

DEPARTAMENTO DE ANATOMIA PATOLÓGICA

Diretor: Prof. Dr. Euclides O. Martins

AÇÃO DA HIDROXOCOBALAMINA NA INTOXICAÇÃO AGUDA DO COELHO PELO HOLOCALIX BALANSAE, MICH.

(THE ACTION OF HIDROXOCOBALAMINA IN ACUTE HOLOCALIX BALANSAE, MICH. POISONING IN RABBITS)

JOSÉ ALVES DE SOUZA *

SVEA B. K. MUELIER **

EUCLYDES ONOFRE MARTINS
Prof. Catedrático

A leguminosa *Holocalix balansae*, Mich., vulgarmente conhecida como "alecrim das matas", "alecrim dos campos", "alecrim de Campinas" (Lucas, 1941 e Rocha e Silva, 1940), planta palatável, altamente tóxica, possui larga distribuição geográfica no Brasil, Argentina e Paraguai (Burkart, 1952). Segundo ROCHA e SILVA, (1940) é o agente etiológico da chamada "peste das queimadas" que vitima hovinós criados em zonas de derrubadas. No estudo da toxidinâmica desta planta, considera-se até o momento, pelo menos dois agentes etiológicos: o cianeto (Rocha e Silva, 1940) de ação rápida e fulminante e o pinitol (Souza, 1967) de ação mais lenta, provocando alterações hepáticas, capazes de responder pelo aparecimento do fenômeno da fotossensibilização em bovinos que acompanha o quadro clínico da intoxicação pelo *Holocalix balansae*, Mich.

A fitotoxicologia apresenta-se de importância econômica relevante, pois é grande o número de plantas tóxicas que se desenvolvem de permeio às pastagens naturais. Algumas dessas plantas apresentam o máximo de sua toxicidade no período de floração (Moreira, 1966), enquanto outras atingem níveis maiores no período correspondente ao aparecimento de novos brotos (Fernandes e col., 1961). Deve-se destacar o fato que em ambos os casos, há uma coincidência do ciclo vegetativo da planta, com o período de sua máxima toxicidade e com a escassez de gramíneas nos campos naturais, onde os animais normalmente obtêm sua fonte principal de alimentos.

* Departamento Fisiologia-Farmacologia da Universidade de São Paulo. — Chefe de Pesquisas do Conselho Nacional de Pesquisas.

** Professor da Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu.

Como planta cianogenética, a intoxicação aguda pelo *Holocalix balansae*, Mich., implica em pronto atendimento aos animais acometidos por esta intoxicação.

A hidroxocobalamina tem sido estudada no tratamento da intoxicação pelo cianeto (Delga e col. 1961 e Scheffer e col. 1970). No presente trabalho procuramos avaliar em coelhos, o comportamento da hidroxocobalamina na intoxicação experimental aguda pelo *Holocalix balansae*, Mich.

MATERIAL E MÉTODOS

Extrato aquoso de *Holocalix balansae*, Mich., foi obtido segundo método utilizado por SOUZA (1967). A presença de cianeto nas amostras injetadas nos animais em experiência, foi confirmada através do teste qualitativo de FEIGL (1954). Para administração aos animais submetidos à experimentação, o extrato vegetal foi veiculado em solução fisiológica e injetado através da veia marginal da orelha. Empregou-se a solução de hidroxocobalamina de procedência comercial denominada "Droxofor".

Utilizaram-se 15 coelhos adultos, de ambos os sexos, raça Gigante de Flandres, em boas condições de saúde. Os animais foram distribuídos ao acaso em grupos, denominados respectivamente A, B e C. Cada grupo representado por 5 animais. A posologia, via de administração e seqüência executiva da experiência, consta na tabela I. Todos os animais foram observados por período de tempo de 30 minutos após a administração do extrato aquoso de *Holocalix balansae*, Mich., por via venosa.

RESULTADOS

GRUPO A — Todos os animais deste grupo experimental, morreram no final de 10 minutos após as injeções endovenosas do extrato aquoso de *Holocalix balansae*, Mich., na dose de 3,0 g/Kg. Em todos os animais a morte foi precedida por nítidas alterações da frequência respiratória.

GRUPO B — A hidroxocobalamina na dose de 10 mg/Kg, injetada na veia marginal da orelha 5 minutos após a administração venosa do extrato aquoso de *Holocalix balansae*, Mich., permitiu a sobrevivência de todos os animais integrantes deste grupo experimental. Constatou-se em todos os animais deste grupo, evidentes alterações da frequência respiratória, restabelecida ao normal, em média, 2,5 minutos após a injeção endovenosa da Hidroxocobalamina em altas doses (10 mg/Kg).

GRUPO C — A hidroxocobalamina (10 mg/Kg) administrada endovenosamente 5 minutos antes da injeção na veia marginal da orelha do extrato aquoso de *Holocalix balansae*, Mich. na dose de 3,0 g/Kg, impediu o aparecimento de alterações da frequência respiratória, tabelas I e II.

Durante o período experimental, não se observou qualquer alteração respiratória digna de registro, igualmente, não foi registrada nenhuma morte entre os animais pertencentes a este grupo de estudo experimental.

Os resultados alcançados por esta experimentação, envolvendo os 5 grupos animais de estudo, estão condensados na tabela II.

TABELA I

Administração do extrato aquoso de *Holocalix balansae*, Mich. e de Hidroxocobalamina por via endovenosa em coelhos.

1.ª Adminis- tração	G R U P O S		
	A	B	C
Droga	Extrato da planta	Extrato da planta	Hidroxocobalamina
Dose	3,0 g/Kg	3,0 g/Kg	10 mgKg
2.ª adminis- tração	Intervalo de tem- po	5 minutos	5 minutos
	Droga	—	Hidroxocobalamina
Dose	—	10 mgKg	Extrato da planta

TABELA II

Resultado alcançado durante o período de observação de 10 minutos em 15 coelhos, experimentalmente intoxicados com extrato aquoso de *Holocalix balansae*, Mich. (3,0 g/Kg) e relacionados com o não tratamento, o tratamento posterior e tratamento prévio à intoxicação com hidroxocobalamina (10 mg/Kg). Os valores numéricos expressam a quantidade de animais.

Grupos	Alterações na fre- quência respira- tória	Mortalidade	Recuperação
A	5	5	0
B	5*	0	5
C	0	0	5

* Sômente durante os 5 minutos que precederam a administração de Hidroxocobalamina.

DISCUSSÃO

A hidroxocobalamina é um princípio vitamínico B₁₂ natural, designado como vitamina B₁₂ natural. É obtida pela exposição da vitamina B₁₂ à luz. Mais estável do que a cianocobalamina ou vitamina B₁₂ cianídrica, difere desta pela substituição do grupamento cianeto (CN⁻), ligado ao átomo central de cobalto, por um grupamento hidroxila (OH⁻) o que confere-lhe uma certa basicidade. A hidroxocobalamina é dotada de vários efeitos biológicos: antitóxicos (eliminação do íon cianeto), hemopoiéticos, proteoanabólicos, hepatoprotetores e neurotrópicos.

DELGA (1966) admite a capacidade da hidroxocobalamina interferir no metabolismo do ácido cianídrico, graças à sua propriedade de combinar-se com o íon cianeto, formando a cianocobalamina.

KILLANDER & SCHIZLING (1961) demonstraram que a hidroxocobalamina é eliminada lentamente pelos rins, após injeção única. A cianocobalamina desaparece da circulação após 24 horas de sua administração, enquanto que a hidroxocobalamina é eliminada por mais de 100 horas. Esta propriedade confere-lhe condição terapêutica de eleição no tratamento e profilaxia da intoxicação cianídrica.

DELGA & colaboradores (1961) colocam em evidência a participação da hidroxocobalamina na intoxicação cianídrica experimental. Clássicamente os antídotos preconizados para intoxicação cianídrica podem ser classificados em três grupos: substâncias possuidoras de grupamento carbonila; derivados sulfurados e alguns derivados metálicos. No primeiro grupo destas substâncias, situam-se os açúcares e a dioxiketona. A atividade antidota destas substâncias é atribuída à capacidade formadora de cianidrinas. Estas substâncias desempenham ação preventiva antitóxica de importância, porém, ressentem-se de qualquer ação curativa. No segundo grupo, incluem-se as substâncias doadoras de enxofre, das quais podemos destacar: enxofre coloidal, hipossulfitos, tetracionatos, glutation reduzido, etc. Tem-se como certo que a atividade destas substâncias é devida à intervenção da rodanase que transforma o cianeto em sulfocianetos, não tóxicos.

Finalmente, no terceiro grupo, destacam-se os derivados metálicos capazes de fixarem o íon cianeto à metahemoglobina formada. Entre estas substâncias situa-se o azul de metileno, nitritos e para-amino-propiofenona.

Efeitos secundários desenvolvidos pelos agentes oxidantes da molécula hemoglobínica, têm sido referidos como inconvenientes destas substâncias.

Analisando-se os resultados alcançados por êste experimento e, comparando-o aos trabalhos desenvolvidos por DELGA & colaboradores (1961) e SCHEFFER & colaboradores (1970), podemos concluir ser a hidroxocobalamina a substância de escolha na profilaxia e tratamento da intoxicação cianídrica pelo *Holocalix balansae*, Mich. e, certamente, por outras plantas cianogénicas.

SUMARIO

Os autores provocaram a intoxicação experimental em 15 coelhos pelo extrato aquoso do *Holocalix balansae*, Mich., através da administração endovenosa (veia marginal da orelha). Os animais foram distribuídos em 3 grupos, constituídos por 5 animais cada um. O grupo A considerado testemunho, não recebeu nenhuma proteção de hidroxocobalamina. O grupo B, recebeu 10 mg/Kg de hidroxocobalamina endovenosa, 5 minutos após a injeção endovenosa do extrato aquoso de *Holocalix balansae*, Mich. (3,0 g/Kg). Finalmente, o grupo C recebeu previamente hidroxocobalamina (10 mg/Kg) endovenosa, 5 minutos antes da administração endovenosa de *Holocalix balansae*, Mich. (3,0 g/Kg). O extrato aquoso de *Holocalix balansae*, Mich. foi preparado de conformidade com a orientação imprimida por SOUZA (1967). A presença de cianeto nas amostras foi confirmada através da determinação qualitativa de FEIGL (1954).

Constataram morte de todos os animais do grupo A, 10 minutos após a injeção do extrato aquoso de *Holocalix balansae*, Mich., precedida por acentuadas alterações da frequência respiratória. Não foi constatada nenhuma morte entre os animais pertencentes aos grupos B e C. Alterações da frequência respiratória foram observadas entre os animais do grupo B, nos 5 minutos que precederam às injeções endovenosas de hidroxocobalamina e após as injeções de extrato aquoso de *Holocalix balansae*, Mich. Os animais do grupo C não registraram quaisquer alterações em seu comportamento vigiado.

Finalmente, concluem ser a hidroxocobalamina a substância ideal na profilaxia e tratamento das intoxicações cianídricas pelo *Holocalix balansae*, Mich., extensiva às demais plantas cianogénicas.

SUMMARY

The authors poisoned experimentally 15 rabbits by an intravenous administration of an aqueous extract of *Holocalix balansae*, Mich.

The animals were distributed in 3 groups, each one composed by 5 animals. Group A was considered as control, and did not receive any protection by hydroxocobalamin. Group B received 10mg/Kg of hydroxocobalamin intravenously, 5 minutes after an intravenous injection of an aqueous extract of *Holocalix balansae*, Mich. (3,0 g/K). Finally, group C received an intravenous dose of hydroxocobalamin (10 mg/Kg) 5 minutes before the intravenous administration of the aqueous extract of *Holocalix balansae*, Mich. (3,0 g/Kg).

The vegetal extract was prepared accordingly with the procedure of SOUZA (1967). The presence of cyanide was confirmed by the qualitative determination of FEIGL (1954).

All animals of group A died 10 minutes after the injection of the aqueous extract preceded by marked respiratory alterations. No death was observed among the animals of groups B and C. Alterations of the respiratory frequency were observed in the animals of group B, during the 5 minutes before the administration of hydroxocobalamin. No alterations were observed in the animals of group C.

Finally, the authors concluded that the hydroxocobalamin is an ideal substance for the prophylaxis and treatment of cyanidric poisoning by *Holocalix balansae*, Mich. or any other cyanogenic plant.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BURKART, A. — Las Leguminosas Argentinas Silvestres y Cultivadas Buenos Aires, ACME Agency, 1952, p. 188.
2. DELGA, J. — Hydroxocobalamine et syndromes douloureux. Intérêt des posologies massives. *Méd. Int.*, 10(1): 575-578, 1966.
3. DELGA, M. M. J.; MIZOULE, J.; VEVERKA, B. & BON, R. — Recherche sur le traitement de l'intoxication cyanhydrique par l'hydroxocobalamine. *Ann. pharm. franç.*, Paris, 19: 740-752, 1961.
4. FEIGL, F. — Spot tests. Amsterdam. Elsevier Publishing Co., 1954.
5. FERNANDES, N. S. & MACRUZ, R. — Toxicidade da *Mescagnia pubiflora* Juss. *Arq. Inst. biol.*, S. Paulo, 31: 1-4, 1964.
6. KILLANDER, A. & SCHILLING, R. F. — Studies on hydroxocobalamin: excretion and retention of massive doses in control subjects. *J. Lab. Clin. Méd.*, St. Louis, 57: 553-561, 1961.

7. LUCAS, V. — O alecrim de Campinas. *Rev. Flora med.*, Rio de Janeiro — 196: 70-79, 1941.
8. MOREIRA, E. A. — Sôbre a presença de alcaloides em *Bacharis cori-difolia*. DC. Separação por cromatografia em camada delgada. *Trib. farm.*, Curitiba, 26: 5, 1966.
9. ROCHA e SILVA, M. — Fotossensibilização em bovinos. A peste das queimadas, doença causada pelo *Holocalix glaziovili*, Taub. *Arq. Inst. biol.*, S. Paulo, 11: 461-488, 1940.
10. SCHEFFER, J. G.; CAMPELLO, A. P. & VOSS, D. O. — Efeitos farmacológicos da hidroxocobalamina. *Hospital*, Rio de Janeiro, 78(2): 391-397, 1970.
11. SOUZA, J. A. — 1967. Propriedades farmacodinâmicas e toxicológicas de Extratos Totais e de uma Fração Pura de *Holocaliz balansae*, Mich. Botucatu, Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu. (Tese).