

LEUCOGRAMA, ERITOGRAMA, HEMOGLOBINA, HEMATÓCRITO E TEMPO DE
COAGULAÇÃO APÓS O USO ORAL E INTRAPERITONEAL DE *Heterothalamus*
brunioides, EM RATOS WISTAR.

Ana Maria Chagas e Cloé Mendonça Saldanha

Núcleo de Pesquisa de Produtos Naturais. Centro de Ciências Naturais e Exatas. UFSM. Santa Maria, RS.

Carlos Mario Cunha

Departamento de Análises Clínicas do Hospital Veterinário. Centro de Ciências Rurais. UFSM. Santa Maria, RS.

Heleonora B. Vieira, Janice Sitya e Mario Kurtz Filho

Bolsistas Colaboradores e de Iniciação à Pesquisa. UFSM. Santa Maria, RS.

RESUMO

No presente trabalho pretendeu-se observar as possíveis alterações sanguíneas produzidas pela administração via oral (98mg/kg) e via intraperitoneal (40 mg/kg e 98 mg/kg) de *Heterothalamus brunioides* Less, durante intervalos de tempo, em ratos Wistar. A análise dos resultados revela que não houve alterações significativas nos parâmetros estudados.

SUMMARY

CHAGAS, A.M.; SALDANHA, C.M.; CUNHA, C.M.; VIEIRA, H.B. SITYA, J. and KURTZ FILHO, M. 1987. Leukocyte, Erythrocyte, Hemoglobin Concentration, Hemocrit and Bleeding Clotting Counter by Prolonged oral and intraperitoneal used of *Heterothalamus brunioides* in Wistar rats. *Ciência e Natura*, 9:67-75, 1987.

In the present work, authors wished to observe possible blood alterations produced by oral route (98 mg/kg weight) and intraperitoneal route (40 mg/kg and 98/kg weight) prolonged administrations of *Heterothalamus brunioides*, Less in Wistar rats. Results analysis proved that, in the studied parameters, was no significant alterations.

INTRODUÇÃO

Atualmente os acidentes por picada de serpentes são ainda um problema médico de considerável magnitude. Em 1975 SWAROOP e COLS (21), estimaram que 30.000 a 40.000 pessoas morriam anualmente, vítimas de envenenamento por serpentes peçonhentas.

Existem 2.500 espécies de serpentes no mundo, mas menos de 200 delas são venenosas para o homem (15).

Os venenos de serpentes são os mais complexos de todos os venenos conhecidos. Devido as diversas atividades biológicas de seus vários componentes, os venenos ofídicos produzem efeitos tóxicos e

letais no sangue e sistemas cardiovascular, nervoso e respiratório (14).

O *Heterothalamus brunioides* Less, vulgarmente denominado de "Alecrim do campo", que é entretanto, a nossa melhor "arnica da serra", usada como sucedâneo da "arnica da Europa", é um pequeno arbusto cespitoso, com caules lenhosos, despido na metade inferior e bastante ramificado e ornado de folhas estreitas e lineares na parte superior. Estas, ao serem trituradas depois de secas despreendem um cheiro agradável. (9), Figura 1.

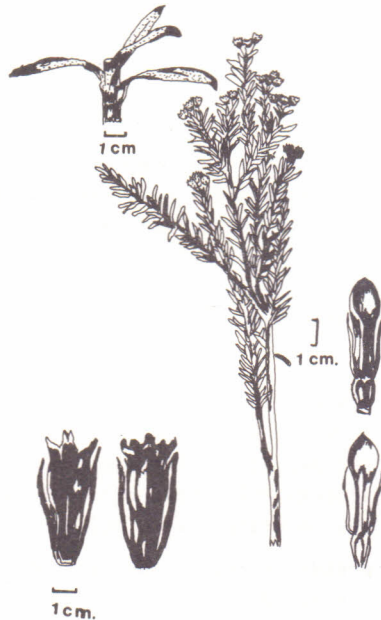


Figura 1 - *Heterothalamus brunioides* Less. "Alecrim do Campo" ou "Arnica da Serra".

O *Heterothalamus brunioides* Less é um arbusto nativo do Rio Grande do Sul; é utilizado popularmente na região sul como contra-veneno nos empeçonhamentos produzidos pelas serpentes *Bothrops*. Veneno este considerado por alguns autores (3, 13) como tendo "in vitro" ação anticoagulante.

Segundo ROSENFELD (17), o tipo de ação fisiopatológica do envenenamento pelo gênero *Bothrops* ocorre por uma ação proteolítica e uma ação coagulante. Esta ocorre pela coagulação do fibrinogênio que se deposita em microcoágulos, que se chocam entre si, e posteriormente se depositam a nível dos capilares pulmonares. Nesta fase, o sangue fica friável ou seja incoagulável devido a falta de fibrinogênio (7). A ação proteolítica ocorre por ação das hemorraginas

(proteolisinas), que agem causando inicialmente vasoconstrição arteriolar e posteriormente vasodilatação e hemorragia do leito capilar. Devido a esta vasodilatação os eritrócitos escapam entre as células endoteliais, logo a membrana basal fica rompida e permite o extravasamento de líquidos (14).

Pensando-se na possibilidade do *Heterothalamus brunioides* apresentar um efeito benéfico, como cita a Medicina popular, contra o veneno de serpentes, e como observamos acima ser o sistema sanguíneo o mais envolvido no quadro tóxico, os autores objetivam avaliar se o extrato aquoso do referido vegetal produz algum efeito no leucograma, eritograma, hematócrito, hemoglobina e no tempo de coagulação após o uso prolongado pela via oral ou intraperitoneal.

MATERIAL E MÉTODO

Preparo do Extrato: O *Heterothalamus brunioides*, foi coletado no município de Santaninha da Boa Vista e identificado segundo HOEHNE (9). Após coletado e seco ao ar, foi selecionado e triturado em liquidificador, o extrato obtido foi mantido a 4°C, como solução mãe.

Procedimento: As experiências foram realizadas em 180 ratos Wistar machos, com 90 dias de idade e peso médio de 165 gramas, mantidos no Biotério do Departamento de Fisiologia a uma temperatura de 24°C ± 2, com água e alimento a vontade. Os animais foram divididos em 15 grupos, conforme o protocolo experimental. Figura 2.

Apesar de CRESKOFF e COLS (5), não encontrarem diferenças significativas na contagem de leucócitos entre os sexos, utilizamos somente ratos machos. Foram utilizados animais de mesma raça e idade (TABELA I, II e III) uma vez que RINGLER e DABICH (16) comprovaram existir alterações significativas no total de leucócitos em relação a idade e raça.

Os experimentos foram divididos em duas etapas, sendo que na primeira utilizou-se a via oral e na segunda a via intraperitoneal para a administração do extrato de *Heterothalamus brunioides*.

Os grupos 1, 6 e 11 (com animais cada grupo) foram os controles e receberam somente água e alimento a vontade; deste, retirou-se amostras sanguíneas nos dias 0.

Os 40 animais que totalizaram os grupos 2, 3, 4 e 5 além de alimento receberam 98 mg/kg de extrato aquoso de *Heterothalamus brunioides* pela via oral e o ingeriam a vontade por 30, 60, 90 e 120 dias respectivamente e, nestes dias foram coletadas amostras sanguíneas.

Os 40 animais que totalizavam os grupos 7, 8, 9 e 10 receberam água e alimento a vontade e administração diária de *Heterothalamus brunioides* na concentração de 40 mg/kg pela via intraperitoneal

Heterothalamus brunioides na concentração utilizada, pela via oral em diferentes tempos não produz alterações significativas no leucograma, eritograma, hemoglobina, hematócrito e no tempo de coagulação.

TABELA I - VALORES MÉDIOS DO LEUCOGRAMA EM mm^3 , ERITOGAMA EM MILHÕES/ mm^3 , DA HEMOGLOBINA EM GRAMAS/dl DO HEMATÓCRITO EM PERCENTUAL E DO TEMPO DE COAGULAÇÃO EM SEGUNDOS DO SANGUE VENOSO DE RATOS ANTES E APÓS A ADMINISTRAÇÃO VIA ORAL DE *Heterothalamus brunioides* 98 mg/kg DURANTE 30, 60, 90 E 120 DIAS.

Parâmetros	água + alimento		E.A.Hb + alimento		90	120
	controle		30	60		
Leucograma	12460 \pm 320 (20)	12140 \pm 380 (40)	14470 \pm 520 (40)	12640 \pm 180 (40)	15280 \pm 790 (40)	
Eritograma	7,58 \pm 1,2 (20)	7,58 \pm 1,6 (40)	8,37 \pm 1,5 (40)	7,62 \pm 2,4 (40)	8,00 \pm 1,9 (40)	
Hemoglobina	16,9 \pm 2,9 (20)	15,9 \pm 2,9 (40)	17,2 \pm 2,1 (40)	17,6 \pm 1,8 (40)	17,8 \pm 1,2 (40)	
Hematócrito	40,0 \pm 1,2 (20)	43,2 \pm 2,7 (40)	41,8 \pm 2,4 (40)	42,6 \pm 1,5 (40)	41,8 \pm 1,7 (40)	
T. Coagulação	58,0 \pm 2,0 (20)	65,0 \pm 5,0 (40)	60,0 \pm 7,0 (40)	58,0 \pm 6,0 (40)	64,0 \pm 1,7 (40)	

E.A.Hb = Extrato aquoso de *Heterothalamus brunioides*.

() = Número de animais.

TABELA II - VALORES MÉDIOS DO LEUCOGRAMA EM mm^3 , ERITOGAMA EM MILHÕES/ mm^3 , DA HEMOGLOBINA EM GRAMAS/dl DO HEMATÓCRITO EM PERCENTUAL E DO TEMPO DE COAGULAÇÃO EM SEGUNDOS DO SANGUE VENOSO DE RATOS ANTES E APÓS A ADMINISTRAÇÃO VIA INTRAPERITONIAL DE *Heterothalamus brunioides* 98 mg/kg DURANTE 5, 10, 20 E 40 DIAS.

Parâmetros	água + alimento		E.A.Hb + alimento		20	40
	controle		5	10		
Leucograma (40)	12460 \pm 320	14890 \pm 530	11760 \pm 530	12680 \pm 410	15278 \pm 720	
Eritograma (40)	7,58 \pm 1,20	7,90 \pm 2,20	7,00 \pm 2,47	8,40 \pm 2,60	7,32 \pm 1,80	
Hemoglobina (40)	16,8 \pm 1,80	15,8 \pm 2,90	17,3 \pm 2,70	16,6 \pm 2,50	17,2 \pm 3,20	
Hematócrito (40)	40,0 \pm 1,20	41,9 \pm 2,10	40,9 \pm 1,20	42,8 \pm 2,10	43,8 \pm 2,70	
T. Coagulação (40)	58,0 \pm 2,0	52,0 \pm 4,0	55,0 \pm 2,0	64,0 \pm 6,0	57,0 \pm 3,0	

E.A.Hb = Extrato aquoso de *Heterothalamus brunioides*.

() = Número de animais.

0 *Heterothalamus brunioides* quando administrado pela via intraperitoneal nas duas concentrações estudadas em diferentes tempos

não apresenta alterações significativas em nenhum dos parâmetros estudados.

TABELA III - VALORES MÉDIOS DO LEUCOGRAMA EM mm^3 , ERITOGRAMA EM MILHÕES/ mm^3 , DA HEMOGLOBINA EM GRAMAS/dl DO HEMATÓCRITO EM PERCENTUAL DO TEMPO DE COAGULAÇÃO EM SEGUNDOS DO SANGUE VENOSO DE RATOS ANTES E APÓS A ADMINISTRAÇÃO INTRAPERITONIAL DIÁRIA DE *Heterothalamus brunioides* 40 mg/kg DURANTE 5, 10, 20 E 40 DIAS.

Parâmetros	água + alimento controle	E. A. Hb + alimento			
		5	10	20	40
Leucograma (40)	12460 \pm 320	14970 \pm 660	13870 \pm 320	12270 \pm 490	13670 \pm 280
Eritrócitos (40)	7,58 \pm 1,20	7,00 \pm 2,80	8,37 \pm 2,80	7,50 \pm 2,90	7,07 \pm 2,60
Hemoglobina (40)	16,8 \pm 1,80	17,1 \pm 3,20	16,0 \pm 2,10	16,5 \pm 3,70	16,9 \pm 1,20
Hematócrito (40)	40,0 \pm 1,20	42,7 \pm 2,20	43,8 \pm 1,80	44,0 \pm 2,80	41,8 \pm 1,70
T. Coagulação (40)	67,0 \pm 3,0	62,0 \pm 4,0	58,0 \pm 5,0	64,0 \pm 7,0	60,0 \pm 9,0

E. A. Hb = Extrato aquoso de *Heterothalamus brunioides*.

() = Número de animais.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Comparando as alterações dos leucócitos nos animais que receberam o *Heterothalamus brunioides* pela via oral ou intraperitoneal com os controles que receberam somente água e alimento, observou-se não serem as mesmas significativas, pois as variações existentes permaneceram entre valores fisiológicos aceitos por SCHLAM e COLS (18).

O eritograma em todos os animais não apresentou alterações significativas, isto mostra que o *Heterothalamus brunioides* não altera a série vermelha quando administrado pela via oral ou intraperitoneal. As variações existentes permanecem dentro dos parâmetros fisiológicos encontrados por outros autores (5, 11, 12, 23). Tabela I, II e III.

A concentração da hemoglobina dos animais que receberam o *Heterothalamus brunioides* pela via oral ou intraperitoneal em comparação com os controles não mostraram alterações significativas. Segundo SCHERMAN (19) a concentração de hemoglobina em ratos pode variar de 11,4 a 19,2 g/dl dados estes confirmados por outros autores (2, 8, 19, 22, 24) e alterações semelhantes ocorreram em nossos achados, conforme Tabelas I, II e III.

O hematócrito também não apresentou alterações significativas com os tratamentos efetuados e assim, como no homem o hematócrito

é aproximadamente três vezes o valor da hemoglobina que varia de 40,5% a 53,9% (16), Tabelas I, II e III.

O tempo de coagulação foi efetuado pelo teste de MILIAN-GREENBERG citado por FISHER (6), tomando todos os cuidados especificados por AZZOLIN e COLS (1); os animais tratados não apresentaram alterações em relação ao controle. De acordo com CRESKOFF e COLS (5) o tempo de coagulação é de aproximadamente 2 minutos. Tabelas I, II e III.

Analisando todos os resultados obtidos no presente trabalho, pode-se concluir que não houve alteração significativa para nenhum parâmetro proposto.

Talvez o efeito benéfico ocorra nos animais intoxicados, mas em animais normais os parâmetros sanguíneo não se alteram. A realização deste trabalho se prende ao fato de que a administração consecutiva e diária poderia alterar outros parâmetros e causar problemas posteriores.

AGRADECIMENTOS

À Prof.^a Maria Lacy Weis, do Departamento de Biologia da UFSM, pela revisão completa do texto, sugestões e modificações apresentadas.

BIBLIOGRAFIA CITADA

1. AZZOLIN, E.L.C., SIMÕES, S.R.M. and CHAGAS, A.M. - Métodos de Avaliação do Tempo de Coagulação Sanguínea em Ratos Wistar. *2^a Jornada de Clínica Médica de Santa Maria, RS*, 1986.
2. BAUMGARTNER, R. and LABER, G. - Haematologische untersuchungen biratten mit experimenteller myhoplasma polyarthritits. *Zentralberl Babesial parastenk infektionshr. Hyg Abt I Reihe A*, 232: 105-12, 1975.
3. BRASIL, O.V. FRANCESCHI, J.P. and WAISBICH, E. - Pharmacology of crystalline crotoxim I. toxicity. *Men Inst Butantan Simp Intermae*, 33:973-980, 1966.
4. CHAGAS, A.M. SALDANHA, C. and OLIVEIRA, P.R. - Leucometria, Eritrometria e os Teores Plasmáticos de Sódio, de Potássio e de Cálcio, Após o uso prolongado de *Ramaria flavo brunnescens* em Ratos. *Rev. Centro Ciências Rurais*, 10(4), 299-306, 1980.
5. CRESKOFF, A.J., FRITZ-HUGH, T. JR and FARRIS, E.J. - Hematology of the Rat and Standards in "*The Rat in laboratory investigation*" (E.J. FARRIS and J.Q. GRIFFITHS, eds) pp. 406-420, *1^o pincott*. Philadelphia, Pennsylvania, 1949.
6. FISHER, A. - *Laboratório de Análises Clínicas*, 6^a ed, Buenos Aires, Editora El Ateneo, 1954, 246 p.
7. FONTANA, F. - *Traité sur le Vénin de la Vipere sur les Poisons Americains sur le Lausier Gerise et sur Quelques outres Poisons*

- Vegetalauz*. Vol I and III Firinze, 1781.
8. HEBOLD, V.G. and BLEUEL, H. - Hämatologische standard werte bei der weiblichen und männlichen ratte (Sprague Dawley). *Z. Versuchstierkd*, 13: 316-320, 1971.
 9. HOEHNE, F.C. - *Plantas e substâncias vegetais tóxicas e medicinais*. São Paulo, graphcars, 1939, 352 p.
 10. HULSE, E.V. - Quantitative cell counts of the bone marrow and blood their secular variations in the normal adult rat. *Acta Haematol*. 31:50-63, 1964.
 11. JONES, R.A., JENKINS, L.J. JR., COON, R.A. and SIEGEL, J. - Effect of long-term continuous inhalation of ozone on experimental animals. *Toxicol appe Pharmacol*, 17: 189-202, 1970.
 12. KOSMA, C.K., WEISBROTH, S.H., STRATMAN, S.L. and CONEJEROS, M. - Normal Biologic valus for long. *Evans rats Lab anim. Care*, 19: 746-55, 1969.
 13. LACERDA, F. - *Arq Museu Nac. Rio de Janeiro*. Ed. Guanabara, 1978, 202 p.
 14. OHSAKA, A. - *Hemorrhagic Necrotizing and Edema: Forming effects of Snake Venouns*. Chapter 14, Washington Mac Graw Hill, 1975, 503 p.
 15. POLLARD, C.B. - *Venon Research Ghallenge to Various Sciences in Venouns*. ed. by E.E. Buchey and N, porges publication 44. *Am Assoc. Advancement of Science*, Washington, D.C. 1956, 5-8 p.
 16. RINGLER, D.H. and DABICH, L. - Hematologic and clinical, Biochemistray. *The Laboratory Rat*, 1:105-121, 1979.
 17. ROSENFELD, G. - Symptomalogy, Pathology and Tratament of snake bites in South Amērica. In venouns animals and their venouns. Vol II, New York academic pres. 1971, Biochemistray. *The Laboratory Rat*, 105-121, 1979.
 18. SCHALM, O.W., JAIN, N.C. and CARROLL, E.J. - *Veterinary Hematology*. 3rd ed Lia and Fihger, Philadelphia, Pennsylvania, 1975, 278p.
 19. SCHERMAN, H. - Comparative Profilis of Various Strains of Rats Used in long-term juding Studies. *Lab anim. Care*, 13:793-807, 1963.
 20. SNEDECOR, G.W. and COCHRAN, V.G. - Two or more randon samples of measurement data. Analysis of variance in: *Statistical Univer syte Press*, 1956. cap 10, p. 246-247.
 21. SWAROOP, A., GRAB, M. and OHSAKA, A. - Hemorrhagic Necrotizing and Edema-Forming Effects of Snake Venouns. Chapter 14. Washington Mac Graw Hill, 1975, 503 p.
 22. VONDRUSKA, J.F. and GRECO, R.A. - Certain hematologic and blood chemical values em charles river C D Albino Rats. *Bull, Am Soc. Vet. Clin. Pathol*, 2:3-7, 1973.
 23. WALKER, A.I.I., STEVENSON, D.E., ROBINSON, J.; THORPE, E. and

-
- ROBERTS, M. - The toxicity and pharmacodynamics of dieldrin (Hedd), *Toxicol. appl. Pharmacol.*, 15:345-373, 1969.
24. WORDEN, A., NOEL, P.R.B., MAWDESLEY, T.L.E., PALMER, A.K. and FLETCHER, M.A. - Teading studies on lenacil in the rat and dog. *Toxicol. appl. Pharmacol.* 27:215-224, 1974.

Recebido em abril, 1987; aceito em dezembro, 1987.

