

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA EM  
RUMINANTES E EQÜÍDEOS  
CAMPUS DE PATOS**

**MODELO EXPERIMENTAL DA INTOXICAÇÃO COM SEMENTES E  
FOLHAS DE *Mimosa tenuiflora* EM ANIMAIS DE LABORATÓRIO**

**TALÍCIA MARIA ALVES BENÍCIO**

**PATOS, PB  
2008**



Universidade Federal  
de Campina Grande

**CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA DE  
RUMINANTES E EQÜÍNOS  
CAMPUS DE PATOS**

**MODELO EXPERIMENTAL DA INTOXICAÇÃO COM SEMENTES E  
FOLHAS DE *Mimosa tenuiflora* EM ANIMAIS DE LABORATÓRIO**

Dissertação apresentada a Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, em cumprimento dos requisitos necessários para obtenção do grau de Mestre em Medicina Veterinária em Ruminantes e Eqüídeos

AUTORA: Talícia Maria Alves Benício

ORIENTADORA: Rosane Maria Trindade de Medeiros

**PATOS, PB  
2008**

FICHA CATALOGADA NA BIBLIOTECA SETORIAL DO  
CAMPUS DE PATOS - UFCG

B467m

2008

Benício, Talícia Maria Alves.

Modelo experimental da intoxicação com sementes e folhas de  
*Mimosa tenuiflora* em animais de laboratório / Talícia Maria Alves  
Benício. - Patos - PB: CSTR, UFCG, 2008.

46p. + anexos.

Dissertação (Pós – Graduação em Medicina Veterinária – Ruminantes  
e Eqüídeos) - Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal  
de Campina Grande.

1 - Toxicologia Veterinária. 2 – Intoxicação por Jurema Preta. 3 –  
Animais de laboratório - I – Título.

CDU: 615.9:619 (043.3)

**TALÍCIA MARIA ALVES BENÍCIO**

**MODELO EXPERIMENTAL DA INTOXICAÇÃO COM SEMENTES E  
FOLHAS DE *Mimosa tenuiflora* EM ANIMAIS DE LABORATÓRIO**

Dissertação apresentada a Universidade  
Federal de Campina Grande – UFCG, em  
cumprimento dos requisitos necessários  
para obtenção do grau de Mestre em  
Medicina Veterinária em Ruminantes e  
Eqüídeos

**BANCA EXAMINADORA**

Prof. Dr. Carlos Enrique Peña Alfaro

Prof. Dr. Fernando Dutra Quintela,

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Rosane Maria Trindade de Medeiros

*“Deus fala, ora de um modo,  
ora de outro, mas as pessoas não prestam atenção”*  
(Jó 33, 14)

## **DEDICATÓRIA**

**A todos aqueles que acreditaram em mim, dedico.**

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, que derrama todo o amor e luz sobre mim!

Aos meus pais que são exemplos de força e superação e que estiveram sempre me incentivando e que acima de tudo, acreditaram nesta vitória.

Aos meus amados irmãos Wlisses e Maylle, pelas alegrias, pela compreensão, paciência e companheirismo ilimitado.

À minha orientadora, a Professora Rosane Trindade, por todo o conhecimento acadêmico e de vida que me foram transmitidos. Pela compreensão infundável, pela amizade sincera, por compartilhar de minhas dificuldades com tanta atenção e carinho.

Ao Professor Franklin Riet-Correa por dedicar seu tempo e conhecimento à realização deste trabalho, prestando sempre todo o apoio necessário.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária de Ruminantes e Eqüinos, pelo saber compartilhado e pelo incentivo sincero.

A todos os colegas do mestrado, que juntos superamos dificuldades e também juntos celebramos vitórias.

A toda a equipe do Laboratório de Patologia Animal, que me receberam com tanta generosidade e paciência em seu ambiente de trabalho.

Aos meus queridos e inseparáveis amigos Zé Allan, Júlia, Carlos Magno, Charles, Mona Lisa, Naiana, Tales e João Vinícius, por todo o amor que vocês me têm e por permanecerem comigo nas horas mais difíceis trazendo sempre boas energias.

Às minhas amigas-irmãs Anna Priscilla e Francélícia, que muito mais que companheiras, se mostraram verdadeiras irmãs, encarando comigo todos os desafios e sempre me trazendo esperança e bom-humor em meio às dificuldades.

Aos professores e amigos preciosos, Almir, Rosângela, Sônia e Melânia, elo carinho a mim dedicado.

A Norma, que como Professora me ensinou a mais bela e irrefutável de todas as lições, a lição do Amor, sendo instrumento de Deus em minha vida.

A todos professores, funcionários e colegas do CSTR.

À CAPES pela concessão da bolsa e por todo apoio prestado.

A todos e a tudo que de uma forma ou de outra contribuíram para a realização deste trabalho e para meu crescimento pessoal e profissional.

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	7
<b>LISTA DE QUADROS</b> .....	8
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	9
<b>2. Capítulo I – REVISÃO DE LITERATURA: plantas tóxicas que afetam o desenvolvimento embriológico e fetal de animais de produção</b> .....	10
2.1 Referências Bibliográficas.....	17
<b>3. Capítulo II – TERATOGENICIDADE DAS SEMENTES DE <i>Mimosa tenuiflora</i> EM RATAS PRENHES</b> .....	21
3.1 Abstract .....	22
3.2 Resumo .....	22
3.3 Agradecimentos .....	29
3.4 Referências bibliográficas .....	29
<b>4. Capítulo III – TERATOGENICIDADE DAS FOLHAS DE <i>Mimosa tenuiflora</i> EM RATAS PRENHES</b> .....	31
4.1 Abstract .....	32
4.2 Resumo .....	33
4.3 Introdução .....	33
4.4 Material e Métodos .....	35
4.5 Resultados .....	37
4.6 Discussão e Conclusões .....	41
4.7 Referências bibliográficas .....	43
<b>5. CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	45
<b>ANEXOS</b> .....	46

## LISTA DE TABELAS

### **Capítulo I – REVISÃO DE LITERATURA: plantas tóxicas que afetam o desenvolvimento embriológico e fetal de animais de produção**

<b>Tabela 1</b> - Período aproximado da gestação em que os teratógenos produzem defeitos em cinco espécies animais .....	12
--	----

### **Capítulo II – TERATOGENICIDADE DAS SEMENTES DE *Mimosa tenuiflora* EM RATAS PRENHES**

<b>Tabela 1</b> - Consumo de ração e de água e ganho de peso (média $\pm$ DP), do 6º ao 21º dia de gestação das ratas do grupo controle e do grupo que ingeriu sementes de <i>Mimosa tenuiflora</i> .....	25
---	----

<b>Tabela 2</b> - Pesos (média $\pm$ DP) dos pulmões, coração, fígado e rins das ratas do grupo controle e do grupo que ingeriu sementes de <i>Mimosa tenuiflora</i> .....	25
--	----

<b>Tabela 3</b> - Performance reprodutiva (média $\pm$ DP) de ratas do grupo controle e do grupo que ingeriu sementes de <i>Mimosa tenuiflora</i> .....	26
---	----

<b>Tabela 4</b> - Número e percentagem de malformações esqueléticas em 58 fetos de ratas do grupo controle e 101 fetos de ratas do grupo que ingeriu sementes de <i>Mimosa tenuiflora</i> .....	27
---	----

<b>Tabela 5</b> - Número de centros de ossificação (média $\pm$ DP) de ratas do grupo controle e do grupo que ingeriu sementes de <i>Mimosa tenuiflora</i> .....	28
--	----



## LISTA DE QUADROS

### Capítulo III – TERATOGENICIDADE DAS FOLHAS DE *Mimosa*

#### *tenuiflora* EM RATAS PRENHES

<b>Quadro 1</b> - Consumo de ração e de água e ganho de peso (média $\pm$ DP), do 6° ao 21° dia de gestação das ratas do grupo controle e do grupo que ingeriu folhas de <i>Mimosa tenuiflora</i> .....	38
<b>Quadro 2</b> - Pesos (média $\pm$ DP) dos pulmões, coração, fígado e rins das ratas do grupo controle e do grupo que ingeriu folhas de <i>Mimosa tenuiflora</i> .....	38
<b>Quadro 3</b> - Performance reprodutiva (média $\pm$ DP) de ratas do grupo controle e do grupo que ingeriu folhas de <i>Mimosa tenuiflora</i> .....	39
<b>Quadro 4</b> - Número de centros de ossificação (média $\pm$ DP) em filhotes do grupo controle e do grupo que ingeriu folhas de <i>Mimosa tenuiflora</i> .....	40
<b>Quadro 5</b> - Número e percentagem de malformações esqueléticas em fetos do grupo controle e em fetos do grupo cujas mães ingeriram folhas de <i>Mimosa tenuiflora</i> .....	40

## INTRODUÇÃO

Em muitos países o nascimento de animais de pastoreio com malformações ósseas e de outros tecidos está associado ao consumo de plantas como *Conium maculatum*, *Lupinus* spp., *Nicotiana tabacum*, *Veratrum californicum*, *Astragalus* spp. e *Oxytropis* spp.

No semi-árido do Nordeste brasileiro têm sido relatados diversos casos de malformações em caprinos e ovinos, o que provoca perdas econômicas significativas para os produtores da região. Desta maneira, o estudo das plantas existentes na região e do hábito alimentar dos animais é imprescindível para se determinar a causa principal de tais malformações. Diante da devastação da caatinga, algumas plantas se tornam predominantes e esse desequilíbrio afeta a quantidade e a qualidade das forrageiras disponíveis aos animais criados em sistema extensivo. Dentre essas plantas, a jurema preta (*Mimosa tenuiflora*) é conhecida por ser abundante, palatável e resistente às secas, o que se traduz numa fonte acessível de alimento para os animais. No entanto, tem se verificado casos de malformações em caprinos e ovinos, cujas fêmeas ingeriram a planta durante o período gestacional. Nesse sentido, estudos científicos foram realizados com o objetivo de confirmar a teratogenicidade da planta para essas espécies animais. Uma vez confirmada tais características teratogênicas da planta, novos trabalhos buscam identificar o período de gestação em que as fêmeas são susceptíveis aos efeitos tóxicos da mesma, o princípio ativo e seu mecanismo de ação, de maneira a se buscar alternativas de manejo dos animais de forma a reduzir as perdas provocadas pela ingestão inadequada da planta.

Objetivou-se com esta pesquisa desenvolver um modelo experimental com ratos para determinar os efeitos teratogênicos das sementes e folhas de *Mimosa tenuiflora*, o que permitirá um avanço na identificação dos princípios tóxicos da planta e seus mecanismos de ação.

## **CAPÍTULO I**

**Revisão de literatura: plantas tóxicas que afetam o desenvolvimento embriológico e fetal de animais de produção**

### **Revisão de literatura: plantas tóxicas que afetam o desenvolvimento embriológico e fetal de animais de produção**

O termo teratologia é derivado do grego *teras*, que significa monstros. Em termos comuns, teratologia é o estudo de malformações congênitas. Teratógenos são agentes que induzem anormalidades fetais. O estudo do efeito das plantas teratogênicas em animais de produção é limitado, principalmente pelo custo em conduzir pesquisas desse tipo em grandes animais (CHEEKE, 1998).

De acordo com Keeler (1984), os princípios da teratologia são os seguintes:

1 - O genótipo determina a susceptibilidade – Há variações entre as espécies para responder aos agentes teratogênicos. Por exemplo, o consumo de *Lupinus* spp. por vacas prenhes pode causar a síndrome conhecida por “doença do bezerro torto”, mas não se verifica efeitos de teratogênese em ovelhas.

2 - Uma substância pode alcançar o feto e produzir teratogênese ou produzir um metabólito que o faça - O teratógeno exerce seus efeitos no interior do tecido fetal.

3 - Deformidades são dose-dependentes - A incidência de malformações varia de acordo com a quantidade de teratógeno que alcança o embrião. Os níveis variam entre os que não chegam a causar malformação e os níveis tóxicos que provocam a morte fetal.

4 - Um teratógeno pode produzir primariamente a morte sem que cause malformações - Por exemplo, em animais de produção é possível que um problema com plantas teratogênicas se manifeste principalmente com uma alta incidência de aborto ou de reabsorção fetal.

5 - Os fetos sofrem efeitos do teratógeno se expostos durante o período de susceptibilidade na gestação - O feto é susceptível aos efeitos do teratógeno durante um crucial período específico em que o tecido particularmente afetado está em desenvolvimento. Por exemplo, os cordeiros ciclopes ocorrem apenas se as ovelhas consumirem *Veratrum californicum* no décimo quarto dia de prenhez.

6 - Os teratógenos exercem seus efeitos através de mecanismos específicos – Teratógenos diferentes podem induzir ao mesmo defeito metabólico provocando assim deformidades similares. Por exemplo, o alcalóide quinolizidínico (anagirina) em *Lupinus* spp. e o alcalóide piperidínico (coniina) em *Conium maculatum* provocam o mesmo tipo de efeito sedativo sobre o feto.

Os efeitos químicos de um teratogênio durante o início da organogênese é mais propício para a indução de malformações; durante o período de crescimento fetal, depois que os órgãos estão completamente formados, mudanças induzidas por substâncias exógenas são na maior parte dos casos tóxicos ao invés de teratogênicas (Tabela 1).

**Tabela 1** - Período aproximado da gestação em que os teratógenos produzem defeitos em cinco espécies animais

Tipo de defeito fetal	Dias da gestação em que são produzidos efeitos teratogênicos				
	Humanos	Hamsters	Ovinos	Bovinos	Suínos
Microftalmia	16-17	6,5	12-13	16-18	10-11
Ciclopia	21-23	7	14	21	12
Exencefalia	26	7,5	16,5	26-27	15,5
Espinha bífida	28-29	8-8,5	18	29-31	17
Membros encurtados	36	9,5	29-31	42	20
Período total de gestação	267	16	147	283	115

Fonte: Cheeke (1998)

De acordo com Keeler (1984), as plantas envolvidas no processo de teratogênese podem ser agrupadas em três categorias: aquelas em que os teratógenos são conhecidos; plantas teratogênicas cujos teratógenos ainda não foram identificados; e plantas suspeitas de causarem teratogênese. Incluídas no primeiro grupo estão *Lupinus* spp., *Veratrum californicum* e *Conium maculatum*; no segundo grupo estão *Astragalus* spp., *Oxytropis* spp. e *Nicotiana* spp.; e no terceiro grupo se incluem *Datura* spp., *Prunus* spp. e *Sorghum* spp. A seguir estão descritas algumas destas plantas.

#### - *Lupinus* spp.

O Gênero *Lupinus* contém mais de 500 espécies classificadas, e se distribui pela América do Norte, América do Sul, Europa e África (WINK et al., 1995).

A intoxicação por esta planta causa uma síndrome conhecida por “doença do bezerro torto”, a qual só foi associada à ingestão da planta no fim dos anos 50. Tal síndrome caracteriza-se por malformações esqueléticas, incluindo artrogripose, escoliose, cifose, torcicolo e ocasionalmente fenda palatina (PANTER et al, 2007).

Quimicamente, dois agentes foram identificados como teratogênicos, sendo primariamente descoberto um alcalóide quinolizidínico, a anagirina (KEELER, 1976) e posteriormente o alcalóide piperidínico, amodendrina, o qual foi também confirmado como causa de teratogênese. A amodendrina é encontrada em menos espécies de *Lupinus*, mas é mais potente que a anagirina (KEELER; BALLS, 1978).

As pesquisas têm se voltado no sentido de determinar a resposta fetal à intoxicação, identificar as relações entre a planta e o animal que justifiquem quando e porque os animais pastam *Lupinus*. Panter (1983) verificou se havia alguma relação entre as malformações e a redução no movimento fetal. Usando ultra-sonografia num modelo experimental com cabras, observou que de fato havia uma redução no movimento fetal e que caso isto fosse suficientemente persistente até os estágios susceptíveis da gestação, poderia resultar em malformações esqueléticas (PANTER et al., 1990). Da mesma forma, a fenda palatina é induzida no período de fechamento do palato (um período de estreitamento) quando o feto não está apto a mover-se, prevenindo assim que a língua sofra algum dano devido a esse estreitamento do palato durante um período crítico da gestação (PANTER; KEELER, 1992). A indução de fenda palatina foi descrita entre os dias 30-41 de gestação em porcas (PANTER et al. 1985), 35- 41 em cabras (PANTER; KEELER, 1992) e 40-50 em vacas (PANTER et al. 1998).

Os estudos com ultra-sonografia demonstraram ainda, que o primeiro movimento fetal em caprinos normais é evidente aproximadamente no 35º dia de gestação, o que coincide com o fim do período embriogênico e o início do período fetal com a fusão do palato. Além disso, se observou ainda que os primeiros movimentos fetais são de extensão-flexão da cabeça e do pescoço. Teoricamente esse movimento é essencial para que a língua afaste-se do teto da boca e permita que haja a fusão normal do palato, programada para caprinos entre 38-40 dias de gestação. Experimentos para confirmar essa teoria foram realizados com uso de dois bloqueadores neuromusculares (succinil-colina e tubocurarina) através da infusão destes na vesícula amniótica no período primário da gestação.

*Lupinus* spp. pode ser controlada quimicamente e a intoxicação pode ser evitada através do manejo dos animais, retirando as vacas das áreas com a planta no período de risco da gestação.

**- *Conium maculatum***

*C. maculatum* foi introduzida nos Estados Unidos como planta ornamental e logo se difundiu. Esta planta é uma prolífica produtora de sementes, que se não forem controladas, podem vir a dominar pequenas áreas, como campos de alfafa, pastos e campinas. A planta e suas sementes são tóxicas e teratogênicas representando um risco para o rebanho criado a pasto (PANTER et al, 1994).

Os seus efeitos teratogênicos foram demonstrados em bovinos, suínos, caprinos e ovinos (KEELER, 1978; PANTER et al, 1988, 1990).

*C. maculatum* contém cinco alcalóides principais, sendo a coniina,  $\gamma$ -coniceína e N-metilconiina, conhecidos como teratógenos (KEELER et al, 1980). Coniina, obtida comercialmente e administrada a vacas prenhes induziu efeitos tóxicos e teratogênicos para esta espécie (KEELER et al., 1980). Cientificamente já foi comprovada a fetotoxicidade e teratogenicidade dos alcalóides puros,  $\gamma$ -coniceína e N-metilconiina, através da infusão dessas substâncias dentro da vesícula amniótica de cabras, desencadeando intoxicação no feto, com morte fetal em alguns casos. Em outros experimentos em que os alcalóides foram infundidos apenas entre os dias 35 e 41 de gestação se verificou severos defeitos esqueléticos e fenda palatina (PANTER; KEELER, 1992). Ainda nesses experimentos, as imagens através de ultra-sonografias, demonstraram uma redução no movimento do feto, sugerindo que níveis tóxicos de  $\gamma$ -coniceína e N-metilconiina aparentemente perduram de forma crescente na circulação fetal até o 50º dia de gestação, cerca de até 10 dias após a retirada da sonda. O que sugere que a ingestão desta planta em um único dia ou por alguns dias, pode expor o feto a dosagens suficientes, mesmo que já passado o período de maior susceptibilidade, pode desencadear defeitos ao nascimento.

**- *Nicotiana tabacum* e *Nicotiana glauca***

Entre os anos de 1967 e 1969 foram verificadas em proporções epidêmicas, nos estados de Kentucky e no Missouri, o nascimento de porcos com defeitos esqueléticos (MENGES et al., 1970). Foi determinado então, que tal condição se devia à ingestão de talos de tabaco por porcas prenhes, o que foi confirmado posteriormente através de experimentos em que se administrava os talos de *Nicotiana* spp. desde o dia da cobertura até o 53º dia de gestação (CROWE; SWERCZEK, 1974). As deformidades esqueléticas e fenda palatina ocorreram durante o período de ingestão entre os dias 22 e 53 de gestação. Segundo Keeler (1979), o período mais susceptível durante a gestação

de suínos, para o surgimento de defeitos como flexuras permanentes se dá entre os dias 43-53, enquanto que o envolvimento com os membros pélvicos ocorre caso a ingestão da planta se estenda até o dia 63, e especifica ainda mais o período para que ocorra a fenda palatina, restringindo-a entre os dias 30 e 40 de gestação. Esses dados são os mesmos observados para os defeitos induzidos pela ingestão de *C. maculatum* em suínos (PANTER, 1983).

Outros experimentos subseqüentes foram feitos com administração de folhas e também do sumo do talo da planta, onde se confirmou também os defeitos esqueléticos (PANTER et al, 1994). A nicotina foi discutida como a possível responsável pela teratogênese, no entanto Keeler (1984) demonstrou que a substância teratogênica responsável pelos defeitos esqueléticos era o alcalóide piperidínico anabasina, extraído em quantidades expressivas de *N. glauca* e também encontrada nos sumos do talo de *N. tabacum*.

Quando vacas, ovelhas e cabras prenhes ingerem *N. glauca* também podem ser observadas malformações esqueléticas e fenda palatina. De acordo com Panter e Keeler (1992) o período crítico para a indução da fenda palatina em cabras se dá entre o 35° e 41° dia de gestação e sugere que entre os dias 40 e 60 seja mais provável a susceptibilidade aos defeitos esqueléticos de contratura.

#### **- *Veratrum californicum***

A ingestão de *V. californicum* por ovelhas prenhes resulta em uma alta incidência de mortalidade embrionária e/ou severos defeitos congênitos (KEELER, 1990). A incidência de cordeiros afetados em campos onde as ovelhas pastam *V. californicum* chega a ser superior a 50%, representando assim grandes perdas. Essas perdas incluem morte do embrião e reabsorção quando a ingestão da planta se dá principalmente no dia 14 podendo se estender até o dia 21 de gestação (KEELER, 1990). Verificou-se também que quando a ingestão da planta se dá entre os dias 27 e 41 de gestação, a frequência de morte embrionária é reduzida, no entanto as perdas neonatais aumentam, sendo que especificamente entre os dias 27 e 33 ocorre em altos níveis casos de estenose traqueal provocando a morte dos cordeiros logo após o nascimento. Defeitos no metatarso, metacarpo e tíbia também se verificam com a ingestão de *V. californicum* nesse período. A ingestão da planta no dia 14 também pode ser responsabilizada pelo surgimento de animais com alterações cefálicas como ciclopia. Os animais apresentam também a maxila encurtada e protrusão da mandíbula.



A ciclopia tem dado origem aos casos popularmente conhecidos como “cordeiros com cara de macaco”. Alguns animais levemente afetados apresentam apenas o encurtamento da maxila (KEELER, 1977).

Os compostos químicos responsáveis por esses defeitos e pelas perdas embrionárias são do grupo dos alcalóides esteroidais, incluindo ciclopamina, cicloposina e jervina (KEELER, 1978).

Panter et al (1994) explicam os mecanismos de ação de *V. californicum*, explicitando que a planta interfere no desenvolvimento embrionário durante o estágio de tubo neural, causando deformações macroscópicas craniofaciais. Sugere-se que o alcalóide esteroidal interfere nas células do neuroepitélio embrionário secretoras de catecolaminas. Um segundo mecanismo relaciona-se ao metabolismo das cartilagens, que seria responsável pela estenose traqueal e encurtamento dos ossos metacarpo, metatarso e tibia, onde se verificou que a jervina compromete rapidamente o desenvolvimento dos precursores condrogênicos no desenvolvimento dos condrócitos.

#### **- *Astragalus* spp. e *Oxytropis* spp.**

Estas plantas que fazem parte do grupo conhecido por “locoweed” representam um dos mais destrutivos grupos de plantas tóxicas para animais de produção. Normalmente provocam distúrbios neurológicos e reprodutivos, neste caso podendo causar aborto, malformações, morte fetal, alteração no ciclo estral, diminuição nos níveis de concepção, redução da libido e da produção de esperma (PANTER; JAMES, 1984). Algumas espécies dos Gêneros *Astragalus* e *Oxytropis* fazem parte desse grupo de plantas. Estas afetam o sistema cardiovascular reduzindo os níveis cardíacos fetais em poucos dias e, subsequentemente, afetando o desenvolvimento placentário e o acúmulo de líquido, resultando em morte fetal ou aborto (PANTER et al, 1994). Podem-se verificar também lesões no feto como o aumento de tamanho do coração, da tireóide e do baço, além de interferência na formação óssea e baixo peso ao nascer daqueles animais que vêm a termo. As principais malformações relatadas são rotação lateral dos membros anteriores, contração de tendões, flexura anterior e hiper mobilidade de cartilagem e notável flexão do carpo (PANTER; JAMES, 1984). O mecanismo envolvido na causa dos defeitos congênitos ainda não foi esclarecido. Estudos têm revelado um nível de aborto de cerca de 60% e mais de 30% de filhotes malformados, devido à ingestão abundante desses tipos de planta, principalmente em anos de seca, em que as plantas têm se mostrado bastante palatáveis (PANTER et al., 1994).

O período de susceptibilidade durante a gestação é longo e as malformações, podem ocorrer experimental ou naturalmente em quase todo o período de gestação. Nessas espécies é encontrado o composto químico swainsonina, no entanto este não possui características teratogênicas.

#### - *Mimosa tenuiflora*

No semi-árido do Nordeste brasileiro, as malformações foram a segunda causa mais importante de morte perinatal em ovinos (23,34%) (NÓBREGA Jr. et al., 2005) e a quarta em caprinos (7,62%) (MEDEIROS et al., 2005). As principais lesões descritas nos casos espontâneos em ovinos foram artrogripose, fenda palatina primária e secundária, micrognatia, hipoplasia ou aplasia uni ou bilateral do osso incisivo, torcicolo, escoliose e hipoplasia da língua (NÓBREGA et al., 2004, 2005). Em caprinos nos casos espontâneos a lesão mais freqüente foi a artrogripose, também foram descritos aplasia do osso incisivo, estenose intestinal e micrognatia (MEDEIROS et al., 2005; RIET-CORREA et al., 2004). Em bovinos são descritos artrogripose, cegueira e atresia anal (RIET-CORREA et al., 2006).

O efeito teratogênico de *M. tenuiflora* foi comprovado em caprinos. Nos casos experimentais a administração de *M. tenuiflora* durante toda a gestação causou fenda palatina primária e secundária, ausência de orifício nasal, dermóide ocular, escoliose, opacidade da córnea, olho aumentado de volume e estenose do cólon (PIMENTEL et al., 2007). Medeiros et al (2008) reproduziram malformações (fenda palatina secundária, escoliose, concavidade dos ossos do crânio, hipoplasia do osso nasal e diminuição do número e do tamanho dos esternébrios) em 84% dos filhotes de ratas que consumiram sementes da planta durante o período de organogênese.

#### **Referências Bibliográficas**

CHEEKE, P.R. **Natural Toxicants in Feeds, Forages, and Poisonous plants**. 2. ed. Illinois: Interstate Publishers, 1998.

CROWE, M.W.; SWERCZEK, T.W. Congenital arthrogryposis in offspring of sows fed tobacco stalks (*Nicotiana tabacum*). **American Journal of Veterinary Research** v.35, p.1071-1073, 1987.

KEELER, R.F. Lupine alkaloids from teratogenic and nonteratogenic lupins. III. Identification of anagryne as the probable teratogen by feeding trials. **Journal of Toxicological and Environmental Health**, n.1, p.887-889, 1976

KEELER, R.F. Alkaloid Teratogens from *Lupinus*, *Conium*, *Veratrum* and Related Genera. In: **Australian Symposium on Poisonous Plants**, Utah, 1977.

KEELER, R.F. Cyclopamine and related steroidal alkaloid teratogens: their occurrence, structural relationship and biological effects. **Clinical Toxicology**, v.13, p.708, 1978.

KEELER, R.F. Reducing incidence of plant – caused congenital deformities in livestock by grazing management. **J. Frange Manage**, v.31, p.355-360, 1978.

KEELER, R.F. Congenital defects in calves from maternal ingestion of *Nicotiana glauca* of high anabasine content. **Clinical Toxicology**, v.15, p.417-426, 1979.

KEELER, R.F. Early embryonic death in lambs induced by *Veratrum californicum*. **Cornell Veterinarian**, v.80, p.203-207, 1990.

KEELER, R.F.; BALLS L.D. Teratogenic effects in cattle of *Conium maculatum* and *Conium* alkaloids and analogs. **Clinical Toxicology**, v.12, p.49-64, 1978.

KEELER, R.F.; BALLS, L.D.; SHUPE, J.L.; CROWE, M.W. Teratogenicity and toxicity of coniine in cows, ewes and mares. **Cornell Veterinarian**, v.70, p.19-26, 1980.

KEELER, R.F.; CROWE, M.W.; LAMBERT, E.A. Teratogenicity in swine of the tobacco alkaloid anabasine isolated from *Nicotiana glauca*. **Teratology** v.30, p.61-69, 1984.

MEDEIROS J.; NÓBREGA J.; SIMÕES S.V.; TABOSA I.M.; VASCONCELOS J.S.; RIET-CORREA F. Mortalidade perinatal em caprinos no semi-árido da Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.25, n.4, p.201-206, 2005.

MEDEIROS, R. M. T.; FIGUEIREDO, A. P. M.; BENÍCIO, T.M.A.; DANTAS, F.P.M.; RIET-CORREA, F. Teratogenicity of *Mimosa tenuiflora* seeds to pregnant rats. **Toxicon**, v.51, p.316-319, 2008

MENGES, R.W.; SELBY, L.A.; MARIENFELD, C.J.; AUE, W.A.; GREER, K.L. A tobacco related epidemic of congenital limb deformities in swine. **Environmental Research**, v.3, p.285-302, 1970.

NÓBREGA Jr., J.E.; RIET-CORREA, F.; NÓBREGA, R.S.; MEDEIROS, J.M.; VASCONCELOS, J.S.; SIMÕES, S.V.D.; TABOSA, I.M. Mortalidade perinatal de ovinos no semi-árido da Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.25, p.171-178, 2005.

NÓBREGA R.S.; RIET-CORREA F.; NÓBREGA R.S.; CORREIA A.P.; NÓBREGA J.S.; ARAGÃO M.C.; MEDEIROS R.M.; TABOSA I.M. Malformações ósseas em ovinos na região semi-árida do Nordeste do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.24, p.45, 2004.

PANTER K.E.; GARDNER D.R.; SHEA R.E.; MOLYNEUX R.J.; JAMES L.F. Toxic and teratogenic piperidine alkaloids from *Lupinus*, *Conium* and *Nicotiana* species In: Garland T. & Barr A.C. (ed.). **Toxic Plants and Other Natural Toxicants**. New York, CAB International, p.345-350, 1998.

PANTER K.E.; JAMES L.F.; GARDNER D.R.; MOLYNEUX R.J. Effects of poisonous plants on embryonic and fetal development in livestock. In: Colegate S.M. & Dorling P.R. (ed.). **Plant Associated Toxins**. Wallingford, CAB International, p.325-332, 1994.

PANTER, K.E. Toxicity and Teratogenicity of *Conium maculatum* in Swine and Hamsters, PhD thesis, University of Illinois, USA, p.37-46, 1983.

PANTER, K.E.; JAMES, L.F. Effects of Locoweed on Reproduction in Livestock. In: Poisonous Plants Symposium, Brisbane, Australia, 1984.

PANTER, K.E.; KEELER, R.F. Induction of cleft palate in goats by *Nicotiana glauca* during a narrow gestational period and the relation to reduction in fetal movements. **Journal of Natural Toxins** v.1, p.25-32, 1992.

PANTER, K.E.; KEEKER, R.F.; BUCK, W.B. Induction of cleft palate in newborn pigs by maternal ingestion of poison-hemlock (*Conium maculatum*). **American Journal of Veterinary Research**, v.46, p.1368-1371, 1985.

PANTER, K.E.; BUNCH, T.D.; KEELER, R.F. Radio ultrasound observations of the fetotoxic effects in sheep from ingestion of *Conium maculatum* (poison-hemlock). **Clinical Toxicology**, v.26, p.175-187, 1988.

PANTER, K.E.; BUNCH, T.D.; JAMES, L.F.; SISSON, D.V. Ultrasonographic imaging to monitor fetal and placental developments in ewes fed locoweed (*Astragalus lentiginosus*). **American Journal of Veterinary Research**, v.48, p.686-690, 1987.

PANTER, K.E.; GUARDNER, D.R.; MOLYNEUX, R.J. Teratogenic and fetotoxic effects of two piperidine alkaloid-containing lupines (*L. formosus* and *L. arbustus*) in cows. **Journal of Natural Toxins**, v.7, p.131-140, 1998.

PANTER, K.E.; KEELER, R.F.; BUNCH, T.D.; CALAN R.J. Congenital skeletal malformations and cleft palate induced in goats by ingestion of *Lupinus*, *conium* and *Nicotiana* species. **Toxicon**, v.28, p.1377-1385, 1990.

PANTER, K.E.; JAMES, L.F.; WIERENGA, T.L.; GAY, C.C.; MOTTERAAM, E.S.; RALPHS, M.H.; STEGELMEIER, B.L. Research on Lupine – Induced ‘Crooked Calf Disease’ at the Poisonous Plant research Laboratory: Past, Present and Future. In: **International Symposium on Poisonous Plants: Poisonous Plants – global research and solutions**. Utah State University, 2007.

PANTER, K.E.; JAMES, L.F.; GARDNER, D.R.; MOLYNEUX, F.F. The effects of Poisonous plants on Embryonic and Fetal Development in Livestock. **Plant-associated Toxins: Agricultural, Phytochemical and Ecological aspects**. Ed: S.M. Colegate and P.R. Dorling, School of Vet. Studies, Murdoch University, Australia, 1994.

PIMENTEL, L.A.; RIET-CORREA, F.; GARDNER, D.; PANTER, K.E.; DANTAS, A.F.M.; MEDEIROS, R.M.T.; MOTA, R.A.; ARAÚJO, J.A.S. *Mimosa tenuiflora* as a cause of malformations in ruminants in the northeastern Brazilian semiarid rangelands. **Veterinary pathology**, v.44, p.928–931, 2007.

RIET-CORREA, F.; MEDEIROS, R.M.; NETO, S.A.; TABOSA, I.M.; PIMENTEL, L.A. Malformações ósseas em caprinos na região semi-árida do nordeste do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.24 (Supl), p.45–49, 2004.

RIET-CORREA, F.; MEDEIROS, R.M.T.; DANTAS, A.F.M. **Plantas Tóxicas da Paraíba**. Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Patos, PB, SEBRAE/PB, 58p., 2006.

WINK, M.; MEIBNER, C.; WITTE L. Patterns of quinolizidine alkaloids in 56 species of the genus *Lupinus*. **Phytochemistry**, v.38, p.139-153, 1995.

## **CAPÍTULO II**

### **Teratogenicidade das sementes de *Mimosa tenuiflora* em ratas prenhes**

Artigo publicado na Revista Toxicon 51 (2008) 316–319

## Teratogenicidade das sementes de *Mimosa tenuiflora* em ratas prenhes

R. M. T. Medeiros, A. P. M. de Figueiredo, T. M. A. Benício, F. P. M. Dantas, F. Riet-Correa

### Abstract

Bone and other malformations caused by the ingestion of *Mimosa tenuiflora* are common in ruminants in the Brazilian semiarid. The aim of this research was to study the teratogenic effects of *M. tenuiflora* in Wistar rats (*Rattus norvegicus*). The experimental group had 15 females and was fed, from the 6th to the 21st day of pregnancy, with a ration containing 10% of *M. tenuiflora* seeds. The control group, with 10 females, was fed with the same ration without seeds. There were no differences in weight gains, and food and water consumption between treated and control rats. Ninety bone malformations were observed in 40 of the 101 fetuses born in the experimental group, and four malformations were observed in three of the 58 fetuses born in the control group ( $p < 0.05$ ). The weight and number of ossification centers of the fetuses from the experimental group were higher than those from the control group ( $p < 0.05$ ). It is concluded that the seeds of *M. tenuiflora* are teratogenic to rat fetuses.

*Index terms:* Rats, Malformations, Teratogenic plants, *Mimosa tenuiflora*

### Resumo

Malformações ósseas entre outras causadas pela ingestão de *M. tenuiflora* são comuns em ruminantes no semi-árido brasileiro. O objetivo desta pesquisa foi estudar os efeitos teratogênicos de *M. tenuiflora* em ratos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*). No grupo experimental havia 15 fêmeas, as quais foram alimentadas, do sexto ao vigésimo primeiro dia de gestação, com uma ração contendo 10% de sementes de *M. tenuiflora*. O grupo controle, com 10 fêmeas, foi alimentado com a mesma ração sendo que esta não continha sementes em sua composição. Não houve diferenças no ganho de peso nem na ingestão de água e consumo de ração entre o grupo experimental e o controle. Noventa malformações ósseas foram observadas em 40 de 101 fetos nascidos no grupo experimental, enquanto quatro malformações foram observadas em três de 58 fetos nascidos no grupo controle ( $p < 0,05$ ). Conclui-se que as sementes de *M. tenuiflora* são teratogênicas para os fetos de ratos.

*Termos de Indexação:* Ratos, Malformações, Plantas Teratogênicas, *Mimosa tenuiflora*

Malformações ósseas entre outras são muito comuns no semi-árido brasileiro em caprinos (Riet-Correa et al., 2004) e em ovinos (Nóbrega et al., 2005). As principais deformidades são flexão permanente dos membros torácicos, anomalias craniofaciais incluindo fenda palatina, braquignatia, agnatia, lábio leporino devido à aplasia unilateral ou bilateral ou hipoplasia dos ossos incisivos, e malformações oculares incluindo microftalmia, dermóide ocular e opacidade corneal. Outras malformações são cifose, escoliose, lordose, estenose segmental do cólon e meningocele. Muitos animais apresentaram múltiplas malformações, principalmente na cabeça e nas pernas. Malformações são também observadas em bovinos, embora sejam menos frequentes do que em pequenos ruminantes (Riet-Correa et al., 2006). Algumas destas malformações citadas foram induzidas experimentalmente em cabras prenhes ingerindo *Mimosa tenuiflora*, sugerindo que seja esta planta a causa de tais anomalias (Pimentel et al., 2007).

O objetivo deste trabalho foi o estudo dos efeitos das sementes de *M. tenuiflora* em ratas prenhes (*Rattus norvegicus*) e verificar se esta espécie animal pode ser usada em um modelo experimental para o estudo da embriotoxicidade e fetotoxicidade da planta e seu princípio ativo.

Vinte e cinco ratas Wistar prenhes foram divididas em dois grupos. O grupo experimental era composto por 15 fêmeas alimentadas com ração contendo 10% de sementes de *M. tenuiflora*. O grupo controle com 10 fêmeas foi alimentado com a mesma ração, sendo que esta não continha sementes em sua composição.

As ratas foram alojadas em gaiolas de plástico, cujas dimensões eram 40x50x20cm, sob temperatura controlada (22-26°C), no ciclo natural de luz. Após a confirmação da gestação, as fêmeas eram mantidas sozinhas em cada gaiola até o vigésimo-primeiro dia de prenhez. As sementes de *M. tenuiflora* foram coletadas no município de Patos, estado da Paraíba. A ração para o grupo experimental foi preparada com 80% de ração comercial peletizada para ratos (LABINA<sup>®</sup>), a qual foi moída e misturada a 10% de sementes moídas de *M. tenuiflora* e 10% de amido de milho em água morna. Após misturar as sementes com a ração comercial e o amido de milho, foram manualmente fabricados peletes que eram secos à sombra. A ração para o grupo controle foi preparada da mesma forma, sendo que 90% era ração comercial e 10% amido de milho.

Para o acasalamento, um macho e duas fêmeas eram alojados em uma gaiola por um período de 12-14h, permanecendo juntos desde o começo da noite até a manhã



seguinte. Fêmeas com evidência de cópula (tampão vaginal ou lavado vaginal com presença de espermatozoides) eram encaminhadas a um dos dois grupos. Fêmeas que não conseguiam ficar prenhes em duas tentativas consecutivas eram rejeitadas para o experimento.

Consumo de ração, ingestão de água e peso corporal eram verificados nos dias 6, 10, 14 e 21.

No 21º dia de gestação, as ratas foram anestesiadas através da inalação de éter e os ovários e útero foram removidos através de cesareana. O número de corpos lúteos em cada ovário foi registrado e o útero gravídico foi pesado. Os fetos foram removidos do útero, limpos do líquido amniótico, pesados e examinados quanto à conformação dos olhos, boca, cabeça, membros, cauda e orelhas, e a presença da perfuração anal, com o objetivo de detectar anormalidades e malformações externas. As placentas também foram pesadas. O número de pontos de implantação e reabsorção foram registrados em ambos os cornos uterinos. Depois de pesados, os fetos foram eutanasiados com éter, fixados em acetona por 24h, examinados quanto à fenda palatina e eviscerados. Para o exame do esqueleto, os fetos foram submersos em uma solução a 0,8% de hidróxido de potássio com alizarina-red S, a qual era trocada diariamente durante 3-4 dias (Staples e Schenell, 1964). Em seguida, foram levados a uma solução clareadora, composta por 40% de álcool etílico, 40% de glicerina e 20% de álcool benzílico. O grau de desenvolvimento ósseo fetal foi avaliado através da contagem dos pontos de ossificação em alguns ossos (falanges dos membros pélvicos, metacarpos, metatarsos, esternóbrios e vértebras caudais). As matrizes foram eutanasiadas e necropsiadas. Pulmões, fígado, coração e rins foram pesados e amostras desses tecidos foram fixadas em 10% de formol, embebidas em parafina, seccionadas a 5µm, e coradas com hematoxilina e eosina para os exames histológicos.

O software GraphPad InStat V2.01 (Graphpad, 2003) foi usado para as análises estatísticas. Consumo de ração, ingestão de água, ganho de peso, peso dos órgãos e dados da prole foram analisados pelo teste “t” de Student. A frequência de anormalidades e malformações esqueléticas foi avaliada pelo teste exato de Fisher. As porcentagens de perdas pré e pós-implantação e o grau de ossificação foram submetidos ao teste de U Mann-Whitney.

O consumo da ração experimental contendo as sementes de *M. tenuiflora* foi bem tolerado. Nenhum sinal de intoxicação ou comportamento anormal foi observado. Nenhuma das fêmeas abortou, teve parto prematuro ou morreu durante o experimento.

O consumo de ração, a ingestão de água e o ganho de peso durante a gestação foram similares entre o grupo experimental e o grupo controle. (Tabela 1).

Os pesos do coração e do fígado das matrizes do grupo experimental foram significativamente menores ( $p < 0,05$ ) que os do grupo controle (Tabela 2). Nenhuma lesão macro ou microscópica foi observada no fígado, rim, coração e pulmão dos dois grupos de animais.

Os dados reprodutivos estão apresentados na Tabela 3. Nenhum feto morto foi observado. Não houve diferenças estatísticas em relação ao número de corpos lúteos, reabsorções, implantações e peso da placenta entre os grupos estudados. O peso do útero gravídico e o peso fetal médio do grupo que ingeriu a ração com sementes de *M. tenuiflora* foram significativamente maiores que aqueles do grupo controle ( $p < 0,05$ ).

Tabela 1

Consumo de ração e de água e ganho de peso (média  $\pm$  DP), do 6° ao 21° dia de gestação das ratas do grupo controle e do grupo que ingeriu sementes de *Mimosa tenuiflora*

	Grupo controle (n=10)	Grupo experimental (n=15)
Consumo de ração (g)	251,54 $\pm$ 23,96	268,17 $\pm$ 51,72
Consumo de água (ml)	486,50 $\pm$ 118,8	476,68 $\pm$ 101,10
Ganho de peso (g)	63,074 $\pm$ 15,89	60,03 $\pm$ 19,33

Tabela 2

Pesos (média  $\pm$  DP) dos pulmões, coração, fígado e rins das ratas do grupo controle e do grupo que ingeriu sementes de *Mimosa tenuiflora*

Órgão	Grupo Controle (n=10)	Grupo experimental (n=15)
Pulmões (g)	1,11 $\pm$ 0,19	0,99 $\pm$ 0,17
Coração (g)	0,72 $\pm$ 0,08	0,63 $\pm$ 0,09**
Fígado (g)	8,87 $\pm$ 0,76	7,70 $\pm$ 1,19**
Rim direito (g)	0,57 $\pm$ 0,05	0,52 $\pm$ 0,12
Rim esquerdo (g)	0,50 $\pm$ 0,06	0,53 $\pm$ 0,07

\*\* Significativamente diferente ( $p < 0,001$ )

Tabela 3

Performance reprodutiva (média  $\pm$  DP) de ratas do grupo controle e do grupo que ingeriu sementes de *Mimosa tenuiflora*

	Grupo Controle (n=10) x $\pm$ DP	Grupo Experimental (n=15) x $\pm$ DP
Peso do útero (g)	47,37 $\pm$ 19,32	48,60 $\pm$ 10,59*
Número de fetos	8,80 $\pm$ 3,55	9,33 $\pm$ 2,25
Peso dos filhotes (g)	3,70 $\pm$ 0,58	4,34 $\pm$ 0,79**
Peso da placenta (g)	0,41 $\pm$ 0,09	0,39 $\pm$ 0,05
Número de corpos lúteos	12,70 $\pm$ 1,49	11,76 $\pm$ 2,35
Número de reabsorções	0,60 $\pm$ 0,96	0,66 $\pm$ 0,47
Perda pré-implantação (%)	21,61 $\pm$ 26,05	12,61 $\pm$ 23,32
Perda pós-implantação (%)	7,94 $\pm$ 15,49	7,98 $\pm$ 13,97

Significantemente diferente (p<0,01) \* e (p<0,001) \*\*

Fetos do grupo experimental apresentaram evidentes malformações ósseas, incluindo escoliose, lordose e cabeça encurtada. Noventa malformações ósseas foram observadas em 40 de 101 fetos nascidos no grupo experimental, enquanto quatro malformações foram observadas em três de 58 fetos nascidos no grupo controle (p<0,05). Os resultados das anomalias ósseas de ambos os grupos estudados constam na Tabela 4. Os resultados do número de centros de ossificação encontrados nos fetos estudados são apresentados na Tabela 5.

Tabela 4

Número e porcentagem de malformações esqueléticas em 58 fetos de ratas do grupo controle e 101 fetos de ratas do grupo que ingeriu sementes de *Mimosa tenuiflora*

Malformações	Fetos afetados do grupo controle	Fetos afetados do grupo experimental
Fenda palatina	0	33 (32,67 %) *
Escoliose	0	9 (8,9 %) *
Esterno bífido	0	1 (0,99 %)
Aplasia de um esternóbrio	1 (1,72 %)	3 (2,97 %)
Aplasia de dois esternóbrios	1 (1,72 %)	0 (0 %)
Aplasia de três esternóbrios	0	1 (0,99 %)
Hipoplasia de esternóbrios	0	8 (7,92 %) *
Esternóbrios desalinhados	1 (1,72 %)	2 (1,98 %)
Hipoplasia de ísquio	0	1 (0,99 %)
Hipoplasia de Fêmur	0	1 (0,99 %)
Concavidade dos ossos parietal, interparietal e supraoccipital .	0	14 (13,86 %) *
Hipoplasia de órbita (microftalmia)	0	3 (2,97 %)
Hipoplasia do osso nasal	0	8 (7,92 %) *
Oso occipital deformado	1 (1,72%)	0 (0%)
Número de malformações	4	90

\*Significativamente diferente (p<0,05)

Tabela 5

Número de centros de ossificação (média  $\pm$  DP) de ratas do grupo controle e do grupo que ingeriu sementes de *Mimosa tenuiflora*

Ossos	Grupo Controle	Grupo Experimental
Falanges anteriores	0,16 $\pm$ 0,54 (n=50)	1,45 $\pm$ 1,50 ** (n=95)
Metacarpos	3,08 $\pm$ 0,27 (n=50)	3,81 $\pm$ 0,39 * (n=95)
Metatarsos	3,92 $\pm$ 0,56 (n=50)	4,26 $\pm$ 0,44 ** (n=96)
Esternébrios	5,93 $\pm$ 0,31 (n=49)	5,93 $\pm$ 0,35 (n=95)
Vértebras caudais	3,34 $\pm$ 0,84 (n=50)	4,14 $\pm$ 0,90 ** (n=97)

n = número de fetos examinados; (p<0,01)\*; (p<0,001)\*\*

A observação de diferentes malformações em fetos das ratas que se alimentaram com 10% de sementes de *M. tenuiflora* na ração, durante o período de gestação demonstra que a planta é teratogênica, sugerindo ser a causa das malformações observadas em ruminantes no Nordeste brasileiro (Riet-Correa et al., 2004; Nóbrega et al., 2005). A similaridade no que se refere ao consumo de ração, ingestão de água e ganho de peso entre as ratas do grupo que se alimentaram com sementes de *M. tenuiflora* e o grupo controle, sugere que a planta não é tóxica para a matriz. Apesar do fato de que a planta cause malformações, o desenvolvimento fetal não é afetado. Ao contrário, o peso e o número de centros de ossificação dos fetos das ratas que ingeriram as sementes de *M. tenuiflora* foram maiores que os do grupo controle.

*M. tenuiflora* é uma planta xerófila muito comum nas áreas degradadas da região semi-árida, sendo em determinados períodos a única forragem disponível. O efeito teratogênico desta planta também foi demonstrado em cabras prenhes (Pimentel et al., 2007).

*M. tenuiflora* é particularmente rica em taninos (Guimarães –Beelen et al. 2006), e contém saponinas triterpenoidal e esteroidal (Jiang et al., 1991a, b) e alcalóides indólicos (Meckes et al., 1990). A parte cortical desta planta é popularmente utilizada no México como remédio para o tratamento de lesões na pele, e a casca seca e em pó é

aplicada diretamente sobre a lesão é um efetivo remédio para tratar queimaduras e feridas (Rivera-Arce et al., 2007).

A susceptibilidade das ratas Wistar prenhes ao efeito teratogênico da *M. tenuiflora* indica que esta espécie pode ser usada como modelo experimental para o estudo de embriotoxicidade e fetotoxicidade da planta e seu princípio ativo.

### **Agradecimentos**

Este trabalho foi financeiramente apoiado pelo Instituto do Milênio, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Processo No. 420012/2005-2 e pelo Programa de Apóio a Núcleos de Excelência (PRONEX), Processo No. 001/04, CNPq, FAPESQ, MCT.

Ao Professor Olaf Bakke por fornecer sementes de *M. tenuiflora* que foram utilizadas no desenvolvimento dos experimentos iniciais.

### **Referências Bibliográficas**

- Guimarães-Beelen, P.M., Berchielli, T.T., Beelen, R., Medeiros, A.N., 2006. Influence of condensed tannins from Brazilian semiarid legumes on ruminal degradability, microbial colonization ruminal enzymatic activity in Saanen goats. *Small Rum. Res.* 61, 35–44.
- GraphPad Software, 1993. GraphPad InStat V2.01. GraphPad Software, San Diego, (1computer disk, 31/2in, IBM).
- Jiang, Y., Massiot, G., Lavaud, C., Teulon, J.M., Guechot, C., Haag, M., Anton, R., 1991a. Triterpenoid glycosides from the bark of *Mimosa tenuiflora*. *Phytochemistry* 30, 2357–2360.
- Jiang, Y., Massiot, G., Lavaud, C., Teulon, J.M., Guechot, C., Haag, M., Anton, R., 1991b. Structure of a new saponin from the bark of *Mimosa tenuiflora*. *J. Nat. Prod.* 54, 1247–1253.
- Meckes, M., Lozoya, X., González, L., Martínez, M., 1990. Efecto producido por la fracción de alcaloides de *Mimosa tenuiflora* (tepescohuite) sobre el reflejo peristáltico del íleon del cobayo. *Arch. Invest. Med.* 21, 171–174.
- Nóbrega Jr., J.E., Riet-Correa, F., Nóbrega, R.S., Medeiros, J.M., Vasconcelos, J.S., Simões, S.V.D., Tabosa, I.M., 2005. Mortalidade perinatal de ovinos no semi-árido da Paraíba. *Pesq. Vet. Bras.* 25, 171–178.

- Pimentel, L.A., Riet-Correa, F., Gardner, D., Panter, K.E., Dantas, A.F.M., Medeiros, R.M.T., Mota, R.A., Araújo, J.A.S., 2007. *Mimosa tenuiflora* as a cause of malformations in ruminants in the northeastern Brazilian semiarid rangelands. *Vet. pathol.* 44, 928–931.
- Riet-Correa, F., Medeiros, R.M., Neto, S.A., Tabosa, I.M., Pimentel, L.A., 2004. Malformações ósseas em caprinos na região semi-árida do nordeste do Brasil. *Pesq. Vet. Bras.* 24 (Supl), 45–49.
- Riet-Correa, F., Medeiros, R.M.T., Dantas, A.F.M., 2006. *Plantas Tóxicas da Paraíba*. Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Patos, PB, SEBRAE/PB, 58p.
- Rivera-Arce, E., Chávez-Soto, M.A., Herrera-Arellano, A., Arzate, S., Agüero, J., Feria-Romero, I.A., Cruz-Guzmán, A., Lozoya, X., 2007. Therapeutic effectiveness of a *Mimosa tenuiflora* cortex extract in venous leg ulceration treatment. *J. Ethnopharmacol.* 109, 523–528.
- Staples, R.E., Schenell, V.L., 1964. Refinements in rapid clearing technique in the KOH-alizarin red S method for fetal bone. *Stain Technol.* 39, 61–63.

### **CAPÍTULO III**

#### **Teratogenicidade das folhas de *Mimosa tenuiflora* em ratas prenhes**

Trabalho a ser enviado à Pesquisa Veterinária



### Teratogenicidade das folhas de *Mimosa tenuiflora* em ratas prenhes

Talícia Maria A. Benício<sup>1</sup>, Rosane Maria T. de Medeiros<sup>2</sup>, Anna Priscilla M. de Figueiredo<sup>3</sup>, Francélícia P. M. Dantas<sup>3</sup>, Clarice Ricardo de M. Pessoa<sup>3</sup> e Franklin Riet-Correa<sup>2</sup>

**ABSTRACT.-** Benício T.M.A., Medeiros R.M.T., Figueiredo A.P.M., Dantas F.P.M., Pessoa C.R.M. e Riet-Correa F. 2008. [**Teratogenicity of *Mimosa tenuiflora* leaves to pregnant rats.**] Teratogenicidade das folhas de *Mimosa tenuiflora* em ratas prenhes. Hospital Veterinário, CSTR, Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Patos, Patos-PB, CEP 58700-000, Brasil. E-mail: [rmtmed@cstr.ufcg.edu.br](mailto:rmtmed@cstr.ufcg.edu.br)

*Mimosa tenuiflora* causes malformations in goats and sheep of the Brazilian semiarid. The *M. tenuiflora* teratogenicity was confirmed in goats that ingested the whole plant and in rats that feed seeds of the plant. This work aimed to verify if *M. tenuiflora* leaves have teratogenic effects in rats. Twenty four pregnant female Wistar rats were used, distributed in two groups. The experimental group received ration contained 30% of *M. tenuiflora* leaves, from the 6<sup>o</sup> to the 21<sup>o</sup> day of pregnancy. The control group received ration without *M. tenuiflora* leaves. From the fetuses of the experimental group 74% showed one or more kinds of malformations. Aplasia of one sternebra and bifid stern were the most frequent malformations in the experimental group (P<0,05). Based on these results it can be concluded that the leaves of *M. tenuiflora* contain teratogenic substances and that the rat can be considered a good experimental model to study these malformations.

INDEX TERMS: leaves, *Mimosa tenuiflora*, tetatogenicity, rats

---

<sup>1</sup>Aluna do Mestrado em Medicina Veterinária de ruminantes e Equinos, Hospital Veterinário,CSTR, UFCG, Patos-PB. E-mail: [taliciabenicio@yahoo.com.br](mailto:taliciabenicio@yahoo.com.br)

<sup>2</sup> Professores do Mestrado em Medicina Veterinária de ruminantes e Equinos, Hospital Veterinário,CSTR, UFCG, Patos-PB. E-mail: [rmtmed@cstr.ufcg.edu.br](mailto:rmtmed@cstr.ufcg.edu.br); [franklin.riet@pq.cnpq.br](mailto:franklin.riet@pq.cnpq.br)

<sup>3</sup> Alunas de Graduação do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Campina Grande, CSTR, Campus de Patos-PB.

**RESUMO.-** *Mimosa tenuiflora* causa malformações em caprinos e ovinos no semi-árido. A teratogenicidade de *M. tenuiflora* foi comprovada em cabras alimentadas com a planta inteira e em ratos alimentados com as sementes da mesma. Este trabalho teve por objetivo verificar se as folhas da *M. tenuiflora* apresentam efeitos teratogênicos em ratos. Foram utilizadas 24 ratas Wistar, prenhes, distribuídas em dois grupos. O grupo experimental recebeu ração contendo 30% de folhas de *M. tenuiflora* do 6º ao 21º dia de gestação. O grupo controle recebeu a mesma ração, porém isenta de folhas de *M. tenuiflora*. Do grupo experimental, 74% dos animais apresentaram um ou mais tipos de malformação. As alterações mais freqüentes foram aplasia de um esternóbrio e esterno bífido, sendo estatisticamente diferentes do grupo controle. Esses resultados sugerem que as folhas de *M. tenuiflora* também possuem substâncias teratogênicas e que o rato é um bom modelo para se estudar malformações.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: folhas, *Mimosa tenuiflora*, teratogênese, ratos

## INTRODUÇÃO

O termo teratogênese designa malformações induzidas por um agente durante o período de formação dos órgãos de um animal. As causas das malformações podem ser de origem genética ou por fatores extrínsecos como agentes químicos, infecções, deficiência de nutrientes e plantas tóxicas, que atuam diretamente sobre o feto ou, secundariamente através da ação sobre o organismo materno (Schild et al. 2007 e Araújo 1994).

O perigo de causar malformação ocorre no período de embriogênese, quando se observam a proliferação e diferenciação tecidual e a organogênese, que consiste na formação de órgãos rudimentares (Araújo 1994). Cada um dos sistemas em formação apresenta um período crítico particular no qual é mais susceptível ao agente. Quanto

maior o período crítico de um sistema, maiores são as chances deste sofrer efeitos de um determinado agente. Por esse motivo nos testes de teratogênese, anomalias ósseas são sempre estudadas, pois o período de organogênese do esqueleto é bastante longo (Bernardi 2002).

O efeito teratogênico de algumas plantas já é conhecido, os princípios ativos relacionados com esse efeito são os alcalóides piperidínicos, quinolizidínicos e esteroidais. Em muitos países o nascimento de animais de pastoreio com malformações ósseas e de outros tecidos está associado ao consumo de plantas como *Conium maculatum*, *Lupinus* spp., *Nicotiana tabacum*, *Veratrum californicum*, *Astragalus* spp. e *Oxytropis* spp. (Panter et al. 1994, Cheeke 1998, Gardner et al. 1998).

No semi-árido do Nordeste brasileiro, as malformações foram a segunda causa mais importante de morte perinatal em ovinos (23,34%) (Nóbrega Jr. et al. 2006) e a quarta em caprinos (7,62%) (Medeiros et al. 2006). As principais lesões descritas nos casos espontâneos em ovinos foram artrogripose, fenda palatina primária e secundária, micrognatia, hipoplasia ou aplasia uni ou bilateral do osso incisivo, torcicolo, escoliose e hipoplasia da língua (Nóbrega et al. 2004, 2005). Em caprinos nos casos espontâneos a lesão mais freqüente foi a artrogripose, também foram descritos aplasia do osso incisivo, estenose intestinal e micrognatia (Medeiros et al. 2005, Riet-Correa et al. 2004). Em bovinos são descritos artrogripose, cegueira e atresia anal (Riet-Correa et al. 2006).

Nos casos experimentais com administração *M. tenuiflora* observou-se em caprinos, fenda palatina primária e secundária, ausência de orifício nasal, dermóide ocular, escoliose, opacidade da córnea, olho aumentado de volume e estenose do cólon (Pimentel et al., 2004). Medeiros et al. (2008) reproduziram malformações (fenda palatina secundária, escoliose, concavidade dos ossos do crânio, hipoplasia do osso

nasal e diminuição do número e do tamanho dos esternébrios) em 84% dos filhotes de ratas que consumiram sementes da planta durante o período de organogênese.

Uma vez comprovado o efeito teratogênico das sementes de *Mimosa tenuiflora*, este trabalho teve por objetivo verificar se as folhas desta planta também possuem efeitos teratogênicos e quais os tipos de anomalias e /ou malformações desencadeadas, de forma a esclarecer as causas de malformações que ocorrem no rebanho de caprinos e ovinos do semi-árido.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 24 ratas (*Rattus norvegicus*) de linhagem Wistar, com idade de 12 semanas, oriundos de cruzamentos sucessivos no Centro de Criação e Experimentação em Animais de Laboratório (CCEAL-Biotério) do Curso de Medicina Veterinária do CSTR da Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Patos, PB. Os animais foram alojados em gaiolas de plástico fosco com tampas metálicas, medindo 40x50x20cm, mantidas em salas com temperatura ambiente aproximadamente (22-26°C) controlada por meio de aparelho de ar condicionado e/ou ventilação natural, em ciclo de luz natural. Após o acasalamento e confirmação da prenhez, as fêmeas eram mantidas individualmente até o nascimento e desmame dos filhotes.

As folhas de *M. tenuiflora* foram coletadas em regiões onde havia registro de malformações. Em seguida à coleta, procedia-se a fabricação manual da ração, feita com as folhas secas à sombra, moídas e posteriormente adicionadas à ração comercial para ratos (LABINA®), também moída, na proporção de 30% de folhas para o grupo experimental. A ração do grupo controle não continha folhas. Essa mistura era homogeneizada em um misturador manual, acrescentando-se 200mL de água e pequena quantidade de amido de milho para se obter a consistência adequada, sendo em seguida

peletizada artesanalmente com o uso de seringas descartáveis de 20mL. Após a fabricação, a secagem da ração foi feita à sombra sob temperatura ambiente, sobre tela com suporte de 15cm de altura do chão.

Para se confirmar a prenhez, verificou-se a presença de espermatozóides no lavado vaginal, determinada pela observação microscópica diária do esfregaço vaginal (Vickery e Bennett 1970). Os esfregaços foram realizados pela introdução vaginal de uma solução de NaCl a 0,9%, utilizando-se uma pipeta Pasteur, sem introduzi-la profundamente na vagina, o que poderia induzir uma pseudo-prenhez. A presença de espermatozóides no esfregaço vaginal foi considerada indicador do dia 1 de prenhez.

As ratas prenhes receberam água e ração “ad libitum” até o sexto dia de prenhez. Do 6º ao 21º dia receberam quantidades controladas de água e ração. O consumo de ração e de água das mães foram medidos a cada 3 dias, a partir do 6º dia de gestação. Todas as pesagens foram realizadas no período da manhã, entre 8:00 e 11:00 horas.

No 21º dia de gestação as ratas prenhes foram anestesiadas por inalação com éter etílico, sendo logo após realizada a laparotomia exploratória com exposição dos cornos uterinos, para contagem de pontos de implantações, de reabsorções e de fetos vivos e/ou mortos. Os ovários foram retirados e, com o auxílio de uma lupa (16/12 X 1,25) foram contados o número de corpos lúteos para avaliação da quantidade de óvulos eliminados. As perdas embrionárias, no período de pré-implantação e no período pós-implantação, foram calculadas conforme descrito por Takahashi (1996).

Após a laparotomia, os fetos foram contados ainda no útero e marcadas as suas posições. Depois, foram retirados do útero e examinados quanto à conformação dos olhos, boca, crânio, membros anteriores e posteriores e cauda, implantação das orelhas e presença da perfuração anal, para pesquisa de possíveis malformações e/ou anomalias externas. Em seguida, os fetos e suas respectivas placentas foram secos com papel

toalha e pesados individualmente. Após a pesagem dos fetos, os animais de cada ninhada, foram eutanasiados com éter etílico e depois colocados em recipientes de vidro, individualmente, iniciando-se então o processo de diafanização e coloração com alizarina, para avaliação da presença de alterações esqueléticas, segundo método proposto por Staple e Schenell (1964).

Para a análise estatística foi utilizado o programa software GraphPad InStat v2.01 (Graphpad 1993). Para avaliar o consumo de ração e de água, o ganho de peso das mães, o peso dos órgãos e dados da prole foi utilizado o teste “T” de student ou ANOVA. As anomalias e/ou malformações esqueléticas foram avaliadas pelo teste exato de Fisher e a porcentagem de perda pré e pós-implantação e o grau de ossificação óssea foram submetidos ao teste U de Mann Withney.

## **RESULTADOS**

### **Avaliação indireta da toxicidade da planta às matrizes prenhes**

Não houve diferença significativa em relação ao consumo de água quando comparado o grupo controle com o grupo experimental, no entanto, observou-se diferença significativa em relação ao consumo de ração e o ganho de peso dos animais experimentais em relação ao grupo controle, sendo que os animais do grupo experimental consumiram mais ração do que os do grupo controle, entretanto perderam peso (Quadro1). Na avaliação dos pesos dos órgãos maternos (coração, pulmões, fígado e rins) não foram verificadas diferenças significantes entre os dois grupos em estudo (Quadro 2).

**Quadro 1. Consumo de ração e de água e ganho de peso (média ± DP), do 6º ao 21º dia de gestação das ratas do grupo controle e do grupo que ingeriu folhas de *Mimosa tenuiflora***

	Grupo Controle (n=12)	Grupo Experimental (n=12)
Consumo de ração (g)	220,25 ± 29,44	384,08 ± 172,12*
Consumo de água (mL)	463,75 ± 170,30	437,83 ± 148,46
Ganho de peso (g)	54,58 ± 11,72	-10,33 ± 30,52**

Significantemente diferente (p<0,01) \* e (p<0,001) \*\*

**Quadro 2. Pesos (média ± DP) dos pulmões, coração, fígado e rins das ratas do grupo controle e do grupo que ingeriu folhas de *Mimosa tenuiflora***

Órgão	Grupo Controle (n=12)	Grupo experimental (n=12)
Pulmões (g)	1,40 ± 0,35	1,32 ± 0,24
Coração (g)	0,82 ± 0,20	0,78 ± 0,12
Fígado (g)	8,33 ± 0,83	8,09 ± 0,92
Rim direito (g)	0,68 ± 0,09	0,66 ± 0,06
Rim esquerdo (g)	0,68 ± 0,09	0,66 ± 0,07

Não houve significância estatística

### Performance reprodutiva materna

Todas as fêmeas do experimento foram submetidas à laparotomia no 21º dia de gestação e não foi observado nenhum aborto ou natimorto. Não foram observadas diferenças significantes com relação ao peso do útero, número de fetos, peso e número de corpos lúteos e reabsorções. Observou-se diferença estatisticamente significativa para os parâmetros peso dos filhotes, peso da placenta e perda pré-implantação entre as fêmeas do grupo experimental e aquelas do grupo controle (Quadro 3). O grupo experimental apresentou ainda uma maior perda pré-implantação (32,66%) em relação ao controle (14,33%).

**Quadro 3. Performance reprodutiva (média  $\pm$  DP) de ratas do grupo controle e do grupo que ingeriu folhas de *Mimosa tenuiflora***

	Grupo Controle x $\pm$ DP (n=12)	Grupo Experimental x $\pm$ DP (n=12)
Peso do útero (g)	32,61 $\pm$ 11,93	31,19 $\pm$ 12,02
Número de fetos	5,66 $\pm$ 2,30	6,33 $\pm$ 3,36
Peso dos filhotes (g)	3,35 $\pm$ 0,31	2,90 $\pm$ 0,62**
Peso da placenta (g)	0,48 $\pm$ 0,10	0,40 $\pm$ 0,08**
Número de corpos lúteos	10,08 $\pm$ 2,87	12,50 $\pm$ 2,87
Número de reabsorções	2,58 $\pm$ 1,31	1,66 $\pm$ 1,15
Perda pré-implantação (%)	14,33 $\pm$ 19,10	32,66 $\pm$ 20,97*
Perda pós-implantação (%)	33,04 $\pm$ 19,45	24,00 $\pm$ 20,82

Significativamente diferente (p<0,01) \* e (p<0,001) \*\*

#### **Avaliação do grau de desenvolvimento fetal**

O grau de desenvolvimento fetal foi avaliado por meio da contagem dos centros de ossificação e do peso dos filhotes. O Quadro 4 mostra as médias e os respectivos desvios padrões dos centros de ossificação nos grupos controle e experimental. Em relação aos pontos de ossificação se verificou diferença estatística para os seguintes parâmetros ósseos: metacarpos, esternóbrios e vértebras caudais. O desenvolvimento fetal da prole de mães tratadas com 30% de folhas de *M. tenuiflora* foi menor que o do grupo controle.

#### **Avaliação de anomalias e/ou malformação externas e esqueléticas**

Após a laparotomia e retirada dos fetos não foram observadas malformações externas. Os resultados referentes a malformações e anomalias esqueléticas são mostrados no Quadro 5.

No grupo experimental 74% dos animais apresentam um ou mais tipos de malformação. Das malformações observadas, esterno bífido (11%) e aplasia de um



esternébrio (11%) foram estatisticamente significantes quando comparadas ao grupo controle. Um total de 75 malformações foi observado nesse experimento, sendo 10 delas no grupo controle e 65 no grupo experimental.

**Quadro 4. Número de centros de ossificação (média  $\pm$  DP) em filhotes do grupo controle e do grupo que ingeriu folhas de *Mimosa tenuiflora***

Ossos	Grupo controle (n=68)	Grupo experimental (n=79)
Falanges anteriores	0,22 $\pm$ 0,78	0,29 $\pm$ 0,91
Metacarpos	3,54 $\pm$ 0,50	2,91 $\pm$ 0,66 **
Metatarsos	3,88 $\pm$ 0,32	3,84 $\pm$ 0,53
Esternébrios	5,86 $\pm$ 0,4 1	4,69 $\pm$ 1,93**
Vértebras caudais	3,63 $\pm$ 0,62	2,65 $\pm$ 1,40 **

\*\*Significamente diferente (p<0,001)

**Quadro 5. Número e percentagem de malformações esqueléticas em fetos do grupo controle e em fetos do grupo cujas mães ingeriram folhas de *Mimosa tenuiflora***

Malformações	Fetos do grupo controle (n=68)	Fetos do grupo experimental (n=79)
Fenda palatina	0	4 (3 %)
Escoliose	0	3 (2 %)
Esterno bífido	1 (1%)	16 (11 %) **
Aplasia de um esternébrio	1 (1 %)	16 (11 %) **
Aplasia de dois esternébrios	1(1 %)	6 (4 %)
Aplasia de três esternébrios	0	2 (1 %)
Aplasia de quatro esternébrios	0	4 (3%)
Aplasia de cinco esternébrios	0	2 (1 %)
Agenesia de esterno	5 (3%)	7 (5 %)
Agenesia de metacarpo	0	4 (3%)
Agenesia do occipital	2 (1%)	0
Costelas desalinhas	0	1 (1%)
Número de malformações	10	65

\*\*Significamente diferente (p<0,05)

## DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos, observou-se que os animais do grupo experimental consumiram mais ração do que os do grupo controle e perderam peso. Dois fatores podem ser atribuídos ao maior consumo de ração: maior palatabilidade da ração experimental pela presença da planta, pois essa planta já demonstrou ser bastante palatável quando fornecida a outras espécies de animais; e um segundo fator, talvez o mais provável, que a ração experimental por ter 30% de jurema ficou com valores nutricionais, inferiores à ração do grupo controle não atendendo as exigências nutricionais, pelo que foi consumida em maior quantidade. Porém nenhum desses fatores seria a causa das malformações.

Os filhotes de fêmeas que ingeriram folhas de *M. tenuiflora* nasceram com peso inferior àqueles do grupo controle, o que sugere intoxicação das mães ou dos filhotes ou ainda uma deficiência na composição nutricional da ração. Neste sentido devem ser realizados novos estudos voltados para uma minuciosa avaliação dos componentes da ração, observando as diferenças nutricionais entre a ração ofertada ao grupo controle e aquela oferecida ao grupo experimental. As perdas embrionárias também sugerem intoxicação das mães, que se reflete em um desempenho reprodutivo insatisfatório. Já se sabe que em caprinos, *M. tenuiflora* tem sido responsável também por perda embrionária (Antonio F. M. Dantas 2008, dados não publicados).

A prole das mães tratadas com folhas de *M. tenuiflora* além de nascer com menor peso, apresentou ainda menor número de metacarpos, esternóbrios e vértebras caudais, quando comparada ao grupo controle. Diferentemente do que se observou quando Medeiros et al., (2008) trabalhando com a mesma espécie animal ingerindo 10% de sementes de *M. tenuiflora*, ou seja, os animais do grupo experimental apresentaram um grau de desenvolvimento fetal melhor do que os do grupo controle.

Em relação às malformações encontradas, Medeiros et al., (2008) em experimento semelhante com as sementes de jurema preta observaram também essas mesmas malformações em ratos, no entanto, o percentual de algumas delas foi superior ao encontrado neste experimento, o que sugere que o potencial teratogênico das sementes seja maior que o das folhas. As principais malformações apresentadas pela ingestão de folhas de *M. tenuiflora* foram esterno bífido e aplasia de um esternóbrio, enquanto Medeiros et al., (2008) relatam fenda palatina e escoliose como principais malformações causadas pela ingestão de ração contendo sementes da planta.

Os resultados deste trabalho comprovam que *M. tenuiflora* é teratogênica e sugerem que esta planta é a principal causa das malformações observadas em ruminantes no semi-árido do Brasil. Apesar de que as sementes apresentam maior toxicidade do que as folhas, a ingestão destas é, provavelmente, a principal causa das malformações. Isto porque a maior frequência de malformações ocorre quando os animais ingerem a planta após o início das chuvas, nos primeiros meses de gestação, época em que *M. tenuiflora* está em fase de crescimento.

Comprova-se ainda, que os ratos podem ser utilizados como modelo experimental para determinar o princípio ativo de *M. tenuiflora*. Em trabalhos preliminares foram identificados alcalóides derivados da triptamina, tanto nas folhas quanto nas sementes da planta, no entanto não se sabe se estes são teratogênicos (Medeiros et al. 2007, dados não publicados). Uma vez desenvolvido o modelo com ratos, torna-se possível identificar a substância teratogênica e a partir do conhecimento do princípio ativo de *M. tenuiflora* será possível estabelecer medidas eficientes de controle da intoxicação nos animais de produção. Entretanto, já é possível recomendar, tomando por base os dados aqui obtidos, que seja evitada a permanência de fêmeas gestantes em propriedades onde exista *Mimosa tenuiflora*.

**Agradecimentos.-** Este trabalho foi financeiramente apoiado pelo Instituto do Milênio, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Processo No. 420012/2005-2 e pelo Programa de Apóio a Núcleos de Excelência (PRONEX), Processo No. 001/04, CNPq, FAPESQ, MCT.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Araújo, R.C. 1994. Estudos toxicológicos das drogas. Efeitos anatomopatológicos, p.521-543 In: Penildon Silva (ed). Farmacologia. 6ªed., Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.
- Bernadi, M.M. 2002. Exposição aos medicamentos durante o período perinatal, p.718-732. In: Spinosa . (ed.). Farmacologia aplicada a Medicina Veterinária. 3ªed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.
- Cheeke P.R. 1998. Natural toxicants in feeds, forages, and poisonous plants, 2<sup>nd</sup> ed. Interstate Publishers, Danville, 479p.
- Gardner D.R., Panter K.E., Stegelmeier B.L., James L.F., Ralphs M.H., Pfister J.A. & Schoch T.K. 1998. Livestock poisoning by teratogenic and hepatotoxic range plants. p.303-306. In: Garland T. & Barr A.C. (ed.). Toxic plants and other natural toxicants. CAB International, New York.
- GraphPad InStat V2.01. San Diego: GraphPad Software, 1993. (1 computer disk, 3 ½ in, IBM).
- Medeiros J., Nóbrega J., Simões S.V., Tabosa I.M., Vasconcelos J.S. & Riet-Correa F. 2005. Mortalidade perinatal em caprinos no semi-árido da Paraíba. Pesq. Vet. Bras. 25(4):201-206.
- Medeiros, R.M.T., Figueiredo, A.P.M., Benício, T.M.A., Dantas, F.P.M. & Riet-Correa, F. 2008. Teratogenicity of *Mimosa tenuiflora* seeds to pregnant rats. Toxicon, 51(2008):316-319.

- Nóbrega R.S., Riet-Correa F., Nóbrega R.S., Correia A.P., Nóbrega J.S., Aragão M.C., Medeiros R.M. & Tabosa I.M. 2004. Malformações ósseas em ovinos na região semi-árida do Nordeste do Brasil. *Pesq. Vet. Bras.* 24(Supl.):45-46.
- Panter K.E., Gardner D.R., Shea R.E., Molyneux R.J. & James L.F. 1998. Toxic and teratogenic piperidine alkaloids from *Lupinus*, *Conium* and *Nicotiana* species. p.345-350. In: Garland T. & Barr A.C. (ed.). *Toxic plants and other natural toxicants*. CAB International, New York.
- Panter K.E., James L.F., Gardner D.R. & Molyneux R.J. 1994. Effects of poisonous plants on embryonic and fetal development in livestock. p.325-332 In: Colegate S.M. & Dorling P.R. (ed.). *Plant associated toxins*. CAB International, Wallingford.
- Pimentel L.A., Rodrigues M.D. & Riet-Correa F. 2005. Malformações em caprinos causadas por *Mimosa tenuiflora* In: *Anais do II Congresso de Iniciação Científica da Universidade Federal de Campina Grande, PIBIC/CNPq/UFCG, Campina Grande*.
- Riet-Correa F., Medeiros R.M.T, Neto S.A., Tabosa I.M. & Pimentel L.A. 2004. Malformações ósseas em caprinos na região semi-árida do nordeste do Brasil. *Pesq. Vet. Bras.* 24(Supl.):49-50.
- Riet-Correa F., Medeiros R.M. & Dantas A.F.M. 2006. *Plantas tóxicas da Paraíba, UFCG/CSTR/HV, SEBRAE/PB, Patos, 58p.*
- Riet-Correa, F., Schild, A. L., Méndez, M.D.C. & Lemos, R.A.A. 2001. *Doenças de ruminantes e eqüinos. 1ªed.Varela. São Paulo, 574p.*
- Staples, R.E. & Schenell V.L. 1964. Refinements in rapid clearing technic in the KOH-alizarin red S method for fetal bone. *Stain Technology*, (39):61-63.
- Vickery, B.H. & Bennett, J.P. 1970. Rats and mice. p.229-315. In: Hafez, E.S.E. (ed). *Reproduction and breeding techniques for laboratory animals*. Lea & Febiger, Philadelphia.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

- O rato da linhagem Wistar pode ser utilizado com eficiência em modelos experimentais para testar a teratogenicidade de *Mimosa tenuiflora*.
- As sementes e as folhas de *Mimosa tenuiflora* apresentam efeitos teratogênicos em ratos.
- As principais malformações causadas pela ingestão de 10% de sementes de *Mimosa tenuiflora* na ração foram fenda palatina, escoliose e concavidade dos ossos do crânio.
- As principais malformações causadas pela ingestão de 30% de folhas de *Mimosa tenuiflora* na ração foram esterno bífido e aplasia de um esternóbrio.