

LEUCOMETRIA, ERITROMETRIA E OS TEORES PLASMÁTICOS DE SÓDIO, DE POTÁSSIO E DE CÁLCIO APÓS O USO PROLONGADO DE *Ramaria flavo-brunnescens* EM RATOS*

Leukocyte and Erythrocyte Counter and Plasmatic Sodium, Potassium and Calcium by Prolonged Used of *Ramaria flavo-brunnescens* in Rats

Ana Maria Chagas**, Cloé Mendonça Saldanha*** e Paulo Roberto Oliveira**

RESUMO

No presente trabalho pretendê-se observar as alterações sanguíneas produzidas em ratos Wistar, após a administração prolongada pela via intraperitoneal de *Ramaria flavo-brunnescens* (Rf-b) (0,07g/ml) em três diferentes extratos.

Observou-se uma eritropenia moderada e nas dosagens plasmáticas verificou-se uma hiperpotassemia devido o fungo ser rico em potássio. Conclui-se, assim, que os animais morrem quando intoxicados, por alteração de seu equilíbrio hidroeletrólítico.

SUMMARY

In this work, blood alteration provoked in Wistar rats after prolonged administrations by peritoneal route of *Ramaria flavo-brunnescens* (0,07 g/ml) on three aqueous extract.

It was observed moderate erythropenia and, in the plasmatic dosages, it was observed hyperpotassemia because this fungus is rich in potassium. It was concluded that the animal die when intoxicated by this fungus by alterations in their hydroelectrolytic equilibrium.

INTRODUÇÃO

Na região sul de São Paulo e no Rio Grande do Sul existe um fungo denominado *Ramaria flavo-brunnescens*, que prolifera em solo, sob

*Resumo apresentado na 31ª Reunião da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência. Fortaleza, Ceará, Julho de 1979.

** Professor Assistente do Departamento de Fisiologia da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

*** Professor Adjunto do Departamento de Fisiologia da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

bosques de eucalipto (4).

PRUCOLI & CAMARGO (8) em 1966 testaram o fungo *Ramaria flavo-brunnescens* em ovinos. Embora não mencionem a quantidade ingerida, observaram que os sintomas como diarreia e prostração, aparecem aos 10 dias e a morte aos 30 dias.

BAUER et alii (1) administraram, em um bezerro, 250 gramas de *Ramaria flavo-brunnescens* por via oral, observando que o animal apresentava sintomas como prostração, diarreia e salivação abundante até 7 dias. Logo após administraram novamente o fungo e os sintomas agravaram-se até a morte no 27º dia.

Em 1970 FIDALGO & FIDALGO (5), estudando o fungo *Ramaria flavo-brunnescens*, observaram que o mesmo contém um alcalóide tóxico e que esse poderia ser o responsável pela intoxicação. Verificaram também, que o referido fungo determina, nos ruminantes, uma intoxicação caracterizada por queda de pelos das extremidades dos membros anteriores e posteriores e cauda, hipo e hipertermia, prostração e, como consequência desta intoxicação, a morte.

SANTOS et alii (9), estudando 10 bovinos intoxicados com o fungo *Ramaria flavo-brunnescens*, estabeleceram como dose mínima mortal a ingestão de 5 g/kg durante 18 dias. Observaram também que uma dose excessivamente alta pode levar à morte. Os mesmos autores neste trabalho observaram que a sintomatologia clínica foi sialorréia, emagrecimento, diarreia, queda de pelos nas extremidades da cauda, atrofia das papilas linguais, amolecimento dos cascos e chifres, hemorragias na câmara anterior do olho e cegueira.

CHAGAS et alii (2) estudando o mecanismo de ação do fungo *Ramaria flavo-brunnescens* observaram que no caso de intoxicação de animais a administração de atropina era rotina, mas demonstraram ser esse fármaco responsável somente por um aumento das autodefesas, por que impede a diarreia e sialorréia, mas que não é um medicamento que agiria como antídoto.

Observando os sinais e sintomas dos animais intoxicados por esse cogumelo, os autores resolveram estudá-los quanto as suas alterações nos leucócitos, eritrócitos e equilíbrio hidroeletrólítico.

MATERIAIS E MÉTODOS

Preparo dos extratos - O fungo *Ramaria flavo-brunnescens* foi coletado em solo sob bosques de eucaliptos no município de Santa Maria, RS e identificado por comparação com descrição de FIDALGO & FIDALGO (5). Logo após coletado, 360 gramas do fungo foram totalmente triturados em liquidificador com 60 ml de água destilada, formando uma solução mãe, contendo 1,2 g/ml. A partir desta solução preparou-se três diferentes extratos aquosos contendo todos 0,07 g/ml; o

primeiro a mesma solução, o segundo fervido durante 10 minutos e o terceiro a solução associada à carvão ativado e filtrado em algodão de vidro. A dose escolhida foi baseada em dados extrapolados para ratos segundo MAGALHÃES et alii (6).

Procedimento - As experiências foram realizadas em 120 ratos machos da raça Wistar com 90 dias de idade e peso médio de 130 gramas, mantidos no biotério do Departamento de Fisiologia a uma temperatura de 24°C, com água e alimento a vontade. Os animais foram divididos em 12 grupos com 10 ratos em cada grupo.

O experimento foi dividido em duas etapas:

a) Em 4 dos 12 grupos de animais, antes da administração dos extratos aquosos, foram feitas coletas de sangue para contagem de leucócitos e eritrócitos. Após 30 dias de administração intraperitoneal dos extratos e de água destilada (grupo controle), efetuou-se a contagem de leucócitos e eritrócitos. Para tanto, anestesiou-se os animais com éter sulfúrico e efetuou-se um pequeno corte na cauda, retirando-se gotas de sangue.

b) Nos 12 grupos de animais (120 ratos), antes, após 10 e 30 dias de administração dos três tratamentos e da água destilada respectivamente, foram coletados 4 ml de sangue dos animais anestesiados com éter sulfúrico, para execução de dosagens de sódio, potássio e de cálcio. Após os animais foram sacrificados, devido a retirada de sangue da artéria renal. As dosagens dos eletrólitos foram efetuadas no espectrofotômetro Zeiss segundo a técnica de WEST et alii apud OHLWEILER (7), as contagens de leucócitos e eritrócitos foram feitas através da câmara de Neubauer segundo a técnica de Neubauer de acordo com THOMA et alii (12).

Para avaliar as alterações produzidas nos diversos casos utilizou-se o teste "T" de Student segundo as especificações de SNEDECOR & COCHRAN (11).

RESULTADOS

Na Tabela 1 verifica-se que não houve alterações significantes para os leucócitos em nenhum dos grupos e que para os eritrócitos, tanto no grupo que recebeu RFb como grupo que recebeu RFbf houve uma diminuição de 1.360.000 eritrócitos por mm^3 de sangue (Tabela 2). Nesta mesma tabela observou-se que o grupo de água destilada (controle) e os que receberam RFb não sofreram alteração significantes.

Nos animais com a administração de água destilada as alterações foram mínimas e não significantes (Tabela 3).

A respeito das alterações de eletrólitos apresentadas pela admi

Tabela 1. Valores médios em mm^3 de leucócitos de ratos Wistar anestesiados com éter sulfúrico antes e após 30 dias de administração diária intraperitoneal de água destilada (AD), extrato aquoso do fungo *Ramaria flavo-brunnescens* (Rfb), extrato aquoso do mesmo fungo fervido durante 10 minutos (Rfbf) e extrato aquoso associado à carvão ativado e filtrado com algodão de vidro (Rfbca).

LEUCÓCITOS							
Antes				30 Dias			
AD	Rfb	Rfbf	Rfbca	AD	Rfb	Rfbf	Rfbca
12,460	13,155	13,020	11,980	12,860	12,678	12,980	10,980
± 370	± 230	± 570	± 520	± 270	± 270	± 470	± 424

Tabela 2. Valores médios em mm^3 de eritrócitos de ratos Wistar anestesiados com éter antes e após 30 dias de administração diária intraperitoneal de água destilada (AD), extrato aquoso do fungo *Ramaria flavo-brunnescens* (Rfb), extrato aquoso do fungo fervido 10 minutos (Rfbf) e associado a carvão ativado e filtrado com algodão de vidro (Rfbca).

ERITRÓCITOS							
Antes				30 Dias			
AD	Rfb	Rfbf	Rfbca	AD	Rfb	Rfbf	Rfbca
5.010.000	5.260.000	5.030.000	4.570.000	4.876.000	3.900.000*	3.670.000*	4.430.000
± 160	± 220	± 213	± 384	± 270	± 270	± 213	± 265

* Significante $P \leq 0,05$.

Tabela 3. Valores médio em mEq/l de sódio, de potássio e de cálcio do plasma de ratos Wistar, anestesiados com éter sulfúrico antes, após 10 dias e 30 dias de administração intraperitoneal de água destilada.

ÁGUA DESTILADA								
Antes			10 Dias			30 Dias		
Na ⁺	K ⁺	Ca ⁺⁺	Na ⁺	K ⁺	Ca ⁺⁺	Na ⁺	K ⁺	Ca ⁺⁺
135,1	6,1	3,9	131,0	6,7	3,6	140,7	6,2	4,1
± 3,1	± 0,2	± 0,4	± 5,8	± 0,3	± 0,3	± 4,6	± 0,2	± 0,7

nistração RFB aos 10 e 30 dias, observou-se um aumento de potássio. Aos 10 dias de administração ocorreu um aumento de 7 mEq/l de potássio e aos 30 dias um aumento de 9,4 mEq/l do mesmo, sendo que todas estas alterações foram estatisticamente significantes (Tabela 4).

Em relação aos animais que receberam RFBf 10 minutos, observou-se aumento de sódio, potássio e cálcio aos 10 e 30 dias. Estas alterações de sódio e potássio foram significantes aos 10 de 14,8 mEq/l e 2,7 mEq/l respectivamente e aos 30 dias 60,9 mEq/l de sódio e 10,2 mEq/l de potássio (Tabela 5). Em relação ao cálcio deste mesmo grupo de animais houve aumento de 0,9 mEq/l mas esta alteração não foi significante.

Tabela 4. Valores médios em mEq/l de sódio, de potássio e de cálcio do plasma de ratos Wistar, anestesiados com éter sulfúrico antes, após 10 dias e 30 dias de administração intraperitoneal de extrato aquoso do fungo *Ramaria flavo-brunnescens*.

FUNGO <i>Ramaria flavo-brunnescens</i>								
Antes			10 Dias			30 Dias		
Na ⁺	K ⁺	Ca ⁺⁺	Na ⁺⁺	K ⁺	Ca ⁺⁺	Na ⁺	K ⁺	Ca ⁺⁺
131,0	6,7	3,6	148,7	13,7*	3,7	148,8	16,1**	3,8
± 5,8	± 0,3	± 0,4	± 4,8	± 0,9	± 0,8	± 4,8	± 3,7	± 0,9

* Significante $P \leq 0,05$ (antes e 10 dias)

** Significante $P \leq 0,05$ (antes e 30 dias)

Tabela 5. Valores médios em mEq/l de sódio, de potássio e de cálcio do plasma de ratos Wistar anestesiados com éter sulfúrico, antes, após 10 dias e 20 dias de administração intraperitoneal do extrato aquoso do fungo *Ramaria flavo-brunnescens* fervido durante 10 minutos.

FUNGO <i>Ramaria flavo-brunnescens</i> FERVIDO								
Antes			10 Dias			30 Dias		
Na ⁺	K ⁺	Ca ⁺⁺	Na ⁺	K ⁺	Ca ⁺⁺	Na ⁺	K ⁺	Ca ⁺⁺
137,1	6,0	3,7	151,9*	8,7*	3,9	198,0**	16,2**	4,6
± 6,9	± 0,4	± 0,3	± 10,0	± 2,1	± 0,5	± 12,0	± 2,8	± 0,9

* Significante $P \leq 0,05$ (antes e 10 dias)

** Significante $P \leq 0,05$ (10 dias e 30 dias)

Na Tabela 6 observa-se alterações não significantes para todos os eletrólitos. Executando-se dosagens dos três diferentes elementos no extrato aquoso do fungo estudado observou-se valores elevados sendo altamente significativa para o potássio (Tabela 7).

Tabela 6. Valores médio em mEq/l de sódio, de potássio e de cálcio do plasma de ratos Wistar, anestesiados com éter sulfúrico antes, após 10 dias e 30 dias de administração intraperitoneal do extrato aquoso do fungo *Ramaria flavo-brunneescens* associado a carvão ativado e filtrado com algodão de vidro.

FUNGO <i>Ramaria flavo-brunneescens</i> ASSOCIADO A CARVÃO ATIVADO								
Antes			10 Dias			30 Dias		
Na ⁺	K ⁺	Ca ⁺⁺	Na ⁺	K ⁺	Ca ⁺⁺	Na ⁺	K ⁺	Ca ⁺⁺
138,9	6,0	3,70	136,1	6,2	4,2	133,1	6,9	4,3
± 5,7	± 0,8	± 0,3	± 4,1	± 0,8	± 0,4	± 5,1	± 0,6	± 0,3

Tabela 7. Valores médios em mEq/l de sódio, de potássio e de cálcio do extrato aquoso do fungo *Ramaria flavo-brunneescens* como foi utilizado na presente pesquisa.

EXTRATO AQUOSO DO FUNGO <i>Ramaria flavo-brunneescens</i>		
Na ⁺	K ⁺	Ca ⁺⁺
62,30	142,0	16,80

DISCUSSÃO

Verificando-se as alterações dos leucócitos nos animais que receberam os três diferentes extratos e dos animais que receberam água destilada, observou-se não serem significantes e que as variações existentes permaneceram entre os valores fisiológicos segundo SCHALM et alii (10). Com relação as modificações da série vermelha para os animais tratados com RFb e o RFbf observou-se um decréscimo de 1.360.000 eritrócitos por mm³ de sangue, o que sugere a hipótese de uma estimulação de suas autodefesas frente a um agente agressor, devido a hemorragias e stress periódicos. Estes dados são semelhan

tes aos encontrados em trabalhos anteriores de CHAGAS et alii (3), em 1978.

Analisando-se a Tabela 4 observa-se que houve uma hiperpotassemia aos 10 dias de administração do extrato em estudo, e que esta aumentou aos 30 dias de administração do mesmo. Essa hipercalemia talvez possa ser explicada pela quantidade excessiva de potássio no fungo injetado (Tabela 7).

Através da observação clínica dos animais em estudo verificam-se sintomas e sinais evidentes como pêlo eriçado, emagrecimento, diarréia, aderências peritonias, característicos de uma intoxicação pelo potássio.

Em relação ao grupo que recebeu RFbf ocorreu um aumento, tanto de sódio como de potássio e isso pode ser explicado pela maior concentração dos eletrólitos pela evaporação da água, discordando assim de FIDALGO & FIDALGO (5) que afirmam ser este fungo termolábil.

Tanto os resultados obtidos nos grupos de animais controle como os que receberam RFbc não apresentaram alterações. Estes resultados podem ser explicados, pois, como se sabe, o carvão ativado tem a propriedade de fixar os elementos químicos, retirando, assim, do líquido que foi injetado, os eletrólitos responsáveis pela intoxicação.

CONCLUSÃO

O fungo *Ramaria flavo-brunnescens*, não produz alterações leucogramas, mas provoca uma eritopenia moderada, e uma hiperpotassemia em todos os animais que o recebeu.

LITERATURA CITADA

1. BAUER, A.C.; LARANJA, R.J.; SANTOS, A.G. - Sobre a etiologia do chamado "Mal do Eucalipto". *Arqs. Inst. Pes. Vet. Desiderio Finamor.*, 3:85-90, 1966.
2. CHAGAS, A.M.; PIRES, E.T.; MAGALHÃES, H. - Atividade da *Atropina* como provável bloqueadora do extrato aquoso do fungo *Ramaria flavo-brunnescens* na musculatura lisa. *Rev. Centro Ciências Rurais*, 8(3):211-216, 1978.
3. CHAGAS, A.M.; SILVA, S.A.; OLIVEIRA, R.; PEREIRA, A.R. - Alterações na Leucometria, Eritrometria e na fórmula diferencial absoluta produzida pelo uso prolongado de *Dipirona* (Novalgina) em ratos. *Rev. Gaúcha de Odontol.*, 27(3):188-190; 1979.

4. CORNER, E.J.T. - Species of *Ramaria* (clavariaceas) without clamps. *Br. Mycol. Dod.*, 49(1):101-113, 1966.
5. FIDALGO, O. & FIDALGO, M.E.P.K. - A poisonous *Ramaria* from southern Brasil. *Rickia*, 5:71-91, 1970.
6. MAGALHÃES, H.M.; BOELTER, R.; TRINDADE, D.B. - DL₅₀ do extra to aquoso do fungo *Ramaria flavo-brunnescens* para camundongos. *Rev. Centro Ciências Rurais*, 5(2):131-134, 1975.
7. OHLWEILER, O.A. - Teoria e Prática da Análise Quantitativa Inorgânica. Brasília, Universidade de Brasília, 1969, 1113p.
8. PRUCOLI, O.J. & CAMARGO, W.V.A. - Intoxicação experimental em ovinos com clavaria. *Scm. Ind. Animal.*, 23:177-178, 1965/66. (Nota Prévia).
9. SANTOS, M.N.; BARROS, S.S.; BARROS, C.S.L. - Intoxicação em bovinos pelo cogumelo *Ramaria flavo-brunnescens*. *Pesq. Agropec. Bras.*, 10:105-109, 1975.
10. SCHALM, O.W.; JAINS, N.C.; CARROL, E.J. - *Veterinary Hematology*. Philadelphia, Leg e Febiger, 1975. 136p.
11. SNEDECOR, C.W. & COCHRAN, W.C. - Two or more random samples of measurement data. Analyses of variance. In: Statistical Methods. 5th ed. Amér.Iowa, State University press, 1956. p.246-247.
12. THOMA, K.H.; GOLDMAN, H.; TREVOR, F. - *Estomalogia Pruebas de Laboratorio*. 2 ed. Barcelona, Salvat Editores S.A., 1953. 621p.