A VARIABILIDADE MORFOLÓGICA DE *Marsdenia megalantha* GOYDER & MORILLO

Foi observado durante os experimentos realizados com *M. megalantha* que existiam, nas propriedades visitadas, plantas em forma de arbusto e outras de trepadeiras, o que de início pareceu serem duas espécies diferentes (Fig. 1). Porém a única coisa que as diferenciavam era a sua forma. Então foram arrancados com a raiz dois exemplares de cada e plantados em uma área experimental: a trepadeira exposta totalmente ao sol e a arbustiva embaixo de uma árvore totalmente na sombra. E foi observado que a trepadeira que tinha galhos finos que subiam nas árvores próximas, secaram estes galhos e cresceu em forma de arbusto (Fig. 2). Enquanto na arbustiva os galhos cresceram e estes começaram a se enrolar e subir na árvore, adquirindo forma de trepadeira (Fig. 3).



Figura 1 - *Marsdenia megalantha*: A- Arbusto; B, C e D - Trepadeira (liana)

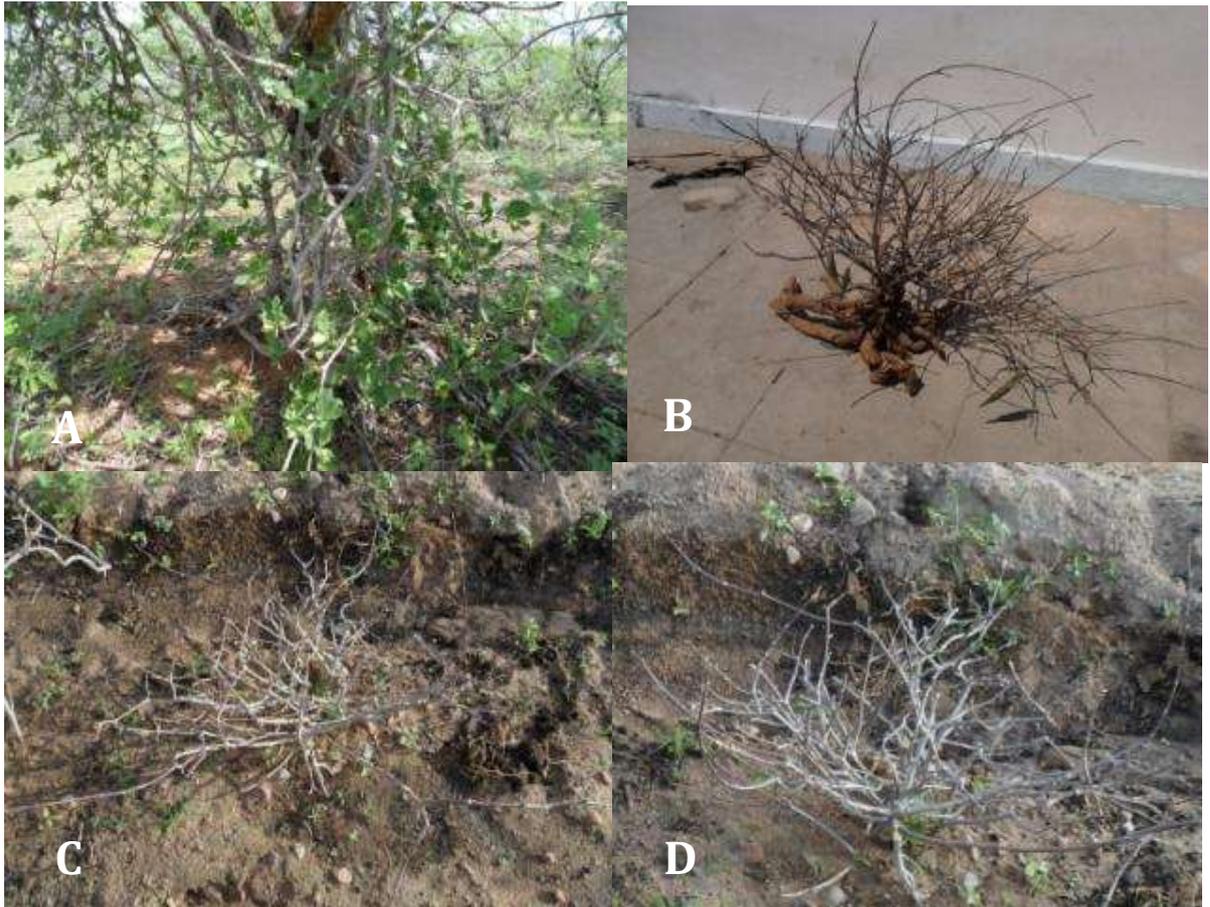


Figura 2 - *Marsdenia megalantha*. **A** - Trepadeira, transplantada em área experimental. **B** - Planta arrancada com raiz para transplante. **C** - Transplante e plantio realizado e galhos secando. **D** - Planta já com forma de arbusto.



Figura 3 - *Marsdenia megalantha*. **A** - Arbusto, transplantada para área experimental embaixo de uma árvore totalmente na sombra. **B, C e D** - Planta já com forma de trepadeira subindo na árvore.

Tem sido observada uma grande relutância de muitos produtores em acreditarem que uma planta arbustiva de um porte tão pequeno pudesse ter um potencial tão grande de causar intoxicação em animais, principalmente em bovinos. O fato é que muitos produtores desconhecem que apesar desta planta ser um pequeno arbusto e conter uma pequena quantidade de folhas, a parte mais tóxica e que tem maior massa verde é a raiz (Fig.4). Um arbusto de 1 metro de diâmetro por 1 metro de altura aproximadamente, pode ter mais de 60 kg de raízes, o que poderia intoxicar aproximadamente 5 bovinos adultos (500 kg de peso vivo).

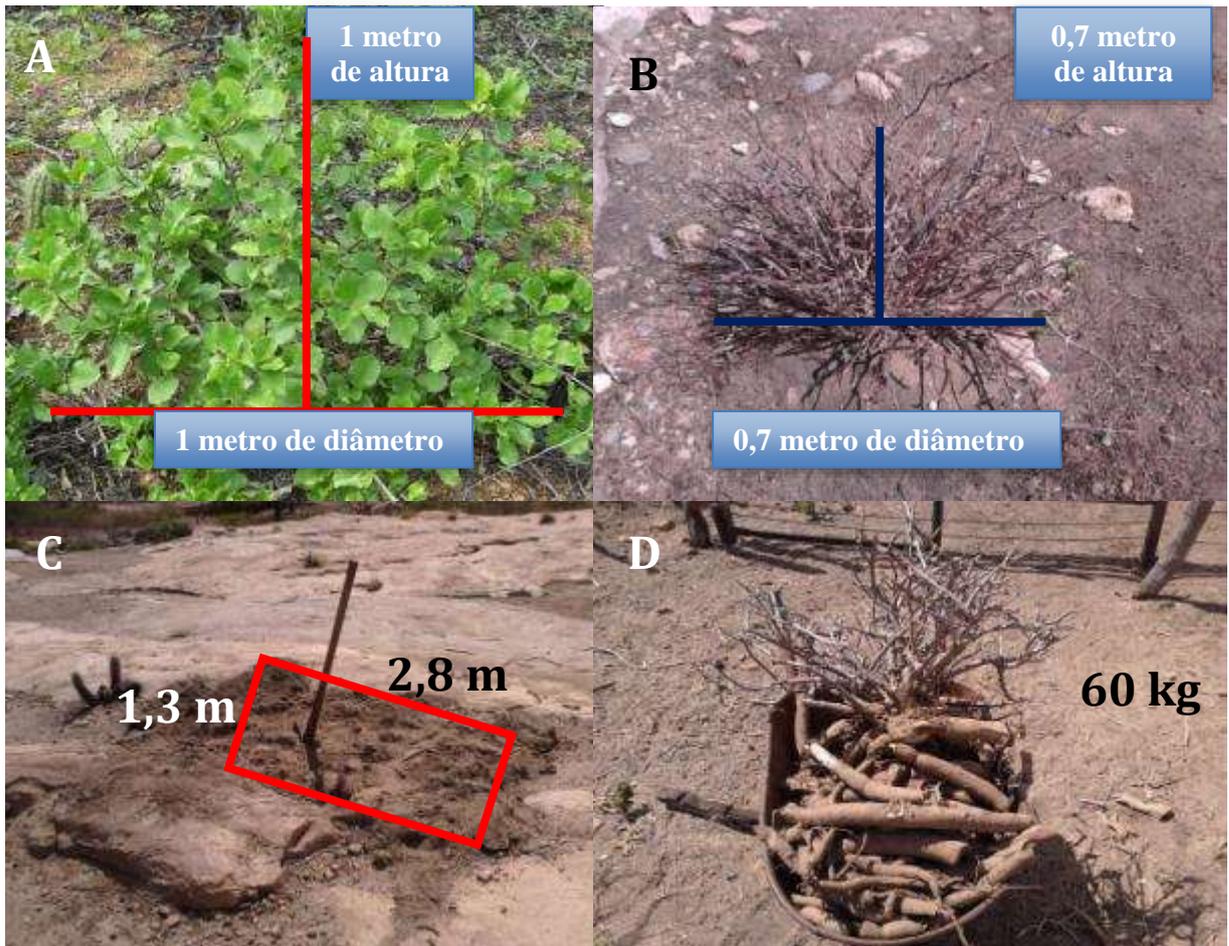


Figura 4 - *Marsdenia megalantha*: **A** - Arbusto verde (1m diâmetro x 1 m de altura; **B** - Arbusto seco (0,7 m diâmetro x 0,7 de altura); **C** - Área cavada para retirar as raízes da planta para pesar (1,3 m x 2,8m); **D** - Raízes arrancadas e pesadas (60 kg).