

Rita de Cássia Collicchio Zuanaze

Perfil hematológico, bioquímico, histopatológico e toxicológico de gatos induzidos experimentalmente com monofluoroacetato de sódio

Tese de Doutorado apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista - UNESP, Campus de Botucatu, como requisito para a obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária, Área de Clínica Veterinária.

Orientadora: Profa. Ass. Dra. Michiko Sakate

Botucatu – SP
2006

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas

Lista de tabelas

Lista de figuras

Resumo

Abstract

1. Introdução.....	01
2. Objetivos	
2.1. Objetivos gerais.....	04
2.2. Objetivos específicos.....	04
3. Revisão de Literatura.....	05
4. Material e métodos	
4.1. Animais e ambiente de experimentação.....	19
4.2. Procedimentos.....	19
4.2.1. Determinação da DL50 oral do FAS para experimentação.....	20
4.2.2. Avaliação dos animais e manipulação experimental.....	20
4.3. Delineamento experimental.....	21
4.3.1. Hemograma e contagem de plaquetas.....	21
4.3.2. Bioquímica sérica.....	22
4.3.3. Exame necroscópico	23
a) Macroscopia e colheita de material.....	23
b) Processamento histopatológico.....	23
4.3.4. Análise toxicológica.....	24
a) Local.....	24
b) Considerações sobre o método utilizado.....	24
c) Material utilizado e condições cromatográficas.....	28
d) Cálculos das concentrações do FAS.....	32
4.4. Análise estatística.....	33
5. Resultados	
5.0. Sinais clínicos dos animais como modelo experimental.....	34
5.1. Hemograma e contagem de plaquetas.....	35
5.1.1. Eritrograma.....	35

5.1.2. Leucograma.....	39
5.1.3. Contagem de plaquetas.....	48
5.2. Bioquímica sérica.....	50
5.3. Necroscopia.....	65
5.3.1. Descrição das alterações macroscópicas.....	65
5.3.2. Descrição das alterações microscópicas.....	74
5.4. Análises toxicológicas.....	87
5.4.1. Avaliação toxicológica dos animais induzidos experimentalmente.....	87
5.4.2. Recuperação do MFAS e sua porcentagem residual no sangue.....	90
6. Discussão.....	99
6.0. Hemograma e contagem de plaquetas.....	99
6.1. Bioquímica sérica.....	102
6.2. Necroscopia.....	106
6.3. Análise toxicológica.....	110
7. Conclusões.....	114
8. Referências bibliográficas.....	116
Apêndice tabelas.....	128
Apêndice figuras.....	157
Anexos documentos.....	168

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO
DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
Bibliotecária responsável: Selma Maria de Jesus

Collicchio Zuanaze, Rita de Cássia.

Perfil hematológico, bioquímico, histopatológico e toxicológico de gatos induzidos experimentalmente com monofluoroacetato de sódio / Rita de Cássia Collicchio Zuanaze. – 2006.

Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2006.

Orientadora: Michiko Sakate

Assunto CAPES: 50501089

1. Animais - Intoxicação - Estudos Experimentais 2. Toxicologia veterinária 3. Compostos organofluorados - Toxicologia

CDD 636.08959

Palavras-chave: Bioquímica sérica; Cromatografia; Gatos; Hematologia; Histopatologia; Monofluoroacetato de sódio

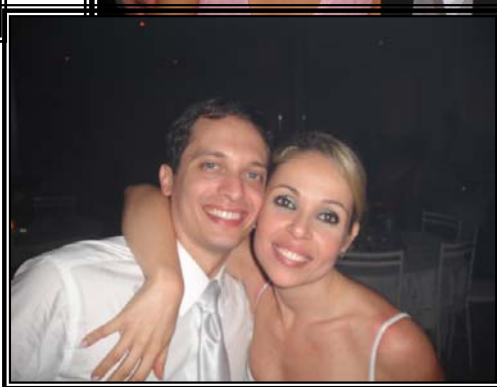
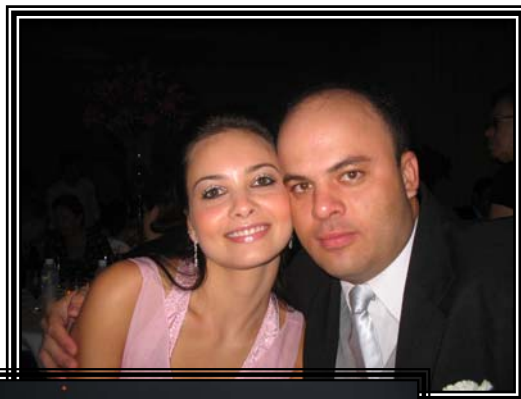
*A Deus, nosso Criador,
obrigada pelo dom da vida!*

*Ao meu amado esposo Marcelo pelo apoio,
incentivo e por ser o meu porto seguro... A você,
meu amor e admiração!*



*A minha linda filha Ana Beatriz! Você veio
para alegrar ainda mais os nossos dias... A
você, meu amor, minha vida!*

*À minha amada família! Obrigada por ter o amor,
apoio e incentivo de vocês!*



*Aos meus queridos tios Roberto e Auxiliadora Gabarra.
Obrigada pela acolhida e incentivo de todas as horas!
A vocês, minha admiração e respeito!*



O Aprendizado...

Cada animal utilizado neste experimento teve a sua importância e deixou algo de especial.

As descobertas foram inúmeras... Quanta graciosidade!

Gatos... Que animais espertos, de “personalidade”.

Estão sempre atentos a tudo e a todos. Brincadeiras a parte, eles estão sempre prontos para uma soneca (ou melhor, sono profundo...). Mas sempre atentos!

Quem já teve a oportunidade de conviver com tão interessantes animaizinhos, pode dizer com todas as letras: ELES SÃO MESMO ESPECIAIS!

Alguns preferem passar despercebidos, mas basta uma boa convivência e confiança mútua, para que mudem de idéia e exijam sua atenção!

Mesmo com características tão peculiares, os gatos também “sabem amar” e nos proporcionam momentos de carinho e atenção.

A vocês, gatos que fizeram parte deste trabalho e que proporcionaram tantas alegrias e descobertas incríveis nessa nossa convivência tão especial, o meu muito obrigada!

Collicchio, 2002.

*“Todos têm o direito de sonhar
e cada um o de ser dono de seu sonho”
O gato sou eu – Fernando Sabino*

AGRADECIMENTOS

À minha querida orientadora, Profa. Ass. Dra. Michiko Sakate pelos ensinamentos e orientações tão importantes para a realização e conclusão deste trabalho. Obrigada por esta convivência tão especial!



Ao Prof. Dr. Manoel Lima de Menezes, do Instituto de Química da Unesp, Bauru-SP, pelos importantes ensinamentos, disponibilidade e paciência durante as análises toxicológicas. Obrigada também pela amizade e esforço nas incansáveis viagens Bauru-Botucatu.

À grande amiga, Profa. Dra. Márcia Aparecida Zeferino, docente da USC Bauru-SP, pela dedicação e realização das análises toxicológicas utilizadas no presente estudo. Parte deste trabalho só foi possível com as grandes descobertas em sua tese de doutoramento!



Ao Instituto do Trabalhador de Bauru-SP em parceria com o Instituto de Química da Faculdade de Ciências da Unesp Bauru-SP, por cederem o espaço físico e equipamentos para a realização das análises toxicológicas utilizadas no presente estudo.

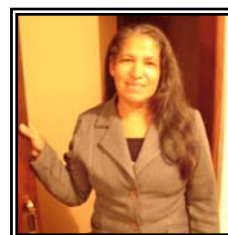
Ao Centro de Assistência Toxicológica (Ceatox) do Instituto de Biociências da Unesp, Botucatu-SP, em especial a Amaury Mercadante pela ajuda e apoio durante a fase inicial de testes pilotos para a realização das análises toxicológicas.



À Seção de Pós-graduação da FMVZ-UNESP, Botucatu, em especial os funcionários Denise Fioravanti Garcia, Maria Aparecida de Almeida Manoel e Maria Regina Forlin pela atenção dispensada neste período.



Às funcionárias da Biblioteca do Campus da Unesp, Botucatu, em especial a Marlene Seraphim do Setor de Comutação, Luciana Pizzani, pelo valioso auxílio nas referências bibliográficas, e Selma Maria de Jesus, responsável pela ficha catalográfica deste estudo.



Ao Laboratório de Análises Clínicas do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina Unesp, Botucatu, em especial à Salete, pela disponibilidade e atenção especial durante a realização das análises bioquímicas.

Ao Laboratório Clínico do Departamento de Clínica Veterinária da FMVZ-UNESP, Botucatu, em especial à Profa. Dra. Regina Kiomi Takahira e à residente Luciana Langrafe e demais residentes pela amizade, e principalmente pelo auxílio laboratorial e realização das análises hematológicas.



Ao Serviço de Patologia da FMVZ-UNESP, Botucatu, em especial ao colega e doutorando Caio Burini, pela realização das necropsias nos animais que vieram a óbito neste estudo, pela análise das lâminas e preparo do material fotográfico da histopatologia apresentada neste trabalho.

A Capes pela concessão da bolsa durante o período deste doutorado e realização do presente estudo.

À Fundunesp pelo auxílio financeiro para a realização deste trabalho.

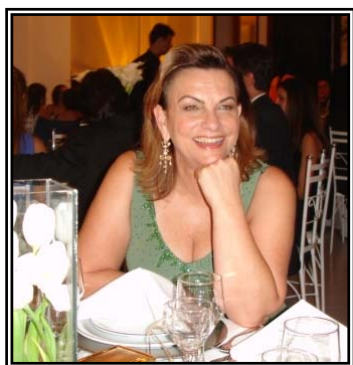


Aos Laboratórios Biovet®, Schering-Plough® e Pfizer® pela doação de vacinas e vermífugos que foram utilizados nos animais do presente estudo.

À querida amiga Izabel Cristina Castro, técnica do laboratório de toxicologia. Obrigada pela amizade e companhia de todas as horas.



A todos os amigos pós-graduandos, que direta ou indiretamente participaram do meu crescimento pessoal e intelectual durante esses anos de convivência no doutorado, em especial às queridas amigas Maria do Carmo Vailatti e Élen Siqueira Pyles. Obrigada pela amizade e apoio de vocês!



Em especial, à minha querida “sogra”, mãe e avó Marilda T. Fagnani, que esteve comigo nos momentos finais de confecção desta tese e que foi incansável com seu amor, dedicação e disposição. A você, meu amor, respeito e MUITO OBRIGADA!

A todos que direta ou indiretamente auxiliaram nas castrações dos animais que foram levados à adoção após o término da pesquisa. Muito obrigada!

A todas as pessoas que adotaram os gatos utilizados neste estudo. Obrigada por este gesto de amor aos animais!

LISTA DE ABREVIATURAS SIGLAS E SÍMBOLOS

% - porcentagem
± - mais ou menos
Δ - aquecimento
° C – graus Celsius
μg mL⁻¹ – microgramas por mililitro
μg/mL – microgramas por mililitro
μL – microlitro
AA – absorção atômica
ALT – alaninoaminotransferase
ANOVA – análise de variância
ATP – trifosfato de adenosina
BAV – bloqueio atrioventricular
CID – coagulação intravascular disseminada
CK – creatino quinase
CK-MB – creatino quinase fração cardíaca
CLAE – cromatografia líquida de alta eficiência
cm – centímetros
dp - desvio padrão
DI – diâmetro interno
DL₅₀ – dose letal que causa o óbito de 50% dos animais
ECG – eletrocardiograma, eletrocardiografia
FA – fosfatase alcalina
FAS – fluoroacetato de sódio
FM – Faculdade de Medicina
FMVZ – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
g – gramas
g/dL - gramas por decilitro
GABA – ácido gama aminobutírico
GGT – gama glutamiltransferase
GLDH – glutamato desidrogenase
h – horas
Hb – hemoglobina
HE – hematoxilina e eosina
HPLC – high performance liquid chromatography ou cromatografia líquida de alta eficiência
IFCC – International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine
IV – intravenoso
KMnO₄ – permanganato de potássio
LDH – lactato desidrogenase
M – molar
M1, M2, M4, M5 – momentos
MFAS – monofluoroacetato de sódio
mEq/L – miliequivalentes por litro
mg – miligramas

mg/kg – miligramas por kilo
min – minutos
mm – milímetros
mM – milimolar
mmol/L – milimoles por litro
p.a. - puro para análise
PPT- proteína plasmática total
rpm – rotações por minuto
s – segundos
SNC – sistema nervoso central
SRD – sem raça definida
UI/L – unidades internacionais por litro
UV – ultravioleta
v/v - concentração expressa em volume por volume
VG – volume globular
x – número de vezes

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Valores médios das hemácias ($/\mu\text{L}$) e desvios padrões (dp) segundo momentos de avaliações	35
Tabela 2. Valores médios de hemoglobina (g/dL) e desvios padrões (dp) segundo momentos de avaliações.....	36
Tabela 3. Valores médios do volume globular (%) e respectivos desvios padrões (dp) segundo momentos de avaliações.....	37
Tabela 4. Valores médios da proteína plasmática total (g/dL) e respectivos desvios padrões segundo momentos de avaliações.....	38
Tabela 5. Valores médios de leucócitos totais ($/\mu\text{L}$) e respectivos desvios padrões (dp) segundo momentos de avaliações.....	39
Tabela 6. Valores médios relativos de neutrófilos segmentados (%) e respectivos desvios padrões segundo momentos de avaliações	40
Tabela 7. Valores médios absolutos de neutrófilos segmentados ($/\mu\text{L}$) e respectivos desvios padrões segundo momentos de avaliações.....	41
Tabela 8. Valores médios relativos de linfócitos (%) e respectivos desvios padrões (dp) segundo momentos de avaliações.....	42
Tabela 9. Valores médios absolutos de linfócitos ($/\mu\text{L}$) e respectivos desvios padrões (dp) segundo momentos de avaliações.....	43
Tabela 10. Valores médios relativos de eosinófilos (%) e respectivos desvios padrões (dp) segundo momentos de avaliações.....	44
Tabela 11. Valores médios absolutos de eosinófilos (células/ μL) e respectivos desvios padrões (dp) segundo momentos de avaliações.....	45
Tabela 12. Valores médios relativos de monócitos (%) e respectivos desvios padrões (dp) segundo momentos de avaliações	46
Tabela 13. Valores médios absolutos de monócitos (células/ μL) e respectivos desvios padrões (dp) segundo momentos de avaliações.....	47
Tabela 14. Valores médios de plaquetas ($/\mu\text{l}$) e respectivos desvios padrões (dp) segundo momentos de avaliações.....	48
Tabela 15. Valores médios e desvios padrões de glicose sérica (mg/dL) (dp) segundo momentos de avaliações.....	50

Tabela 16. Valores médios e desvios padrões de creatinina sérica (mg/dL) (dp) segundo momentos de avaliações.....	51
Tabela 17. Valores médios e desvios padrões (dp) de uréia sérica (mg/dL) segundo momentos de avaliações.....	52
Tabela 18. Valores médios de LDH (UI/L) e desvios padrões (dp) segundo momentos de avaliações.....	53
Tabela 19. Valores médios e desvios padrões (dp) de CK (UI/L) segundo momentos de avaliações.....	54
Tabela 20. Valores médios e desvios padrões (dp) de CK-MB (UI/L) segundo momentos de avaliações.....	55
Tabela 21. Valores médios e desvios padrões (dp) de FA (UI/L) segundo momentos de avaliações.....	56
Tabela 22. Valores médios e desvios padrões (dp) de ALT (UI/L) segundo momentos de avaliações.....	57
Tabela 23. Valores médios e desvios padrões (dp) de GGT (g/dL) segundo momentos de avaliações.....	58
Tabela 24. Valores médios e desvios padrões (dp) de sódio (mmol/L) segundo momentos de avaliações.....	59
Tabela 25. Valores médios e desvios padrões (dp) de potássio (mmol/L) segundo momentos de avaliações.....	60
Tabela 26. Valores médios e desvios padrões (dp) de cálcio sérico total (mg/dL) segundo momentos de avaliações.....	61
Tabela 27. Valores médios e desvios padrões (dp) de fósforo (mg/dL) e segundo momentos de avaliações.....	62
Tabela 28. Valores médios e desvios padrões (dp) de cloro (mmol/L) segundo momentos de avaliações.....	63
Tabela 29. Valores médios e desvios padrões (dp) de magnésio (mEq/L) segundo momentos de avaliações.....	64
Tabela 30. Relação dos achados macroscópicos e a porcentagem de presença das alterações no sistema cardiorrespiratório de sete gatos que foram necropsiados após óbito durante a intoxicação experimental por MFAS.....	68

Tabela 31. Relação dos achados macroscópicos e a porcentagem de presença das alterações no sistema digestório de sete gatos que foram necropsiados após óbito durante a intoxicação experimental por MFAS.....	69
Tabela 32. Relação dos achados macroscópicos e a porcentagem de presença das alterações no sistema genitourinário de sete gatos que foram necropsiados após óbito durante a intoxicação experimental por MFAS.....	69
Tabela 33. Relação dos achados macroscópicos e a porcentagem de presença das alterações no sistema nervoso central de sete gatos que foram necropsiados após óbito durante a intoxicação experimental por MFAS.....	70
Tabela 34. Relação dos achados histopatológicos no miocárdio e a porcentagem de presença das alterações correspondentes nos sete animais avaliados após intoxicação experimental pelo MFAS.....	77
Tabela 35. Relação dos achados histopatológicos no pulmão e a porcentagem de presença das alterações correspondentes nos sete animais avaliados após intoxicação experimental pelo MFAS.....	77
Tabela 36. Relação dos achados histopatológicos no fígado e a porcentagem de presença das alterações correspondentes nos sete animais avaliados após intoxicação experimental pelo MFAS.....	78
Tabela 37. Relação dos achados histopatológicos nos rins e a porcentagem de presença das alterações correspondentes nos sete animais avaliados após intoxicação experimental pelo MFAS.....	78
Tabela 38. Relação dos achados histopatológicos no cérebro e a porcentagem de presença das alterações correspondentes nos sete animais avaliados após intoxicação experimental pelo MFAS.....	79
Tabela 39. Relação dos achados histopatológicos no baço e a porcentagem de presença das alterações correspondentes nos sete animais avaliados após intoxicação experimental pelo MFAS.....	79
Tabela 40. Recuperação em quintuplicata do MFAS, em amostra de soro sanguíneo fortificada e utilizada para construção da curva analítica e dosagens das amostras dos animais intoxicados experimentalmente.....	87

Tabela 41. Recuperação do MFAS em HPLC nas amostras de soro sanguíneo nos animais intoxicados experimentalmente com 0,45 mg/kg, via oral, suas respectivas concentrações em µg/mL, mg/kg e a porcentagem residual.....	92
---	-----------

APÊNDICE

Tabela A- Valores individuais, médias e desvios padrões do número de hemácias (/µL) dos animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS nos diferentes momentos de avaliação.....	128
Tabela B- Valores individuais, médias e desvios padrões de Hb (g/dL) dos animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS nos diferentes momentos de avaliação.....	129
Tabela C- Valores individuais, médias e desvios padrões do VG (%) dos animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS nos diferentes momentos de avaliação.....	130
Tabela D- Valores individuais, médias e desvios padrões de PPT (g/dL) dos animais.....	131
intoxicados experimentalmente pelo MFAS nos diferentes momentos de avaliação.	
Tabela E- Valores individuais, médias e desvios padrões do número de leucócitos totais (/µL) dos animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS nos diferentes momentos de avaliação.....	132
Tabela F- Valores individuais, médias e desvios padrões do número relativo de neutrófilos segmentados (%) dos animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS nos diferentes momentos de avaliação.....	133
Tabela G- Valores individuais, médias e desvios padrões do número relativo de linfócitos (%) dos animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS nos diferentes momentos de avaliação.....	134
Tabela H- Valores individuais, médias e desvios padrões do número absoluto de neutrófilos segmentados (/µL) dos animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS nos diferentes momentos de avaliação.....	135
Tabela I- Valores individuais, médias e desvios padrões do número absoluto de linfócitos (/µL) dos animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS nos diferentes momentos de avaliação.....	136
Tabela J- Valores individuais do número relativo de bastonetes (%) dos animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS nos diferentes momentos de avaliação.....	137

Tabela K- Valores individuais, médias e desvios padrões do número relativo de eosinófilos (%) dos animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS nos diferentes momentos de avaliação.....	138
Tabela L- Valores individuais, médias e desvios padrões do número relativo de monócitos (%) dos animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS nos diferentes momentos de avaliação.....	139
Tabela M- Valores individuais, médias e desvios padrões do número de plaquetas (/µL) dos animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS nos diferentes momentos de avaliação.....	140
Tabela N- Valores individuais, médias e desvios padrões de glicose sérica (g/dL) dos animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS nos diferentes momentos de avaliação.....	141
Tabela O- Valores individuais, médias e desvios padrões de creatinina sérica (mg/dL) dos animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS nos diferentes momentos de avaliação.....	142
Tabela P- Valores individuais, médias e desvios padrões de uréia (mg/dL) dos animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS nos diferentes momentos de avaliação.....	143
Tabela Q- Valores individuais, médias e desvios padrões de LDH (UI/L) dos animais.....	144
intoxicados experimentalmente pelo MFAS nos diferentes momentos de avaliação.	
Tabela R- Valores individuais, médias e desvios padrões de CK (UI/L) dos animais.....	145
intoxicados experimentalmente pelo MFAS nos diferentes momentos de avaliação.	
Tabela S- Valores individuais, médias e desvios padrões de CK-MB (UI/L) dos animais..	146
intoxicados experimentalmente pelo MFAS nos diferentes momentos de avaliação.	
Tabela T- Valores individuais, médias e desvios padrões de FA (UI/L) dos animais.....	147
intoxicados experimentalmente pelo MFAS nos diferentes momentos de avaliação.	
Tabela U- Valores individuais, médias e desvios padrões de ALT (UI/L) dos animais.....	148
intoxicados experimentalmente pelo MFAS nos diferentes momentos de avaliação.	
Tabela V- Valores individuais, médias e desvios padrões de GGT (g/dL) dos animais.....	149
intoxicados experimentalmente pelo MFAS nos diferentes momentos de avaliação.	
Tabela X- Valores individuais, médias e desvios padrões de sódio (mmol/L) dos animais.	150
intoxicados experimentalmente pelo MFAS nos diferentes momentos de avaliação.	
Tabela W- Valores individuais, médias e desvios padrões de potássio (mmol/L) dos animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS nos diferentes momentos de avaliação.....	151

Tabela Y- Valores individuais, médias e desvios padrões de cálcio sérico total (mg/dL) dos animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS nos diferentes momentos de avaliação.....	152
Tabela Z- Valores individuais, médias e desvios padrões de fósforo sérico (mg/dL) dos animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS nos diferentes momentos de avaliação.....	153
Tabela AA- Valores individuais, médias e desvios padrões de cloro sérico (mg/dL) dos animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS nos diferentes momentos de avaliação.....	154
Tabela BB- Valores individuais, médias e desvios padrões de magnésio (mEq/L) dos animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS nos diferentes momentos de avaliação.....	155
Tabela CC- Apresentação individual das curvas analíticas, coeficiente de correlação, áreas de recuperação e respectivas concentrações do MFAS no soro dos gatos intoxicados experimentalmente.....	156

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo de Krebs e o bloqueio deste pelo fluorocitrato.....	06
Figura 2. Quadro resumo do delineamento experimental.....	21
Figura 3. Curva Analítica do MFAS após a injeção de 100 µL das soluções padrão no intervalo de concentração de 20,0 a 0,250 µg mL ⁻¹ após condições cromatográficas otimizadas.	26
Figura 4. Curva analítica e equação da reta obtida, para a recuperação do MFAS nas amostras de de soro sanguíneo fortificadas.....	27
Figura 5. Cromatograma obtido após a injeção de 100µL da solução padrão de monofluoracetato de sódio com uma concentração de 5,0 µg mL ⁻¹ empregando a coluna de troca aniônica (250mm x 4,6mm DI) e MFASe móvel composta por uma solução aquosa de ácido acético 170mM e ácido metanosulfônico 0,0033 mM.....	28
Figura 6. Diagrama de blocos de um equipamento de cromatografia de alta eficiência (CLAE)	28
Figura 7. Equipamento de cromatografia líquida modelo Shimadzu®.....	29
Figura 8. Valores médios de hemácias (células/µL) e desvios padrões segundo momentos M1 ⁿ⁼¹⁶ (antes da intoxicação), M2 ⁿ⁼¹⁶ (6 horas após a intoxicação), M3 ⁿ⁼¹⁶ (logo após convulsão), M4 ⁿ⁼⁹ (30 horas após intoxicação) e M5 ⁿ⁼⁹ (96 horas após intoxicação) dos animais intoxicados experimentalmente com MFAS.....	36
Figura 9. Valores médios de Hb (g/dL) e desvios padrões segundo momentos M1 ⁿ⁼¹⁶ (antes da intoxicação), M2 ⁿ⁼¹⁶ (6 horas após a intoxicação), M3 ⁿ⁼¹⁶ (logo após convulsão), M4 ⁿ⁼⁹ (30 horas após intoxicação) e M5 ⁿ⁼⁹ (96 horas após intoxicação) dos animais intoxicados experimentalmente com MFAS.....	37
Figura 10. Valores médios e desvios padrões do volume globular (%) segundo momentos M1 ⁿ⁼¹⁶ (antes da intoxicação), M2 ⁿ⁼¹⁶ (6 horas após a intoxicação), M3 ⁿ⁼¹⁶ (logo após convulsão), M4 ⁿ⁼⁹ (30 horas após intoxicação) e M5 ⁿ⁼⁹ (96 horas após intoxicação) dos animais intoxicados experimentalmente com MFAS.....	38

- Figura 11.** Valores médios e desvios padrões de proteína plasmática total (g/dL) segundo M1ⁿ⁼¹⁶ (antes da intoxicação), M2ⁿ⁼¹⁶ (6 horas após a intoxicação), M3ⁿ⁼¹⁶ (logo após convulsão), M4ⁿ⁼⁹ (30 horas após intoxicação) e M5ⁿ⁼⁹ (96 horas após intoxicação) dos animais intoxicados experimentalmente com MFAS.....**39**
- Figura 12.** Valores médios e desvios padrões de leucócitos (células/ μ L) segundo momentos M1ⁿ⁼¹⁶ (antes da intoxicação), M2ⁿ⁼¹⁶ (6 horas após a intoxicação), M3ⁿ⁼¹⁶ (logo após convulsão), M4ⁿ⁼⁹ (30 horas após intoxicação) e M5ⁿ⁼⁹ (96 horas após intoxicação) dos animais intoxicados experimentalmente com MFAS.....**40**
- Figura 13.** Valores médios relativos e desvios padrões de neutrófilos segmentados (%) segundo momentos M1ⁿ⁼¹⁶ (antes da intoxicação), M2ⁿ⁼¹⁶ (6 horas após a intoxicação), M3ⁿ⁼¹⁶ (logo após convulsão), M4ⁿ⁼⁹ (30 horas após intoxicação) e M5ⁿ⁼⁹ (96 horas após intoxicação) dos animais intoxicados experimentalmente com MFAS.....**41**
- Figura 14.** Valores médios absolutos e desvios padrões de neutrófilos segmentados (células/ μ L) segundo momentos M1ⁿ⁼¹⁶ (antes da intoxicação), M2ⁿ⁼¹⁶ (6 horas após a intoxicação), M3ⁿ⁼¹⁶ (logo após convulsão), M4ⁿ⁼⁹ (30 horas após intoxicação) e M5ⁿ⁼⁹ (96 horas após intoxicação) dos animais intoxicados experimentalmente com MFAS.....**42**
- Figura 15.** Valores médios relativos e desvios padrões de linfócitos (%) segundo momentos M1ⁿ⁼¹⁶ (antes da intoxicação), M2ⁿ⁼¹⁶ (6 horas após a intoxicação), M3ⁿ⁼¹⁶ (logo após convulsão), M4ⁿ⁼⁹ (30 horas após intoxicação) e M5ⁿ⁼⁹ (96 horas após intoxicação) dos animais intoxicados experimentalmente com MFAS.....**43**
- Figura 16.** Valores médios absolutos e desvios padrões de linfócitos (células/ μ L) segundo momentos M1ⁿ⁼¹⁶ (antes da intoxicação), M2ⁿ⁼¹⁶ (6 horas após a intoxicação), M3ⁿ⁼¹⁶ (logo após convulsão), M4ⁿ⁼⁹ (30 horas após intoxicação) e M5ⁿ⁼⁹ (96 horas após intoxicação) dos animais intoxicados experimentalmente com MFAS.....**44**
- Figura 17.** Valores médios relativos e desvios padrões de eosinófilos (%) segundo momentos M1ⁿ⁼¹⁶ (antes da intoxicação), M2ⁿ⁼¹⁶ (6 horas após a intoxicação), M3ⁿ⁼¹⁶ (logo após convulsão), M4ⁿ⁼⁹ (30 horas após intoxicação) e M5ⁿ⁼⁹ (96 horas após intoxicação) dos animais intoxicados experimentalmente com MFAS.....**45**

- Figura 18.** Valores médios absolutos e desvios padrões de eosinófilos (células/ μ L) segundo momentos M1ⁿ⁼¹⁶ (antes da intoxicação), M2ⁿ⁼¹⁶ (6 horas após a intoxicação), M3ⁿ⁼¹⁶ (logo após convulsão), M4ⁿ⁼⁹ (30 horas após intoxicação) e M5ⁿ⁼⁹ (96 horas após intoxicação) dos animais intoxicados experimentalmente com MFAS.....46
- Figura 19.** Valores médios relativos e desvios padrões de monócitos (%) segundo momentos M1ⁿ⁼¹⁶ (antes da intoxicação), M2ⁿ⁼¹⁶ (6 horas após a intoxicação), M3ⁿ⁼¹⁶ (logo após convulsão), M4ⁿ⁼⁹ (30 horas após intoxicação) e M5ⁿ⁼⁹ (96 horas após intoxicação) dos animais intoxicados experimentalmente com MFAS.....47
- Figura 20.** Valores médios absolutos e desvios padrões de monócitos (células/ μ L) segundo momentos M1ⁿ⁼¹⁶ (antes da intoxicação), M2ⁿ⁼¹⁶ (6 horas após a intoxicação), M3ⁿ⁼¹⁶ (logo após convulsão), M4ⁿ⁼⁹ (30 horas após intoxicação) e M5ⁿ⁼⁹ (96 horas após intoxicação) dos animais intoxicados experimentalmente com MFAS.....48
- Figura 21.** Valores médios e desvios padrões de plaquetas (/ μ L) segundo momentos M1ⁿ⁼¹⁶ (antes da intoxicação), M2ⁿ⁼¹⁶ (6 horas após a intoxicação), M3ⁿ⁼¹⁶ (logo após convulsão), M4ⁿ⁼⁹ (30 horas após intoxicação) e M5ⁿ⁼⁹ (96 horas após intoxicação) dos animais intoxicados experimentalmente com MFAS.....49
- Figura 22.** Valores médios e desvios padrões de glicose (mg/dL) segundo momentos M1ⁿ⁼¹⁶ (antes da intoxicação), M2ⁿ⁼¹⁶ (6 horas após a intoxicação), M3ⁿ⁼¹⁶ (logo após convulsão) e M4ⁿ⁼⁹ (30 horas após a intoxicação) nos animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS.....50
- Figura 23.** Valores médios e desvios padrões de creatinina sérica (mg/dL) segundo momentos M1ⁿ⁼¹⁶ (antes da intoxicação), M2ⁿ⁼¹⁶ (6 horas após a intoxicação), M3ⁿ⁼¹⁶ (logo após convulsão) e M4ⁿ⁼⁹ (30 horas após intoxicação) nos animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS.....51
- Figura 24.** Valores médios e desvios padrões de uréia sérica (mg/dL) segundo momentos M1ⁿ⁼¹⁶ (antes da intoxicação), M2ⁿ⁼¹⁶ (6 horas após a intoxicação), M3ⁿ⁼¹⁶ (logo após convulsão) e M4ⁿ⁼⁹ (30 horas após intoxicação) nos animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS.....52

- Figura 25.** Valores médios e desvios padrões de LDH (UI/L) segundo momentos $M1^{n=16}$ (antes da intoxicação), $M2^{n=16}$ (6 horas após a intoxicação), $M3^{n=16}$ (logo após convulsão) e $M4^{n=9}$ (30 horas após intoxicação) nos animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS.....**53**
- Figura 26.** Valores médios e desvios padrões de CK (UI/L) segundo momentos descritos $M1^{n=16}$ (antes da intoxicação), $M2^{n=16}$ (6 horas após a intoxicação), $M3^{n=16}$ (logo após convulsão) e $M4^{n=9}$ (30 horas após intoxicação) nos animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS.....**54**
- Figura 27.** Valores médios e desvios padrões de CK-MB (UI/L) segundo momentos $M1^{n=16}$ (antes da intoxicação), $M2^{n=16}$ (6 horas após a intoxicação), $M3^{n=16}$ (logo após convulsão) e $M4^{n=9}$ (30 horas após intoxicação) nos animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS.....**55**
- Figura 28.** Valores médios e desvios padrões de FA (UI/L) segundo momentos $M1^{n=16}$ (antes da intoxicação), $M2^{n=16}$ (6 horas após a intoxicação), $M3^{n=16}$ (logo após convulsão) e $M4^{n=9}$ (30 horas após intoxicação) nos animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS.....**56**
- Figura 29.** Valores médios e desvios padrões de ALT (UI/L) segundo momentos $M1^{n=16}$ (antes da intoxicação), $M2^{n=16}$ (6 horas após a intoxicação), $M3^{n=16}$ (logo após convulsão) e $M4^{n=9}$ (30 horas após intoxicação) nos animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS.....**57**
- Figura 30.** Valores médios e desvios padrões de GGT (g/dL) segundo momentos $M1^{n=16}$ (antes da intoxicação), $M2^{n=16}$ (6 horas após a intoxicação), $M3^{n=16}$ (logo após convulsão) e $M4^{n=9}$ (30 horas após intoxicação) nos animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS.....**58**
- Figura 31.** Valores médios e desvios padrões de sódio (mmol/L) segundo momentos $M1^{n=16}$ (antes da intoxicação), $M2^{n=16}$ (6 horas após a intoxicação), $M3^{n=16}$ (logo após convulsão) e $M4^{n=9}$ (30 horas após intoxicação) nos animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS.....**59**
- Figura 32.** Valores médios e desvios padrões de potássio (mmol/L) segundo momentos $M1^{n=16}$ (antes da intoxicação), $M2^{n=16}$ (6 horas após a intoxicação), $M3^{n=16}$ (logo após convulsão) e $M4^{n=9}$ (30 horas após intoxicação) nos animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS.....**60**

- Figura 33.** Valores médios e desvios padrões de cálcio sérico total (mg/dL) segundo momentos M1ⁿ⁼¹⁶ (antes da intoxicação), M2ⁿ⁼¹⁶ (6 horas após a intoxicação), M3ⁿ⁼¹⁶ (logo após convulsão) e M4ⁿ⁼⁹ (30 horas após intoxicação) nos animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS.....61
- Figura 34.** Valores médios e desvios padrões de fósforo (mg/dL) segundo momentos M1ⁿ⁼¹⁶ (antes da intoxicação), M2ⁿ⁼¹⁶ (6 horas após a intoxicação), M3ⁿ⁼¹⁶ (logo após convulsão) e M4ⁿ⁼⁹ (30 horas após intoxicação) nos animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS.....62
- Figura 35.** Valores médios e desvios padrões de cloro (mmol/L) segundo momentos M1ⁿ⁼¹⁶ (antes da intoxicação), M2ⁿ⁼¹⁶ (6 horas após a intoxicação), M3ⁿ⁼¹⁶ (logo após convulsão) e M4ⁿ⁼⁹ (30 horas após intoxicação) nos animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS.....63
- Figura 36.** Valores médios e desvios padrões de magnésio (mEq/L) segundo momentos M1ⁿ⁼¹⁶ (antes da intoxicação), M2ⁿ⁼¹⁶ (6 horas após a intoxicação), M3ⁿ⁼¹⁶ (logo após convulsão) e M4ⁿ⁼⁹ (30 horas após intoxicação) nos animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS.....64
- Figura 37.** Macroscopia dos pulmões do animal 6 intoxicado experimentalmente com 0,45 mg/kg de MFAS via oral apresentando congestão e equimoses.....71
- Figura 38.** Aspecto macroscópico do coração do animal 6 apresentando petéquias e sufusões no epicárdio.....71
- Figura 39.** Aspecto macroscópico do encéfalo do animal 6 intoxicado experimentalmente com 0,45 mg/kg de MFAS via oral, apresentando congestão e edema em corte longitudinal72
- Figura 40.** Macroscopia do fígado do animal 6 apresentando congestão e áreas de degeneração72
- Figura 41.** Corte longitudinal e aspecto macroscópico da mucosa do estômago do animal 16 intoxicado experimentalmente com 0,45 mg/kg de MFAS via oral apresentando hemorragia gástrica com hiperplasia e edema da mucosa.....73
- Figura 42.** Macroscopia do rim direito do animal 16 apresentando congestão e áreas de degeneração multifocal.....73

- Figura 43.** Corte histológico de encéfalo de um dos gatos intoxicados experimentalmente com 0,45 mg/kg de MFAS via oral apresentando congestão cerebral e hemácias aderidas no endotélio vascular (CID) (HE 200X).....80
- Figura 44.** Corte histológico do encéfalo de gato intoxicado experimentalmente com 0,45 mg/kg de MFAS via oral apresentando cromatólise central sugerindo lesão isquêmica (HE 40 x 1,6).....80
- Figura 45.** Encéfalo de gato intoxicado experimentalmente com 0,45 mg/kg de MFAS via oral mostrando sateliose e neuronofagia (HE, 320X).....81
- Figura 46.** Miocárdio de gato intoxicado experimentalmente com 0,45 mg/kg de MFAS via oral mostrando áreas de hemorragia e hemácias aderidas no endotélio vascular (CID) (HE 200X).....81
- Figura 47.** Corte histológico de coração de gato intoxicado experimentalmente com 0,45 mg/kg de MFAS via oral apresentando hemorragia sub-epicárdica e degeneração miocárdica (HE 200X).....82
- Figura 48.** Miocárdio de gato intoxicado experimentalmente com 0,45 mg/kg de MFAS via oral com áreas de degeneração e necrose isquêmicas agudas (HE 200X).....82
- Figura 49.** Áreas de edema pulmonar difuso em corte histológico do pulmão de gato intoxicado experimentalmente com 0,45 mg/kg de MFAS via oral (HE 200X).....83
- Figura 50.** Corte histológico do pulmão de gato intoxicado experimentalmente com 0,45 mg/kg de MFAS via oral com áreas de hemorragia e edema pulmonares, além da presença de hemácias aderidas no endotélio vascular (CID) (HE 200X).....83
- Figura 51.** Microscopia de fígado de gato intoxicado experimentalmente com 0,45 mg/kg de MFAS via oral apresentando áreas de congestão hepática (HE 50X).....84
- Figura 52.** Corte histológico de fígado de gato intoxicado experimentalmente com 0,45 mg/kg de MFAS via oral apresentando áreas de degeneração gordurosa e hidrópica (HE 40 X 1,6).....84
- Figura 53.** Áreas de necrose hepática em corte histológico de fígado de gato intoxicado experimentalmente com 0,45 mg/kg de MFAS via oral (HE 40 X 1,6).....85

- Figura 54.** Retração esplênica com diminuição da polpa vermelha em corte histológico de baço de gato intoxicado experimentalmente com 0,45 mg/kg de MFAS via oral (HE 50X).....85
- Figura 55.** Rim de gato intoxicado experimentalmente com 0,45 mg/kg de MFAS via oral com áreas de necrose tubular e degeneração hialina (HE 20 X 1,5).....86
- Figura 56.** Necroses tubular e glomerular agudas renais, com áreas de hemorragia difusa e congestão em rim de gato intoxicado experimentalmente com 0,45 mg/kg de MFAS via oral (HE 20 X 1,5).....86
- Figura 57.** Curva analítica obtida a partir de amostra de soro fortificada com MFAS, para obtenção da equação de regressão linear e cálculo das concentrações do MFAS em µg/mL nas amostras de soro sanguíneo nos animais deste estudo.....88
- Figura 58.** Perfil cromatográfico da solução padrão do MFAS na concentração de 5,0 µg/mL, injetado no sistema cromatográfico nas condições otimizadas para as análises nas amostras de soro sanguíneo.....89
- Figura 59.** Perfil cromatográfico após injeção de extrato obtido de uma amostra de soro sanguíneo controle, antes da administração do MFAS (M1)90
- Figura 60.** Cromatograma obtido após a injeção de 100 µL do extrato final da recuperação do MFAS a partir de amostra de soro sanguíneo do animal 13 (0,17 µg/mL).....91
- Figura 61.** Cromatograma obtido após a injeção de 100 µL do extrato final da recuperação do MFAS a partir de amostra de soro sanguíneo do animal 1 (0,18 µg/mL).....93
- Figura 62.** Cromatograma obtido após a injeção de 100 µL do extrato final da recuperação do MFAS a partir de amostra de soro sanguíneo do animal 3 (0,16 µg/mL).....93
- Figura 63.** Cromatograma obtido após a injeção de 100 µL do extrato final da recuperação do MFAS a partir de amostra de soro sanguíneo do animal 4 (0,25 µg/mL).....94
- Figura 64.** Cromatograma obtido após a injeção de 100 µL do extrato final da recuperação do MFAS a partir de amostra de soro sanguíneo do animal 5 (0,14 µg/mL).....94

Figura 65. Cromatograma obtido após a injeção de 100 µL do extrato final da recuperação do MFAS a partir de amostra de soro sanguíneo do animal 6 (0,42 µg/mL).....	95
Figura 66. Cromatograma obtido após a injeção de 100 µL do extrato final da recuperação do MFAS a partir de amostra de soro sanguíneo do animal 7 (0,11 µg/mL).....	95
Figura 67. Cromatograma obtido após a injeção de 100 µL do extrato final da recuperação do MFAS a partir de amostra de soro sanguíneo do animal 9 (0,33 µg/mL).....	96
Figura 68. Cromatograma obtido após a injeção de 100 µL do extrato final da recuperação do MFAS a partir de amostra de soro sanguíneo do animal 10 (0,27 µg/mL).....	96
Figura 69. Cromatograma obtido após a injeção de 100 µL do extrato final da recuperação do MFAS a partir de amostra de soro sanguíneo do animal 11 (0,52 µg/mL).....	97
Figura 70. Cromatograma obtido após a injeção de 100 µL do extrato final da recuperação do MFAS a partir de amostra de soro sanguíneo do animal 12 (0,73 µg/mL).....	97
Figura 71. Cromatograma obtido após a injeção de 100 µL do extrato final da recuperação do MFAS a partir de amostra de soro sanguíneo do animal 15 (0,62 µg/mL).....	98

APÊNDICE

Figura A- Cromatograma obtido após a injeção de 100 µL do extrato final da recuperação do MFAS a partir de amostra de soro sanguíneo do animal 1 (0,18 µg/mL).....	157
Figura B- Perfil cromatográfico integral obtido após a injeção de 100 µL do extrato final da recuperação do MFAS a partir de amostra de soro sanguíneo do animal 1 (0,18 µg/mL).....	157
Figura C- Cromatograma obtido após a injeção de 100 µL do extrato final da recuperação do MFAS a partir de amostra de soro sanguíneo do animal 3 (0,16 µg/mL).....	158

Figura D- Perfil cromatográfico integral obtido após a injeção de 100 µL do extrato final da recuperação do MFAS a partir de amostra de soro sanguíneo do animal 3 (0,16 µg/mL).	158
Figura E- Cromatograma obtido após a injeção de 100 µL do extrato final da recuperação do MFAS a partir de amostra de soro sanguíneo do animal 4 (0,25 µg/mL).....	159
Figura F- Perfil cromatográfico obtido após a injeção de 100 µL do extrato final da recuperação do MFAS a partir de amostra de soro sanguíneo do animal 4 (0,25 µg/mL).....	159
Figura G- Cromatograma obtido após a injeção de 100 µL do extrato final da recuperação do MFAS a partir de amostra de soro sanguíneo do animal 5 (0,14 µg/mL).....	160
Figura H- Perfil cromatográfico obtido após a injeção de 100 µL do extrato final da recuperação do MFAS a partir de amostra de soro sanguíneo do animal 5 (0,14 µg/mL).....	160
Figura I- Cromatograma obtido após a injeção de 100 µL do extrato final da recuperação do MFAS a partir de amostra de soro sanguíneo do animal 6 (0,42 µg/mL).....	161
Figura J- Perfil cromatográfico obtido após a injeção de 100 µL do extrato final da recuperação do MFAS a partir de amostra de soro sanguíneo do animal 6 (0,42 µg/mL).....	161
Figura K- Perfil cromatográfico obtido após a injeção de 100 µL do extrato final da recuperação do MFAS a partir de amostra de soro sanguíneo do animal 7 (0,11 µg/mL).....	162
Figura L- Cromatograma obtido após a injeção de 100 µL do extrato final da recuperação do MFAS a partir de amostra de soro sanguíneo do animal 9 (0,33 µg/mL).....	162
Figura M- Perfil cromatográfico obtido após a injeção de 100 µL do extrato final da recuperação do MFAS a partir de amostra de soro sanguíneo do animal 9 (0,33 µg/mL).....	163
Figura N- Cromatograma obtido após a injeção de 100 µL do extrato final da recuperação do MFAS a partir de amostra de soro sanguíneo do animal 10 (0,27 µg/mL).....	163

- Figura O-** Perfil cromatográfico obtido após a injeção de 100 μ L do extrato final da recuperação do MFAS a partir de amostra de soro sanguíneo do animal 11 (0,52 μ g/mL).....164
- Figura P-** Perfil cromatográfico obtido após a injeção de 100 μ L do extrato final da recuperação do MFAS a partir de amostra de soro sanguíneo do animal 12 (0,73 μ g/mL).....165
- Figura Q-** Cromatograma obtido após a injeção de 100 μ L do extrato final da recuperação do MFAS a partir de amostra de soro sanguíneo do animal 13 (0,17 μ g/mL).....166
- Figura R-** Perfil cromatográfico obtido após a injeção de 100 μ L do extrato final da recuperação do MFAS a partir de amostra de soro sanguíneo do animal 13 (0,17 μ g/mL).....166
- Figura S-** Perfil cromatográfico obtido após a injeção de 100 μ L do extrato final da recuperação do MFAS a partir de amostra de soro sanguíneo do animal 15 (0,62 μ g/mL).....167

COLLICCHIO-ZUANAZE, R.C. Perfil hematológico, bioquímico, histopatológico e toxicológico de gatos induzidos experimentalmente com monofluoroacetato de sódio. Botucatu, 2006, 168p. Defesa de Tese de Doutorado em Medicina Veterinária, Área de Clínica Veterinária – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, 2006. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

RESUMO

O monofluoroacetato de sódio (MFAS) ou composto 1080 é um rodenticida que foi amplamente utilizado para o controle de roedores e predadores domésticos, após sua descoberta em 1945. Este potente rodenticida age bloqueando o ciclo de Krebs por ação do seu metabólito tóxico, o fluorocitrato, e como consequência, inibe a resposta celular e a produção de ATP. O MFAS foi proibido por lei no Brasil e em diversos países, mas seu uso indiscriminado continua causando diversos casos de intoxicações potencialmente fatais no homem e animais domésticos, principalmente em cães e gatos, representadas por alterações neurológicas e cardíacas. Pretendeu-se com este estudo caracterizar o perfil hematológico e bioquímico, as alterações histopatológicas e toxicológicas de gatos intoxicados experimentalmente com MFAS, com o objetivo de determinar métodos diagnósticos eficazes. Para tanto, foram utilizadas amostras de sangue de 16 gatos intoxicados experimentalmente com 0,45mg/kg de MFAS, por via oral. Estas amostras foram colhidas por punção jugular e analisadas quanto ao perfil hematológico, bioquímica sérica e análises toxicológicas em cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), para detecção e quantificação do MFAS no soro dos animais. Avaliaram-se também as lesões macro e microscópicas dos animais intoxicados que vieram a óbito. Observaram-se leucopenia e trombocitopenia transitórias; hiperglicemia, aumento das enzimas musculares creatinoquinase (CK) e creatinoquinase fração cardíaca (CK-MB); observaram-se também hipocalemia, hipofosfatemia e hipomagnesemia. Os achados macroscópicos e histopatológicos demonstraram lesões características de processos isquêmicos e as análises toxicológicas demonstraram um método diagnóstico simples e eficiente. Houve detecção do MFAS em 75% das amostras de soro analisadas; verificou-se concentração média de 0,32 µg/mL, o que representa 4,81% do MFAS inicial, não sofreram a metabolização seis horas após a intoxicação nos animais do presente estudo.

Palavras-chave: monofluoroacetato de sódio; gatos; hematologia; bioquímica sérica; histopatologia; cromatografia

COLLICCHIO-ZUANAZE, R.C. Hematologic and biochemical profiles, and histopathological and toxicological evaluations of sodium monofluoroacetate experimental intoxication in cats. Botucatu, 2006, 168p. Defesa de Tese de Doutorado em Medicina Veterinária, Área de Clínica Veterinária – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, 2006. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

ABSTRACT

Sodium monofluoroacetate (SMFAC) or 1080 compound is a potent rodenticide, largely used since 1945 for rodent and domestic pest control. The toxic effects of SMFAC are caused by fluorocitrato, a toxic metabolite, which has a competitive action with aconitase enzyme, leading to citrate accumulation and interferes in energy production by Krebs cycle blockade. In Brazil, although prohibited by law, there is illegal use, keep causing intoxication in children and domestic animals, specially dogs and cats. The most common intoxication clinical signs are from the cardiac and neurological alterations. In the present study, 16 domestic cats were intoxicated with oral doses of monofluoroacetate (0.45mg/kg). The hematologic and biochemical profiles, and histopathological and blood serum toxicological analysis by high performance liquid chromatography (HPLC) were made to looking for a efficient diagnosis methods. The hematologic profile showed transitory leucopenia and trombocitopenia; the biochemical profile presented hiperglycemia, increase of creatinoquinase enzyme (CK) and creatinoquinase cardiac fraction (CK-MB), hypokalemia and hypophosphatemia were observed. The macroscopic and histopathological findings showed lesions characteristic of degenerative and ischemic processes. The toxicological analysis was shown to be a simple and efficient diagnostic method. SMFAC was detected in 75% of the serum samples analysed, and it was verified an average concentration of 0.32 µg/mL in them; 4.81% of the serum samples did not show metabolized SMFAC six hours after the induced intoxication of the animals used in this study.

Word-key: sodium monofluoroacetate; cats; hematology; serum biochemistry; histopathology; chromatography

1. INTRODUÇÃO

O monofluoroacetato de sódio (MFAS) (composto 1080) ou ácido fluoroacético, identificado por Marais em 1944, foi um composto amplamente utilizado no controle de roedores e predadores mamíferos (Atzert, 1986). O uso do MFAS está proibido por lei, em diversos países, devido à sua alta toxicidade e do risco de intoxicações acidentais, mas no Brasil há evidências do uso ilegal e sem critérios, causando intoxicações, principalmente, em animais domésticos e em crianças.

O MFAS age bloqueando o ciclo de Krebs por ação do seu metabólito tóxico, o fluorocitrato, na denominada “síntese letal” (Peters, 1952). Seu metabólito, por sua vez, bloqueia competitivamente a aconitase, impedindo a conversão do citrato em isocitrato, tendo como consequência o acúmulo de citrato no organismo, principalmente nos tecidos cardíaco e neurológico, com diminuição da produção de ATP do organismo em até 50%. Ocorrem também diminuição da oxidação de substratos e posterior acúmulo de ceto-substâncias no sangue. O citrato acumulado no organismo, além de seus efeitos cardiotóxicos e neurotóxicos, exerce efeito quelante sobre o cálcio sérico provocando a hipocalcemia (Gal et al, 1956;). A ação neurotóxica do monofluoroacetato está também relacionada aos acúmulos de citrato, glicose, glicogênio e amônia cerebral e aos distúrbios em mecanismos mediados pelo GABA, com a saída de íons cloro e síntese de glutamina cerebral (Novák et al, 1972).

O ácido monofluoroacético também pode ser encontrado naturalmente como princípio ativo de algumas plantas tóxicas no Brasil, Austrália e África do Sul (Oliveira, 1963). No Brasil, é encontrado na *Palicourea marcgravii* (“erva-de-rato, cafezinho”) e na *Arrabidaea bilabiata* (“trepadeira da várzea da Amazônia”) que causam importantes prejuízos nos rebanhos bovinos e ovinos, provocando a morte súbita principalmente em bovinos (Palermo-Neto & Moraes-Moreau, 1995).

As alterações clínicas relacionadas à intoxicação pelo MFAS são muito variáveis devido à grande sensibilidade individual e às diferenças entre as espécies acometidas (Mcilroy, 1981). A cardiotoxicidade é manifestada clinicamente com arritmias de graus variados até fibrilação e parada ventriculares; a neurotoxicidade apresenta-se como ataxia, excitação e convulsões (Raabe, 1981; Humpheys, 1988; Collicchio-Zuanaze et al., 2006). A termorregulação também é afetada pela diminuição da produção de energia, ocorrendo quadros de hipotermia, principalmente em gatos, ao contrário dos cães que apresentam comumente hipertermia (Marrazzi & Holliday, 1981; De Paula, 2000; Collicchio-Zuanaze et al., 2006).

A hiperglicemia, resultante do aumento da demanda de glicose e glicogênio como fonte de energia do metabolismo anaeróbico e o aumento do cortisol endógeno, é comum na intoxicação por MFAS. (Ballard & Hyde, 1967; Marrazzi & Holliday, 1981;).

Os sinais clínicos iniciais comuns na intoxicação por MFAS em humanos são caracterizados por manifestações gastrointestinais como vômito e diarreia acompanhados também de dor abdominal, alterações respiratórias, agitação e convulsões. Sinais eletrocardiográficos são caracterizados com alterações inespecíficas de repolarização ventricular. Hipocalcemia e hipocalemia, assim como hipotensão e acidose metabólica também são alterações descritas em humanos (Chi-Ch et al., 1996).

O diagnóstico definitivo da intoxicação pelo MFAS pode ser realizado por meio da análise toxicológica, que foi desenvolvida principalmente para detecção qualitativa em iscas líquidas, amostras de solo, sangue, tecidos e plantas tóxicas contendo o ácido fluoroacético. A técnica de cromatografia em camada delgada pode ser utilizada e consiste em identificar o MFAS a partir de misturas extraídas de ácido fórmico e fluoreto de sódio para determinações fluorométricas em placas de celulose com a utilização do revelador Azul do Nilo a 0,4% (Mcgary & Meloan, 1982; Sakai & Miyahara, 1981).

A análise quantitativa do MFAS pode ser realizada com técnicas de cromatografia gasosa (CG) e cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) (Kramer, 1984; Ozawa & Tsukioka, 1989; Allender, 1990; Minnaar et al., 2000; Demarchi et al., 2001; Sporkert et al., 2002). A cromatografia gasosa para a identificação do MFAS foi desenvolvida a partir da sua determinação como ácido livre em solventes aquosos (Kimball & Mishalanie, 1993). Estudos anteriores descreveram um método bastante sensível por eletroforese de zona capilar, para detecção do MFAS em iscas contendo este rodenticida (Fuyu et al., 1996).

Zeferino et al. (2005) desenvolveram um procedimento analítico rápido, simples, econômico, preciso e exato de quantificação do MFAS em amostras de soro sanguíneo de gatos. O método consiste em HPLC com detector de condutividade onde é realizada a extração líquido-líquido. A análise individual das amostras é efetuada utilizando uma coluna de troca iônica, MFAS móvel composta de solução aquosa de ácidos acético e metanosulfônico. Observaram, neste método, uma redução significativa no consumo de solventes e no tempo das análises quando comparado aos métodos morosos e dispendiosos relatados em literatura (Kramer, 1984; Minnaar et al., 2000).

O tratamento da intoxicação pelo MFAS consiste basicamente em medidas de suporte, como o controle das convulsões. A utilização do monoacetato de glicerol como um possível antídoto para a intoxicação pelo MFAS foi amplamente estudada (Chenoweth et al., 1951; Rammell et al. 1985; Schvartsman, 1991, De Paula, 2000); . No entanto, seus efeitos contra a “síntese letal” do MFAS são efetivos se administrado até 20 minutos após o contato com o tóxico (Peters & Morselli, 1965). Outras tentativas terapêuticas incluem estudos sobre o uso de gluconato ou cloreto de cálcio associado ao succinato de sódio em camundongos, com eficiência significativa (Omara & Sisodia, 1990). Os gatos também respondem bem ao tratamento com gluconato de cálcio e succinato de sódio como protocolo terapêutico da intoxicação (Collicchio-Zuanaze et al., 2006).

Desde que o MFAS foi introduzido como agente rodenticida nos EUA em 1946, diversos casos de intoxicação no homem e nos animais domésticos foram registrados, o que vem estimulando pesquisas a respeito das formas clínicas de intoxicação e pela procura de um antídoto potencialmente efetivo, assim como métodos diagnósticos mais eficientes (Omara & Sisodia, 1990).

A avaliação de parâmetros laboratoriais específicos também é de grande importância para a determinação de peculiaridades e de alterações decorrentes da intoxicação pelo monofluoroacetato. No presente estudo, foram realizadas avaliações hematológicas, bioquímicas séricas, histopatológicas e toxicológicas como auxílio ao diagnóstico da intoxicação em gatos.

Os dados de literatura são escassos em relação à intoxicação por MFAS em gatos, não havendo dados científicos suficientes para um diagnóstico rápido e eficaz. Na medicina humana, são registrados principalmente casos de intoxicação acidental por MFAS em crianças e em adultos como tentativas suicidas, apresentando, em sua maioria, quadros clínicos irreversíveis evoluindo ao óbito. O tratamento intensivo é apenas sintomático, não havendo um antídoto específico ou terapia comprovadamente eficaz.

Em veterinária, os cães e gatos são as principais espécies acometidas pelo MFAS, sejam em intoxicações acidentais ou criminosas, sendo freqüentes os atendimentos clínicos destes animais, com a suspeita de intoxicação por esse agente, no Hospital Veterinário da FMVZ-Unesp, em Botucatu (Aptekman et al., 2003). Os rodenticidas foram responsáveis por até 15,8% das intoxicações em cães e gatos

atendidos no Hospital Veterinário da USP em São Paulo, no período de 1998 a 2000 (Xavier et al. 2002).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivos gerais

O objetivo deste estudo foi a avaliação do perfil hematológico e bioquímico, bem como, das alterações histopatológicas e toxicológicas de gatos intoxicados experimentalmente com o monofluoroacetato de sódio estabelecendo parâmetros para uma triagem diagnóstica laboratorial.

2.2. Objetivos específicos

- avaliação das alterações hematológicas de gatos intoxicados experimentalmente com monofluoroacetato de sódio por meio de hemograma completo e contagem de plaquetas;
- avaliação das alterações bioquímicas séricas dos animais intoxicados por meio de dosagens de glicose, creatinina, uréia, enzimas lactato desidrogenase (LDH), creatinoquinase (CK), creatinoquinase fração cardíaca (CK-MB), fosfatase alcalina (FA), alaninoaminotransferase (ALT), gamaglutamiltransferase (GGT) e dos íons sódio, potássio, cálcio total, fósforo, cloro e magnésio;
- avaliação descritiva das alterações anatomopatológicas por meio dos achados de necropsia e avaliações histopatológicas dos animais que vieram a óbito durante a intoxicação experimental;
- análise descritiva da dosagem toxicológica quantitativa do monofluoroacetato de sódio no soro dos animais intoxicados, para detectar e quantificar a presença do tóxico não metabolizado circulante no organismo destes;
- estabelecimento de um método diagnóstico definitivo para a intoxicação por MFAS em gatos por meio das dosagens toxicológicas;

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Definição e mecanismo de ação toxicológica do monofluoroacetato de sódio (MFAS)

Os monofluoroacetatos ou ácidos monofluoroacéticos ($\text{FCH}_2\text{-COO-Na}$), dentre estes o monofluoroacetato de sódio (MFAS) são compostos que foram amplamente utilizados no controle de roedores e predadores mamíferos. Foi denominado também de composto 1080 para representar o seu número de série em laboratório, na sua síntese durante a II Guerra Mundial (Kalmbac 1945; Atzert, 1986).

O MFAS é uma substância hidrossolúvel, insípida e extremamente tóxica para roedores, homem e outros mamíferos, podendo ser causa de intoxicações acidentais, principalmente em cães e gatos (Omara & Sisodia, 1990).

A utilização do MFAS foi limitada ou proibida em alguns países, sendo necessário seguir normas técnicas impostas pela ASTM (*American Society for Testing and Materials*) ou por órgãos governamentais relacionados à saúde pública. Em países com uso restrito, como nos Estados Unidos, Austrália e Nova Zelândia, esse está relacionado principalmente ao controle de predadores domésticos (Palermo-Neto & Moraes-Moreau, 1995; O'Hagan, 2004). No entanto, o uso no Brasil faz-se de forma ilegal, pois os ácidos fluoroacéticos estão proibidos no país segundo Portaria 326 de novembro de 2005 estabelecida pelo Ministério da Saúde (Brasil, 2005).

O ácido fluoroacético foi identificado por Marais (1944) como o princípio tóxico de uma planta encontrada na África do Sul, de nome *Dichapetalum cymosum* ("gifblaar"), conhecida por causar intoxicações em ovelhas (Vickery & Vickery, 1973). No Brasil, esse princípio ativo pode ser encontrado em plantas como *Palicourea marcgravii* St Hil (rubiacae) (Oliveira, 1963) e *Arrabidea bilabiata* (Krebs et al., 1994). Em outros países da América do Sul, o mesmo princípio ativo pode ser encontrado na *Acacia georginae* (Oerlich & Mc Ewan, 1962); na Austrália, encontra-se no *Gastrolobium spp* e no *Oxylobium spp*. (Aplin, 1968).

A toxicidade do monofluoroacetato ocorre pela ação do fluorocitrato, seu metabólito ativo, formado no organismo por meio da denominada "Síntese Letal" (Peters, 1952; Gal et al., 1956). O MFAS é incorporado à acetil coenzima A formando a fluoroacetil coenzima A. Esta, por sua vez, conjuga-se ao oxaloacetato no ciclo de Krebs, formando o fluorocitrato que age competitivamente, bloqueando a ação da aconitase. Com o bloqueio desta enzima no ciclo de Krebs, deixa de ocorrer a conversão

de citrato em isocitrato, interrompendo diretamente o ciclo e a produção de ATP no organismo intoxicado com conseqüente acúmulo de citrato em vários tecidos (Figura 1). (Gal et al. 1956; Omara & Sisodia, 1990).

O bloqueio do ciclo de Krebs na intoxicação pelo MFAS provoca uma importante redução do metabolismo da energia oxidativa e também uma diminuição na oxidação do acetato e da síntese hepática de acetoacetato. A utilização de acetoacetato nos tecidos é inibida e há um acúmulo de ceto-substâncias no sangue, que são excretadas pela urina. A diminuição da utilização de piruvato na incorporação de CO₂ nos ácidos orgânicos também é verificada (Novák et al., 1972).

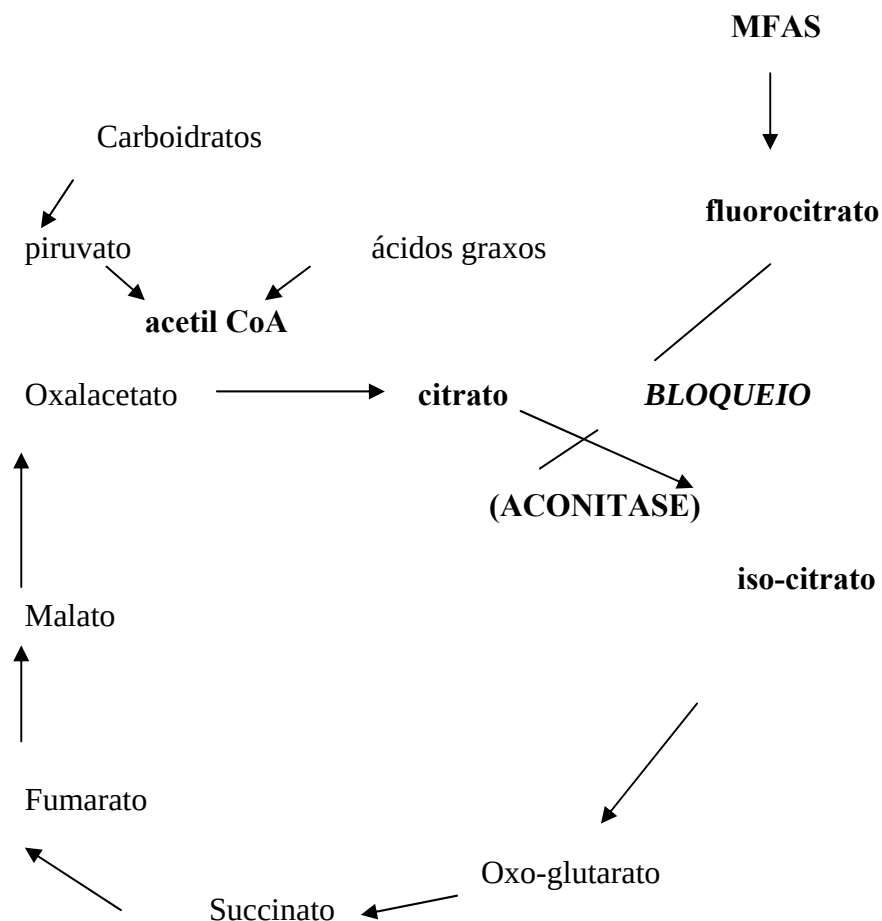


Figura 1. Ciclo de Krebs e o bloqueio deste pelo fluorocitrato (adaptado de Novák et al., 1972).

3.2. Toxicidade do MFAS pela “Síntese Letal” e aspectos clínicos da intoxicação.

O bloqueio da enzima aconitase após a “Síntese Letal” com conseqüente acúmulo de citrato no organismo promove uma ação quelante do cálcio sérico (Omara & Sisodia, 1990). O acúmulo de citrato é mais pronunciado nos rins e fígado, segundo estudo de Spencer & Lowenstein (1967), em ratos intoxicados experimentalmente, mas também podem acumular no miocárdio e cérebro, conforme estudo em coelhos (Huang et al., 1980). As conseqüências do acúmulo do citrato, em determinados órgãos relacionados à regulação da síntese de ácidos graxos, são discutidas. (Spencer et al., 1967). A distribuição do citrato no tecido renal e a redução de ATP no mesmo, caracteriza-se por um acúmulo progressivo, do citrato, da região cortical para a medular (Simonnet et al., 1980).

A excreção do citrato acumulado no organismo está diretamente relacionada às condições metabólicas do organismo durante a intoxicação por MFAS. Há uma considerável diminuição da excreção do citrato nos quadros de acidose e acidificação da urina. O citrato, em concentrações normais, age como um precursor da acetil-coenzima A na síntese de ácidos graxos em vários órgãos (Grollman et al., 1961).

O fluorocitrato também é metabólito cardiotoxico do quimioterápico 5-fluorouracil (Folb, 1984). Lemaire (1992) demonstraram que a cardiotoxicidade deste medicamento poderia ser causada pela presença de impurezas presentes na sua formulação injetável e o fluorocitrato foi detectado na urina de pacientes humanos tratados com 5-fluorouracil.

Sikulová & Novák (1970) estudaram o efeito protetor do MFAS em ratos submetidos a diferentes graus de radiações, após injeção intraperitoneal do tóxico. Houve uma maior taxa de sobrevivência após a radiação entre os animais que apresentaram um maior declínio na temperatura corpórea em temperatura ambiente controlada. Estes autores concluíram que a diminuição dos processos metabólicos nestes animais foi decisiva para diminuir a sensibilidade do organismo à radiação.

Em outro estudo, Vacék et al. (1970) estudaram o efeito protetor do monofluoroacetato de sódio sobre as células hematopoiéticas de camundongos após serem submetidos à radiação. Neste estudo, observou-se que a administração do MFAS, antes de uma exposição celular à radiação, promoveu efeito protetor sobre a hematopoiese. No entanto, a administração do MFAS isoladamente, causou uma inibição transitória da capacidade proliferativa das células progenitoras hematopoiéticas na medula óssea.

Corsi & Granata (1967) estudaram as diferenças na toxicidade do monofluoroacetato nas mitocôndrias do coração, dos rins e do cérebro. A taxa de oxidação de alguns substratos mostrou-se muito reduzida em mitocôndrias isoladas nos diversos tecidos de ratos intoxicados com o monofluoroacetato. Diferenças também foram evidenciadas entre mitocôndrias de fígado e rins sob a ação do MFAS “*in vitro*”.

Swanson & Graham (1994) estudaram os efeitos do MFAS no metabolismo de astrócitos de ratos, “*in vitro*”, e concluíram que os efeitos deste composto resultam da diminuição do metabolismo energético das células da glia. O MFAS reduz a síntese de neurotransmissores inibitórios no cérebro, como glutamina, glutamato e GABA.

Burande et al. (1983) estudaram os efeitos cardiotônicos do MFAS em coração isolado de sapo e verificaram que o fluorocitrato, seu metabólito tóxico, produziu efeito inotrópico positivo, sem aumentar a frequência cardíaca. Houve também acentuado acúmulo de citrato intracelular no tecido cardíaco.

As doses orais tóxicas do MFAS descritas nas diferentes espécies são: 0,2-7mg/kg em roedores, 0,5-2mg/kg em humanos, 0,3-0,7mg/kg em caprinos, 0,5-1,75mg/kg em eqüinos, 0,3-0,4mg/kg em suínos, 0,15-0,62mg/kg em bovinos, 0,25-0,5mg/kg em ovinos, 10-30mg/kg em aves, 0,096-0,2mg/kg em caninos e 0,3-0,5mg/kg nos felinos. (Humphreys, 1988).

A sensibilidade celular ao MFAS pode ser bastante variável, podendo esta variação ser atribuída a diferenças morfológicas e também ao grau de permeabilidade da membrana celular ao tóxico. Diferenças funcionais entre grupos celulares também podem influenciar a sensibilidade ao MFAS (Buffa & Pasqualli-Ronchetti, 1977). Esta variação na resposta celular ao MFAS pode ser um dos fatores responsáveis pelos diferentes graus de sensibilidade entre as espécies animais durante a intoxicação.

A sensibilidade individual dos animais ao MFAS é relatada no estudo relativo aos mamíferos jovens e fêmeas mamíferas aquáticas em cio, onde estes foram mais sensíveis ao MFAS quando comparados a outros animais da mesma espécie. Os dois grupos de mamíferos estudados apresentaram sinais clínicos semelhantes, mas houve variações entre as espécies no período de latência, frequência e duração dos sinais clínicos. Concluiu-se também, que aves são mais resistentes do que outras espécies animais (Mcilroy, 1981).

Eastland & Beasom (1986), em estudo sobre sensibilidade de “racoons ou mão pelada” (*Procyon lotor*) ao MFAS, em diferentes temperaturas ambientes, concluíram que há maior sensibilidade ao tóxico em temperaturas elevadas (23 a 37°C)

do que em temperaturas baixas (13 a 23°C). Sugeriram, neste estudo, que a temperatura ambiente altera o metabolismo individual e a sensibilidade ao MFAS e que existem variações entre as espécies de acordo com sua fisiologia e pelagem.

Os efeitos clínicos da intoxicação são divididos entre a cardiotoxicidade e neurotoxicidade do MFAS no organismo. Esta toxicidade, bem como a intensidade dos sinais clínicos, é dose-dependente e variam de acordo com a espécie animal, além das variações individuais (Mcilroy, 1981).

Os efeitos cardíacos são caracterizados por arritmias incluindo fibrilação e parada ventricular que resultam da ação direta do fluorocitrato nas células do miocárdio pelo acúmulo de citrato e conseqüente hipóxia celular (Noguchi et al., 1966). Ocorrem predominantemente em eqüinos, caprinos, coelhos e macacos. A neurotoxicidade é manifestada pela ocorrência de hiperexcitabilidade e convulsões. Nos cães, as alterações no SNC são predominantes. Os felinos, suínos, bovinos e roedores podem apresentar a forma mista, isto é, com manifestações clínicas cardíacas e neurológicas (Humphreys, 1988). Esta classificação, por grupos sintomáticos, vem sendo contestada, pois todas as manifestações clínicas descritas são comuns aos animais, em maior ou menor grau, dependendo da sensibilidade da espécie acometida (Sherley 2004).

Gatos intoxicados com o MFAS podem apresentar vômitos, sialorréia, respiração abdominal rápida, marcante hiperexcitabilidade à luz e a estímulos externos, vocalização, convulsões, midríase irresponsiva à luz (Gammie, 1980; Collicchio-Zuanaze et al., 2006). Ovinos intoxicados apresentam dispnéia, cianose, convulsões, falha cardíaca e morte súbita (Schultz et al., 1982).

A intoxicação, em ruminantes, ocorre principalmente pela ingestão de plantas tóxicas contendo como princípio ativo o monofluoroacetato de sódio e a manifestação clínica comum é a morte súbita (Kemmerling, 1996; Tokarnia et al., 2002). A espécie bovina é comumente acometida pelas plantas tóxicas como a *Palicourea marcgravii*, que contém o ácido monofluoroacético como princípio ativo, e que está presente nas pastagens do Brasil (Tokarnia & Döbereiner, 1986). Os animais subitamente caem ao chão, principalmente quando são colocados em movimento, e vão a óbito em poucos minutos, caracterizando um quadro de morte súbita pelo MFAS (Tokarnia et al., 1990). Em eqüinos intoxicados experimentalmente com a mesma planta tóxica, a sintomatologia neurológica é mais freqüente, como sudorese intensa, inquietação, tremores, movimentos involuntários da cabeça ou corpo com mioclonias,

incoordenação, flacidez labial, e também sinais cardiorrespiratórios menos intensos, como pulso jugular positivo, taquipnéia e mucosas congestas (Tokarnia et al., 1993).

Raabe (1981) estudou a inibição dos neurônios inibitórios no córtex motor de gatos adultos sob ação do MFAS, verificando o aumento da concentração de amônia no SNC. No entanto, o efeito do tóxico, nesta inibição, ocorreu por ação direta do MFAS no córtex cerebral e não mediado pelo aumento da amônia. O estudo mostrou que a inativação prévia da saída de íons cloro nos neurônios motores causa inibição cortical pós-sináptica da geração do potencial de ação.

Marrazzi & Holliday (1981) compararam as convulsões induzidas pela hipoglicemia insulínica com àquelas provocadas pelo MFAS e constataram que ambas são de origem metabólica, sendo que a primeira reduz a concentração de glicose para o cérebro, por reduzir a glicemia e conseqüentemente reduz todas as formas de oxidação da glicose. Já na intoxicação pelo MFAS, ocorre especificamente o bloqueio do ciclo de Krebs e as convulsões ocorrem pela diminuição do suprimento energético cerebral.

O MFAS também tem influência direta sobre o sistema efector da termorregulação. A ação do fluorocitrato no bloqueio seletivo do ciclo de Krebs provoca, secundariamente, uma diminuição na produção de calor e do metabolismo aeróbico com conseqüente hipotermia (Misustová et al., 1969).

A termorregulação também é influenciada pela produção e condutividade de calor do corpo, que é um fator físico e pela temperatura ambiente, que é um importante fator externo (Misustová et al. 1971; Haskins, 1995). A produção e a condutividade de calor corpóreo são altamente influenciadas pelo suprimento energético proveniente das reservas glicolíticas (Haskins, 1995).

Gatos intoxicados pelo MFAS apresentam frequentemente hipotermia (Collicchio-Zuanaze et al., 2006). Por outro lado, cães intoxicados com MFAS apresentam inicialmente hipertermia (De Paula, 2000), verificada durante os períodos de hiperexcitabilidade e convulsões tônico-clônicas.

3.3. Métodos diagnósticos e terapêuticos da intoxicação pelo MFAS

3.3.1. Aspectos clínicos e laboratoriais

O diagnóstico da intoxicação pelo MFAS é realizado basicamente pelo histórico de ingestão do tóxico e pelos achados clínicos. No entanto, os sinais clínicos da intoxicação são pouco específicos e existem poucos estudos relacionados ao diagnóstico, com o auxílio laboratorial, e ao prognóstico do animal intoxicado pelo MFAS (Chi et al., 1996 e 1999, O'Hagan, 2004).

Na intoxicação aguda pelo MFAS, o aparecimento dos sinais clínicos acontece, em média, a partir de 30 minutos a duas horas do contato com o tóxico. As intoxicações sub-agudas e crônicas podem ocorrer principalmente em ruminantes, sendo mais comum em ovelhas, com a ingestão crônica do monofluoroacetato encontrado em algumas espécies de plantas tóxicas (Oliver et al., 1979).

Gammie (1980) relatou um caso de intoxicação por MFAS em gato com quadro clínico de evolução de seis horas após ingestão do tóxico. O animal apresentou vômitos, respiração abdominal rápida, marcante hiperexcitabilidade à luz e aos estímulos externos, moderada congestão pulmonar bilateral, mucosas normocoradas e midríase irresponsiva à luz. Sialorréia e vocalização também foram observadas. Estas manifestações clínicas também foram verificadas em estudo de intoxicação experimental em gatos, além de hipotermia e alterações inespecíficas de repolarização ventricular (Collicchio-Zuanaze et al, 2006).

Em estudo retrospectivo no homem, Chi et al. (1996 e 1999) observaram que os sintomas comuns foram desconforto abdominal, vômito e diarreia. Os achados eletrocardiográficos apresentaram alterações inespecíficas de segmento ST e anormalidades na onda T. Hipocalcemia e hipocalemia foram as alterações eletrolíticas comuns. Concluíram também neste estudo, que quadros de hipotensão, acidose metabólica e aumento de creatinina sérica sugerem mau prognóstico.

Manifestações clínicas neurológicas também são descritas no homem com a ocorrência de convulsões tônico-clônicas, hiperexcitabilidade e desorientação (Robinson et al., 2002).

Insuficiência renal aguda oligúrica ou não-oligúrica também já foi descrita no homem e sugeriu a ocorrência de nefropatia na intoxicação pelo MFAS nesta espécie (Chung, 1984).

Coelhos intoxicados experimentalmente com o MFAS apresentaram alterações de comportamento, hipotermia, diminuição da frequência cardíaca, fibrilação ventricular e óbito geralmente após episódio convulsivo. Observaram que as convulsões e a fibrilação ventricular iniciavam, geralmente, após uma estimulação externa ou na contenção dos animais, sugerindo que o aumento na liberação de catecolaminas durante a intoxicação poderia exercer fator desencadeador das alterações cardíacas fatais nestes animais (Huang et al. 1980).

Peters et al. (1981) reportaram um caso de intoxicação sub-aguda ocupacional por MFAS no homem, cuja convulsões e arritmias cardíacas representaram sinais terminais.

O citrato sérico pode ser investigado como um indicador periférico da presença de compostos que inibam o seu metabolismo, como é o caso do MFAS, que exerce esta toxicidade por meio do seu metabólito tóxico, o fluorocitrato (Bosakowski & Levin, 1986). Estes autores compararam os efeitos deste composto em cães e ratos, nos quais o aumento dos níveis de citrato sérico estava relacionado ao aparecimento e à gravidade dos sinais clínicos e posterior óbito. Os níveis de cálcio sérico total são inversamente proporcionais aos níveis de citrato sérico, explicando assim, o efeito quelante do cálcio.

Egyed (1978) verificaram que a elevação dos níveis de citrato nos tecidos pode indicar intoxicação por compostos organofluorados em humanos. No entanto, em outro estudo da avaliação clínica e histopatológica da intoxicação por MFAS em ovelhas, Schultz et al. (1982) concluíram que os níveis de citrato no sangue ou tecidos não caracterizam valor diagnóstico definitivo.

Williamson (1967) estudou o efeito do MFAS no metabolismo da glicose na perfusão cardíaca, relacionando o acúmulo de citrato tecidual com seu efeito direto na inibição da enzima fosfofrutoquinase. Este autor concluiu que o MFAS afeta diretamente o metabolismo dos carboidratos, com efeitos deletérios sobre a função cardíaca, por inibição da glicólise e diminuição do suprimento energético.

O MFAS também aumenta os níveis de glicose e glicogênio séricos, assim como, a concentração de amônia cerebral. A hiperglicemia pode ser um achado consistente na intoxicação por este composto (Marrazzi & Holliday, 1981).

A hiperglicemia induzida pelo MFAS é decorrente do aumento dos níveis de cortisol endógeno, que tem seu metabolismo prejudicado pela diminuição dos níveis de ATP necessários para a metabolização do cortisol no fígado. Ocorre conseqüentemente

uma hiperglucagonemia acompanhada de hipoinsulinemia nos animais intoxicados (Ballard & Hyde 1967).

Schultz et al. (1982) estudaram as alterações macroscópicas e histopatológicas em ovelhas intoxicadas experimentalmente com MFAS e verificaram, à macroscopia, a presença de congestão venosa, edema pulmonar e hidropericárdio, hemorragias no epicárdio e endocárdio e palidez miocárdica; à histopatologia, esses achados foram confirmados, acrescidos de degeneração e necrose multifocal miocárdica.

Tokarnia et al. (1990) observaram áreas de necrose cardíaca, fígado em noz moscada com áreas de degeneração hidrópica, esteatose e necrose; infiltrado mononuclear, edemas generalizados com ascite e hidrotórax; degeneração hidrópica tubular e degeneração albuminosa granular nos bovinos intoxicados experimentalmente com MFAS. A degeneração renal hidrópica vacuolar, em ruminantes, pode ser encontrada em apenas 60% dos animais intoxicados experimentalmente com o ácido fluoroacético, não sendo, portanto diagnóstico definitivo da intoxicação.

Tokarnia et al. (1993), em estudo de intoxicação experimental com MFAS em eqüinos, não observaram alterações macroscópicas. No entanto, a histopatologia demonstrou degenerações renal e hepática, necrose miocárdica, gastroenterite com predomínio de polimorfonucleares e tumefação, vacuolização e necrose das células parietais.

Trabes et al. (1983) relataram um caso de intoxicação aguda em humano, cujo acompanhamento com repetidas tomografias computadorizadas demonstrou atrofia cerebral difusa, dilatações da cisterna basal, dos ventrículos laterais e do terceiro ventrículo. O paciente apresentou sinais agudos de náuseas, vômitos, dor abdominal, convulsões, coma e permaneceu com alterações neurológicas de disfunções cerebelares, distúrbios de memória e comportamento depressivo 18 meses após a intoxicação.

Um caso de intoxicação sub-aguda em homem foi relatado por Peters et al. (1981), com a ocorrência de óbito por pneumonia aspirativa. À autópsia, observaram congestões pulmonar, hepática e renal. A avaliação histopatológica demonstrou miocardite intersticial focal e congestões dos pulmões, fígado e rins.

O'Hagan (2004) apresentou um relato de sete cães intoxicados com o MFAS acidentalmente em uma propriedade na Austrália, que utilizou o tóxico para o controle de predadores domésticos. Estes animais vieram a óbito e à macroscopia, observou-se

palidez no trato gastrointestinal. Os achados histopatológicos foram congestão e hemorragia dos rins e pâncreas, além de congestão e degeneração gordurosa hepáticas.

Em outro estudo, os achados histopatológicos, em cães intoxicados cronicamente com 0,03 mg/kg/dia de MFAS via oral durante 3 meses, evidenciaram inúmeras vacuolizações cerebrais (Yamashita et al., 2004).

Intoxicações secundárias à ingestão de carcaças contaminadas e de resíduos tóxicos presentes no conteúdo do vômito de animais intoxicados pelo MFAS, são descritas na literatura (Heyward & Norbury, 1998; Gooneratne et al., 1995; Eason, 2002).

Schultz et al. (1982) e anteriormente Annison et al. (1960) concluíram que o MFAS tem efeito acumulativo em ovinos em doses sub-letais que podem causar o óbito destes animais em intoxicações crônicas.

Eason et al. (1994) estudaram os riscos do consumo de carnes ovina e caprina provenientes de áreas que utilizam o MFAS para o controle de predadores domésticos e também a possibilidade de intoxicação secundária no homem. Estes autores analisaram a presença de resíduos do tóxico no sangue, músculo, fígado e rins. A meia-vida plasmática do MFAS foi de 10,8 horas em ovinos e 5,4 horas nos caprinos e as concentrações nos demais órgãos foram inferiores às do plasma e persistiram em doses baixas por até 96 horas. No entanto, acreditam ser pouco provável a intoxicação no homem, secundária ao consumo da carne destes animais.

A persistência de resíduos em coelhos, intoxicados experimentalmente pelo MFAS, é dose-dependente e a concentração de 1080 nos músculos esqueléticos, rins e fígado foi significativamente menor do que no plasma. Esta concentração e a retenção do MFAS nos tecidos diminuem substancialmente com o tempo após a putrefação das carcaças (Gooneratne et al., 1995). Estes autores também sugeriram que a intoxicação secundária de cães seria possível devido a sua extrema sensibilidade ao tóxico, mas pouco provável em aves, que são mais resistentes.

O diagnóstico definitivo da intoxicação pelo MFAS pode ser realizado por meio da análise toxicológica e identificação do tóxico. A utilização de métodos qualitativos é a mais comum e estes foram desenvolvidos principalmente para detecção em iscas líquidas, amostras de solo, sangue, urina, tecidos e plantas tóxicas contendo o ácido fluoroacético (Sakai et al., 1981). Parte do MFAS pode ser excretada pela urina na sua forma não-metabolizada (Simonnet et al., 1974). O MFAS também é metabólito

cardiotóxico do quimioterápico 5-fluorouracil (Folb, 1984). Lemaire et al. (1992) detectaram o MFAS na urina de pacientes humanos tratados com 5-fluorouracil.

A técnica de cromatografia em camada delgada é utilizada para identificar o MFAS a partir de misturas extraídas de ácido fórmico e fluoreto de sódio para determinações fluorométricas em placas de celulose com a utilização do revelador Azul do Nilo a 0,4% (Mcgary et al., 1982; Sakai et al., 1981).

A análise quantitativa pode ser realizada com técnicas de cromatografia gasosa (CG) e cromatografia líquida de alta performance (HPLC) (Kramer, 1984; Ozawa & Tsukioka, 1989; Allender, 1990; Minnaar et al., 2000; Demarchi et al., 2001; Sporkert et al., 2002; Zeferino et al., 2005). O método em cromatografia gasosa foi desenvolvido a partir da determinação do MFAS como ácido livre em solventes aquosos (Kimball & Mishalaine, 1993). Estudos mais recentes descreveram um método bastante sensível por eletroforese de zona capilar, para detecção do MFAS em iscas contendo o rodenticida (Fuyu et al., 1996).

A determinação do MFAS em tecidos biológicos e iscas foi realizada por Allender (1990), por meio da cromatografia gasosa com extração em acetona e água e derivatização com brometo de pentafluorobenzil, demonstrando ser uma técnica de alta sensibilidade com baixos limites de detecção. Anteriormente, Casper et al. (1985) determinaram a quantificação do MFAS por cromatografia gasosa com espectrometria de massa e derivatização do extrato das amostras biológicas também em pentafluorobenzil. No entanto, a extração do MFAS foi realizada com a utilização de tungstato de sódio e acetato de etila.

Em outro estudo, Kimball & Mishalaine (1993) determinaram o MFAS como ácido livre em solvente aquoso por cromatografia gasosa com detector de massa seletivo utilizando colunas capilares de polietilenoglicol.

A determinação qualitativa do MFAS também foi realizada em rins, fígado e estômago e em iscas, com a utilização de ester benzil em cromatografia gasosa (Hoogenboom & Rammell, 1987). Estes autores compararam métodos de detecção com benzilação ativada por pirólise de sal de amônio quaternário e concluíram que os limites de detecção foram menores na detecção por foto-ionização, quando comparados ao método de detecção por ionização em chama.

Outro método descrito de análise do MFAS por cromatografia gasosa com espectrometria de massa (Sporkert et al., 2002), consistiu na microextração em MFAS sólida, por meio de amostras acidificadas de carboxi-divinilbenzeno, e derivatização

com 1-pirenildiazometano, demonstrando alta sensibilidade com baixos limites de detecção.

Demarchi et al. (2001) realizaram a otimização de um método descrito anteriormente por Ozawa & Tsukioka (1989), onde foram determinadas concentrações do MFAS por cromatografia gasosa em amostras de sangue de coelhos. A extração do MFAS otimizada foi obtida com a utilização de colunas de alumina e a derivatização em acetato de etila, utilizando-se o dicyclohexylcarbodiimide (DCC) como catalisador da reação e o 2,4 dichloroaniline (DCA) como agente da derivação para detecção no cromatógrafo. A purificação do derivado foi realizada com a utilização de acetonitrila e a injeção no cromatógrafo com hexano como a MFAS móvel.

Técnicas de cromatografia líquida de alta performance (HPLC) também foram descritas para determinação quantitativa do MFAS em amostras biológicas, iscas e para identificação do princípio ativo de plantas tóxicas como a *Dichapetalum cymosum* e *Palicourea marcgravii*, (Minnaar et al., 2000). Estes autores determinaram o MFAS em amostras de plantas tóxicas, fígado bovino e rúmen em HPLC com coluna orgânica de análise ácida à temperatura ambiente, ácido fosfórico como eluente e detecção ultravioleta. Concluíram que as características descritas proporcionaram uma boa quantificação do agente tóxico.

Em outro estudo, Minnaar et al. (2000) identificaram o MFAS em amostras biológicas mantidas à temperatura ambiente e concluíram que houve uma perda de 50% na identificação após 14 dias da colheita do material. Estes autores sugeriram que as amostras biológicas contendo MFAS devem ser analisadas em até 7 dias, se mantidas à temperatura ambiente.

Outro método descrito em cromatografia líquida consistiu na identificação do MFAS em iscas e formulações, onde os autores realizaram a extração em água e butanona e derivatização com acetonitrila (Kramer, 1984).

Os principais diagnósticos diferenciais da intoxicação pelo MFAS são feitos para as intoxicações por carbamatos e organofosforados, estricnina, organoclorados, também potentes pesticidas, e na intoxicação por chumbo (O'Hagan, 2004). A toxicidade e manifestações clínicas destes diferem quando comparadas às do MFAS, mas os sinais neurológicos agudos, principalmente no estágio convulsivo, são bastante similares. O exame toxicológico e o aumento dos níveis de citrato nos tecidos podem diferenciar a intoxicação pelo MFAS das demais descritas. (Egyed et al., 1977).

3.3.2. Tentativas terapêuticas na intoxicação pelo MFAS

A maioria das tentativas de reversão dos efeitos tóxicos do MFAS tem falhado e poucos estudos relatam uma terapia de sucesso absoluto contra esta intoxicação em animais domésticos (O'Hagan, 2004). O tratamento eficiente deve impedir a ação do fluorocitrato no bloqueio do ciclo de Krebs ou bloquear a rápida metabolização do monofluoroacetato em fluorocitrato, com a ação dos antídotos (Omara & Sisodia, 1990).

O emprego de compostos fornecedores de íons acetato como o monoacetato de glicerol (Monoacetin®) ou a acetamida, demonstrou resultados experimentais satisfatórios nas intoxicações pelo MFAS (Chenoweth et al., 1951). No entanto, existem controvérsias sobre sua eficácia, principalmente sobre o SNC, e quanto ao mecanismo de ação destes agentes. A ausência de convulsões com o uso do Monoacetin® indica que há diminuição na síntese do fluorocitrato ou interferência na passagem deste pela barreira hematoencefálica (Schvartsman, 1991).

Em outro estudo, Peters (1965) concluiu que o monoacetato de glicerol permite um prolongamento no tempo de sobrevivência quando fornecido até 20 minutos após a intoxicação, o que representaria o tempo de metabolização do monofluoroacetato em fluorocitrato após injeção intraperitonal em ratos.

Rammel et al. (1985) estudaram a eficácia do tratamento da intoxicação pelo MFAS em cães com monoacetato de glicerol e concluíram que são necessárias doses acima de 100mg/kg deste medicamento para se obter um aumento significativo nos níveis de acetato circulante.

O gluconato de cálcio a 10% também é indicado como tratamento coadjuvante para antagonizar a hipocalcemia causada pelo MFAS, e o succinato de sódio e o cetoglutarato alfa sódico foram selecionados, experimentalmente, como potentes antídotos em camundongos (Omara & Sisodia, 1990).

Um estudo realizado, em gatos, verificou que a intoxicação experimental pelo MFAS intravenoso causa significativa diminuição no cálcio ionizado e grave acidose metabólica com aumento nos níveis de lactato e piruvato (Taitelman et al., 1983). Neste mesmo estudo, os autores verificaram que a correção da hipocalcemia com cloreto de cálcio prolonga o período de sobrevivência dos animais intoxicados. No entanto, os animais tratados com Monoacetin® apresentaram um agravamento no quadro de acidose metabólica.

De Paula (2000) concluiu, em um estudo de intoxicação experimental por MFAS em cães, que não houve diferenças estatisticamente significativas entre os animais tratados com monoacetato de glicerol, gluconato de cálcio 10% e o grupo controle sem tratamento. No entanto, quando compararam a taxa de sobrevivência entre os grupos, verificaram maior sobrevivência entre os animais tratados com gluconato de cálcio.

Collicchio-Zuanaze et al. (2006) verificaram que o uso do succinato de sódio e gluconato de cálcio a 10%, como protocolo terapêutico na intoxicação por monofluoroacetato em gatos, permitiu uma normalização precoce do pH, dos íons bicarbonato e do cálcio ionizado. Houve uma reversão mais eficiente dos quadros de acidose metabólica e hipocalcemia. Além disso, o controle das convulsões tetânicas com o uso de anticonvulsivantes como os benzodiazepínicos e principalmente com barbitúricos foi essencial para a sobrevivência dos animais.

Norris et al. (2000) estudaram a descontaminação gastrointestinal com o uso de carvão ativado e cinco tipos de resinas de troca iônica, por via oral, em ratos intoxicados experimentalmente com MFAS e concluíram que o colestipol pode diminuir a mortalidade, se utilizado até 30 minutos após a intoxicação.

Huang et al. (1980) estudaram o efeito profilático da reserpina na prevenção dos distúrbios cardíacos causados pelos derivados do ácido monofluoroacético em coelhos. A reserpina preveniu a estimulação adrenérgica de aminas vasoativas, liberadas durante a intoxicação, como mecanismo compensatório para a deficiência do suprimento energético para o coração.

Um estudo retrospectivo, das formas de tratamento da intoxicação pelo MFAS, resumiu os benefícios da utilização do monoacetato de glicerol, acetamida, sais de cálcio, colestipol e carvão ativado (Goh et al. 2005). Este autor sugeriu também outras formas de terapia de suporte, como a realização de diálise peritoneal, o uso do bicarbonato de sódio e de neurotransmissores moduladores, tais como glutamina e GABA.

Estudos sobre os riscos da intoxicação acidental em pequenos animais e ocupacional em humanos sugerem que os cuidados necessários na industrialização e utilização do MFAS nos países autorizados devam ser extremos (Eason, 2002; Goh et al., 2005). Desta forma, os autores sugeriram a escolha de formas alternativas para o controle de roedores e predadores domésticos para diminuir a incidência de intoxicações pelo MFAS nestes países.

5. RESULTADOS

5.0. Sinais clínicos dos animais intoxicados como modelo experimental

Todos os animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS apresentaram sinais clínicos gastrointestinais quatro a seis horas após a intoxicação, com vários episódios de vômito líquido espumoso, de coloração branca a amarelada e fezes amolecidas com presença de muco ou estrias de sangue. Hipotermia, prostração, posição de dor abdominal, taquipnéia transitória, agitação, hiperexcitabilidade e tremores também foram sinais clínicos evidentes e de aparecimento progressivo.

Os sinais clínicos descritos precederam os episódios convulsivos, com variações individuais na intensidade e frequência, principalmente relacionadas aos episódios de vômito, defecação e taquipnéia transitória. Os episódios de vômito eram precedidos por miados “curtos” e salivação seguida de deglutições intermitentes.

O período de latência para a ocorrência da primeira convulsão nos animais, foi em média, de $12\text{h} \pm 1\text{h } 11\text{min}$ para os animais que sobreviveram e $10\text{h} \pm 4\text{h } 26\text{min}$ para os animais que vieram a óbito.

As convulsões foram precedidas pelo aumento do grau de hiperexcitabilidade, tremores generalizados e vocalização com miados “longos” e constantes, sendo caracterizadas pela ocorrência de espasticidade e rigidez dos membros e pescoço, fasciculações generalizadas, nistagmo, apnéia transitória e posterior relaxamento. Previamente os animais apresentaram taquipnéia, taquicardia, agitação, hiperexcitabilidade e hiperreflexia, midríase bilateral irresponsiva, vocalização e hipotermia.

5.1. Hemograma e contagem de plaquetas

5.1.1. Eritrograma

- Hemácias

Os valores médios das hemácias, dos animais intoxicados experimentalmente com o MFAS, não apresentaram diferenças significativas ($P>0,05$) entre os momentos. A Tabela 1 e Figura 8 mostram os valores médios e desvios padrões das hemácias destes animais.

Os valores individuais de todas as variáveis analisadas no hemograma e contagem de plaquetas estão apresentadas nas tabelas A a M nos apêndices.

Tabela 1. Valores médios das hemácias (células/ μ L) e desvios padrões (dp) segundo momentos de avaliações

	MOMENTOS				
	M1 ⁽ⁿ⁼¹⁶⁾	M2 ⁽ⁿ⁼¹⁶⁾	M3 ⁽ⁿ⁼¹⁶⁾	M4 ⁽ⁿ⁼⁹⁾	M5 ⁽ⁿ⁼⁹⁾
Médias	7367574 ^a	7971471 ^a	7465882 ^a	6950000 ^a	7164667 ^a
dp	± 1480896	± 1498572	± 1067556	$\pm 982434,6$	± 892522

M1 (antes da intoxicação), M2 (6 horas após a intoxicação), M3 (logo após convulsão), M4 (30 horas após intoxicação) e M5 (96 horas após intoxicação) dos animais intoxicados experimentalmente com MFAS; médias seguidas de letras iguais não diferem significativamente ($P>0,05$).

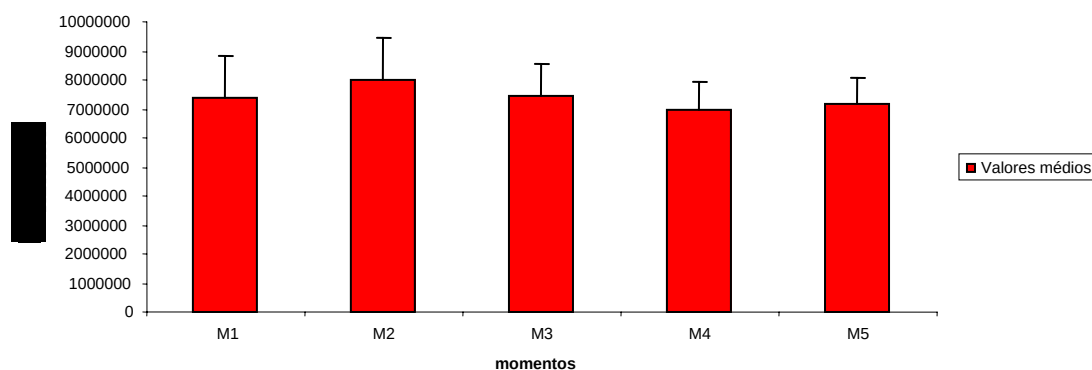


Figura 8. Valores médios de hemácias (células/μL) e desvios padrões segundo momentos M1ⁿ⁼¹⁶ (antes da intoxicação), M2ⁿ⁼¹⁶ (6 horas após a intoxicação), M3ⁿ⁼¹⁶ (logo após convulsão), M4ⁿ⁼⁹ (30 horas após intoxicação) e M5ⁿ⁼⁹ (96 horas após intoxicação) dos animais intoxicados experimentalmente com MFAS.

- Hemoglobina

Os valores médios de hemoglobina, dos animais intoxicados com MFAS, apresentaram diminuição significativa ($P < 0,05$) nos momentos M4 e M5 quando comparados ao M2. Estes valores, bem como os desvios padrões estão demonstrados na Tabela 2 e Figura 9 a seguir.

Tabela 2. Valores médios de hemoglobina (g/dL) e desvios padrões (dp) segundo momentos de avaliações

	MOMENTOS				
	M1 ⁽ⁿ⁼¹⁶⁾	M2 ⁽ⁿ⁼¹⁶⁾	M3 ⁽ⁿ⁼¹⁶⁾	M4 ⁽ⁿ⁼⁹⁾	M5 ⁽ⁿ⁼⁹⁾
Média	12,9 ^{abc}	13,8 ^{ab}	12,65 ^{abc}	11,83 ^{ac}	11,62 ^{ac}
dp	± 1.69	± 1.73	± 1.30	± 1.10	± 1.39

M1 (antes da intoxicação), M2 (6 horas após a intoxicação), M3 (logo após convulsão), M4 (30 horas após intoxicação) e M5 (96 horas após intoxicação) dos animais intoxicados experimentalmente com MFAS; médias seguidas de letras iguais não diferem significativamente ($P > 0,05$).

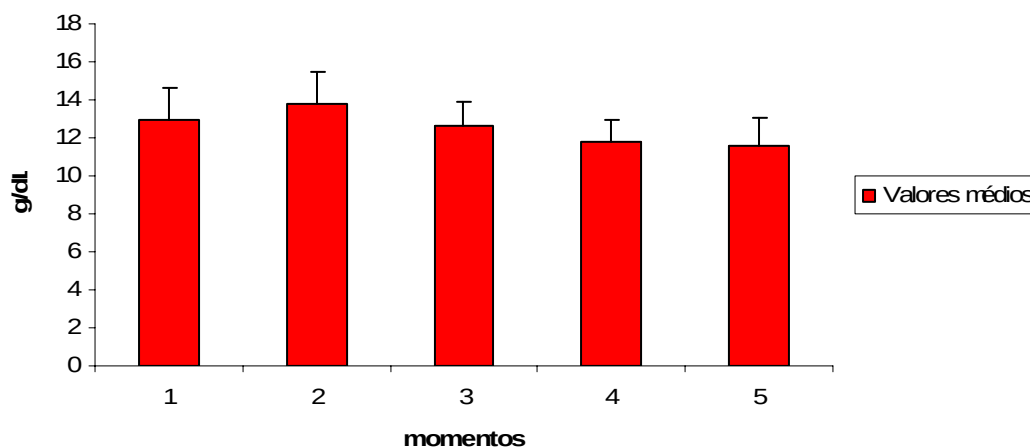


Figura 9. Valores médios de Hb (g/dL) e desvios padrões segundo momentos M1ⁿ⁼¹⁶ (antes da intoxicação), M2ⁿ⁼¹⁶ (6 horas após a intoxicação), M3ⁿ⁼¹⁶ (logo após convulsão), M4ⁿ⁼⁹ (30 horas após intoxicação) e M5ⁿ⁼⁹ (96 horas após intoxicação) dos animais intoxicados experimentalmente com MFAS.

- Volume globular ou hematócrito (%)

Os valores médios do volume globular, dos animais intoxicados experimentalmente com o MFAS, apresentaram diminuição significativa ($P < 0,05$) entre os momentos M3, M4 e M5 quando comparados ao M2. Os momentos M4 e M5 também mostraram uma diferença significativa ($P < 0,05$) entre o M1. Os valores médios e respectivos desvios padrões estão demonstrados a seguir, na Tabela 3 e Figura 10.

Tabela 3. Valores médios do volume globular (%) e respectivos desvios padrões (dp) segundo momentos de avaliações

	MOMENTOS				
	M1 (n=16)	M2 (n=16)	M3 (n=16)	M4 (n=9)	M5 (n=9)
Médias	37 ^{abc}	40 ^{ab}	36 ^{ac}	34 ^c	33 ^c
dp	± 4.66	± 4.16	± 3.17	± 3.79	± 3.71

M1 (antes da intoxicação), M2 (6 horas após a intoxicação), M3 (logo após convulsão), M4 (30 horas após intoxicação) e M5 (96 horas após intoxicação) dos animais intoxicados experimentalmente com MFAS; médias seguidas de letras iguais não diferem significativamente ($P > 0,05$).

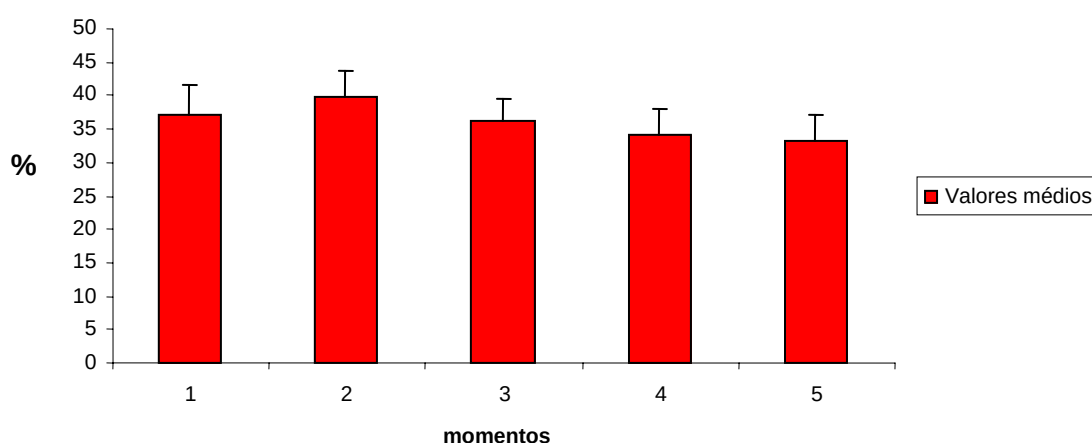


Figura 10. Valores médios e desvios padrões do volume globular (%) segundo momentos M1ⁿ⁼¹⁶ (antes da intoxicação), M2ⁿ⁼¹⁶ (6 horas após a intoxicação), M3ⁿ⁼¹⁶ (logo após convulsão), M4ⁿ⁼⁹ (30 horas após intoxicação) e M5ⁿ⁼⁹ (96 horas após intoxicação) dos animais intoxicados experimentalmente com MFAS.

- Proteína plasmática total

Os valores médios de proteína plasmática total nos diferentes momentos e desvios padrões, dos animais intoxicados experimentalmente com MFAS, estão demonstrados a seguir (Tabela 4 e Figura 11). Não houve diferenças significativas.

Tabela 4. Valores médios da proteína plasmática total (g/dL) e respectivos desvios padrões segundo momentos de avaliações

	MOMENTOS				
	M1 ⁽ⁿ⁼¹⁶⁾	M2 ⁽ⁿ⁼¹⁶⁾	M3 ⁽ⁿ⁼¹⁶⁾	M4 ⁽ⁿ⁼⁹⁾	M5 ⁽ⁿ⁼⁹⁾
Médias	7,21 ^a	7,41 ^a	6,94 ^a	6,76 ^a	6,88 ^a
dp	± 0.67	±0.74	±1.16	±0.73	±0.58

M1 (antes da intoxicação), M2 (6 horas após a intoxicação), M3 (logo após convulsão), M4 (30 horas após intoxicação) e M5 (96 horas após intoxicação) dos animais intoxicados experimentalmente com MFAS; médias seguidas de letras iguais não diferem significativamente ($P>0,05$).

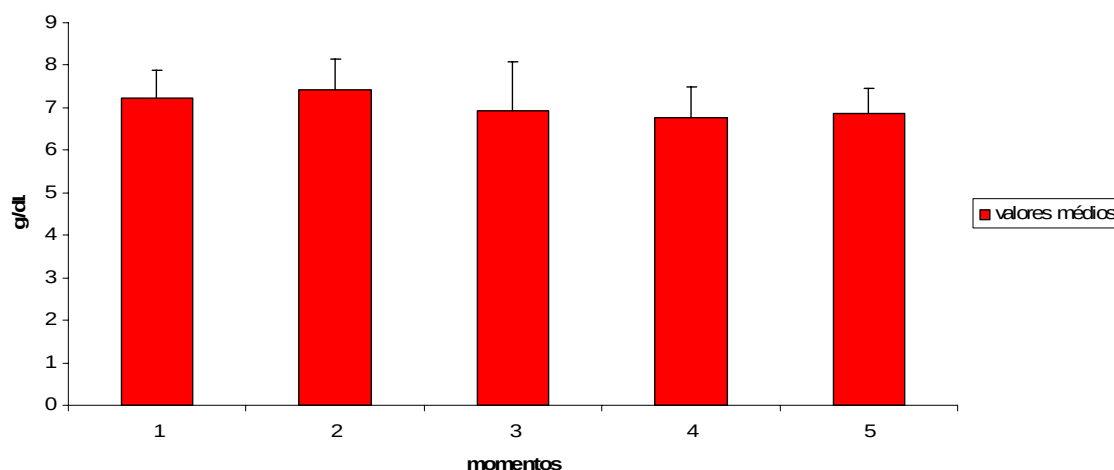


Figura 11. Valores médios e desvios padrões de proteína plasmática total (g/dL) segundo M1ⁿ⁼¹⁶ (antes da intoxicação), M2ⁿ⁼¹⁶ (6 horas após a intoxicação), M3ⁿ⁼¹⁶ (logo após convulsão), M4ⁿ⁼⁹ (30 horas após intoxicação) e M5ⁿ⁼⁹ (96 horas após intoxicação) dos animais intoxicados experimentalmente com MFAS.

5.1.2. Leucograma

- Leucócitos Totais

Os valores médios de leucócitos totais, dos animais intoxicados experimentalmente com o MFAS, apresentaram redução significativa ($P < 0,05$) no M4 quando comparados aos demais momentos. Houve também uma redução no M5 quando comparado ao M1, sendo demonstrados a seguir (Tabela 5 e Figura 12).

Tabela 5. Valores médios de leucócitos totais (células/ μ L) e respectivos desvios padrões (dp) segundo momentos de avaliações

	MOMENTOS				
	M1 ⁽ⁿ⁼¹⁶⁾	M2 ⁽ⁿ⁼¹⁶⁾	M3 ⁽ⁿ⁼¹⁶⁾	M4 ⁽ⁿ⁼⁹⁾	M5 ⁽ⁿ⁼⁹⁾
Médias	17219 ^a	12006 ^{ab}	12662 ^{ab}	2312 ^c	11834 ^{ab}
dp	±8972	±7180	± 9409	±1636	±3327

M1 (antes da intoxicação), M2 (6 horas após a intoxicação), M3 (logo após convulsão), M4 (30 horas após intoxicação) e M5 (96 horas após intoxicação) dos animais intoxicados experimentalmente com MFAS; médias seguidas de letras iguais não diferem significativamente ($P > 0,05$).

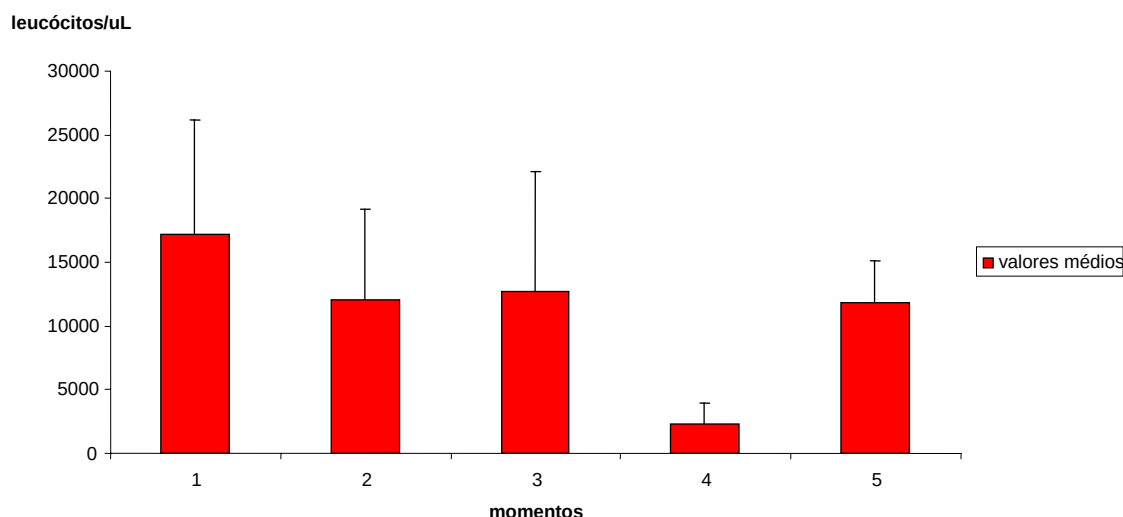


Figura 12. Valores médios e desvios padrões de leucócitos (células/ μ L) segundo momentos M1ⁿ⁼¹⁶ (antes da intoxicação), M2ⁿ⁼¹⁶ (6 horas após a intoxicação), M3ⁿ⁼¹⁶ (logo após convulsão), M4ⁿ⁼⁹ (30 horas após intoxicação) e M5ⁿ⁼⁹ (96 horas após intoxicação) dos animais intoxicados experimentalmente com MFAS.

- Neutrófilos segmentados

Com relação aos valores médios relativos de neutrófilos segmentados, dos animais intoxicados experimentalmente com o MFAS, (Tabela 6 e Figura 13), houve uma redução significativa ($P < 0,05$) no M4 quando comparados aos demais momentos, mantendo valores reduzidos no M5 se comparado ao M3. Já com relação aos valores absolutos médios dos neutrófilos segmentados, houve uma redução significativa ($P < 0,05$) no M4 quando comparados aos dos demais momentos (Tabela 7 e Figura 14).

Tabela 6. Valores médios relativos de neutrófilos segmentados (%) e respectivos desvios padrões segundo momentos de avaliações

	MOMENTOS				
	M1 (n=16)	M2 (n=16)	M3 (n=16)	M4 (n=9)	M5 (n=9)
Médias	66,44 ^{ab}	67,82 ^{abc}	74 ^{ab}	21,78 ^d	53,44 ^{ac}
dp	±12.76	±11.91.	±8.66	±26.83	±13.10

M1 (antes da intoxicação), M2 (6 horas após a intoxicação), M3 (logo após convulsão), M4 (30 horas após intoxicação) e M5 (96 horas após intoxicação) dos animais intoxicados experimentalmente com MFAS; médias seguidas de letras iguais não diferem significativamente ($P > 0,05$).

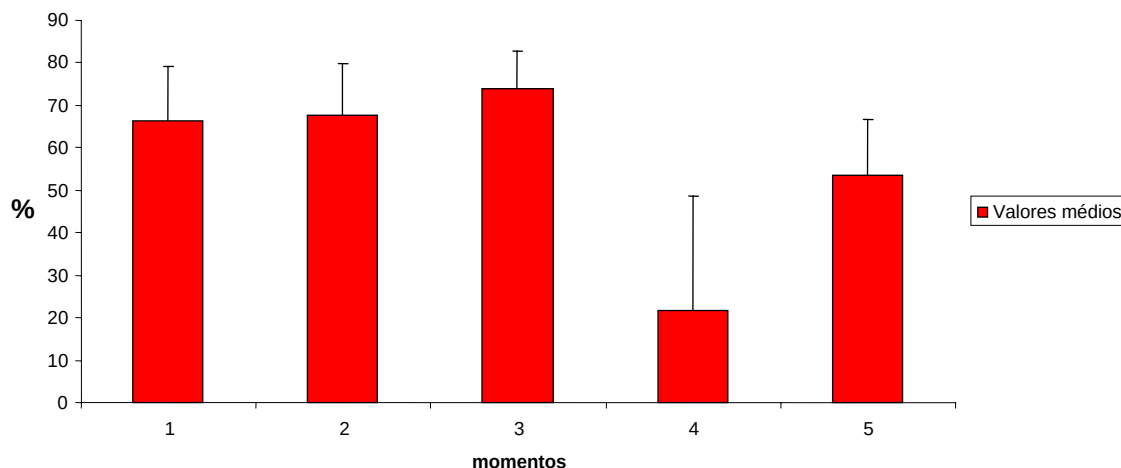


Figura 13. Valores médios relativos e desvios padrões de neutrófilos segmentados (%) segundo momentos M1ⁿ⁼¹⁶ (antes da intoxicação), M2ⁿ⁼¹⁶ (6 horas após a intoxicação), M3ⁿ⁼¹⁶ (logo após convulsão), M4ⁿ⁼⁹ (30 horas após intoxicação) e M5ⁿ⁼⁹ (96 horas após intoxicação) dos animais intoxicados experimentalmente com MFAS.

Tabela 7. Valores médios absolutos de neutrófilos segmentados (células/ μ L) e respectivos desvios padrões segundo momentos de avaliações

	MOMENTOS				
	M1 (n=16)	M2 (n=16)	M3 (n=16)	M4 (n=9)	M5 (n=9)
Médias	11898 ^a	8610 ^a	9695 ^a	738 ^b	6427 ^a
dp	± 7935.30	± 5786.12	± 7016.44	± 1431.72	± 2537.66

M1 (antes da intoxicação), M2 (6 horas após a intoxicação), M3 (logo após convulsão), M4 (30 horas após intoxicação) e M5 (96 horas após intoxicação) dos animais intoxicados experimentalmente com MFAS; médias seguidas de letras iguais não diferem significativamente ($P > 0,05$).

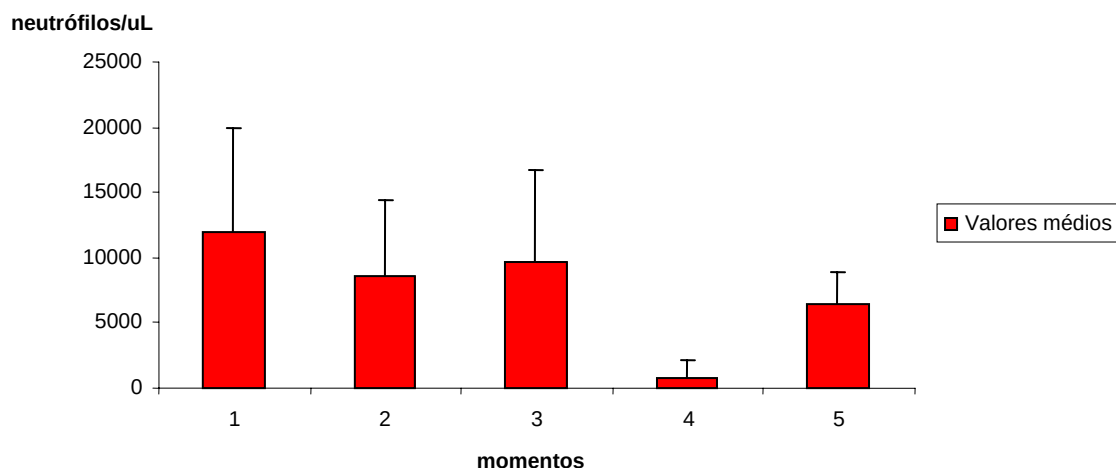


Figura 14. Valores médios absolutos e desvios padrões de neutrófilos segmentados (células/μL) segundo momentos M1ⁿ⁼¹⁶ (antes da intoxicação), M2ⁿ⁼¹⁶ (6 horas após a intoxicação), M3ⁿ⁼¹⁶ (logo após convulsão), M4ⁿ⁼⁹ (30 horas após intoxicação) e M5ⁿ⁼⁹ (96 horas após intoxicação) dos animais intoxicados experimentalmente com MFAS.

- Neutrófilos bastonetes

Os animais intoxicados experimentalmente com MFAS, não apresentaram bastonetes no leucograma diferencial em nenhum dos momentos pré-estabelecidos durante o experimento.

- Linfócitos

Os valores médios relativos de linfócitos (Tabela 8 e Figura 15), dos animais intoxicados experimentalmente com o MFAS, apresentaram aumento significativo ($P < 0,05$) no momento M4 quando comparados aos momentos M1, M2 e M3. O número de linfócitos absolutos (Tabela 9 e Figura 16) apresentou uma diminuição ($P < 0,05$) nos momentos M3 e M4 quando comparados ao M1.

Tabela 8. Valores médios relativos de linfócitos (%) e respectivos desvios padrões (dp) segundo momentos de avaliações

	MOMENTOS				
	M1 (n=16)	M2 (n=16)	M3 (n=16)	M4 (n=9)	M5 (n=9)
Médias	20,63 ^a	18,38 ^a	15,32 ^a	65,33 ^b	30,78 ^{ab}
dp	±7.19	±10.66	±6.24	±25.70	±11.47

M1 (antes da intoxicação), M2 (6 horas após a intoxicação), M3 (logo após convulsão), M4 (30 horas após intoxicação) e M5 (96 horas após intoxicação) dos animais intoxicados experimentalmente com MFAS; médias seguidas de letras iguais não diferem significativamente ($P > 0,05$).

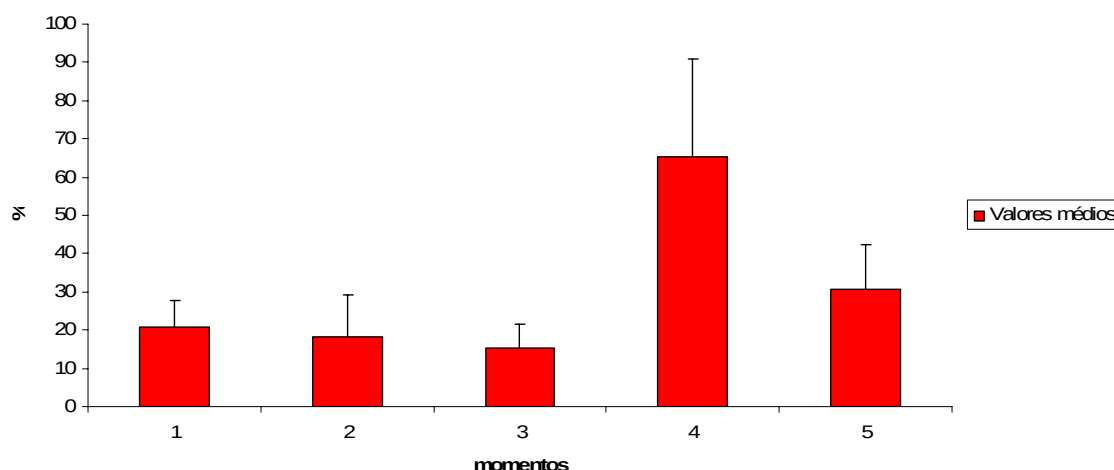


Figura 15. Valores médios relativos e desvios padrões de linfócitos (%) segundo momentos M1ⁿ⁼¹⁶ (antes da intoxicação), M2ⁿ⁼¹⁶ (6 horas após a intoxicação), M3ⁿ⁼¹⁶ (logo após convulsão), M4ⁿ⁼⁹ (30 horas após intoxicação) e M5ⁿ⁼⁹ (96 horas após intoxicação) dos animais intoxicados experimentalmente com MFAS.

Tabela 9. Valores médios absolutos de linfócitos (células/ μ L) e respectivos desvios padrões (dp) segundo momentos de avaliações

	MOMENTOS				
	M1 (n=16)	M2 (n=16)	M3 (n=16)	M4 (n=9)	M5 (n=9)
Médias	3159 ^a	2000 ^{ab}	1699 ^b	1341 ^b	3948 ^{ab}
dp	± 1266.71	± 1501.76	± 976.44	± 1206.77	± 2033.33

M1 (antes da intoxicação), M2 (6 horas após a intoxicação), M3 (logo após convulsão), M4 (30 horas após intoxicação) e M5 (96 horas após intoxicação) dos animais intoxicados experimentalmente com MFAS; médias seguidas de letras iguais não diferem significativamente ($P > 0,05$).

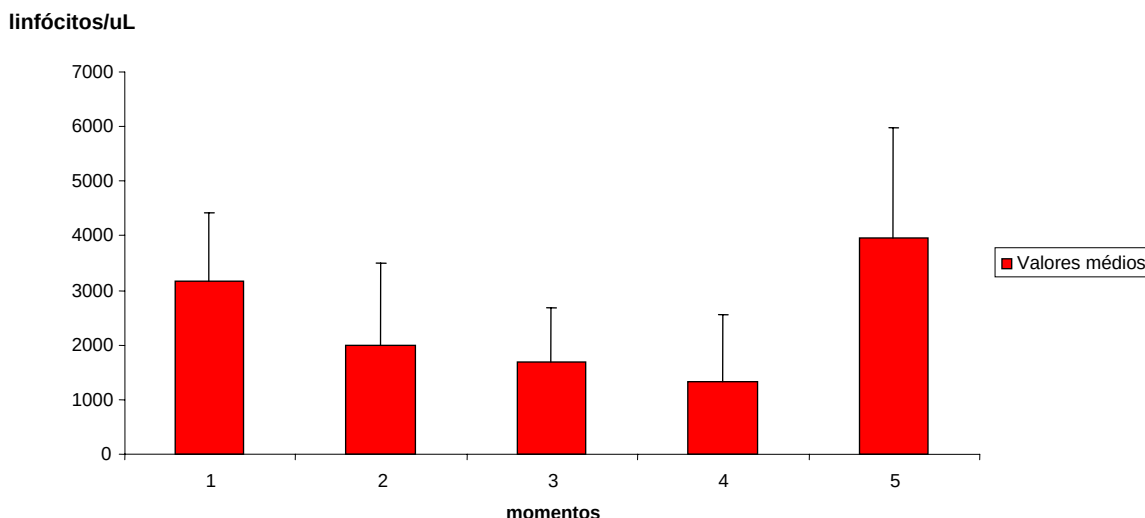


Figura 16. Valores médios absolutos e desvios padrões de linfócitos (células/μL) segundo momentos M1ⁿ⁼¹⁶ (antes da intoxicação), M2ⁿ⁼¹⁶ (6 horas após a intoxicação), M3ⁿ⁼¹⁶ (logo após convulsão), M4ⁿ⁼⁹ (30 horas após intoxicação) e M5ⁿ⁼⁹ (96 horas após intoxicação) dos animais intoxicados experimentalmente com MFAS.

- Eosinófilos e monócitos

Os valores médios relativos de eosinófilos, dos animais intoxicados experimentalmente com o MFAS, apresentaram uma redução relativa e significativa ($P < 0,05$) no M4 quando comparado aos demais momentos (Tabela 10 e Figura 17). Já os valores absolutos apresentaram redução significativa ($P < 0,05$) a partir do M3, progredindo até o M4 (Tabela 11 e Figura 18). Os monócitos relativos apresentaram um aumento relativo e gradativo a partir do momento M3, sendo significativo ($P < 0,05$) no M4 quando comparado aos momentos M1 e M2 (Tabela 12 e Figura 19). Seus valores absolutos apresentaram diminuição significativa ($P < 0,05$) nos momentos M2 e M4, sendo intermitente quando comparados os valores nos demais momentos (Tabela 13 e Figura 20).

Tabela 10. Valores médios relativos de eosinófilos (%) e respectivos desvios padrões (dp) segundo momentos de avaliações

	MOMENTOS				
	M1 (n=16)	M2 (n=16)	M3 (n=16)	M4 (n=9)	M5 (n=9)
Médias	10 ^a	11,20 ^a	7 ^a	0,8 ^b	8,70 ^a
dp	±7,55	±6,46	±6,20	±0,98	±4,90

M1 (antes da intoxicação), M2 (6 horas após a intoxicação), M3 (logo após convulsão), M4 (30 horas após intoxicação) e M5 (96 horas após intoxicação) dos animais intoxicados experimentalmente com MFAS; médias seguidas de letras iguais não diferem significativamente ($P > 0,05$).

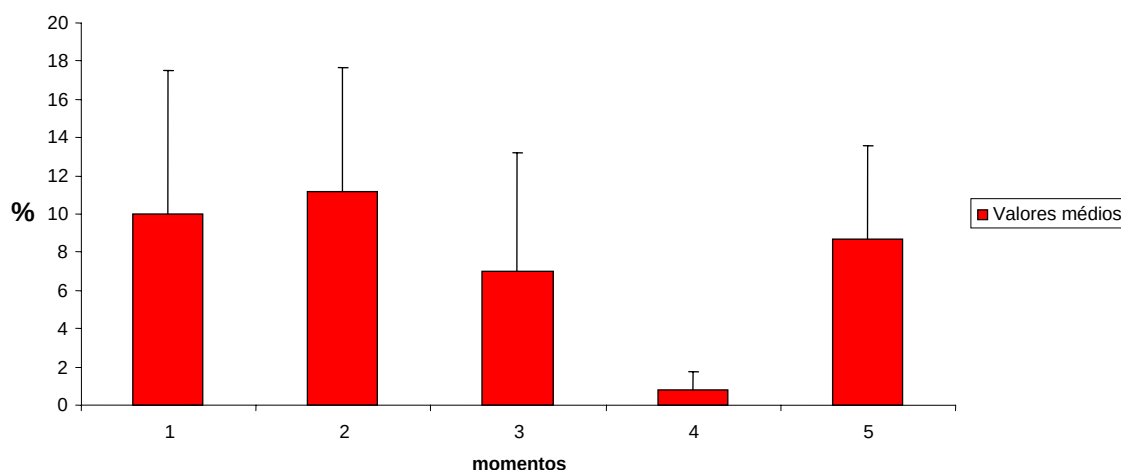


Figura 17. Valores médios relativos e desvios padrões de eosinófilos (%) segundo momentos M1ⁿ⁼¹⁶ (antes da intoxicação), M2ⁿ⁼¹⁶ (6 horas após a intoxicação), M3ⁿ⁼¹⁶ (logo após convulsão), M4ⁿ⁼⁹ (30 horas após intoxicação) e M5ⁿ⁼⁹ (96 horas após intoxicação) dos animais intoxicados experimentalmente com MFAS.

Tabela 11. Valores médios absolutos de eosinófilos (células/ μ L) e respectivos desvios padrões (dp) segundo momentos de avaliações

GRUPOS	MOMENTOS				
	M1 (n=16)	M2 (n=16)	M3 (n=16)	M4 (n=9)	M5 (n=9)
Médias	1721 ^a	1345 ^{ab}	886 ^b	185 ^c	1030 ^{ab}
dp	± 677	$\pm 463,83$	$\pm 583,36$	± 16	$\pm 163,02$

M1 (antes da intoxicação), M2 (6 horas após a intoxicação), M3 (logo após convulsão), M4 (30 horas após intoxicação) e M5 (96 horas após intoxicação) dos animais intoxicados experimentalmente com MFAS; médias seguidas de letras iguais não diferem significativamente ($P > 0,05$).

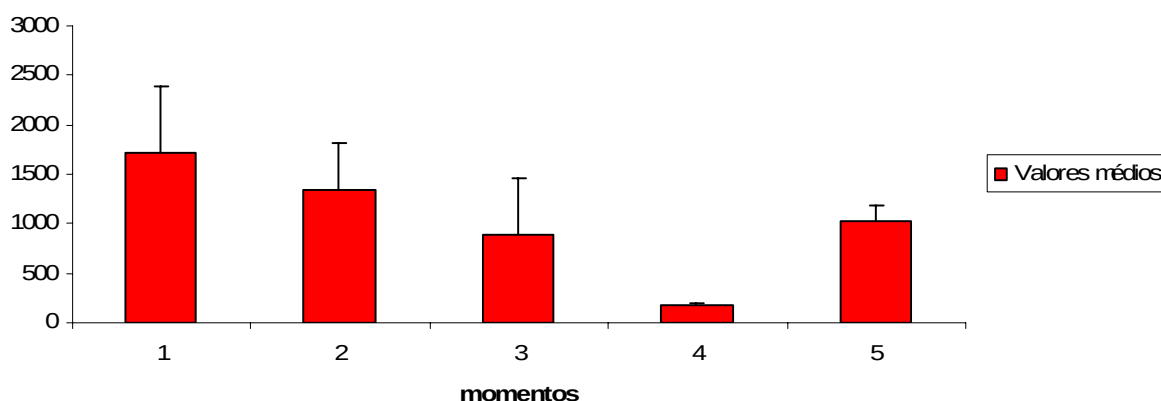


Figura 18. Valores médios absolutos e desvios padrões de eosinófilos (células/μL) segundo momentos M1ⁿ⁼¹⁶ (antes da intoxicação), M2ⁿ⁼¹⁶ (6 horas após a intoxicação), M3ⁿ⁼¹⁶ (logo após convulsão), M4ⁿ⁼⁹ (30 horas após intoxicação) e M5ⁿ⁼⁹ (96 horas após intoxicação) dos animais intoxicados experimentalmente com MFAS.

Tabela 12. Valores médios relativos de monócitos (%) e respectivos desvios padrões (dp) segundo momentos de avaliações

GRUPOS	MOMENTOS				
	M1 (n=16)	M2 (n=16)	M3 (n=16)	M4 (n=9)	M5 (n=9)
Médias	2,56 ^a	2,13 ^a	3,69 ^{ab}	11,89 ^b	6,11 ^b
dp	±1,51	±1,75	±2,42	±10,63	±4,28

M1 (antes da intoxicação), M2 (6 horas após a intoxicação), M3 (logo após convulsão), M4 (30 horas após intoxicação) e M5 (96 horas após intoxicação) dos animais intoxicados experimentalmente com MFAS; médias seguidas de letras iguais não diferem significativamente ($P>0,05$).

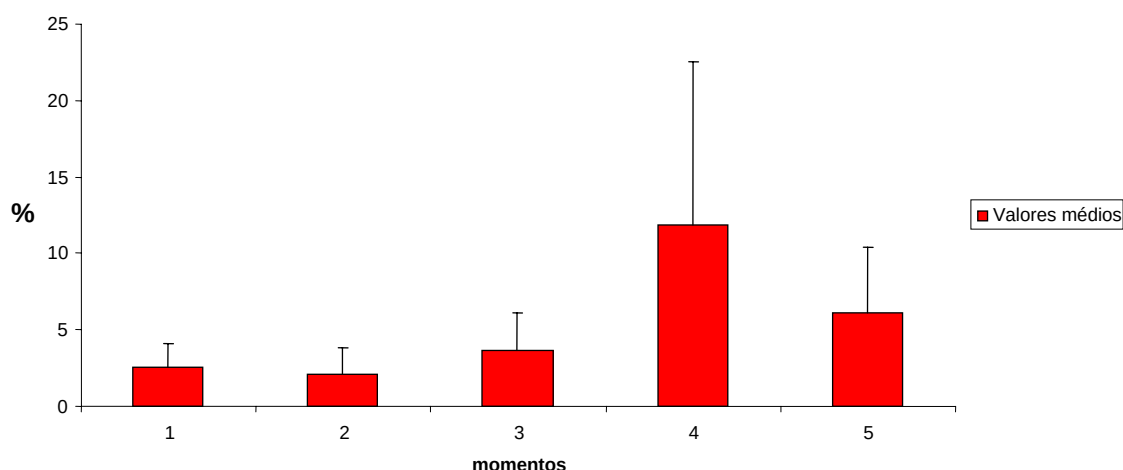


Figura 19. Valores médios relativos e desvios padrões de monócitos (%) segundo momentos M1ⁿ⁼¹⁶ (antes da intoxicação), M2ⁿ⁼¹⁶ (6 horas após a intoxicação), M3ⁿ⁼¹⁶ (logo após convulsão), M4ⁿ⁼⁹ (30 horas após intoxicação) e M5ⁿ⁼⁹ (96 horas após intoxicação) dos animais intoxicados experimentalmente com MFAS.

Tabela 13. Valores médios absolutos de monócitos (células/ μ L) e respectivos desvios padrões (dp) segundo momentos de avaliações

GRUPOS	MOMENTOS				
	M1 ⁽ⁿ⁼¹⁶⁾	M2 ⁽ⁿ⁼¹⁶⁾	M3 ⁽ⁿ⁼¹⁶⁾	M4 ⁽ⁿ⁼⁹⁾	M5 ⁽ⁿ⁼⁹⁾
Médias	440,80 ^a	255,72 ^b	467,22 ^a	274,89 ^b	723,05 ^c
dp	±135,48	±125,65	±227,69	±173,91	±142,39

M1 (antes da intoxicação), M2 (6 horas após a intoxicação), M3 (logo após convulsão), M4 (30 horas após intoxicação) e M5 (96 horas após intoxicação) dos animais intoxicados experimentalmente com MFAS; médias seguidas de letras iguais não diferem significativamente ($P > 0,05$).

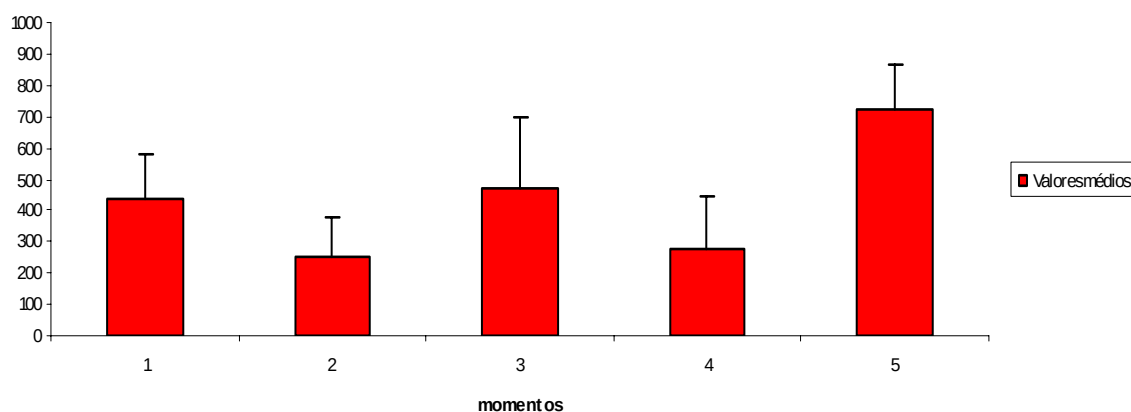


Figura 20. Valores médios absolutos e desvios padrões de monócitos (células/μL) segundo momentos M1ⁿ⁼¹⁶ (antes da intoxicação), M2ⁿ⁼¹⁶ (6 horas após a intoxicação), M3ⁿ⁼¹⁶ (logo após convulsão), M4ⁿ⁼⁹ (30 horas após intoxicação) e M5ⁿ⁼⁹ (96 horas após intoxicação) dos animais intoxicados experimentalmente com MFAS.

4.1.3. Contagem de plaquetas

Os valores médios de plaquetas, dos animais intoxicados experimentalmente com o MFAS, apresentaram uma redução gradativa e significativa ($P < 0,05$) nos momentos M2, M3 e M4 quando comparados aos momentos M1 e M5. Esta redução foi mais pronunciada no momento M4 (Tabela 14 e Figura 21).

Tabela 14. Valores médios de plaquetas (células/μL) e respectivos desvios padrões (dp) segundo momentos de avaliações

	MOMENTOS				
	M1 (n=16)	M2 (n=16)	M3 (n=16)	M4 (n=9)	M5 (n=9)
Médias	354468,8 ^a	140156,3 ^b	145312,5 ^b	24166,7 ^c	364444,4 ^a
dp	±116618.8	±53068.1	±123396	±22114.8	±98779.9

M1 (antes da intoxicação), M2 (6 horas após a intoxicação), M3 (logo após convulsão), M4 (30 horas após intoxicação) e M5 (96 horas após intoxicação) dos animais intoxicados experimentalmente com MFAS; médias seguidas de letras iguais não diferem significativamente ($P > 0,05$).

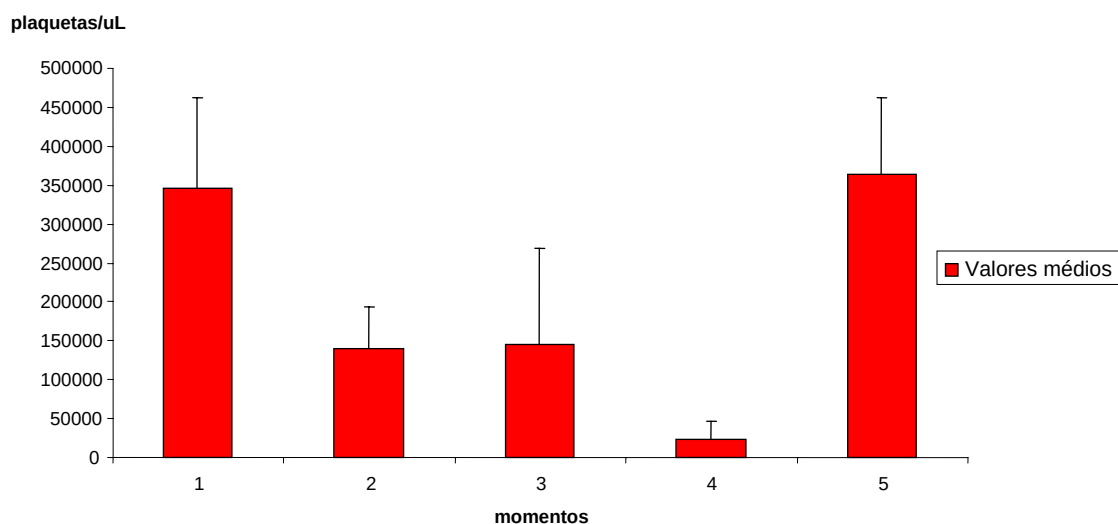


Figura 21. Valores médios e desvios padrões de plaquetas (células/ μ L) segundo momentos $M1^{n=16}$ (antes da intoxicação), $M2^{n=16}$ (6 horas após a intoxicação), $M3^{n=16}$ (logo após convulsão), $M4^{n=9}$ (30 horas após intoxicação) e $M5^{n=9}$ (96 horas após intoxicação) dos animais intoxicados experimentalmente com MFAS.

5.2. BIOQUÍMICA SÉRICA

- Glicose

Os valores médios de glicose sérica, dos animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS, apresentaram um aumento significativo nos momentos M2 e M3 ($P < 0,05$), retornando aos valores normais no M4, sendo demonstrados a seguir (Tabela 15 e Figura 22).

Os valores individuais de todas as variáveis analisadas na bioquímica sérica estão apresentados nas tabelas N a BB nos apêndices.

Tabela 15. Valores médios e desvios padrões de glicose sérica (mg/dL) (dp) segundo momentos de avaliações

	MOMENTOS			
	M1 (n=16)	M2 (n=16)	M3 (n=16)	M4 (n=9)
Médias	97,88 ^a	273,88 ^b	251,03 ^b	116,72 ^a
dp	±20,54	±83,21	±73,45	±22,86

M1 (antes da intoxicação), M2 (6 horas após a intoxicação), M3 (logo após convulsão) e M4 (30 horas após a intoxicação) nos animais intoxicados pelo MFAS; médias seguidas de letras iguais não diferem significativamente ($P > 0,05$).

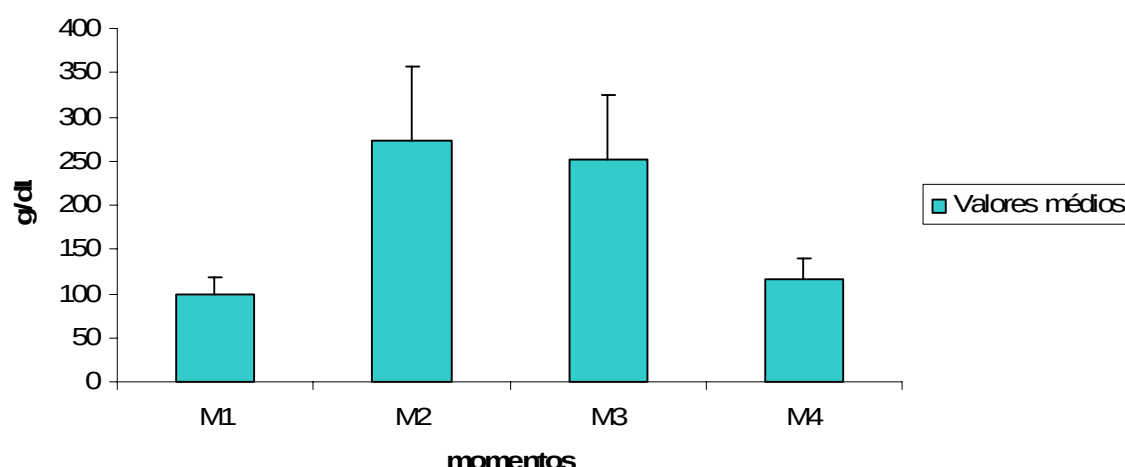


Figura 22. Valores médios e desvios padrões de glicose (mg/dL) segundo momentos M1 (antes da intoxicação), M2 (6 horas após a intoxicação), M3 (logo após convulsão) e M4 (30 horas após a intoxicação) nos animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS.

- Creatinina e Uréia

Os valores médios de creatinina (Tabela 16 e Figura 23) e uréia séricas (Tabela 17 e Figura 24), dos animais intoxicados pelo MFAS, não apresentaram modificações significativas ($P>0,05$) durante o período do experimento.

Tabela 16. Valores médios e desvios padrões de creatinina sérica (mg/dL) (dp) segundo momentos de avaliações

	MOMENTOS			
	M1 (n=16)	M2 (n=16)	M3 (n=16)	M4 (n=9)
Médias	0,91 ^a	0,85 ^a	0,80 ^a	1,00 ^a
dp	±0,20	±0,12	±0,15	±0,39

M1 (antes da intoxicação), M2 (6 horas após a intoxicação), M3 (logo após convulsão) e M4 (30 horas após intoxicação) nos animais intoxicados pelo MFAS; médias seguidas de letras iguais não diferem significativamente ($P>0,05$).

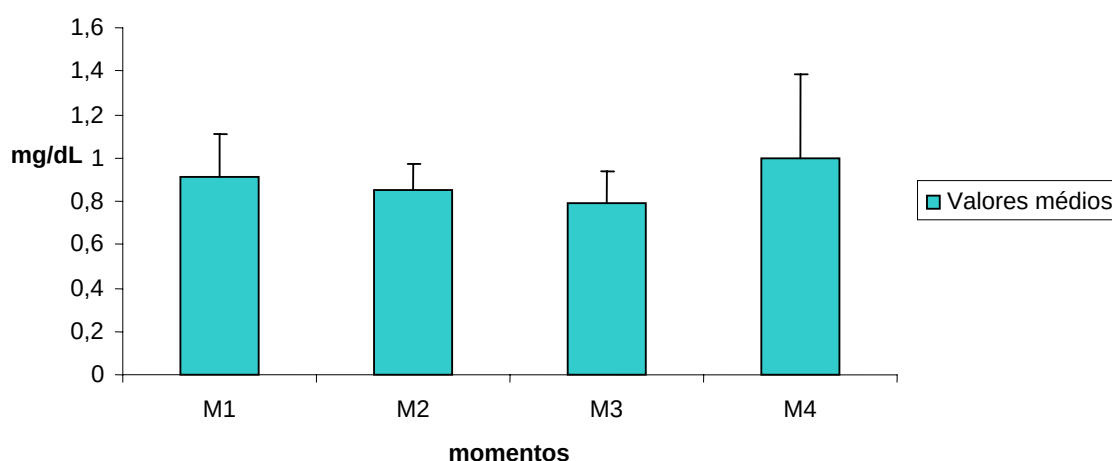


Figura 23. Valores médios e desvios padrões de creatinina sérica (mg/dL) segundo momentos M1ⁿ⁼¹⁶ (antes da intoxicação), M2ⁿ⁼¹⁶ (6 horas após a intoxicação), M3ⁿ⁼¹⁶ (logo após convulsão) e M4ⁿ⁼⁹ (30 horas após intoxicação) nos animais intoxicados pelo MFAS.

Tabela 17. Valores médios e desvios padrões (dp) de uréia sérica (mg/dL) segundo momentos de avaliações

	MOMENTOS			
	M1 ⁽ⁿ⁼¹⁶⁾	M2 ⁽ⁿ⁼¹⁶⁾	M3 ⁽ⁿ⁼¹⁶⁾	M4 ⁽ⁿ⁼⁹⁾
Médias	55,25 ^a	49,94 ^a	51,81 ^a	66,89 ^a
dp	±9,68	±7,09	±7,84	±27,89

M1 (antes da intoxicação), M2 (6 horas após a intoxicação), M3 (logo após convulsão) e M4 (30 horas após intoxicação) nos animais intoxicados pelo MFAS; médias seguidas de letras iguais não diferem significativamente ($P>0,05$).

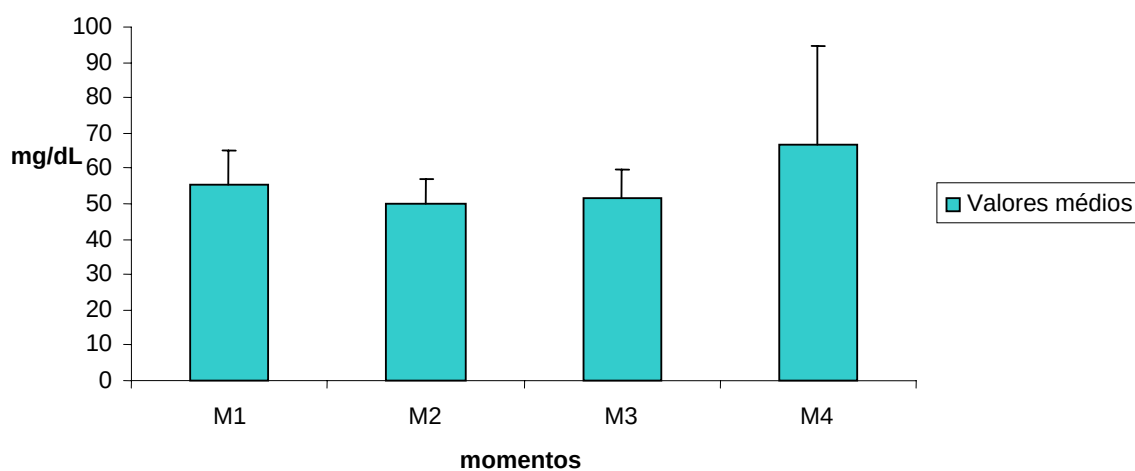


Figura 24. Valores médios e desvios padrões de uréia sérica (mg/dL) segundo momentos M1ⁿ⁼¹⁶ (antes da intoxicação), M2ⁿ⁼¹⁶ (6 horas após a intoxicação), M3ⁿ⁼¹⁶ (logo após convulsão) e M4ⁿ⁼⁹ (30 horas após intoxicação) nos animais intoxicados pelo MFAS.

- Lactato desidrogenase (LDH)

Os valores médios de LDH, dos animais intoxicados pelo MFAS, apresentaram um aumento gradativo no decorrer dos momentos, verificando-se significância ($P < 0,05$) no momento M3 e redução próxima aos valores iniciais (M1) no momento M4 (Tabela 18 e Figura 25).

Tabela 18. Valores médios de LDH (UI/L) e desvios padrões (dp) segundo momentos de avaliações

	MOMENTOS			
	M1 ⁽ⁿ⁼¹⁶⁾	M2 ⁽ⁿ⁼¹⁶⁾	M3 ⁽ⁿ⁼¹⁶⁾	M4 ⁽ⁿ⁼⁹⁾
Médias	77,25 ^{ab}	118,75 ^{ab}	184,88 ^{bc}	105,22 ^{ab}
dp	±50,26	±73,56	±159,10	±49,15

M1 (antes da intoxicação), M2 (6 horas após a intoxicação), M3 (logo após convulsão) e M4 (30 horas após intoxicação) nos animais intoxicados pelo MFAS; médias seguidas de letras iguais não diferem significativamente ($P > 0,05$).

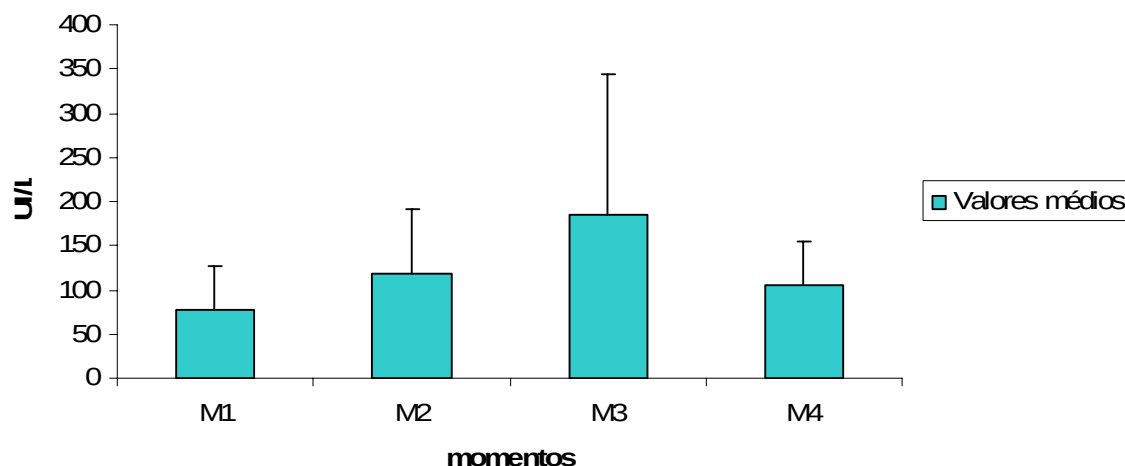


Figura 25. Valores médios e desvios padrões de LDH (UI/L) segundo momentos M1ⁿ⁼¹⁶ (antes da intoxicação), M2ⁿ⁼¹⁶ (6 horas após a intoxicação), M3ⁿ⁼¹⁶ (logo após convulsão) e M4ⁿ⁼⁹ (30 horas após intoxicação) nos animais intoxicados pelo MFAS.

- Creatinoquinase (CK) e Creatinoquinase fração cardíaca (CK-MB)

Os valores médios de CK e CK-MB, dos animais intoxicados pelo MFAS, demonstraram também um aumento gradativo, sendo significativo ($P < 0,05$) no momento M4. Os valores médios e de desvios padrões das respectivas variáveis estão representados a seguir (Tabelas 19 e 20 e Figuras 26 e 27).

Tabela 19. Valores médios e desvios padrões (dp) de CK (UI/L) segundo momentos de avaliações

	MOMENTOS			
	M1 ⁽ⁿ⁼¹⁶⁾	M2 ⁽ⁿ⁼¹⁶⁾	M3 ⁽ⁿ⁼¹⁶⁾	M4 ⁽ⁿ⁼⁹⁾
Médias	99,38 ^a	114,75 ^a	149,56 ^a	576,11 ^b
dp	±59,45	±45,18	±80,35	±366,88

M1 (antes da intoxicação), M2 (6 horas após a intoxicação), M3 (logo após convulsão) e M4 (30 horas após intoxicação) nos animais intoxicados pelo MFAS; médias seguidas de letras iguais não diferem significativamente ($P > 0,05$).

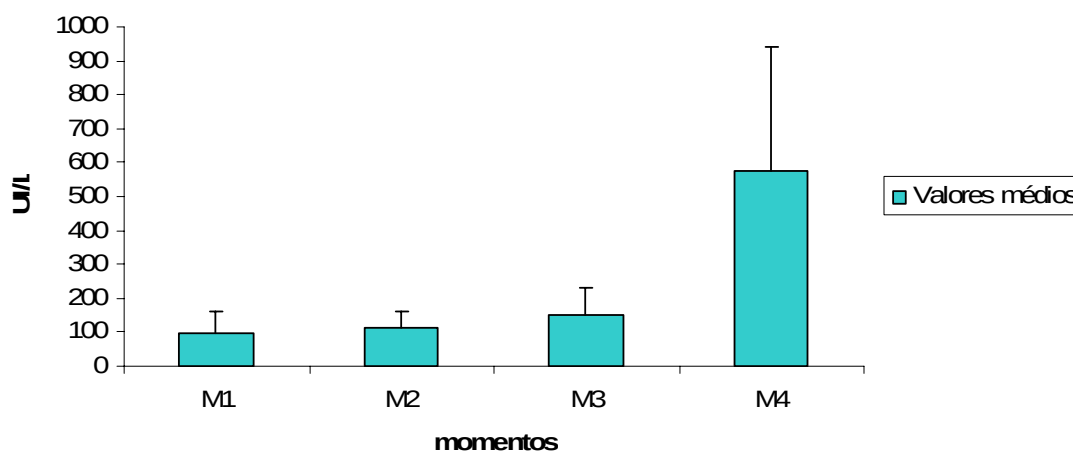


Figura 26. Valores médios e desvios padrões de CK (UI/L) segundo momentos M1ⁿ⁼¹⁶ (antes da intoxicação), M2ⁿ⁼¹⁶ (6 horas após a intoxicação), M3ⁿ⁼¹⁶ (logo após convulsão) e M4ⁿ⁼⁹ (30 horas após intoxicação) nos animais intoxicados pelo MFAS.

Tabela 20. Valores médios e desvios padrões (dp) de CK-MB (UI/L) segundo momentos de avaliações

	MOMENTOS			
	M1 ⁽ⁿ⁼¹⁶⁾	M2 ⁽ⁿ⁼¹⁶⁾	M3 ⁽ⁿ⁼¹⁶⁾	M4 ⁽ⁿ⁼⁹⁾
Médias	139,63 ^a	202,38 ^a	263 ^a	997 ^b
dp	±74,66	±76,81	±127,10	±710,39

M1 (antes da intoxicação), M2 (6 horas após a intoxicação), M3 (logo após convulsão) e M4 (30 horas após intoxicação) nos animais intoxicados pelo MFAS;
Médias seguidas de letras iguais não diferem significativamente ($P>0,05$).

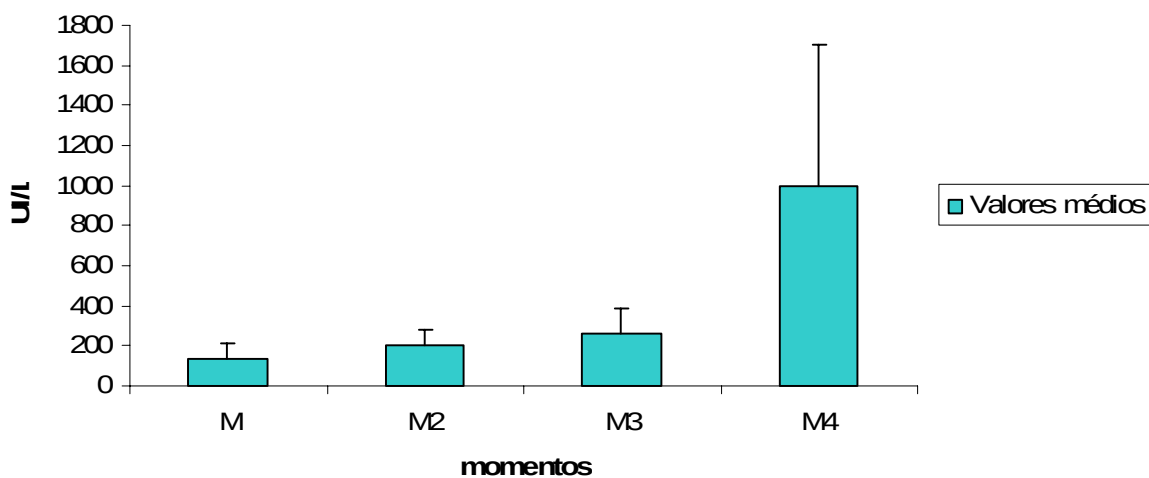


Figura 27. Valores médios e desvios padrões de CK-MB (UI/L) segundo momentos M1ⁿ⁼¹⁶ (antes da intoxicação), M2ⁿ⁼¹⁶ (6 horas após a intoxicação), M3ⁿ⁼¹⁶ (logo após convulsão) e M4ⁿ⁼⁹ (30 horas após intoxicação) nos animais intoxicados pelo MFAS.

- Fosfatase alcalina (FA ou ALP) e alaninoaminotransferase (ALT)

Não houve alterações relevantes nos valores de FA dos animais intoxicados pelo MFAS. Os valores médios de ALT destes animais apresentaram um aumento transitório e gradativo nos momentos M2 e M3. Estão demonstrados a seguir os valores médios e desvio padrão de FA e ALT respectivamente (Tabelas 21 e 22 e Figuras 28 e 29).

Tabela 21. Valores médios e desvios padrões (dp) de FA (UI/L) segundo momentos de avaliações

	MOMENTOS			
	M1 ⁽ⁿ⁼¹⁶⁾	M2 ⁽ⁿ⁼¹⁶⁾	M3 ⁽ⁿ⁼¹⁶⁾	M4 ⁽ⁿ⁼⁹⁾
Médias	48,69 ^a	49 ^a	50,75 ^a	50,56 ^a
dp	±23,50	±24,55	±19,87	±16,75

M1 (antes da intoxicação), M2 (6 horas após a intoxicação), M3 (logo após convulsão) e M4 (30 horas após intoxicação) nos animais intoxicados pelo MFAS; médias seguidas de letras iguais não diferem significativamente ($P>0,05$).

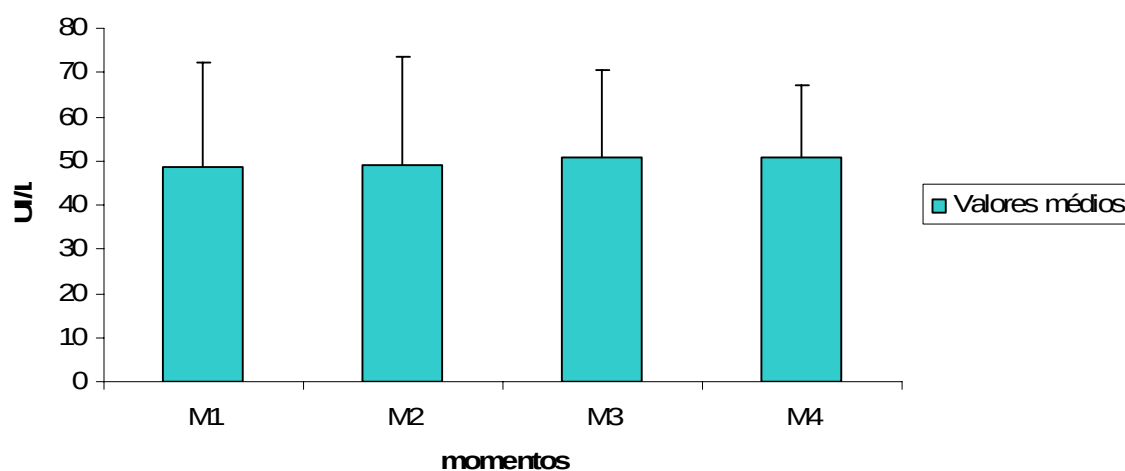


Figura 28. Valores médios e desvios padrões de FA (UI/L) segundo momentos M1ⁿ⁼¹⁶ (antes da intoxicação), M2ⁿ⁼¹⁶ (6 horas após a intoxicação), M3ⁿ⁼¹⁶ (logo após convulsão) e M4ⁿ⁼⁹ (30 horas após intoxicação) nos animais intoxicados pelo MFAS.

Tabela 22. Valores médios e desvios padrões (dp) de ALT (UI/L) segundo momentos de avaliações

	MOMENTOS			
	M1 ⁽ⁿ⁼¹⁶⁾	M2 ⁽ⁿ⁼¹⁶⁾	M3 ⁽ⁿ⁼¹⁶⁾	M4 ⁽ⁿ⁼⁹⁾
Médias	66,50 ^a	118,56 ^{ab}	127,19 ^b	97,44 ^a
dp	±33,71	±48,48	±88,25	±52,23

M1 (antes da intoxicação), M2 (6 horas após a intoxicação), M3 (logo após convulsão) e M4 (30 horas após intoxicação) nos animais intoxicados pelo MFAS; médias seguidas de letras iguais não diferem significativamente ($P>0,05$).

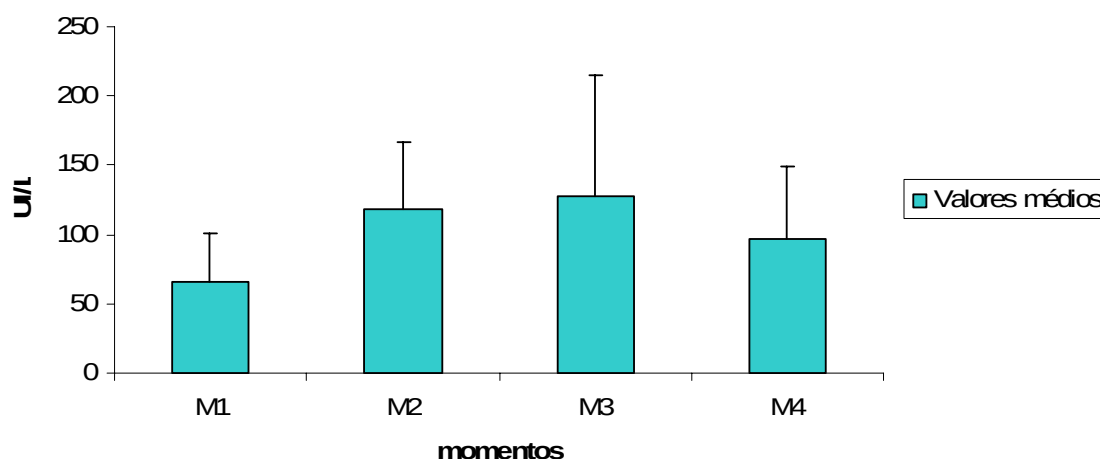


Figura 29. Valores médios e desvios padrões de ALT (UI/L) segundo momentos M1ⁿ⁼¹⁶ (antes da intoxicação), M2ⁿ⁼¹⁶ (6 horas após a intoxicação), M3ⁿ⁼¹⁶ (logo após convulsão) e M4ⁿ⁼⁹ (30 horas após intoxicação) nos animais intoxicados pelo MFAS.

- Gamaglutamiltransferase (GGT)

Os valores médios de GGT, dos animais intoxicados pelo MFAS, permaneceram estáveis durante os momentos pré-estabelecidos. Não houve alterações significativas ($P>0,05$) (Tabela 23 e Figura 30).

Tabela 23. Valores médios e desvios padrões (dp) de GGT (g/dL) segundo momentos de avaliações

	MOMENTOS			
	M1 (n=16)	M2 (n=16)	M3 (n=16)	M4 (n=9)
Médias	6,80 ^a	7,13 ^a	6,53 ^a	7,01 ^a
dp	±2,24	±2,41	±2,19	±3,59

M1 (antes da intoxicação), M2 (6 horas após a intoxicação), M3 (logo após convulsão) e M4 (30 horas após intoxicação) nos animais intoxicados pelo MFAS; médias seguidas de letras iguais não diferem significativamente ($P>0,05$).

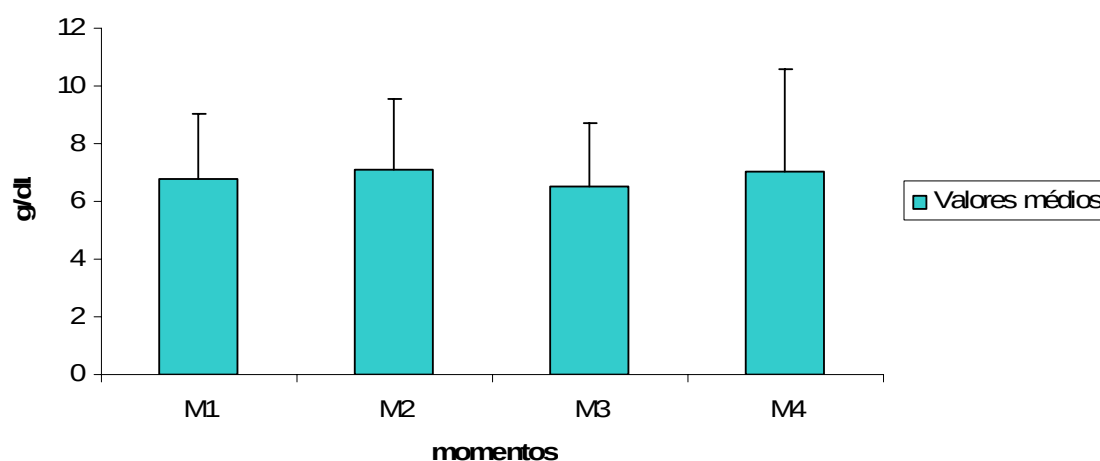


Figura 30. Valores médios e desvios padrões de GGT (g/dL) segundo momentos M1ⁿ⁼¹⁶ (antes da intoxicação), M2ⁿ⁼¹⁶ (6 horas após a intoxicação), M3ⁿ⁼¹⁶ (logo após convulsão) e M4ⁿ⁼⁹ (30 horas após intoxicação) nos animais intoxicados pelo MFAS.

- Sódio e Potássio

Os valores médios de sódio, dos animais intoxicados pelo MFAS, apresentaram redução estatisticamente significativa ($P<0,05$) no momento M4 em relação ao M3. Estão representados os valores médios e desvios padrões de sódio na Tabela 24 e Figura 31. O potássio apresentou diminuição gradativa significativa ($P<0,05$) a partir do momento M2 até o M4 (Tabela 25 e Figura 32).

Tabela 24. Valores médios e desvios padrões (dp) de sódio (mmol/L) segundo momentos

	MOMENTOS			
	M1 (n=16)	M2 (n=16)	M3 (n=16)	M4 (n=9)
Médias	148,93 ^{ab}	148,25 ^{ab}	151,94 ^a	142,67 ^b
dp	±18,93	±9,23	±7,47	±11,18

M1 (antes da intoxicação), M2 (6 horas após a intoxicação), M3 (logo após convulsão) e M4 (30 horas após intoxicação) nos animais intoxicados pelo MFAS;

Médias seguidas de letras iguais não diferem significativamente ($P>0,05$).

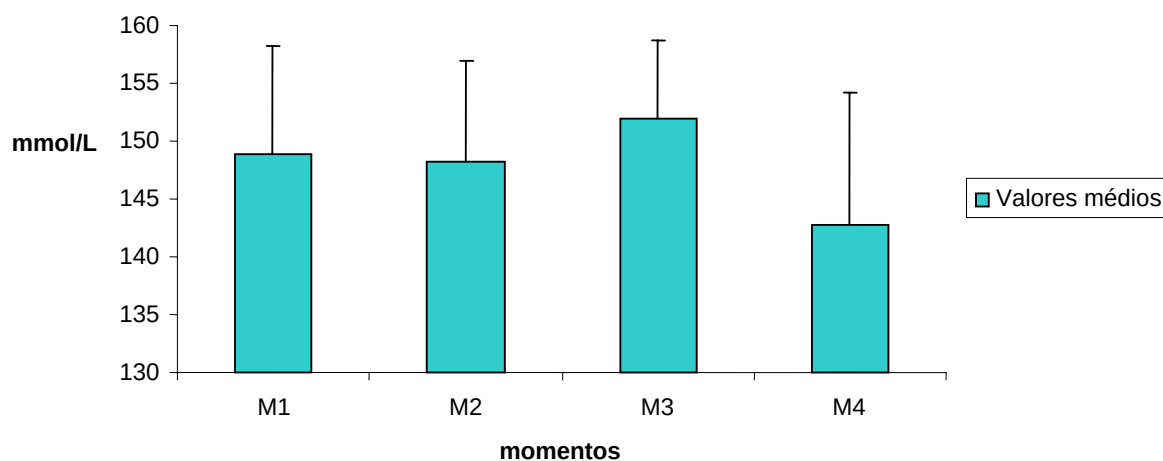


Figura 31. Valores médios e desvios padrões de sódio (mmol/L) segundo momentos M1ⁿ⁼¹⁶ (antes da intoxicação), M2ⁿ⁼¹⁶ (6 horas após a intoxicação), M3ⁿ⁼¹⁶ (logo após convulsão) e M4ⁿ⁼⁹ (30 horas após intoxicação) nos animais intoxicados pelo MFAS.

Tabela 25. Valores médios e desvios padrões (dp) de potássio (mmol/L) segundo momentos de avaliações

	MOMENTOS			
	M1 (n=16)	M2 (n=16)	M3 (n=16)	M4 (n=9)
Médias	4,80 ^a	3,08 ^b	3,83 ^c	3,61 ^{bc}
dp	±0,65	±0,40	±0,96	±0,66

M1 (antes da intoxicação), M2 (6 horas após a intoxicação), M3 (logo após convulsão) e M4 (30 horas após intoxicação) nos animais intoxicados pelo MFAS;

Médias seguidas de letras iguais não diferem significativamente ($P>0,05$).

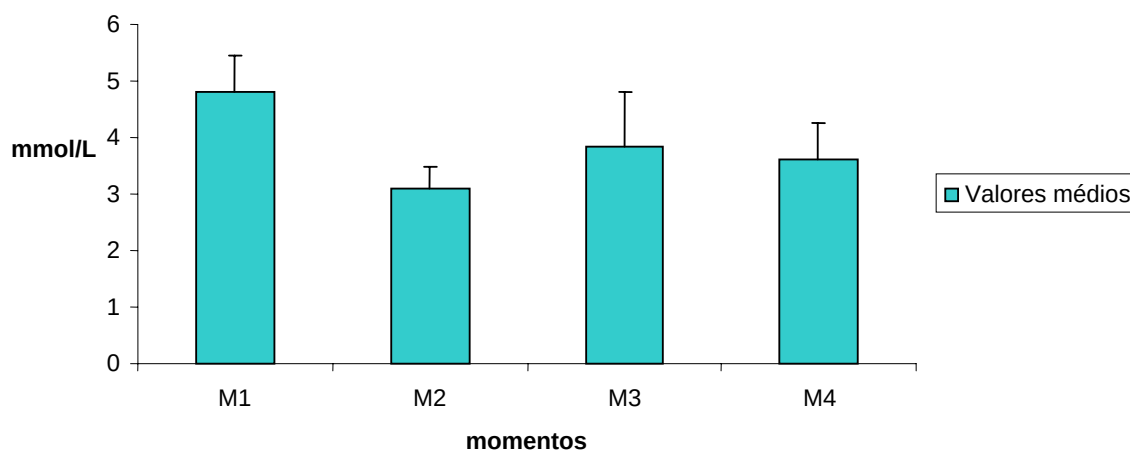


Figura 32. Valores médios e desvios padrões de potássio (mmol/L) segundo momentos M1ⁿ⁼¹⁶ (antes da intoxicação), M2ⁿ⁼¹⁶ (6 horas após a intoxicação), M3ⁿ⁼¹⁶ (logo após convulsão) e M4ⁿ⁼⁹ (30 horas após intoxicação) nos animais intoxicados pelo MFAS.

- Cálcio Sérico Total

Os valores médios de cálcio total, dos animais intoxicados pelo MFAS, apresentaram um aumento significativo ($P<0,05$) nos momentos M2 e M3, com diminuição no momento M4. No entanto, os valores de cálcio total mantiveram-se dentro dos valores de normalidade para a espécie felina em todos os momentos. (Tabela 26 e Figura 33).

Tabela 26. Valores médios e desvios padrões (dp) de cálcio sérico total (mg/dL) segundo momentos

	MOMENTOS			
	M1 ⁽ⁿ⁼¹⁶⁾	M2 ⁽ⁿ⁼¹⁶⁾	M3 ⁽ⁿ⁼¹⁶⁾	M4 ⁽ⁿ⁼⁹⁾
Médias	8,42 ^a	9,56 ^b	9,45 ^b	8,62 ^{ab}
dp	±0,53	±0,63	±0,55	±0,74

M1 (antes da intoxicação), M2 (6 horas após a intoxicação), M3 (logo após convulsão) e M4 (30 horas após intoxicação) nos animais intoxicados pelo MFAS; médias seguidas de letras iguais não diferem significativamente ($P>0,05$).

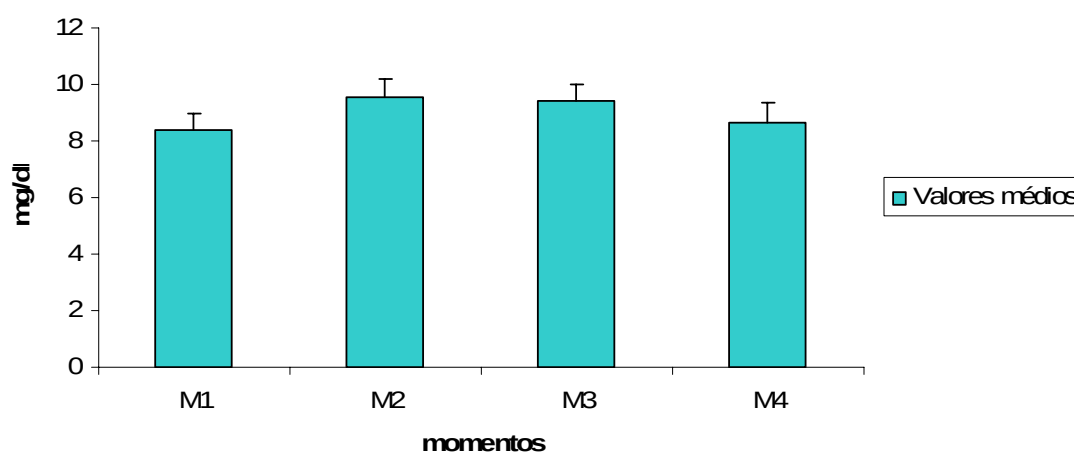


Figura 33. Valores médios e desvios padrões de cálcio sérico total (mg/dL) segundo momentos M1ⁿ⁼¹⁶ (antes da intoxicação), M2ⁿ⁼¹⁶ (6 horas após a intoxicação), M3ⁿ⁼¹⁶ (logo após convulsão) e M4ⁿ⁼⁹ (30 horas após intoxicação) nos animais intoxicados pelo MFAS.

- Fósforo Sérico

Os níveis médios de fósforo sérico, dos animais intoxicados pelo MFAS, apresentaram uma diminuição significativa ($P < 0,05$) nos momentos M2 e M4 e aumento no momento M3. Os valores médios e de desvios padrões estão demonstrados a seguir (Tabela 27 e Figura 34).

Tabela 27. Valores médios e desvios padrões (dp) de fósforo (mg/dL) e segundo momentos de avaliações

	MOMENTOS			
	M1 (n=16)	M2 (n=16)	M3 (n=16)	M4 (n=9)
Médias	6,35 ^a	4,03 ^b	5,52 ^{ab}	4,39 ^b
dp	±1,10	±1,47	±2,02	±1,12

M1 (antes da intoxicação), M2 (6 horas após a intoxicação), M3 (logo após convulsão) e M4 (30 horas após intoxicação) nos animais intoxicados pelo MFAS; médias seguidas de letras iguais não diferem significativamente ($P > 0,05$).

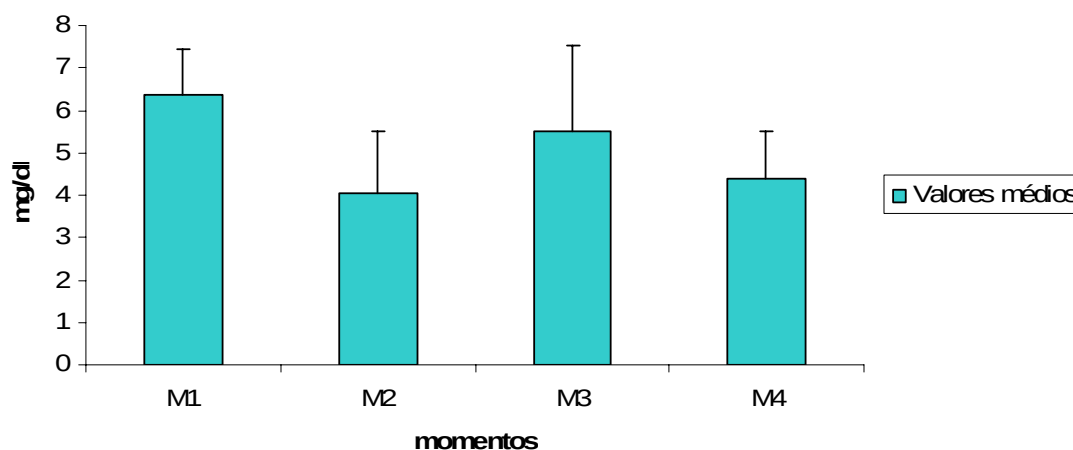


Figura 34. Valores médios e desvios padrões de fósforo (mg/dL) segundo momentos M1ⁿ⁼¹⁶ (antes da intoxicação), M2ⁿ⁼¹⁶ (6 horas após a intoxicação), M3ⁿ⁼¹⁶ (logo após convulsão) e M4ⁿ⁼⁹ (30 horas após intoxicação) nos animais intoxicados pelo MFAS.

- Cloro e Magnésio

Os valores médios de cloro sérico, dos animais intoxicados pelo MFAS, apresentaram aumento não significativo entre os momentos M2 e M3 (Tabela 28 e Figura 35).

Os valores médios de magnésio sérico, por outro lado, demonstraram uma redução significativa ($P < 0,05$) nos mesmos momentos M2 e M3 (Tabela 29 e Figura 36).

Tabela 28. Valores médios e desvios padrões (dp) de cloro (mmol/L) segundo momentos de avaliações

	MOMENTOS			
	M1 ⁽ⁿ⁼¹⁶⁾	M2 ⁽ⁿ⁼¹⁶⁾	M3 ⁽ⁿ⁼¹⁶⁾	M4 ⁽ⁿ⁼⁹⁾
Médias	115,94 ^a	119 ^a	122,25 ^a	113,22 ^a
dp	±7,90	±15,79	±8,54	±15,87

M1 (antes da intoxicação), M2 (6 horas após a intoxicação), M3 (logo após convulsão) e M4 (30 horas após intoxicação) nos animais intoxicados pelo MFAS; médias seguidas de letras iguais não diferem significativamente ($P > 0,05$).

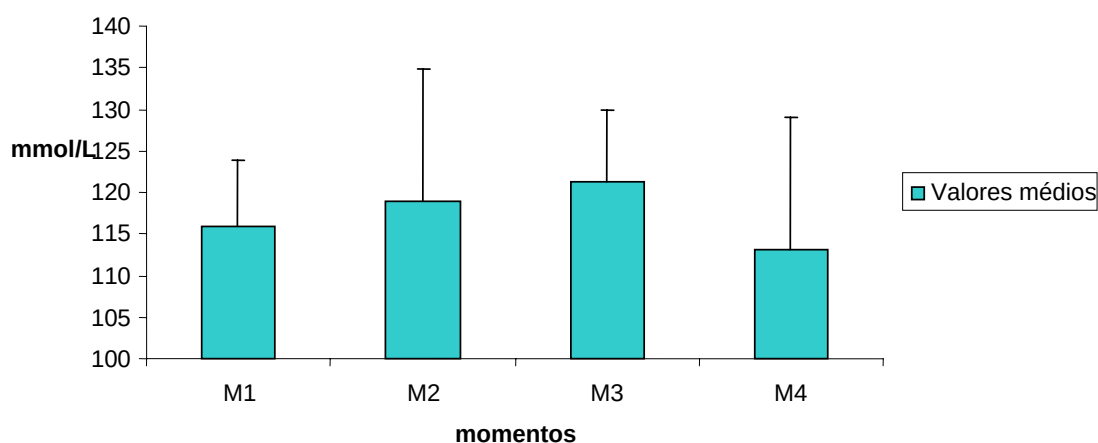


Figura 35. Valores médios e desvios padrões de cloro (mmol/L) segundo momentos M1ⁿ⁼¹⁶ (antes da intoxicação), M2ⁿ⁼¹⁶ (6 horas após a intoxicação), M3ⁿ⁼¹⁶ (logo após convulsão) e M4ⁿ⁼⁹ (30 horas após intoxicação) nos animais intoxicados pelo MFAS.

Tabela 29. Valores médios e desvios padrões (dp) de magnésio (mEq/L) segundo momentos de avaliações

	MOMENTOS			
	M1 ⁽ⁿ⁼¹⁶⁾	M2 ⁽ⁿ⁼¹⁶⁾	M3 ⁽ⁿ⁼¹⁶⁾	M4 ⁽ⁿ⁼⁹⁾
Médias	2,28 ^a	1,17 ^b	1,45 ^b	2,24 ^a
dp	±0,23	±0,39	±0,53	±0,35

M1 (antes da intoxicação), M2 (6 horas após a intoxicação), M3 (logo após convulsão) e M4 (30 horas após intoxicação) nos animais intoxicados pelo MFAS; médias seguidas de letras iguais não diferem significativamente ($P>0,05$).

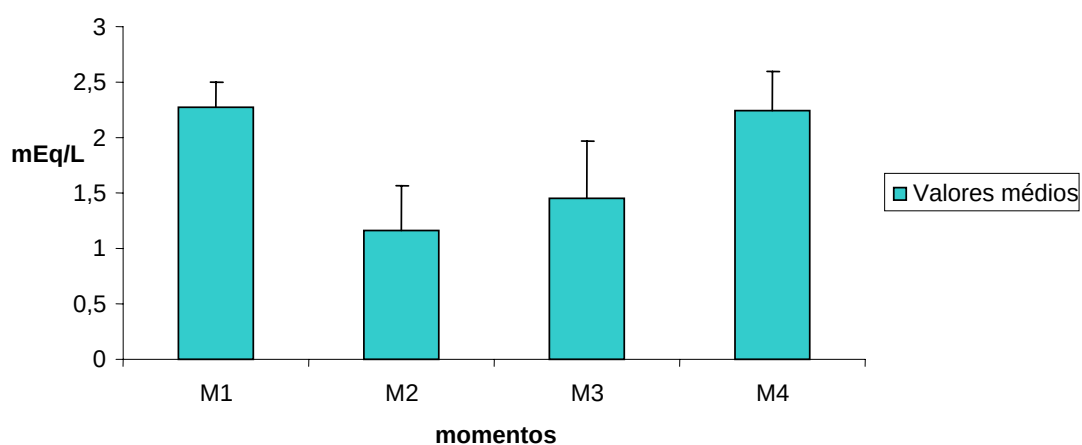


Figura 36. Valores médios e desvios padrões de magnésio (mEq/L) segundo momentos M1ⁿ⁼¹⁶ (antes da intoxicação), M2ⁿ⁼¹⁶ (6 horas após a intoxicação), M3ⁿ⁼¹⁶ (logo após convulsão) e M4ⁿ⁼⁹ (30 horas após intoxicação) nos animais intoxicados pelo MFAS.

5.3. NECROSCOPIA

Foram submetidos a necropsia sete animais que vieram a óbito durante a intoxicação experimental no presente estudo.

À macroscopia, foram observadas principalmente alterações como hemorragia, edema, equimoses, congestão e enfisema pulmonares; dilatação cardíaca direita, petéquias e sufusões nos endocárdio e pericárdio, efusões pleural e pericárdica; degeneração hepática moderada, congestões hepáticas, gastroenterite catarral, efusão peritoneal; congestão e degeneração renais cortico-medular, sufusões e equimoses vesicais; congestão e edema cerebrais.

Os achados histopatológicos evidenciaram, principalmente, edema, congestão, hemorragia e necrose multifocal no miocárdio; edema, congestão e hemorragia acentuados nos pulmões.

No fígado, observaram-se congestão com degenerações hidrópica e gordurosa e infiltrado mononuclear, retração esplênica com predominante diminuição da polpa vermelha. Estavam presentes também degenerações tubular renal e hialina com necrose tubular, congestão e hemorragia difusas e infiltrado mononuclear.

Já no encéfalo, foram observados congestão das substâncias cinzenta e branca, gliose, sateliose e neuronofagia, tumefação celular, cromatólise e focos hemorrágicos difusos.

5.3.1. Descrição das alterações macroscópicas (necropsia) e representação da respectiva macroscopia e percentuais (Tabelas 30 a 33 e Figuras 37 a 42).

Animal 6

Inspeção externa: sem alterações macroscópicas.

Inspeção interna (órgãos *in situ*): hemorragia pulmonar difusa

Sistema cardiorrespiratório: edema e hemorragia pulmonar difusa, sufusões em pericárdio e endocárdio.

Sistema digestório: degeneração hepática acentuada, gastroenterite catarral.

Sistema geniturinário: cistite hemorrágica, sufusões em mucosa vesical, congestão renal e degeneração renal bilateral cortico-medular (áreas de "infarto renal").

Sistema nervoso central: congestão e edema cerebral.

Causa mortis: insuficiência cardiorrespiratória.

Animal 7

Inspeção externa: sem alterações macroscópicas.

Inspeção interna (órgãos *in situ*): dilatação cardíaca direita moderada.

Sistema cardiorrespiratório: edema pulmonar, dilatação cardíaca direita moderada, sufusões em pericárdio e endocárdio, equimoses em lobos pulmonares craniais direito e esquerdo.

Sistema digestório: degeneração hepática acentuada, pancreatite, outros órgãos sem alterações macroscópicas.

Sistema geniturinário: cistite hemorrágica com sufusões em mucosa vesical, degeneração renal bilateral cortico-medular.

Sistema nervoso central: congestão e edema cerebral.

Causa mortis: insuficiência cardiorrespiratória

Animal 9

Inspeção externa: sem alterações macroscópicas.

Inspeção interna (órgãos *in situ*): dilatação cardíaca direita acentuada, congestão hepática.

Sistema cardiorrespiratório: hemorragia pulmonar difusa, hemorragia sub-pleural parietal (região esternal), dilatação cardíaca direita acentuada.

Sistema digestório: congestão hepática, gastrite erosiva, hiperplasia de polpa branca em baço.

Sistema geniturinário: degeneração cortical renal e congestão cortico-medular bilateral.

Sistema nervoso central: edema cerebral.

Causa mortis: insuficiência cardiorrespiratória.

Animal 12

Inspeção externa: epistaxe bilateral.

Inspeção interna (órgãos *in situ*): efusões pleural e abdominal (líquido serosanguinolento), congestão hepática.

Sistema cardiorrespiratório: efusões pleural e pericárdica (líquido serosanguinolento), equimoses em lobo pulmonar direito, enfisema pulmonar.

Sistema digestório: congestão e degeneração hepáticas, presença de uma larva de *Toxocara cati* no estômago, aumento do volume dos linfonodos mesentéricos, efusão abdominal (líquido serosanguinolento).

Sistema geniturinário: degeneração renal cortico-medular bilateral.

Sistema nervoso central: sem alterações macroscópicas.

Causa mortis: insuficiência cardiorrespiratória.

Animal 13

Inspeção externa: mucosas aparentes hipocoradas.

Inspeção interna (órgãos *in situ*): dilatação cardíaca direita acentuada, hemorragia pulmonar difusa.

Sistema cardiorrespiratório: edema pulmonar, hemorragia pulmonar difusa (equimoses), petéquias e sufusões em epicárdio.

Sistema digestório: degeneração hepática moderada, sufusões no pâncreas, equimose em terço distal do esôfago (camada adventícia), outros órgãos sem alterações macroscópicas.

Sistema geniturinário: congestão cortico-medular renal bilateral.

Sistema nervoso central: sem alterações macroscópicas.

Causa mortis: insuficiência cardiorrespiratória.

Animal 14

Inspeção externa: sem alterações macroscópicas.

Inspeção interna (órgãos *in situ*): dilatação cardíaca direita acentuada, congestão e hemorragia pulmonar, hepatomegalia e esplenomegalia discretas.

Sistema cardiorrespiratório: congestão e hemorragia pulmonar difusa, dilatação cardíaca direita acentuada.

Sistema digestório: degeneração e congestão hepáticas moderadas, hepatomegalia e esplenomegalia discretas, gastroenterite catarral moderada.

Sistema geniturinário: congestão renal bilateral cortico-medular e em pelve cortico-medular.

Sistema nervoso central: congestão e hemorragia cerebral.

Causa mortis: insuficiência cardiorrespiratória.

Animal 16

Inspeção externa: mucosas aparentes hipocoradas.

Inspeção interna (órgãos *in situ*): hemorragia pulmonar intensa difusa, hepatomegalia e esplenomegalia discretas.

Sistema cardiorrespiratório: hemorragia pulmonar intensa difusa, sufusões e petéquias em epicárdio.

Sistema digestório: hepatomegalia e esplenomegalia discretas, gastrite catarral com presença de sangue "vivo" no estômago, hiperplasia da polpa branca esplênica, degeneração hepática moderada, equimose em túnica adventícia do esôfago e região tendinosa do diafragma.

Sistema geniturinário: equimoses em mucosa vesical, degeneração renal bilateral cortico-medular (infartos renais difusos).

Sistema nervoso central: sem alterações macroscópicas.

Causa mortis: insuficiência cardiorrespiratória.

Tabela 30. Relação dos achados macroscópicos e a porcentagem de presença das alterações no sistema cardiorrespiratório de sete gatos que foram necropsiados após óbito durante a intoxicação experimental por MFAS

	Presente	ausente	%
Hemorragia pulmonar	5	2	71,43
Edema pulmonar	3	4	42,85
Equimoses em lobos pulmonares	3	4	42,85
Congestão pulmonar	1	6	14,28
Enfisema pulmonar	1	6	14,28
Dilatação cardíaca direita	3	4	42,85
petéquias e sufusões endocárdio/epicárdio	4	3	57,14
efusão pleural	0	7	0
efusão pericárdica	0	7	0

Tabela 31. Relação dos achados macroscópicos e a porcentagem de presença das alterações no sistema digestório de sete gatos que foram necropsiados após óbito durante a intoxicação experimental por MFAS

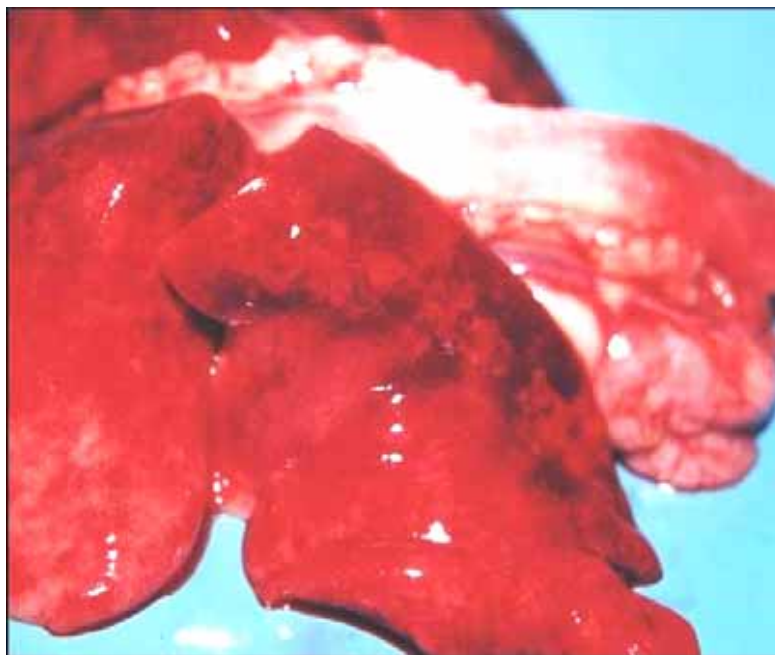
	Presente	ausente	%
Degeneração hepática			
Leve	0	7	0
Moderada	3	4	42,55
Acentuada	1	6	14,28
Congestão hepática	3	4	42,85
Gastroenterite			
Catarral	3	4	42,85
Hepatomegalia	2	5	28,57
Esplenomegalia	2	5	28,57
Equimoses	2	5	28,57
hiperplasia esplênica			
polpa branca	2	5	28,57
polpa vermelha	0	7	0
efusão peritoneal	1	6	14,28
pancreatite	1	6	14,28

Tabela 32. Relação dos achados macroscópicos e a porcentagem de presença das alterações no sistema geniturinário de sete gatos que foram necropsiados após óbito durante a intoxicação experimental por MFAS

	Presente	ausente	%
Sufusões equimoses vesical	3	4	42,85
Cistite	2	7	28,57
Congestão renal cortico-medular	4	3	57,14
Degeneração renal cortical	0	7	0
Cortico-medular	6	1	85,71
Medular	0	7	0

Tabela 33. Relação dos achados macroscópicos e a porcentagem de presença das alterações no sistema nervoso central de sete gatos que foram necropsiados após óbito durante a intoxicação experimental por MFAS

	Presente	ausente	%
Congestão cerebral	3	4	42,85
Hemorragia cerebral	1	6	14,28
Edema cerebral	3	4	42,85



Burini & Collicchio-Zuanaze (2002)

Figura 37. Macroscopia dos pulmões do animal 6 intoxicado experimentalmente com 0,45 mg/kg de MFAS via oral apresentando congestão e equimoses.

Burini & Collicchio-Zuanaze (2002)

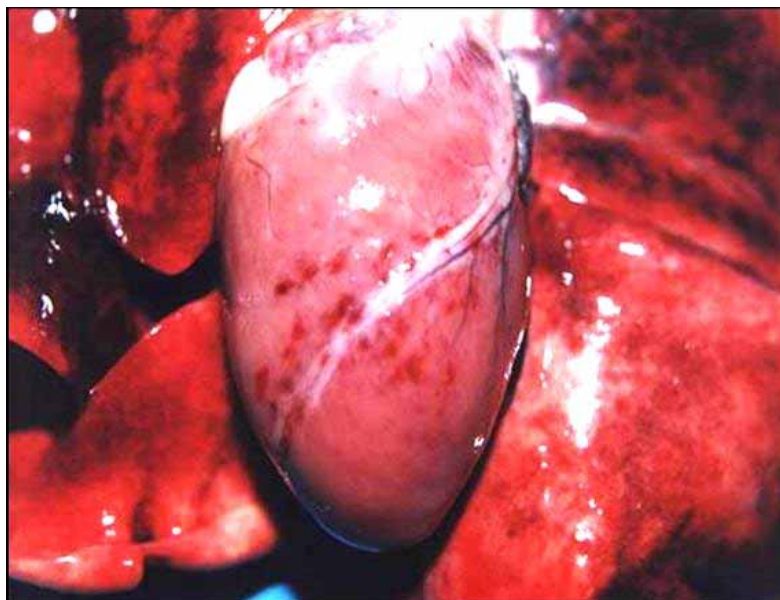


Figura 38. Aspecto macroscópico do coração do animal 6 apresentando petéquias e sufusões no epicárdio.

Burini & Collicchio-Zuanaze (2002)

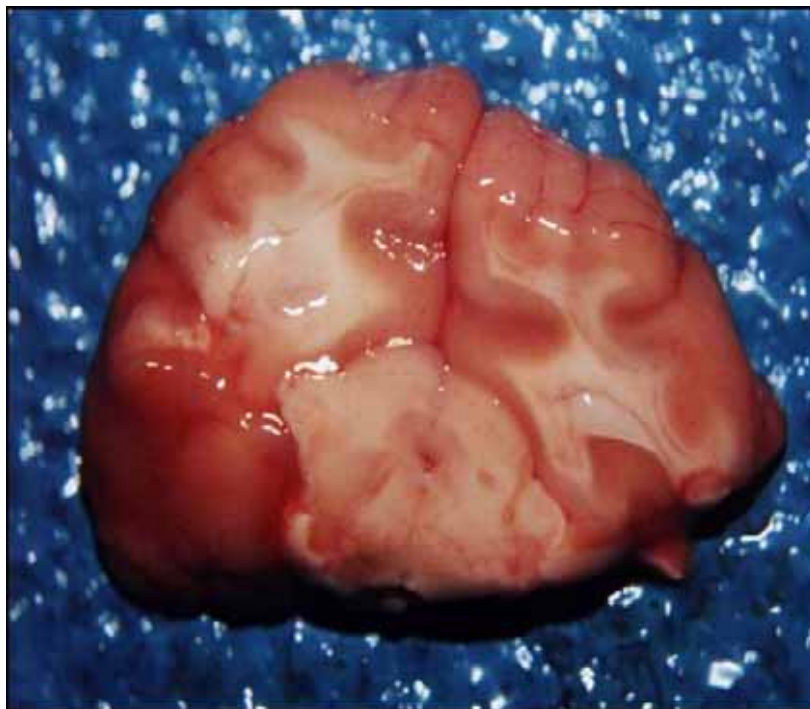


Figura 39. Aspecto macroscópico do encéfalo do animal 6 intoxicado experimentalmente com 0,45 mg/kg de MFAS via oral, apresentando congestão e edema em corte longitudinal.

Burini & Collicchio-Zuanaze (2002)

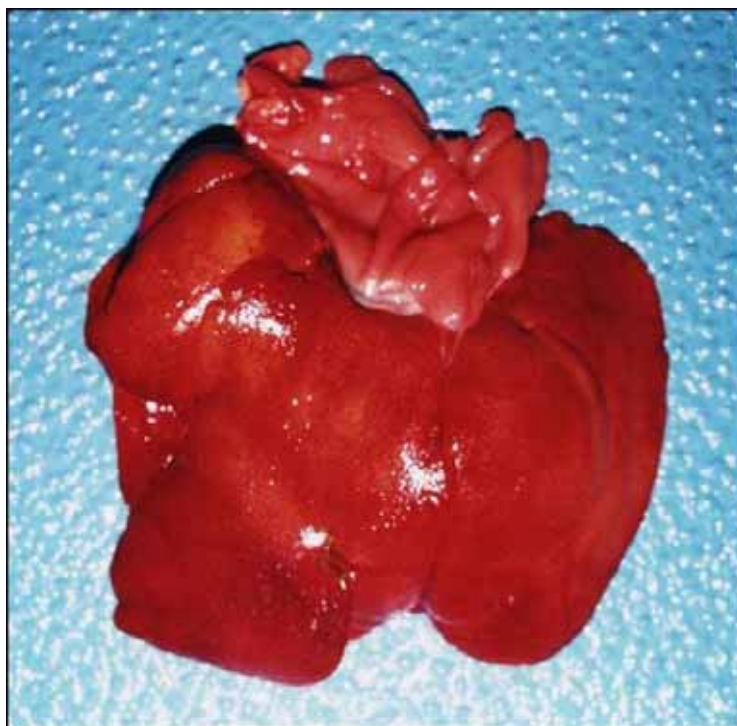


Figura 40. Macroscopia do fígado do animal 6 apresentando congestão e áreas de degeneração.

Burini & Collicchio-Zuanaze (2002)

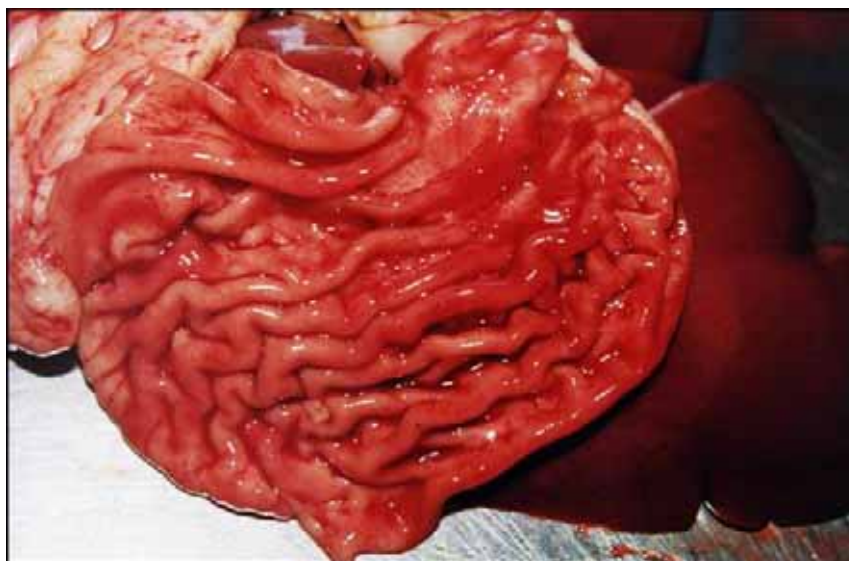


Figura 41. Corte longitudinal e aspecto macroscópico da mucosa do estômago do animal 16 intoxicado experimentalmente com 0,45 mg/kg de MFAS via oral apresentando hemorragia gástrica com hiperplasia e edema da mucosa.

Burini & Collicchio-Zuanaze (2002)

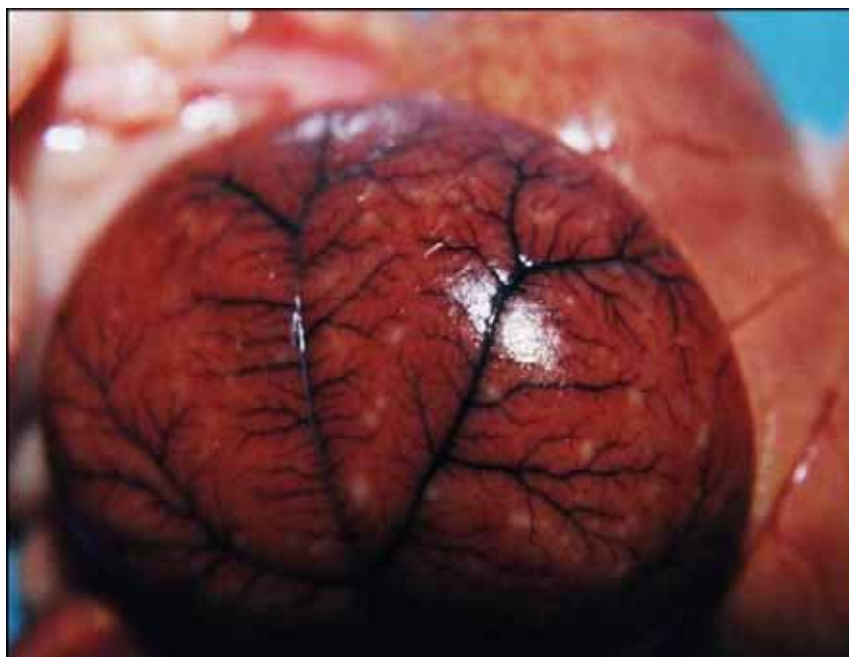


Figura 42. Macroscopia do rim direito do animal 16 apresentando congestão e áreas de degeneração multifocal.

5.3.2. Descrição das alterações microscópicas e representação em tabelas e figuras da respectiva histopatologia (Tabelas 34 a 39 e Figuras 43 a 56).

- Animal 6

Coração: edema e congestão do miocárdio, necrose difusa e áreas discretas de hemorragia no miocárdio.

Pulmão: edemas pulmonares alveolar e bronquiolar difusos, hemorragia acentuada difusa, discreta congestão pulmonar.

Fígado: infiltrado peri-portal discreto com focos hemorrágicos difusos; infiltrado polimorfonuclear difuso discreto; presença de macronúcleo em hepatócito, anisocariose moderada a acentuada, degenerações hidrópica e gordurosa difusas, congestão de sinusóides, necrose centro-lobular difusa e presença de células de Kupfer.

Rins: degeneração tubular e degeneração hialina difusa, presença de infiltrado mononuclear (macrófagos e linfócitos) discreto na cortical em região peri-glomerular, possíveis áreas de infarto agudo renal sem infiltrado inflamatório.

Encéfalo: congestão cerebral na substância cinzenta, gliose com satelirose e neuronofagia em substâncias branca e cinzenta, tumefação neuronal e cromatólise central sugerindo lesão isquêmica.

Baço: retração esplênica com diminuição da polpa branca.

Bexiga: hemorragia difusa da sub-mucosa e mucosa.

Intestinos: discreto infiltrado linfocitário

- Animal 7

Coração: edema generalizado do miocárdio, discretas áreas de necrose multifocal no miocárdio e discretas áreas de hemorragia.

Pulmão: edema generalizado e congestão acentuada.

Fígado: congestão generalizada, degeneração hidrópica e gordurosa, infiltrado periportal de mononucleares, discretos focos de necrose multifocal.

Rins: degenerações tubular e hialina, necrose tubular multifocal, necrose glomerular, congestão e discretas áreas de hemorragia difusa, discretos infiltrados de mononucleares.

Encéfalo: edema acentuado e congestão generalizada, gliose, satelirose com neuronofagia, discreta cromatólise central.

Baço: retração esplênica e diminuição da polpa vermelha.

- Animal 9

Coração: focos discretos de edema, hemorragia e necrose do miocárdio.

Pulmão: edema generalizado e congestão acentuada.

Fígado: degenerações hidrópica e gordurosa centro-lobular, congestão generalizada dos sinusóides, discreto infiltrado difuso periportal de mononucleares.

Rins: congestão generalizada e focos de hemorragia, degeneração e necrose tubular multifocal, degeneração hialina, discretas áreas difusas de infiltrado mononuclear.

Encéfalo: edema e congestão moderada, gliose e satelirose com neuronofagia, discretos focos de hemorragia, cromatólise central.

Baço: retração esplênica e diminuição da polpa vermelha.

- Animal 12

Coração: edema do miocárdio, necrose multifocal miocárdica.

Pulmão: congestão generalizada, edema pulmonar difuso bronquiolar, hemorragia discreta, discreto infiltrado de polimorfonucleares e mononucleares

Fígado: congestão difusa em sinusóides, infiltrado mononuclear periportal, degeneração hidrópica difusa.

Rins: degeneração tubular e hialina, necrose tubular multifocal, discreto infiltrado mononuclear.

Encéfalo: congestão generalizada.

Baço: retração esplênica com diminuição de polpas branca e vermelha.

- Animal 13

Coração: edema e hemorragia moderados no miocárdio, necrose multifocal no miocárdio.

Pulmão: edema, hemorragia e congestão difusos.

Fígado: congestão generalizada, degeneração gordurosa centro-lobular a médio zonal, necrose multifocal hepática.

Rins: degeneração tubular e hialina, necrose multifocal tubular, discretas áreas de hemorragia e discreto infiltrado mononuclear.

Encéfalo: congestão generalizada.

Baço: contração esplênica com diminuição de polpas branca e vermelha.

- Animal 14

Coração: infiltrado polimorfonuclear focal (miocardite focal aguda) e edema do miocárdio.

Pulmão: edema e congestão generalizada, discretas áreas de hemorragias, discreto infiltrado de polimorfonucleares e mononucleares em bronquíolos (predominância de macrófagos).

Fígado: congestão generalizada de sinusóides com discretas áreas de hemorragias, discretos infiltrados polimorfonuclear e mononuclear, degeneração hidrópica difusa mais acentuada em região centro-lobular, sítios de degeneração gordurosa, único macro nucléolo evidente, anisocariose moderada a acentuada.

Rins: congestão generalizada, degeneração e necrose tubulares, necrose glomerular, degeneração hialina, discretas áreas de hemorragias, discreto infiltrado mononuclear.

Encéfalo: congestão generalizada, edema, gliose das substâncias branca e cinzenta com sateliase e neuronofagia, cromatólise central, focos de hemorragia.

Baço: retração esplênica com diminuição da polpa vermelha.

- Animal 16

Coração: edema do miocárdio, necrose multifocal miocárdica.

Pulmão: edema, hemorragia e congestão difusos, discreto infiltrado mononuclear.

Fígado: congestão generalizada, degeneração hidrópica, necrose multifocal discreta, infiltrado mononuclear periportal.

Rins: discretas áreas de hemorragia, congestão generalizada, degeneração tubular, necrose tubular multifocal, necrose glomerular e degeneração hialina, focos difusos de infiltrado mononuclear.

Encéfalo: edema acentuado de substâncias branca e cinzenta e congestão, gliose, sateliase com neuronofagia, cromatólise central.

Baço: retração esplênica com diminuição de polpa branca e vermelha.

Tabela 34. Relação dos achados histopatológicos no miocárdio e a porcentagem de presença das alterações correspondentes nos sete animais avaliados após intoxicação experimental pelo MFAS

	Presente	ausente	%
Edema	7	0	100
Congestão	1	6	14,28
Hemorragia	4	3	57,14
Necrose multifocal	6	1	85,71
Infiltrado mononuclear	0	7	0
polimorfonuclear	1	6	14,28

Tabela 35. Relação dos achados histopatológicos no pulmão e a porcentagem de presença das alterações correspondentes nos sete animais avaliados após intoxicação experimental pelo MFAS

	Presente	ausente	%
Edema	6	1	85,71
Hemorragia leve	2	5	28,57
moderada	0	7	0
acentuada	3	4	42,85
Congestão leve	1	6	14,28
moderada	0	7	0
acentuada	5	2	71,42
Infiltrado polimorfonuclear	2	5	28,57
mononuclear	4	3	7,14

Tabela 36. Relação dos achados histopatológicos no fígado e a porcentagem de presença das alterações correspondentes nos sete animais avaliados após intoxicação experimental pelo MFAS

	Presente	ausente	%
Degeneração hidrópica	6	1	85,71
gordurosa	5	2	71,42
congestão	7	0	100
necrose centro-lobular	3	4	42,85
multifocal	1	6	14,28
macronúcleo hepatócito	2	5	28,57
anisocariose	1	6	14,28
infiltrado polimorfonuclear	2	5	28,57
mononuclear	5	2	71,42

Tabela 37. Relação dos achados histopatológicos nos rins e a porcentagem de presença das alterações correspondentes nos sete animais avaliados após intoxicação experimental pelo MFAS

	Presente	ausente	%
Degeneração tubular	7	0	100
hialina	6	1	85,71
Necrose tubular	6	1	85,71
glomerular	2	5	28,57
Congestão difusa	4	3	57,14
Hemorragia difusa	4	3	57,14
Infiltrado mononuclear	6	1	85,71
polimorfonuclear	0	7	0

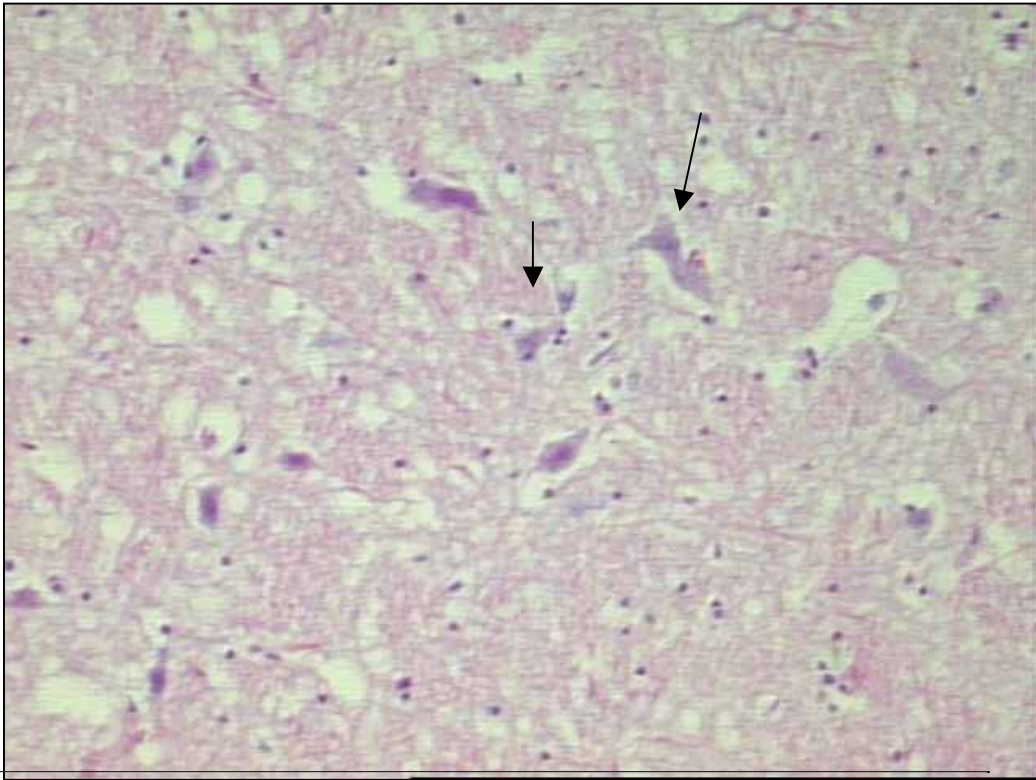


Figura 45. Encéfalo de gato intoxicado experimentalmente com 0,45 mg/kg de MFAS via oral mostrando sateliose e neuronofagia (HE, 320X).



Figura 46. Miocárdio de gato intoxicado experimentalmente com 0,45 mg/kg de MFAS via oral mostrando áreas de hemorragia e hemácias aderidas no endotélio vascular (CID)

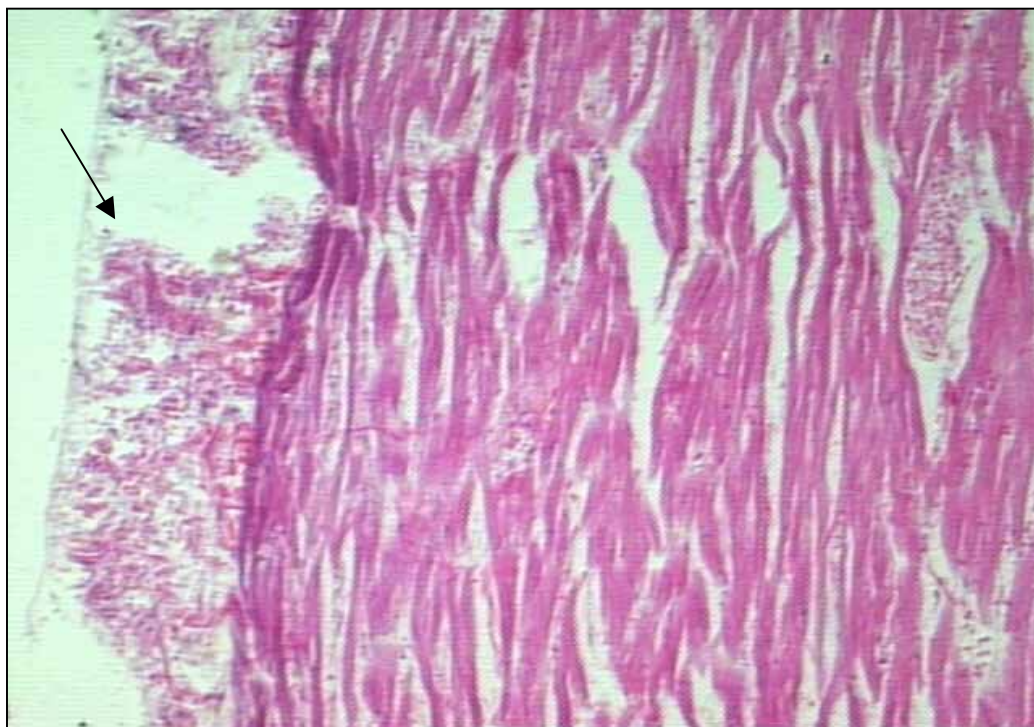


Figura 47. Corte histológico de coração de gato intoxicado experimentalmente com 0,45 mg/kg de MFAS via oral apresentando hemorragia sub-epicárdica e degeneração miocárdica (HE 200X).

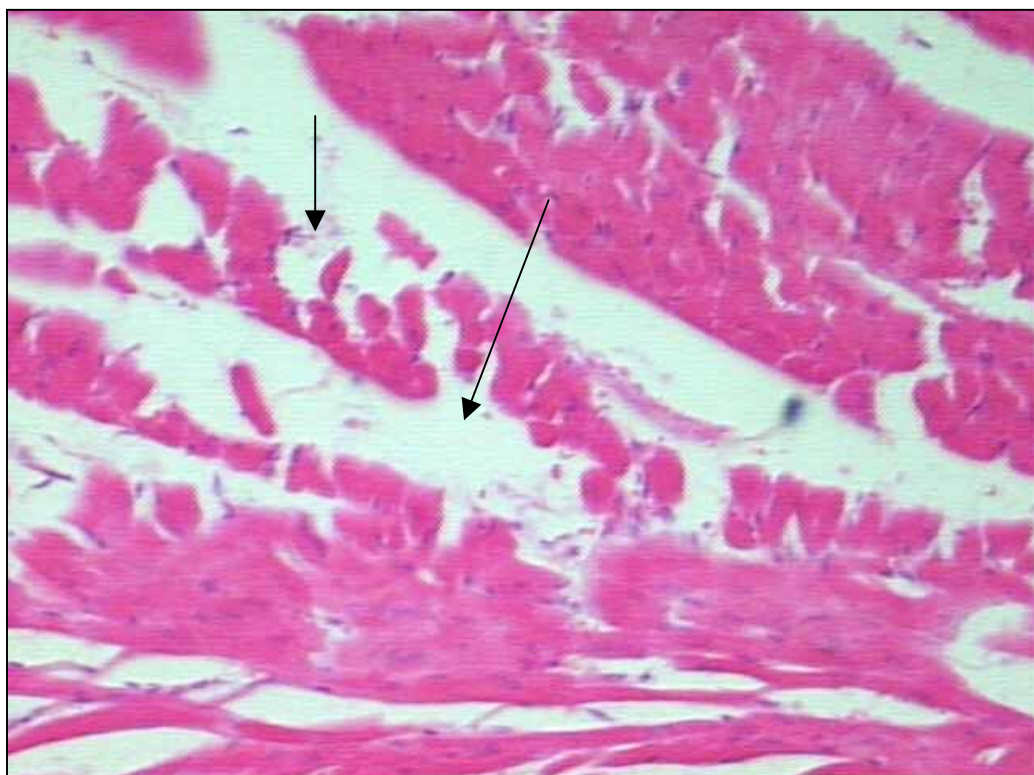


Figura 48. Miocárdio de gato intoxicado experimentalmente com 0,45 mg/kg de MFAS via oral com áreas de degeneração e necrose isquêmica aguda (HE 200X).

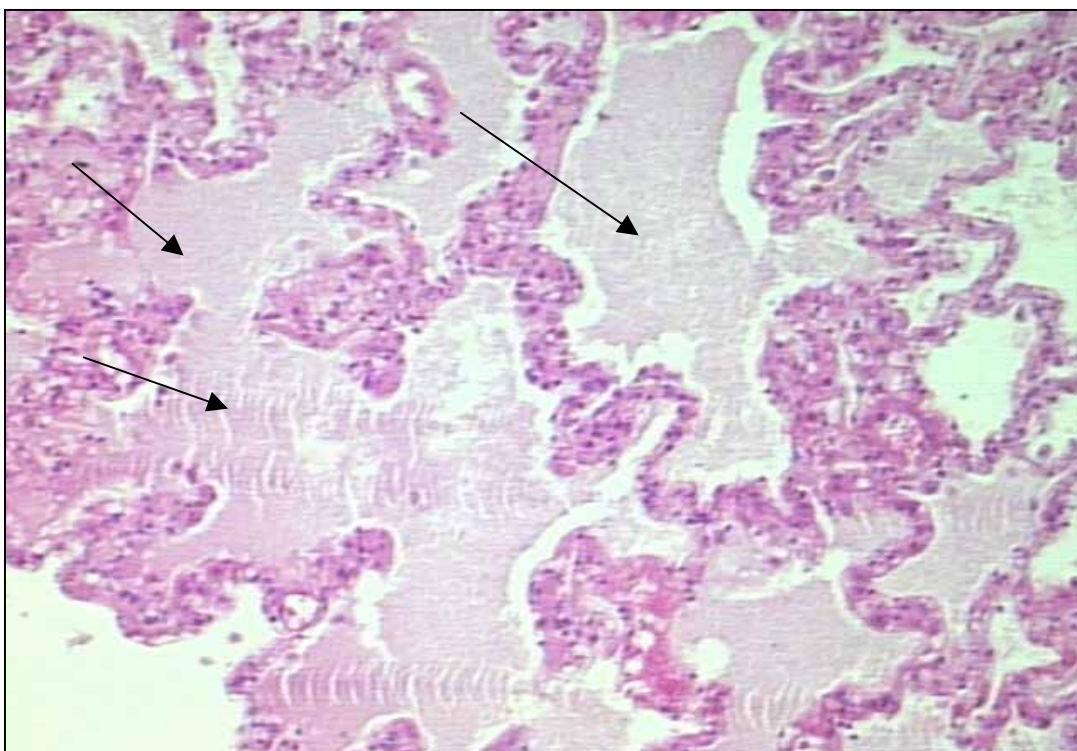


Figura 49. Áreas de edema pulmonar difuso em corte histológico do pulmão de gato intoxicado experimentalmente com 0,45 mg/kg de MFAS via oral (HE 200X).

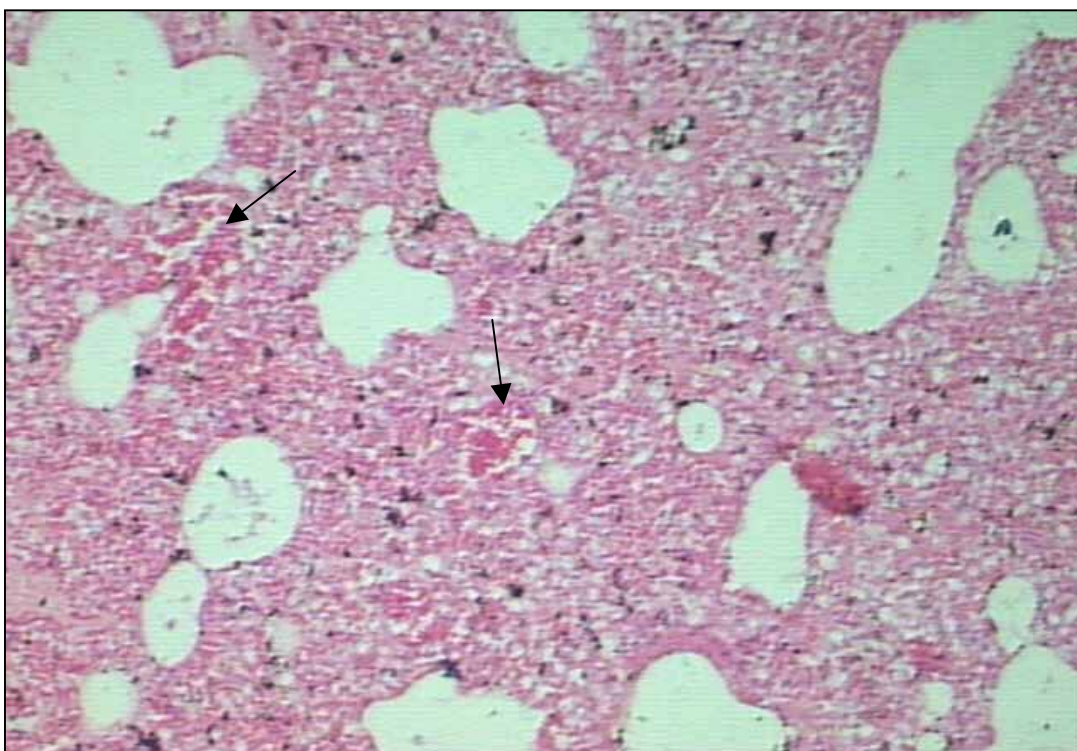


Figura 50. Corte histológico do pulmão de gato intoxicado experimentalmente com 0,45 mg/kg de MFAS via oral com áreas de hemorragia e edema pulmonares, além da presença de hemácias aderidas no endotélio vascular (CID) (HE 200X).

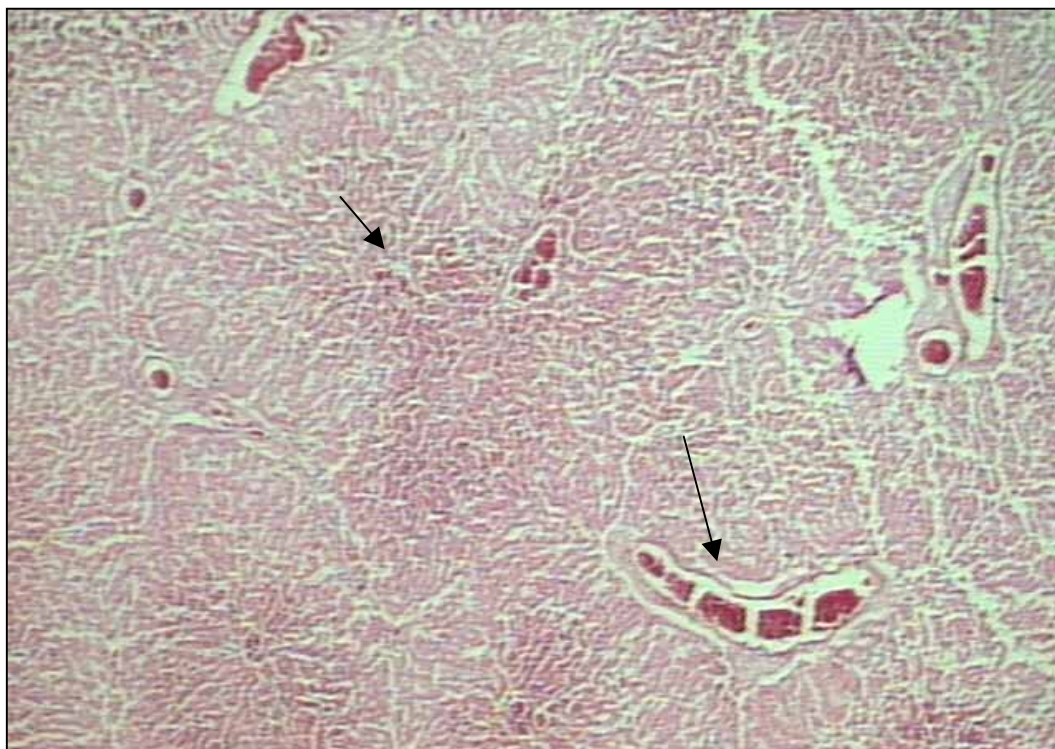


Figura 51. Microscopia de fígado de gato intoxicado experimentalmente com 0,45 mg/kg de MFAS via oral apresentando áreas de congestão hepática (HE 50X).

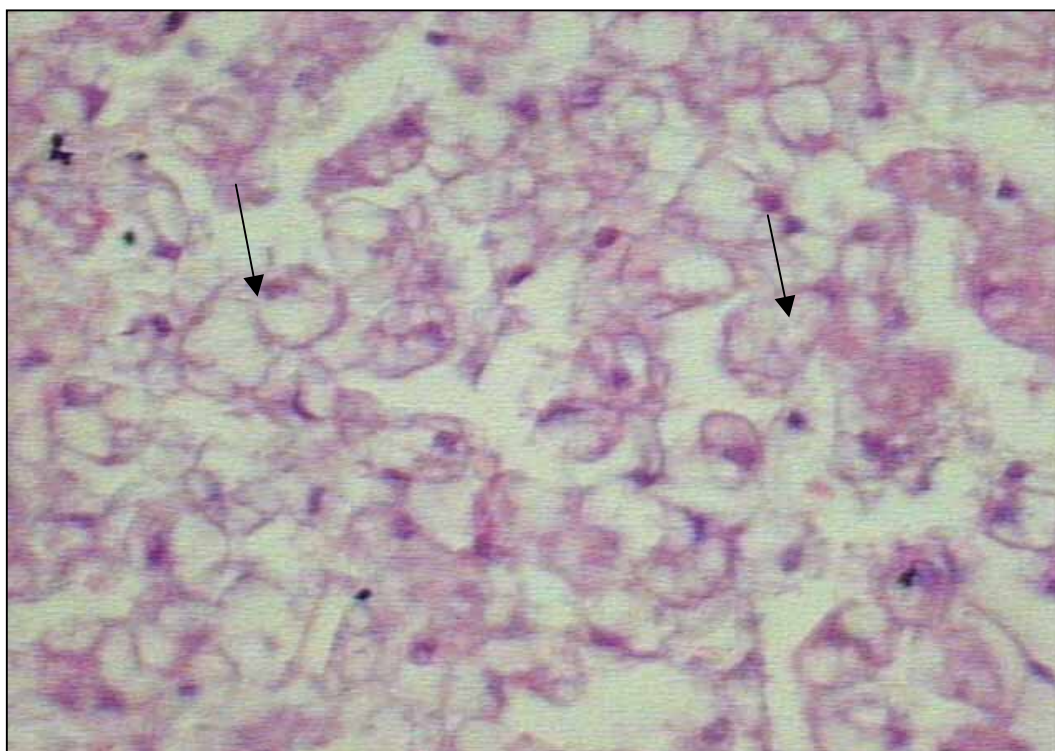


Figura 52. Corte histológico de fígado de gato intoxicado experimentalmente com 0,45 mg/kg de MFAS via oral apresentando áreas de degeneração gordurosa e hidrópica (HE 40 X 1,6).

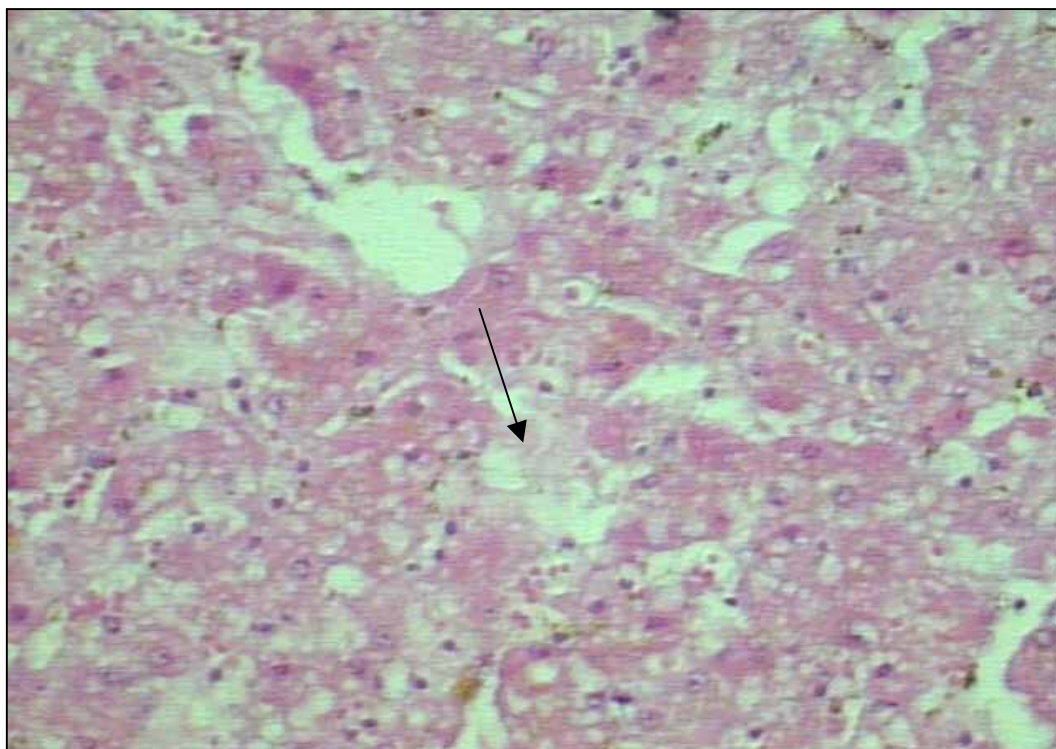


Figura 53. Áreas de necrose hepática em corte histológico de fígado de gato intoxicado experimentalmente com 0,45 mg/kg de MFAS via oral (HE 40 X 1,6).

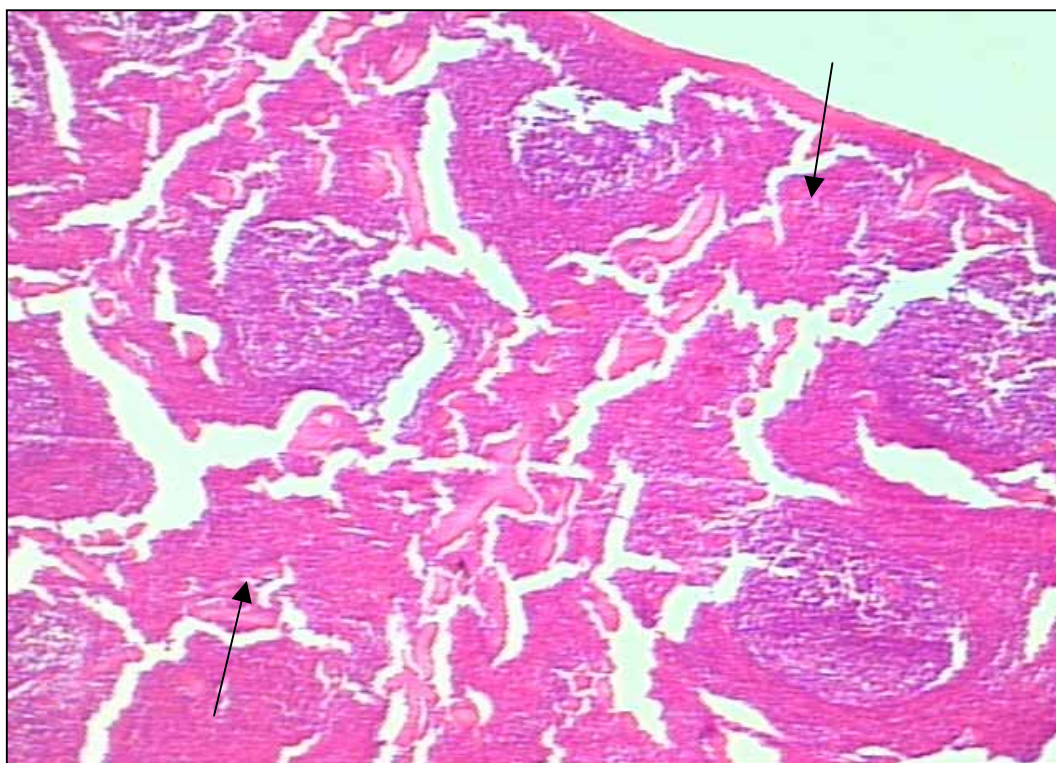


Figura 54. Retração esplênica com diminuição da polpa vermelha em corte histológico de baço de gato intoxicado experimentalmente com 0,45 mg/kg de MFAS via oral (HE 50X).

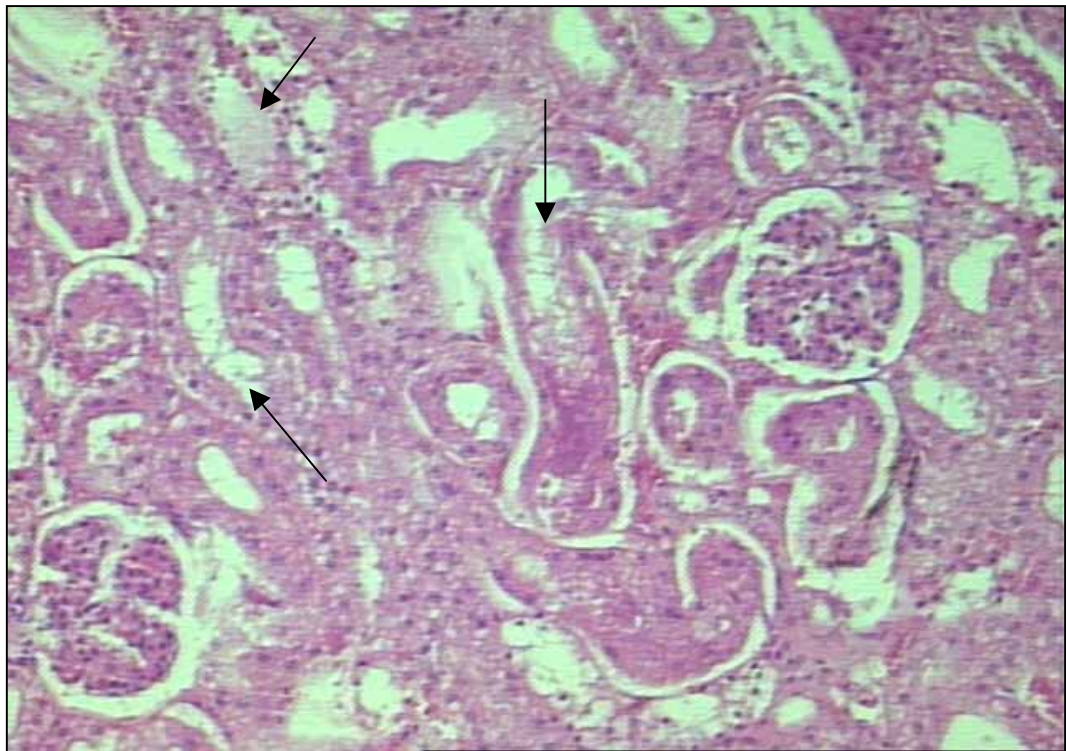


Figura 55. Rim de gato intoxicado experimentalmente com 0,45 mg/kg de MFAS via oral com áreas de necrose tubular e degeneração hialina (HE 20 X 1,5).

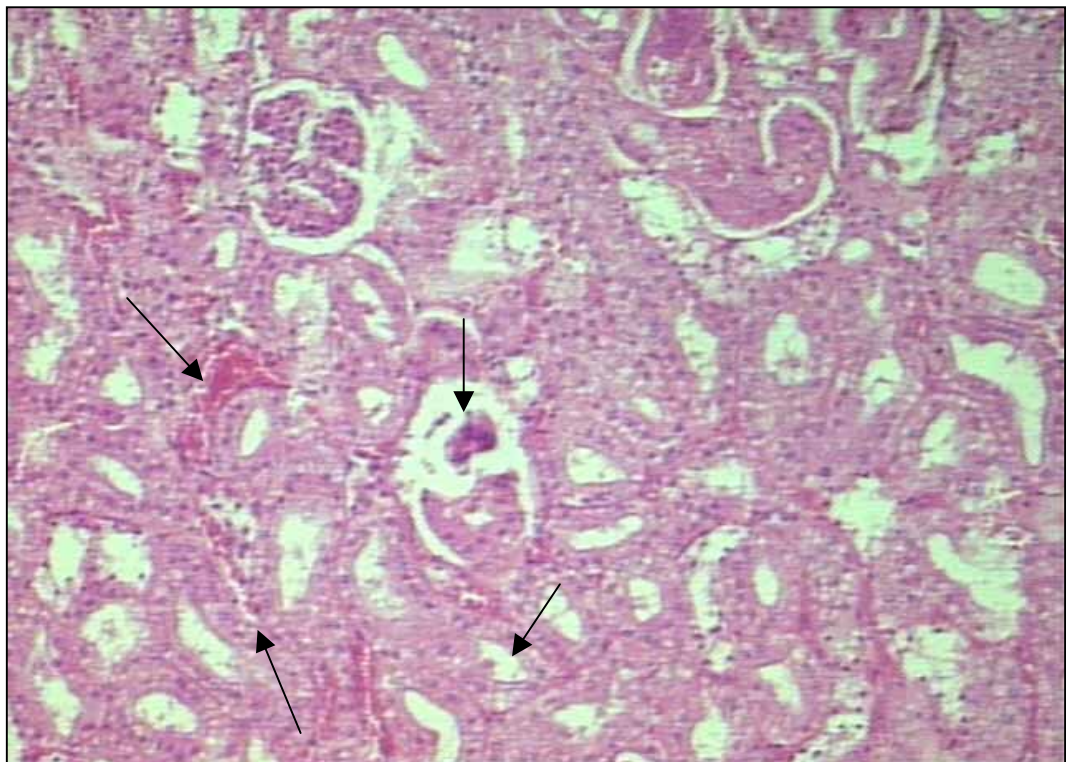


Figura 56. Necroses tubular e glomerular agudas renais, com áreas de hemorragia difusa e congestão em rim de gato intoxicado experimentalmente com 0,45 mg/kg de MFAS via oral (HE 20 X 1,5).

5.4. ANÁLISES TOXICOLÓGICAS

5.4.1. Avaliação toxicológica dos animais como induzidos experimentalmente com 0,45 mg/kg de MFAS via oral.

As amostras de soro sanguíneo dos 16 gatos intoxicados experimentalmente no presente estudo foram analisadas toxicologicamente, pela metodologia descrita em HPLC (ZEFERINO, 2005). O MFAS foi detectado e quantificado em 12 animais, seis horas após a intoxicação (M2). Houve recuperação e detecção do MFAS nas amostras de soro sanguíneo em 75% dos animais no presente estudo.

As amostras de soro colhidas antes da intoxicação (M1) representaram o controle negativo para avaliação dos perfis controles dos cromatogramas.

A tabela 40 mostra e a figura 57 ilustra uma curva analítica e equação de regressão linear estabelecida para o cálculo da recuperação do MFAS nas amostras de soro sanguíneo dos animais intoxicados experimentalmente no presente estudo.

Tabela 40. Recuperação em quintuplicata do MFAS, em amostra de soro sanguíneo fortificada e utilizada para construção da curva analítica e dosagens das amostras dos animais intoxicados experimentalmente

Concentração MFAS (µg/mL)	Área (recuperação)
4,0	155199
3,0	110412
2,0	93831
1,0	37761
0,5	14511

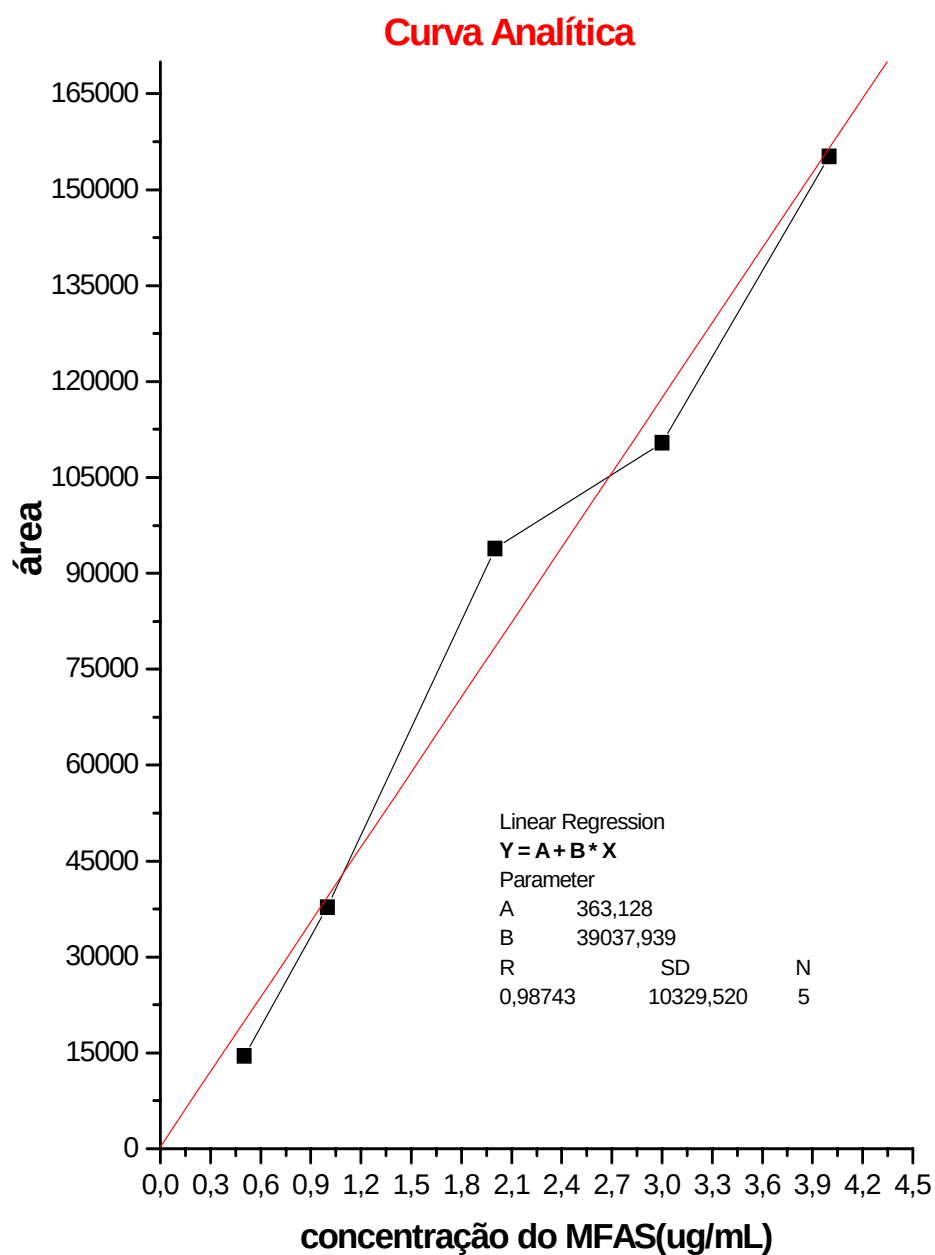


Figura 57. Curva analítica obtida a partir de amostra de soro fortificada com MFAS, para obtenção da equação de regressão linear e cálculo das concentrações do MFAS em µg/mL nas amostras de soro sanguíneo nos animais deste estudo.

As soluções padrões do MFAS foram injetadas no cromatógrafo para avaliar o perfil cromatográfico e tempo de retenção após otimização das condições cromatográficas e estabilização do equipamento de cromatografia para a realização das análises nas amostras de soro. A figura 58 ilustra o perfil do cromatograma após a injeção de 100 μ L da solução padrão do MFAS a 5,0 μ g/mL.

O pico cromatográfico do MFAS, nesta solução padrão, nestas condições cromatográficas, apresentou tempo de retenção de 9,1 min.

As amostras de soro sanguíneo controle dos gatos intoxicados experimentalmente com o MFAS também foram analisadas quanto ao seu perfil cromatográfico na ausência deste composto. A figura 59 ilustra o cromatograma de uma amostra de soro sanguíneo controle de um dos gatos utilizados no presente estudo, antes da intoxicação experimental (M1), após o procedimento de extração. Não houve pico cromatográfico no tempo de retenção previsto para a recuperação do MFAS, nas condições cromatográficas otimizadas.

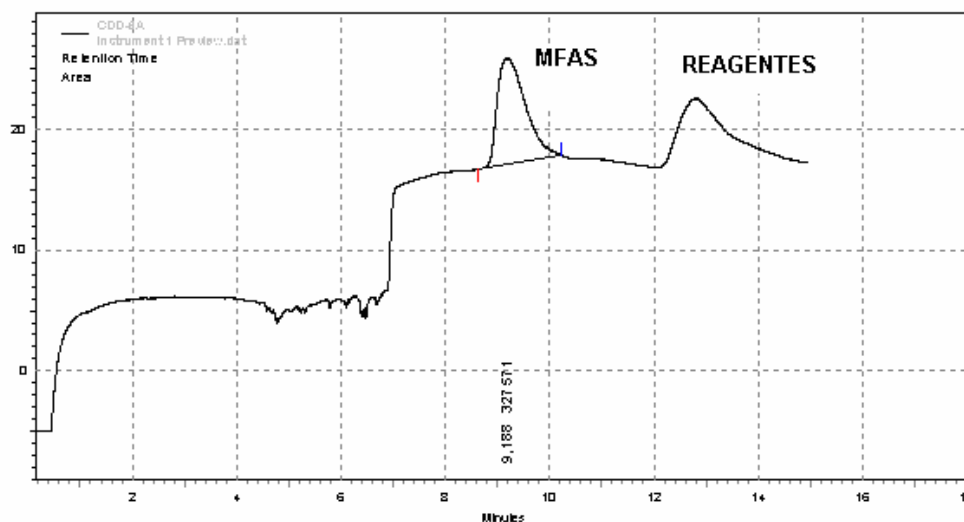


Figura 58. Perfil cromatográfico da solução padrão do MFAS na concentração de 5,0 μ g/mL, injetado no sistema cromatográfico nas condições otimizadas para as análises nas amostras de soro sanguíneo.

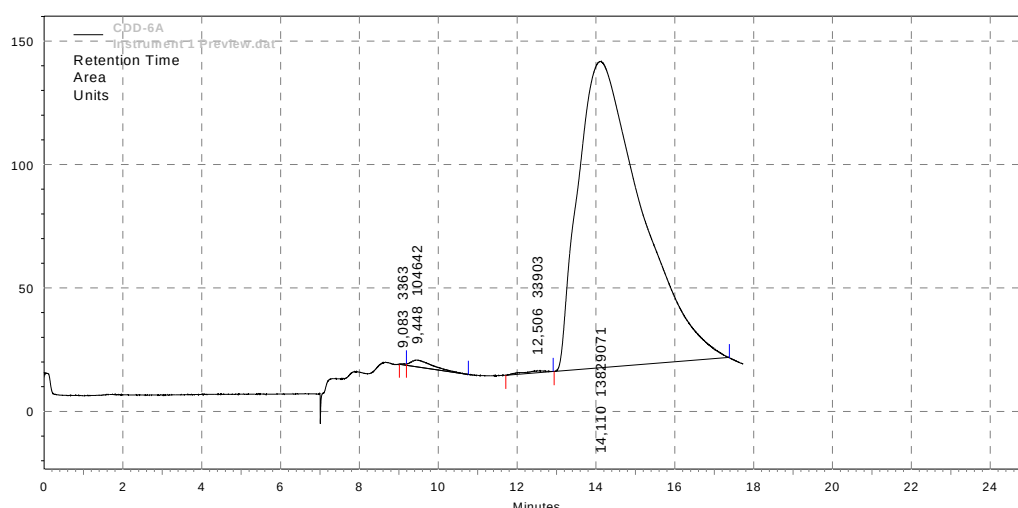


Figura 59. Perfil cromatográfico após injeção de extrato obtido de uma amostra de soro sanguíneo controle, antes da administração do MFAS (M1).

5.4.2. Recuperação do MFAS em $\mu\text{g/mL}$, mg/gato e da sua porcentagem residual presente no sangue dos animais intoxicados experimentalmente

A concentração do MFAS em mg/gato foi calculada a partir da concentração em $\mu\text{g/mL}$, da volemia (7% do peso vivo) e do peso dos animais. A tabela 41 mostra os valores individuais das recuperações do MFAS no soro sanguíneo dos animais intoxicados experimentalmente no presente estudo, bem como, as concentrações calculadas em mg/gato e as porcentagens residuais.

Os resultados a seguir exemplificam os cálculos que foram realizados para obtenção da concentração do MFAS em mg/gato e a porcentagem residual:

Animal 13 pesando 3,0 kg, considerando-se 7% do peso vivo = 210g de sangue com densidade 1,05 g/mL ;

$$V(\text{mL}) = \frac{\text{massa (g)}}{\text{densidade}}$$

- Volemia (mL): 200 mL;
- Concentração do MFAS no animal 13 (mg/gato): MFAS ($\mu\text{g/mL}$) x volemia (mL);
- **Concentração do MFAS (mg/gato):** $0,17 \times 200 = 34 \mu\text{g} = \mathbf{0,034 \text{ mg/gato}}$;

- Porcentagem residual do MFAS não metabolizado: a partir da dose inicial (100%) de 0,45 mg/kg em um gato pesando 3,0 kg (1,35 mg de MFAS);
- **Porcentagem de MFAS residual: 2,52%**

Os resultados dos cálculos obtidos com os dados do Animal 13 demonstraram que, com a análise toxicológica, houve recuperação e detecção de 0,034 mg/gato do MFAS (0,17 µg/mL), representando 2,52% de MFAS residual e não metabolizado pelo organismo animal, seis horas após a intoxicação (M2) (Tabela 41 e Figura 60).

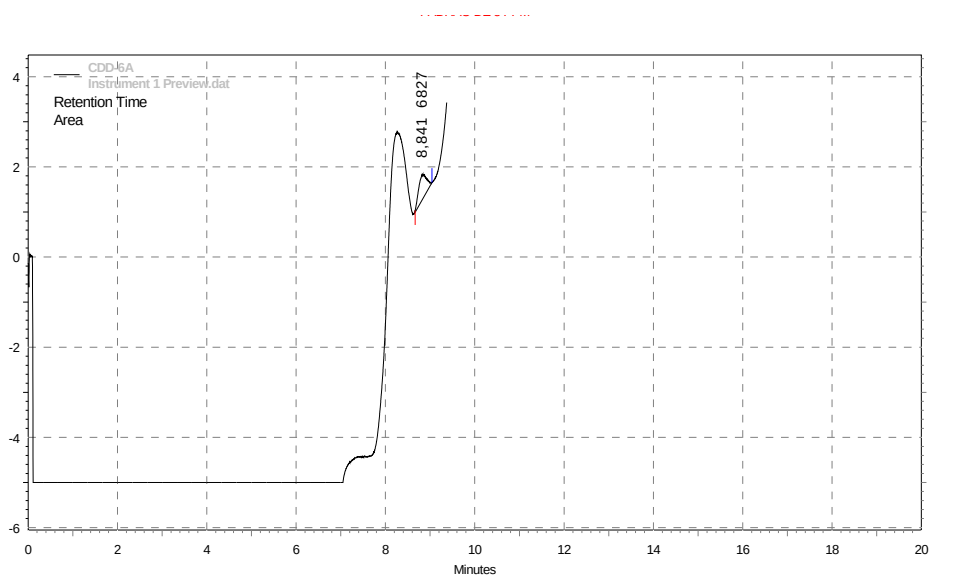


Figura 60. Cromatograma obtido após a injeção de 100 µL do extrato final da recuperação do MFAS a partir de amostra de soro sanguíneo do animal 13 (0,17 µg/mL).

Os valores individuais das recuperações, concentrações e porcentagens do MFAS quantificados nos animais intoxicados experimentalmente estão apresentados nas tabelas 39 e CC (no apêndice).

Tabela 41. Recuperação do MFAS em HPLC nas amostras de soro sanguíneo nos animais intoxicados experimentalmente com 0,45 mg/kg, via oral, suas respectivas concentrações em µg/mL, mg/kg e a porcentagem residual

Animal (A)	Área de recuper ação	Concentração do MFAS (µg/mL)	*Concentração do MFAS (mg/gato)	% MF AS resi dual
A1	7497	0,18	0,036	2,67
A3	6570	0,16	0,032	2,37
A4	10241	0,25	0,050	3,70
A5	6007	0,14	0,028	2,07
A6	16847	0,42	0,084	6,22
A7	4719	0,11	0,022	1,63
A9	13209	0,33	0,066	4,89
A10	15173	0,27	0,054	4,00
A11	31939	0,52	0,104	7,70
A12	48778	0,73	0,146	10,81
A13	6827	0,17	0,034	2,52
A15	39129	0,62	0,124	9,19
Médias	17244,67	0,32	0,065	4,81
dp**	±14022,77	±0,19	±0,039	±2,89

* concentração do MFAS em mg/gato foi calculada a partir da concentração em µg/mL, da volemia (7% do peso vivo) e do peso dos animais.

** desvio padrão

O valor médio, dos percentuais residuais do MFAS, detectado no soro dos gatos intoxicados experimentalmente no presente estudo, foi de 4,81% e o desvio padrão foi de ± 2,89%. Houve, em média, 95,19% de metabolização do MFAS circulante seis horas após a administração de 0,45 mg/kg do tóxico, via oral.

As figuras 61 a 71 ilustram os cromatogramas da recuperação do MFAS no soro de gatos intoxicados neste estudo. Os cromatogramas em tempo integral (20 min) estão apresentados nos apêndices (Figuras A a S).

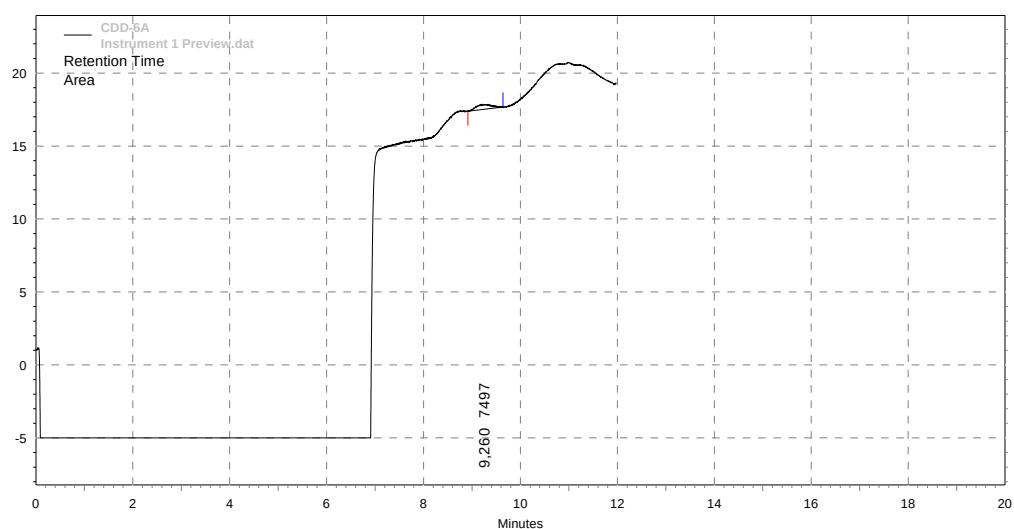


Figura 61. Cromatograma obtido após a injeção de 100 μ L do extrato final da recuperação do MFAS a partir de amostra de soro sanguíneo do animal 1 (0,18 μ g/mL).

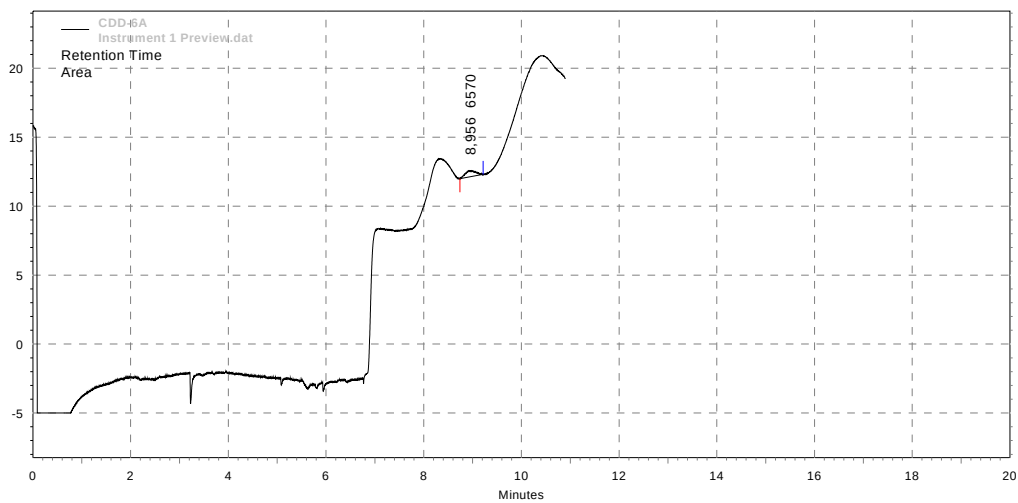


Figura 62. Cromatograma obtido após a injeção de 100 μ L do extrato final da recuperação do MFAS a partir de amostra de soro sanguíneo do animal 3 (0,16 μ g/mL).

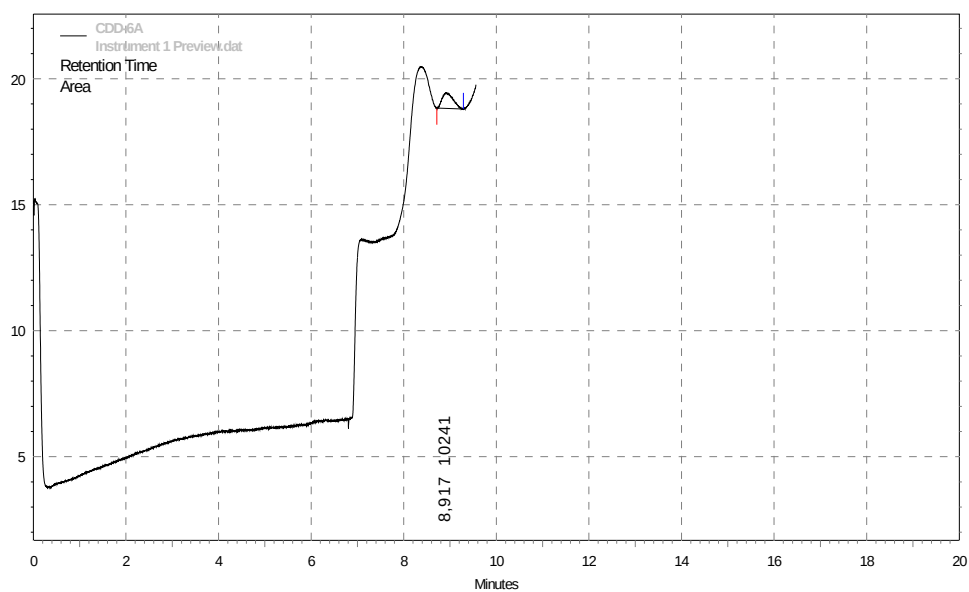


Figura 63. Cromatograma obtido após a injeção de 100 μ L do extrato final da recuperação do MFAS a partir de amostra de soro sanguíneo do animal 4 (0,25 μ g/mL).

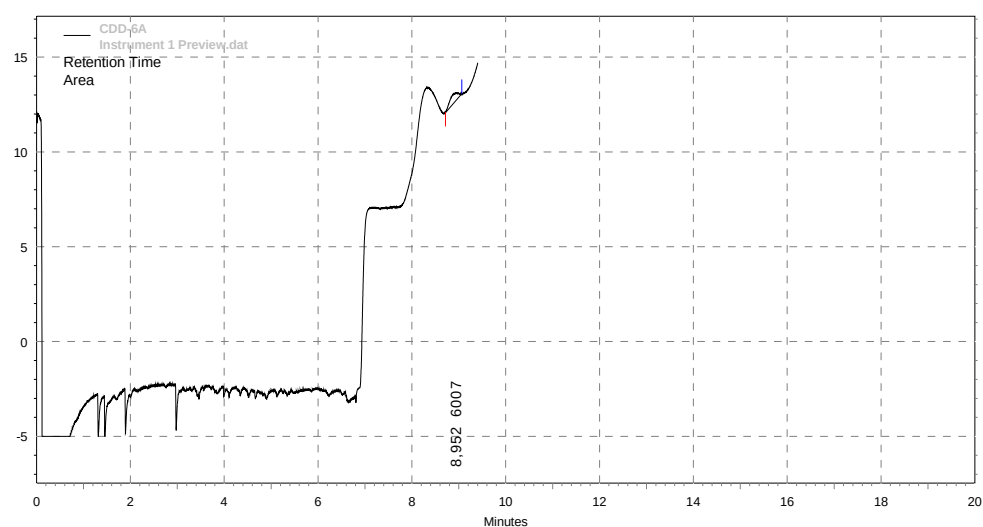


Figura 64. Cromatograma obtido após a injeção de 100 μ L do extrato final da recuperação do MFAS a partir de amostra de soro sanguíneo do animal 5 (0,14 μ g/mL).

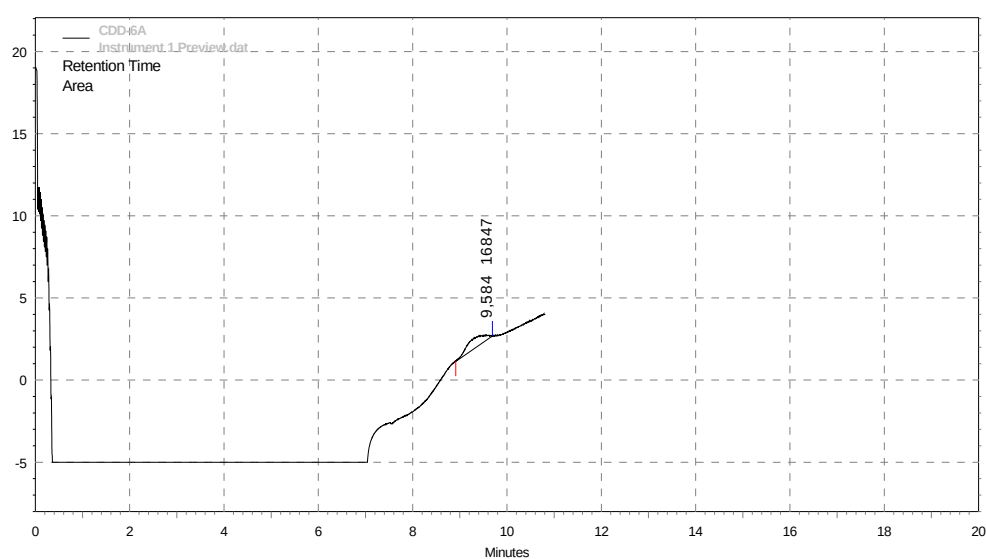


Figura 65. Cromatograma obtido após a injeção de 100 μ L do extrato final da recuperação do MFAS a partir de amostra de soro sanguíneo do animal 6 (0,42 μ g/mL).

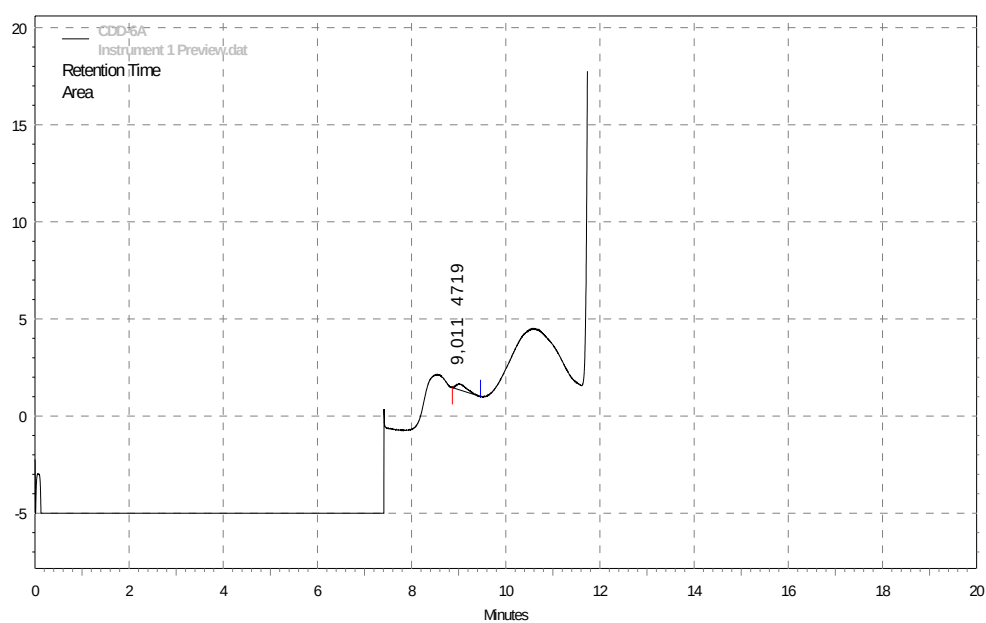


Figura 66. Cromatograma obtido após a injeção de 100 μ L do extrato final da recuperação do MFAS a partir de amostra de soro sanguíneo do animal 7 (0,11 μ g/mL).

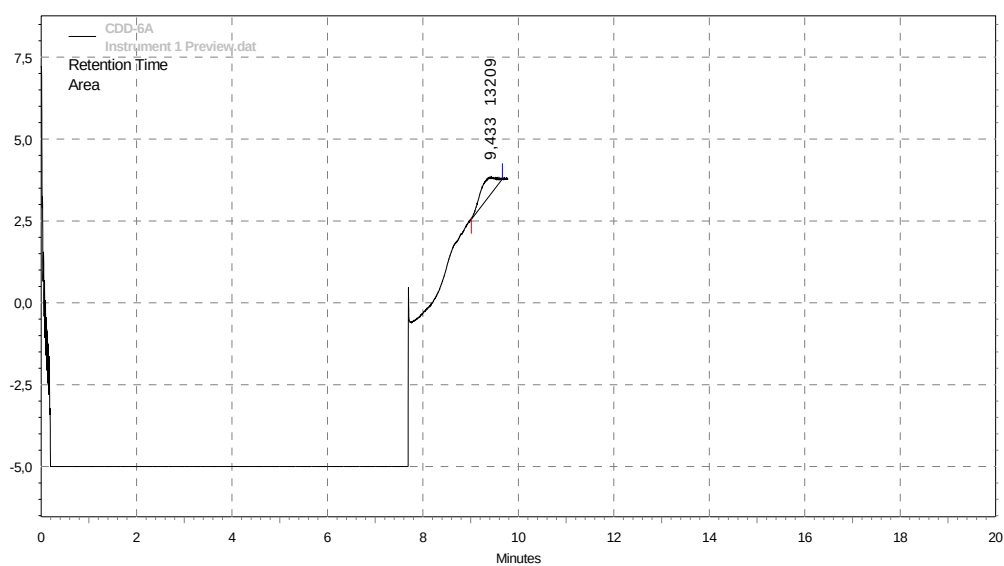


Figura 67. Cromatograma obtido após a injeção de 100 μ L do extrato final da recuperação do MFAS a partir de amostra de soro sanguíneo do animal 9 (0,33 μ g/mL).

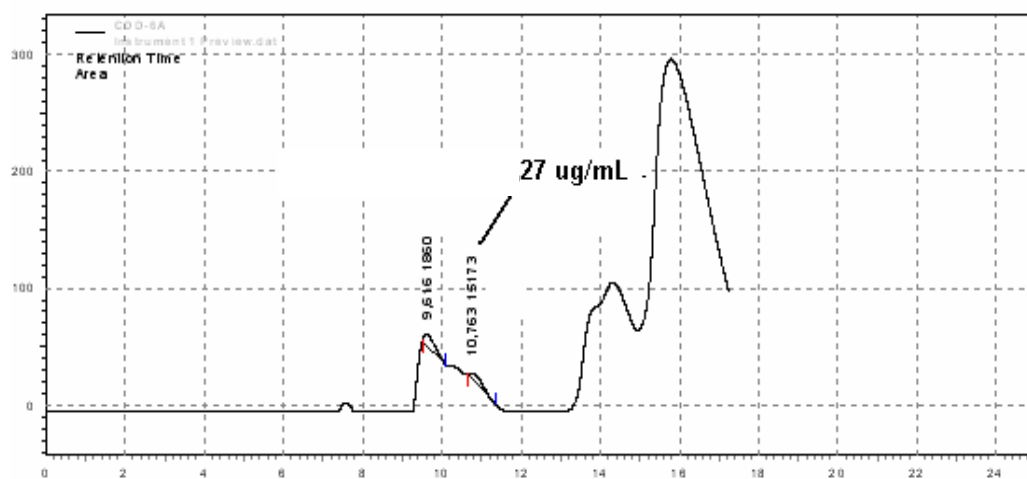


Figura 68. Cromatograma obtido após a injeção de 100 μ L do extrato final da recuperação do MFAS a partir de amostra de soro sanguíneo do animal 10 (0,27 μ g/mL).

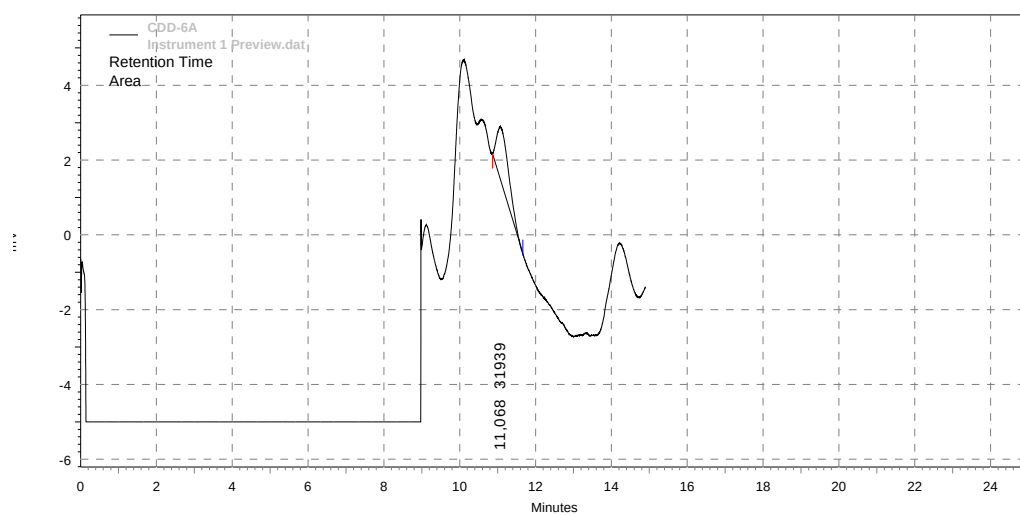


Figura 69. Cromatograma obtido após a injeção de 100 μL do extrato final da recuperação do MFAS a partir de amostra de soro sanguíneo do animal 11 (0,52 $\mu\text{g/mL}$).

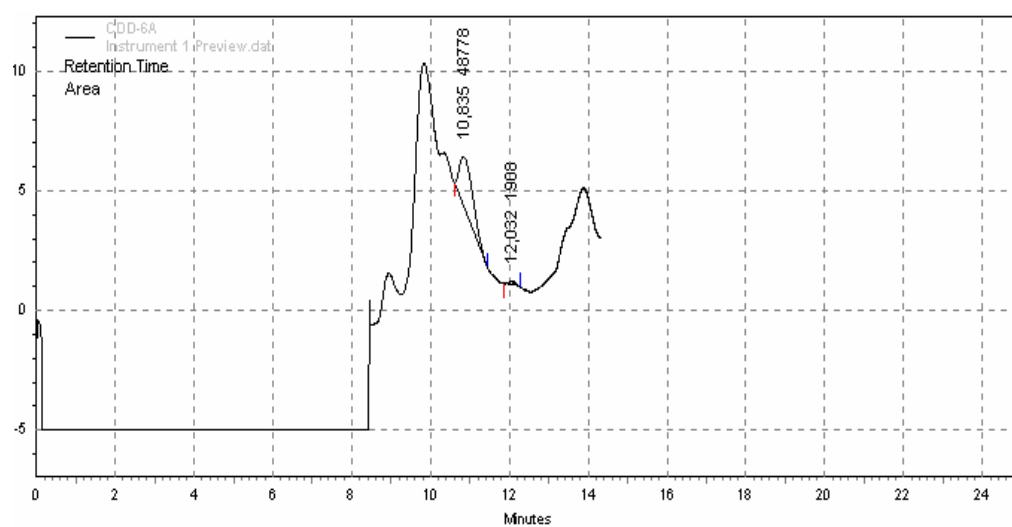


Figura 70. Cromatograma obtido após a injeção de 100 μL do extrato final da recuperação do MFAS a partir de amostra de soro sanguíneo do animal 12 (0,73 $\mu\text{g/mL}$).

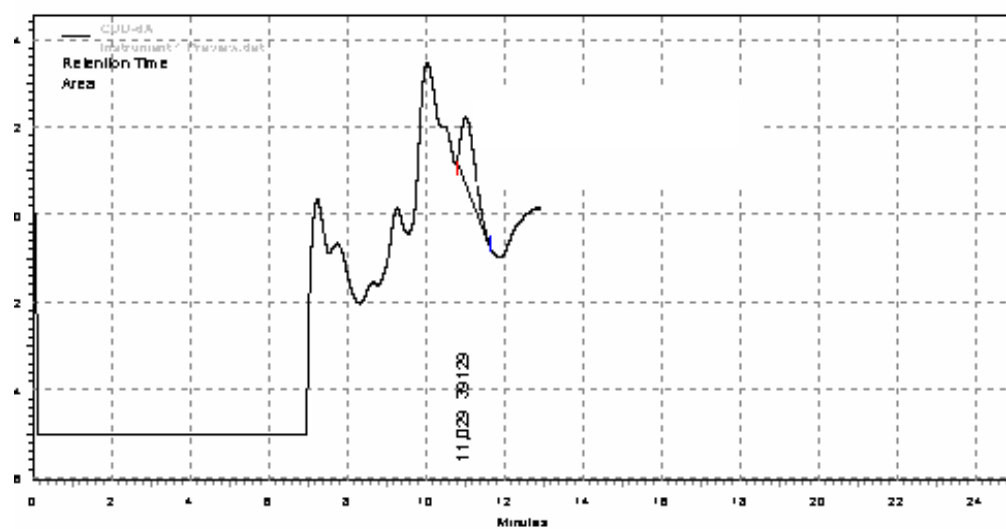


Figura 71. Cromatograma obtido após a injeção de 100 μL do extrato final da recuperação do MFAS a partir de amostra de soro sanguíneo do animal 15 (0,62 $\mu\text{g/mL}$).

6. DISCUSSÃO

6.1. Hemograma e contagem de plaquetas

O perfil hematológico dos gatos intoxicados experimentalmente com o MFAS foi avaliado com a realização de hemogramas e contagens de plaquetas. O eritrograma não demonstrou alterações significativas ($P>0,05$), embora tenha havido uma diminuição transitória na concentração de hemoglobina e no volume globular entre os momentos M3 e M4, retornando aos valores iniciais no M5. Nestes momentos, os animais foram submetidos a coletas sucessivas de amostras de sangue e também receberam fluidoterapia intravenosa com solução fisiológica para manutenção do acesso venoso e da diurese, podendo com isto, ter havido uma hemodiluição transitória (Kaneko et al., 1997).

As hemácias não sofreram resultados imediatos da possível ação do MFAS na eritropoiese, pois permanecem circulantes por até 120 dias (Kaneko et al., 1997; Kerr, 2003). Os animais intoxicados foram acompanhados, laboratorialmente, por um período de 96 horas, e não apresentaram alterações significativas no número de hemácias, durante este período.

A importante leucopenia com neutropenia, linfopenia e eosinopenia absolutas, assim como a trombocitopenia transitórias, observadas nos animais deste estudo, não estão descritas na literatura referente à intoxicação pelo MFAS. Estas alterações, no leucograma e no número de plaquetas, foram evidenciadas a partir do momento M3, tornando-se mais evidentes no M4 em todos os animais.

Houve também uma eosinopenia e monocitose relativas. A não ocorrência de alterações clinicamente significativas nos seus valores absolutos, deve-se provavelmente ao número muito baixo de leucócitos totais, refletindo numa diminuição em todas as células envolvidas nos diferenciais (Kaneko et al., 1997).

Quadros de linfopenia e eosinopenia podem estar relacionadas ao aumento do cortisol em situações de estresse fisiológico (Kaneko et al., 1997). Na intoxicação pelo MFAS há um aumento nos níveis de cortisol endógeno, por estarem com seu metabolismo prejudicado, pela diminuição dos níveis de ATP necessários para sua metabolização no fígado, assim como pela sua liberação nesta situação de estresse (Ballard & Hyde 1967).

Por outro lado, uma provável liberação de catecolaminas decorrente da excitação dos animais, não relacionada, neste caso, ao aumento do cortisol endógeno,

acarretaria uma linfocitose absoluta (Kaneko et al., 1997), que não foi observada no presente estudo, sendo apenas relacionada aos seus valores relativos.

Outro aspecto importante, relacionado à leucopenia e à trombocitopenia observado no presente estudo, foi o retorno aos valores normais de leucócitos e plaquetas, 96 horas após a intoxicação (M5) naqueles animais que sobreviveram, caracterizando assim, uma leucopenia e trombocitopenia transitórias.

Por outro lado, a eosinopenia relativa pode ser causada também pelo estresse e até mesmo pelo aumento do cortisol de origem endógena ou exógena no organismo (Kerr, 2003). Durante a intoxicação pelo MFAS, sabe-se que os valores do cortisol endógeno podem estar aumentados devido ao comprometimento no seu metabolismo com o bloqueio do ciclo de Krebs (Ballard & Hyde, 1967).

Huang et al. (1980) observaram que os episódios convulsivos e as alterações ventriculares, característicos da intoxicação pelo MFAS, iniciam-se geralmente após estimulação externa ou pela contenção dos animais, caracterizando também situações de estresse com conseqüente aumento na liberação de catecolaminas.

Dentre as principais causas de leucopenia por neutropenia, podem ser considerados o aumento no consumo ou na demanda tecidual, visto que estes leucócitos podem estar migrando para focos inflamatórios na intoxicação, sendo consumidos durante as lesões teciduais com o bloqueio do metabolismo celular, o que haveria liberação de células jovens e desvio à esquerda com a presença de bastonetes; a diminuição na produção medular, que também pode ser justificada pelo bloqueio do ciclo de Krebs e conseqüente diminuição da produção de energia para a proliferação destes leucócitos, levando assim, a uma granulopoese ineficiente; e pelo aumento do número de neutrófilos circulantes que podem estar se deslocando para o estoque marginal (Kaneko et al., 1997; Rebar et al., 2003), o que justificaria a neutropenia observada no presente estudo.

Nos casos de necrose tecidual, a monocitose também pode ser observada, mesmo que seja em seus valores relativos. A monocitose transitória pode ser observada também em quadros inflamatórios agudos (Rebar et al., 2003; Kerr, 2003). Na intoxicação pelo MFAS, tanto a necrose como a inflamação aguda, pela gastroenterite observada clinicamente nos animais intoxicados (Collicchio-Zuanaze et al., 2006), são descritas pelos seus efeitos tóxicos em diversos tecidos, principalmente neurológicos e cardíacos (Humphreys, 1988). Além disso, existe também a possibilidade de lesão tecidual renal nestes animais, com a ocorrência de nefropatias. (Simonnet et al, 1980).

Outro efeito relaciona a proteção do MFAS às células progenitoras da hematopoese no baço de ratos, horas antes de sessões de radioterapia (Vacék et al., 1970). No entanto, a administração do MFAS isolado, não associado com a radioterapia, causa uma inibição transitória da capacidade proliferativa das células progenitoras na medula óssea e no baço (Vacék et al., 1970). Este efeito inibitório é potencializado pela diminuição do metabolismo respiratório e da temperatura corpórea, que também são característicos da intoxicação pelo MFAS em gatos (Sikulová & Novák, 1970; Collicchio-Zuanaze et al., 2006).

Para chegar às prováveis causas das alterações no leucograma de gatos, intoxicados experimentalmente com o MFAS, necessitam de estudos mais específicos. No entanto, um seqüestro transitório de leucócitos para o pool marginal e órgãos linfóides ou até mesmo para algum sítio inflamatório na intoxicação, como o trato gastrointestinal, pode ser bastante provável. Porém, esse fato não justificaria a linfopenia observada no presente estudo. A ocorrência da gastroenterite em gatos intoxicados pelo MFAS, (Collicchio-Zuanaze et al., 2006) pode indicar um foco de processo inflamatório, que seria responsável também pelo seqüestro dos leucócitos.

Outra possível explicação, para a leucopenia e trombocitopenia transitórias, pode estar associada às causas descritas no estudo de Vacék et al. (1970), com o efeito do MFAS em colônias de células progenitoras no baço. O MFAS seria responsável pela diminuição do fornecimento energético para a multiplicação de leucócitos e plaquetas durante a intoxicação. Nesta situação, pode ocorrer uma diminuição na produção de ATP devido ao bloqueio da enzima aconitase no ciclo de Krebs. Como as células blásticas apresentam alta atividade desta enzima (Kaneko et al., 1997), esse bloqueio provavelmente impeça também a granulocitose.

A trombocitopenia pode ocorrer por alguns fatores como, produção ineficiente na medula óssea, seqüestro de plaquetas pelo baço, aumento na demanda ou destruição plaquetária e também nos casos de hemodiluição (Beers & Berkow, 1999).

A neutropenia aguda, induzida por agentes químicos, pode ser causada por alguns fatores fundamentais, tais como, mecanismos tóxicos, auto-imunes, reações de hipersensibilidade ou idiossincrasias (Beers & Berkow et al., 1999). A citotoxicidade de alguns agentes químicos como o MFAS, sobre as células de alto poder proliferativo deve ser considerada (O'Donnell et al., 1995).

O MFAS é considerado um agente químico citotóxico por sua ação relacionada à diminuição da atividade mitocondrial causada por bloqueio da aconitase

no ciclo de Krebs e conseqüente inibição da oxidação celular (Corsi & Granata, 1967). Também já foi estudado como modelo experimental de citotoxicidade, juntamente a outros agentes citotóxicos, como radioterapia e alguns quimioterápicos indutores de leucopenia com neutropenia (O'Donnell et al., 1995; Anghelescu et al., 2002). Desta forma, a citotoxicidade do MFAS pode ser uma das causas da leucopenia e trombocitopenia secundárias e transitórias verificadas no presente estudo.

A importância clínica da leucopenia, nos animais deste estudo, seria a susceptibilidade às contaminações e infecções secundárias durante o período de recuperação clínica da intoxicação ou até as primeiras 96 horas após a intoxicação. A trombocitopenia acentuada pode predispor os animais a hemorragias periféricas (Kaneko et al., 1997).

6.2. Bioquímica sérica

O diagnóstico da intoxicação pelo MFAS é realizado basicamente pelo histórico de ingestão do agente tóxico e pelos achados clínicos. No entanto, existem poucos estudos relacionados ao diagnóstico com auxílio laboratorial e ao prognóstico (Chi et al., 1996 e 1999; O'Hagan, 2004).

A hipotensão e acidose metabólica prolongadas com aumento de creatinina sérica sugerem prognóstico desfavorável na intoxicação pelo MFAS (Chi et al., 1996 e 1999). Porém, os animais intoxicados, no presente estudo, não apresentaram alterações significativas nos valores de uréia e creatinina séricas.

No entanto, Simonnet et al. (1980) referem a existência de lesão tecidual renal nos animais intoxicados pelo MFAS, com a ocorrência de nefropatia. As lesões renais, observadas nos animais que vieram a óbito, justificariam um quadro agudo de lesão renal, provavelmente com aumento nos metabólitos renais em um tempo posterior, que não puderam ser avaliados nos momentos seguintes até 96 horas.

A lesão celular causada durante processos de hipóxia, como ocorre na intoxicação pelo MFAS, provoca uma diminuição da fosforilação oxidativa e diversas conseqüências bioquímicas com desequilíbrios na manutenção da integridade dessas células. A diminuição dos níveis de ATP influencia o metabolismo celular por meio de alterações na bomba de sódio, onde há um aumento do influxo de cálcio, água e sódio, com saída de potássio para o meio extracelular. Ao mesmo tempo, ocorre aumento na glicólise com conseqüente redução do pH, acúmulo de ácido lático e exaustão das

reservas de glicogênio (Cotran et al. et al., 2000). Esta desestruturação celular, com alterações na permeabilidade da membrana, induz a liberação de fosfolipases, ativa enzimas lisossômicas e libera radicais livres, podendo evoluir para lesão irreversível e morte celular (Cotran et al. et al., 2000).

Houve um aumento de ALT, gradativo e evidente no momento M4, quando comparado aos demais momentos, porém dentro dos limites de normalidade para a espécie. A ALT está presente em tecidos com metabolismo ativo de aminoácidos, como fígado, rins e músculos esquelético e cardíaco. Em geral, esta enzima é considerada um indicador de dano hepático em algumas espécies animais como primatas, cães, gatos, coelhos e ratos. Mesmo presente em outros tecidos, como o músculo cardíaco, não ocorreria um aumento significativo da ALT após lesões nestes tecidos (Willard et al., 1994). Vale ressaltar que, em gatos, a degeneração muscular é uma causa rara de aumento da atividade da ALT (Dimsk, 1999).

Além disso, diversas drogas podem promover o aumento da atividade da ALT, como os barbitúricos (Willard et al., 1994; Spinosa et al., 1999), que foram também utilizados para anestesiá-los os animais intoxicados experimentalmente. O pico de atividade desta enzima que é alcançado num período de três a quatro dias após a lesão tecidual, deve ser considerado (Willard et al., 1994). Como os animais do presente estudo foram avaliados, para o perfil bioquímico, até um período de 30 horas após a intoxicação, um aumento relevante na atividade da ALT pode não ter sido observado.

As atividades das enzimas LDH e principalmente CK e sua fração cardíaca CK-MB apresentaram também aumento gradativo, mais pronunciado nos momentos M3 e M4. O aumento nestas enzimas estaria relacionado a lesões musculares, principalmente cardíacas, que ocorrem pela cardiotoxicidade do MFAS durante a intoxicação. As enzimas CK e LDH são inespecíficas e podem estar aumentadas tanto na ocorrência de lesões musculares esqueléticas como cardíacas (Willard, 1994; Kaneko et al., 1997).

A CK pode estar aumentada em situações como decúbito prolongado, ocorrência de convulsões e outras lesões musculares e teciduais inespecíficas como no miocárdio, no cérebro e no intestino (Aktas et al., 1993; Willard et al., 1994). A isoenzima CK-MB, que representa a fração cardíaca da CK, por ser encontrada principalmente no coração, e é considerada mais específica que as anteriores para avaliar ocorrência de lesão cardíaca (Kaneko et al., 1997).

Em cães, a atividade plasmática da fração CK-MB representa 30 a 45% da atividade total da CK (Aktas et al., 1993). No presente estudo, o comportamento destas enzimas foi semelhante, com aumento expressivo de CK e CK-MB. Durante uma lesão muscular importante, a enzima LDH só irá alcançar níveis elevados vários dias após, retornando ao normal somente após várias semanas. A CK e CK-MB, por sua vez, podem atingir valores elevados em algumas horas após a ocorrência da lesão, retornando ao normal após 48 horas. No presente estudo, as mensurações bioquímicas séricas foram realizadas até 30 horas após a lesão, demonstrando ainda valores elevados destas enzimas (Kaneko et al., 1997; Kerr, 2003).

A LDH também pode estar aumentada em outros processos de lesão tecidual, como nas lesões hepáticas. Esta enzima está presente em vários tecidos, principalmente nas musculaturas esquelética e cardíaca, no fígado e eritrócitos, mas também estão nos rins, ossos e pulmões (Kaneko et al., 1997). Desta forma, o seu aumento representa pouca especificidade para determinar a procedência da lesão. Até mesmo a ocorrência de hemólise durante o procedimento de colheita pode provocar aumento desta enzima no momento da análise.

A LDH pode ser utilizada para avaliar cardiomiopatias diversas como isquemias e infarto do miocárdio, no entanto o aumento da atividade desta enzima é mais lento quando comparado ao das enzimas CK e CK-MB, porém mantém os valores elevados por mais tempo se comparada a estas mesmas enzimas (Willard et al., 1994). A CK-MB pode apresentar elevações em seis horas, atingindo seu pico em até 24 horas após a lesão cardíaca, garantindo um diagnóstico mais precoce comparando-se às elevações de LDH e CK (Hudson et al., 1999). No entanto, Wyatt et al. (1998) sugeriram que a atividade da CK-MB não deve ser considerada para avaliação de lesão cardíaca em cães como é feita em humanos, devido a meia-vida, desta enzima, ser curta na espécie canina, o que poderá interferir na sua especificidade se a realização dos exames for em fase tardia.

Garriero et al. (1984) estudaram a diminuição da produção de ATP e redução da gliconeogênese na intoxicação pelo MFAS em aves. Estes autores observaram os níveis de lactato nos hepatócitos incubados com o monofluoroacetato e concluíram que há uma diminuição na atividade do malato e da enzima LDH *in vitro*. No presente estudo, observou-se um aumento gradativo da atividade desta enzima, principalmente nos momentos M2 e M3.

As elevações nas enzimas CK e principalmente CK-MB sugerem uma cardiotoxicidade com hipóxia ou necrose miocárdica na intoxicação pelo MFAS (Huang et al, 1980; Kaneko et al., 1997). No presente estudo, os aumentos significativos das enzimas CK e principalmente CK-MB, provavelmente estão relacionados com o grau de lesão cardíaca existente nos animais, que pôde ser comprovado histologicamente naqueles que vieram a óbito.

O citrato sérico, que se acumula no organismo durante a intoxicação pelo MFAS, exerce efeito quelante do cálcio sérico (Bosakowski, 1986). Este autor concluiu que os níveis de cálcio sérico total são inversamente proporcionais aos níveis de citrato sérico, explicando assim, o efeito quelante do citrato sobre o cálcio. Por outro lado, no presente estudo, os animais apresentaram um aumento do cálcio sérico total, porém dentro dos valores normais para a espécie felina (Kaneko et al., 1997). No entanto, o efeito quelante do citrato é melhor observado quando mensurados os valores de cálcio sérico ionizado, que se tornam diminuídos na intoxicação pelo MFAS (Taitelman et al, 1983; Collicchio-Zuanaze et al., 2006).

Os efeitos na diminuição dos níveis de cálcio ionizado podem estar diretamente relacionados ao prolongamento do intervalo QT no eletrocardiograma e à patogênese da intoxicação pelo MFAS (Roy et al., 1980). Hipotermia, bradicardia e prolongamento do intervalo QT também foram verificados por Bosakowski (1987), em outro estudo, e este autor sugeriu que os sinais clínicos são conseqüências da acidose láctica e do desequilíbrio eletrolítico pela diminuição nos níveis de ATP.

O MFAS também aumenta os níveis de glicose e glicogênio séricos, assim como, a concentração de amônia cerebral. A hiperglicemia pode ser um achado consistente na intoxicação pelo MFAS (Marrazzi & Holliday, 1981). Estes autores comprovaram que na intoxicação pelo MFAS, ocorre especificamente o bloqueio do ciclo de Krebs e as convulsões ocorrem pela diminuição do suprimento energético cerebral. A hiperglicemia induzida pelo monofluoroacetato é decorrente do aumento dos níveis de cortisol endógeno que tem seu metabolismo prejudicado na intoxicação, devido à diminuição dos níveis de ATP necessários para sua metabolização no fígado. Ocorre conseqüentemente uma hiperglucagonemia acompanhada de hipoinsulinemia nos animais intoxicados pelo MFAS (Ballard & Hyde, 1967).

No presente estudo, houve uma hiperglicemia gradativa e transitória a partir do momento M2, sendo mais significativa no M3, comprovando os dados relatados em literatura.

Além disso, os animais deste estudo apresentaram hipocalemia, hipofosfatemia e hipomagnesemia, não descritas em literatura. Gatos intoxicados pelo MFAS apresentam invariavelmente episódios de vômito como sinal clínico inicial da intoxicação (Collicchio-Zuanaze et al., 2006). Neste caso, a diminuição gradativa nos níveis de potássio sérico, nos momentos M2, M3 e M4, poderia ser justificada pela perda contínua deste eletrólito pelo vômito nestes animais.

A diminuição de fósforo sérico pode estar relacionada ao aumento na glicogenólise, que ocorre na intoxicação pelo MFAS (Marrazzi & Holliday, 1981; Kerr, 2003;). A glicogenólise promove uma maior demanda de fosfato para a ativação da adenil ciclase nas membranas celulares. Esta enzima ativa sequencialmente numerosos sistemas enzimáticos para a produção de energia no organismo (Kaneko et al., 1997; Kerr, 2003;).

A ocorrência de convulsões nos animais do presente estudo pode justificar a diminuição do magnésio a partir dos momentos M2 e M3. Pode haver o consumo deste íon nestas situações, assim como nos quadros de diarreia grave (Kaneko et al., 1997; Kerr, 2003;).

6.3. Necropsia

Os efeitos clínicos e patológicos, presentes na intoxicação pelo MFAS, são divididos entre sinais cardíacos e neurológicos que variam de acordo com a espécie animal e sua intensidade é dose-dependente, havendo também variações individuais (Humphreys, 1988). Portanto, acredita-se que os principais tecidos acometidos durante a intoxicação sejam o miocárdio e o SNC. Porém, durante a intoxicação pelo MFAS, existem outros órgãos sujeitos à ação da hipóxia celular, que ocorre pela diminuição do metabolismo celular oxidativo, como rins, fígado e pulmões (Noguchi et al., 1966).

No presente estudo, foram observados principalmente, edema e hemorragia miocárdicas, com necrose multifocal em mais de 80% dos animais que vieram a óbito, confirmando os achados de estudos anteriores, que afirmam a existência destas lesões principalmente por hipóxia miocárdica (Noguchi et al., 1966; Peters et al., 1981; Schultz, 1982; Tokarnia et al., 1990;). Os efeitos cardíacos resultam da ação direta do fluorocitrato nas células do miocárdio, do acúmulo de citrato e conseqüente hipóxia celular (Noguchi et al., 1966). As lesões microscópicas miocárdicas descritas incluem degeneração e necrose das células do miocárdio (Schultz, 1982).

Não houve quadro de miocardite importante neste estudo, como é relatado por outros autores (Peters et al., 1981), sendo a lesão isquêmica com a ocorrência de necrose multifocal, de maior importância histopatológica na intoxicação pelo MFAS. A degeneração miocárdica pode ser representada pela palidez na musculatura cardíaca, (Cotran et al. et al., 2000) observada nos animais do presente estudo. Degeneração e necrose isquêmica do miocárdio também são descritas na intoxicação pelo MFAS (Schultz, 1982).

Além disso, observaram-se edema pulmonar e congestão acentuada em aproximadamente 86% e 73%, respectivamente nos animais necropsiados no presente estudo. À histopatologia dos pulmões, confirmou-se também a presença de infiltrado inflamatório mononuclear. Os tecidos pulmonar, hepático, renal e miocárdio são comumente acometidos na intoxicação pelo MFAS. Schultz et al. (1982) verificaram a presença de congestão venosa, edema pulmonar e hidropericárdio, hemorragias no epicárdio e endocárdio e palidez miocárdica com edema, hemorragia, degeneração e necrose multifocal, em ovelhas intoxicadas experimentalmente.

Williamson (1967) estudou o efeito do MFAS no metabolismo da glicose para a perfusão cardíaca, relacionando o acúmulo de citrato tecidual pelo seu efeito direto inibindo a enzima fosfofrutoquinase. Esta inibição afeta diretamente o metabolismo dos carboidratos com conseqüente indução da falha cardíaca, conjuntamente com a inibição da glicólise e diminuição da energia, causando a lesão tecidual isquêmica, que também foi observada neste estudo.

A lesão celular, durante processos de hipóxia e diminuição da fosforilação oxidativa, provoca diversas conseqüências bioquímicas e desequilíbrios na manutenção da integridade celular (Cotran et al., 2000). A desestruturação celular, com alterações na permeabilidade da membrana, induz a liberação de fosfolipases, ativação de enzimas lisossômicas e liberação de radicais livres, podendo evoluir para lesão irreversível e morte celular (Cotran et al. et al., 2000).

A necrose e degeneração miocárdicas encontradas no presente estudo, caracterizaram a lesão isquêmica provocada pelo MFAS, que foi confirmada histopatologicamente pela ausência de celularidade inflamatória no tecido comprometido (Cotran et al. et al., 2000). Em estudo em ruminantes, Tokarnia et al. (1990) também observaram necrose cardíaca, além de fígado em noz moscada com áreas de degeneração hidrópica, esteatose hepática. No entanto, houve a presença de necrose com infiltrado mononuclear, edemas generalizados com ascite e hidrotórax;

degeneração hidrópica tubular e degeneração albuminosa granular. Em eqüinos, as alterações necroscópicas não foram observadas macroscopicamente e à histopatologia observaram degenerações renal e hepática, necrose miocárdica e gastroenterite com predomínio de polimorfonucleares e tumefação, vacuolização e necrose das células parietais (Tokarnia et al., 1993).

Já Peters et al. (1981) reportaram um caso de intoxicação sub-aguda por MFAS em humano que ao exame histológico demonstrou miocardite intersticial focal e congestões pulmonar, hepática e renal, confirmando a susceptibilidade destes tecidos aos efeitos do MFAS e que também foi observada neste estudo.

No presente estudo, as lesões hepáticas caracterizaram-se por processos de degenerações hidrópica e gordurosa, congestão e presença de infiltrado mononuclear abundante. Quanto às lesões renais, foram observados importante congestão difusa com degenerações tubular e hialina e necrose tubular acentuada, além da presença de infiltrado mononuclear. Este infiltrado inflamatório é comumente relacionado à presença de macrófagos, que promovem a fagocitose dessas células degeneradas.

Os efeitos neurológicos provocados pelo MFAS ocorrem especificamente pelo bloqueio do ciclo de Krebs, e as convulsões estão associadas à diminuição do suprimento energético (Marrazzi & Holliday, 1981). Estes efeitos resultam principalmente do metabolismo prejudicado das células da glia, pela redução da síntese de glutamina no cérebro, e liberação do glutamato e distúrbios de mecanismos sinápticos mediados pelo GABA, impedindo assim, os mecanismos inibitórios no SNC (Swanson & Graham, 1994).

No presente estudo, as alterações no SNC caracterizaram-se por predominância de congestão cerebral, tanto na substância branca quanto na cinzenta, áreas de hemorragia e ocorrência de gliose, satelirose e neuronofagia. Os neurônios são altamente susceptíveis às situações de anoxia, mesmo que temporária. Esta alteração pode ser uma causa freqüente de morte neuronal (Jones et al., 2000). Quando ocorre a morte de neurônios, estes ficam circundados por macrófagos derivados da micróglia, e por monócitos do sangue, também denominados neuronófagos. Em seguida, os debris neuronais são fagocitados e este processo é denominado como neuronofagia, que ocorreu no presente estudo, evidenciando a morte de neurônios. A satelirose pode ser justificada pelo aumento no número de células oligodendrogliais, que são consideradas células satélites no SNC e em condições de hipóxia, proliferam nas proximidades dos neurônios para o fornecimento de nutrientes a estas células (Jones et al., 2000).

Lesões endoteliais na microcirculação foram observadas nos cortes histológicos do encéfalo, miocárdio e pulmões dos animais intoxicados, com a presença de hemácias aderidas ao endotélio vascular. A ocorrência deste fato, pode representar a existência da lesão endotelial com ativação da cascata de coagulação e conseqüente agregação plaquetária, também denominada coagulação intravascular disseminada (CID) (Cotran et al. et al., 2000). Isto também pode ter colaborado para o consumo das plaquetas, com uma conseqüente trombocitopenia, que foi observada no estudo hematológico destes animais.

O MFAS provoca também uma desinibição do córtex motor pelo acúmulo de amônia não metabolizada e pela inativação da saída de íons cloro (Raabe 1981). Dentre os achados de lesões no SNC descritos na literatura, estão relatos em humano de atrofia cerebral difusa, dilatações da cisterna basal, ventrículos laterais e terceiro ventrículo (Trabes et al. 1983). As vacuolizações cerebrais, em um estudo em cães, são também relatadas (Yamashita et al., 2004).

As alterações encontradas no baço, nos animais intoxicados no presente estudo, devem também ser consideradas. Foram observadas congestão e retração esplênica em todos os animais necropsiados, além de diminuições principalmente da polpa vermelha, e também da branca. Não há relatos de alterações esplênicas na intoxicação pelo MFAS. A retração esplênica evidenciada nos animais deste estudo pode estar relacionada ao quadro de leucopenia e trombocitopenia transitórias, verificadas no estudo do perfil hematológico nestes animais.

O baço é o maior órgão fagocítico do sistema reticuloendotelial mononuclear, responsável pela reserva, fabricação e destruição de células sanguíneas, dividido estruturalmente em polpa branca e polpa vermelha (Aster, 2005). Em animais adultos, o baço, especialmente na polpa branca, é responsável pela produção e maturação de certos tipos de glóbulos brancos como os linfócitos T e B. A polpa vermelha é responsável pela destruição dos glóbulos vermelhos velhos, bactérias e qualquer partícula inerte que seja levada até ele pela corrente sanguínea. Em alguns casos de imunocitopenias, como em algumas neutropenias, os neutrófilos são fagocitados pelos macrófagos na polpa vermelha, que também é um reservatório para outros elementos do sangue, como os glóbulos brancos e plaquetas (Beers & Berkow et al., 1999).

Outro achado importante, neste estudo, foi a ocorrência de gastroenterite catarral observada em 50% dos animais avaliados, demonstrando a importante ação

tóxica do MFAS sobre a mucosa gastrointestinal, o que também é descrito na literatura (Jones et al., 2000). Os sinais clínicos de gastroenterite com vômitos e diarreias frequentes são observados em gatos intoxicados pelo MFAS (Collicchio-Zuanaze et al., 2006).

6.4 Análise toxicológica

A análise toxicológica representa o método diagnóstico definitivo na intoxicação pelo MFAS, pois tem como objetivo a sua identificação ou quantificação, dependendo do método utilizado (Mcgary et al., 1982).

Os métodos qualitativos são mais utilizados e foram desenvolvidos principalmente para detecção do MFAS em iscas líquidas, amostras de solo, sangue, tecidos e plantas tóxicas (Sakai & Miyahara, 1981). No entanto, estes métodos são morosos, pouco sensíveis e não quantificam o MFAS existente no organismo, restringindo assim, uma melhor avaliação para o diagnóstico e prognóstico do paciente intoxicado.

Poucos estudos têm sido desenvolvidos com o objetivo de quantificar o MFAS em amostras biológicas, devido à complexidade para extração do analito neste tipo de amostra, que é composta basicamente de material protéico e de lipídeos. Este é um dos fatores limitantes para a avaliação toxicológica na intoxicação pelo MFAS (Casper et al., 1985; Allender, 1990; Demarchi et al., 2001).

Outro fator limitante é a necessidade de se desenvolver métodos com baixos limites de detecção, para quantificar baixas concentrações do MFAS, considerando-se o grau de metabolização no organismo (Casper et al., 1985; Minnaar et al., 2000). Além disso, os procedimentos de extração em que são submetidas as amostras com material biológico podem produzir resultados que limitam a sua utilização, como interferentes nos cromatogramas (Allender, 1990; Demarchi et al., 2001).

Alguns produtos da degradação do material biológico, como material protéico e gorduras, ou do próprio analito, podem restringir a utilização de reagentes ou ácidos que possam extrair da matriz, componentes que interfiram na detecção do MFAS (Zeferino et al., 2005).

Na análise de uma substância por HPLC, a condutividade da solução é a expressão numérica quantitativa da sua capacidade em transportar a corrente elétrica nas condições cromatográficas do método desenvolvido (Minnaar et al., 2000). O transporte

de cargas, nas soluções eletrolíticas, é realizado pelos íons presentes na solução. Em geral, há um aumento linear da condutividade com o aumento da concentração do analito. Solventes polares, como a água, favorecem a ionização de substâncias dissolvidas, e com isso, facilita a condutividade (Zeferino et al., 2005).

As amostras biológicas, como o soro sanguíneo, contêm diferentes tipos de ânions tais como, cloretos, fluoretos, acetatos, citratos, sulfatos e fosfatos (Minnaar, 2000). Desta forma, para a validação da metodologia, foram analisadas as possíveis interferências destes ânions, que poderiam ter comportamento cromatográfico semelhante ao do ânion monofluoroacetato (Zeferino et al., 2005).

Dentre os diversos métodos relatados na literatura para determinação do MFAS em amostras biológicas, a maioria deles necessita de várias etapas de extrações seguidas de derivatização para posterior análise, principalmente em cromatografia gasosa (Ozawa & Tsukioka, 1989; Allender, 1990; Demarchi et al., 2001).

O método utilizado, no presente estudo, priorizou a praticidade no tratamento das amostras de soro e a rapidez na obtenção dos resultados. Este método foi validado a partir do emprego de uma metodologia simples de extração do MFAS no soro de gatos em HPLC com detecção por condutividade (Zeferino et al., 2005).

O método também se mostrou apropriado para a quantificação do MFAS no soro de gatos intoxicados experimentalmente com 0,45 mg/kg, via oral, após validação e otimização dos parâmetros de exatidão, precisão, limites de detecção e quantificação e linearidade (Ribani et al., 2004). As curvas analíticas mostraram bons coeficientes de correlação ($r > 0,99$) e linearidade.

De acordo com as medidas de validação em cromatografia (Ribani et al., 2004), as recuperações dos analitos após extração, devem estar entre 70 e 110%. Porém, de acordo com a complexidade da amostra, estas recuperações podem variar entre 60 e 120%.

O método utilizado, no presente estudo, apresentou recuperação de 74% na matriz em relação a soluções padrões de MFAS durante validação e otimização (Zeferino et al., 2005). Sendo assim, para minimizar os efeitos da matriz nessa recuperação, a curva analítica foi realizada a partir da recuperação do MFAS em soro sanguíneo de gato fortificado com o MFAS.

As soluções padrões do MFAS, sem a matriz biológica, e as amostras de soro sanguíneo controle dos gatos, antes da intoxicação, também foram analisadas quanto ao perfil cromatográfico (Zeferino et al., 2005). Nas soluções com o padrão do MFAS, o

tempo de retenção ficou entre 9 e 10 minutos. Por outro lado, nas amostras de soro antes da intoxicação (M1), não houve pico no tempo de retenção do MFAS, verificando que o comportamento cromatográfico dos demais constituintes da amostra biológica não interferiu na extração do MFAS.

No presente estudo, as pequenas variações nos tempos de retenção do MFAS nas amostras de soro dos gatos ocorreram provavelmente pelas alterações na estabilização do equipamento durante as análises, mas que não interferiram no perfil cromatográfico da amostra e no limite de detecção do método.

O MFAS foi detectado em 12 dos 16 gatos intoxicados experimentalmente no presente estudo, ou seja, foi possível quantificar o tóxico em 75% das amostras de soro, seis horas após a intoxicação (M2). Portanto, o método utilizado se apresentou efetivo no diagnóstico toxicológico da intoxicação pelo MFAS nos animais deste estudo e no momento avaliado, de acordo com Zeferino et al. (2005).

No presente estudo, a concentração média do MFAS, presente no soro dos gatos intoxicados experimentalmente, foi de 0,32 µg/mL ($\pm$ 0,19), seis horas após a intoxicação. Neste momento, os animais já apresentavam os sinais clínicos iniciais da intoxicação (Gammie, 1980), como vômitos e defecação com fezes amolecidas, respiração abdominal rápida, marcante hiperexcitabilidade à luz e aos estímulos externos, midríase irresponsiva à luz, sialorréia e vocalização (Collicchio-Zuanaze et al., 2006). No entanto, durante a padronização das análises toxicológicas, verificou-se que não houve detecção do MFAS após este período da intoxicação nos animais deste estudo. Portanto, as análises toxicológicas nos demais momentos ficaram inviabilizadas.

Na intoxicação aguda pelo MFAS, o aparecimento dos sinais clínicos acontece, em média, a partir de 30 minutos a duas horas após o contato com o tóxico. As intoxicações sub-agudas e crônicas podem ocorrer principalmente em ruminantes, sendo mais comum em ovelhas, que apresentam certa tolerância ao monofluoroacetato encontrado em algumas espécies de plantas tóxicas (Oliver et al., 1979).

A toxicidade do monofluoroacetato ocorre pela ação do fluorocitrato, seu metabólito ativo, formado no organismo por meio da denominada “Síntese Letal” (Peters, 1952). Assim, a rápida metabolização do MFAS no organismo intoxicado, deve ser considerada quando é feita a análise toxicológica para sua detecção e quantificação. Provavelmente, a concentração do MFAS, dependendo do momento da análise, deve ser inferior à dose ingerida pelos animais, pois a sintomatologia da intoxicação ocorre com o início da formação do metabólito tóxico no organismo (Gal et al., 1956).

Peters & Morselli (1965) concluiu que o MFAS tem sua metabolização 20 minutos após a injeção intraperitoneal em ratos. Por outro lado, Eason et al. (1994) concluíram que a meia-vida plasmática do MFAS em ovinos foi de 10,8 horas e de 5,4 horas em caprinos, no estudo de resíduos na carne destes animais. As concentrações do MFAS nos demais tecidos foram inferiores às do plasma, persistindo por até 96 horas.

Em outro estudo, da persistência de resíduos em coelhos intoxicados experimentalmente pelo MFAS, as suas concentrações nos músculos esqueléticos, rins e fígado foram dose-dependentes e significativamente menores quando comparadas às do plasma. (Gooneratne et al., 1995).

No presente estudo, os gatos foram intoxicados experimentalmente com 0,45 mg/kg com MFAS via oral, e considerando-se o peso médio destes animais entre três e cinco quilos, a dose inicial foi de 1,35 a 2,25 mg totais do tóxico no organismo. A concentração média residual do MFAS, encontrada na análise toxicológica, foi de 0,065 mg/gato ($\pm 0,039$), ou seja, 4,81% ($\pm 2,89$) do MFAS administrado ao animal foram detectadas no soro, seis horas após a intoxicação.

As diferenças entre as concentrações individuais do MFAS, no soro dos animais deste estudo, podem ser justificadas pelos diferentes graus de sensibilidade individual (Buffa & Pasquale-Ronchetti, 1977; McIlRoy et al., 1981; Eastland & Beasom, 1986). Esta característica da intoxicação pelo MFAS, nas diversas espécies animais, provavelmente interfira no grau de metabolização e na sua concentração plasmática.

A simplicidade e rapidez do método de HPLC, utilizado neste estudo, viabilizaram a detecção do MFAS em amostra biológica de soro sanguíneo, em pacientes vivos. Porém, sua utilização seria mais efetiva antes da metabolização total do tóxico no organismo e do desenvolvimento de sinais clínicos avançados da intoxicação. A variabilidade individual da metabolização do MFAS no organismo também deve ser considerada e a quantidade residual encontrada pode ser útil para relacionar o tempo da intoxicação e o seu prognóstico.

7. CONCLUSÕES

- o monofluoroacetato de sódio, via oral, na dose de 0,45 mg/kg, causa, em gatos, leucopenia com neutropenia, linfopenia e eosinopenia absolutas, assim como trombocitopenia 12 a 30 horas após a intoxicação. Estas alterações no perfil hematológico são transitórias, retornando aos valores iniciais 96 horas após a intoxicação;

- gatos intoxicados experimentalmente com o MFAS, apresentam hiperglicemia e aumento das atividades das enzimas lactato desidrogenase, creatino quinase (CK) e sua fração cardíaca (CK-MB) a partir de seis horas após a intoxicação;

- o MFAS, na dose de 0,45 mg/kg causa hipocalemia, hipofosfatemia e hipomagnesemia transitórias, a partir de seis horas após a intoxicação experimental em gatos;

- as lesões macroscópicas e histopatológicas predominantes nos animais que vieram a óbito, após a intoxicação experimental pelo MFAS, são características de processos isquêmicos e degenerativos, principalmente no miocárdio, pulmões, fígado e rins;

- congestão e retração esplênicas, edema, hemorragia, congestão e necrose miocárdicas, edema e congestão pulmonares acentuados, degenerações hepática e renal e necrose tubular renal, além de congestão cerebral com áreas de hemorragia, gliose, sateliose e neuronofagia, são os achados histopatológicos predominantes nos animais que vieram a óbito após a intoxicação pelo MFAS;

- foi possível estabelecer um método diagnóstico simples e eficiente da intoxicação por MFAS em gatos, em estágios iniciais, com a utilização da análise toxicológica em HPLC, nas condições cromatográficas utilizadas no presente estudo;

- o MFAS foi detectado no soro de 75% dos gatos intoxicados experimentalmente com 0,45 mg/kg, via oral, seis horas após a intoxicação;

- 95,19% do MFAS, em média, é metabolizado até seis horas após a intoxicação com 0,45 mg/kg, em gatos. Neste período, 4,81% de resíduo do MFAS não metabolizado foram detectados no soro dos gatos intoxicados experimentalmente;

- há variabilidade individual na metabolização do MFAS no organismo, e a quantidade residual encontrada no soro sanguíneo é útil para relacionar a quantidade de MFAS circulante no organismo, com o tempo da intoxicação e o seu prognóstico;

- há necessidade de estudos futuros para verificar a possibilidade de detecção do MFAS na urina e do citrato no sangue e tecidos para viabilizar um diagnóstico toxicológico em estágios mais avançados da intoxicação.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

- AKTAS, M., AUGUSTE, D, LEFEBVRE, H.P., TOUTAIN, P.L., BRAUN, J.P. Creatine kinase in the dog: a review. **Vet. Res.**, v. 17, p. 353-69, 1993.
- ALLENDER, W.J. Determination of sodium fluoroacetate (compound 1080) in biological tissues. **J. Anal. Toxicol.**, v.14, p.45-9, 1990.
- ANGHELESCU, I., KLAWE, C., DAHMEN, N. Venlafaxine in a patient with idiopathic leucopenia and mirtazapine induced severe neutropenia. **J. Clin. Psychiatry**, v. 63, n. 9, p. 838, 2002.
- ANNISON, E.F., HILL, K.J., LINDSAY, D.B., PETERS, R.A. Fluoroacetate poisoning in sheep. **J. Comp. Pathol.**, v.70, p.145-55, 1960.
- APLIN, T.E.H. Poison plants of Western Australia. Toxic species of genera *Gastrolobium* and *Oxylobium*. **J. Agric. West. Aust.**, v. 8, p.42-52, 200-6, 241-3, 408, 414, 1968.
- APTEKMAN, K. P. ; ALTWEGG, D. ; KITAMURA, E. A. ; VICENTE, P. C. ; SAKATE, M. . Estudo retrospectivo de felinos intoxicados por monofluoroacetato de sódio. In: 7ª Mostra Científica da FMVZ-UNESP, Botucatu, 2003, Botucatu. **Anais da 7ª Mostra Científica da FMVZ-UNESP, Botucatu. Botucatu : FMVZ-UNESP**, v. 7. p. 58-58, 2003.
- ASTER, J.C. Diseases of white blood cells, lymph nodes, spleen and thymus, In: **ROBBIN'S & COTRAN Pathologic basis of disease**. 7th ed., Elsevier, chap 14, 2005, p. 661-705.
- ATZERT, S.P. A review of sodium monofluoroacetate its properties, toxicology and use in predator and rodent control. Special Scientific report on Wildlife 146. U.S. Departament of the interior, 1971. Apud CALVER, M.C., KING, D.R. Fluoroacetate

* UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA. Coordenadoria Geral de Bibliotecas, Editora Unesp. **Normas para publicações da UNESP**. São Paulo: Ed. Unesp, 1994. 4 v., v..2: Referências Bibliográficas.

- lesions in wildlife management, bio-ethics and co-evolution. **J. Biol. Educ.** , v.20, p.257-62, 1986.
- BALLARD, C.L., HYDE, P.M. Effect of insulin on blood glucose and corticosterone levels in sodium fluoroacetate induced diabetes. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, v.124, p.316-20, 1967.
- BEERS, M.H., BERKOW, R. Hematology and oncology: leukopenia e lymphocytopenia and disorders of the spleen. In. _____. **The Merck manual of diagnosis and therapy**. 17th ed. Whitehouse Station: Merck Research Laboratories, 1999. chap.135. Disponível em: <<http://www.merck.com.mrkhard/mmanual/home.jsp>> Acesso em: 10 dez. 2005.
- BOSAKOWSKI, T., LEVIN, A.A. Serum citrate as a peripheral indicator of fluoroacetate and fluorocitrate toxicity in rats and dogs. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, v.85, p.428-36, 1986.
- BOSAKOWSKI, T., LEVIN, A.A. Comparative acute toxicity of chlorocitrate and fluorocitrate in dogs. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, v.89, p.97-104, 1987.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Portaria 326, de 9 de novembro de 2005. Aprova o regulamento técnico para produtos desinfetantes domissanitários harmonizado no âmbito do Mercosul através da Resolução nº 49/99.
- Diário Oficial da União**, Poder Executivo, de 14 de novembro de 2005. Disponível em: <<http://e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=19641#>>. Acesso em: 6 jun. 2006.
- BUFFA P., PASQUALI-RONCHETTI, I. Biochemical lesions of respiratory enzymes and configurational changes of mitochondria in vivo. **Cell Tissue Res.**, v.183, p. 1-23, 1977.
- BURANDE, M., GOYAL, R.K., VERMA, S.C. Studies on the mechanism of cardiotoxic effects of sodium fluoroacetate & dobutamine. **Indian J. Exp. Biol.**, v.21, p.150-2, 1983.

- CASPER, H.H., McMAHON, T.L., PAULSON, G.D. Capillary gas chromatographic-mass spectrometric determination of fluoroacetate residues in animal tissues. **J. Assoc. Off. Anal. Chem.**, v.68, n. 4, p. 722-5, 1985.
- CHENOWETH, M.B., KANDEL, A., JOHNSON, L.B., BENNETT, D.R., Factors influencing fluoroacetate poisoning. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 102, p.31-49, 1951.
- CHI C-H., CHEN K-W., CHAN S-H., WU M-H., HUANG J-J., Clinical presentation and prognostic factors in sodium monofluoroacetate intoxication. **Clin. Toxicol.**, v.34 , p.707-12, 1996.
- CHI, C-H., LIN, T-K., CHEN, K-W. Hemodynamic abnormalities in sodium monofluoroacetate intoxication. **Hum. Exp. Toxicol.**, v.18, p.351-3, 1999.
- CHUNG, H.M. Acute renal failure caused by acute monofluoroacetate poisoning. **Vet. Hum. Toxicol.**, v.26, p. 29-32, 1984.
- COLLICCHIO, R.C. **Intoxicação por fluoroacetato de sódio: avaliações clínica, hemogasométrica, eletrocardiográfica e da eficácia do gluconato de cálcio e succinato de sódio como protocolo terapêutico.** Botucatu, 2002. 133p. Dissertação (Mestrado em Clínica Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista.
- COLLICCHIO-ZUANAZE, R.C., SAKATE, M., SCHWARTZ, D.S., TREZZA, E., CROCCI, A.J. Calcium gluconate and sodium succinate for therapy of sodium fluoroacetate experimental intoxication in cats: clinical and electrocardiographic evaluation. **Hum. Exp. Toxicol.**, v. 25, n.4, p. 175-82, 2006.
- CORSI, A., GRANATA, A.L. Differential toxicity of fluoroacetate to heart, kidney and brain mitochondria tha living rat. **Biochem. Pharmacol.**, v.16, p.1083-9, 1967.

- COTRAN, R., KUMAR, V., COLLINS, T., In: **ROBBIN'S Patologia Estrutural e Funcional**. 6^a ed. Editora Guanabara Koogan, 2000.
- DEMARCHI, A.C.C., MENEZES, M.L., MERCADANTE, A., VASSILLIEF, I. Determination of the sodium monofluoroacetate in serum by gas chromatography. **Chromatographia**, v. 54, p.402-4, 2001.
- DE PAULA, L.F., SAKATE, M. **Intoxicação por fluoroacetato em cães: avaliação clínica e eletroencefalográfica do tratamento com monoacetato de glicerol e gluconato de cálcio**. Botucatu, 2000. 106p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista.
- DIMSK, D.F. Fígado e pâncreas exócrino. In: **GOLDSTON, R.T., HOSKINS, J.D. Geriatria e gerontologia: case e gatos**. São Paulo: Roca, 1999, cap. 11, p. 227-50.
- EASON, C.T., GOONERATNE, R., FITZGERALD, H., WRIGHT, G., FRAMPTON, C. Persistence of sodium monofluoroacetate in livestock animals and risk to humans. **Hum. Exp. Toxicol.**, v. 13, p.119-22, 1994.
- EASON, C. Sodium monofluoroacetate (1080) risk assessment and risk communication. **Toxicology**, v. 27, p.181-2, 523-30, 2002.
- EASTLAND, W.G., BEASOM, S.L. Effects of ambient temperature on the 1080-LD₅₀ of racoons. **Wildl. Soc. Bull.**, v.14, p. 234-5, 1986.
- EGYED, M.N., NOBE, T.A., KLOPPER, U., SHLOSBERG, A. The differential diagnosis of sodium fluoroacetate and strychnine poisoning in dogs. **Refu. Vet.**, v.34, p.125-30, 1977.
- EGYED, M.N. Mass poisoning in dogs associated with feeding meat contaminated with organofluoride (sodium fluoroacetate or fluoroacetamide). **Refu. Vet.**, v.35, p.9-11, 1978.

- FOLB, P.I. Cytostatic and immunosuppressive drugs. In: MEYLER, L., DUKES, M.N.G. **Meyler's side effects of drugs: encyclopedia of adverse reactions and interactions**, 1984. p.836.
- FUYU, G., HUIFANG, W., YI, L. Sensitive and selective method for the determination of sodium monofluoroacetate by capillary zone electrophoresis. **J. Chromatogr.**, v.719, p. 421-6, 1996.
- GAL, E.M., PETERS, R.A., WAKELIN, R.A. Some effects of synthetic fluoro-compounds on the metabolism of acetate and citrate. **Biochem. J.**, v. 64, p. 161-8, 1956.
- GAMMIE, J. Sodium fluoroacetate poisoning in a cat. **Can. Vet. J.**, v.21, p.64, 1980.
- GARIRERO, B., HUGHES, P.E., LARDY, H. Effect of fluoroacetate on hepatic gluconeogenesis. **Fluoride Q. Rep.**, v. 17, p. 94-104, 1984.
- GOH, C.S., HODGSON, D.R., FEARNSIDE, S.M., HELLER, J., MALIKIDES, N. Sodium monofluoroacetate (Compound 1080) poisoning in dogs. **Aust. Vet. J.**, v. 83, p. 474-9, 2005.
- GOONERATNE, S.R., EASON, C.T., DICKSON, C.J., FITZGERALD, H., WRIGHT, G. Persistence of sodium monofluoroacetate in rabbits and risk to non-target species. **Hum. Exp. Toxicol.**, v.14, p. 212-6, 1995.
- GROLLMAN, A.P., HARRISON, H.C., HARRISON, H.E. The renal excretion of citrate. **J. Clin. Invest.**, v. 40, p. 1290-6, 1961.
- HASKINS, H-K. Thermoregulation, hypothermia, hyperthermia. In: ETTINGER, S.J., FELDMAN, E.C. **Textbook of Veterinary Internal Medicine**. Philadelphia :Saunders Company, 1995. v.1, cap. 5, p. 26-30.
- HEYWARD, R.P., NORBURY, G.L. Secondary poisoning of ferrets and cats after 1080 rabbit poisoning. **Wildl. Res.**, v. 25, p. 75-80, 1998.

- HOOGENBOOM, J.J.L., RAMMELL, C.G. Determination of sodium monofluoroacetate (compound 1080) in tissues and baits as its benzyl ester by reaction-capillary gas chromatography. **J. Anal. Toxicol.**, v.11, p.140-3, 1987.
- HUANG, T.Y., PANG, X.Q., CH`ANG, H.L. Prophylactic effect of reserpine in cardiac failure caused by monofluoroacetic acid derivatives. **Acta Pharmacol. Toxicol.**, v.47, p.78-80, 1980.
- HUDSON, M.P., CHRISTENSON, R.H., KRISTIN-NEWBY, L., KAPLAN A.L., OHMAN, E.M. **Cardiac markers: point of care testing**. Clinica Chimica Acta, v. 284, p. 223-37, 1999.
- HUMPHREJS, D.J. **Veterinary toxicology**. 3.ed. London: Bailliere Tindall, 1988. p.179-81.
- JONES, T.C., HUNT, R.D., KING, N.W. **Patologia Veterinária**. Barueri: Manole, 6^a. ed, 2000, 1415p.
- KALMBACH, E.R. "Ten-eighty"war produced rodenticide. **Science**, v.102, p.232-7, 1945.
- KANEKO, J.J., HARVEY, J.W., BRUSS, M.L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. Academic Press, 5th. ed, 1997, 932p.
- KEMMERLING, W. Toxicity of Palicourea marcgravii: combined effects of fluoroacetate, N-methyltyramine and 2-methyltetrahydro-beta-carboline. **J. Biosci.**, v.51, p.59-64, 1996.
- KERR, M. G. **Exames Laboratoriais em Medicina Veterinária – Bioquímica clínica e Hematologia**. São Paulo: Editora Roca. 2^a. ed., 2003, 436p.
- KIMBALL, B.A., MISHALANIE, E.A. Gas chromatographic determination of sodium monofluoroacetate as the free acid in an aqueous solvent. **J. Chromatogr.**, v.634, p.289-96, 1993.

- KRAMER, H.L. Linquid chromatographic determination of sodium fluoroacetate (compound 1080) in meat baits and formulations. **J. Assoc. Off. Anal. Chem.**, v. 67, n. 6, p. 1058-61, 1984.
- KREBS, H.C., KEMMERLING, W., HABERMEHL, G. Qualitative and quantitative determination of fluoroacetic acid in *Arrabidea bilabiata* and *Palicourea marcgravii* by F-NMR spectroscopy. **Toxicon**, v.32, p.909-13, 1994.
- LEMAIRE, L.M. Cardiotoxicity of comercial 5-fluorouracil vials stems from the hydrolisis of this drug. **Cancer Treat. Rep.**, v.71, p.733-6, 1992.
- LUNA, L.G. **Manual of histological staining methds of armed forces Institute of Pathology**. Washington: Mc Graw Hill, 1968. 258p.
- MARAIS, S.T. Monofluoroacetic acid, the toxic principle of "Gifblaar" *Dichapetalum cymosum* (Hook). **Onderstepoort J.Vet. Sci. Anim. Ind.**, v. 20, p. 67-73, 1944.
- MARRAZZI, M.A., HOLLIDAY, J.F. Comparison of insulin hypoglycemia-induced and fluoroacetate-induced convulsions in gold thioglucose lesioned mice. **Biochem. Pharmacol.**, v.30, p.3231-7, 1981.
- McCURNIN, D.M., POFFENBARGER, E.M. **Small animal physical diagnosis and clinical procedures**. Philadelphia: W. B. Saunders, 1991. 222p.
- MCGARY, E.D., MELOAN, C.E. A rapid qualitative method for the detection of monofluoroacetic acid (1080) in the presence of sodium fluoride in liquide baits. **Anal. Lett.**, v.15, p. 1051-6, 1982.
- MCILROY, J.C. The sensivity of Australian animals to 1080 poison. I. Intraespecific variation and factors affecting acute toxicity. II. Marsupial and eutherian carnivores. **Aust. Wildl. Res.**, v. 8, p. 369-83, 385-99, 1981.

- MINNAAR, P.P., SWAN, G.E., McCRINDLE, R.I., DE BEER, W.H., NAUDE, T.W. A high-performance liquid chromatographic method for the determination of monofluoroacetate. **J. Chromatogr. Sci.**, v. 38, p.16-20, 2000.
- MISUSTOVÁ, J., NOVÁK, L., HOSEK, B. Influence of lowered environmental temperature on metabolic and lethal effects of sodium fluoracetate in mice. **Physiol. Bohemoslov.**, v.18, p.319-23, 1969.
- MISUSTAVÁ, J., NOVÁK, L., HOSEK, B. Duration of gás metabolism and radioprotective effect in mice after administration of AET, serotonin, sodium fluoroacetato and histamine in mice. **Strahlentherapie**, v. 141, p. 126-31, 1971.
- NOGUCHI, T.T., OHNUKI, Y., OKIGAKI, T. Effect of sodium fluoracetate on myocardial cells *in vitro*. **Nature**, v.209, p.1197-8, 1966.
- NORRIS, W.R., TEMPLE, W.A., EASON, C.T., WRIGHT, G.R., ATARIA, R., WICKSTROM, M.L. Sorption of fluoroacetate (compound 1080) by colestipol, activated charcoal and anion-exchange in resins *in vitro* and gastrointestinal decontamination in rats. **Vet. Hum. Toxicol.**, v.42-5, p. 269-75, 2000.
- NOVÁK, L., MISUSTOVÁ, J., HOSEK, B. Course of respiratory exchange and body temperature in mice after repeated administration of fluoracetate: a indicator of aconitase activity *in vivo*. **Physiol. Bohemoslov.**, v.21, p.53-61, 1972.
- O'DONNELL, V.B., SPYCHER, S., AZZI, A. Involvement of oxidants and oxidant-generating enzyme(s) in tumour-necrosis-factor alfa-mediated-apoptosis: role for lypoxigenase pathway but not mitochondrial respiratory chain. **Biochem. J.**, v. 310, p. 133-41, 1995.
- O'HAGAN, B.J. Fluoroacetate poisoning in seven domestic dogs. **Aust. Vet. J.**, v. 82 , p.756-8, 2004.
- OERLICH, P.B., MCEWAN, T. The toxic principles of *Acacia georginae*. **Queensl. Agric. Sci.**, v. 19, p. 1-16, 1962.

- OLIVEIRA, M.M. Chromatographic isolation of monofluoroacetic acid from *Palicourea marcgravii*, St. Hill. **Experientia**, v. 19, p. 586, 1963.
- OLIVER, A.J., KING, D.R., MEAD, R.J. Fluoroacetate tolerance, a genetic marker in some australian mamals. **Aust. J. Zool.**, v.27, p.362-72, 1979.
- OMARA, F., SISODIA, C.S. Evaluation of potential antidotes for sodium fluoroacetate in mice. **Vet. Hum. Toxicol.**, v.32, p.427-9, 1990.
- OZAWA, H., TSUKIOKA, T. Determination of sodium monofluoroacetate in soil and biological samples as the dichloroanilide derivative. **J. Chromatogr.**, v. 473, p. 251-9, 1989.
- PALERMO-NETO, J., MORAES-MOREAU, R.L. Monofluoroacetato de sódio (Composto 1080). **Folha Med.**, v. 110, p. 59-65, 1995.
- PEREIRA, P.M., REICHMANN. Fluidoterapia e transfusão sanguínea. In: ANDRADE, S.F., **Manual de terapêutica veterinária**, 2nd ed., São Paulo: editora Roca, cap. 19, 2002, p. 491-501.
- PETERS, R.A. Lethal synthesis. **Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.**, v.139, n.895, p.143-70, 1952.
- PETERS, R.A., MORSELLI, P.L. Observations on the use an action of monoaceticin in fluoroacetate poisoning. **Biochem. Pharmacol.**, v.14, p.1891-3, 1965.
- PETERS, R.A., SPENCER, H., BIDSTRUP, M.D. Subacute fluoroacetate poisoning. **J. Occup. Med.**, v. 23, n. 2, p.112-3, 1981.
- RAABE, W.A. Ammonia and disinhibition in cat motor cortex by ammonium acetate, monofluoroacetate and insulin-induced hypoglycemia. **Brain Res.**, v.210, p.311-22, 1981.

- RAMMELL, C.G., HOOGENBOOM, J.J.L., JULIAN, R. Treatment of 1080 poisoning in dogs with glycerol monoacetate, **N. Z. Vet. J.**, v.33, p.149-50, 1985.
- REBAR, A.H., MaCWILLIANS, P.S., FELDMAN, B.F., METZGER, F.L. et al., **Guia de Hematologia para Cães e Gatos**. São Paulo: Roca, 2003, 291p.
- RIBANI, M., BOTTOLI, C.B.G., COLLINS, C.H., JARDIM, I.C.S.F., MELO, L.F.C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos, **Quím. Nova**, v. 27, n. 5, p. 771-80, 2004.
- ROBINSON, R.F., GRIFFITH, J.R., WOLOWICH, W.F., NAHATA, M.C. Intoxication with sodium monofluoroacetate (compound 1080). **Vet. Hum. Toxicol.**, v. 44, p. 93-5, 2002.
- ROY, A., TAITELMAN, U., BURSZTEIN, S. Evaluation of the role of ionized calcium in sodium fluoroacetate (1080) poisoning. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, v. 56, p. 216-20, 1980.
- SAKAI T.F., MIYAHARA, T. Fluorometric determination of monofluoroacetic acid. **Eisei Kagaku**, v.27, p. 45-9, 1981.
- SCHULTZ, R.A., COETZER, J.A.W., KELLERMAN, T.S., NAUDÉ, T.W. Observations on the clinical, cardiac and histopathological effects of fluoracetate in sheep. **Onderstepoort J. Vet. Res.**, v.49, p.237-45, 1982.
- SCHVARTSMAN, S. **Intoxicações agudas**. 4.ed. São Paulo: Sarvier, 1991. p.223-4.
- SHERLEY, M. The traditional categories of fluoroacetate poisoning signs and symptoms belie substantial underlying similarities. **Toxicol Lett.**, v. 151, p. 399-406, 2004.
- SIKULOVÁ, J., NOVÁK, L. Body temperature as na indicator of the radioprotective effect of sodium fluoroacetate in mice. **Int. J. Radiat. Biol.**, v. 17, p. 587-90, 1970.
- SIMONNET, H., GAUTHIER, C., PELLET, M. Effect of acidosis, alkalosis and monofluoroacetate administration on citrate and ATP content of rat renal medulla and papilla. **Arch. Intern. Phys. Biochim.**, v. 88, p. 69-74, 1980.

- SPENCER, A.F., LOWENSTEIN, J.M. Citrate content of liver and kidney of rat in various metabolic states and in fluoroacetate poisoning. **Biochem. J.**, v.103, p. 342-8, 1967.
- SPINOSA, H.S., GÓRNIK, S.L., BERNARDI, M.M. **Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária**. 2^a.ed., Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 1999, 545p.
- SPORKERT, F., PRAGST, R., HÜBNER, S., MILLS, G. Headspace solid-phase microextraction with 1-prenyldiazomethaneon-fibre derivatisation for analysis of fluoroacetic acid in biological samples. **J. Chromatogr. B**, v. 772, p.45-51, 2002.
- SWANSON, R., GRAHAM, S.H. Fluorocitrate and fluoroacetate effects on astrocyte metabolism *in vitro*. **Brain Res.**, v.664, p.94-100, 1994.
- TAITELMAN, U., ROY, A., RAIKHLIN-EISENKRAFT, B., HOFFER, E. The effect of monoacetin and calcium chloride on acid-base balance and survival in experimental sodium fluoroacetate poisoning. **Arch. Toxicol. Suppl.**, v. 6, p.222-7, 1983.
- TILLEY, L.P. **Essentials of canine and feline electrocardiography interpretation and treatment**. 3.ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1992. p.469.
- TOKANIA, C.H., PEIXOTO, P.V., DÖBEREINER, J. Poisonous plants affecting heart function of cattle in Brazil. **Pesqui. Vet. Bras.**, v.10, p.1-10, 1990.
- TOKARNIA, C.H., COSTA, E.R., BARBOSA, J.D., ARMIEN, A.G., PEIXOTO, P.V. Intoxicação experimental por *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae) em equinos. **Pesqui. Vet. Bras.**, v.13, p. 67-72, 1993.
- TOKARNIA, C.H., DOBEREINER, J., PEIXOGO, P.V. Poisonous plant affecting livestock in Brazil. **Toxicon**, v.40, n.12, p. 1635-60, 2002.
- TRABES, J., RASON, N., AVRAHAMI, E. Computed tomography demonstration of brain damage due to acute sodium monofluoracetate poisoning. **Clin. Toxicol.**, v. 20, p. 85-92, 1983.

- VACEK, A., SIKULOVÁ J., DAVIDOVÁ, E., NOVÁK, L., FILIP, J. Protective effect of sodium fluoroacetate on haemopoietic stem cells of irradiated mice. **Folia Biol.**, v.16, p.129-36, 1970.
- VICKERY, B., VICKERY, M.L. Toxicity for livestock of organofluorine compounds presente in *Dichapetalum* plant species. **Vet. Bull.**, v. 43, p.537-42, 1973.
- WILLARD, M.D., TVEDTEN, H. TURNWALD, G.H. **Small Animal Clinical Diagnosis by Laboratory Methods**. 2nd. ed., Philadelphia W.B.: Saunders Company, 1994, 377p.
- WILLIAMSON, J.R. Glycolitic control mechanisms –III. Effects of iodoacetamide and fluoroacetate on flucose metabolism in the perfused rat heart. **J. Biol. Chem.**, v.242, p.4476-85, 1967.
- WYATT, K.M., LABUC, R., WYATT, G.L. Measurement of creatine kinase MB in canine cardiac patients. **Aust. Vet. J.**, v. 76, n. 12, 1998.
- XAVIER, F.G., KOGIKA, M.M., SPINOSA, H.S. Common causes of poisoning in dogs and cats in a braxilian veterinary teaching hospital from 1998 to 2000. **Vet. Hum. Toxicol.** V. 44, n. 1, p. 115-16, 2002.
- YAMASHITA, K., YADA, H., ARIYOSHI, T. Neurotoxic effects of alpha-fluoro-beta-alanine (FBAL) and fluoroacetic acid (FA) on dogs. **J. Toxicol. Sci.**, v. 29, p. 155-66, 2004.
- ZAR, J.H. **Bioestatiscal analysis**. New Jersey: Prentice-Hall, 1996. 718p.
- ZEFERINO, M.A. **Determinação do monofluoroacetato de sódio em soro sanguíneo por cromatografia líquida de alta eficiência**. 2005. 113p. Tese (Doutorado em Química Analítica) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2005.
- ZEFERINO, M.A., COLLICCHIO-ZUANAZE, R.C., MENEZES, M.L., SAKATE, M. Validação de um método em cromatografia líquida para análise quantitativa do monofluoroacetato de sódio no soro de gatos intoxicados experimentalmente. **Revista Brasileira de Toxicologia**, v. 18, p. 172, 2005.

Tabela A-Valores individuais, médias e desvios padrões do número de hemácias (/ μ L) dos animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS nos diferentes momentos de avaliação.

Animais	MOMENTOS				
	M1	M2	M3	M4	M5
1	7390000	1010000	7400000	6860000	5620000
2	7540000	9390000	8390000	7020000	7790000
3	9400000	7790000	7320000	7310000	6670000
4	9050000	9720000	9210000	8580000	8340000
5	8560000	9030000	8000000	7820000	7590000
6	5540000	6250000	6250000	†	
7	7680000	5560000	7990000	†	
8	7190000	8980000	7380000	5710000	8250000
9	10550000	9450000	9900000	†	
10	6660000	7760000	6940000	6330000	6770000
11	7290000	8120000	7680000	7860000	7590000
12	4700000	5130000	6140000	†	
13	5840000	6630000	6630000	†	
14	5810000	7640000	7640000	†	
15	7030000	7890000	7210000	5460000	6180000
16	8030000	7900000	5620000	†	
méd	7367574	7971471	7465882	6950000	7164667
desvio padrão	1480896	1498572	1067556	982434,6	892522
† óbito					

Tabela B-Valores individuais, médias e desvios padrões de Hb (g/dL) dos animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS nos diferentes momentos de avaliação.

Animais	MOMENTOS				
	M1	M2	M3	M4	M5
1	14,1	14,7	14,3	13,2	12,3
2	14,3	16,6	14,2	12,1	10,4
3	14,4	12,4	10,8	10,8	10,2
4	13,5	15,0	12,7	13,7	12,3
5	12,7	13,0	12,0	10,9	10,6
6	11,0	11,7	11,7	†	
7	14,5	15,3	14,4	†	
8	13,3	15,1	13,6	12,1	13,9
9	15,6	15,4	13,9	†	
10	10,8	14,2	12,4	11,2	11,3
11	13,1	14,7	13,6	12,0	13,3
12	9,3	9,8	10,3	†	
13	11,2	12,7	12,7	†	
14	13,5	12,2	12,2	†	
15	11,5	14,3	12,6	10,5	10,3
16	13,6	13,7	10,9	†	
méd	12,9	13,8	12,65	11,84	11,62
desvio padrão	1,69	1,73	1,30	1,10	1,39
† óbito					

Tabela C-Valores individuais, médias e desvios padrões do VG (%) dos animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS nos diferentes momentos de avaliação.

Animais	MOMENTOS				
	M1	M2	M3	M4	M5
1	39	42	37	36	34
2	40	43	37	33	33
3	43	38	33	31	28
4	40	42	41	43	36
5	38	39	35	33	32
6	31	35	35	†	
7	42	43	39	†	
8	36	43	40	35	38
9	43	44	40	†	
10	31	41	35	33	33
11	40	43	40	33	38
12	28	29	32	†	
13	32	37	37	†	
14	38	34	34	†	
15	33	42	36	30	28
16	38	40	30	†	
méd	37	39,7	36,3	34,1	33,3
desvio padrão	4,6	4,15	3,17	3,79	3,71
† óbito					

Tabela D- Valores individuais, médias e desvios padrões de PPT (g/dL) dos animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS nos diferentes momentos de avaliação.

Animais	MOMENTOS				
	M1	M2	M3	M4	M5
1	6,6	7,6	7,8	7,0	6,8
2	7,6	7,8	7,0	7,0	7,8
3	6,6	6,0	5,2	6,2	6,0
4	7,8	8,0	7,8	8,2	7,2
5	7,4	7,0	6,6	6,2	7,4
6	8,6	9,2	9,2	†	
7	7,0	7,0	5,8	†	
8	6,8	7,0	6,4	6,2	7,2
9	7,0	7,0	7,0	†	
10	6,4	7,4	6,6	7,0	6,8
11	7,0	7,4	7,0	7,2	6,2
12	8,5	8,6	9,0	†	
13	6,8	7,2	7,2	†	
14	7,8	7,2	7,2	†	
15	6,7	7,2	6,2	5,8	6,5
16	6,8	7,0	5,0	†	
méd	7,21	7,41	6,93	6,75	6,88
desvio padrão	0,67	0,74	1,16	0,73	0,58
† óbito					

Tabela E- Valores individuais, médias e desvios padrões do número de leucócitos totais (/μL) dos animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS nos diferentes momentos de avaliação.

Animais	MOMENTOS				
	M1	M2	M3	M4	M5
1	19500	17200	19300	4158	13400
2	10500	8500	7723	1442	7400
3	12772	7000	5346	2300	12400
4	9950	5675	8800	1300	11900
5	7250	8461	12254	3805	12450
6	29300	10784	10784	†	
7	9800	10500	12500	†	
8	8500	4700	12300	1100	9109
9	14200	5900	7800	†	
10	14500	5600	3800	1100	17524
11	6237	15500	12100	500	7623
12	23800	22300	41400	†	
13	20400	4300	4300	†	
14	24800	16176	16176	†	
15	35400	24000	23300	5100	14700
16	28600	25500	4700	†	
méd	17219	12006	12661	2312	11834
desvio padrão	8972	7180	9409	1636	3327
† óbito					

Tabela F- Valores individuais, médias e desvios padrões do número relativo de neutrófilos segmentados (%) dos animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS nos diferentes momentos de avaliação.

Animais	MOMENTOS				
	M1	M2	M3	M4	M5
1	65	61	76	2	59
2	70	72	80	24	35
3	48	53	65	11	36
4	64	64	68	9	62
5	73	77	71	8	69
6	89	81	81	†	
7	52	77	82	†	
8	61	75	93	32	56
9	61	59	71	†	
10	56	40	73	13	44
11	72	75	75	8	50
12	46	63	70	†	
13	84	68	68	†	
14	64	65	65	†	
15	85	90	86	89	70
16	73	65	60	†	
méd	66,44	67,81	74	21,78	53,44
desvio padrão	12,76	11,91	8,66	26,83	13,10
† óbito					

Tabela G- Valores individuais, médias e desvios padrões do número relativo de linfócitos (%) dos animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS nos diferentes momentos de avaliação.

Animais	MOMENTOS				
	M1	M2	M3	M4	M5
1	19	16	12	88	28
2	16	20	15	48	47
3	33	32	18	84	39
4	27	32	24	85	28
5	21	12	20	74	17
6	7	12	12	†	
7	28	1	10	†	
8	27	15	4	60	26
9	27	29	18	†	
10	26	40	18	80	36
11	20	11	16	62	43
12	23	16	13	†	
13	11	15	15	†	
14	16	12	12	†	
15	12	5	8	7	13
16	17	26	30	†	
méd	20,63	18,38	15,31	65,33	30,78
desvio padrão	7,19	10,65	6,24	25,29	11,46
† óbito					

Tabela H- Valores individuais, médias e desvios padrões do número absoluto de neutrófilos segmentados (μL) dos animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS nos diferentes momentos de avaliação.

Animais	MOMENTOS				
	M1	M2	M3	M4	M5
1	12675	10492	14668	84	7906
2	7350	6120	6178	346	2590
3	6131	3710	3475	253	4464
4	6368	3632	5984	117	7378
5	5293	6515	8700	304	8591
6	26077	8735	8735	†	
7	5096	8085	10250	†	
8	5185	3525	11439	352	5101
9	8662	3481	5538	†	
10	8120	2240	2774	143	7711
11	4491	15500	12100	500	3812
12	10948	14049	28980	†	
13	15872	10514	10514	†	
14	17136	2924	2924	†	
15	30090	21600	20038	4539	10290
16	20878	16640	2820	†	
méd	11898,17	8610,15	9694,88	737,52	6426,84
desvio padrão	7985,30	5786,12	7016,44	1431,72	2537,66
† óbito					

Tabela I- Valores individuais, médias e desvios padrões do número absoluto de linfócitos (/μL) dos animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS nos diferentes momentos de avaliação.

Animais	MOMENTOS				
	M1	M2	M3	M4	M5
1	3705	2752	2316	3659	7906
2	1680	1700	1159	346	3478
3	4215	2240	962	1932	4836
4	2687	1816	2112	1105	3332
5	1523	1015	2451	2816	2117
6	2051	1994	1994	†	
7	2744	105	1250	†	
8	2295	705	492	660	2368
9	3834	1711	1404	†	
10	3770	2240	684	880	6309
11	1247	1705	1936	310	3278
12	5474	3568	4554	†	
13	3968	1941	1941	†	
14	2244	645	645	†	
15	4248	1200	1864	357	1911
16	4862	6656	1410	†	
méd	3159,14	1999,60	1698,36	1340,54	3948,26
desvio padrão	1266,71	1501,76	976,44	1206,77	2033,33
† óbito					

Tabela J- Valores individuais do número relativo de bastonetes (%) dos animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS nos diferentes momentos de avaliação.

Animais	MOMENTOS				
	M1	M2	M3	M4	M5
1	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	1
3	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0
6	0	0	0	†	
7	0	0	0	†	
8	0	0	0	0	0
9	0	0	0	†	
10	0	0	0	0	0
11	0	0	0	0	0
12	0	1	0	†	
13	0	0	0	†	
14	0	0	0	†	
15	0	0	1	0	0
16	0	0	0	†	

† óbito

Tabela K- Valores individuais, médias e desvios padrões do número relativo de eosinófilos (%) dos animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS nos diferentes momentos de avaliação.

Animais	MOMENTOS				
	M1	M2	M3	M4	M5
1	15	22	10	2	7
2	10	6	2	0	12
3	13	12	15	2	15
4	6	4	5	0	4
5	3	5	3	1	6
6	0	5	5	†	
7	14	17	6	†	
8	10	9	0	0	9
9	9	7	2	†	
10	15	18	7	2	14
11	5	11	6	0	0
12	30	17	13	†	
13	4	12	12	†	
14	18	23	23	†	
15	1	3	1	0	11
16	7	8	2	†	
méd	10	11,20	7	0,80	8,70
desvio padrão	7,55	6,46	6,20	0,98	4,90
† óbito					

Tabela L- Valores individuais, médias e desvios padrões do número relativo de monócitos (%) dos animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS nos diferentes momentos de avaliação.

Animais	MOMENTOS				
	M1	M2	M3	M4	M5
1	1	1	2	8	2
2	3	2	3	28	4
3	5	1	2	2	5
4	3	0	3	6	6
5	3	6	6	17	17
6	4	2	2	†	
7	6	3	3	†	
8	1	1	3	8	6
9	2	5	9	†	
10	3	1	2	5	6
11	2	3	3	30	4
12	1	3	6	†	
13	1	4	4	†	
14	2	0	0	†	
15	1	1	4	3	5
16	3	1	8	†	
méd	2,56	2,13	3,69	11,89	6,11
desvio padrão	1,50	1,75	2,42	10,63	4,28
† óbito					

Tabela M- Valores individuais, médias e desvios padrões do número de plaquetas (μL) dos animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS nos diferentes momentos de avaliação.

Animais	MOMENTOS				
	M1	M2	M3	M4	M5
1	347500	102500	107500	12500	565000
2	290000	40000	22500	7500	360000
3	315000	180000	200000	32500	305000
4	405000	220000	155000	67500	450000
5	320000	130000	215000	17500	255000
6	275000	172500	172500	†	
7	405000	140000	115000	†	
8	245000	45000	62500	10000	295000
9	317500	105000	47500	†	
10	312500	115000	67500	5000	372500
11	300000	200000	100000	52500	272500
12	717500	160000	562500	†	
13	215000	115000	115000	†	
14	300000	132500	132500	†	
15	300000	210000	95000	12500	405000
16	462500	175000	155000	†	
méd	345468,8	140156,3	145312,5	24166,7	364444,4
desvio padrão	116619,8	53068,1	123396	24166,8	98779,9
† óbito					

Tabela N- Valores individuais, médias e desvios padrões de glicose sérica (g/dL) dos animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS nos diferentes momentos de avaliação.

Animais	MOMENTOS			
	M1	M2	M3	M4
1	75,77	376,70	253,28	77,54
2	92,54	175,56	108,51	141,24
3	104,17	406,32	228,45	125,77
4	130,44	440,96	287,68	91,30
5	95,13	302,48	265,16	103,23
6	137,09	175,83	175,83	†
7	87,09	271,24	396,18	†
8	121,10	386,07	357,06	110,91
9	73,76	193,98	200,47	†
10	75,57	225,55	260,44	110,88
11	130,05	203,48	151,90	147,15
12	90,30	284,91	191,90	†
13	78,15	264,94	264,94	†
14	81,44	234,61	234,61	†
15	103,76	239,64	315,88	142,48
16	89,70	199,88	324,17	†
méd	97,88	273,88	251,03	116,72
desvio padrão	20,54	83,21	73,45	22,86
† óbito				

Tabela O- Valores individuais, médias e desvios padrões de creatinina sérica (mg/dL) dos animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS nos diferentes momentos de avaliação.

Animais	MOMENTOS			
	M1	M2	M3	M4
1	0,6	0,7	0,6	0,8
2	1,4	0,9	0,8	0,8
3	1,2	0,9	0,8	1,1
4	0,8	1,0	1,0	1,9
5	1,1	0,9	0,9	0,8
6	0,9	0,8	0,8	†
7	0,7	0,6	0,1	†
8	0,8	1,1	1,0	1,0
9	1,0	0,8	0,5	†
10	0,9	0,8	0,6	0,8
11	1,1	1,0	0,9	1,3
12	0,8	0,9	0,8	†
13	0,7	0,7	0,7	†
14	0,9	0,9	0,9	†
15	0,9	0,8	0,7	0,5
16	0,8	0,8	0,7	†
méd	0,91	0,85	0,79	1,0
desvio padrão	0,20	0,12	0,15	0,38
† óbito				

Tabela P- Valores individuais, médias e desvios padrões de uréia (mg/dL) dos animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS nos diferentes momentos de avaliação.

Animais	MOMENTOS			
	M1	M2	M3	M4
1	44	56	61	68
2	55	54	45	45
3	66	53	45	74
4	62	50	44	144
5	72	54	55	58
6	44	54	54	†
7	55	44	64	†
8	56	65	66	70
9	67	40	54	†
10	57	43	40	43
11	39	42	48	56
12	59	54	55	†
13	43	40	40	†
14	58	55	55	†
15	43	41	46	44
16	64	54	57	†
méd	55,25	49,94	51,81	66,89
desvio padrão	9,68	7,09	7,84	27,89
† óbito				

Tabela Q- Valores individuais, médias e desvios padrões de LDH (UI/L) dos animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS nos diferentes momentos de avaliação.

Animais	MOMENTOS			
	M1	M2	M3	M4
1	56	158	693	184
2	55	87	173	173
3	58	58	95	101
4	34	78	374	136
5	82	172	54	51
6	83	156	156	†
7	26	84	126	†
8	108	119	81	123
9	253	366	366	†
10	41	50	40	43
11	88	70	99	72
12	44	52	199	†
13	67	123	123	†
14	86	120	120	†
15	77	98	102	65
16	78	109	112	†
méd	77,25	118,75	184,88	105,22
desvio padrão	50,26	73,56	159,10	49,15
† óbito				

Tabela R- Valores individuais, médias e desvios padrões de CK (UI/L) dos animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS nos diferentes momentos de avaliação.

Animais	MOMENTOS			
	M1	M2	M3	M4
1	104	142	206	470
2	51	49	111	111
3	60	89	80	235
4	111	157	164	803
5	239	36	43	983
6	64	169	199	†
7	26	84	126	†
8	130	103	89	458
9	172	102	102	†
10	27	89	257	767
11	133	205	171	141
12	42	60	112	†
13	49	111	111	†
14	109	128	128	†
15	77	120	132	1217
16	190	174	386	†
méd	99,38	114,75	149,56	576,11
desvio padrão	59,45	45,18	80,35	366,88
† óbito				

Tabela S- Valores individuais, médias e desvios padrões de CK-MB (UI/L) dos animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS nos diferentes momentos de avaliação.

Animais	MOMENTOS			
	M1	M2	M3	M4
1	163	270	563	689
2	61	105	183	183
3	115	188	177	392
4	229	292	326	1532
5	300	70	90	1735
6	51	196	196	†
7	49	277	349	†
8	172	198	165	521
9	190	93	93	†
10	58	149	394	1411
11	186	324	280	241
12	84	121	231	†
13	77	198	198	†
14	122	228	228	†
15	127	218	257	2269
16	250	311	478	†
médias	139,63	202,38	263	997
desvio padrão	74,66	76,81	127,10	710,39
† óbito				

Tabela T- Valores individuais, médias e desvios padrões de FA (UI/L) dos animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS nos diferentes momentos de avaliação.

Animais	MOMENTOS			
	M1	M2	M3	M4
1	75	99	29	61
2	29	34	53	53
3	104	89	100	73
4	34	76	77	80
5	75	36	47	30
6	53	51	51	†
7	35	24	33	†
8	38	31	49	32
9	21	15	26	†
10	35	29	35	39
11	43	40	46	48
12	36	45	65	†
13	29	43	43	†
14	25	25	25	†
15	82	75	60	39
16	65	72	73	†
médias	48,69	49	50,75	50,56
desvio padrão	23,51	24,55	19,87	16,75
† óbito				

Tabela U- Valores individuais, médias e desvios padrões de ALT (UI/L) dos animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS nos diferentes momentos de avaliação.

Animais	MOMENTOS			
	M1	M2	M3	M4
1	70	94	39	80
2	39	102	135	135
3	81	121	27	91
4	26	207	201	108
5	122	37	33	26
6	30	160	160	†
7	63	214	27	†
8	144	118	328	217
9	28	91	38	†
10	40	62	56	53
11	67	97	103	105
12	112	184	233	†
13	57	92	92	†
14	66	138	138	†
15	41	91	109	62
16	78	89	70	†
médias	66,50	118,56	127,19	97,44
desvio padrão	33,71	48,48	88,25	52,23
† óbito				

Tabela V- Valores individuais, médias e desvios padrões de GGT (g/dL) dos animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS nos diferentes momentos de avaliação.

Animais	MOMENTOS			
	M1	M2	M3	M4
1	1,3	7,0	5,0	8,0
2	7,0	6,0	8,0	8,0
3	9,0	4,6	3,8	8,0
4	4,8	8,4	2,3	4,0
5	9,8	1,4	10,8	1,4
6	7,0	4,0	4,0	†
7	5,1	8,7	6,8	†
8	10,1	7,0	6,4	14,0
9	6,0	6,0	6,0	†
10	7,7	8,0	4,4	4,4
11	7,1	11,8	9,0	4,1
12	8,2	10,0	7,0	†
13	7,5	8,0	8,0	†
14	8,0	8,0	8,0	†
15	7,0	6,1	6,5	8,6
16	3,2	9,0	8,0	†
médias	6,80	7,13	6,53	7,01
desvio padrão	2,24	2,41	2,19	3,60
† óbito				

Tabela X- Valores individuais, médias e desvios padrões de sódio (mmol/L) dos animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS nos diferentes momentos de avaliação.

Animais	MOMENTOS			
	M1	M2	M3	M4
1	137	154	159	145
2	142	158	150	150
3	143	141	150	161
4	155	148	152	150
5	149	145	154	140
6	132	166	166	†
7	156	124	152	†
8	166	152	144	140
9	138	143	143	†
10	159	144	141	129
11	148	150	155	149
12	157	151	163	†
13	138	153	153	†
14	148	147	147	†
15	159	146	146	120
16	154	150	156	†
médias	148,93	148,25	151,94	142,67
desvio padrão	9,31	8,65	6,76	11,57
† óbito				

Tabela W- Valores individuais, médias e desvios padrões de potássio (mmol/L) dos animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS nos diferentes momentos de avaliação.

Animais	MOMENTOS			
	M1	M2	M3	M4
1	4,1	2,4	3,2	3,4
2	4,2	3,7	4,1	4,1
3	4,6	2,9	3,0	4,0
4	4,5	3,2	2,6	4,9
5	4,8	3,1	4,1	3,3
6	4,1	3,9	3,9	†
7	4,7	2,5	4,5	†
8	5,7	2,7	4,7	3,6
9	4,4	3,0	3,0	†
10	4,7	3,4	3,3	2,8
11	4,3	3,5	3,4	3,8
12	5,1	2,8	4,5	†
13	4,2	2,9	2,9	†
14	5,4	3,0	3,0	†
15	6,0	2,9	6,5	2,6
16	6,1	3,4	4,6	†
médias	4,81	3,08	3,83	3,61
desvio padrão	0,65	0,40	0,96	0,66
† óbito				

Tabela Y- Valores individuais, médias e desvios padrões de cálcio sérico total (mg/dL) dos animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS nos diferentes momentos de avaliação.

Animais	MOMENTOS			
	M1	M2	M3	M4
1	8,1	10,9	11,0	8,8
2	7,9	10,1	9,5	9,5
3	8,5	9,0	8,8	9,4
4	8,3	9,2	9,5	7,7
5	9,2	9,0	9,2	7,9
6	7,7	9,6	9,6	†
7	9,2	8,7	9,3	†
8	9,2	11,0	9,0	9,4
9	8,5	9,1	9,1	†
10	8,1	9,7	9,0	8,3
11	8,0	9,6	10,0	9,1
12	9,3	9,8	10,2	†
13	8,5	9,6	9,6	†
14	8,3	9,5	9,5	†
15	8,3	9,4	8,9	7,5
16	7,6	9,0	9,0	†
médias	8,42	9,56	9,45	8,62
desvio padrão	0,53	0,63	0,55	0,74
† óbito				

Tabela Z- Valores individuais, médias e desvios padrões de fósforo sérico (mg/dL) dos animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS nos diferentes momentos de avaliação.

Animais	MOMENTOS			
	M1	M2	M3	M4
1	6,4	3,4	9,9	5,1
2	7,3	3,5	4,1	4,1
3	7,3	3,8	5,2	5,0
4	6,1	3,3	5,4	6,9
5	6,5	2,9	3,2	3,0
6	6,5	7,5	7,5	†
7	4,7	1,9	5,5	†
8	5,5	3,0	5,8	3,2
9	8,2	3,4	1,0	†
10	5,7	3,2	4,1	3,8
11	6,7	4,7	4,6	4,5
12	6,2	3,2	7,3	†
13	5,3	4,0	4,0	†
14	4,4	6,5	6,5	†
15	6,2	3,7	7,0	3,9
16	8,6	6,5	7,2	†
médias	6,35	4,03	5,52	4,39
desvio padrão	1,10	1,47	2,02	1,12
† óbito				

Tabela AA- Valores individuais, médias e desvios padrões de cloro sérico (mg/dL) dos animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS nos diferentes momentos de avaliação.

Animais	MOMENTOS			
	M1	M2	M3	M4
1	113	78	121	94
2	105	115	115	115
3	109	121	132	149
4	116	110	121	114
5	114	114	114	111
6	109	129	129	†
7	116	151	123	†
8	121	112	112	114
9	105	136	136	†
10	117	143	119	116
11	115	114	134	117
12	118	112	118	†
13	139	122	122	†
14	118	120	120	†
15	115	113	101	89
16	125	114	123	†
médias	115,94	119	121,25	113,22
desvio padrão	7,90	15,80	8,54	15,87
† óbito				

Tabela BB- Valores individuais, médias e desvios padrões de magnésio (mEq/L) dos animais intoxicados experimentalmente pelo MFAS nos diferentes momentos de avaliação.

Animais	MOMENTOS			
	M1	M2	M3	M4
1	2,2	1,3	2,2	2,1
2	2,2	1,1	1,4	1,4
3	1,9	1,1	1,3	2,6
4	2,2	1,2	1,4	2,5
5	2,3	1,2	1,7	2,2
6	2,1	2,0	2,0	†
7	2,4	1,2	1,8	†
8	2,7	1,5	1,7	2,5
9	2,4	0,9	0,1	†
10	2,7	1,2	1,2	2,1
11	1,9	1,0	0,8	2,5
12	2,1	0,5	1,2	†
13	2,2	0,9	0,9	†
14	2,5	2,0	2,0	†
15	2,2	0,7	1,5	2,3
16	2,4	0,9	2,0	†
médias	115,94	119	121,25	113,22
desvio padrão	2,28	0,39	0,53	0,35
† óbito				

Tabela CC- Apresentação individual das curvas analíticas, coeficiente de correlação, áreas de recuperação e respectivas concentrações do MFAS no soro dos gatos intoxicados experimentalmente

Animal (A)	Curva analítica ($Y = A + BX$)	Coeficiente de correlação (r)	Área de recuperação	Concentração do MFAS ($\mu\text{g/mL}$)	*Concentração do MFAS (mg/kg)
A1	$Y = 2701,2 + 45535,4X$	0,98743	7497	0,18	2,67
A2	-	-	**ND	-	-
A3	$Y = 2701,2 + 45535,4X$	0,98743	6570	0,16	2,37
A4	$Y = 2701,2 + 45535,4X$	0,98743	10241	0,25	3,70
A5	$Y = 2701,2 + 45535,4X$	0,98743	6007	0,14	2,07
A6	$Y = 2701,2 + 45535,4X$	0,98743	16847	0,42	6,22
A7	$Y = 2701,2 + 45535,4X$	0,98743	4719	0,11	1,63
A8	-	-	ND	-	-
A9	$Y = 2701,2 + 45535,4X$	0,98743	13209	0,33	4,89
A10	$Y = 2701,2 + 45535,4X$	0,99372	15173	0,27	4,00
A11	$Y = 5458,2 + 43812,9X$	0,99584	31939	0,52	7,70
A12	$Y = 5685,4 + 45868,9X$	0,99821	48778	0,73	10,81
A13	$Y = 2701,2 + 45535,4X$	0,98743	6827	0,17	2,52
A14	-	-	ND	-	-
A15	$Y = 9031,5 + 35781,7X$	0,98314	39129	0,62	9,19
A16	-	-	ND	-	-

* concentração do MFAS em mg/kg após cálculo pela volemia e peso do animal.

** ND não detectado

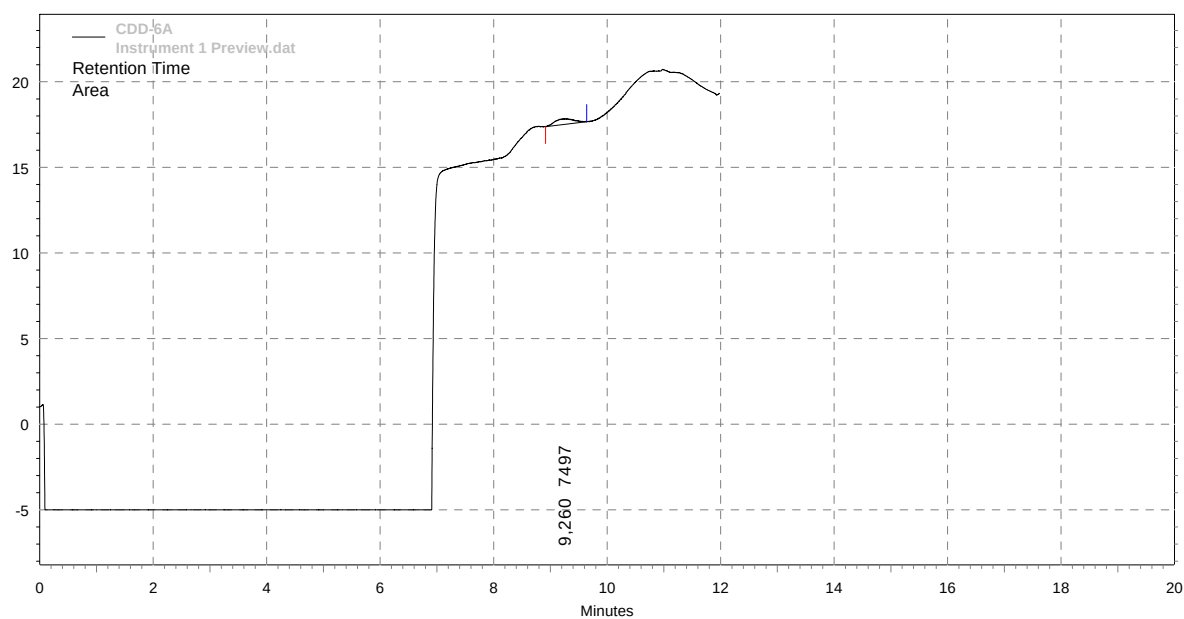


Figura A - Cromatograma obtido após a injeção de 100 μ L do extrato final da recuperação do MFAS a partir de amostra de soro sanguíneo do animal 1 (0,18 μ g/mL).

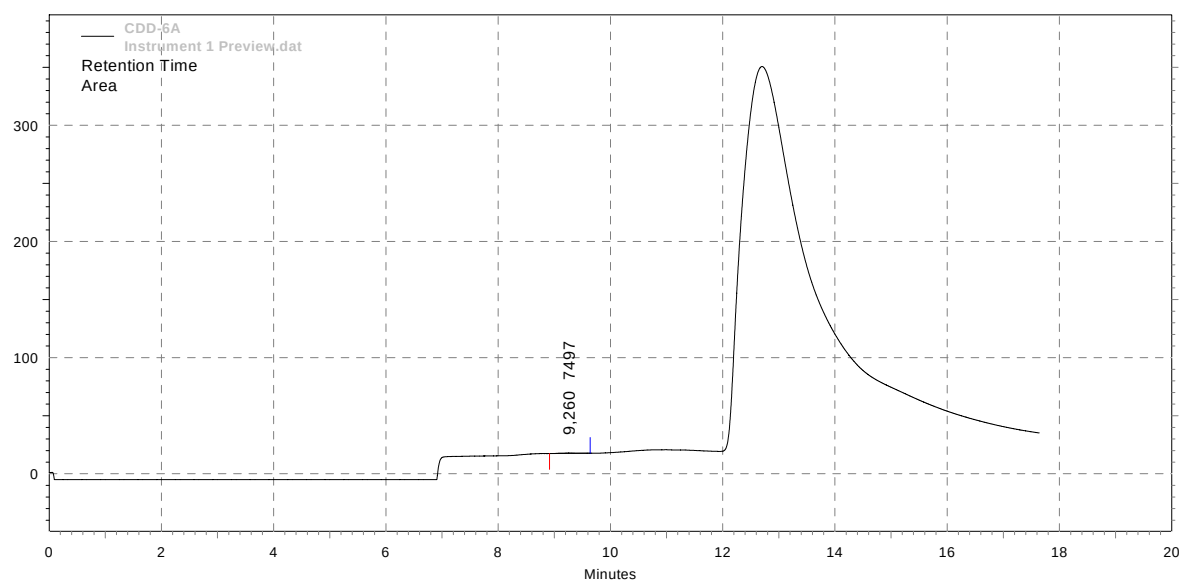


Figura B - Perfil cromatográfico integral obtido após a injeção de 100 μ L do extrato final da recuperação do MFAS a partir de amostra de soro sanguíneo do animal 1 (0,18 μ g/mL).

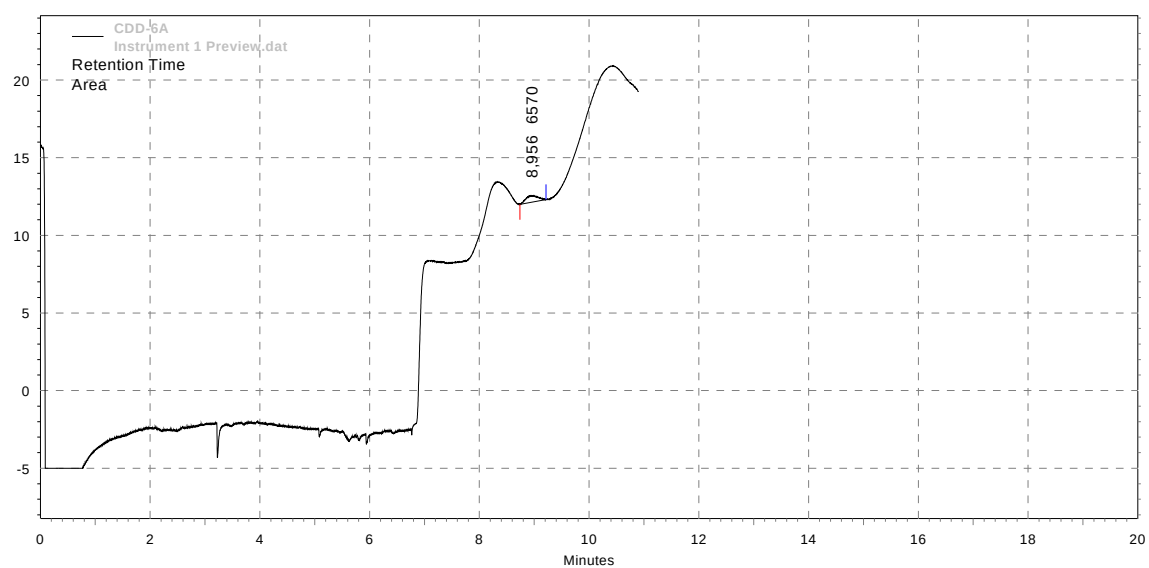


Figura C - Cromatograma obtido após a injeção de 100 μ L do extrato final da recuperação do MFAS a partir de amostra de soro sanguíneo do animal 3 (0,16 μ g/mL).

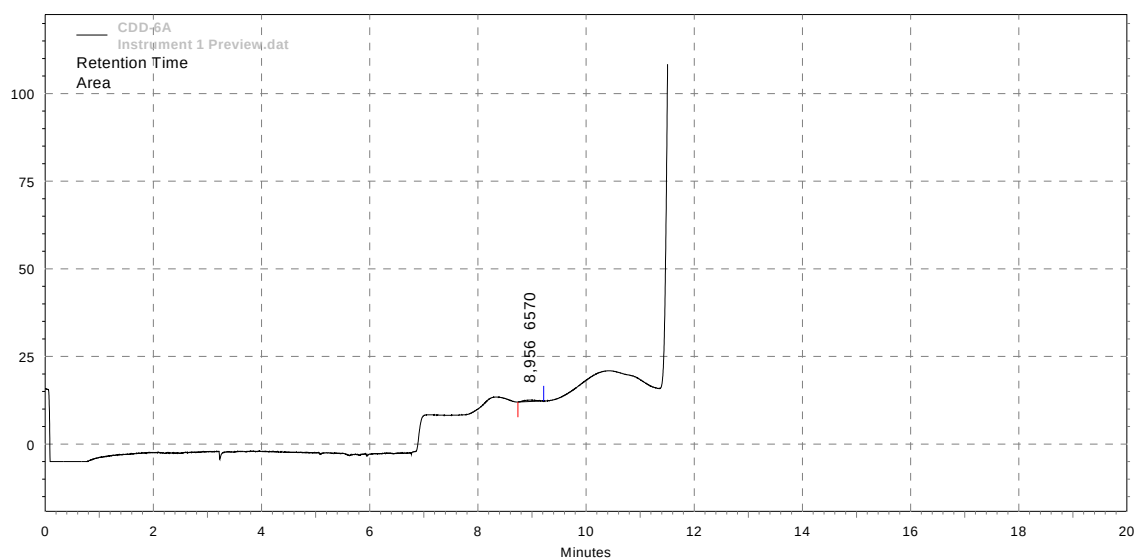


Figura D - Perfil cromatográfico integral obtido após a injeção de 100 μ L do extrato final da recuperação do MFAS a partir de amostra de soro sanguíneo do animal 3 (0,16 μ g/mL).

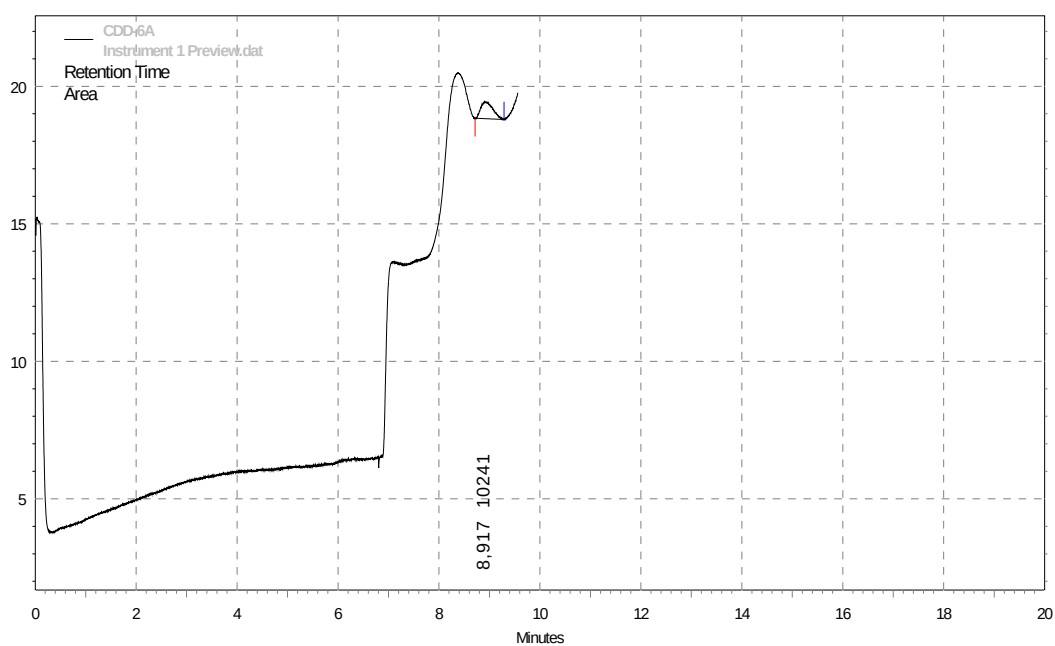


Figura E - Cromatograma obtido após a injeção de 100 μ L do extrato final da recuperação do MFAS a partir de amostra de soro sanguíneo do animal 4 (0,25 μ g/mL).

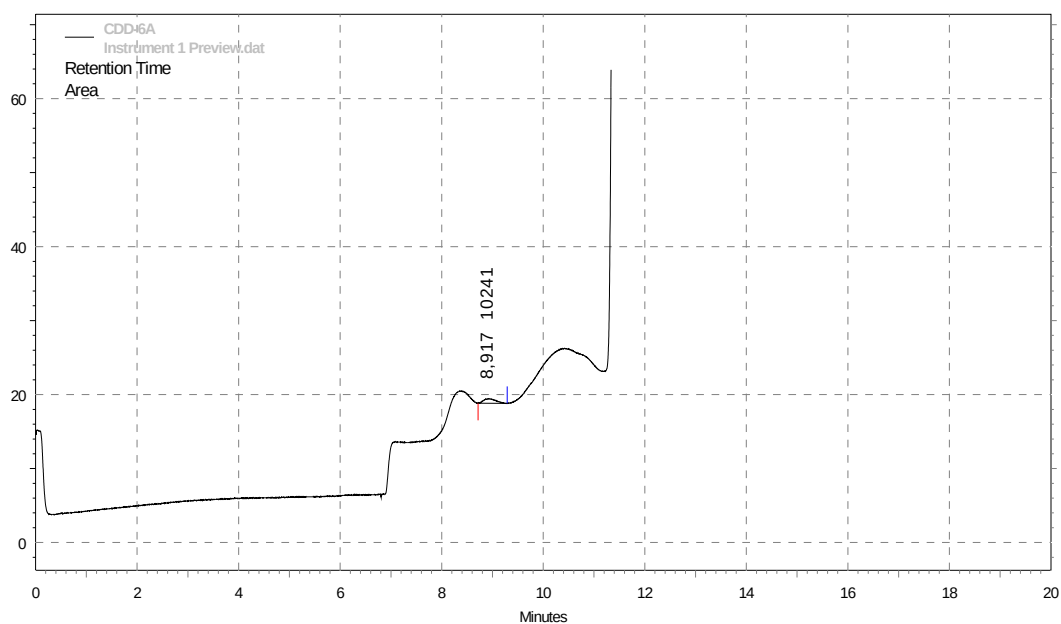


Figura F - Perfil cromatográfico obtido após a injeção de 100 μ L do extrato final da recuperação do MFAS a partir de amostra de soro sanguíneo do animal 4 (0,25 μ g/mL).

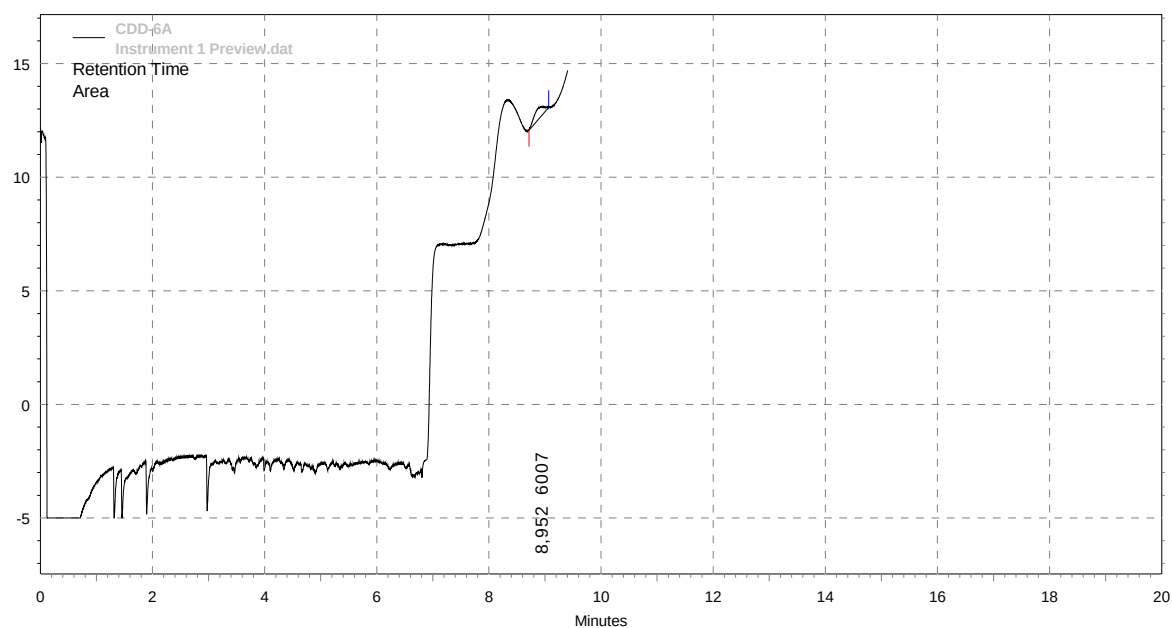


Figura G - Cromatograma obtido após a injeção de 100 µL do extrato final da recuperação do MFAS a partir de amostra de soro sanguíneo do animal 5 (0,14 µg/mL).

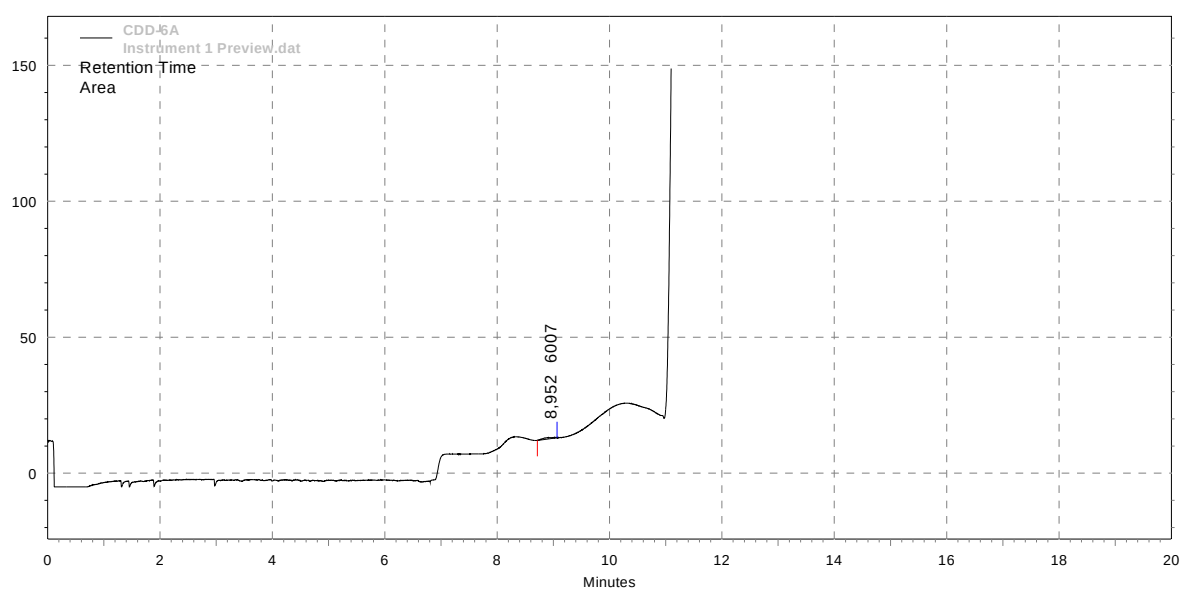


Figura H - Perfil cromatográfico obtido após a injeção de 100 µL do extrato final da recuperação do MFAS a partir de amostra de soro sanguíneo do animal 5 (0,14 µg/mL).

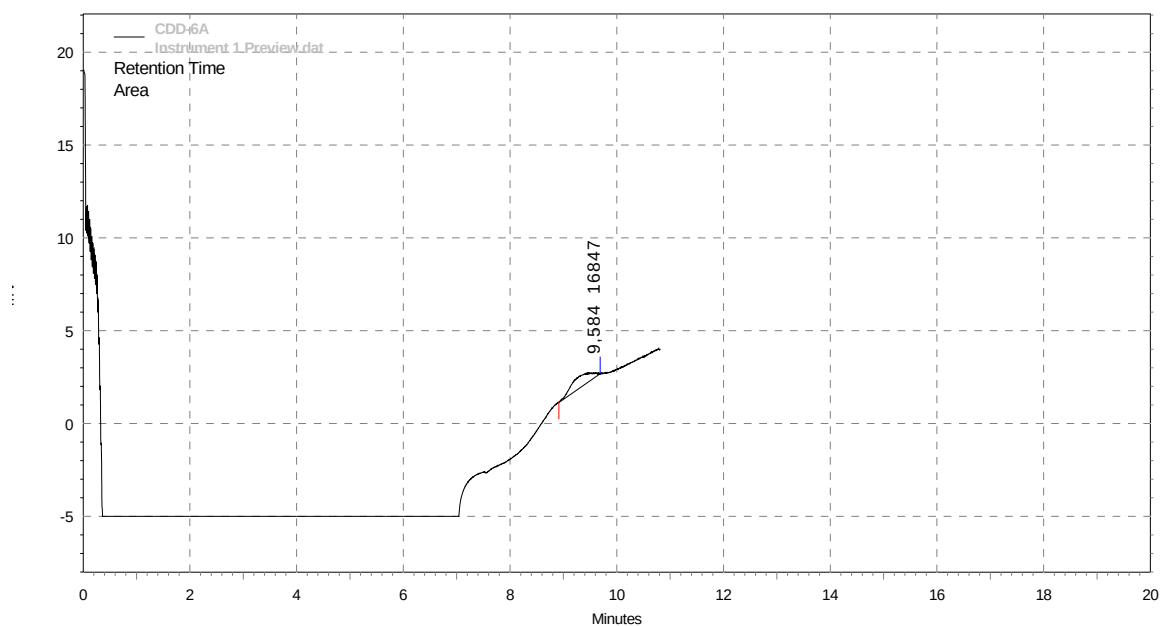


Figura I - Cromatograma obtido após a injeção de 100 µL do extrato final da recuperação do MFAS a partir de amostra de soro sanguíneo do animal 6 (0,42 µg/mL).



Figura J - Perfil cromatográfico obtido após a injeção de 100 µL do extrato final da recuperação do MFAS a partir de amostra de soro sanguíneo do animal 6 (0,42 µg/mL).

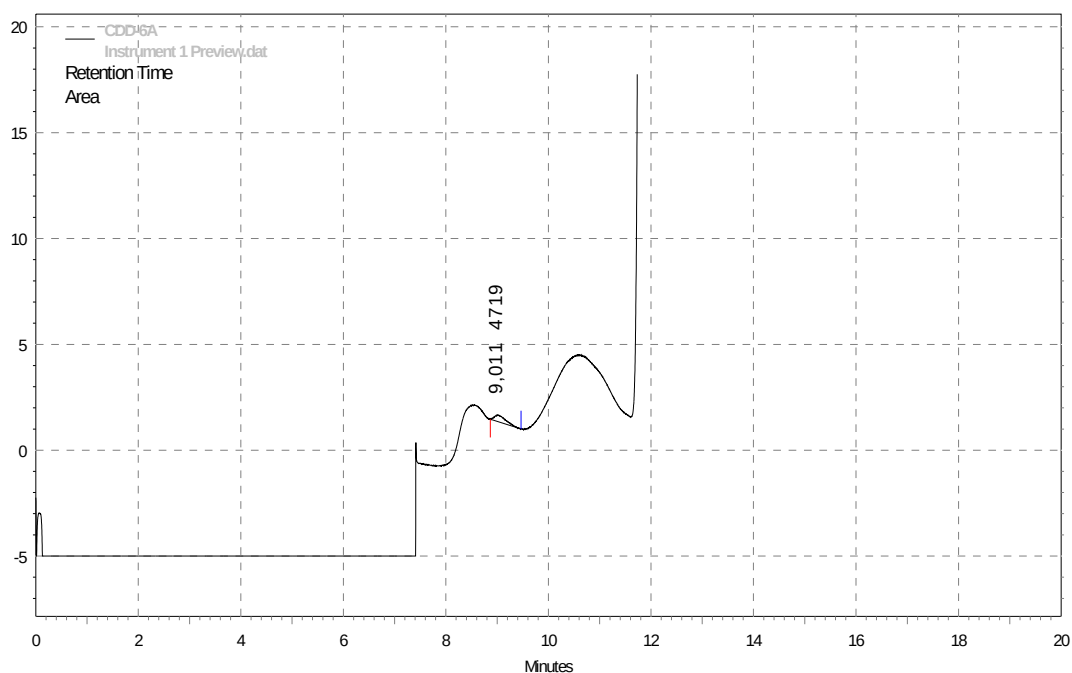


Figura K - Perfil cromatográfico obtido após a injeção de 100 μL do extrato final da recuperação do MFAS a partir de amostra de soro sanguíneo do animal 7 (0,11 $\mu\text{g/mL}$).

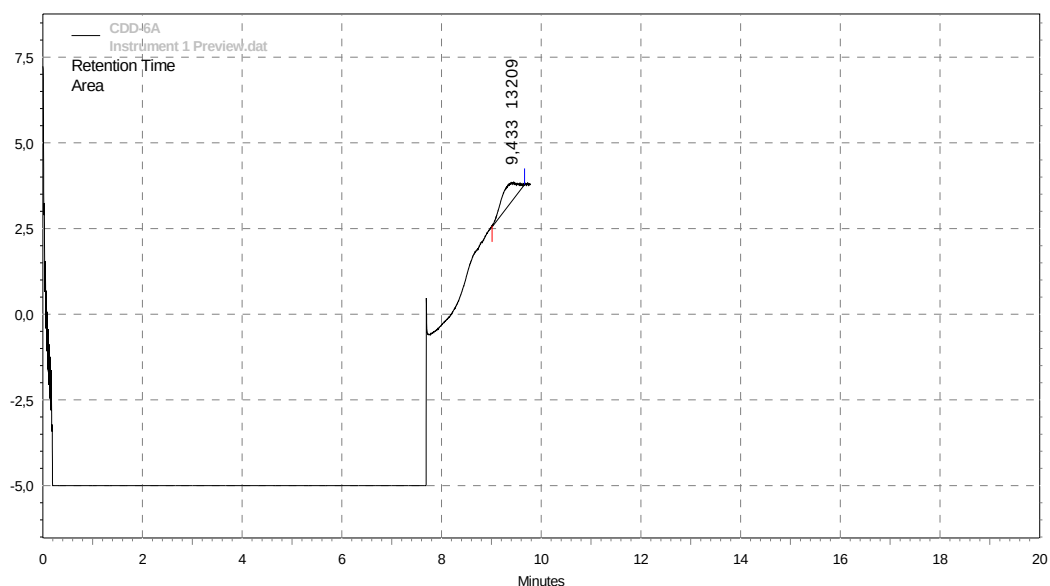


Figura L - Cromatograma obtido após a injeção de 100 μL do extrato final da recuperação do MFAS a partir de amostra de soro sanguíneo do animal 9 (0,33 $\mu\text{g/mL}$).

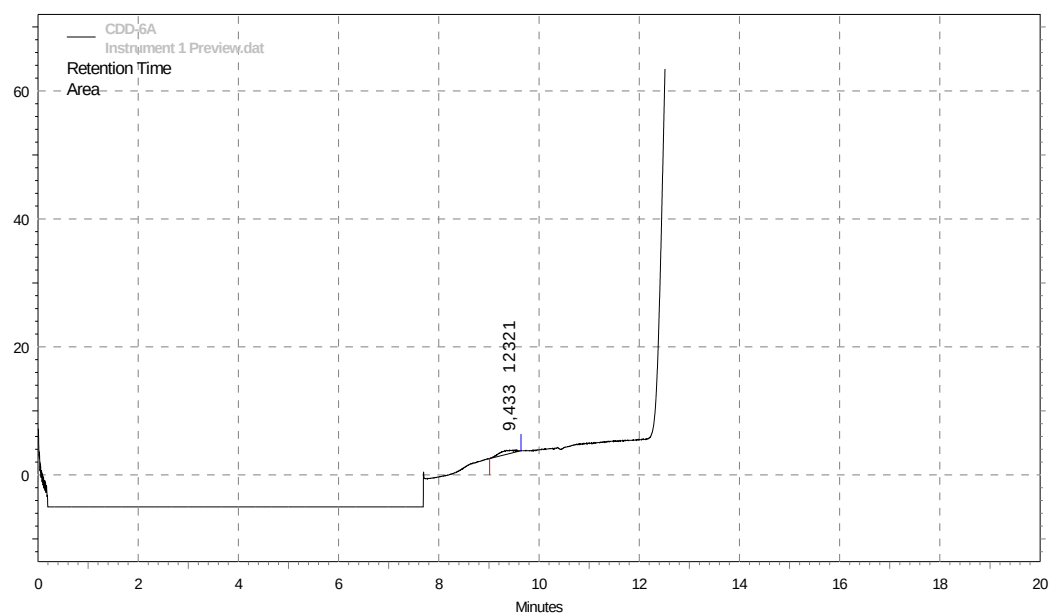


Figura M - Perfil cromatográfico obtido após a injeção de 100 μ L do extrato final da recuperação do MFAS a partir de amostra de soro sanguíneo do animal 9 (0,33 μ g/mL).

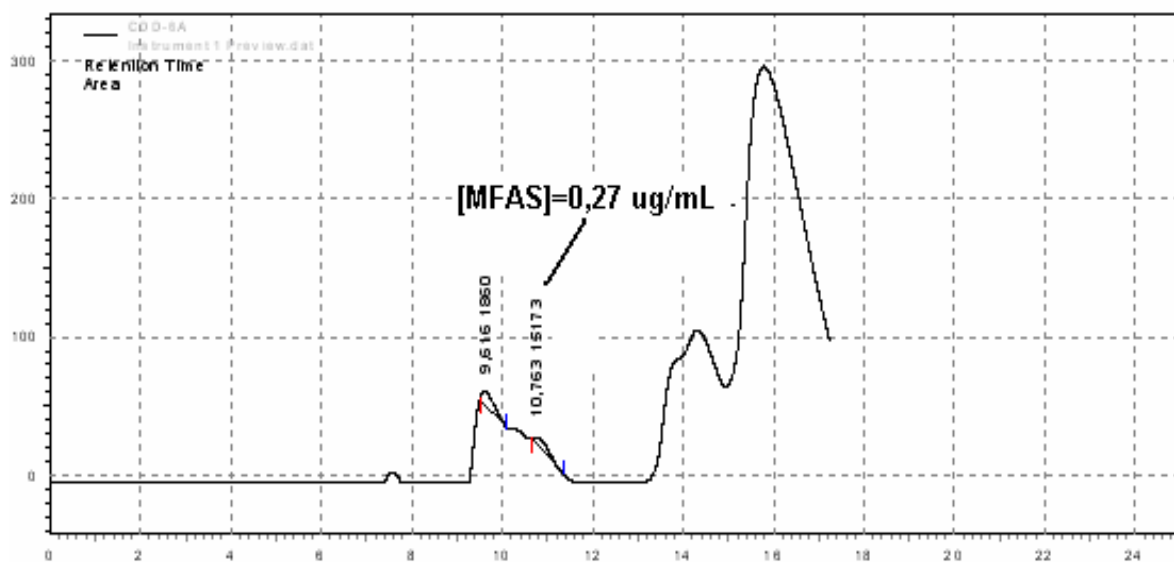


Figura N - Cromatograma obtido após a injeção de 100 μ L do extrato final da recuperação do MFAS a partir de amostra de soro sanguíneo do animal 10 (0,27 μ g/mL).

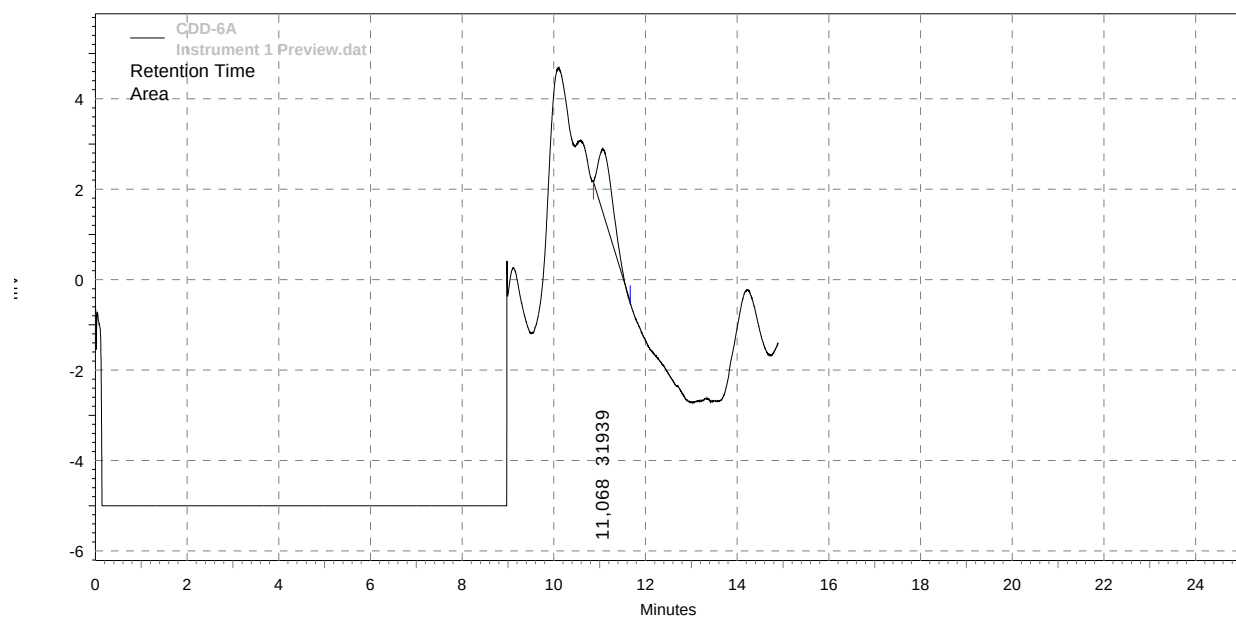


Figura O - Perfil cromatográfico obtido após a injeção de 100 μ L do extrato final da recuperação do MFAS a partir de amostra de soro sanguíneo do animal 11 (0,52 μ g/mL).

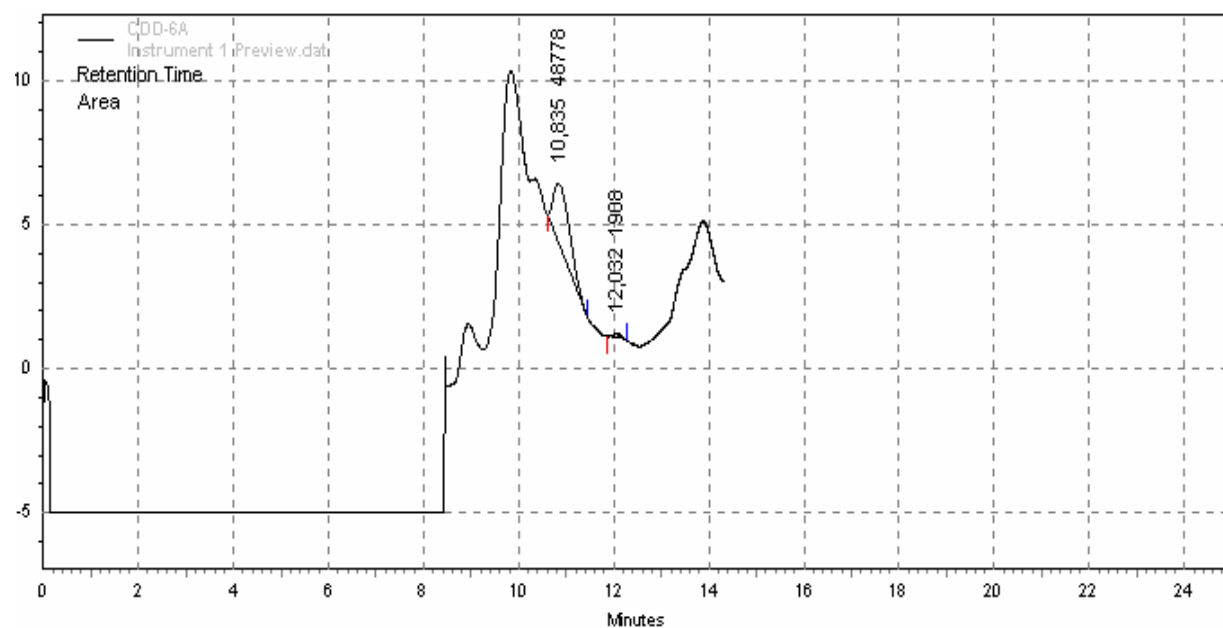


Figura P - Perfil cromatográfico obtido após a injeção de 100 μ L do extrato final da recuperação do MFAS a partir de amostra de soro sanguíneo do animal 12 (0,73 μ g/mL).

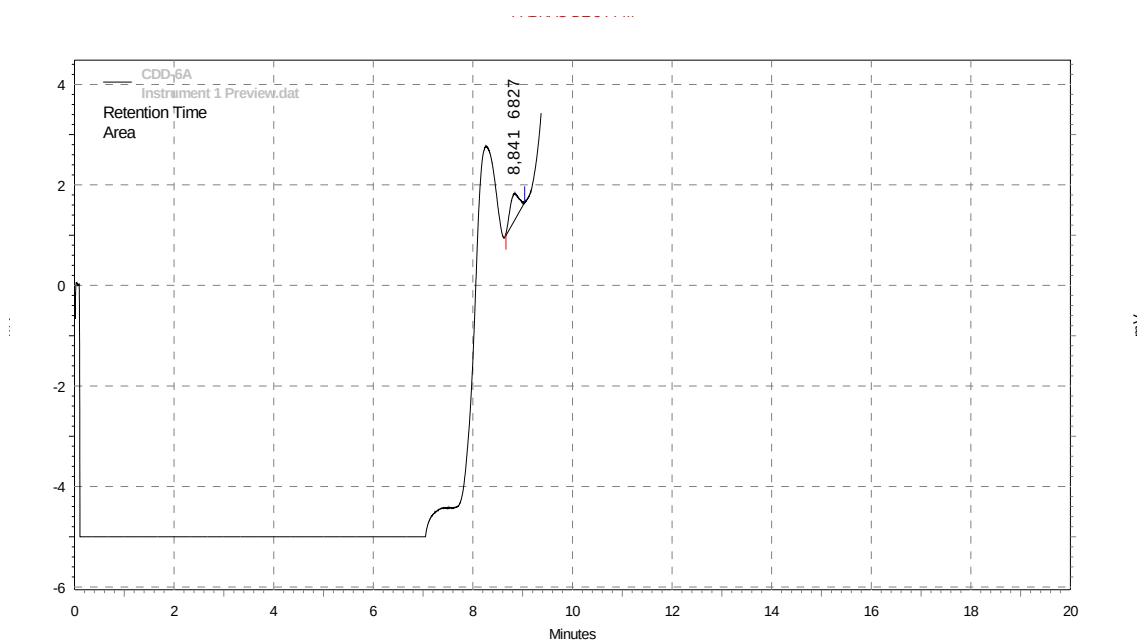


Figura Q - Cromatograma obtido após a injeção de 100 μ L do extrato final da recuperação do MFAS a partir de amostra de soro sanguíneo do animal 13 (0,17 μ g/mL).

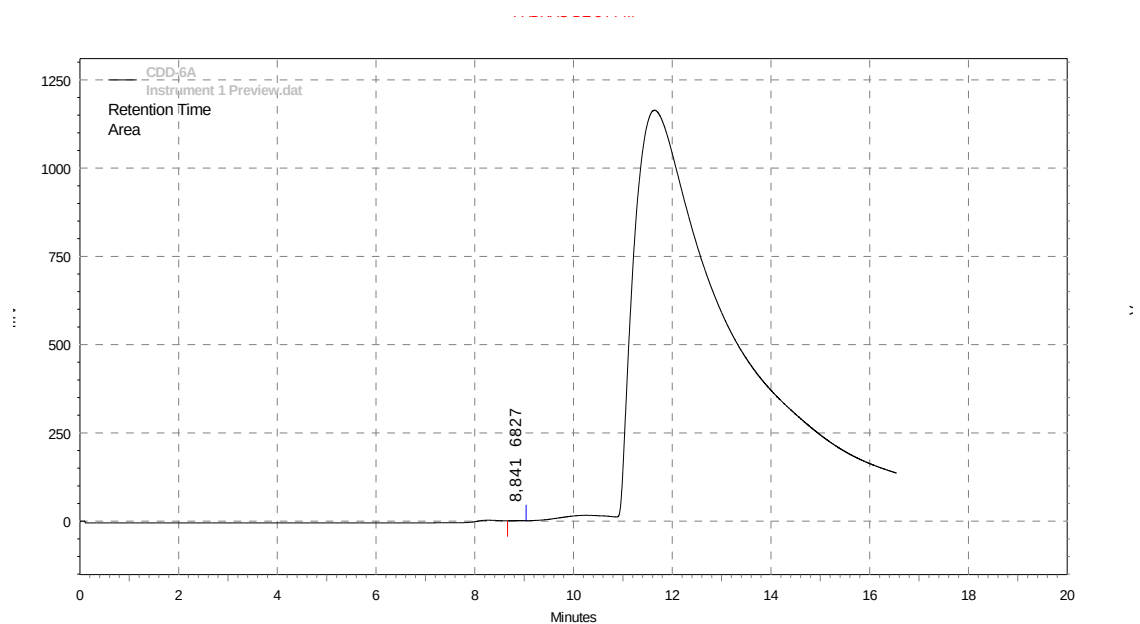


Figura R - Perfil cromatográfico obtido após a injeção de 100 μ L do extrato final da recuperação do MFAS a partir de amostra de soro sanguíneo do animal 13 (0,17 μ g/mL).

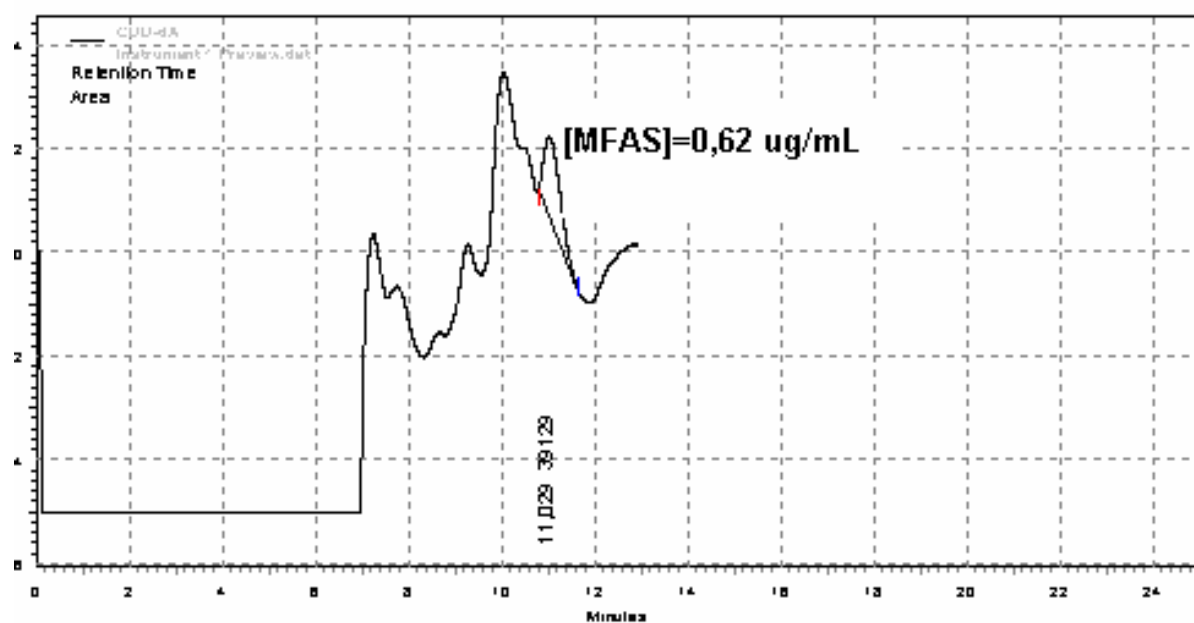


Figura S -Perfil cromatográfico obtido após a injeção de 100 μ L do extrato final da recuperação do MFAS a partir de amostra de soro sanguíneo do animal 15 (0,62 μ g/mL).