

Pedro Sirangelo

# A RICINA

TÉSE PARA CONCURSO A LIVRE  
DOCÊNCIA DA CADEIRA DE  
FARMACOLOGIA DA FACULDA-  
DE DE MEDICINA DA UNIVER-  
SIDADE DE PORTO ALEGRE.



---

Trabalho realizado no Laboratório  
de Farmacologia da Faculdade de  
Medicina da Universidade de Porto  
Alegre.

S/d

---

THURMANN  
Setembro, 723  
PORTO ALEGRE

MED  
T  
QV75  
S619r  
1940

Pedro Sirangelo

# A RICINA

---

---

TÉSE PARA CONCURSO A LIVRE  
DOCÊNCIA DA C A D E I R A DE  
FARMACOLOGIA DA FACULDA-  
DE DE MEDICINA DA UNIVER-  
SIDADE DE PORTO ALEGRE.

---

Trabalho realizado no Laboratório  
de Farmacologia da Faculdade de  
Medicina da Universidade de Porto  
Alegre.

---

---

Tipografia THURMANN  
Rua 7 de Setembro, 723  
PORTO ALEGRE



Bib. Fac. Med. UFRGS

T-0910

A ricina

*Apresentamos este trabalho com o fim de nos candidatar-mos à livre docência da cadeira de Farmacologia, cumprindo assim uma das exigências legais do concurso a que nos submetemos para a conquista do referido título.*

*A escolha do assunto para um estudo nestas condições não é tarefa fácil. Executar um trabalho exigido dentro de um prazo determinado é missão bem mais difícil do que levar a efeito a publicação de uma observação colhida — muitas vezes ao acaso — nas lides diárias do laboratório ou da clínica. E para nós que iniciamos ha pouco a prática da medicina, mais árdua torna-se a tarefa, pois forçoso nos é confessar que não possuímos ainda uma fonte de conhecimentos, da qual pudessemos lançar mão para escolher um tema que nos servisse. Isto porque entendemos que o assunto para uma tese deve ser colhido na prática diária da ciência médica, quer nos hospitais, quer nos laboratórios, para poder ser útil. Quer nos parecer que em se tratando de tese para uma das cadeiras de clínica, a escolha não se torna tão difícil. Mas nós precisavamos apresentar um trabalho cujo tema se relacionasse com a cadeira de Farmacologia.*

\* \* \*

*Vários assuntos estiveram em nossas cogitações. O presente, entretanto, nos foi sugerido por um caso clínico. De fato, em nossa clínica particular estivemos fren-*

te a uma intoxicação grave provocada pela ingestão de sementes da mamona, um caso evidente, portanto, de intoxicação pela ricina. (1)

Muito pouco divulgada entre nós a existência desta toxina nas ditas sementes, julgamos oportuno o estudo da ricina, considerado de interesse naturalmente sob o ponto de vista toxicológico e quiçá ainda terapêutico si puderem ser utilizadas definitivamente as propriedades antigênicas desta toxina para a obtenção de um soro anti-tóxico.

Estavamos, assim, de posse de um assunto relacionado com a Farmacologia e obtido praticamente.

\* \* \*

Si encontramos dificuldade na opção do assunto, não menos fácil nos foi a execução do trabalho. Devíamos estudar a ação da ricina, seus efeitos tóxicos, sua dose mínima mortal para animais de laboratório, e o primeiro obstáculo que se nos deparou foi a obtenção da substância que iríamos experimentar. Tivemos que prepará-la nós mesmos, já que não nos foi possível obtê-la isolada em nenhum laboratório, quer daqui, quer do estrangeiro. E isto realizamos, graças à permissão que nos foi dada pela diretoria da Escola de Engenharia da Universidade de Porto Alegre, de trabalharmos no Instituto de Química Industrial, onde encontramos a valiosa cooperação de seu técnico de laboratório, o ilustre químico dr. Oscar Maximiliano Homrich — a quem desejamos manifestar aqui a nossa profunda gratidão — que instruiu e guiou todo o nosso trabalho de isolamento da proteína. Queremos ainda agradecer o auxílio prestado pelo químico do laboratório do Departamento Autônomo de Estradas de Rodagem, dr. Franklin Gross, bem como ao

---

(1) "Intoxicação pela Ricina". (Arquivos Rio Grandenses de Medicina) Janeiro 1940.

*seu auxiliar snr. Mota, conservador deste laboratório.*

*O processo de extração da ricina partindo das sementes do mamoneiro, ocupará um capítulo de nosso trabalho.*

*A parte experimental foi toda realizada no laboratório de Farmacologia da Faculdade de Medicina da Universidade de Porto Alegre; e aqui cumpre-nos externar o nosso mais sincero agradecimento ao professor da cadeira, doutor Manoel Loforte Gonçalves, orientador incomparavel e investigador infatigavel, que soube sempre resolver as dificuldades nas quais tropeçamos no decorrer de nossas experimentações.*

*Aos doutores Heitor Fabregas, chefe do Serviço de Produção Animal do Ministério da Agricultura, secção do Rio Grande do Sul, e ao doutor Heitor Cirne Lima, professor interino da Cadeira de Anatomia Patológica de nossa Faculdade, o nosso agradecimento, extensivo ainda ao snr. José G. Guimarães, conservador do laboratório de Farmacologia e nosso constante e prestimoso auxiliar.*



## HISTÓRICO

Os efeitos tóxicos produzidos em animais que ingeriam sementes de mamoneiro — *Ricinus communis* — foram de há muito observados.

Ritthausen e Vines (1878-1880) revelaram a existência de proteínas naquelas sementes, sem entretanto descobrir que estas proteínas eram as responsáveis pelos efeitos tóxicos desencadeados nos animais que as comiam.

Warden e Wadell (1884) atribuíram a proteínas tóxicas os princípios venenosos de certas sementes, estudando o "*Abrus precatorius*" do qual êles extraíram uma proteína que chamaram "abrina".

Em 1886 Dixon experimentando um extrato de sementes do mamoneiro, conseguiu precipitar uma proteína que notou ser muito tóxica.

Posteriormente, Stillmarck (1888) pesquisando as propriedades tóxicas daquelas sementes atribuiu-as à proteína que êle chamou "ricina", e que foi isolada por Kobert.

Alguns autores não admitiram entretanto que a ricina fôsse uma proteína e, entre estes, Jacoby que dizia haver obtido — pela ação da tripsina — ricina com tôdas as suas propriedades tóxicas, mas que não apresentava as reações das proteínas.

Cushny (1898) demonstrou que quando as proteínas eram eliminadas das soluções oriundas das sementes do mamoneiro sua toxidez também desaparecia, provando assim que as propriedades tóxicas das sementes deviam ser atribuídas às proteínas. Observou mais, que as soluções que mesmo depois de bastante diluídas desencadeavam efeitos tóxicos, continuavam a positivar as reações ordinárias das proteínas. Concluiu en-

tão que a ricina ou era uma proteína ou estava tão intimamente associada ou combinada com a proteína que não podia ser separada dela.

Müller (1899), Brieger (1904) e outros investigadores procuraram a proteína da ricina. Muller fez a pepsina agir sobre a toxina durante várias horas, atenuando levemente a sua toxicidade sem entretanto obter a separação do princípio tóxico da proteína.

O fato de que o calor húmido destruía as propriedades tóxicas da ricina foi revelado por Olmer e Savan (1909), Stillmarck e outros.

Um princípio muito tóxico foi obtido graças a um processo de isolamento da ricina, executado por Osborne, Mendel e Harris, cuja fração mais tóxica continha cerca de 70 % de albumina coagulável; eles acreditaram que a toxina estava associada a esta proteína, si não fôsse idêntica à ela. Fizeram a tripsina e a pepsina agir sobre uma parte do material tóxico e viram que a medida que o princípio tóxico era destruído a proteína desaparecia. Isto levou-os a contestar a opinião de Jacoby, pois sendo a ricina tão tóxica para animais de laboratório, concluíram que as soluções deste autor, embora não contendo material suficiente para dar as reações das proteínas, continham entretanto ricina bastante para matar animais.

Karrer, Smirnoff, Ehrensperger e Van Slooten submeteram também a ricina à ação da tripsina como haviam feito Osborne e seus auxiliares, e avaliaram o grau de toxicidade da mistura desdobrada e do resíduo íntegro assim como nos diversos períodos do desdobramento, e notaram que a medida que a proteína ia sendo desdobrada pela tripsina, desaparecia o princípio tóxico. Por isto atribuíram à proteína as propriedades tóxicas da ricina.

Foi ainda Stillmarck que descobriu a propriedade da ricina de aglutinar os glóbulos vermelhos do sangue "in vitro", depositando-os no fundo do tubo e deixando na superfície uma solução clara. Acreditou então que a ricina era capaz de provocar também a aglutinação dos glóbulos vermelhos "in vivo" sendo os capilares congestionados por estas massas aglutinadas.

Segundo Flexner a ricina influe, em graus diversos, sobre as diferentes células do organismo. As células linfáticas são as mais atacadas e a extensão do ataque à célula de um determinado órgão é proporcional à atividade ou atividades do órgão pôsto em contáto com a toxina.

Experiências de Stepanoff revelaram que a ricina quando administrada por via venosa era eliminada pelos intestinos. Com isto concordou Flexner que afirmou que a gravidade das lesões intestinais no envenenamento pela ricina estava intimamente ligada à função da eliminação.

Assim foi formulada a teoria de que haviam dois grupos ou corpos distintos nesta toxina: um responsável pela sua ação tóxica e um outro possuindo a propriedade de aglutinar os globulos vermelhos do sangue tanto dos animais de experimentação como do homem.

Stillmarck porém, achava que a substância tóxica e a substância aglutinadora eram uma só. Cushny e Müller estavam entre os investigadores que duvidavam que a ricina fôsse composta de uma só substância que tivesse as duas propriedades, baseados numa experiência de Müller que viu que a ricina continuava altamente tóxica, sem contudo aglutinar o sangue, depois que a pepsina agia sobre ela.

Field ficou com os que admitiam duas substâncias constituintes da ricina. Imaginou a existência de dois grupos tóxicos: um estável e outro labil, porque notou que no fim de dois anos e meio a ricina que êle havia preparado, antes muito tóxica, perdeu a sua toxidez, conservando porém a sua propriedade aglutinante de um modo acentuado.

Michaelis e Steindorff descobriram que a ricina podia aglutinar outras células além dos elementos sanguíneos. Assim observaram a aglutinação de células do rim e baço de cobaias. Reid observou a mesma propriedade sobre as células cerebrais de cão e cobaio e também das células do figado, rim, baço e intestino delgado. A afinidade das células pela ricina depende do seu conteúdo em lipóides; o cérebro sendo rico em lipóides é facilmente atingido. Lieberman conseguiu libertar — pela adição de ácido — a rici-aglutinina dos elementos sangüí-



neos aglutinados e esta aglutinina livre, uniu-se novamente com outros eritrocitos. Acreditava êle que a ricina fôsse um ácido ou de natureza ácida e que se combinava com o estroma das células que faziam o papel de base. A ricina das células cerebrais de cães, aglutinadas, foi posta em liberdade por Reid que usou o ácido clorídrico. Segundo êste autor a ricina fixava-se nas células por uma adsorção fisico-química.

Uma experiência de Gunn revelou a ação aglutinante da ricina sobre outras substâncias independentes das células animais: o colesterol e o carmin. Gunn julga a aglutinação provocada pela ricina devida a precipitação de um coloide por outro de sinal contrário.

As primeiras experiências ou tentativas de atenuação do poder tóxico da ricina foram realizadas por Jacoby, por meio do peróxido de hidrogênio: suas soluções tornavam-se turvas e formavam um precipitado que podia ser filtrado. Redissolvendo êste e filtrando novamente obteve uma solução muito menos tóxica.

O professor Emmett B. Carmichael, da Universidade de Alabama, realizou recentemente interessantes experiências com diversas amostras de ricina, preparadas por êle mesmo, tôdas dotadas de elevado poder tóxico que êle conseguiu atenuar por meio de vários agentes químicos (ricinoleato de sódio, permanganato de potássio, peróxido de hidrogênio entre outros) e observou ainda que os raios ultra-violeta destruíam a sua toxicidade. Em outro trabalho, afirma êste autor, ter imunizado animais à ricina com injeções da mesma ricina atenuada por meio do calor húmido e dos agentes químicos já citados, baseado nas experiências com que Ehrlich (1891) estudou os fenômenos de imunização empregando a ricina, bem como nos trabalhos de Truche e Ramon.

Ehrlich imunizou seus animais dando-lhes como alimento pequenos bôlos contendo determinadas porções de ricina, que eram aumentadas progressivamente e administradas com vários dias de intervalo. Usando êste processo, êle pôde mais tarde injetar por via subcutânea doses muitas vezes mortais de ricina sem matar os animais. Ehrlich demonstrou ainda

que era possível produzir uma imunidade passiva, administrando em animais sangue dos animais imunizados.

Truche imunizou cabras com injeções repetidas de ricina e o sôro dêstes animais protegia outros contra a toxina.

Ramon tratou com formalina a toxina diftérica, o veneno de cobra e a abrina e notou que elas não perdiam as suas propriedades antigênicas, após o tratamento.

O professor Carmichael conclue de suas longas e bem fundamentadas experiências o seguinte:

1. A ricina atenuada pelo calor húmido retém parte de suas propriedades antigênicas. Assim o sôro de coelhos e cobaios que receberam injeções de ricina atenuada, protege camondongos contra doses mortais de ricina.

2. As soluções de ricina parcialmente oxidadas, retém sua função antigênica mesmo depois de destruída a sua toxidez. Desta maneira foi a função antigênica menos facilmente destruída pelo permanganato de potássio do que a função tóxica.

3. A função antigênica da ricina é também destruída, ou ao menos bastante diminuída após um tratamento prolongado pelo permanganato de potássio.

4. A injeção de uma dose forte de ricina parcialmente oxidada por meio do permanganato de potássio, quando injetada em coelhos, lhes desenvolve uma imunidade contra a ricina. Depois de dois ou três meses o grau de imunidade está tão fortemente desenvolvido, que doses muitas vezes maiores que a dose mínima mortal não os matam (100 a 120 vezes maiores). O sôro destes coelhos, em quantidades pequenas (0,25 cc.) protegem camondongos contra a dose fatal de ricina. Isto demonstra que no sôro daqueles coelhos existem anticorpos para a ricina.

Finalmente conclue o autor atribuindo à ricina duas funções biológicas fundamentais: uma tóxica e outra antigênica, cada uma dependente de um grupo ou de uma parte da toxina.

Em um outro trabalho êste mesmo autor demonstra a impermeabilidade da placenta de cobaio à ricina.

Estas foram as referências que nos foi possível colher na literatura médica sôbre o histórico da ricina.

## A OBTENÇÃO DA RICINA

### Planta de origem:

A ricina é encontrada nas sementes do "Ricinus Communis" ou mamoneiro, juntamente com o óleo de rícino que entretanto não contém este princípio.

O rícino pertence à família das euforbiáceas, subdivisão das platilobeas, tribo das crotonioídeas, grupo das acalifeas. (fig. 1).

O género *Ricinus* é representado pela única espécie *Ricinus Communis* L., que tem os seguintes caracteres: As flores são monoicas. As flores masculinas têm um cálice constando de três a cinco partes membranaceas, incluindo às vezes até mil estames reunidos em feixe, de filetes várias vezes subdivididos, de tecas separadas, quasi esféricas. As flores femininas têm um cálice muito caduco, um ovário trilocado, um estilete curto (raras vezes mais longo), bifido (raras vezes simples) de estigma aberto, penado. A capsula se abre em cocos bifidos. A semente é oval, pintada, de testa crustacea e albumen carnoso. (fig. 2).

A mamona é um erva anual, que nos países mais quentes se desenvolve em arbusto, liso, muitas vezes coberto de uma camada azul de cêra. As folhas são grandes, alternadamente escudadas, palmadas, com sete até muitos lobos, sendo a borda dos lobos serrada. As inflorescências são corimbos terminais ou aparentemente laterais, as flores femininas encima, quasi sésseis, as masculinas embaixo pecioladas. As capsulas são lisas ou aculeadas.



Fig. 1 — A Mamona (*Ricinus communis* L.) cujas sementes contém a ricina.

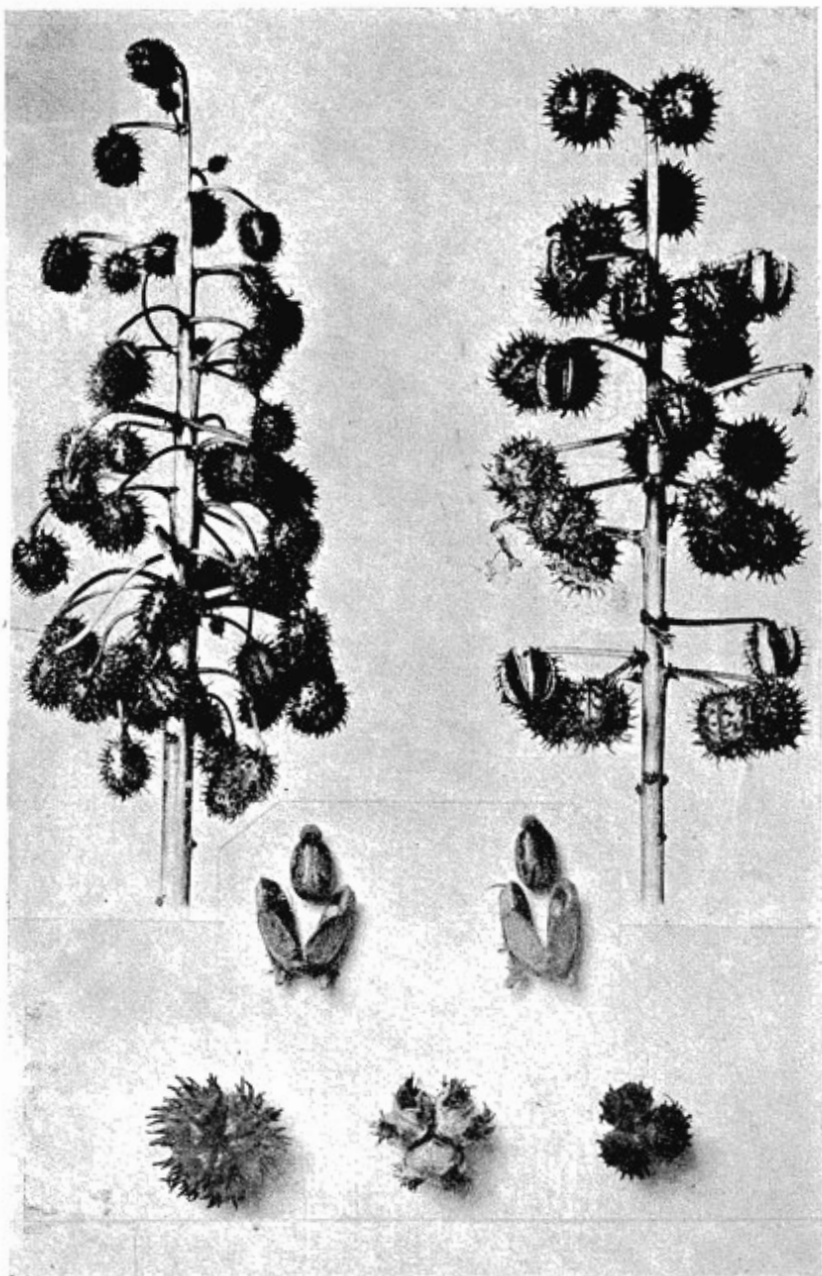


Fig. 2 — "*Ricinus Communis* L.". As sementes da mamona e as capsulas rugosas nas quaes estão aquelas contidas.

Planta provavelmente oriunda da África, é o mamoneiro cultivado em todos os países e cosmopolita em tôdas as terras quentes e temperadas. E' conhecida na Alemanha e Suissa com o nome de "Rizinus", na França com o de "Ricin", na Itália como "Ricino" ou "figo do inferno" e nos países onde se fala a língua inglesa por "Castor plant". Nos países sul-americanos onde é falada a língua espanhola é conhecida por "tártago", cujo significado por extensão, é também o de um acontecimento infausto, adverso, ou ainda uma brincadeira de mau gôsto. Isto talvez devido aos envenenamentos produzidos por esta planta, como veremos adiante.

Em nosso país o ricino é conhecido pelos nomes de mamoneiro, carrapateiro ou simplesmente mamona.

Seu cultivo em todo o mundo se deve ao óleo de ricino acumulado no albumen, cuja exploração constitue um extraordinário manancial de riqueza. Nos países da Europa, principalmente, há muito que a extração do óleo da mamona constitue uma indústria de vulto. Itália, França, Alemanha e Inglaterra nos primeiros lugares, continuamente importam as bagas da mamona para produção do óleo.

No Brasil o ricino dá exuberantemente em todo o território. A exportação das sementes da mamona para aqueles países e ainda para os Estados Unidos, se faz em grande escala. No ano de 1937 o valor desta exportação atingiu a cerca de 90 mil contos, ocupando o Brasil então o 2.º lugar na produção mundial, cabendo à Índia Britânica o primeiro. Atualmente aqui já se produz o óleo e trabalha-se no sentido de que êle seja também exportado, pois que de todos os óleos vegetais é o que mais procura tem em nossos dias, devido ao seu grande emprego nas máquinas de aviação, porque é considerado superior aos óleos minerais na lubrificação dos motores.

As sementes do ricino contém 45 a 55 % de óleo. A primeira expressão dessas sementes é feita a frio e o óleo assim obtido é o que geralmente se emprega em medicina como purgativo. O óleo resultante das expressões seguintes que são feitas a quente é o usado para a lubrificação de máquinas.

Distingue-se a composição do óleo de ricino das dos outros

óleos pelo seu conteúdo em ricinoleína e isoricinoleína, triglicéridos dos ácidos ricinoleico e isoricinoleico, ambos estereoisômeros da fórmula:



A presença destes glicéridos é a causa das propriedades especiais do óleo de ricino.

Além do óleo e da ricina, com a qual nos ocuparemos, contêm as sementes da mamona a “ricinina”, alcaloide pirídico descoberto por Tuson em 1864 e cuja constituição química foi determinada por Maquenne e Spath. Schroeter a sintetizou.

### **Técnica da preparação da toxina:**

O processo que empregamos para a preparação da ricina foi o clássico descoberto por Kobert e Stilmarch em 1888.

Entretanto, durante a execução da técnica e com o fim de adaptá-la às condições e possibilidades do material que dispunhamos, bem como às diferenças de clima, tivemos que lançar mão de diversos artifícios. Como veremos a seguir na descrição do processo, o fator clima influenciou consideravelmente, pois si não o levassemos em conta não teríamos conseguido realizar nossa tarefa.

Aliás devemos confessar que o isolamento da substância que pretendíamos estudar constituiu uma das etapas mais faticantes de nosso trabalho. Custou-nos dois longos meses de continuo labor durante os quais muitas foram as tentativas que realizamos para a execução do processo, que fracassavam por êste ou aquele motivo.

A ricina que finalmente conseguimos isolar recompensou nossos esforços, pois a-pesar-de menos pura — a julgar pelo seu grau de toxidez — do que as amostras obtidas por Osborne, Mendel, Harris e mais recentemente Carmichael satisfez-nos, porque êstes autores tiveram a seu favor, além de recursos materiais mais amplos, uma longa prática no estudo das proteínas, ao passo que nós tivemos que lutar contra a escassez de material dos nossos laboratórios.

A nossa amostra de ricina revelou-se entretanto, conforme

veremos, dotada de um elevado poder tóxico e de todos os característicos e propriedades atribuídas até então à proteína em fóco.

Passaremos a descrever os tempos do processo.

Partimos da “torta da mamona” ou seja dos resíduos das sementes submetidas à expressão a frio. Esta operação é realizada com o fim de extrair o óleo por meio de prensas especiais, nas fábricas que se dedicam a esta indústria. Por isso procuramos estes resíduos já completamente isentos de óleo numa dessas fábricas, o que obtivemos aqui em nossa cidade na “Refinaria Brasileira de óleos e Graxas”.

Esta “torta” depois de pulverizada no almofariz, levamos ao aparelho extrator de Soxlet afim de dissolver pelo éter e pelo alcool o restante das graxas, lecitinas, fitosterinas, etc.

O resíduo da extração maceramos numa solução de cloreto de sódio a 10 %, durante vinte e quatro horas, mantida numa temperatura entre 37 e 40 graus. Com esta operação dissolvemos a ricina existente naqueles grãos pulverizados.

O macerato, depois de filtrado, é submetido à dialise em água corrente durante quatro ou cinco dias. E aqui encontramos uma grande dificuldade, um sério obstáculo que esteve a ponto de impedir a realização de nosso trabalho. Sendo a solução a dialisar facilmente putrescível e sendo precisos no mínimo quatro dias para esta etapa, não conseguimos evitar a putrefação, a-pesar-de frequentemente estarmos acrescentando toluol à solução.

As vezes que conseguimos passar a 1.<sup>a</sup> dialise, pois como veremos o processo exige nova dialise igualmente de quatro dias, não passavamos a segunda sem que a solução fermentasse. Por fim chamou-nos a atenção o fáto do prof. Carmichael salientar que as amostras de ricina por êle conseguidas foram extraídas nas estações do outono e inverno na América do Norte. Ora, nós realizavamos nosso trabalho justamente nos meses de Janeiro e Fevereiro, em pleno verão portanto, o que levou-nos a tentar executar aquela operação com água em uma temperatura mais baixa, empregando para isso um refrigerador elétrico.



Não nos sendo possível estabelecer corrente de água no interior do refrigerador, mudavamos continuamente a água do dialisador e desta maneira conseguimos finalmente efetuar a dialise.

Mas, voltemos à descrição do processo.

Após esta dialise de quatro dias do macerato de sementes de mamona pulverizadas, na solução de cloreto de sódio, filtramos a solução dialisada e acrescentamos sulfato de amônio até a saturação (salificação ou salinização) precipitando assim tôda a proteína sem alteração (reação de precipitação das albuminas).

Decantamos e filtramos. O resíduo desta filtragem é dissolvido em água destilada e conduzido novamente ao dialisador para a eliminação do sulfato de amônio, durante quatro dias, tendo o cuidado de acrescentar sempre o toluol.

No fim dêstes quatro dias o conteúdo do dialisador é novamente filtrado. A porção resultante desta última operação é redissolvida em água destilada e esta solução deverá conter ricina em regular proporção, mais ou menos pura.

A evaporação, último tempo do processo, é mistér que seja feita numa temperatura que não provoque a coagulação da proteína. Efetuando-a na temperatura ambiente ela se processaria muito lentamente o que daria margem à putrefação. Por isso a realizamos no vácuo usando uma máquina pneumática elétrica. Nosso rendimento foi de nove gramas de ricina.

## PROPRIEDADES FÍSICAS E QUÍMICAS DA RICINA

Para classificarmos quimicamente a ricina, precisamos nos reportar à divisão geral das proteínas. Esta depende de diferentes pontos de vista. Ullmann, por exemplo, em uma das classificações mais aceitas, divide as proteínas em albuminoides simples e complexos, estes chamados também proteídes, além de seus produtos de transformação que devem ainda ser acrescentados.

Os albuminoides simples subdividem-se, segundo sua ação química e física em:

### Protaminas

Histonas

Proteínas analogas às glutelininas

Albuminas

Gliadinas (também Prolaminas)

Globulinas de procedência animal

Escleroproteínas (também albumi-

Globulinas de procedência vegetal

noides)

A êles pertencem portanto as designadas como "albuminas" que são em essência, misturas de proteínas, formadas pelos grupos das albuminas e das globulinas.

Entre os albuminoides complexos contam-se as combinações de albuminoides simples com outras substâncias designadas por Kossel com o nome de "grupos prostéticos". Entre os albuminoides complexos estão os:

Glicoproteídes

Nucleoproteídes

Fosfoproteídes (Nucleoalbuminas)

Crômoproteídes

Como produtos de transformação compreende-se determi-

nadas combinações com ácidos e alcalis, assim como os produtos de desintegração tanto naturais como artificiais.

E' no sub-grupo "albuminas", divisão dos albuminoides simples segundo Ullmann, que encontramos como um dos exemplos dêstes, a ricina procedente das sementes do ricino, citada entre outros, tais como a ovoalbumina, seroalbumina, lactoalbumina, leucosina (da cevada, centeio, trigo) e a legumelina (da ervilha, lentilha), cujas principais propriedades são assim descritas: Apresentam reação neutra. São atacáveis por todos os fermentos proteolíticos, exceto a erepsina. Precipitam tipicamente pelos reativos dos alcaloides. Entre seus componentes fundamentais característicos está o enxofre em regular proporção. São facilmente solúveis na água e nas soluções salinas fracas. Em solução ácida, são salificáveis por uma alta concentração (2/3 da saturação completa). Coagulam pelo calor em reação neutra e presença de sal.

Pertence a ricina às toxalbuminas, substâncias de constituição desconhecida, analogas aos enzimas, que apresentam caracteres próximos das substâncias albuminoides. São menos conhecidas quimicamente do que fisiologicamente. Solúveis na água, nas soluções salinas fracas, no alcool diluido e na glicerina; insolúveis nas soluções salinas saturadas, no éter, no clorofórmio, no alcool concentrado, elas dão as reações de coloração e de precipitação dos albuminoides.

Elas são tóxicas, mas caracterizam-se principalmente pelo fato de que introduzidas no sangue dos animais em quantidades extremamente pequeno não provocam nenhum acidente mortal, mas determinam a formação de princípios específicos destinados a diminuir ou neutralizar a sua atividade (antitoxinas).

Como as diastases, as toxalbuminas agem em doses muito fracas. Ambas são de origem albuminoide, solúveis na água e na glicerina, sensíveis à ação do oxigênio, do calor e da luz. Os fenômenos produzidos pelas diastases e pelas toxalbuminas são entretanto diferentes. "...Si nós comparamos as toxalbuminas às diastases, é sem prejudicar sua ação química e somente para lembrar algumas de suas propriedades" faziam notar

Roux e Yersin já em 1889. A diferença entre seus modos de ação é de fato bem nítida. A toxina só manifesta seus sintomas depois de um período de inação aparente mais ou menos longo (período de incubação) e não parece produzir, como a diastase, fenômenos de hidratação, de oxidação, etc.

Distingue-se ainda as toxalbuminas de alguns tóxicos vegetais que agem do mesmo modo em doses extremamente pequenas. Entre estes estão os alcaloides e os glicosídeos. Eles não determinam no organismo a aparição de anticorpos após a administração de doses progressivas; só as toxinas são capazes de provocar esta formação.

Wattiez e Sternon consideram a ricina, a mais importante das toxalbuminas e assim descrevem as suas propriedades físicas, químicas e fisiológicas:

“É um pó branco, amorfo, solúvel na água, álcool diluído, glicerina. Insolúvel no éter, clorofórmio, álcool concentrado. Ela aglutina os glóbulos vermelhos do sangue dos vertebrados. Mata um cão na dose de 0,006 ou ainda na dose de 0,04 quando injetada por via hipodérmica”.

Entre as demais toxalbuminas citam estes autores:

- 1) A abrina, oriunda das sementes do jequirití. *Abrus precatorius* (leguminosa).
- 2) A crotina, dos grãos de *Croton tiglium*. (Euforbiacea).
- 3) A curcina, extraída das sementes da *Jatrofa curcas* (Euforbiacea).
- 4) A robina, das cascas da *Acacia* (Leguminosa).
- 5) O veneno de *Rhus*, que tem sua origem nas seguintes terebintáceas: *Rhus radicans*; *R. toxicodendron*; *R. diversiloba*; *R. vernix*; *R. vernicifera*.
- 6) O veneno dos *Amanitas*. Origem: *A. muscaria* e *A. citrina*.

Talvez as propriedades mais interessantes destas albuminas venenosas sejam as que as aproximam das toxinas bacterianas quer nas suas ações fisiológicas, quer em suas reações de imunidade. Na verdade, a investigação de seus efeitos contribuiu em grande parte o conhecimento de efeitos correspondentes das toxinas bacterianas. Por isso achamos que a deno-

minação de toxalbuminas é a que se deve preferir pois que ela salienta no termo “toxina”, em comparação com as bacterianas, uma de suas mais originais propriedades, e no vocábulo “albumina” lembra a sua natureza química.

#### **Análise da ricina:**

Nós não obtivemos meios de realizar a análise da substância que isolamos. O prof. Carmichael que foi quem realizou a última análise da ricina, obteve os seguinte resultados:

Carbono .....	51,18 por cento	Enxofre .....	2,32 por cento
Hidrogênio ...	6,8 " "	Cinzas .....	2,94 " "
Azoto .....	16,42 " "		

Esta análise mostra — segundo êle próprio salienta — que a composição é a de uma proteína típica, contendo uma quantidade relativamente grande de enxofre, provavelmente em combinação em parte com o radical amônio que não foi removido pela dialise.

## TOXICOLOGIA

### Propriedades tóxicas da ricina.

A ricina é um veneno enérgico que mata em pequeníssimas doses. Nossas investigações neste terreno vizaram estabelecer a dose mínima mortal para os animais de laboratório. Entretanto é sabido que a ricina quimicamente pura ainda não foi conseguida. As amostras de ricina conseguidas pelos diversos estudiosos variam muito no seu grau de toxidez. Desta maneira, encontramos registradas nos diversos livros, doses, dadas como mínimas mortais, as mais diversas. Cifras que variam desde 0,000001 até 0,0005 por quilo de animal. O que se depreende desta diversidade de opiniões, quanto à mínima dose letal da ricina, é que a substância pura não foi alcançada, e que seu grau de toxidez está, como é lógico supôr-se, na razão direta de sua pureza.

O último investigador que isolou a ricina e que estabeleceu a dose mínima mortal da amostra por êle obtida foi, como já mencionamos, Emmett Carmichael que chegou a conclusão que a ricina mata já na dose de 0,00002 por quilo de animal. Como veremos adiante, nós não conseguimos uma ricina tão tóxica, devido talvez às imperfeições de nossa técnica no processo de obtenção.

O que, entretanto, é importante salientar e mesmo o que nos interessa no momento, é o fato indiscutível de que a ricina é um veneno violento que mata em doses pequeníssimas e cujo mecanismo de ação de morte ainda não pode ser perfeitamente estabelecido. De fato êle está ainda no terreno das hipóteses e das conjeturas. Devemos confessar que foi nos-

sa intenção ao empreendermos êste trabalho, definir êste mecanismo. Mas não o realizamos conforme desejávamos. Podemos alegar a premência do tempo que dispunhamos para realizar o estudo da ação farmacodinâmica da ricina, estudo êste reconhecidamente de base experimental que exige recursos amplos de laboratório. Podemos ainda dizer que nos deixamos seduzir pelas belas e atraentes experiências sôbre as propriedades antigênicas da toxina, com a pretensão de que nosso trabalho contribuisse para facilitar a obtenção de um sôro curativo que pudesse vir a ser utilizado, pretensão esta exacerbada pelo fato de que quando nosso trabalho estava em andamento, chegou ao nosso conhecimento por meio de um artigo publicado na revista "Medicina, Cirurgia e Farmácia", número de Março deste ano, que um ilustre colega do Estado de São Paulo, lastimava-se por não possuir recursos terapeuticos suficientes para evitar o êxito letal de um caso de envenenamento pela ricina, com que esteve a braços.

Iremos ver mais adiante que êste assunto foi por nós esmiuçado na medida do possível. Esta foi a razão porque nos desviamos em parte do programa previamente traçado.

O tempo que dispunhamos — repetimos — foi escasso, já que o assunto é complexo e comporta observações e estudos pormenorizados.

Vejamos então o que conseguimos, primeiramente no tocante ao grau de toxidez da ricina.

Começamos por tatear a sensibilidade de nossos animais à ricina, baseados na dose mínima mortal estabelecida por Carmichael.

### **Observação número 1.**

Cão adulto, com 7 quilos de peso. Administramos por via subcutânea 0,0002 de ricina, veiculada em sôro fisiológico. Alimentamos o animal com leite nos primeiros dias. Vinte e quatro horas depois êste apresentou-se apenas ligeiramente abatido. Chamou-nos a atenção uma forte reação no local da injeção, com formação de um tumor doloroso e de regular tamanho. Inflamação das conjuntivas oculares. Vomitos. Qua-

renta e oito horas depois persistia o mesmo estado. O animal rejeitou o alimento, e começou a evacuar fézes sanguinolentas. O tumor, de consistência mole, foi aberto dando vazão a regular quantidade de um pús fluído de côr amarelo-esbranquiçada. No 6.<sup>o</sup> dia encontramos o animal morto. Na autopsia constatamos forte congestão dos intestinos, bexiga pequena, retraída, completamente vazia, enterorragia e a tumefação dos ganglios linfáticos mesentéricos.

#### **Observação número 2.**

Camondongo branco. Adulto. 25 gramas de peso. Injeção subcutânea de 0,0002 de ricina por quilo de animal. A morte sobreveiu nas primeiras vinte e quatro horas. A autopsia revelou a persistência dos mesmos fenômenos que observamos no caso precedente.

#### **Observação número 3.**

Coelho adulto com 2 quilos de peso corporal. Injeção subcutânea de 0,00002 de ricina por quilo de animal. Durante os primeiros oito dias que o mantivemos em observação não apresentou nenhum sinal de doença.

#### **Observação número 4.**

Coelho adulto de 2 quilos de peso. Foi-lhe injetada por via subcutânea, ricina, na dose de 0,0001 por quilo de animal, o que lhe causou a morte cerca de 48 horas após.

#### **Observação número 5.**

Coelho adulto pesando 2 quilos 600 gramas. Também por via subcutânea foi administrada a ricina na dose de 0,0005 por quilo de animal. Sucumbiu cerca de 36 horas após a injeção.

#### **Observação número 6.**

Coelho adulto de 1 quilo 750 gramas. Dose de 0,0002 por



quilo de animal. Via de administração, subcutânea. A morte sobreveiu 30 horas mais ou menos após a injeção.

**Observação número 7.**

Coelho adulto pesando 2 quilos e meio. Foi feita a injeção subcutânea de 0,000025 por quilo de animal. Este sobreviveu, tendo apresentado somente uma pequena escara no local da injeção.

**Observação número 8.**

Coelho adulto de 2 quilos de peso. Injeção subcutânea de ricina. Dose de 0,000025. Morreu cerca de 3 dias após. Notamos igualmente necrose dos tecidos no local da injeção.

**Observação número 9.**

Coelho de 1 quilo 800 gramas. Foi-lhe administrada a mesma dose de ricina da observação precedente ou seja 0,000025 por quilo de animal, também por via subcutânea, tendo o animal sucumbido mais ou menos 3 dias após. Formação de escara no local da injeção.

**Observação número 10.**

Cobaio adulto pesando 500 gramas. Dose de 0,000025 por quilo por via subcutânea. Ulcera no local da injeção no fim de 2 dias. O animal sobreviveu.

**Observação número 11.**

Cobaio de 600 gramas. Injeção subcutânea de 0,00005 de ricina por quilo. Este animal também não morreu. Formação de escara no sítio da injeção.

**Observação número 12.**

Cobaio adulto de 600 gramas. Injeção subcutânea na dose de 0,0001 por quilo de animal que lhe causou a morte no fim de poucos dias.

**Observação número 13.**

Cobaio pesando 500 gramas. Administração por via subcutânea de ricina na dose de 0,002 por quilo de animal. Morreu no fim de alguns dias tendo apresentado a ulcera.

**Observação número 14.**

Cobaio de 450 gramas. Dose de 0,0002 por quilo. Morte no fim de vários dias.

**Observação número 15.**

Camondongo branco pesando 20 gramas. Injeção subcutânea de 0,0002 por quilo; o animal morreu 36 horas após a injeção.

**Observação número 16.**

Camondongo branco com 15 gramas de peso. Dose de 0,0002 por via subcutânea. Morte no fim de apenas 20 horas mais ou menos.

**Observação número 17.**

Cão adulto, macho com 12 quilos de peso. Foi-lhe administrada ricina por via subcutânea na dose de 0,000025, nada tendo apresentado êste animal além de forte reação local com formação de abcesso no local da injeção.

**Observação número 18.**

Cão pesando 15 quilos, femêa, adulto. Neste animal injetamos por via venosa uma solução contendo ricina na dose de 0,00002 por quilo de animal. Nada que nos prendesse a atenção apresentou êste cão.

**Observação número 19.**

Cão normal de 7 quilos e meio, adulto, macho. Injeção

intramuscular de ricina. A mesma dose da observação precedente (0,00002 por quilo). Só a formação de um pequeno tumor no local da injeção, que persistiu por vários dias foi o que observamos de extraordinário.

**Observação número 20.**

Cão normal pesando 10 quilos. Administração por via peritoneal de ricina na dose de 0,00002 por quilo. Nada apresentou.

**Observação número 21.**

Cão de 12 quilos de peso. Adulto normal. Administração de ricina por via venosa. Dose de 0,00002 por quilo de animal. Nada de extraordinário observamos.

**Observação número 22.**

Camundongo branco com 20 gramas de peso corporal. Envenenado com 0,00002 de ricina administrada por via subcutânea, veio a morrer nas primeiras vinte e quatro horas.

**Observação número 23.**

Cobaio adulto pesando 400 gramas. A dose de 0,0002 de ricina por quilo de peso do animal foi mortal para este. A morte sobreveiu cerca de 48 horas após a injeção. A via de administração foi a subcutânea.

**Observação número 24.**

Cobaio jovem com 200 gramas de peso. O envenenamento pela ricina que foi feita na dose de 0,0002, também terminou pela morte deste animal mais ou menos 24 horas após a administração da toxina. Devemos salientar que, da mesma maneira como nas demais observações, o animal da observação presente foi submetido a exame necropsico, sendo que os sinais autopsiais encontrados neste coincidem com os já descritos em uma observação precedente.

**Observação número 25.**

Cobaio adulto pesando 250 gramas. Injeção subcutânea de ricina na dose de 0,001 por quilo de animal. A morte sobreveio 24 a 30 horas após a injeção.

**Observação número 26.**

Cobaio adulto com 350 gramas de peso. A ricina foi administrada também por via subcutânea de dose de 0,01 por quilo de animal, o que lhe causou a morte 18 horas depois.

**Observação número 27.**

Camondongo branco adulto pesando 10 gramas. Envenenado com a dose de 0,0001. Morreu 24 horas após a injeção.

**Observação número 28.**

Cão adulto de 8 quilos. Dose de ricina: 0,0001 por quilo de animal, dose esta que causou a morte do cão após 20 horas. Via de administração, subcutânea.

**Observação número 29.**

Cão adulto pesando 8 quilos. Foi-lhe administrada ricina na dose de 0,000001 por quilo, por via subcutânea. O animal nada sofreu.

**Observação número 30.**

Cão de 6 quilos. A dose de ricina de 0,000001 por quilo de animal por via subcutânea foi completamente inocua.

**Observação número 31.**

Cão de 4 quilos e meio. Igualmente neste cão não registramos fenômenos de intoxicação com a dose de 0,000005 de ricina por via subcutânea.

**Observação número 32.**

Cobaio de 300 gramas de peso corporal. Este animal resistiu perfeitamente a dose de 0,000001 de ricina por quilo. Apenas registramos a presença da escara no local da injeção.

**Observação número 33.**

Cobaio adulto pesando 250 gramas. Nada apresentou além da formação da ulcera, com a dose de 0,00001 de ricina por via subcutânea.

**Observação número 34.**

Cobaio com 350 gramas. A dose de 0,000005 de ricina por quilo, foi também insuficiente para causar a morte deste animal.

**Observação número 35.**

Cão adulto com 7 quilos e meio. Foi-lhe feita uma injeção de ricina na dose de 0,00001 por quilo de animal. O cão sobreviveu. Via venosa.

**Observação número 36.**

Cão pesando 9 quilos e meio. Administração de uma solução de ricina na veia contendo a dose de 0,00005 por quilo. O animal nada apresentou.

**Observação número 37.**

Cão pesando 5 quilos. Administrada a ricina por via venosa na dose de 0,00006 por quilo, o animal nada apresentou.

**Observação número 38.**

Cão de 6 quilos e meio de peso. Foi-lhe injetada na veia a solução de ricina contendo 0,00008 por quilo de animal. Sobreviveu.

**Observação número 39.**

Cão normal pesando 13 quilos. A ricina foi administrada na veia na dose de 0,00009 por quilo. Nada observamos de extraordinário também neste animal.

**Observação número 40.**

Cão pesando 10 quilos. Injeção venosa de ricina na dose de 0,0001 por quilo, o que causou a morte do animal em menos de 48 horas.

**Observação número 41.**

Cão com 8 quilos e meio. Neste animal administramos por via venosa a dose de 0,00005 de ricina, o que não lhe provocou nenhum sinal de envenenamento.

**Observação número 42.**

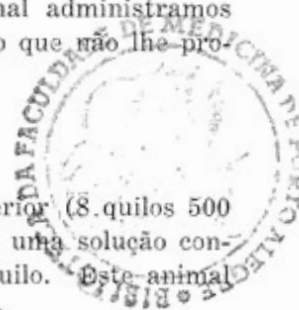
Cão de peso igual ao da observação anterior (8 quilos 500 gramas). Foi-lhe feita a injeção na veia de uma solução contendo ricina na quantidade de 0,00006 por quilo. Este animal também nada apresentou.

**Observação número 43.**

Cão pesando 8 quilos. Neste aumentamos a dose de ricina em um centésimo de miligrama com relação ao da observação precedente, ou seja administramo-lhe também por via venosa 0,00007, quantidade esta que foi mortal para o animal no fim de 48 horas.

**Observação número 44.**

Cão com 13 quilos. Igualmente por via venosa foi administrada neste cão a dose de ricina de 0,00008 por quilo de animal. Não verificamos entretanto nenhum sintoma de intoxicação.



**Observação número 45.**

Cão pesando 17 quilos. Ainda neste animal não registramos sinais de envenenamento, a-pesar-de lhe ter sido injetada na veia uma solução contendo 0,00009 de ricina.

**Observação número 46.**

Cão com 6 quilos 500 gramas. Foi-lhe feita injeção venosa de ricina contendo a dose de 0,0001 por quilo de animal. A morte sobreveiu 24 a 36 horas após a injeção.

**Observação número 47.**

Cão pesando 7 quilos 500 gramas. Administração por via venosa de 0,0002 de ricina por quilo, dose que lhe causou a morte em cerca de 36 horas.

**Observação número 48.**

Cão com 6 quilos. Também por via venosa, foi-lhe administrada ricina na dose de 0,0004 por quilo de animal. A morte do cão deu-se nas primeiras 24 horas.

**Observação número 49.**

Cão pesando 8 quilos. Dose de ricina administrada por via venosa: 0,0008 por quilo de animal. A morte sobreveiu no mesmo dia da administração do veneno.

**Observação número 50.**

Cão pesando 10 quilos. Igualmente neste animal administramos por via venosa 0,001 de ricina por quilo, o que lhe causou a morte em mais ou menos 20 horas.

Os sinais autopsiais sempre coincidiram em quasi todos os animais mortos.

Cumprе notar ainda que em muitos animais que sobreviveram às doses sub-mortais de ricina, dias após a injeção apre-

sentavam fézes líquidas e frequentes, a maioria dêles, e alguns fézes sanguinolentas.

Acreditamos ter bem documentado, com estas observações, o elevado poder tóxico da ricina já desde ha muito conhecido, mas todavia não divulgado suficientemente, pois que os casos de envenenamento pela ingestão de sementes do ricino, repetem-se com relativa frequência.

De fáto, já se conta um número relativamente elevado de casos publicados de intoxicação por esta toxalbumina. Os mais recentes encontramos descritos na revista "Archivos Uruguayos de Medicina, Cirugía Y Especialidades" número de Julho de 1936; o caso por nós publicado nos Arquivos Rio Grandenses de Medicina, número de Janeiro, do corrente ano, que cremos ter sido o primeiro veículado no Brasil; e finalmente o caso apresentado pelo Dr. Licinio Dutra, do Estado de São Paulo, a que já nos referimos.

No trabalho dos doutores A. Carrau e H. Mourigan da revista de Montevidéu que acima citamos, são descritos 3 casos de envenenamento em menores, respectivamente de 2, 4 e 16 anos de idade. O primeiro, começou a apresentar fenômenos de intoxicação poucas horas após ter ingerido sementes de mamona. "Diarréia intensa com mucosidade e sementes que tinha comido; vomitos intensos, repetidos, com resfriamento e estado geral muito grave. Continuou falando e pedindo água até pouco antes de falecer, o que se deu presumivelmente 24 horas após a ingestão das sementes". O de 4 anos contou, já no hospital, que êles tinham estado a comer umas sementes próximo a um arbusto que foi mais tarde identificado. 24 horas após, apresentava o seguinte quadro clínico: "Abatimento, sonolência, respiração profunda. Língua saburrosa sêca. Pulso pequeno, rápido, pelos 110. Sintomas de desidratação: perda de elasticidade, olhos muito escavados. Reage a dôr provocada, responde as perguntas, executa as ordens. Não há paresias nem paralisia. Não há erupções. Não teve vomitos nem diarréia". Melhorou rapidamente nos dias subsequentes até a cura completa. No terceiro caso o paciente



de 16 anos relatou ter comido 5 sementes de mamona, em estado fresco, cruas e com casca. “Depois de quatro horas teve fortes vomitos, o mesmo durante a noite e a manhã seguinte, após ter tomado meia taça de leite. Diarréia. Depois de 24 horas melhorou o seu estado. Não tomou remédios. Sua irmã de 12 anos tinha comido duas sementes, a mãe uma semente. Ambas nada sentiram. As sementes tinham um gosto amargo”.

Estes autores citam ainda uma notícia colhida nos jornais de Buenos Aires na qual é relatado um caso de intoxicação coletiva de uma família (os pais, sete filhos e um amigo) que ingeriu as sementes de mamona cozidas confundindo-as com feijões. Nenhuma morte se deu neste acidente, naturalmente devido à cocção, que si não foi suficiente para anular o efeito tóxico, o foi pelo menos para atenuá-lo.

A paciente observada pelo dr. Licínio Dutra ingerira de 12 a 15 sementes com o fim de combater a sua “prisão de ventre”. “Começou a sentir-se mal, apenas duas horas após, com náuseas, cefaléa, tonturas, sensação vertiginosa e, em pouco tempo, apareceram diarréia e vomitos profundos”..... “O exame físico revela de interessante o seguinte: Extremidades frias, suores profusos, calafrios, olhos lacrimejantes, conjuntivas hiperemias, pulso filiforme e frequente, temperatura abaixo da normal, sensação de bola no epigastro, dôr violenta da faringe até ao estômago, vomitos dolorosos e incessantes, caimbras generalizadas, metrorragia e síndrome coleriforme, com fézes sanguinolentas. Anúria total”. Êste caso terminou pela morte cerca de três dias após.

Registramos aquí estes casos principalmente para tecer alguns comentários relativos às prováveis doses de ricina que intoxicaram aquelas pessoas. A unidade foi sempre “a semente”, o que é pouco significativo pois que a quantidade de ricina contida em cada semente não deve ser constante, variando naturalmente com o seu peso.

Neste terreno encontramos nos diversos livros e artigos relativos ao assunto, os dados que a seguir anotamos:

Para Sollmann 5 a 6 sementes matam uma criança, 20 um adulto e 3 a 4 sementes são capazes de provocar em um adulto, uma gastroenterite violenta.

Ainda do artigo de Carrau e Mourigan colhemos o seguinte: Basta 0 gr. 179 de semente, por quilo de peso, para matar um cobaio, e 12 gr. 2 para um homem de 75 quilos. Para um cavalo são necessárias 100 grs. de sementes.

Shukichi Inoue, da Universidade de Kioto, que também isolou a ricina, declara que seu rendimento partindo da torta da mamona é de 2,5 %.

O professor Carmichael teve a gentileza de informar-nos diretamente que usando o processo de Osborne, Mendel e Harris, obtêm-se cerca de 11, 93 gramas de ricina, partindo de 1305 gramas de torta, o que representa um rendimento de 0,9 %.

Na obtenção de nossa amostra de ricina, partimos como já foi dito da torta da mamona, numa quantidade de 650 gramas. E' sabido que as sementes contêm cerca de 50 % de óleo que na torta já deve ser considerado extraído. Portanto podemos dizer que obtivemos as nossas 9 gramas de ricina partindo de 1.300 gramas de sementes. Nosso rendimento foi consequentemente de 0,7 % considerando a quantidade das sementes empregadas, e de 1,4 % partindo da torta da mamona; maior portanto que o de Osborne, Mendel e Harris, o que se justifica pela menor pureza de nosso preparado, demonstrada no seu menor grau de toxidez.

Ainda baseados nestes dados concluímos que 1 grama de semente do *Ricinus Communis*, contém cerca de 0,007 de ricina, quantidade esta que seria mortal para um adulto de 70 quilos, si administrada por uma via, em que a toxina não fôsse atacada pelos fermentos digestivos.

Vejam agora, o que as observações apresentadas nos autorizam concluir quanto a mínima dose letal da nossa amostra de ricina. Vimos que na grande maioria dos animais injetados, as doses inferiores a de um decimo de miligrama (0,0001) por quilo de peso corporal foram insuficientes — sal-

vo em 3 ou 4 casos — para causar a morte. Ao contrário, em todos os casos cuja dose injetada foi igual ou superior a de um décimo de milígrama, a morte sobreveiu.

Isto leva-nos a afirmar que a dose mínima mortal da nossa preparação de ricina foi de 0,0001 por quilo de peso corporal de cães, coelhos e cobaias, e um pouco inferior ainda para camondongos brancos.



## FARMACOLOGIA

### Ação da ricina sobre o sangue:

Verificamos "in vitro" a ação aglutinante da ricina sobre o sangue dos animais de sangue quente. Esta aglutinação dá-se sempre que juntarmos sangue a uma solução de ricina a 1 por cento. Os elementos figurados logo caem para o fundo do tubo deixando o sêro claro acima. Esta aglutinação só foi constatada com a solução a um por cento, não se verificando com as soluções mais diluídas.

Esta propriedade da ricina levou Stilmарck a imaginar que ela formava massas de globulos vermelhos nos vasos sanguíneos e, os sintomas apresentados pelos animais injetados com ela, eram devidos à embolia resultante da aglutinação dos globulos. Entretanto, como veremos o sangue dos animais imunizados, sofre igualmente a aglutinação em presença das soluções de ricina, ao passo que resistem a doses muitas vezes mortais do veneno.

O fenômeno da aglutinação foi atribuido por Stassano à precipitação das nuclealbuminas ou de outras proteínas. Outros autores — Cushny, Müller, Field e Jacoby — imaginaram a existência de dois grupos distintos, duas substâncias constituintes da ricina, uma responsável pela sua ação tóxica, outra pela sua ação aglutinante. Foram feitas experiências tentando separar esta aglutinina. Gunn sugeriu, que a aglutinação dos globulos vermelhos pela ricina, pode ser, em parte pelo menos, não especifica e oriunda da precipitação de um coloide por outro de sinal oposto.

Quanto a modificações no quadro sanguíneo, apenas observamos um exagerado aumento do número de leucocitos nos

animais injetados com doses mortais de ricina. (20.000 e 25.000).

#### Ação local sôbre as mucosas:

Veremos adiante a poderosa ação irritante da ricina sôbre as mucosas do aparelho digestivo. Sôbre as conjuntivas esta ação foi também por nós observada. Esta irritação manifesta-se ainda quando a ricina é injetada por via-subcutânea produzindo inflamação e supuração. Sôbre a mucosa nasal nós mesmos comprovamos a ação irritante da ricina, pois por duas ou três vezes a sofremos por inalação involuntária do pó enquanto o pezavamos.

#### Ação sôbre es nervos periféricos:

A ricina não altera a excitabilidade das extremidades nervosas. Nós registramos as contrações do gastrocnemico de uma rã, excitando o ciático por uma corrente da mesma intensidade e em intervalos regulares. E' sabido que normalmente

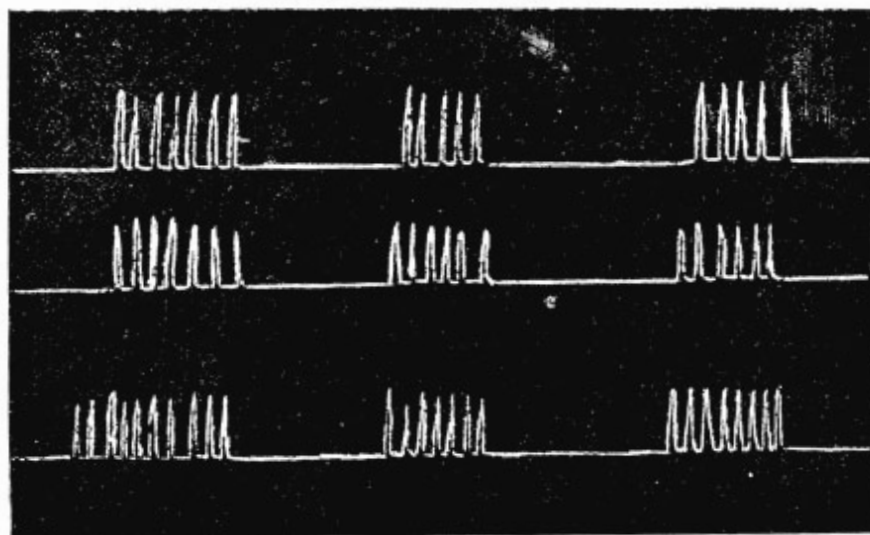


Fig. 3 — Observação n.º 51 — Contrações do gastrocnemico de uma rã por excitação do ciático. A ricina não alterou a excitabilidade do nervo.

as contrações dêste músculo conservam a sua amplitude inicial durante muito tempo, ao passo que si o nervo fôr submetido à ação do alcool, éter ou clorofórmio, sua excitabilidade diminue gradativamente.

Esta experiência foi por nós realizada diversas vezes, tendo sido aplicada sôbre o nervo uma solução de ricina a 1 por cento, o que não trouxe alteração nas contrações do músculo, como pode ser observado no traçado que registramos. (Observação n.º 51) (fig. 3).

Foi também administrada a ricina atravez dos sacos linfáticos da rã e repetida a experiência horas após. As contrações do gastrocnemico conservaram-sê inalteráveis.

#### Ação sôbre a pressão sanguínea.

A pressão arterial que registramos com o cimógrafo de Ludwig, na arteria femural, em diversos cães por nós injetados com a ricina, nunca mostrou modificações apreciáveis, imediatamente, mesmo quando a ricina foi introduzida diretamente na corrente sanguínea (Observação n.º 52) (fig. 4). A debilidade circulatória manifesta-se somente num estado



Fig. 4 — Observação número 52 — A ricina, injetada diretamente na corrente circulatória, não trouxe modificações da pressão arterial deste cão. Traçado obtido com o manometro ou cimógrafo de Ludwig.

de intoxicação muito avançado, estando o animal próximo da morte.

Em um cão que registramos a pressão arterial, seccionamos o vago cervical e provocamos a excitação de cada extremidade isoladamente, por meio de uma corrente faradica e com intervalos regulares. Este cão fôra previamente injetado com cerca de 0,001 de ricina na veia. O traçado relativo a observação n.º 53 (fig. 5) é bem significativo e revela-nos as mes-

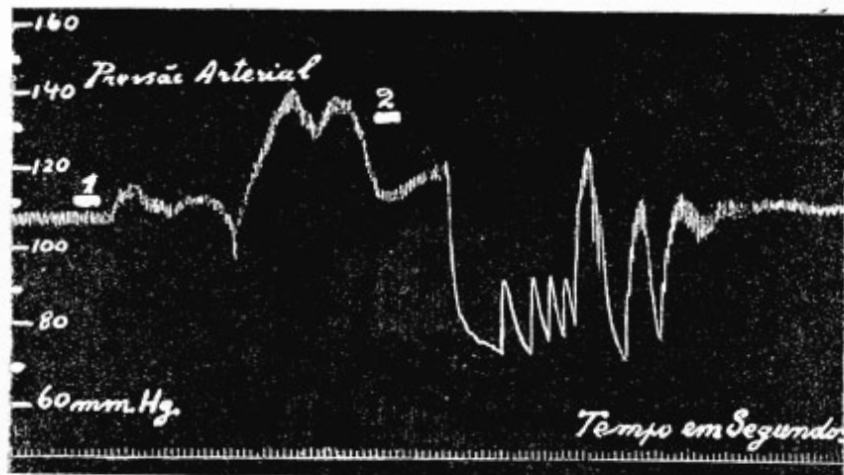


Fig. 5 — Observação n.º 53 — Cão de pequeno porte (4 quilos e meio), previamente injetado com um milígrama de ricina na veia. Excitação elétrica do vago cervical seccionado. Em 1, excitação da extremidade central do vago; em 2, excitação da extremidade periférica do mesmo nervo. A tomada da pressão arterial foi feita com o manometro de Ludwig.

mas modificações da pressão arterial que, fisiologicamente, são observadas quando se excitam isoladamente as extremidades cefálica e cardíaca do vago.

De fato registramos no nosso caso uma elevação da pressão arterial quando excitamos a extremidade cefálica do nervo, ao passo que, quando excitada a extremidade cardíaca, notamos uma diminuição da pressão.

#### Ação sobre o coração.

Deixamos cair sobre o coração de uma rã, cujos movimen-

tos registramos, algumas gotas de uma solução de ricina a 1:100. Esperamos alguns instantes. Voltamos a registrar, e observamos os batimentos cardíacos normais. Derramamos novamente a solução de ricina sobre este coração persistindo ainda a normalidade de seus batimentos. Os traçados que aqui estampamos foram conseguidos com a pinça cardiográfica de Marey. (Observação n.º 54 (fig. 6).

Injetamos 0,001 de ricina nos sacos linfáticos de outra rã. Esperamos várias horas e após registramos os batimentos de seu coração. Conforme se pode ver no cliché ainda nada de anormal observamos. (Observação n.º 55) (fig. 7).

Em outra rã fizemos também a ricina agir diretamente sobre o músculo cardíaco, registrando igualmente os batimentos. Excitamos então o pneumogástrico o que trouxe a diminuição fisiológica da frequência cardíaca. (Observação n.º 56) (fig. 8).

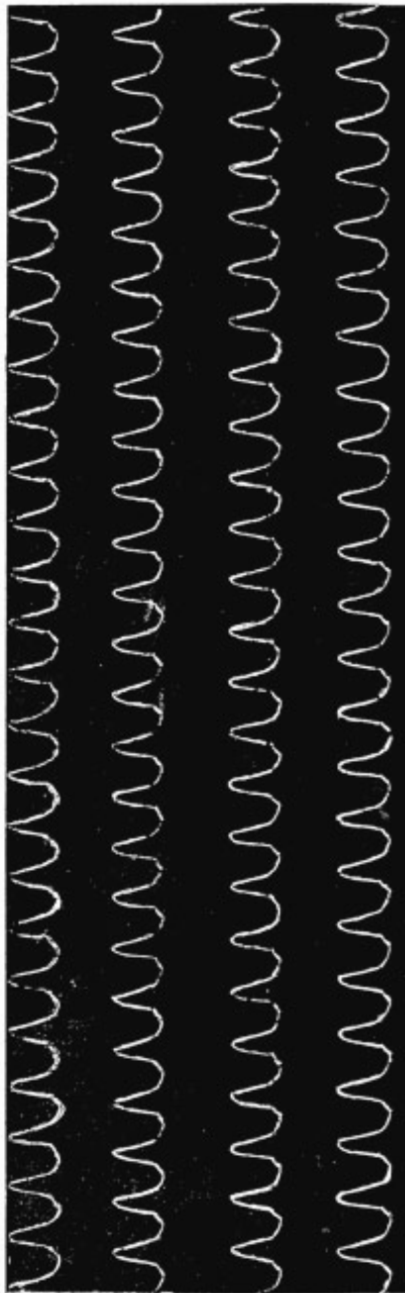


Fig. 6 — Observação n.º 54 — Cardiograma de rã (*Leptodactylus ocellatus*). Instilamos várias gotas de uma solução de ricina a 1 por cento diretamente sobre o coração da rã, o que não modificou o aspecto do cardiograma. (Pinça cardiográfica de Marey).



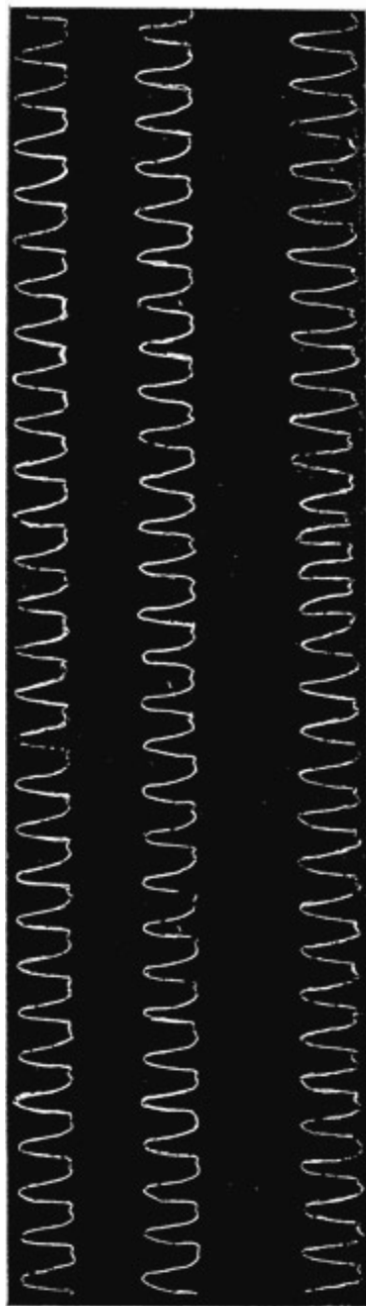


Fig. 7 — Observação n.º 55 — Cardiograma de uma rã (*Lepodactylus ocellatus*) que havia sido injetada algumas horas antes com um miligrama de ricina no saco linfático sub-lingual. Pinça cardiográfica de Marey.

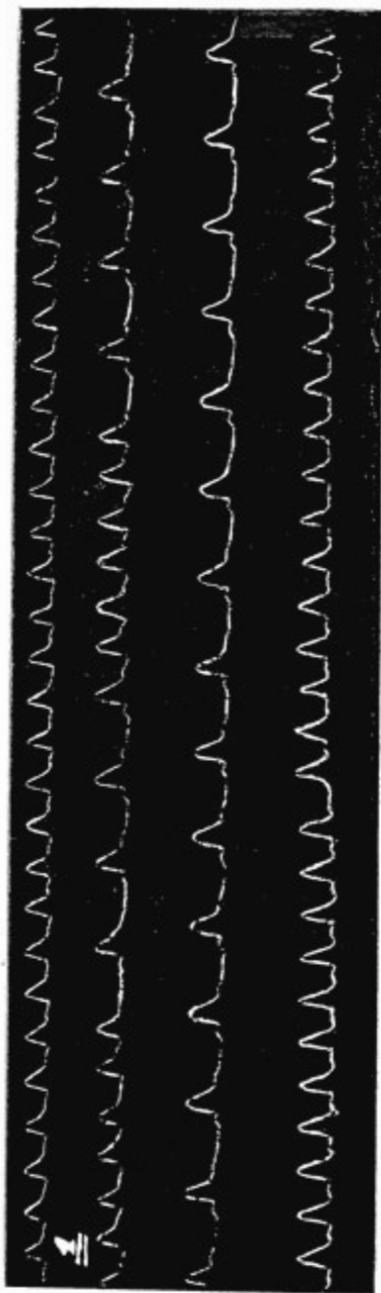


Fig. 8 — Observação n.º 56 — Cardiograma de uma rã, em cujo coração instilamos algumas gotas de uma solução de ricina a 1 por cento. Em 1, fizemos a excitação elétrica do vago. Pinça cardiográfica de Marey.

Entre os mamíferos a ricina não traz de imediato, da mesma maneira, alterações na fisiologia do coração.

Os cortes histológicos não apresentaram lesões.

Vimos portanto que a ricina é uma substância que não tem ação direta sobre o músculo cardíaco, nem altera imediatamente o funcionamento do coração quando introduzida no organismo.

### Ação sobre os rins:

Embora não tenhamos colhido dados concretos para afirmar que a ricina seja eliminada pelos rins, exercendo aí a sua ação nociva, temos entretanto, alguns elementos que falam em favor desta hipótese.

De fato, observamos em muitos de nossos animais intoxicados pela ricina “anúria total”, que verificamos pelo aspeto de suas bexigas, logo após a morte.

O caso apresentado pelo dr. Licínio Dutra, que já mencionamos, também se fez acompanhar deste sintoma.

Os cortes histológicos de rim que o prof. Heitor Cirne Lima teve a gentileza de realizar em 4 cães mortos pela ricina, apresentavam o seguinte (conforme relatório que mais longe reproduzimos): “**Rim:** — Forte hiperemia. Tumefação das paredes vasculares e sinais de inchaço turva dos “tubuli contorti”. Em alguns pontos infiltração leucocitaria intersticial”. Vimos pois que embora não tenham sido encontrados sinais de nefrose necrotizante, os sinais de inchaço turva dos tubos contornados já representam lesões de certa gravidade.

Além disso devemos considerar que os exames histopatológicos foram realizados em apenas quatro cães, o que não constitue documentação suficiente para se tirar conclusões definitivas. Não podemos portanto excluir a possibilidade da ricina provocar lesões mais graves para o lado do rim, pois mesmo aqueles sinais de alterações histológicas menos graves não foram encontrados sinão em dois dos quatro rins examinados.

### **Ação sôbre o figado:**

O ataque da ricina à celula hepática nos foi bem revelado pelo exame histo-patológico. Os cortes apresentaram além de forte hiperemia, zonas de necrose ocupando o centro e, muitas vezes, também a periferia dos lobulos. Estas estavam localizadas, de preferência, nas porções sub-capsulares, verificando-se em tôrno delas, leuco-estáse capilar. Discreta tumefação das paredes vasculares. (fig. 9).

### **Ação sôbre a respiração:**

Nos vários animais que observamos os movimentos respiratórios — após injeções de doses fortes de ricina na veia — não notamos alterações. Registramos aqui um traçado dos movimentos respiratórios de um cão normal no qual foi introduzida diretamente na corrente circulatória 1 cc. de uma solução de ricina a 1:100, sem que — como pode ser visto — modificasse o ritmo respiratório. (Observação n.º 57) (fig. 10).

### **Ação sôbre o tubo digestivo:**

A ricina sendo uma proteína, é atacada pela pepsina e convertida em peptona, da mesma maneira como a tripsina age sôbre ela desdobrando-a. Experiências neste sentido foram realizadas por Karrer, Smirnoff, Ehrensperger e Van Slooten, que submeteram a ricina à ação da tripsina. Avaliaram o grau de toxidez nos diversos períodos do desdobramento e notaram que a medida que a proteína ia sendo desdobrada o seu poder tóxico ia desaparecendo. Eis a razão porque são necessárias quantidades muito maiores de ricina para produzir efeitos tóxicos quando ela é administrada "per os".

A ricina tem sua ação eletiva sôbre o trato intestinal. De fáto, como já foi dito, nas autopsias dos animais envenenados pela ricina, encontramos alterações profundas para o lado do intestino. Cremos que a ricina se elimine pelo intestino, irritando então a mucosa de um modo violento, o que explicaria a

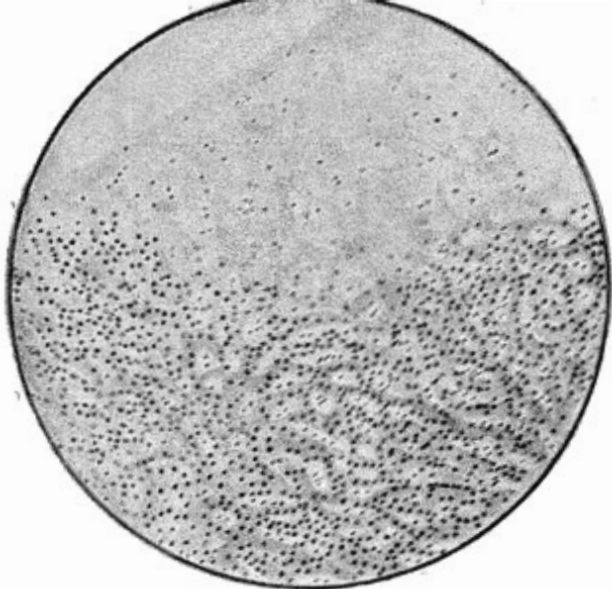


Fig. 9 — Cão envenenado com 0,0004 de ricina por quilo,  
FIGADO: Zona de necrose, sub-capsular. Leucoestáse  
(coloração: hematoxilina-eosina, aumento 60 x aprox.)  
Desenho da srta. Wanda Medeiros, auxiliar do labora-  
tório de Anatomia Patológica da Fac. de Medicina.



Fig. 11 — O mesmo cão. Mucosa do intestino grosso.  
Zonas de necrose (coloração: hematoxilina-cosina, au-  
mento: 60 x aprox.).  
Desenho de Wanda Medeiros.

grave enterite provocada pela toxina. Quando administrada por via oral exerce a sua ação irritante sobre todo o canal digestivo. Ao passo que quando introduzida diretamente na corrente circulatória ela provoca seus efeitos nocivos no local de sua eliminação, ou seja quando está em contacto com o intestino.

Esta questão foi bem elucidada pelo exame histo-patológico do intestino que nos revelou o seguinte:

“Forte hiperemia. Na sub-mucosa e na musculatura, escassa infiltração inflamatória crônica peri-vascular. Na mucosa há pequenas zonas de necrose. Alterações das estruturas glandulares e redução da cromofilia nuclear. Discreta infiltração leucocitária”. (fig. 11).

Nós registramos as contrações intestinais de diversos cães injetados com ricina alguns injetados previamente, outros injetados no momento de colhermos os

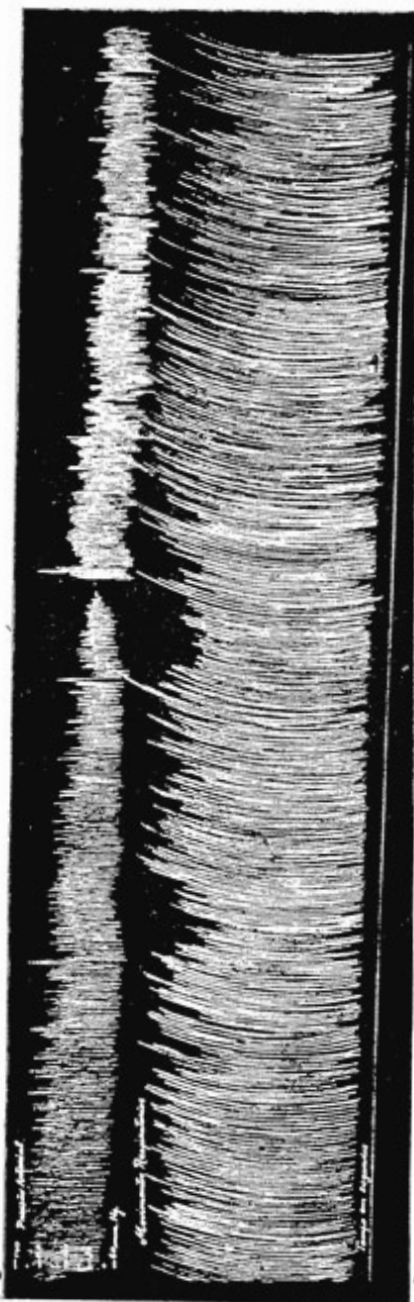


Fig. 10 — Observação número 57 — Hemodinamograma e pneumograma, obtidos respectivamente com o manômetro de Ludwig e o pneumógrafo de Marey, de um cão que injetamos com 0,01 de ricina na veia.

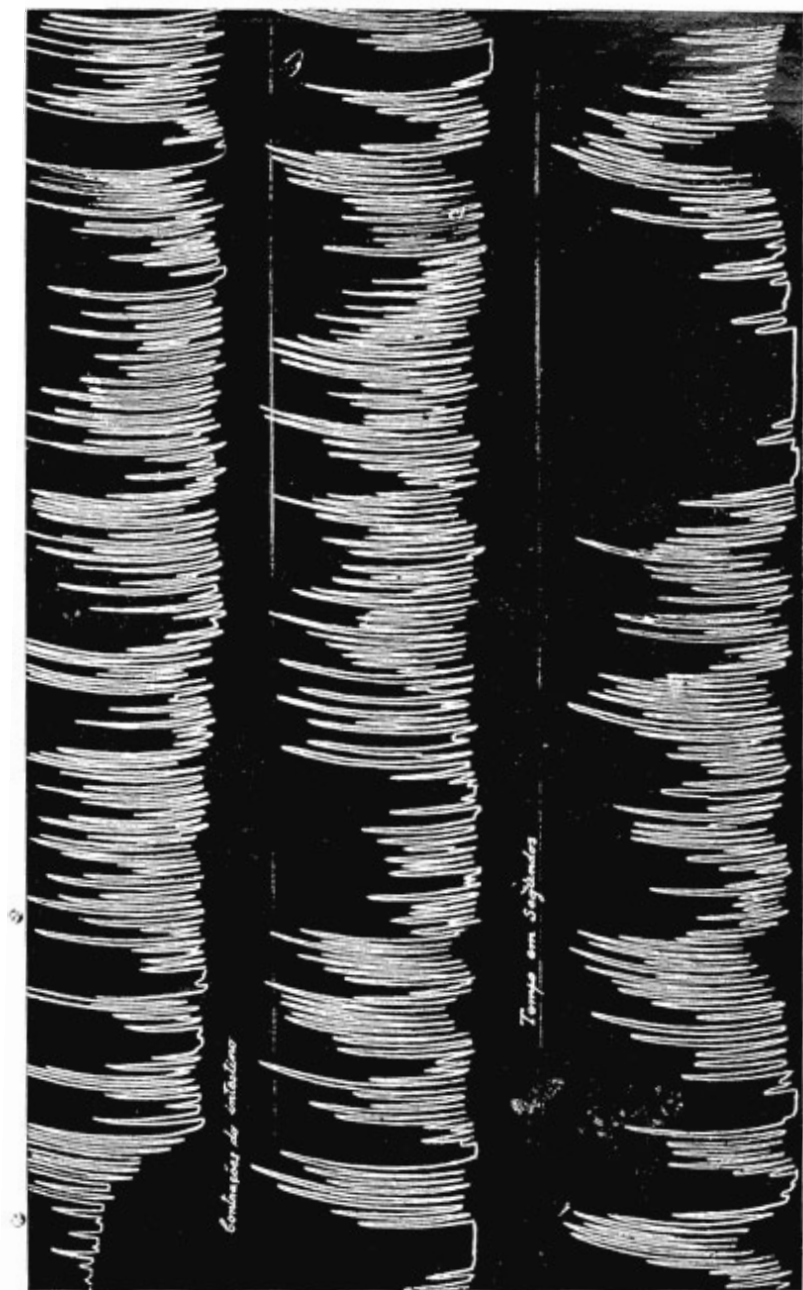


Fig. 12 — Observação n.º 58 — Traçado que revela o aumento das contrações do intestino de um cão, provocado pela ricina previamente administrada. O registro acima foi obtido com o aparelho cujo desenho estampamos a seguir.

traçados. No primeiro traçado de peristaltismo intestinal aqui estampado, observamos o considerável aumento das contrações do intestino de um cão, no qual havia sido injetada, cerca de 6 horas antes, uma solução de ricina contendo a dose de 0,0002 por quilo de peso corporal. (Observação n.º 58) (fig. 12).

O registro das contrações intestinais nós o conseguimos por meio de uma aparelho especial, que encontramos descrito

na "Experimental Pharmacology" de Jackson, donde extraímos o desenho que aqui reproduzimos (fig. 13). Este aparelho, bastante simples, compõe-se de uma bureta, graduada ou não, um cateter e um dedo de luva de borracha. Para o registro das contrações intestinais, nós exteriorizamos uma determinada porção do intestino delgado do cão — quasi sempre na altura do duodeno —. Fazemos então uma pequena incisão longitudinal, geralmente na parte mais inferior da porção intestinal sôbre a qual operamos.

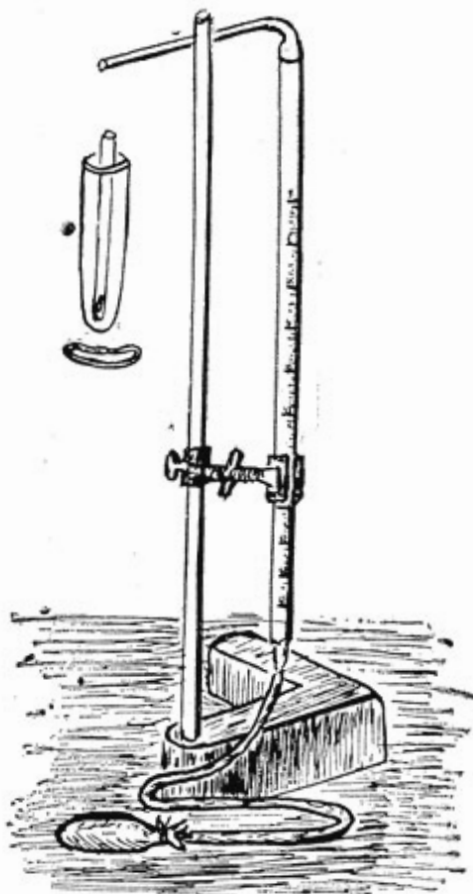


Fig. 13 — Esquema do aparelho para registro das contrações do intestino descrito por Jackson na "Experimental Pharmacology". Descrição no texto.

Introduzimos por esta incisão, o cateter de nosso aparelho sôbre o qual já está adaptado o dedo de luva, mais ou menos 5 ou 6 centímetros para de-

tro do intestino. Sutura-ramos então o intestino em volta do cateter com a borracha.

Para adaptação do dedo de luva ao cateter devemos fazer com que êste penetre inteiramente até ao fundo da borracha e até force-a um pouco. A bureta é carregada com água até a sua metade. Antes de introduzir o cateter no intestino, executamos com êste uns movimentos de vae-e-vem no interior da borracha, até estarmos certos de que o dedo de luva encontra-se cheio d'água e que o ar foi todo expellido.

Como dizíamos, a ricina trouxe na observação presente, um exagerado aumento das contrações intestinais, aumento êste que pode ser bem notado si compararmos o traçado do peristaltismo dêste cão com o da observação n.º 59 (fig. 14) que

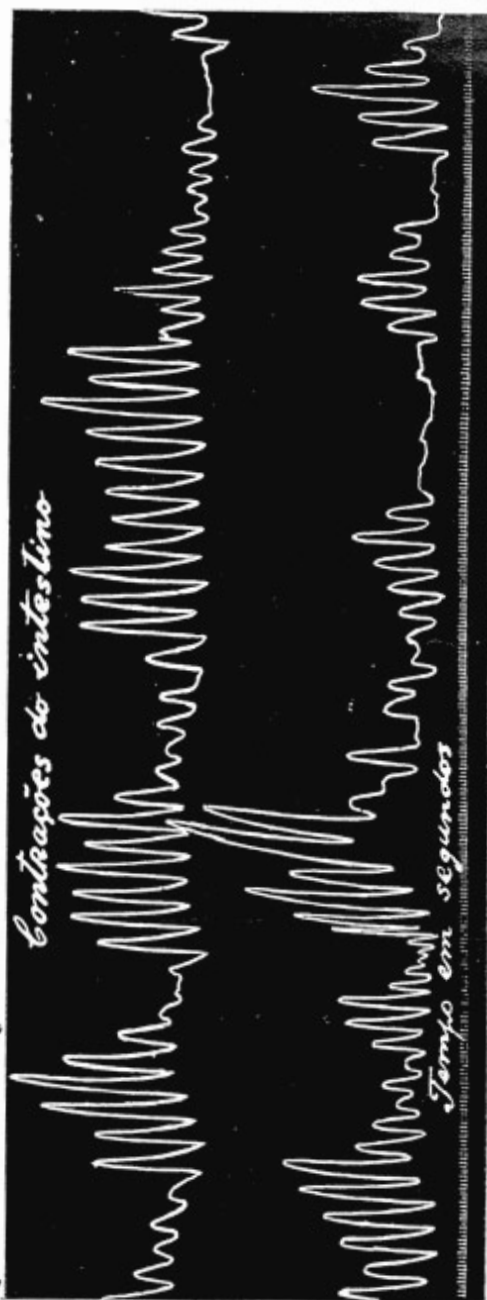


Fig. 14 — Observação n.º 59 — Traçado das contrações do intestino de um cão normal.



foi obtido de um cão normal, ao qual nenhuma droga administramos.

Aliás, foi-nos dado observar, em diversas ocasiões, nos cães intoxicados com a ricina, quando começavam a aparecer as fézes sanguinolentas, atitudes estranhas dos animais durante o ato da evacuação: mostravam estar fazendo um esforço fóra do habitual, o que nos dava a impressão de tenesmo, assim como manifestavam sentir alguma dor.

Na observação n.º 60 (fig. 15 — um cão normal de 10 quilos — introduzimos diretamente no estômago do animal, uma solução de ricina a 1:250. Pouco tempo depois — menos de uma hora — apareceram vomitos violentos e incessantes. Em seguida colocamos o animal na mesa, e após uma anestese-

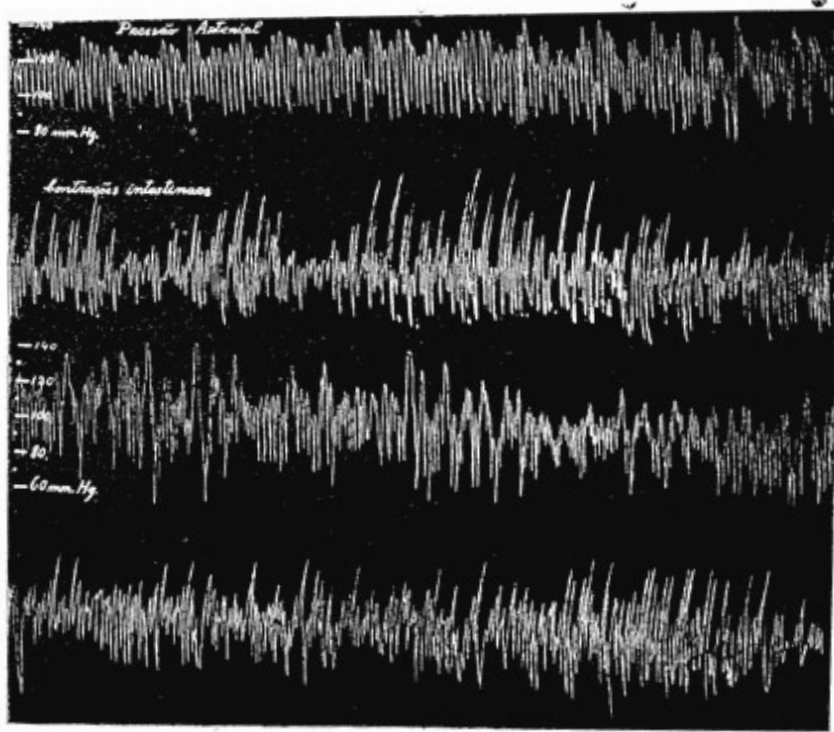


Fig. 15 — Observação n.º 60 — Registro dos movimentos peristálticos do intestino de um cão ao qual introduzimos diretamente no estômago uma solução de ricina. Hemodinamograma pelo manômetro de Ludwig.

sia local pela novocaina, abrimos-lhe o ventre e registramos as contrações intestinais. Notamos o aumento dos movimentos peristálticos, si bem que a obtenção dêste traçado foi difficil, ficando o mesmo prejudicado pelas constantes crises de vomito que o animal apresentava.

Verificamos assim que a ricina é um poderoso irritante da mucosa gastrica, agindo localmente e produzindo vomitos por um mecanismo reflexo. Lembremos aqui que depois das injeções parenteraes de ricina, os animais também apresentam fortes nauseas, seguidas de vomitos, às vezes sanguinolentos. Nas autopsias de todos estes animais a mucosa gastrica se apresentava fortemente hiperemiada o que nos faz pensar que a ricina também possa ser eliminada



Fig. 16 — Observação n.º 61 — Cão de 5 quilos. Registro da pressão arterial com o manometro de Ludwig e das contrações intestinais. Excitação elétrica das extremidades cefálica e cardíaca do vago seccionado. Em 1, excitação da extremidade cefálica; em 2, excitação da extremidade cardíaca. Em 3 e 4 novas excitações.

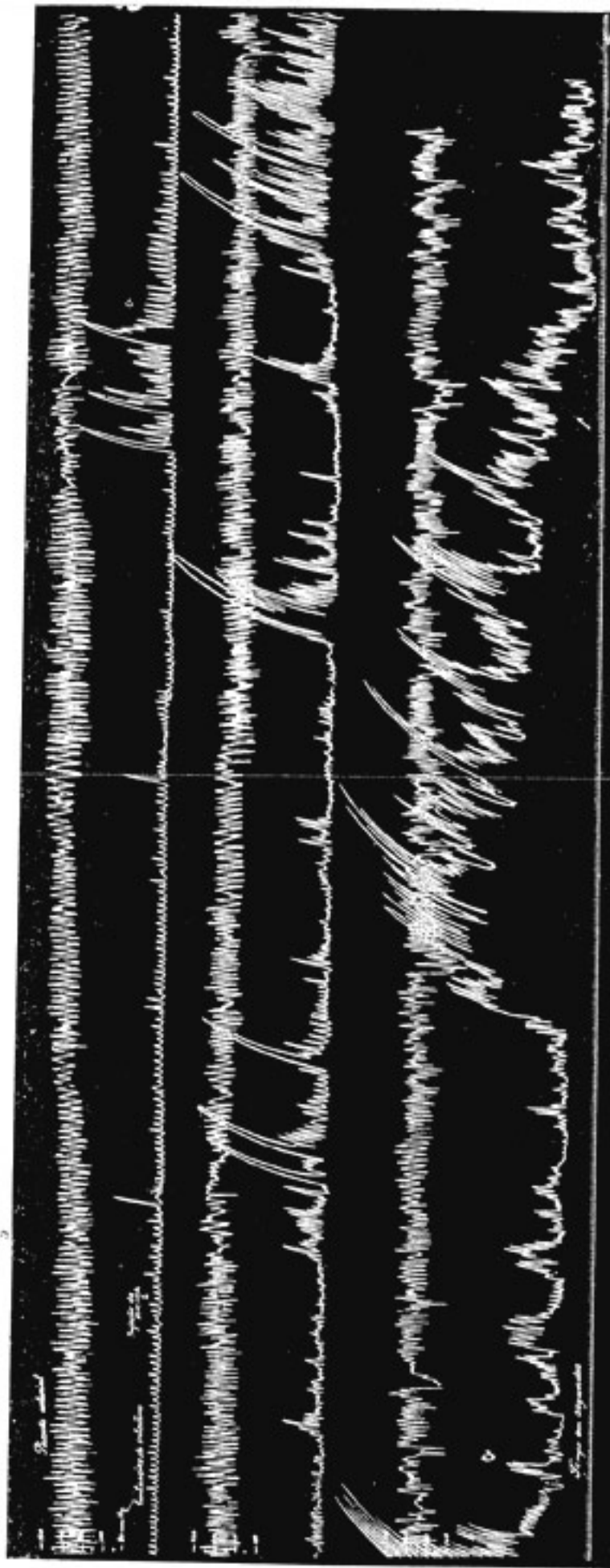


Fig. 12 — Observação n.º 42 — Registo da pressão arterial e das contrações do intestino de um cão de 15 quilos. A injeção de ricina trouxe um aumento do peristaltismo intestinal. Manómetro de Ludwig. Aparelho de Jackson. Tempo em segundos.

por essa mucosa. Aliás não podemos afiançar que essas mudanças não sejam de origem bulbar.

Vimos que a ricina não modifica a função moderadora das extremidades nervosas parasimpáticas intracardiacas, já que a excitação da porção cardíaca do vago continua a provocar a diminuição da pressão, mesmo no animal intoxicado pela ricina.

Repetimos aquela experiência (excitação separada das porções cefálica e cardíaca do vago) registrando porém desta vez as contrações do intestino num cão de pequeno porte (4 quilos) que foi injetado com ricina (observação n.º 61) (fig. 16). O traçado mostra o aumento do tonus e do movimento do intestino quando o pneumogástrico é excitado na sua porção distal, de acôrdo com a sua função fisiológica, e de maneira simultânea com a diminuição da pressão arterial.

Reciprocamente, a excitação da porção proximal do vago, traz a diminuição do tonus intestinal e o aumento da pressão arterial.

Fomos levados a praticar esta experiência, porque — verificado o aumento do peristaltismo intestinal produzido pela ricina — poderia esta ação ser atribuída à excitação do nervo acelerador daquela função ou à paralisia do respectivo nervo moderador.

Ora, como vimos, o sistema acelerador — no caso os ramos parasimpáticos do vago — foi experimentado, com o organismo sob a ação da ricina, sem que sua função fôsse modificada.

Na observação n.º 62 (fig. 17), registramos as contrações intestinais e a pressão arterial de um cão pesando mais ou menos 15 quilos. Colhemos no papel, primeiramente os registros normais do animal, e após lhe injetamos na veia uma dose massiça de ricina (0,02). Meia hora depois já notamos o aumento das contrações do intestino, primeiro manifestado por crises, seguidas de repouso e, depois de mais ou menos uma hora, por exagerado aumento constante do tonus. Isto pode bem ser observado no traçado que aquí reproduzimos.



**RELATÓRIO DOS EXAMES HISTO-PATOLÓGICOS  
REALIZADOS PELO DR. HEITOR CIRNE LIMA**

**Faculdade de Medicina  
de Porto Alegre**

**INSTITUTO OSVALDO CRUZ**

Porto Alegre, 12 de Agosto de 1940

**N.º 2 — FIGADO:** Hiperemia. Zonas de necrose que ocupam o centro e, muitas vezes, também a periferia dos lobulos. Localizam-se, com preferência, nas porções sub-capsulares. Em torno delas, verifica-se com frequência, leuco--estáse capilar. Há discreta tumefação das paredes vasculares.

**GROSSO INTESTINO:** Hiperemia. Na sub-mucosa e na musculatura, escassa infiltração inflamatória crônica peri-vascular. Na mucosa, há pequenas zonas de necrose. Alterações das estruturas glandulares, e redução da cromofilia nuclear. Discreta infiltração leucocitária.

**RIM:** Forte hiperemia. Tumefação das paredes dos vasos e aspétos de inchação turva dos "tubuli contorti".

**MIOCARDIO:** Hiperemia. Tumefação das paredes vasculares.

**Heitor Cirne Lima**

**Faculdade de Medicina  
de Porto Alegre**

**INSTITUTO OSVALDO CRUZ**

Porto Alegre, 12 de Agosto de 1940

**N.º 3 — FIGADO:** Hiperemia. Estensas zonas de necrose que ocupam tôda a area lobular e se estendem por vezes a regiões correspondentes a vários lobulos. Nas zonas de necrose e ao redor delas, leucoestáse, nas capilares.

Tumefação das paredes vasculares. As zonas de necrose se localizam, frequentemente nas regiões sub-capsulares.

**INTESTINO GROSSO:** Hiperemia. Na mucosa, pequenas zonas de necrose localizadas, predominantemente, nas regiões mais superficiais. Discreta infiltração leucocitaria.

**RIM:** Forte hiperemia. Tumefação das paredes vasculares e sinais de inchação turva dos “tubuli contorti”. Em alguns pontos, infiltração leucocitaria intersticial.

**MIOCARDIO:** Hiperemia. Tumefação das paredes vasculares.

**Heitor Cirne Lima**

## PROPRIEDADES ANTIGÊNICAS DA RICINA

As propriedades antigênicas da ricina são de há muito conhecidas e, graças a elas, têm sido realizadas experiências interessantíssimas que já prestaram seu tributo à sôroterapia.

Já mencionamos em nosso primeiro capítulo os trabalhos de Ehrlich, Truche e Ramon, em virtude dos quais ficou experimentalmente estabelecido, poder esta toxina vegetal, quando administrada em doses crescentes, começando por doses não mortais, conferir ao organismo uma imunidade específica ao veneno. Ehrlich, demonstrou ainda que era possível produzir uma imunidade passiva, administrando em animais o sôro de animais imunizados.

Vejamos como interpretar estas reações de imunidade, dentro das normas estabelecidas na farmacologia aplicada.

A faculdade que tem o organismo animal de produzir substâncias específicas que modificam as proteínas estranhas, é regida por uma série de mecanismos especiais, cuja finalidade é a de defender êste organismo contra a entrada de microorganismos. E' conhecida pelo termo "imunidade". Êste termo expressa o poder do organismo para resistir, em primeiro lugar, as infeções pelos microbios e secundariamente, aos efeitos de suas toxinas.

O organismo adquire naturalmente esta faculdade, após uma infeção da qual êle se restabelece; neste caso diz-se que a imunidade foi "adquirida", porque naquele organismo desenvolveu-se durante a enfermidade, um novo poder de resistência, específico contra o agente casual ou suas toxinas. Considera-se ainda duas modalidades desta propriedade: transitória

ou permanente, si persiste durante alguns anos ou durante tôda a vida.

A imunidade adquirida que vimos de nos referir é a natural. Entretanto ela poderá ser desenvolvida artificialmente por inoculação de um micro-organismo ou de uma toxina, previamente submetidos a um artifício de modificação, de maneira a que êles não sejam mais capazes de reproduzir a enfermidade, mas que possam ainda originar uma reação de imunidade. Êste é o processo pelo qual se obtem a imunidade artificial ativa, e os métodos mais conhecidos e mais empregados para a sua reprodução, resumem-se nos seguintes:

1.º Administração de microbios vivos em estado de virulência atenuada, como por exemplo o virus rabico.

2.º Administração de microbios mortos pelo calor ou por antiséuticos, exemplo, a vacina antitífica.

3.º Administração de toxinas em doses crescentes.

A imunidade pode ainda ser conseguida de uma maneira indireta. Obtem-se administrando ao organismo o sôro de um animal imunizado ativamente contra uma determinada doença. E' a imunidade passiva, cuja eficacia depende da quantidade de substâncias específicas desenvolvidas no organismo animal doador durante o processo de imunização. Estas substâncias formam-se no organismo como resposta à chegada de certas materias estranhas; são os "anticorpos" sempre específicos, isto é, que reagem somente com as substâncias que os originam.

As substâncias que são capazes de estimular a formação de anticorpos no organismo, são chamadas "antigenos". Estes compreendem as "toxinas" que são venenos antigênicos. Podem ser assim chamadas com tôda a propriedade porque são as únicas capazes de estimular a produção de anticorpos (anti-toxinas).

Entre os antigenos mais importantes, ou melhor, entre as principais substâncias que podem agir como antigenos, salientamos as proteínas não venenosas de origem animal ou vegetal — ovalbumina, seroproteína, edestína, etc. —; as proteínas bacterianas e tóxicas; os enzimas; as proteínas vegetais tóxi-



cas — ricina, abrina, etc. —; certos venenos animais; venenos dos ofídios, das abelhas, etc. —; células animais ou vegetais; bactérias, globulos vermelhos, etc. Portanto só as proteínas podem agir como antígenos. Querem alguns autores que os glucosideos e certos lipoides sejam capazes de produzir anticorpos. Entretanto esta hipótese até agora não foi confirmada.

Por toxinas bacterianas entendemos as substâncias solúveis segregadas pelas bactérias no meio que as rodeia (exotoxinas). Elas diferem das proteínas típicas por serem mais facilmente solúveis; não são obtidas em estado de pureza, e os agentes precipitantes das proteínas, precipitam-nas junto com estas. A par destas propriedades, seu principal caraterístico é a sua elevada toxidez, indiscutivelmente maior do que qualquer outra substância de composição química conhecida. (Um milésimo de milígrama de toxina diftérica por quilo de animal, injetado sob a pele, mata um cobaio).

Considerados sob alguns aspétos, os venenos das serpentes são semelhantes às toxinas bacterianas. E além das serpentes, as anémonas do mar, alguns insetos, aranhas e peixes, são capazes de produzir venenos de natureza análoga. Finalmente, as proteínas vegetais tóxicas — ricina, abrina e crocina — se parecem também com as toxinas bacterianas, em suas propriedades gerais. Elas provocam a formação das antitoxinas respectivas, que nestes casos podem ser chamadas ainda, antiricina, antiabrina ou anticrotina.

As antitoxinas são notavelmente específicas. Esta especificidade caracteriza todos os fenômenos imunológicos. Alguém já a comparou “a de uma chave em relação à sua fechadura”. Elas reagem as suas toxinas específicas, não tendo ação sobre nenhuma outra.

A tolerância que somos capazes de produzir em um animal, com doses sensivelmente abaixo das doses mortais de proteínas tóxicas, por injeções repetidas, não deve ser confundida com um fenômeno descrito em Farmacologia com o nome de “habito”.

De fato, é sabido que com uma substância não proteica

pode-se também provocar em um animal, por administrações crescentes da droga, um elevado grau de tolerância para esta. Mas este fenómeno é de natureza completamente distinta da tolerância à toxina.

Exemplifiquemos com a morfina. Entre todos os alcalóides, o que facilita mais a aparição do “habito” é a morfina, que é também o alcaloide para o qual o organismo adquire a maior tolerância. A-pesar-disso, um morfinomano de muitos anos só pode tomar umas cem vezes a dose normal da droga, ao passo que a um animal imunizado por uma toxina pode-se administrar uma dose da mesma, 10.000 vezes maior que a dose letal mínima, sem provocar-lhe efeitos sérios.

Como as antitoxinas não podem ser isoladas e pesadas a sua atividade se avalia determinando-se em certas condições a dose mortal para determinados animais. Assim a unidade de toxina tetânica e diftérica é constituída pela mínima dose capaz de matar um coelho de 350 gramas. A unidade correspondente de antitoxina é a quantidade desta que neutraliza 100 doses letais mínimas de toxina.

O sangue de um cavalo normal contém geralmente apenas indícios de antitoxina tetânica (mais ou menos um quinto de unidade de antitoxina por cc.). Entretanto por injeções repetidas de doses sub-mortais de toxina este mesmo sangue pode chegar a conter mil unidades anti-tóxicas por cc. de sôro, podendo ser obtidas até 2.000 em certos cavalos. Isto quer dizer que a tolerância do cavalo para a toxina tetânica aumentou de 50 a 100 mil vezes.

A imunidade, originada desta maneira, pode ser mantida durante uns mezes. Quando o cavalo é sangrado, o teor sanguíneo em antitoxinas, ainda que diminua um tanto no início, restabelece-se em poucas semanas. Só depois de alguns meses de sangrias repetidas é que aquele conteúdo declina.

Vimos então um exemplo do que constitue a imunidade ativa para um antígeno. Este é o processo usado para a obtenção de sôros antitóxicos. E foi o que também empregamos para a obtenção do nosso sôro anti-ricínico, já que assim podemos chamar um sôro anti-tóxico, específico, para a ricina.

### Imunidade ativa e sôro anti-ricinico.

Nós experimentamos o poder antigênico da ricina, injetando cães com doses sub-mortais da toxina, de um modo crescente, até atingir a doses realmente mortais. Conseguimos desta maneira imunizar diversos animais, cujos sôros sanguíneos protegeram outros animais contra doses mortais de ricina.

#### Observação número 63.

Cão normal de 12 quilos. Em 29-3-40 administramos a êste animal por via venosa a dose de 0,00002 de ricina por quilo corporal. Nenhum efeito sério tendo se manifestado, applicamos-lhe no dia 3-4-40 nova dose de ricina — 0,00005 por quilo — na veia. Em 8-4-40 foi feita nova injeção, desta vez já a nossa dose mínima mortal — 0,0001 por quilo de animal —. Em 13-4-40 fizemos-lhe dois decimos de milígrama por quilo, que o animal suportou perfeitamente, sem apresentar nenhum sintoma de envenenamento.

#### Observação número 64.

Cão de 7 quilos e meio. Neste animal as injeções foram feitas intra-muscularmente. Em 29-3-40, solução de ricina contendo 0,00002 por quilo. No fim de 24 horas o animal apresentou abatimento e forte inflamação das conjuntivas. Em 3-4-40, nova injeção de 0,00005 por quilo. Em 8-4-40, dose de 0,0001 por quilo. Em 12-4-40, 0,0002 por quilo, que o animal tolerou, sobrevivendo.

#### Observação número 65.

Cadela grávida pesando 15 quilos. Injeções feitas por via venosa.

Em 29-3-40	0,00001	por quilo	de animal.	Nenhum sintoma.
Em 2-4-40	0,00002	" "	" "	" "
Em 5-4-40	0,00005	" "	" "	" "
Em 8-4-40	0,0001	" "	" "	" "
Em 14-4-40	0,0002	" "	" "	" "

Desta cadela nasceram 4 filhotes no dia 12 de Maio de 1940.



### Observações números 66 e 67.

Cães jovens de 2 dias, pesando respectivamente 350 e 250 gramas. Nestes dois filhotes da cadela da observação precedente, injetamos no dia 14-5-40, por via subcutânea, 0,0001 de ricina por quilo. Conservamos os outros dois cãesinhos como testemunhos.

Infelizmente não pudemos tirar conclusões positivas destas observações, já que — talvez devido ao ambiente em que conservávamos os animais — os próprios cãesinhos testemunhos foram os primeiros a morrer já nos primeiros 5 dias de vida. O animal da observação 66 sucumbiu cerca de uma semana após a injeção de ricina, sendo que a autópsia não revelou os sintomas comuns do envenenamento pela ricina. O último cãozinho, entretanto, suportou bem a toxina, estando vivo até hoje. Apresentou somente, digno de registro, forte reação local no sítio da injeção, da mesma maneira como o que morreu.

Como já disse, não obtivemos dados suficientes para afirmar qualquer coisa a este respeito. Entretanto, tudo nos leva a crer que a imunidade adquirida pela mãe seja transmitida ao feto. Pensávamos realizar outras observações com cadelas grávidas, mas só raramente conseguimos animais neste estado.

### Observação número 68.

Cobaio com 250 gramas. Em 25-4-40 foi-lhe injetado ricina na dose de 0,0001 por quilo por via subcutânea, juntamente com 1 cc. de soro de animal imunizado da observação 65. O cobaio não apresentou sintomas de intoxicação.

### Observação número 69.

Cobaio com 300 gramas. Injeção subcutânea de 0,0001 de ricina por quilo mais 2 cc. de soro de animal imunizado. Sobreviveu.

### Observação número 70.

Cobaio de 200 gramas. Foi-lhe feita por via subcutânea uma injeção de ricina na dose de 0,0002 por quilo juntamente

com 3 cc. do sôro do mesmo animal imunizado. Este cobaio também nada apresentou.

Simultaneamente com as três observações anteriores, foi injetado um cobaio testemunho com a dose de 0,0001 que sucumbiu cerca de 2 dias após a injeção.

#### **Observação número 71.**

Cão normal pesando 8 quilos. Injeções repetidas de ricina, obedecendo às seguintes doses por quilo de peso corporal:

Dia 11-5-40, 0,00001 — Dia 15-5-40, 0,00002 — Dia 18-5-40 0,00005 — Dia 21-5-40, 0,0001 — Dia 24-5-40, 0,001.

Este animal sucumbiu a esta última dose de ricina. Acreditamos que a última dose tenha sido excessiva em relação à penúltima.

#### **Observação número 72.**

Cão pesando 6 quilos. Foi igualmente injetado por via subcutânea com as seguintes doses repetidas de ricina:

Em 12-5-40 Injeção de 0,00001 por quilo de animal. Em 15-5-40 Injeção de 0,00001 por quilo de animal. Em 20-5-40 Injeção de 0,00005 por quilo de animal. Em 24-5-40 Injeção de 0,0001 por quilo de animal. Em 28-5-40 Injeção de 0,0002 por quilo de animal. Via venosa. Em 3-6-40 Injeção de 0,001 por quilo de animal. Via venosa.

O cão da observação presente suportou bem esta última dose equivalente a dez vezes a dose mortal.

#### **Observação número 73.**

Cão de pequeno porte — 4 quilos e meio — Obedecendo o mesmo critério da anterior:

1.<sup>a</sup> injeção, em 12-5-40, dose de 0,00001 de ricina por quilo Via sub-cutânea. 2.<sup>a</sup> injeção, em 15-5-40, dose de 0,00005 de ricina por quilo. Via subcutânea. 3.<sup>a</sup> injeção, em 20-5-40, dose de 0,0001 de ricina por quilo. Via subcutânea. 4.<sup>a</sup> injeção, em 24-5-40, dose de 0,0002 de ricina por quilo. Via venosa.

5.<sup>a</sup> injeção, em 28-5-40, dose de 0,0005 de ricina por quilo. Via venosa. 6.<sup>a</sup> injeção, em 3-6-40, dose de 0,001 de ricina por quilo. Via venosa.

Consideramos êste caso outro bom exemplo da imunidade adquirida, pois o animal tolerou perfeitamente esta última dose bem elevada.

Verificamos assim que os animais adquiriam rapidamente um considerável grau de imunidade à ricina, com as injeções repetidas da mesma.

Passamos então a interessar-nos por conhecer as propriedades do sôro do animal imunizado à ricina.

O primeiro animal que imunizamos foi o cão, como foi descrito anteriormente, com bom êxito pois que rapidamente êle adquiriu a imunidade. E foi também o sôro dêste animal que, em primeiro lugar, experimentamos. Comprovamos nêle a presença de anticorpos à ricina, através das observações 68, 69 e 70. Nesta verificamos que, já um cc. do sôro daquele animal imunizado foi suficiente para anular uma dose mínima mortal de ricina, injetada simultaneamente no cobaio.

Entretanto sentimos que para continuarmos a experimentar o sôro anti-tóxico, o cão, como animal de experimentação neste caso, apresentava graves inconvenientes. Precisavamos quantidades relativamente grandes de sangue para obtermos uma pequena parte de sôro. Não desejavamos sacrificar os animaes; era mistér que conservassemos os animais imunizados pois, na ocasião, tinhamos poucos cães. Por tudo isto, ocorreu-nos a necessidade de obtermos um cavalo para de fâto experimentarmos o sôro anti-tóxico.

Isto conseguimos graças à gentileza do dr. Heitor Fabregas, digno diretor do Serviço de Produção Animal do Ministério da Agricultura, secção do Rio Grande do Sul, que pôz à nossa disposição o animal, no Posto de Inoculação daquele serviço, localizado no quilômetro 9 da estrada de Viamão.

Neste local começamos então a administrar as doses de ricina a um cavalo, pesando cerca de 250 quilos, com o fim de imunizá-lo, na ordem que a seguir expomos.

**Observação número 74. Cavallo com 250 quilos.**

Em 19-5-40	injeção	de	ricina	na	veia,	dose	massiça	de	0,01
Em 22-5-40	"	"	"	"	"	"	"	"	0,02
Em 26-5-40	"	"	"	"	"	"	"	"	0,025
Em 29-5-40	"	"	"	"	"	"	"	"	0,05
Em 7-6-40	"	"	"	"	"	"	"	"	0,10

O animal tolerou bem as quatro primeiras injeções nada tendo apresentado. Entretanto quando lhe foi administrada a última injeção manifestou uma série de sintomas que enfeixamos no quadro tipico do "choque anafilático". Senão, vejamos. Foi feita a injeção às 15 horas. Um minuto após mostrou uma espécie de tremor, parecendo perder o equilibrio. Ajoelhou-se 3 vezes para cair, conseguindo erguer-se com difficuldade. Evacuação continua. Tenesmo, dando a impressão de colicas abdominais violentas. Tremores musculares. Cegueira momentanea e completa nos 3 primeiros minutos após a injeção. Gemidos continuos, forte dispnéa, aceleração dos batimentos cardíacos e baixa acentuada da temperatura. Este quadro durou dez minutos. O animal afastou-se recusando a água e os alimentos. Ficamos a observá-lo durante meia hora, pois achavamos que fôsse morrer. A-pesar-disso o cavallo resistiu bem e está com vida até hoje.

Dissemos que as manifestações apresentadas pelo animal após a injeção, podiam ser atribuidas a um "choque anafilático". Vejamos si nos é possível encontrar apóio para esta afirmação nas leis da Farmacologia Geral.

Entre as inumeras definições de "anafilaxia" destacamos, "...estado de sensibilidade particular conferida ao organismo, após a administração prévia de uma substância de natureza coloide" (Galvão); "...designa a propriedade que possuem certos venenos, certos alimentos ou medicamentos de aumentar em vez de diminuir a sensibilidade do organismo". (P. Pinto). E' portanto um estado especial de sensibilização conferido ao organismo pela administração de uma determinada substância, que só se apresenta com os fenômenos caraterísticos quando a substância sensibilizante é de natureza coloidal, especialmente quando se trata de uma proteína.

Um outro elemento essencial do fenômeno anafilático é o tempo de incubação da sensibilização analifática. E' sabido que são necessários no mínimo 7 dias, de um modo geral entre a injeção preparadora e a injeção desencadeante, sendo que depois dos sete dias o organismo pode conservar-se sensibilizado para o resto da vida.

Ainda uma característica bem salientada do choque anafilático é a subitaneidade com que êle surge, logo que é feita a injeção desencadeante de proteína.

Quanto às manifestações apresentadas pelos animais durante a crise, não tem quasi valor sob o ponto de vista experimental, pois podem ser por cada observador diferentemente interpretadas. Assim, para termos a certeza de que estamos frente a um choque anafilático, precisamos estar observando, em primeiro lugar, a pressão arterial do animal, pois é sabido que a queda de pressão arterial é a característica fundamental do choque anafilático.

Desta maneira, a-pesar-de termos elementos para afirmar que a crise apresentada pelo nosso cavalo foi anafilática pois,

1.º A substância injetada era uma proteína;

2.º Houve um tempo de incubação, de 7 a 8 dias;

3.º As manifestações foram subitaneas, após a injeção; resolvemos provocar o desencadeamento do choque anafilático em cães dos quais estivessemos registrando a pressão arterial.

#### **Observação número 75.**

Cão com 10 quilos. Imunizado à ricina, pelo método de administração de doses repetidas da mesma droga. Passados no mínimo 10 dias da injeção da última dose levamos o animal à mesa para registrar a pressão arterial e as contrações intestinais. Após termos colhido durante uns 10 minutos os traçados normais destas duas funções, fizemos-lhe uma injeção de ricina na veia femural na dose de cerca de um milígrama (dose massiça). Imediatamente observamos a queda brusca da pressão arterial bem como sinais de aumento do tonus intestinal. (fig. 18).



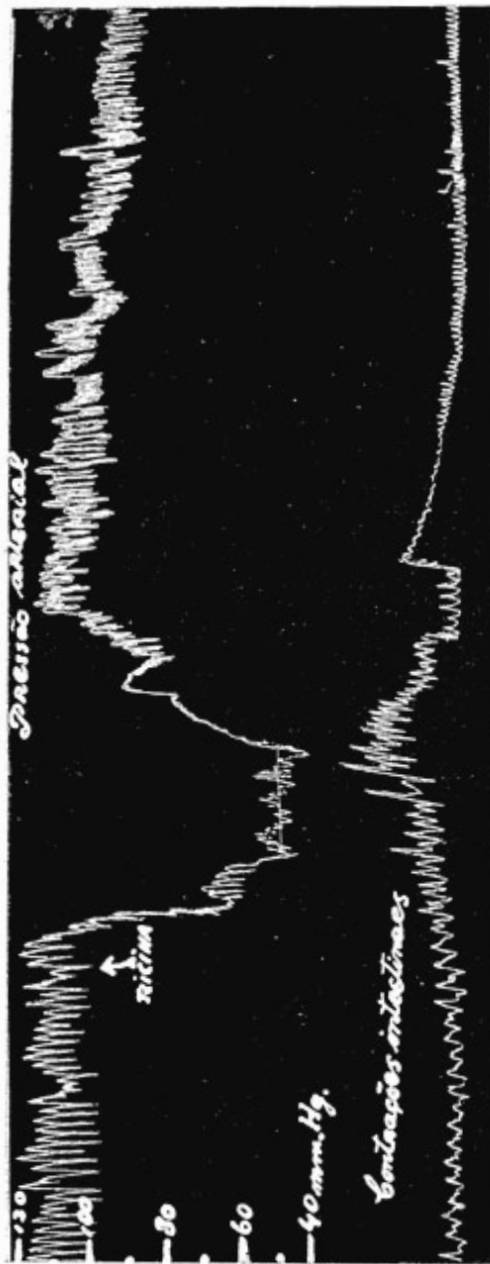


Fig. 18 — Observação n.º 75 — Traçado da pressão arterial e das contrações intestinaes de um cão de 10 quilos, sensibilizado à ricina. A administração de uma nova dose de ricina na veia, provocon a queda brusca da pressão arterial.

### Observação número 76.

Cão de 5 quilos. Imunizado pelo mesmo processo da observação anterior. Após à administração do antígeno — no caso a ricina — registramos a diminuição brusca da pressão arterial e o aumento do peristaltismo. (fig. 19). Positiva, portanto, no caso, a característica fundamental do choque anafilático.

### Observação número 77.

Cão pesando 13 quilos, sensibilizado previamente à ricina. Aquí novamente colhemos os traçados da pressão arterial e das contrações intestinais. Registramos fenômeno idêntico ao das observações precedentes ou sejam queda subitânea da pressão arterial e aumento das contrações do intestino. (fig. 20).

Estas três observações confirmam pois plenamente que os sin-



Fig. 19 — Observação n.º 76 — Esta figura mostra o traçado típico da pressão arterial durante um choque anafilático. A queda brusca foi provocada pela injeção de ricina na vena de um cão de 5 quilos, previamente sensibilizado. Manômetro de Ludwig.

tomas surgidos no cavalo devem ser atribuídos ao fenômeno da anafilaxia.

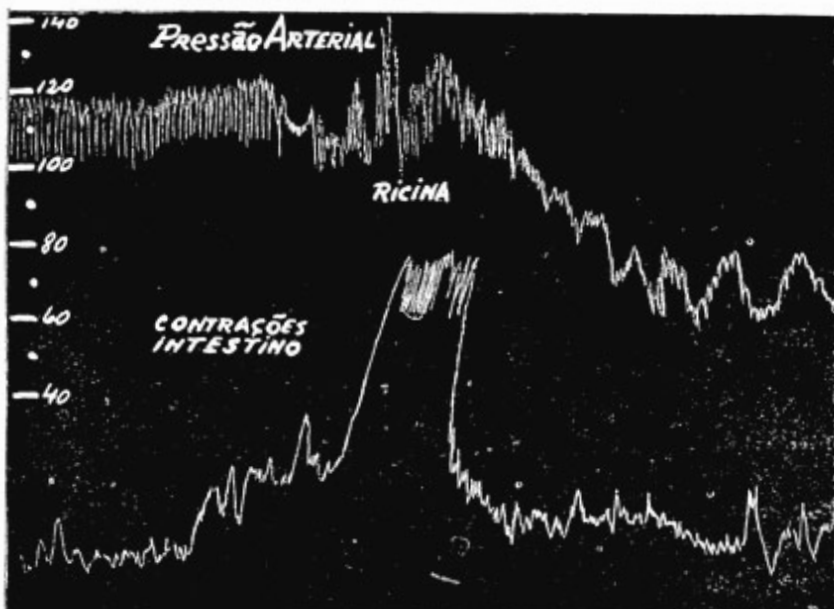


Fig. 20 — Observação n.º 77 — A injeção de ricina na veia deste cão de 13 quilos, previamente sensibilizado, desencadeou-lhe também um choque anafilático.

O cavalo foi sangrado no dia 24-6-40. Levamos o sangue à estufa a 37 graus. Após algumas horas retiramos o sôro, centrifugamos e o encerramos em ampolas esterilizadas.

Passamos então a experimentá-lo em nossos animais de laboratório, para conhecer seus efeitos.

#### Observação número 78.

A um animal — cão de 5 quilos — que na vespera havíamos injetado 0,0002 de ricina sob a pele, e que já começava a apresentar os sintomas de envenenamento, aplicamos-lhe 5 cc. de sôro do cavalo imunizado, também por via subcutânea. No dia seguinte o cão continuava em profundo abatimento, rejeitando os alimentos. Uma pequena quantidade de leite que o

obrigamos a deglutir, provocou-lhe vomitos. Fizemos-lhe mais 5 cc. de sôro por via intra-muscular. No 3.<sup>o</sup> dia ainda persistia o mesmo estado. Nova injeção de sôro — 5 cc. — lhe foi feita no músculo. Seguiram-se ainda alguns dias, nos quais o animal tomou um pouco d'água e algumas migalhas de alimento. A-pesar-disto, o animal sobreviveu a êste período, tendo voltado a aceitar os alimentos até restabelecer-se.

#### **Observação número 79.**

Cão pesando 5 quilos. Neste animal administramos simultaneamente, por via subcutânea, uma dose de ricina de 0,0001 por quilo de animal e 1 cc. de sôro do cavalo imunizado. Apenas notamos a reação local da injeção mais ou menos intensa. Nos dias que se seguiram apareceram fézes líquidas e frequentes. Nada mais de importante registramos.

#### **Observação número 80.**

Cão de 12 quilos. Injeções subcutâneas, de ricina na dose de 0,0001 por quilo e de sôro — 3 cc. — o que nenhum efeito sério causou.

#### **Observação número 81.**

Cão com 7 quilos. Foram feitas injeções de ricina e sôro por via subcutânea. Aquela na dose mínima mortal (0,0001 por quilo) e o sôro uma ampola de 5 cc. Ainda neste animal nenhum sintoma de envenenamento surgiu.

#### **Observação número 82.**

Cão pesando 8 quilos. Agora duplicamos a dose de ricina. Injetamos neste cão 0,0002 de ricina por quilo de animal mais 1 cc. de sôro. No dia seguinte, como surgisse algum sinal de intoxicação, fizemos-lhe 10 cc. de sôro. No 3.<sup>o</sup> dia o cão continuava abatido; mais 5 cc. de sôro foram aplicados no músculo. A partir do dia imediato o animal passou a melhorar, restabelecendo-se.

**Observação número 83.**

Cão de 7 quilos. Neste animal seguimos o mesmo processo das observações anteriores, injetando-lhe simultaneamente ricina mais sôro. Dose de ricina 0,0002 por quilo. Quantidade de sôro 3 cc. Êste animal nada sofreu de importante. Apenas notamos evacuações mais frequentes e líquidas, isto 3 ou 4 dias após a injeção.

**Observação número 84.**

Cão pesando 8 quilos. Constituiu êste caso mais um exemplo da inocuidade da ricina em dose duas vezes maior que a mínima mortal, quando administrada com o sôro anti-tóxico. 0,0002 de ricina por quilo de animal mais 5 cc. de sôro foram injetados por via subcutânea neste animal, que nenhum sintoma de envenenamento apresentou, nem mesmo a leve enterite apresentada pelos cães das observações anteriores.

**Observação número 85.**

Cão com 10 quilos. Injeções simultâneas de ricina na dose de 0,0005 por quilo, ou seja 5 vezes a dose mínima mortal, e sôro na quantidade de 5 cc. por via muscular. O sôro foi perfeitamente suficiente para evitar a ação tóxica da ricina. O animal sobreviveu.

**Observação número 86.**

Cão (testemunho) de 9 quilos. Injeção de ricina por via muscular na dose de 0,0005. O animal sucumbiu em menos de 48 horas, após apresentar todo o cortejo de sintomas do envenenamento pela ricina.

**Observação número 87.**

Cão pesando 7 quilos. Repetimos com êste animal a mesma experiência da observação 85. A mesma dose de ricina — 0,0005 por quilo — foi administrada no músculo juntamente

com 5 cc. de sôro. Mais uma vez verificamos aqui a anulação dos efeitos tóxicos da ricina pelo sôro. O cão sobreviveu não tendo manifestado nenhum sintoma alarmante.

#### **Observação número 88.**

Cão (testemunho) pesando 7 quilos. A dose de 0,0005 de ricina por quilo matou-o em cerca de 36 horas, após revelar o quadro tipico da intoxicação pela ricina. Os sinais necropsicos confirmaram.

#### **Observações números 89, 90 e 91.**

Cães de 15, 10 e 7 quilos respetivamente. Nestes animais fizemos injeções intramusculares de nosso sôro nas quantidades de 5 cc., 3 cc. e 2 cc. Com apenas uma injeção de sôro em cada animal conseguimos que êles suportassem alguns dias depois, doses mortais de ricina, o que veio demonstrar-nos o valor do sôro anti-tóxico como preventivo contra a ação tóxica da ricina. De fáto 6 ou 7 dias após a injeção do sôro, aplicamos nestes cães as seguintes doses de ricina: No da observação 89, 0,0008 por quilo ou seja quasi dez vezes a dose mínima mortal.

No da observação 90, 0,0005 por quilo ou seja cinco vezes a dose mínima mortal.

No da observação 91, 0,0003 por quilo ou seja três vezes a dose mínima mortal. Em todos os casos os animais suportaram bem a ricina, tendo sobrevivido.

#### **Observação número 92.**

Cão pesando 5 quilos. Injeção intra-muscular de uma solução contendo ricina na dose de 0,001 por quilo, portanto igual a dez vezes a dose mínima mortal. Algum tempo após injetamos neste cão 5 cc. de sôro também por via muscular. No dia seguinte encontramos o animal vivo, um tanto abatido e com forte reação no sitio onde lhe havia sido injetada a ricina. Fizemos-lhe então mais 5 cc. de sôro por via muscular. Um dia após o animal apresentou-se bem, alimentando-se. Sobreviveu.

### Observação número 93.

Cão (testemunho) de 5 quilos. Neste animal fizemos a injeção da mesma dose de ricina da observação anterior (0,001 por quilo), mas não lhe aplicamos o sôro em seguida. Vinte e quatro horas após, encontramos-lo agonizante. Não reagia mais às excitações, ritmo respiratório irregular, batimentos cardíacos fraquíssimos, convulsivo, pupilas levemente dilatadas e reflexo palpebral presente. Tentamos ainda salvar o animal administrando-lhe grandes quantidades de sôro. Assim, fizemos 10 cc. por via muscular, outro tanto por via venosa e ainda 5 cc. por via peritoneal. A-pesar-de injeções tonicárdiacas e diuréticas que também lhe fizemos o animal sucumbiu mesmo durante os socorros. A autopsia confirmou a "causa-mortis".

### Observação número 94.

Cão pesando 8 quilos. Neste injetamos por via venosa 0,0008 por quilo de ricina e em seguida uma ampola com 5 cc. de sôro em injeção intra-muscular. A ricina administrada em tão alta dose (quasi dez vezes a dose mínima mortal) e diretamente na corrente circulatória, não foi desta vez anulada pela quantidade de sôro introduzida pela via muscular. O animal sucumbiu em menos de 24 horas, talvez em muito menos até, já que não podemos saber exatamente pois, tendo sido injetado pela manhã, só no dia seguinte é que fomos vê-lo. O aspêto do cadáver revelava que a morte se havia dado já há várias horas. A autopsia mostra-nos os mesmos sinais para o lado das mucosas, dos intestinos, da bexiga, etc.

### Observação número 95.

Cão de 10 quilos. Também desta vez aplicamos a ricina por via venosa, em dose menor — 0,0005 por quilo — e após administramos 5 cc. do sôro por via muscular. O sôro foi de novo impotente para anular a ação tóxica do veneno introduzido diretamente na corrente sanguínea. De fato, no dia seguinte,

encontramo-lo morto. Sinais necropsicos característicos da intoxicação pela ricina.

#### Observação número 96.

Cão de 6 quilos. A ricina foi injetada por via peritoneal na dose de 0,0005 por quilo de peso corporal. O sôro anti-tóxico foi aplicado na quantidade de 5 cc. por via muscular. Agora vimos o sôro proteger o animal contra a ricina, pois que êste embora mostrando-se abatido nos dias seguintes, resistiu a dose bem elevada do veneno, sobrevivendo. Foram-lhe feitas mais duas ampolas de 5 cc. de sôro.

#### Observação número 97.

Cão de 8 quilos. Mais uma vez experimentamos a via peritoneal para administração da ricina, desta vez numa dose mais elevada — 0,0008 por quilo de animal —, usando também uma quantidade maior de sôro por via muscular — 10 cc. — Ainda aquí obtivemos bons resultados, pois o cão — auxiliado nos dias seguintes por mais algumas ampolas de sôro — suportou ao envenenamento, tendo sobrevivido.

De tudo isto podemos concluir que é perfeitamente possível conseguir-se, até com relativa facilidade, um sôro que proteja contra as intoxicações por esta terrível toxalbumina. Vimos que a administração prévia do sôro do cavalo imunizado, protege os animais contra doses fortes de ricina. Vimos ainda que mesmo depois da aplicação do veneno, o sôro tem propriedades capazes de curar o animal, desde que — como demonstramos através de nossas observações — a intoxicação não se tenha instalado de uma maneira absoluta. De fáto, o sôro é capaz de curar quando introduzido no organismo durante o período inicial do envenenamento, vamos dizer logo após ao aparecimento dos primeiros sintomas. Isto verificamos experimentalmente e portanto é só o que podemos afirmar. Entretanto nos é lícito admitir que o sôro seja também útil nos casos de intoxicação adiantada, em que o organismo doen-



te se encontre num ambiente onde seja possível rodeá-lo de certos cuidados especiais, tratamento sintomático, emfim meios que façam prolongar a vida, de maneira que as antitoxinas administradas tenham tempo de desempenhar o seu papel.

Como frizamos diversas vezes no decorrer dêste trabalho, tudo o que realizamos, foi empregando processos rusticos. Eram os que dispunhamos.

Que nosso esforço sirva mais tarde como nota preliminar a um trabalho perfeito e proveitoso de algum outro, e já o consideramos bem recompensado.

## CONCLUSÕES

1. A ricina é uma toxalbumina encontrada nas sementes do "Ricinus Communis" (mamona), juntamente com o óleo de ricino que não contém êste princípio. Apresenta-se sob a forma de um pó quasi branco, ligeiramente amarelado, amorfo.
2. A ricinina, alcaloide descoberto por Tuson em 1864 contido igualmente nas sementes da mamona, não deve em absoluto ser confundido com a ricina.
3. A ricina foi por nós extraída partindo da torta da mamona, segundo a técnica de Kobert.
4. Esta extração foi difficil nas etapas que requereram a diálise das soluções devido a facilidade com que estas se putrefaziam à temperatura do laboratório (verão). Removemos esta difficuldade dialisando as soluções à temperatura de 2 a 3 graus numa câmara frigorífica.
5. Não consideramos nossa amostra de ricina puríssima. Seus efeitos entretanto concordam com os observados pela maioria dos autores.
6. A dose mínima mortal da nossa preparação de ricina foi de 0,0001 por quilo (um décimo de milígramo) para cães, coelhos e cobaios.
7. A ricina aglutina os globulos sanguíneos e tem uma ação irritante sôbre as mucosas e sôbre as conjuntivas.
8. A ricina não altera a excitabilidade das extremidades nervosas.
9. Ela não tem influência imediata direta sôbre a pressão sanguínea ou sôbre a atividade cardíaca.

10. Em preparações de miocárdio de cães mortos por intoxicação ricínica, não encontramos a degenerescência das fibras ou o desaparecimento de sua estriação, como G. Cruz diz ter observado em corações de coelhos.
11. Em doses fortes, a ricina provoca anúria e traz lesões de certa gravidade para o lado do epitélio renal.
12. A ricina ataca fortemente a célula hepática, aparecendo nos cortes histo-patológicos de fígados de cães intoxicados pela ricina, muitas zonas de necrose.
13. A ricina age principalmente sobre o intestino provocando uma grave enterite; hiperemia com flogose peri-vascular e necrose da mucosa.
14. A ricina tem a propriedade de, quando administrada em doses crescentes sub-mortais, conferir ao organismo uma imunidade específica ao veneno.
15. O soro dos animais imunizados à ricina constitui o soro específico anti-ricínico.
16. O soro anti-ricínico é capaz de imunizar animais à ricina e pode ainda ser útil nos casos de intoxicação, neutralizando os efeitos desta toxalbumina.

## BIBLIOGRAFIA

- Carmichael (E. B.) — The influence of chemical and other agents upon the toxicity and antigenic power of ricin — *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, Vol. XXXV No. 3, March 1929.
- Carmichael (E. B.) e Posey (L. C.) — Studies on the permeability of the guinea-pig placenta to the foreign protein ricin. — *The American Journal of Physiology*, Vol. 126, No. 3, pp. 458-459, July 1939.
- Carmichael (E. B.) — Detoxification of and the immunity production to ricin by sodium ricinoleate. — *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 1916, XXIV, pp. 5-7.
- Carmichael (E. B.) e Posey (L. C.) — Observations on impermeability of guinea-pig placenta to the foreign protein ricin, a phytotoxin. — *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 1939, 40, 656-657.
- Warden e Waddell — Calcutta, Bengal Secretarial Press, 1884.
- Vines (S. H.) — *Proc. of the Royal Soc.* 1879-1880, XXX, 387.
- Stillmarck (H.) — *Chem. Centr.* 1889.
- Stepanoff (A.) — *Ann. Inst. Pasteur* 1896.
- Rittenhausen (H.) — *Plüger's Arch. f. Physiol.* 1878-1879.
- Reid (G.) — *Chem. Abstracts* 1914.
- Osborne (T. B.), Mendel (L. B.) e Harris (I. F.) — *Amer. Jour. Physiol.* 1905, XIV, 259.
- Oppenheimer (C.) — *Toxins and Antitoxins* 1904.
- Olmer (D.) and Savan (A.) — *C. Rendu Soc. Biol.* 1909.
- Muller (F.) — *Arch. f. Expt. Path. u. Pharm.* 1899.
- Michaelis und Steindorff — *Biochem. Ztschr.* 1906.
- Mathews (A. P.) — *Amer. Jour. Physiol.* 1898.
- Liebermann (I. V.) — *Arch. Hyg.* 1907.
- Karrer e Smirnoff — *Z. f. Physiol. Chem.* 1924.
- Jacoby (M.) — *Arch. f. exper. Path. u. Pharm.* 1901.
- Gunn (J. A.) — *Proc. Physiol. Soc., Jour. Physiol.* 1921.
- Fraenkel (A.) — *Beitr. Chem. Physiol. Pat.* 1903.
- Flexner (S.) — *Jour. Exper. Med.* 1897.
- Field (C.) — *Jour. Exper. Med.* 1910.
- Dreyer e Hanssen — *Compt. Rend. Paris* 1907.
- Dixon (T.) — *Australian Med. Gazette*, 1887.
- Cushny (A. R.) — *Arch. f. Exper. Path. u. Pharm.*, 1898.
- Brieger (L.) — *Chem. Centr.* 1904.
- Clark (A. J.) — *Farmacologia Aplicada* (Trad. esp. da 3.<sup>a</sup> ed. inglesa por Mendez e Ochos). Barcelona, 1930.
- Dautrebande (L.), Phillipot (E.), Nogarède (F.) e Charlier (R.) — *Travaux pratiques e demonstrations pharmacodynamiques.* — Paris, 1938.
- Edmunds (C. W.) e Gunn (J. A.) — *Cushny's text-book of Pharmacology and Therapeutics.* — Londres, 1936.

- Gaglio (Gsetano) — Trattato di Farmacologia e Terapia. — Milano, 1926.
- Marfori (Pio) — Tratado de Farmacologia y Terapeutica. — Barcelona, 1936.
- Meneghetti (Egido) — Elementi di Farmacologia. — Padua, 1936.
- Pouchet (G.) — Leçons de Pharmacodynamie et de Matière Medicale. — Paris, 1900 a 1904.
- Pouchet (G.) — Précis de Pharmacologie et de Matière Medicale. — Paris, 1907.
- Poulsson (E.) — Farmacologia. — Barcelona, 1931.
- Soto (Mario) — Farmacologia y Terapeutica. — 1938.
- Sollmann (Torald) — A manual of Pharmacology. — 1937.
- Zunz (Edgard) — Elements de Pharmacodynamie Spéciale. — 1932.
- Leforte (M. G.) — Anafilaxia e idiosincrasias em farmacodinâmica. — 1939.
- Carrau (A.) e Mourigan (H.) — Las Intoxicaciones por tártago. — Arch. Urug. d. Med. Ciru. y Espec. — Julho 1936, IX, pp. 32.
- Dutra (L. H.) — Envenenamento e morte pela ricina. — Medic. Ciru. e Farm., 48, p. 115. Março 1940.
- Sirangelo (P.) — Intoxicação pela ricina — Arch. Riogrand. Med., p. 19, Janeiro 1940.
- Larousse Ill., vol. XII, p. 1195.
- Wattiez (N.) e Sternon (F.) — Elements de Chémie Végétale.
- Shukichi Inoue — Para extração da ricina. — Chem. Zentral, 1938, 7, p. 1587.
- Jackson — Experimental Pharmacology and Materia Medica.
- Richaud — Précis de Therapeutique et de Pharmacologie.
- Anais Merck — 1939.
- Arnaud (F.) Therapeutique pharmacologique et matière medicale.
- Ullmann — Enciclopedia de quimica industrial.
- Vibert — Toxicologie.
- Chapuis — Précis de Toxicologie.