

## EXPERIMENTOS COM *Cestrum laevigatum* Schlecht. EM ANIMAIS DE LABORATÓRIO<sup>1</sup>

GLENIO CAVALCANTI DE BARROS<sup>2</sup> e JURGEN DÖBEREINER<sup>3</sup>

### Sinopse

Foram realizados experimentos em camundongos, ratos, cobaias e coelhos, com brotos verdes frescos ou secados de *Cestrum laevigatum* Schlecht., administrados através de sonda gástrica sob forma integral, suco ou extrato aquoso, ou colocado à disposição dos animais. Somente o coelho mostrou sintomas de intoxicação, morrendo dois animais que receberam um extrato aquoso de brotos secados a 11% na proporção de 14 g/kg do peso do animal, correspondentes a aproximadamente 70 g/kg de brotos verdes frescos.

Os exames histopatológicos de órgãos destes animais revelaram distrofia hepática centrolobular.

### INTRODUÇÃO

A intoxicação pela "coerana" (*Cestrum laevigatum* Schlecht.), causa prejuízos consideráveis a criadores de bovinos no Estado do Rio de Janeiro (Döbereiner *et al.* 1965).

Os primeiros experimentos que revelaram a toxicidade desta planta para bovinos foram realizados por Thorburn (1934) na África do Sul. Este autor relata ter administrado *Cestrum laevigatum* também a cavalos, suínos, coelhos, cobaias e aves, obtendo resultados "aparentemente negativos", sem contudo, mencionar pormenores destes experimentos.

Steyn (1934) administrou 30 g de brotos, flôres e frutos de *C. laevigatum* em estado fresco a um coelho, com resultado negativo.

Pacheco e Carneiro (1933) concluíram pela não toxidez da planta após administrarem por via oral 10 a 20 g de *C. laevigatum* por quilo de peso a coelhos.

Andrade *et al.* (1963) não observaram sintomas de intoxicação quando administraram a dois cobaias, por via intra-gástrica e sob forma de extrato aquoso, 4 e 7 g e a outros dois cobaias, por via intraperitoneal, 1 e 2 g da planta seca.

O fruto, fôlha e casca de *C. laevigatum* contém saponina e um princípio amargo, cestrumida (Greshoff 1913, Wehmer 1929). A presença de sa-

ponina nos frutos verdes foi confirmada por Canham (1950), que identificou as saponinas existentes, como sendo gitogenina e digitogenina.

Devido à importância de *C. laevigatum*, como planta tóxica para bovinos e os resultados negativos obtidos até agora em ensaios com animais de laboratório, realizamos experimentos em coelhos, cobaias, ratos e camundongos na tentativa de selecionar uma espécie animal sensível e adequada para facilitar os estudos sobre a toxidez de princípios ativos isolados da planta.

### MATERIAL E MÉTODOS

Para os experimentos com animais de laboratório, foram utilizados brotos de *Cestrum laevigatum*, coletados na área do Km 47 da antiga rodovia Rio-São Paulo, Município de Itaguaí, e na Fazenda Santo Antônio, Município de Vassouras, Estado do Rio de Janeiro.

Parte do material foi usado em estado verde e fresco, imediatamente após sua coleta; a outra parte foi secada em estufa à temperatura de 35 a 45° C durante dois ou três dias e posteriormente triturada em moinho "Thomas" e utilizada sob forma integral, suco e extrato aquoso. Os extratos aquosos foram preparados, deixando a suspensão de material vegetal em água em temperatura ambiente durante uma hora, filtrando e expremendo-a manualmente através de gaze dobrada.

O material vegetal foi colocado à disposição dos animais ou administrado através de sonda gástrica. Nos casos de morte, os animais foram necropsiados, coletando-se fragmentos de órgãos, que eram fixados em formol a 20% ou líquido de Zenker. Os órgãos foram incluídos em parafina e os cortes posteriormente corados pela hematoxilina-eosina ou he-

<sup>1</sup> Recebido para publicação em 1 de agosto de 1967.

Boletim Técnico n.º 53 do Instituto de Pesquisas e Experimentação Agropecuárias do Centro-Sul (IPEACS). Trabalho realizado na Seção de Anatomia Patológica do IPEACS, sob os auspícios do Conselho Nacional de Pesquisas.

<sup>2</sup> Formando da Escola Nacional de Veterinária, Universidade Rural do Brasil, Km 47, Campo Grande, GB. ZC-26.

<sup>3</sup> Veterinário da Seção de Anatomia Patológica do IPEACS, Km 47, Campo Grande, GB. ZC-26.

matoxilina fosfotúngstica de Mallory (Curr 1962). Para evidênciação da gordura usou-se Sudan III em cortes de congelação.

## RESULTADOS

### Experimentos em camundongos

Colocaram-se à disposição de cinco camundongos, como único alimento, brotos secados de *Cestrum laevigatum*, coletados em 20.5.66, misturados à ração balanceada de cobaios (40% de ração, 40% de planta e 20% de banha, esta com a finalidade de não permitir que o animal separasse a planta da ração), durante nove dias. O lote consumiu aproximadamente 37 g da planta (7,4 g por animal) sem que os animais apresentassem sintomas de intoxicação.

### Experimentos em ratos

Durante nove dias foram colocados à disposição de quatro ratos, como alimentação única, brotos secados de *C. laevigatum*, coletados em 14.3.66, misturados à ração balanceada de cobaios (37% de ração, 37% de planta e 26% de banha, esta com a finalidade de não permitir que o animal separasse a planta da ração). O lote consumiu um total de aproximadamente 180 g (45 g por animal), sem que os animais apresentassem sintomas de intoxicação.

### Experimentos em cobaios

Os experimentos realizados em dez cobaios estão resumidos no Quadro 1.

QUADRO 1. Experimentos com *Cestrum laevigatum* Schlecht. em cobaios

Cobaio	Brotos de <i>C. laevigatum</i>						Período	Resultados
	N.º	Pêso	Data de coleta da planta	Data de administração	Administração por via intra-gástrica			
				Estado	Quantidade	Forma		
1	520 g	5.5.66	No dia da coleta	Verde fresco	10 ml	Extr. aq. a 50%	Em uma administração	Ausência de sintomas
2	660 g	5.5.66	"	"	20 ml	"	"	"
3	580 g	10.5.66	"	"	10 ml	Extr. total	"	"
4	600 g	10.5.66	"	"	20 ml	"	"	"
5	550 g	23.8.66	"	"	40 ml	"	Em duas administrações dentro de 20 horas	"
6	650 g	23.8.66	"	"	40 ml	"	"	"
7	500 g	11.5.66	8 dias após a coleta	Secado	15 ml	Extr. aq. a 16%	Em uma administração	"
8	500 g	11.5.66	"	"	20 ml	"	"	"
9	500 g	27.8.66	3 dias após a coleta	"	50 ml	Extr. aq. a 11%	Em duas administrações dentro de 14 horas	"
10	640 g	27.8.66	"	"	60 ml	"	"	"

QUADRO 2. Experimentos com *Cestrum laevigatum* Schlecht. em coelhos

Coelho	Brotos de <i>C. laevigatum</i>						Período	Resultados
	N.º	Pêso	Data de coleta da planta	Data de administração	Administração por via intra-gástrica			
				Estado	Quantidade	Forma		
2	1.450 g	13.4.66	No dia da coleta	Verde fresco	150 ml	Extr. aq. a 32%	Em uma administração	Ausência de sintomas
3	1.500 g	26.4.66	"	"	250 ml	Extr. aq. a 40%	Em duas administrações dentro de 5 horas	"
2	1.500 g	3.5.66	"	"	32 g	Integral*	Em dois dias	"
2	1.450 g	3.5.66	"	"	36 g	"	"	"
4	1.500 g	8.5.66	"	"	150 ml	Extr. total	Em uma administração	"
1	1.500 g	14.3.66	8 dias após a coleta	Secado	240 ml	Extr. aq. a 4%	Em duas administrações dentro de 6 horas	"
1	1.500 g	"	"	"	"	"	Em duas administrações dentro de 4 horas	"
5	3.500 g	27.8.66	3 dias após a coleta	"	350 ml	Extr. aq. a 11%	Em duas administrações dentro de 14 horas	Apático e com anorexia durante os dois dias seguintes
4	1.500 g	16.5.66	"	"	150 ml	"	Em uma administração	Morte em 19 horas
3	3.000 g	14.10.66	"	"	300 ml	"	Em duas administrações dentro de 5 horas	Morte em 11 horas

\* A planta verde recentemente colhida, foi colocada como alimento único à disposição do animal que antes sofreu um jejum de 24 horas.

*Experimentos em coelhos*

Os experimentos realizados em cinco coelhos machos estão relacionados no Quadro 2. Sobre os dois coelhos que morreram, seguem dados mais detalhados abaixo.

*Coelho n.º 3*

Foram administrados por via intra-gástrica, ao coelho com 3.000 g de peso, em duas vezes dentro de 5 horas, 150 ml de extrato aquoso a 11% de brotos secados de *C. laevigatum*, obtido pela suspensão de 22 g do material vegetal em 200 ml de água. O animal foi encontrado morto 11 horas e meia após a administração da última dose, pelo estado do cadáver devendo ter ocorrido a sua morte pouco tempo antes.

*Achados de necrópsia.* O fígado se apresentava acinzentado com pequenas áreas alternadas de cor vermelha escura. No estômago havia bastante alimento.

*Exame histopatológico* (Foram examinados fígado, rim e baço, registrados na Seção de Anatomia Patológica sob os n.º 17.529-30). No fígado observam-se necrose e necrobiose das células hepáticas centrolobulares e congestão moderada, bem como vacuolização no citoplasma do parênquima na periferia do lóbulo. Em cortes corados pelo Sudan III vê-se grande número de gotículas de gordura de tamanho variado no citoplasma da maioria das células hepáticas da periferia do lóbulo, estando estas gotículas distribuídas, sobretudo, na periferia do citoplasma dessas células. Somente poucas células hepáticas nas proximidades do espaço porta são poupadas pela esteatose. (Fig. 1 e 2)

*Coelho n.º 4*

Foram administrados por via intra-gástrica, a um coelho com 1.500 g de peso, 150 ml de extrato aquoso a 11% de brotos secados de *C. laevigatum* coletados três dias antes. O extrato foi obtido pela sus-

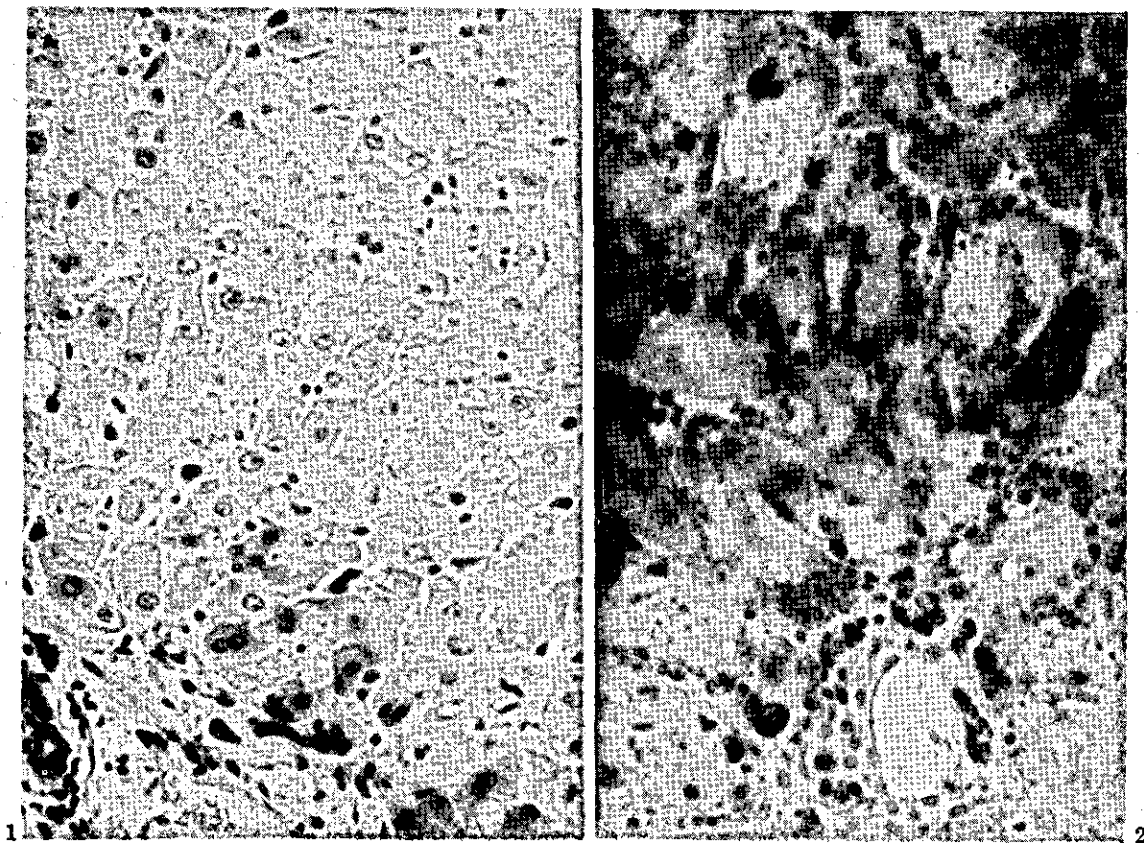


FIG. 1. Necrose e necrobiose com vacuolização do parênquima hepático na intoxicação experimental de coelho por *Cestrum laevigatum* (SAP. 17.530). H.-E. Obj. 25.

FIG. 2. Grande número de gotículas de gordura, em grande parte de distribuição periférica, no citoplasma de células hepáticas periportais na intoxicação experimental de coelho por *C. laevigatum* (SAP 17.530). Sudan III. Obj. 25.

pensão de 22 g do material vegetal em 200 ml de água. Dezenove horas após a administração do extrato, o animal amanheceu em decúbito lateral direito, tentando levantar-se sem entretanto conseguí-lo. Meia hora mais tarde continuava nesta posição, apresentando opistótono, convulsões tetânicas, interrompidas por movimentos de pedalagem, movimentos forçados de respiração de midríase. Morreu 22 horas após o início do experimento.

**Achados de necrópsia.** O fígado apresentava-se de coloração acinzentada pálida. Rins vermelho escuros. Estômago e grande cólon cheios de alimentos, duodeno, jejuno, íleo e pequeno cólon com poucos alimentos e gases.

**Exames histopatológicos** (Foram examinados fígado, rins, encéfalo, pulmão, baço, coração, supra-renal, mucosa estomacal, SAP 17.188-89). No fígado observam-se necrose e necrobiose das células hepáticas centrolobulares, poupando apenas uma zona relativamente pequena da periferia do lóbulo. A maioria das células necróticas apresentam vestígios de núcleos, com membrana nuclear pouco nítida, irregular, com fragmentação e lise da cromatina. O citoplasma das células hepáticas alteradas apresentam tamanho reduzido e eosinofilia acentuada. Em alguns pontos observa-se granulação acentuada no citoplasma das células hepáticas na periferia do parênquima necrótico e presença de poucos vacúolos. Verificam-se hiper cromasia da membrana nuclear. No rim há congestão glomerular moderada e no baço hemossiderose. Os demais órgãos examinados não apresentavam alterações.

## DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Os coelhos mostraram-se relativamente pouco sensíveis à intoxicação por *Cestrum laevigatum*, suportando doses voluntariamente ingeridas, de 21 a 25 g de brotos verdes por quilo de peso do animal. Somente a administração de extrato aquoso a 11% obtido de brotos secados na proporção de 14 g/kg de peso do animal, correspondentes a aproximadamente 70 g/kg de brotos verdes frescos, causou a morte de dois coelhos em menos de 24 horas.

Os nossos experimentos realizados com *C. laevigatum* em camundongos, ratos e cobaios resultaram negativos. O cobaio suportou doses dez vezes maiores que a letal para o coelho. Os camundongos consumiram doses equivalentes às que causavam a morte de coelhos. Os ratos somente ingeriram doses bem menores do que as que intoxicavam coelhos.

Os resultados negativos obtidos nos experimentos com coelhos, realizados por outros autores (Steyn

1934, Pacheco & Carneiro 1933, Andrade *et al.* 1963), se explicam pelo fato de que estes autores administraram quantidades menores do material vegetal que usamos em nossos ensaios.

Döbereiner *et al.* (1965) relataram que 10,5-24,4 e 25,0-50,0 g de brotos verdes frescos de *C. laevigatum* por kg de peso do animal, administrados em um ou dois dias seguidos, causaram a morte em 22% e 80% respectivamente dos bovinos em experimentação.

As alterações histopatológicas nos dois coelhos mortos de intoxicação por *C. laevigatum* se assemelham às relatadas na intoxicação de bovinos (Döbereiner *et al.* 1965, Tokarnia 1965), caracterizando-se por necrose e necrobiose centrolobulares do parênquima hepático e por vacuolização do citoplasma das células hepáticas da periferia do lóbulo. Os vacúolos revelaram-se, na sua grande maioria, Sudan III positivos e distribuem-se principalmente na periferia do citoplasma das células hepáticas.

Diante dos resultados obtidos em nossos experimentos, acreditamos que o coelho poderá servir como animal de experimentação para a verificação do(s) princípio(s) tóxico(s) entre as substâncias isoladas desta planta.

## REFERÊNCIAS

- Andrade, S.O., Camargo, W.V. de A. & Fernandes, N. 1963. Investigações sobre plantas tóxicas no Estado de São Paulo. Arq. Inst. Biológico, São Paulo, 30:189-203.
- Canham, P. A. S. *et al.* 1950. J. S. Afr. Chem. Inst. 3(9):63. (Citado por Watt & Breyer-Brandwijk 1962)
- Döbereiner, J., Tokarnia, C.H. & Canella, C.F.C. 1965. Intoxicação por *Cestrum laevigatum* Schlecht. no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. An. IX Congr. Intern. Pastagens, São Paulo, p. 1259-1263.
- Greshoff, M. 1913. Buitenzorg Med. Dep. Landb. 17 Kolff. Batavia. (Citado por Watt & Breyer-Brandwijk 1962)
- Gurr, E. 1962. Staining, practical and theoretical. Williams and Wilkins Co., Baltimore.
- Pacheco, G. & Carneiro, V. 1933. Estudos experimentais sobre plantas tóxicas. III. Ensaio com 32 novas espécies. Rev. Soc. Paulista Med. Vet. 3 (3-4):49-58.
- Steyn, D.G. 1934. Recent investigations into the toxicity of known and unknown poisonous plants in the Union of South Africa. Onderstepoort J. vet. Sci. Anim. Ind. 3:125-130.
- Thorburn, G.A. 1934. Chase Valley disease. *Cestrum laevigatum* Schlecht., its toxic effects on ruminants. Onderstepoort J. vet. Sci. Anim. Ind. 2:667-679.
- Tokarnia, C.H. 1965. Alterações anatômico e histopatológicas da intoxicação de bovinos por *Cestrum laevigatum* Schlecht. Tese, Fac. Agr. Vet., Univ. Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- Watt, J.M. & Breyer-Brandwijk, M.G. 1962. The medicinal and poisonous plants of southern and eastern Africa. 2nd ed. E. & S. Livingstone, Edinburgh and London.
- Wehmer, C. 1929. Die Pflanzenstoffe. 2. Aufl. Suppl. 1935. Fischer, Jena. (Citado por Watt & Breyer-Brandwijk 1962)

EXPERIMENTS WITH *Cestrum laevigatum* Schlecht. IN LABORATORY ANIMALS*Abstract*

Experiments were made in mice, rats, guinea-pigs, and rabbits with buds and young leaves of *Cestrum laevigatum*. The fresh green or dried plant material was given to the animals in the ration or by a stomach tube, in powder form, as juice or as water extract.

Only the rabbit showed symptoms of poisoning and two animals died after having received a 11% water extract of the dried plant in the proportion of 14 g/kg of animal weight, which corresponds to about 70 g/kg of fresh green plant material. Guinea-pigs tolerated doses ten times as high as the lethal dose for rabbits. Mice consumed unharmed doses which were fatal to rabbits.

Histopathological examination of organs of the poisoned rabbits revealed centrilobular liver dystrophy.