

IVETE KEIKO SHIMADA COIMBRA

**ALTERAÇÕES ANATOMOPATOLÓGICAS DO ESTÔMAGO,
INTESTINO DELGADO, FÍGADO E RINS DE RATOS
(*Rattus norvegicus*) INTOXICADOS EXPERIMENTALMENTE
COM *Melia azedarach* L. (CINAMOMO).**

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre. Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Italo Minardi

Co-orientador: Prof. João Maria Ferraz Diniz

CURITIBA

1995

IVETE KEIKO SHIMADA COIMBRA

**ALTERAÇÕES ANATOMOPATOLÓGICAS DO ESTÔMAGO, INTESTINO
DELGADO, FÍGADO E RINS DE RATOS (*Rattus norvegicus*)
INTOXICADOS EXPERIMENTALMENTE COM
Melia azedarach L. (CINAMOMO).**

**Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no
Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do
Paraná, pela Comissão formada pelos professores:**

Orientador: - Prof. Italo Minardi

Setor de Ciências Agrárias, UFPr

Prof. Gilberto Alves de Souza

Setor de Ciências Agrárias, UFPr

Prof. Ennio Luz

Setor de Ciências Biológicas, UFPr

Curitiba, 21 de dezembro de 1995

Aos meus pais,

ao Tom e André

à Bisa,

e a todos os familiares.

Ao Prof. João Maria Ferraz
Diniz, exemplo de dedicação e
competência, minha eterna
gratidão e admiração.

AGRADECIMENTOS

Meus sinceros agradecimentos a todas as pessoas e instituições que me auxiliaram durante a elaboração deste trabalho:

- Instituto de Tecnologia do Paraná-TECPAR.
- Laboratório de Patologia Animal-PANLAB.
- Núcleo de Qualidade em Saúde e Ambiente-NQSA e Divisão de Análises Biológicas do TECPAR
- CNPq
- Prof^a. Clotilde de Lourdes Branco Germiniani, Coordenadora do Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.
- Prof^a Silvana Maris Cirio. Msc, Médica Veterinária Patologista do PANLAB.
- Prof. Metry Bacila
- Prof. Ítalo Minardi (orientador)
- Profs. Ennio Luz, Gilberto Alves de Souza, Maria Consuelo Andrade Marques membros da Comissão Examinadora.
- Profs. Denise A. Kozemjakin, Luis Carlos Leite
- Alexandre Akira Takamatsu
- Dra. Marli Madalena Perozin do Banco de dados-Fitoterapia - SUS/PR
- Liliana Luisa Pizzolato-Biblioteca de Ciências Agrárias
- Tania M. Schramk e todos os funcionários da CPGCV.
- Sr. Dimitry Kozemjakim - TATY-Produções Cinematográficas Ltda
- Aos animais

SUMÁRIO

	páginas
LISTA DE FIGURAS.....	vii
RESUMO.....	xii
ABSTRACT.....	xiii
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	03
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	20
3.1 LOCAL.....	20
3.2. ANIMAL EXPERIMENTAL.....	21
3.3 MATERIAL TESTE.....	22
3.3.1. OBTENÇÃO DAS SUSPENSÕES AQUOSAS.....	23
3.4 METODOLOGIA.....	24
3.5 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	26
4. RESULTADOS.....	31
4.1 Efeitos clínicos.....	31
4.2 Variação do peso dos animais durante o experimento..	31
4.3 Alterações macroscópicas.....	36
4.4 Alterações microscópicas do estômago.....	37
4.5 Alterações microscópicas do intestino delgado.....	43
4.6 Alterações microscópicas do fígado.....	44
4.7 Alterações microscópicas dos rins.....	58
5 DISCUSSÃO.....	64
6 CONCLUSÕES.....	72
7 ANEXOS.....	74
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	79

LISTA DE FIGURAS

	páginas
1 M. <i>azedarach</i> (CINAMOMO).. UTILIZADA PARA SOMBREAMENTO EM PASTAGENS.....	17
2 M. <i>azedarach</i> (CINAMOMO) FOLHAS LONGAS, LANCEOLADAS E IMPARIPENADAS. FLÔRES PEQUENAS COM COROLAS LILÁS AZULADA, DISPOSTAS EM PANÍCULAS AXILARES. A FLORAÇÃO OCORRE DE SETEMBRO A OUTUBRO.....	18
3 M. <i>azedarach</i> (cinamomo) FRUTIFICAÇÃO EM CACHOS FORMADOS POR DRUPAS GLOBOSAS, LISAS E AMARELAS	19
4 M. <i>azedarach</i> (CINAMOMO) FRUTOS MADUROS E FOLHAS AO NATURAL E MOÍDOS APÓS DESIDRATAÇÃO EM ESTUFA.....	27
4A M. <i>azedarach</i> . (CINAMOMO). FRUTOS VERDES AO NATURAL E MOIDOS APÓS DESIDRATAÇÃO EM ESTUFA.....	28
5 SONDA OROGÁSTRICA UTILIZADA NO EXPERIMENTO: INTOXICAÇÃO EM RATOS (<i>R. norvergicus</i>) COM SUSPENSÃO AQUOSA DE FRUTOS VERDES, FRUTOS MADUROS E FOLHAS DE M. <i>azedarach</i> (CINAMOMO).....	29
6 RATO (<i>R. norvergicus</i>) RECEBENDO ATRAVÉS DA SONDA OROGÁSTRICA A SUSPENSÃO AQUOSA DE M. <i>azedarach</i> (CINAMOMO) DURANTE O EXPERIMENTO.....	30
7 VARIAÇÃO DO PESO MÉDIO (gramas) DE RATOS (<i>R. norvergicus</i>) DE CADA TRATAMENTO DURANTE O EXPERIMENTO COM SUSPENSÃO AQUOSA DE FOLHAS DE M. <i>azedarach</i> (CINAMOMO).....	33
8 VARIAÇÃO DO PESO MÉDIO (gramas) DE RATOS (<i>R. norvergicus</i>) DE CADA TRATAMENTO DURANTE O EXPERIMENTO COM SUSPENSÃO AQUOSA DE FRUTOS VERDES DE M. <i>azedarach</i> (CINAMOMO).....	34

9	VARIAÇÃO DO PESO MÉDIO (gramas) DE RATOS (<i>R. norvegicus</i>) DE CADA TRATAMENTO DURANTE O EXPERIMENTO COM SUSPENSÃO AQUOSA DE FRUTOS MADUROS DE <i>M. azedarach</i> (CINAMOMO).....	35
10	INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL EM RATOS (<i>R. norvegicus</i>) COM <i>M. azedarach</i> (CINAMOMO). CONGESTÃO HEPÁTICA.....	36
11	ESTÔMAGO DE RATO (<i>R. norvegicus</i>) INTOXICADO EXPERIMENTALMENTE COM SUSPENSÃO AQUOSA DE FRUTOS VERDES DE <i>M. azedarach</i> . REAÇÃO INFLAMATÓRIA ULCERATIVA SEVERA, HIPERQUERATOSE, HIPERPLASIA EPITELIAL COM FORMAÇÃO DE PAPILAS IRREGULARES. TRICRÔMICO DE MALLORY. Ob.10x.....	38
12	ESTÔMAGO DE RATO (<i>R. norvegicus</i>) INTOXICADO EXPERIMENTALMENTE COM SUSPENSÃO AQUOSA DE FRUTOS VERDES DE <i>M. azedarach</i> . ULCERAÇÃO E INTENSA INFILTRAÇÃO NEUTROFÍLICA, PRESENÇA DE MACRÓFAGOS E ALGUMAS CÉLULAS MONOMORFONUCLEARES. HEMATOXILINA DE HARRIS E EOSINA. Ob.40x.....	39
13	ESTÔMAGO DE RATO (<i>R. norvegicus</i>) INTOXICADO EXPERIMENTALMENTE COM SUSPENSÃO AQUOSA DE FRUTOS VERDES DE <i>M. azedarach</i> . LESÃO CARCINOMATOSA E REAÇÃO INFLAMATÓRIA NA REGIÃO AGLANDULAR. HEMATOXILINA DE HARRIS E EOSINA. Ob.10x.....	40
14	ESTÔMAGO DE (<i>R. norvegicus</i>) INTOXICADO EXPERIMENTALMENTE COM SUSPENSÃO AQUOSA DE FRUTOS VERDES DE <i>M. azedarach</i> . LESÃO CARCINOMATOSA E REAÇÃO INFLAMATÓRIA NA REGIÃO AGLANDULAR. TRICRÔMICO DE MALLORY. Ob.10x.....	41
15	ESTÔMAGO DE (<i>R. norvegicus</i>) INTOXICADO EXPERIMENTALMENTE COM SUSPENSÃO AQUOSA DE FRUTOS VERDES <i>M. azedarach</i> . LESÃO CARCINOMATOSA NA REGIÃO AGLANDULAR MOSTRANDO QUERATINIZAÇÃO CONCÊNTRICA. HEMATOXILINA DE HARRIS E EOSINA. Ob.40x.....	42

- 16 INTESTINO DE RATO (*R. norvergicus*) INTOXICADO EXPERIMENTALMENTE COM SUSPENSÃO AQUOSA DE FRUTOS VERDES DE *M. azedarach*. DESCOLAMENTO DA CAMADA EPITELIAL DO CORION DA VILOSIDADE (EDEMA)). INFILTRAÇÃO POR CÉLULAS MONOMORFONUCLEARES. HEMATOXILINA DE HARRIS E EOSINA. Ob.40x..... 43
- 17 FÍGADO DE RATO (*R. norvergicus*) INTOXICADO EXPERIMENTALMENTE COM SUSPENSÃO AQUOSA DE FRUTOS VERDES DE *M. azedarach*. NECROSE CENTROLOBULAR. HEMATOXILINA DE HARRIS E EOSINA. Ob.10x..... 45
- 18 FÍGADO DE RATO (*R. norvergicus*) INTOXICADO EXPERIMENTALMENTE COM SUSPENSÃO AQUOSA DE FRUTOS VERDES DE *M. azedarach*. EDEMA NO ESPAÇO PORTA, NECROSE DE HEPATÓCITOS, INFILTRAÇÃO MONOMORFONUCLEAR PERIVASCULAR. TRICRÔMICO DE MALLORY Ob.40x..... 46
- 19 FÍGADO DE RATO (*R. norvergicus*) INTOXICADO EXPERIMENTALMENTE COM SUSPENSÃO AQUOSA DE FRUTOS VERDES DE *M. azedarach*. MEGALOCITOSE, NECROSE DE HEPATÓCITOS ISOLADOS E NECROSE FOCAL. HEMATOXILINA DE HARRIS E EOSINA. Ob.40x..... 47
- 20 FÍGADO DE RATO (*R. norvergicus*) INTOXICADO EXPERIMENTALMENTE COM SUSPENSÃO AQUOSA DE FRUTOS VERDES DE *M. azedarach*. NECROSE CENTROLOBULAR. HEMATOXILINA DE HARRIS E EOSINA. Ob.40x..... 48
- 21 FÍGADO DE RATO (*R. norvergicus*) INTOXICADO EXPERIMENTALMENTE COM SUSPENSÃO AQUOSA DE FRUTOS VERDES DE *M. azedarach*. VACUOLIZAÇÃO CITOPASMÁTICA, NECROSE CENTROLOBULAR, DILATAÇÃO DE SINUSÓIDES. TRICRÔMICO DE MALLORY Ob.40x 49
- 22 FÍGADO DE RATO (*R. norvergicus*) INTOXICADO EXPERIMENTALMENTE COM SUSPENSÃO AQUOSA DE FRUTOS DE *M. azedarach*. NECROSE CENTROLOBULAR E HEMORRAGIA. HEMATOXILINA DE HARRIS E EOSINA Ob.40x..... 50

- 23 FÍGADO DE RATO (*R. norvergicus*) INTOXICADO
EXPERIMENTALMENTE COM SUSPENSÃO AQUOSA DE FRUTOS
VERDES DE *M. azedarach*. MEGALOCITOSE, DILATAÇÃO
DE SINUSÓIDES E HEMORRAGIA. HEMATOXILINA DE
HARRIS E EOSINA. Ob.40x..... 51
- 24 FÍGADO DE RATO (*R. norvergicus*) INTOXICADO
EXPERIMENTALMENTE COM SUSPENSÃO AQUOSA DE FRUTOS
VERDES DE *M. azedarach*. FIBROSE E INFILTRAÇÃO POR
CÉLULAS MONOMORFONUCLEARES NO ESPAÇO PORTA,
HIPERPLASIA DE DUCTOS BILIARES. HEMATOXILINA DE
HARRIS E EOSINA. Ob 40x 52
- 25 FÍGADO DE RATO (*R. norvergicus*) INTOXICADO
EXPERIMENTALMENTE COM SUSPENSÃO AQUOSA DE FRUTOS
VERDES DE *M. azedarach*. FIBRAS COLÁGENAS
IRREGULARES, HIPERPLASIA DE DUCTOS BILIARES E
INFILTRAÇÃO MONOMORFONUCLEAR NO ESPAÇO PORTA.
TRICRÔMICO DE MALLORY. Ob.40x..... 53
- 26 FÍGADO DE RATO (*R. norvergicus*) INTOXICADO
EXPERIMENTALMENTE COM SUSPENSÃO AQUOSA DE FRUTOS
VERDES DE *M. azedarach*. INFILTRAÇÃO
MONOMORFONUCLEAR NO ESPAÇO PORTA. HEMATOXILINA DE
HARRIS E EOSINA. Ob.40x..... 54
- 27 FÍGADO DE RATO (*R. norvergicus*) INTOXICADO
EXPERIMENTALMENTE COM SUSPENSÃO AQUOSA DE FRUTOS
VERDES DE *M. azedarach*. FIBRAS COLÁGENAS
IRREGULARES E HIPERPLASIA DE DUCTOS BILIARES NO
ESPAÇO PORTA. TRICRÔMICO DE MALLORY Ob.40x..... 55
- 28 FÍGADO DE RATO (*R. norvergicus*) INTOXICADO
EXPERIMENTALMENTE COM SUSPENSÃO AQUOSA DE FRUTOS
VERDES DE *M. azedarach*. REDE RETICULAR AUMENTADA
E DESARRANJADA. TÉCNICA DE RIO HORTEGA. Ob.10x... 56
- 29 FÍGADO DE RATO (*R. norvergicus*) INTOXICADO
EXPERIMENTALMENTE COM SUSPENSÃO AQUOSA DE FRUTOS
VERDES DE *M. azedarach*. REDE RETICULAR AUMENTADA
E DESARRANJADA. TÉCNICA DE RIO HORTEGA
Ob.40x..... 57
- 30 RIM DE RATO (*R. norvergicus*) INTOXICADO
EXPERIMENTALMENTE COM SUSPENSÃO AQUOSA DE FRUTOS
VERDES DE *M. azedarach*. DILATAÇÃO TUBULAR E
PRESENÇA DE PROTEÍNA NA LUZ DOS TÚBULOS
CONTORNADOS. HEMATOXILINA DE HARRIS E EOSINA
Ob.10x..... 59

- 31 RIM DE RATO (*R. norvegicus*) INTOXICADO
EXPERIMENTALMENTE COM SUSPENSÃO AQUOSA DE FRUTOS
VERDES DE *M. azedarach*. PRESENÇA DE PROTEÍNA NA
LUZ DOS TÚBULOS CONTORNADOS. HEMATOXILINA DE
HARRIS E EOSINA. Ob.40x..... 60
- 32 RIM DE RATO (*R. norvegicus*) INTOXICADO
EXPERIMENTALMENTE COM SUSPENSÃO AQUOSA DE FRUTOS
VERDES DE *M. azedarach*. PROTEÍNA NA LUZ DOS
TÚBULOS CONTORNADOS E ESPAÇO DE BOWMAN.
HEMATOXILINA DE HARRIS E EOSINA. Ob.40x..... 61
- 33 RIM DE RATO (*R. norvegicus*) INTOXICADO
EXPERIMENTALMENTE COM SUSPENSÃO AQUOSA DE FRUTOS
VERDES DE *M. azedarach*. HEMORRAGIA FOCAL.
HEMATOXILINA DE HARRIS E EOSINA. Ob.40x..... 62
- 34 RIM DE RATO (*R. norvegicus*) INTOXICADO
EXPERIMENTALMENTE COM SUSPENSÃO AQUOSA DE FRUTOS
VERDES DE *M. azedarach*. ERITRÓCITOS NA LUZ DOS
TÚBULOS CONTORNADOS E ESPAÇO DE BOWMAN.
TRICRÔMICO DE MALLORY. Ob. 40x..... 63

RESUMO

Foram avaliados os efeitos clínicos e alterações anatomopatológicas do estômago, intestino delgado, fígado e rins de ratos albinos (*Rattus norvegicus*) Wistar, machos e adultos, intoxicados experimentalmente com suspensões aquosas de folhas, frutos maduros e frutos verdes de *Melia azedarach* L., popularmente conhecida como "cinamomo", colhidos na região de Curitiba. Foram realizados três (3) experimentos, um para cada uma das partes da planta, seguindo-se a mesma metodologia. As suspensões aquosas obtidas de frutos verdes e maduros previamente desidratados e moídos e de folhas verdes e frescas trituradas com água destilada foram administradas aos ratos por via oral, uma vez ao dia durante 30 dias consecutivos. Os fragmentos dos órgãos de todos os ratos foram fixados em solução de formol a 10% e depois processados conforme técnicas histológicas. Macroscopicamente os ratos que receberam suspensão aquosa de frutos verdes apresentaram lesões ulcerativas na mucosa gástrica, congestão hepática e leve congestão no intestino delgado e no estudo histopatológico foram observados gastroenterite ulcerativa com intensa reação inflamatória e hiperplasia epitelial em 4 animais e gastroenterite catarral em todos os tratamentos, aumentando proporcionalmente para os animais que receberam a suspensão concentrada. Um dos ratos mostrou lesão carcinomatosa na mucosa gástrica. Nos fígados dos animais nos três (3) experimentos observou-se megalocitose, necrose de hepatócitos isolados e centrolobular, hemorragias focais, fibrose nos espaços Porta e hiperplasia ductal. A rede reticular do fígado estava desarranjada. O quadro renal é de nefrose. As lesões foram proporcionais à concentração da suspensão da planta, sendo mais evidentes nos animais que receberam a suspensão aquosa de frutos verdes. De acordo com os resultados obtidos no presente estudo a *Melia azedarach* L., pode ser considerada como uma planta tóxica.

ABSTRACT

Clinical effects and anatomicopathological alterations were evaluated in the stomach, small intestine, liver and kidneys of albino rats (*Rattus norvegicus*), male adults, which were intoxicated experimentally with water suspensions of leaves, mellow fruits and unripe fruits of *Melia azedarach* L., popularly known as "cinamomo", picked in the city of Curitiba. One (1) experiment was done for each part of the plant, total of three (3), following the same method. The water suspensions were obtained from mellow and unripe fruit, previously dehydrated and ground, and from fresh green leaves ground together with distillate water. They were administered to rats, orally, once a day for 30 consecutive days. The fragments of organs of these animals were fixed in a 10% formol solution and then processed in accordance to histologic techniques. In a macroscopic examination, the rats which received the water suspension of unripe fruit presented ulcerative lesions in the gastric mucosa, hepatic congestion, and a light congestion in the small intestine and in the histopathologic study they presented an ulcerative gastroenteritis with intense inflammatory reaction and epithelial hyperplasia in four (4) animals. One of the rats showed a carcinogenic lesion in the gastric mucosa. In the animals' livers, in all three (3) experiments, megalocytosis, necrosis of isolated and centrilobular hepatocytes, focuses hemorrhages, fibrosis in the Porta's spaces and ductal hyperplasia were observed. The liver's reticular net was changed. The nephric state was of nephrosis. The lesions were proportional to the concentration of the plant's suspension, being more evident in the animals which received the water suspension of green fruit. In accordance to the results obtained in the present study, the *Melia azedarach* L., can be considered a toxic plant.

1 INTRODUÇÃO

Desde os tempos mais remotos, o homem utiliza-se das várias propriedades que as plantas possuem e esses conhecimentos foram sendo transmitidos através de gerações. Entretanto, muitas informações ainda são reservadas apenas aos nativos, conhecedores da flora local. O interesse pelas propriedades, seus princípios ativos, as alterações que provocam ao nível tecidual e suas consequências resultam em inúmeras pesquisas sobre as mais variadas plantas. Porém, um dos problemas encontrados pelos pesquisadores, tem sido a dificuldade na identificação de muitas espécies, especialmente as que possuem aparência semelhantes, ou quando espécies distintas possuem o mesmo nome popular.

Não se pode estabelecer um limite exato entre "plantas tóxicas" e "plantas não tóxicas". A maioria das plantas possuem pelo menos um princípio ativo, alguns são tão pouco tóxicos que seria necessária a ingestão de uma grande quantidade da planta para produzir algum efeito nocivo. Algumas produzem substância tóxica apenas em determinadas partes ou sob determinadas condições do meio ambiente ou ainda apenas em certa fase do seu ciclo de vida. A influência do meio ambiente, tipo do solo, a utilização de corretivos e fertilizantes são de grande importância na toxicidade.

Geralmente, após um período desfavorável ao crescimento normal da planta há sempre um aumento na sua toxidez.

Há citações de que o cinamomo (*Melia azedarach* L.) é uma planta tóxica, tanto no Brasil como em outros países, entretanto, citam também como sendo inofensiva, às vezes indicada para fins medicinais.

A determinação dos princípios tóxicos do cinamomo, tem gerado muitos estudos, porém, ainda há muitas controvérsias a este respeito, pois tudo indica que tais princípios variam de uma região para outra.

No Paraná, o cinamomo está bem adaptado, encontrado em abundância, e em Curitiba é utilizado para ornamentar ruas e parques. Nas pastagens é utilizado para proporcionar sombreamento aos animais, apesar de haver relatos de criadores paranaenses de casos de intoxicações de animais domésticos pela ingestão de cinamomo.

Ainda não foi estabelecido o grau de toxidez da planta encontrada na região de Curitiba. Sendo objetivos do presente trabalho:

a-verificar se a planta possui algum princípio tóxico com ação deletéria ao organismo animal.

b-verificar qual das partes da planta estudada possui maior toxicidade, através de observações clínicas e análises anatomopatológicas.

c-verificar quais são os efeitos desses princípios tóxicos no estômago, intestino delgado, fígado e rins de

ratos (*Rattus norvegicus*), espécie escolhida para realizar o experimento.

2 REVISÃO DA LITERATURA

Melia azedarach L., é uma planta da família Meliaceae, conhecida como cinamomo, árvore santa, lilás da China, paraíso, lírio. É uma árvore vistosa que pode chegar a uma altura de mais de 10 metros. Frequentemente cultivada em algumas regiões brasileiras para ornamentar parques, margear ruas (Fig. 1) ou para proporcionar sombreamento aos animais em propriedades rurais. A planta é nativa da Pérsia, Índia e China. No Brasil encontra-se bem adaptada, muito comum na região sul e sudeste. Nas fazendas paulistas e mineiras é conhecida como "cedro-bento", "Santa Bárbara" ou "conta de Santa Bárbara", encontrada também em quase todos os países de clima tropical O CINAMOMO, 1959; MOREIRA, 1994.

Adapta-se bem em qualquer tipo de solo, reproduz com facilidade com crescimento rápido, razão pela qual recebeu o cognome de "eucalipto brasileiro"; e mesmo após a poda o brotamento é bem intenso e sua propagação se processa espontaneamente por causa da abundância da produção de sementes que possuem elevado poder germinativo de acordo com

o artigo CINAMOMO, 1983 e GUERRA, 1985. Segundo SILVA *et al.*, 1994, é uma das espécies indicadas para o programa de recomposição da vegetação das áreas devastadas das florestas ciliares no Norte do Paraná, pela sua capacidade de estabelecimento em áreas desnudas, além de rápido crescimento e grande produção de biomassa.

A planta possui folhas glabras, longas, lanceoladas e imparipenadas de intensa cor verde-brilhante na superfície superior, possui sabor amargo e odor desagradável; as flôres são pequenas, numerosas e aromáticas, possuem corola lilás-azulada ou rósea de aproximadamente 1 cm de comprimento, dispostas em panículas axilares. A época da floração ocorre de setembro a outubro com a árvore ficando coberta de flôres (Fig. 2). Produz grande quantidade de frutos dispostos em cachos que consistem em drupas globosas e lisas. Quando maduros são amarelados com polpa mole, brancacenta, de aspecto ceráceo e de sabor adocicado (Fig. 3). Seu tronco, fornece madeira semelhante à do cedro, cuja dureza aumenta com a idade. É usada na fabricação de caixas, nas obras internas como o forro, nas construções rústicas e em mourões de cerca O CINAMOMO, 1959; BETTIOL; MAIA, 1970; PLANTAS que curam, 1983; GUERRA, 1985; MOREIRA, 1994.

CARNEIRO, 1945, relata que em regiões onde existem grandes áreas de criação principalmente de bovinos como em Minas Gerais, São Paulo, a intoxicação por plantas tóxicas tem sido relevante na economia, muitas vezes acarretando

sérios prejuízos aos criadores. Esse problema geralmente aumenta quando há escassez de alimentos e as plantas que normalmente são evitadas instintivamente, são consumidas pelos animais. O autor acrescenta ainda que, em vista destas considerações, torna-se naturalmente um tanto arbitrária a distinção entre "planta tóxica" e "não tóxica". Via de regra, uma planta é considerada tóxica desde que se conheça algum caso de intoxicação, independente das condições envolvidas. A falta de definição do que seja uma planta tóxica, do ponto de vista da pecuária, faz com que de uma maneira geral no Brasil, inúmeras plantas estejam indevidamente incluídas nesta categoria. Tal fato tem causado muita confusão em torno do assunto.

Planta tóxica, sob ponto de vista pecuário, é somente aquela que, quando ingerida pelo animal em condições naturais, causa danos a sua saúde ou a morte. É evidente que só podem ser incluídas no rol das plantas tóxicas, do ponto de vista pecuário, aquelas cuja toxicidade foi comprovada experimentalmente; e é importante enfatizar isto, pois há muitas crenças populares neste campo, muitas delas profundamente arraigadas, como aquela que usa a lactescência de certas plantas como critério de toxidez TOKARNIA et al., 1979. Estima-se que pelo menos 100.000 animais se intoxicam com plantas tóxicas todos os anos no Brasil TOKARNIA et al., 1992.

O estudo das mortes em bovinos causadas por plantas tóxicas vem recebendo atenção nestes últimos 20 anos no Brasil. Na região Sudeste, o problema tem sido melhor estudado, mas também em outras regiões como no Nordeste, Sul e Centro Oeste, foram realizados inúmeros trabalhos de pesquisa sobre o assunto. Estes estudos revelaram a existência de cerca de 60 plantas comprovadamente tóxicas de importância com suas toxicidades confirmadas experimentalmente TOKARNIA et al., 1979; 1992.

Ainda para TOKARNIA et al., 1979; LAMPE, 1991, a via de administração da planta ao animal deve ser a via oral; não podendo ser incluídas entre as plantas tóxicas, do ponto de vista pecuário, aquelas em que os efeitos tóxicos foram observados após administração por outras vias como a parenteral, além de tal condição não ocorrer naturalmente, sabe-se que a ação das substâncias tóxicas varia de acordo com a via de introdução no organismo. Assim como também não podem ser consideradas, plantas que foram apenas analisadas quimicamente, pois os resultados desses estudos são em geral pouco conclusivos do ponto de vista prático.

Há muitas controvérsias quanto a natureza tóxica e da toxicidade dos componentes de *M. azedarach*. A maioria dos casos de intoxicação registrados foram acarretados pela ingestão de frutos, principalmente por crianças que morreram após ingerirem 6 a 8 frutos maduros. A morte ocorreu após alguns dias, precedida por vários sinais e sintomas como

náusea, vômito, diarreia, sonolência, convulsão e além de alterações nervosas como excitação, depressão, insuficiência cardíaca e dispnéia seguida de morte KAPLAN; SAPEIKA, 1971; OELRICHS et al. 1982.

Vários casos fatais em suínos após a ingestão de sementes de cinamomo precedida de tremores, paresia, bradicardia com extremidades frias também foram registradas por STEYN; RINDL, 1929. Na Argentina, os fazendeiros consideram os frutos inofensivos e não há casos registrados de envenenamento por esta planta; como também na Califórnia, onde as crianças costumam ingerir esses frutos; entretanto, no oeste da Índia são considerados tóxicos OELRICHS et al., 1982. No Brasil, SAMPAIO, 1916, alerta os criadores de bovinos de que os frutos de *M. azedarach* são tóxicos.

As folhas, a casca do tronco, as flores, o exocarpo e o endocarpo dos frutos possuem princípios tóxicos de natureza dos narcóticos, com ação sobre o sistema nervoso central OELRICHS et al., 1982.

Entre os animais domésticos, os suínos, são os mais susceptíveis; porém, tem sido observados casos de envenenamento em bovinos, ovinos, caprinos, coelhos, aves domésticas segundo SCHMUTZ et al., 1968; KAPLAN; SAPEIKA, 1971. Seria natural que os animais evitassem os frutos devido ao seu odor peculiar não agradável e nauseante, mas, apesar

de tudo, segundo STEYN; RINDL, 1929, frequentemente ocorrem casos de animais que os consomem.

Em muito países, inclusive no Brasil componentes da planta, como o tronco, a casca, folhas, as raízes e os frutos são indicados para fins medicinais como tônicos, estimulantes, antitérmicos e para tratamento de uma série de doenças, apesar de que, certas partes da planta são comprovadamente tóxicas KAPLAN; SAPEIKA, 1971; PLANTAS que curam, 1982; GARCIA et al., 1990. Na China os extratos da casca da árvore são usados como antihelmínticos; na África do Sul são utilizados para aliviar crises reumáticas, no tratamento de eczema e até hanseníase OELRICHS et al., 1982; ANSARI; AHMAD, 1991. A casca da raiz é eficaz contra diarreia e as folhas possuem substâncias inseticidas e são utilizadas para proteger produtos agrícolas armazenados contra ataque de insetos. Também é usada como forragem na alimentação de bovinos, ovinos e caprinos em algumas regiões da Índia, conforme afirmam em O CINAMOMO, 1959 e BRAGA, 1960.

Segundo GUERRA, 1985, o extrato alcoólico dos frutos de cinamomo é excelente para o controle especialmente de gafanhotos e outros ortópteros e pulgões (pragas de hortas, jardins e pomares).

O óleo extraído das sementes é utilizado na produção de vernizes e pastas para sapatos, na fabricação de velas e tintas, como tônico capilar e para doenças dermatológicas.

Vários povos africanos e hindus utilizam os caroços como preventivo de moléstias contagiosas e os rosários confeccionados com os caroços são utilizados nos cultos católicos e maometanos. As flôres são empregadas na indústria de perfumaria e também na apicultura; das cascas retira-se uma goma, sucedânea da goma arábica e apresenta também interessantes propriedades medicinais como estimulante, anti-helmíntico e quando empregada em doses elevadas possuem atividade abortiva KAPLAN; SAPEIKA, 1971 e no CINAMOMO, 1983. Os mesmos autores afirmam que muitos estudos tem sido conduzidos para determinar os princípios tóxicos , a toxicidade e seus efeitos em várias espécies domésticas, como também estudos sobre a provável composição das diversas partes do cinamomo.

Quanto aos princípios tóxicos, MORRISON; GRANT, 1932, citados por OELRICHS et al., 1982, concluíram que a toxina dos frutos estaria na porção resinosa e que esta toxina seria um alcalóide.

CARRATOLA, 1939. citado por OELRICHS et al., 1982, afirma que os frutos possuem além de um alcalóide denominado "azaridina", também possuem resinas, tanino, meliotânico e ácidos benzóicos e que esta toxina seria a mesma nas diferentes regiões como na Austrália, África, Ásia e América.

As folhas contém um alcalóide "paraisina" e a casca do tronco possui o alcalóide azaridina, margosina, esteróis e tanino WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1990. Outros autores como STEYN; RINDL, 1929; KAPLAN; SAPEIKA, 1971, afirmam que estes princípios tóxicos não são alcalóides, toxoalbuminas ou glicosídeos, mas provavelmente outro princípio amargo.

SRIVASTAVA, 1987, isolou das sementes da planta, um glicosídeo da classe dos limonóides denominada "meliacina" que demonstrou possuir atividade antileucêmica.

MORGAN; THORNTON, 1973, relatam que a ação inseticida das folhas e sementes de *M. azedarach* pode ser devido a presença do triterpenoide "azadirachtina", que foi isolado da *Azadirachta indica* A. Juss (Meliaceae).

Dos frutos da *Melia azedarach* L. variedade Australásica, OELRICHS et al., 1982, isolaram e caracterizaram 4 tetranortriterpenos da classe dos limonóides que denominaram de "meliatoxinas A1, A2, B1 e B2" e

concluíram que estes são os compostos responsáveis pelos sinais nervosos e pela morte dos animais intoxicados pela planta. A dose letal mediana (DL_{50}) oral dessas toxinas foi de 6,4 mg/kg para suínos e a DL_{50} intraperitoneal para camundongos foi de 16 mg/kg. Verificaram também que os princípios tóxicos mudam de uma região para outra. Essa variação foi demonstrada pela análise de frutos de diversas regiões e em algumas não foram detectadas presença de meliatoxinas, principal alcalóide de *M. azedarach*. MARDEROSIAN; LIBERTI, 1988, afirmam que os princípios tóxicos são tetranortriterpenos, assim como neurotoxinas e toxinas gastrointestinais.

OKOGUN et al., 1975, relatam que da madeira da *M. azedarach* proveniente de Ibadan, Nigéria, isolaram "melianina A" da classe das protomeliacinas.

Quanto à composição, os ácidos graxos são os principais componentes das várias partes da planta. Do óleo extraído dos frutos isolou-se ácidos mirístico, palmítico, palmitoléico, esteárico, oléico e linoléico KAPLAN; SAPEIKA, 1971. As sementes são ricas principalmente em ácidos esteárico, palmítico, oléico e linoléico WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1990.

Quanto à toxicidade, KAPLAN; SAPEIKA, 1971 e também RADELEFF, 1964; CLARKE; CLARKE, 1977, citados por HOTHÍ et al., 1975, afirmam que os frutos, especialmente a polpa é a parte mais tóxica da árvore e que os frutos maduros seriam mais tóxicos que os verdes. Porém, HOTHÍ et al., 1975, após experimentos em suínos, bezerros bubalinos, coelhos e aves concluíram que a toxicidade dos frutos decresce à medida que amadurecem.

As drupas possuem resinas pouco conhecidas que provavelmente são as causas de morte de pessoas e animais. A morte ocorre após sinais de intoxicação que incluem desde a irritação do sistema digestivo, alterações nervosas e disfunções renais BLACKWELL, 1990.

Experimentos com frutos do cinamomo utilizando suínos e ovinos demonstraram efeitos no peso corporal em apenas 0,5% dos animais; em outras pesquisas, mesmo administrando grande quantidade de frutos, não foram observados sinais ou sintomas de intoxicação. Porém, a administração de sementes por via oral e do extrato de sementes por via hipodérmica, indicaram elevada toxicidade. Apenas 200 gramas de sementes foram fatais para suínos que morreram uma hora após apresentando convulsões e sinais de apnéia, e para coelhos 60 gramas foram fatais de acordo com O CINAMOMO, 1959.

RADELEFF, R. D. **Veterinary Toxicology**. Lea and Febiger, Philadelphia, p.84, 1964 e CLARKE, E. G. C.; CLARKE, M. L. **Garner's Veterinary Toxicology**, 3.ed., Bailliere, Tindal & Cassel, London, p.384, 1977.

Autores como STEYN; RINDL, 1929 e no artigo O CINAMOMO, 1959, citam que nos experimentos onde sementes de *M. azedarach* foram administradas em cães, os animais recuperaram-se entre 11 a 24 horas. Os animais vomitaram o material ingerido logo após os primeiros sintomas, provavelmente devido a ação irritante do conteúdo sobre a mucosa gástrica STEYN; RINDL, 1929; O CINAMOMO, 1959.

Os experimentos de STEYN; RINDL, 1929, revelaram que as cabras e as mulas são as espécies mais resistentes à toxina das sementes de *M. azedarach*.

Alimentando coelhos com folhas verdes de cinamomo, mesmo em quantidades superiores a 60 gramas, estes não apresentaram sinais ou sintomas de intoxicação; entretanto 60 gramas de casca da árvore foram suficientes para matar um coelho em 2 dias e 60 gramas de flores mataram os coelhos em 5 dias. Os animais apresentaram sinais e sintomas semelhantes aos da intoxicação pelos frutos STEYN; RINDL, 1929.

Nos suínos intoxicados experimentalmente por via oral e nos camundongos intoxicados por via intraperitoneal, com extratos dos frutos contendo meliatoxinas, os sinais clínicos observados como contrações musculares, taquicardia, midríase, hipotermia, coma e morte foram semelhantes nas duas espécies. Macroscopicamente não foram observadas alterações. Porém, microscopicamente verificaram nos suínos, alterações em todo o trato digestivo que iniciavam no estômago glandular e extendiam-se por todo o intestino, com necrose celular da

área interglandular da lâmina própria particularmente na metade superficial, estas lesões foram consideradas características. No tecido linfóide dos linfonodos, na polpa branca do baço e também no trato gastrointestinal encontraram muitas células necróticas e no rim observaram número moderado de túbulos renais com conteúdo proteináceo. Nas doses subletais não foram observados sinais clínicos nem lesões nas espécies estudadas OELRICHS *et al.*, 1982.

Nos experimentos realizados por HOTHY *et al.*, 1975, foram administrados extratos aquosos e alcoólicos de sementes de *M. azedarach* em leitões, bezerros bubalinos, coelhos e aves. Segundo os autores a semente é a parte da planta que contém a forma mais concentrada da substância tóxica. No experimento os leitões apresentaram gemidos, grunhidos, anorexia, incoordenação motora, paresia e prostração; nos bezerros bubalinos observaram anorexia, dispnéia, paresia; nos coelhos houve perda de equilíbrio, convulsões e midríase e nas aves houve também perda de equilíbrio, tremores musculares e paresia. Os animais morreram dentro de 48 horas após o aparecimento dos sinais clínicos. Na necrópsia observaram alterações degenerativas e hemorrágicas no fígado, nos rins e no trato gastrointestinal das 4 espécies. Além dessas lesões, nas aves e nos bezerros bubalinos encontraram petéquias no músculo esquelético e cardíaco respectivamente. Microscopicamente observaram nas 4 espécies, necrose do parênquima hepático e renal associado com infiltração de

células monomorfonucleares e exsudação fibrino-hemorrágica nos pulmões. O baço dos leitões e dos coelhos mostraram rarefação nos folículos linfóides; e o das aves revelaram hiperplasia das células linfóides.

STEYN; RINDL, 1929 relatam que após experimento com sementes de cinamomo secas e moidas administradas em coelhos e em carneiros, observaram durante a necrópsia que o sangue apresentava coagulação parcial e a coloração era vermelha escura. As lesões variaram desde uma ligeira enterite aguda catarral até uma acentuada gastroenterite hemorrágica, cianose generalizada, congestão hepática, pulmonar e na mucosa gastrointestinal. Os carneiros apresentaram também edema na mucosa do abomaso. Nos suínos foram observados, prostração, vômito, dispnéia, respiração irregular, convulsão e morte. Na necrópsia verificaram cianose generalizada, estômago distendido por gases e hiperemia na mucosa. Microscopicamente havia degeneração gordurosa e hiperemia no fígado e rins, linfadenite purulenta e difusa.

No experimento realizado por NETTO, 1994, utilizando ovinos que receberam através da cânula ruminal durante 56 dias, folhas e frutos maduros triturados de *M. azedarach*, as alterações microscópicas observadas foram, vacuolização citoplasmática e fibrose portal no tecido hepático dos animais.

Muitas plantas tóxicas após ingeridas produzem inicialmente lesões na mucosa do aparelho digestivo ou por

ação irritante ou através das toxinas como as toxoalbuminas que se ligam às células da parede intestinal causando a morte celular. Outras toxinas depois de absorvidas lesam o tecido hepático e renal. Observam-se geralmente no fígado, alterações como megalocitose, necrose hepatocelular focal, fibrose, hiperplasia biliar e colestase canalicular. Naturalmente o grau de lesão depende de vários fatores como a espécie animal, a toxicidade do princípio tóxico, época e habitat da planta, quantidade ingerida e condições biológicas do animal LACAZ, 1953; FORSYTH, 1968; JONES; HUNT, 1986; THOMSON, 1990; HEWITT, 1991; JUBB et al., 1991; LAMPE, 1991; PLAA, 1991.

Casos de intoxicação por frutos de cinamomo em suínos e ovinos, relatados por JONES; HUNT, 1986, também apresentaram sinais como gastroenterite, diarreia e disfunções nervosas e as lesões observadas foram gastroenterite hemorrágica, necrose focal do fígado, rins, miocárdio, gânglios linfáticos e baço, congestão das meninges, hemorragia cerebral com infiltração perivascular.

Segundo CHEEKE, 1988, diversos grupos de alcalóides, além de causarem severas lesões hepáticas, muitos deles são carcinogênicos.

Não se conhece um antídoto contra intoxicação por esta planta, mas, aconselham-se purgativos oleosos que devem ser administrados o mais breve possível BETTIOL; MAIA, 1970; KAPLAN; SAPEIKA, 1971.

FIGURA 1 - *M. azedarach* (CINAMOMO). UTILIZADA PARA SOMBREAMENTO EM PASTAGENS.



FIGURA 2 - *M. azedarach* (CINAMOMO). FOLHAS LONGAS E LANCEOLADAS E IMPARIPENADAS. FLÔRES PEQUENAS COM COROLA LILÁS AZULADA, DISPOSTAS EM PANÍCULAS AXILARES. A FLORAÇÃO OCORRE DE SETEMBRO A OUTUBRO.

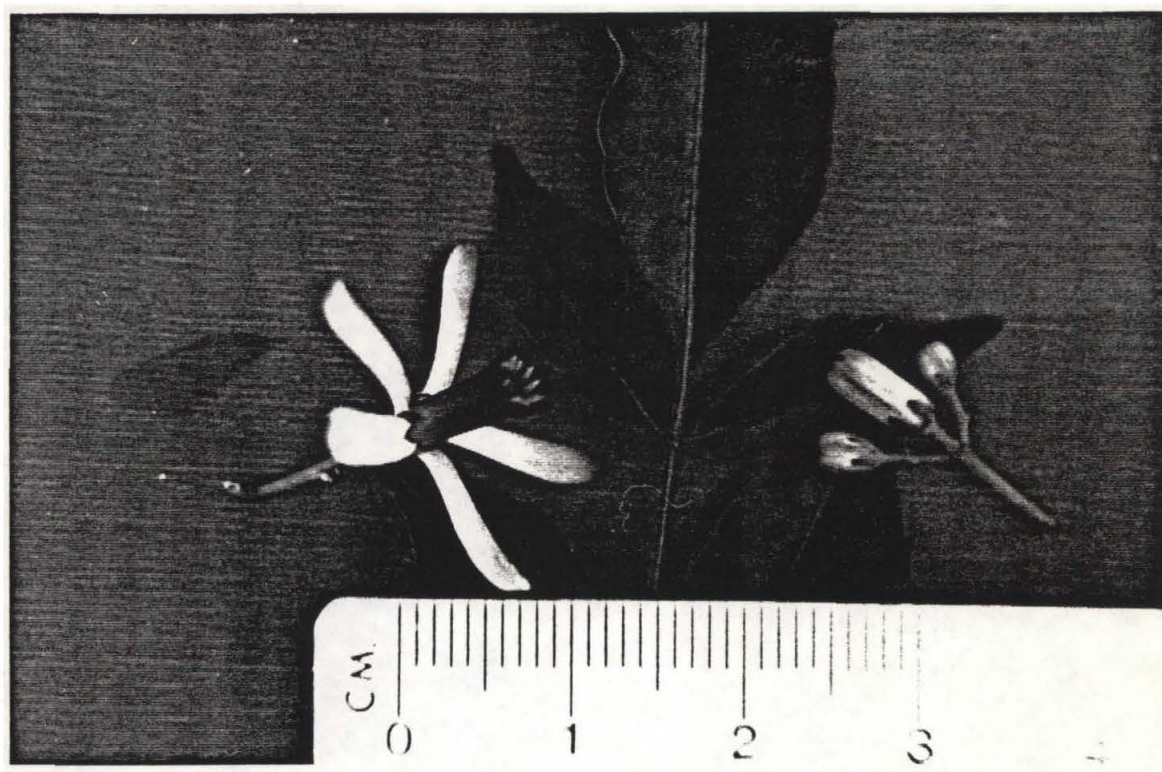


FIGURA 3 - *M. azedarach* (CINAMOMO) FRUTIFICAÇÃO EM CACHOS FORMADOS POR DRUPAS GLOBOSAS, LISAS E AMARELAS.



3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 LOCAL

O presente estudo foi desenvolvido nos seguintes locais:

- a fase experimental foi realizada no Laboratório de Ensaaios Biológicos da Divisão de Análises Biológicas do TECPAR - Instituto de Tecnologia do Paraná;

- no PANLAB-Laboratório de Patologia Animal foram realizados os exames coproparasitológicos, processamento histológico, leitura e descrição das lâminas e as fotomicrografias;

- no Laboratório de Bromatologia da Divisão de Química Orgânica do Tecpar foram realizadas as análises de aflatoxina da ração fornecida aos animais e da composição dos frutos verdes, frutos maduros e folhas do cinamomo (Anexo 1)

- no Laboratório de Nutrição e Agrostologia do Departamento de Zootecnia do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná (UFPr) os frutos verdes, maduros e folhas da planta foram desidratados e moidos.

3.2 ANIMAL EXPERIMENTAL

O modelo experimental adotado para este estudo foi rato (*Rattus norvegicus*, Berbenhout, 1796) Wistar, machos, adultos com peso inicial de 250 a 300 gramas, procedentes do biotério do Tecpar. No laboratório de ensaios, permaneceram em observação aproximadamente durante 2 semanas e depois foram separados aleatoriamente em 5 grupos com 5 animais para cada experimento e acomodados em caixas próprias. Os animais permaneceram todo o período do experimento em uma sala com temperatura de $20 \pm 2^\circ\text{C}$ e a umidade relativa do ar de 30-70% monitorados constantemente. A alimentação era fornecida *ad libbitum* durante todo o estudo, a ração peletizada própria para ratos (Nuvilab CR1 da Nuvital Nutrientes Ltda) e a água da rede pública (torneira) em bebedouros de vidro. O manejo dos animais procedeu-se conforme recomendado por HARKNESS; WAGNER, 1993 e MANUAL para técnicos em animais de laboratório, 1994.

O resultado da pesquisa de aflatoxina realizada na ração consumida pelos ratos foi negativa (Aflatoxina não detectada a nível de $4 \mu\text{g}/\text{kg}$), AOAC, 1984. A aflatoxina é uma micotoxina produzida por fungos, comum em alimentos armazenados em locais com condições propícias para desenvolvimento de fungos. Uma vez ingeridas, essas toxinas causam lesões em vários órgãos principalmente no fígado.

Durante o período de adaptação dos animais realizaram-se dois exames coproparasitológicos. O primeiro exame acusou presença de raros oocistos de *Eimeria* e o outro exame realizado após a administração de VETOCOC SM (A Quimica Santa Marina S.A.). A solução foi preparada conforme a dosagem recomendada e fornecida aos animais nos bebedouros no lugar da água.

No laboratório, as amostras de fezes foram preparadas pelas técnicas de sedimentação e flutuação: Métodos de Willis-Mollay; Hoffmann-Pons e Janer; Faust e cols., e examinadas. O exame realizado 5 dias após a administração do coccidicida teve resultado negativo.

Durante o período do experimento todos os animais foram observados diariamente e as alterações apresentadas foram registradas.

O peso de cada rato foi aferido e registrado em um total de 5 pesagens. Após o término do experimento foram analisados através de gráficos e estatisticamente (Figs. 31, 32, 33 e Anexos 2, 3 e 4).

3.3 MATERIAL TESTE

As partes da planta avaliadas neste estudo foram os frutos verdes, frutos maduros e folhas de *Melia azedarach* L. colhidos na região de Curitiba (Fig. 1).

A identificação da planta foi realizada pelo Prof. Gerdt Hatschbach, do Museu Botânico de Curitiba.

Logo após a colheita, os frutos foram colocados em estufa a 40°C com ar circulante sobre uma folha de papel durante aproximadamente 3 semanas e depois de desidratados foram moídos em moinho próprio (Standard Modelo n.3 Willey Mill USA com peneira 4275 C $\frac{1}{2}$ mm). Após a moagem obteve-se um produto farináceo de coloração acastanhada com odor nauseante característico, estes materiais permaneceram em um recipiente de vidro ao abrigo da luz, calor e umidade até o momento da utilização.

Para o experimento com folhas, diariamente folhas verdes e frescas foram colhidas e trituradas com água destilada no liquidificador. Para a análise química, as folhas foram desidratadas, moídas seguindo-se o mesmo procedimento dos frutos e conservadas em um frasco de vidro ao abrigo da luz até o momento da análise (Figs. 4A, 4B).

3.3.1 OBTENÇÃO DAS SUSPENSÕES AQUOSAS

3.3.1.a. Dos frutos verdes e dos frutos maduros: diariamente, 5 gramas do material moído foram misturados em 50 ml de água destilada e colocados na estufa a 37°C, durante 24 horas, obtendo-se um produto de coloração acastanhada que era peneirada antes da administração.

3.3.1.b. Das folhas verdes: diariamente 20 gramas de folhas verdes e frescas eram colhidas e trituradas em

liquidificador com 50 ml de água destilada e mantidas na estufa a 37°C, durante 24 horas, obtendo-se um produto de coloração verde escuro com odor forte e característico que era peneirado antes da administração.

3.4 METODOLOGIA

Realizaram-se três (3) experimentos distintos num Delineamento Experimental Inteiramente Casualizado com 5 tratamentos (T-1, T-2, T-3, T-4 e T-5) e 5 repetições por tratamento (5 animais por grupo, 25 ratos para cada experimento), para cada uma das partes da planta, seguindo a mesma metodologia.

-Os animais do tratamento 1 (T-1), receberam a suspensão aquosa concentrada.

-Os animais do tratamento 2 (T-2) receberam a suspensão aquosa diluída em água destilada na proporção de 1:2.

-Os animais do tratamento 3 (T-3) receberam a suspensão aquosa diluída em água destilada na proporção de 1:3.

-Os animais do tratamento 4 (T-4) receberam a suspensão aquosa diluída em água destilada na proporção de 1:5.

-Os animais do tratamento 5 (T-5) "testemunha" receberam somente água destilada.

A administração diária durante 30 dias consecutivos uma vez ao dia, das suspensões e da água destilada nos ratos, por via intragástrica, foi através de uma sonda orogástrica confeccionada com uma sonda uretral n.10, plástica e flexível adaptada em uma seringa de vidro de 5 ml (Figs. 5 e 6). O volume constante administrado para cada animal foi de 3 ml para todos os experimentos.

O esquema da diluição e da administração para cada tratamento para os três (3) experimentos são apresentados na tabela abaixo:

TABELA 1 - ESQUEMA DE DILUIÇÃO DA SUSPENSÃO AQUOSA DE FOLHAS, FRUTOS VERDES E FRUTOS MADUROS DE *M. azedarach* PARA CADA TRATAMENTO

Tratamentos (T)	Suspensão aquosa concentrada	Água destilada.	Proporção da suspensão aquosa concentrada	Volume administrado para cada rato
T-1	sem diluir	-	concentrado	3 ml
T-2	5 ml	5 ml	1:2	3 ml
T-3	5 ml	10 ml	1:3	3 ml
T-4	5 ml	20 ml	1:5	3 ml
T-5 testemunha	-	somente água	-	3 ml

TABELA 2 - QUANTIDADE ADMINISTRADA (gramas) POR DIA PARA CADA ANIMAL.

	T-1	T-2	T-3	T-4	T-5
FOLHAS	1.2	0.6	0.4	0.24	somente água dest.
FRUTOS VERDES e MADUROS	0.3	0.15	0.1	0.06	somente água dest.

Todos os ratos do experimento foram sacrificados através de inalação com éter (Éter sulfúrico, Biophar, Anadiol Ind. e Com de Produtos Químicos Ltda) e fixados em uma prancha de isopor. Após a exposição da cavidade abdominal, torácica e cranial procedeu-se o exame macroscópico dos órgãos.

Fragmentos do estômago, intestino delgado, fígado e rins foram fixados em solução de formol a 10%, recortados, desidratados, diafanizados, incluídos em parafina, recortados a 5 μ m (micrômetros) de espessura e corados pelas técnicas de Hematoxilina de Harris e Eosina; Tricrômico de Mallory; Hematoxilina de Verhoeff, para fibras elásticas e pelo método de Rio Hortega para fibras reticulares segundo MICHALANY, 1980; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1990. Após análise microscópica, as lâminas selecionadas foram fotomicrografadas (Figs. 7-30).

3.5 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os experimentos foram conduzidos utilizando Delineamento Experimental Inteiramente Casualizado.

Para a interpretação estatística dos resultados obtidos nos experimentos, foram utilizadas as seguintes análises estatísticas:

- Teste de Shapiro-Wilk, para avaliar se os dados obedecem uma distribuição normal, pré requisito importante

para utilização da ANOVA (análise da variância) e uma vez comprovada a validade passa-se para a ANOVA que testa a homogeneidade de duas (2) ou mais médias.

Em todos os testes aplicados a nível de confiabilidade de 95% ou seja, a probabilidade de $p < \text{ou} = 0.05$ considerada capaz de revelar alterações estatisticamente significantes para as análises realizadas de acordo com SNEDECOR; COCHRAN, 1967.

FIGURA 4 - *M. azedarach* (CINAMOMO) FRUTOS MADUROS E FOLHAS AO NATURAL E MOÍDOS APÓS DESIDRATAÇÃO EM ESTUFA.



FIGURA 4A - *M. azedarach* (CINAMOMO) FRUTOS VERDES AO NATURAL E MOÍDOS APÓS DESIDRATAÇÃO EM ESTUFA.



FIGURA 5 - SONDA OROGÁSTRICA UTILIZADA NO EXPERIMENTO:
INTOXICAÇÃO EM RATOS (*R. norvegicus*) COM
SUSPENSÃO AQUOSA DE FRUTOS VERDES; FRUTOS
MADUROS E FOLHAS DE *M. azedarach* (CINAMOMO).

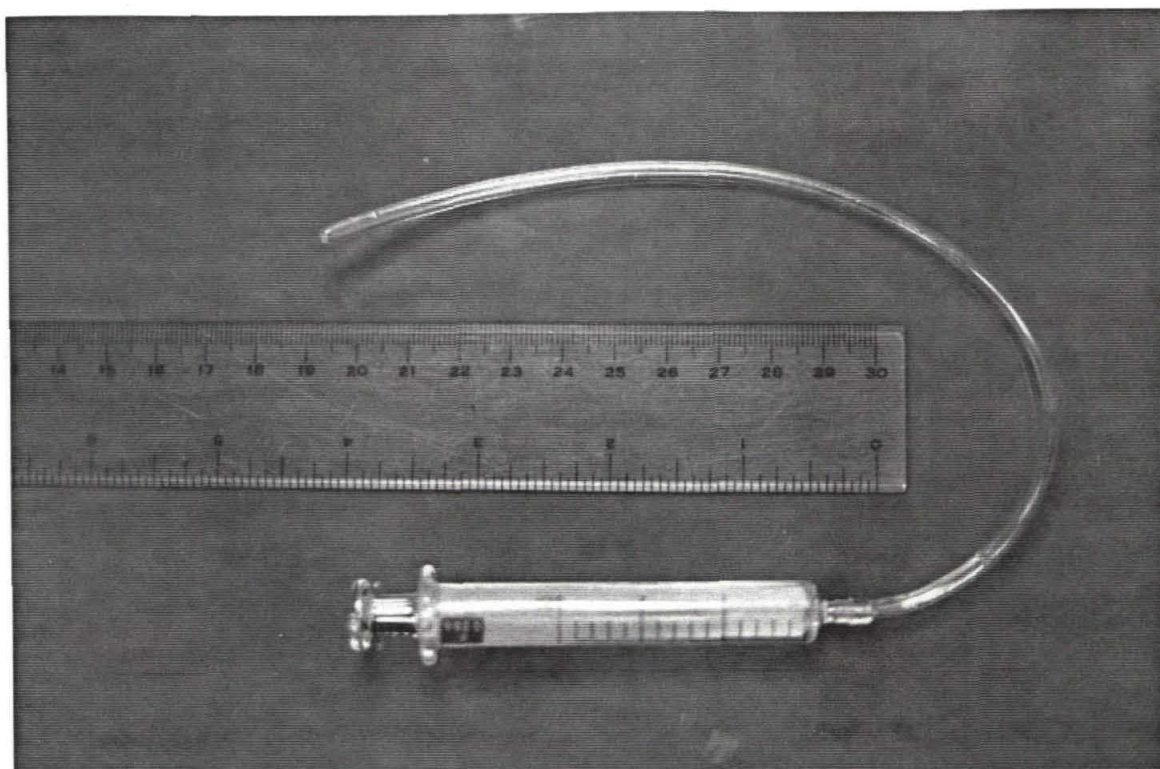


FIGURA 6 - RATO (*R. norvegicus*)
RECEBENDO ATRAVÉS DA SONDA
OROGÁSTRICA, A SUSPENSÃO
AQUOSA DE M. azedarach
DURANTE O EXPERIMENTO.



4 RESULTADOS

4.1 Efeitos clínicos

A partir da 2^o semana do experimento com frutos verdes, clinicamente três (3) animais do tratamento 1 (T-1) e um (1) animal do tratamento 2 (T-2) apresentaram pêlos arrepiados, apatia, inapetência e perda de peso. Na 3^o semana, após examinados externamente e os pesos aferidos, estes animais foram sacrificados através de inalação com éter.

Os ratos do experimento com frutos maduros apresentaram fezes amolecidas e de coloração levemente mais clara que as fezes normais no início do experimento. Estas voltaram a ter consistência e cor normal após 3-4 dias, aparentemente não foi observada qualquer outra anormalidade.

Não foram observados sinais clínicos nos animais do experimento com folhas.

4.2. Variação do peso dos animais durante o experimento

Os gráficos das figuras 7, 8, 9 apresentam as variações do peso médio dos ratos em gramas de cada tratamento durante todo o período do experimento. Realizou-se um total de cinco (5) pesagens para cada estudo.

Observa-se nos três (3) experimentos, que a média dos animais do tratamento 5 (testemunha) que receberam somente água destilada apresenta variação de peso superior aos animais dos tratamentos que receberam as suspensões aquosas.

No experimento com folhas, houve somente diferença estatisticamente significativa, entre o peso dos animais do tratamento T-1 que recebeu a suspensão concentrada com o peso dos animais do tratamento T-5 (testemunha). E o efeito das doses intermediárias nos animais dos tratamentos T-2, T-3 e T-4, foram consideradas homogêneas, tanto se comparadas com o T-1 como com T-5 (testemunha) (Fig. 7 e Anexo 2).

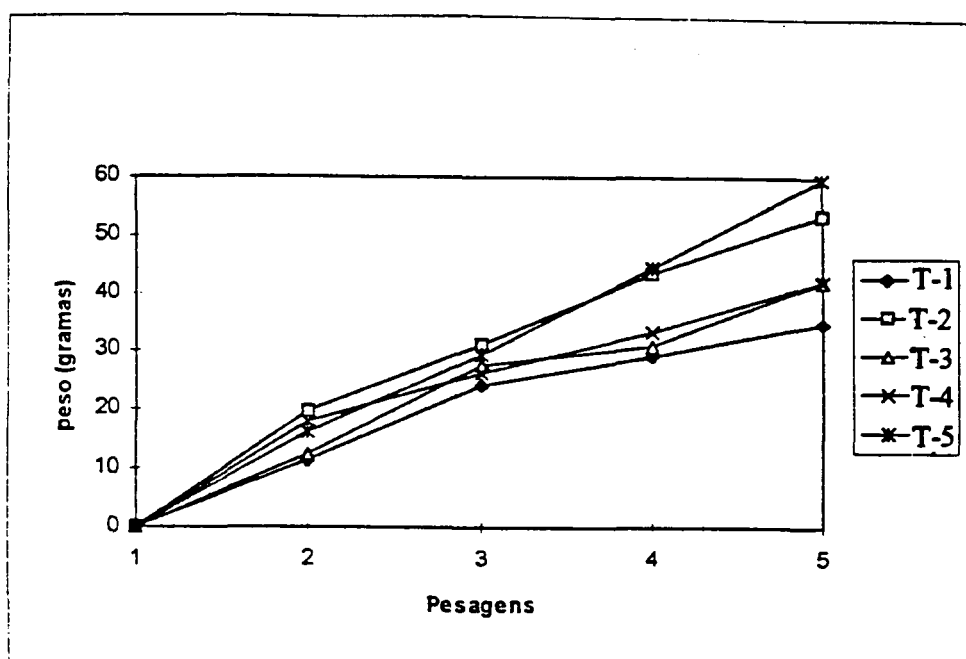
Quanto à análise estatística em relação ao efeito peso observou-se que no experimento com frutos verdes, houve uma anormalidade no tratamento-1 (T-1) que recebeu a suspensão concentrada; dois (2) animais que sobreviveram até o final do estudo do total de 5 iniciais, apresentavam peso acima da média, fazendo com que a média final da variação do peso deste grupo ficasse muito acima do normal (Fig. 8 e Anexo 3)

Quanto às médias das variações dos pesos dos animais dos tratamentos T-2 e T-3, do experimento com frutos verdes são estatisticamente diferentes dos animais do tratamento T-5 (testemunha) e a dos animais do tratamento T-4 é considerado estatisticamente homogênea, mas visivelmente diferente com o grupo testemunha. Observa-se também no experimento que,

quanto mais diluído o produto, o efeito (média das variações dos pesos) está mais próximo ao controle.

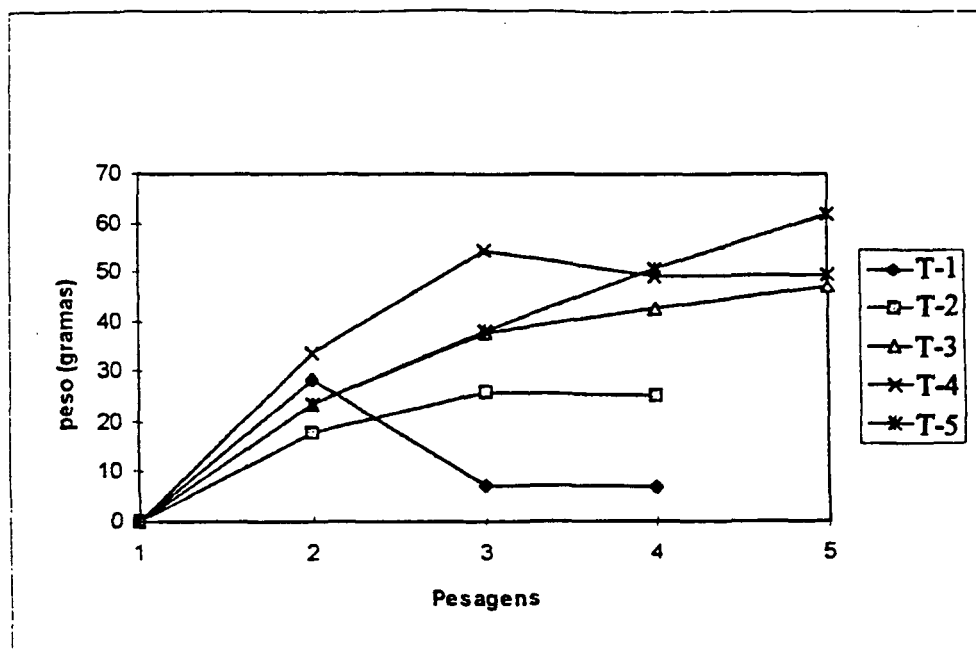
Quanto à variação do peso dos animais dos tratamentos T-1, T-2, T-3 e T-4 do experimento com frutos maduros não apresentou diferença significativa com o tratamento T-5 (testemunha) (Fig. 9 e Anexo 4).

FIGURA 7 - VARIAÇÃO DO PESO MÉDIO (gramas) DE RATOS (*R. norvegicus*) DE CADA TRATAMENTO DURANTE O EXPERIMENTO COM SUSPENSÃO AQUOSA DE FOLHAS DE *M. azedarach* (CINAMOMO).



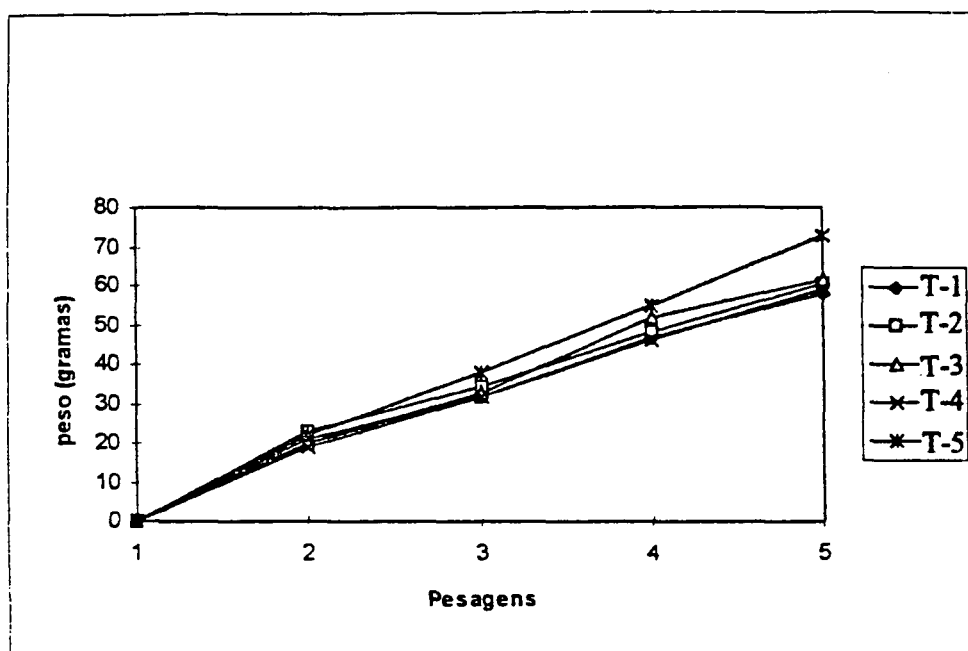
	1°	2°	3°	4°	5°
T-1	0	11,6	24,3	29,1	34,8
T-2	0	19,7	31,3	43,2	53,3
T-3	0	12,6	27,6	31	41,8
T-4	0	17,9	26,2	33,3	41,9
T-5	0	16,4	29,6	44,5	59,5

FIGURA 8 - VARIAÇÃO DO PESO MÉDIO (gramas) DE RATOS (*R. norvegicus*) DE CADA TRATAMENTO DURANTE O EXPERIMENTO COM SUSPENSÃO AQUOSA DE FRUTOS VERDES DE *M azedarach* (CINAMOMO).



	1º	2º	3º	4º	5º
T-1	0	28,4	7,3	7,1	-
T-2	0	18	26	25,4	-
T-3	0	23,5	38	42,6	47,4
T-4	0	33,7	54,7	49,2	49,7
T-5	0	23,6	38,4	50,9	61,9

FIGURA 9 - VARIAÇÃO DO PESO MÉDIO (gramas) DE RATOS (*R. norvegicus*) DE CADA TRATAMENTO DURANTE O EXPERIMENTO COM SUSPENSÃO AQUOSA DE FRUTOS MADUROS DE *M. azedarach* (CINAMOMO).



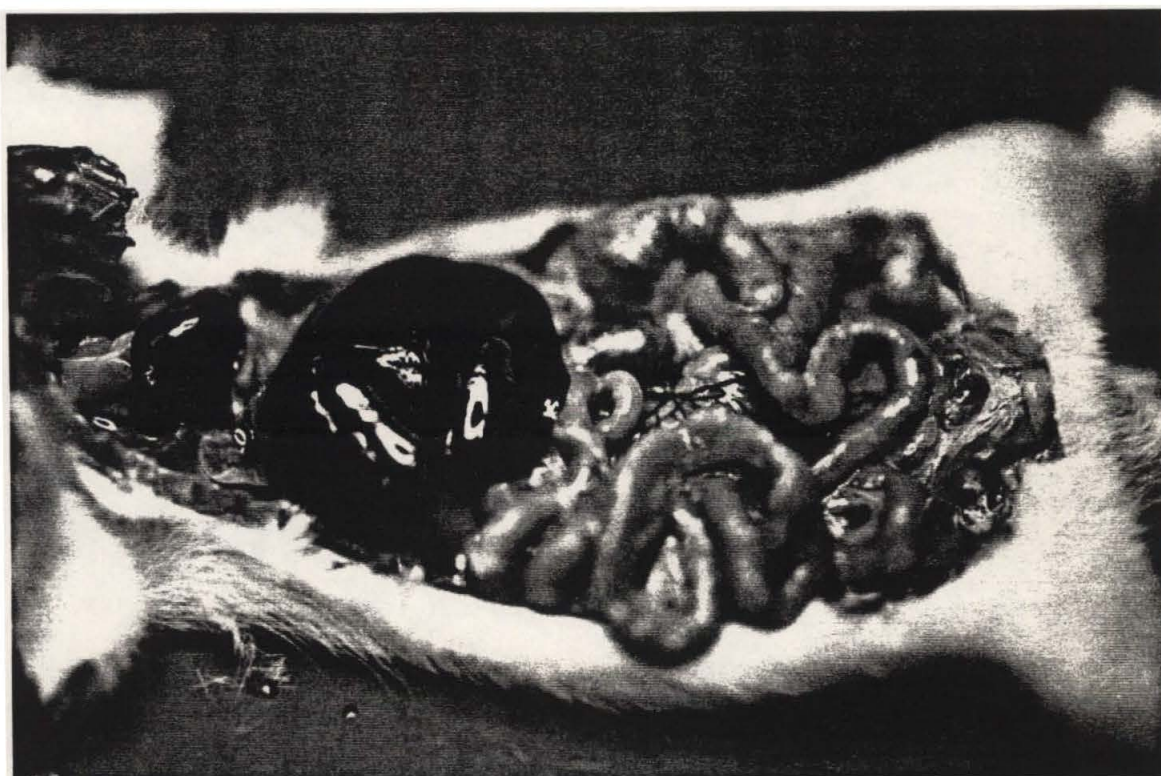
	1°	2°	3°	4°	5°
T-1	0	20,9	31,6	46,9	58,2
T-2	0	23	34,4	48,1	60,3
T-3	0	19,8	33	51,8	61,6
T-4	0	19,1	31,7	45,9	58,8
T-5	0	22	38,1	55,1	72,7

4.3 Alterações macroscópicas

Ao exame macroscópico os animais que foram sacrificados antes do término do período do experimento com frutos verdes, apresentaram a mucosa gástrica avermelhada com ulcerações na região aglandular e os fígados congestos (Fig. 10). Os intestinos delgados apresentaram leve congestão e os rins não mostraram alterações.

Os animais dos experimentos com folhas, frutos verdes e frutos maduros que foram sacrificados após o término do estudo, ao exame macroscópico verificou-se congestão nos fígados (Fig. 10) e leve congestão gastrointestinal nos animais que receberam suspensão aquosa de frutos verdes.

**FIGURA 10 - INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL EM RATOS
(*R. norvegicus*) COM *M. azedarach* (CINAMOMO).
CONGESTÃO HEPÁTICA.**



4.4 Alterações microscópicas do estômago

Microscopicamente, a mucosa gástrica de todos os animais que receberam a suspensão aquosa de frutos verdes mostra hiperemia e leve infiltração linfoplasmocitária, na submucosa observa-se numerosos neutrófilos. Observa-se um grande número e figuras de mitose no epitélio glandular. As alterações mais acentuadas estão na região aglandular onde existem hiperqueratose e hiperplasia epitelial, em algumas áreas há formação de papilas irregulares que se aprofundam no corion. Existem áreas com total perda epitelial com os bordos em regeneração (Figs.11 e 12). No corion, existem hiperemia, edema, infiltração histiolinfoplasmocitária. Na região com perda epitelial é intensa a exsudação neutrofílica, às vezes se aprofundando nas túnicas musculares. Nessa mesma região observam-se áreas com hemorragia. Em um (1) animal do tratamento 2 (T-2) do experimento com frutos verdes, adjacente à região ulcerada, observa-se proliferação epitelial irregular, formando cordões e queratinização concêntrica com características de uma lesão carcinomatosa (Figs. 13, 14 e 15).

Em quatro (4) animais, (3 ratos do tratamento 1 e 1 rato do tratamento 2) do experimento com frutos verdes, observam-se infiltração histiolinfoplasmocitária e exsudação

neutrofílica na serosa e a reação inflamatória compromete todas as túnicas gástricas.

A lesão gástrica é semelhante nos demais animais dos tratamentos T-1 e T-2 que receberam a suspensão aquosa de frutos verdes, com exceção do animal do tratamento 2 que apresenta lesão carcinomatosa. Nos animais dos tratamentos 3 e 4, não há ulcerações na mucosa gástrica, apenas apresenta reação inflamatória variando de intensidade proporcionalmente a diluição da suspensão aquosa.

FIGURA 11 - ESTÔMAGO DE RATO (*R. norvegicus*) INTOXICADO EXPERIMENTALMENTE COM SUSPENSÃO AQUOSA DE FRUTOS VERDES DE *M. azedarach*. REAÇÃO INFLAMATÓRIA ULCERATIVA SEVERA (▶) HIPERQUERATOSE (—▶) HIPERPLASIA EPITELIAL COM FORMAÇÃO DE PAPILAS IRREGULARES (—▶). TRICRÔMICO DE MALLORY. Ob.10x.



FIGURA 12 - ESTÔMAGO DE RATO (*R. norvegicus*) INTOXICADO EXPERIMENTALMENTE COM SUSPENSÃO AQUOSA DE FRUTOS VERDES DE *M. azedarach*. ULCERAÇÃO E INTENSA INFILTRAÇÃO NEUTROFÍLICA, PRESENÇA DE MACRÓFAGOS E ALGUMAS CÉLULAS MONOMORFONUCLEARES (→) HEMATOXILINA DE HARRIS E EOSINA. Ob.40x.

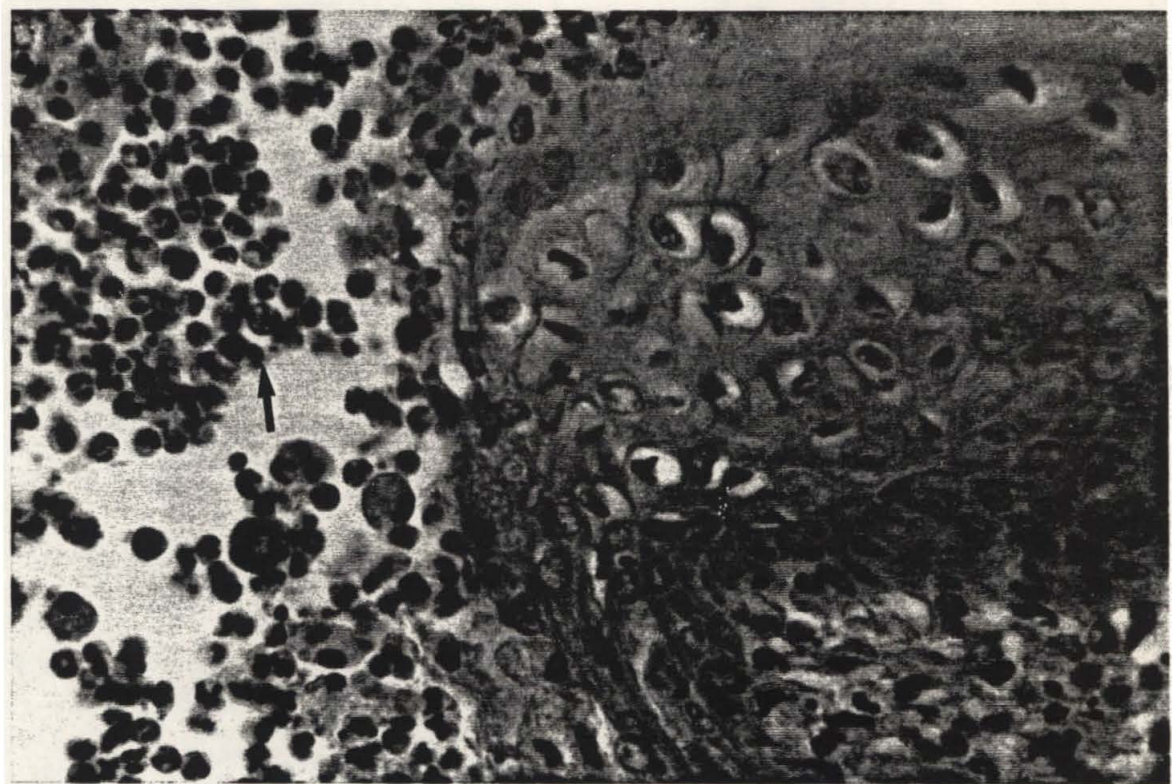


FIGURA 13 - ESTÔMAGO DE RATO (*R. norvegicus*) INTOXICADO EXPERIMENTALMENTE COM SUSPENSÃO AQUOSA DE FRUTOS VERDES DE *M. azedarach*. LESÃO CARCINOMATOSA (▶) E REAÇÃO INFLAMATÓRIA NA REGIÃO AGLANDULAR (→)
HEMATOXILINA DE HARRIS E EOSINA. Ob.10x.

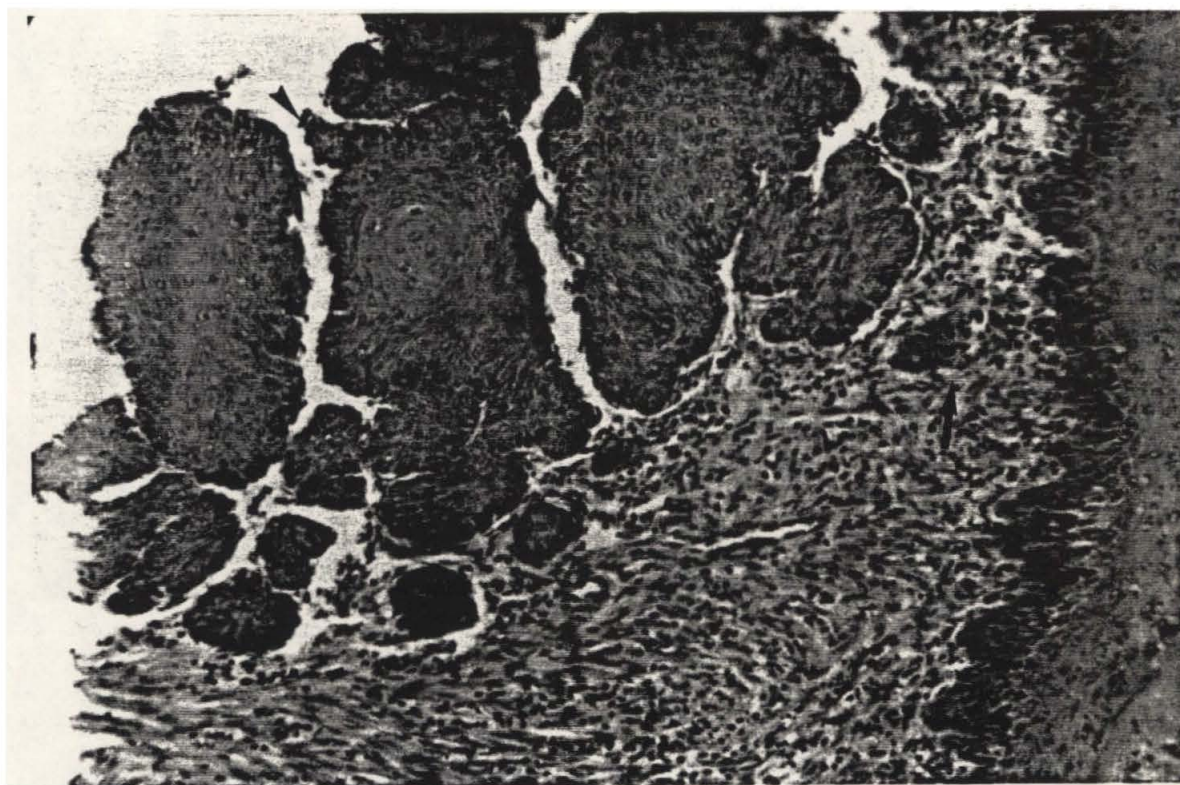


FIGURA 14 - ESTÔMAGO DE RATO (*R. norvegicus*) INTOXICADO EXPERIMENTALMENTE COM SUSPENSÃO AQUOSA DE FRUTOS VERDES DE *M. azedarach*. LESÃO CARCINOMATOSA (→) E REAÇÃO INFLAMATÓRIA NA REGIÃO AGLANDULAR (▷).

TRICRÔMICO DE MALLORY. Ob.10x.

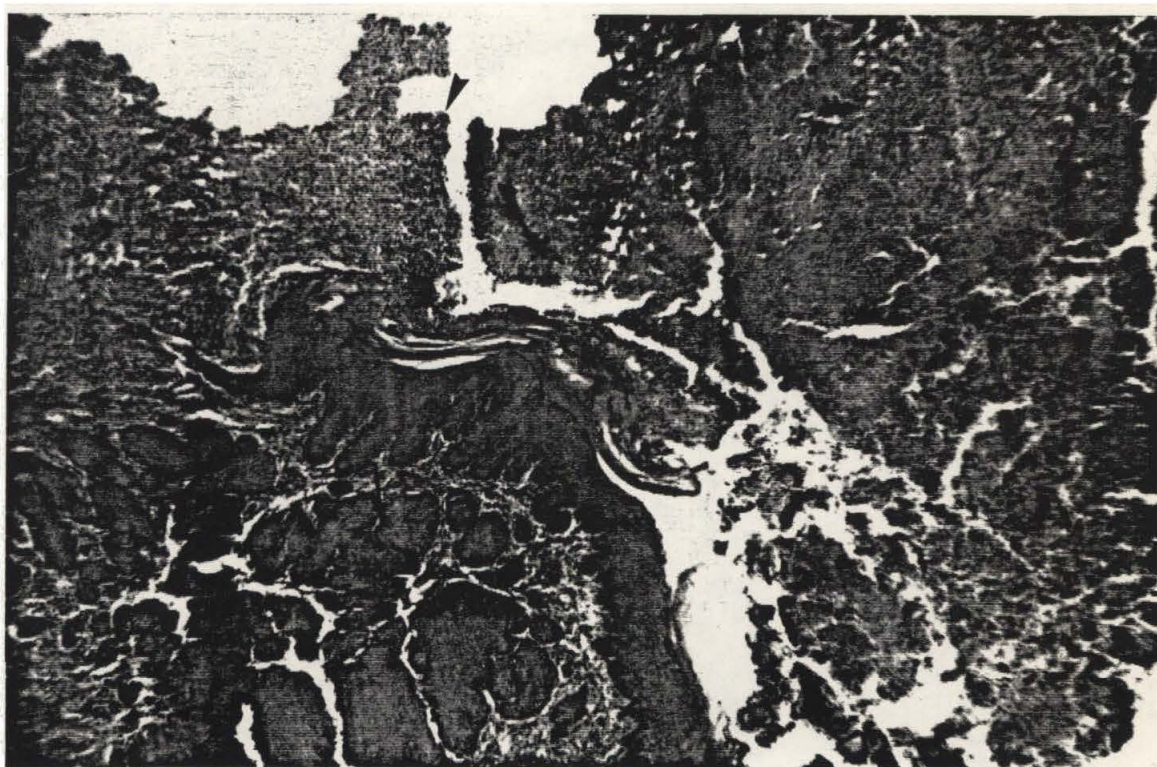
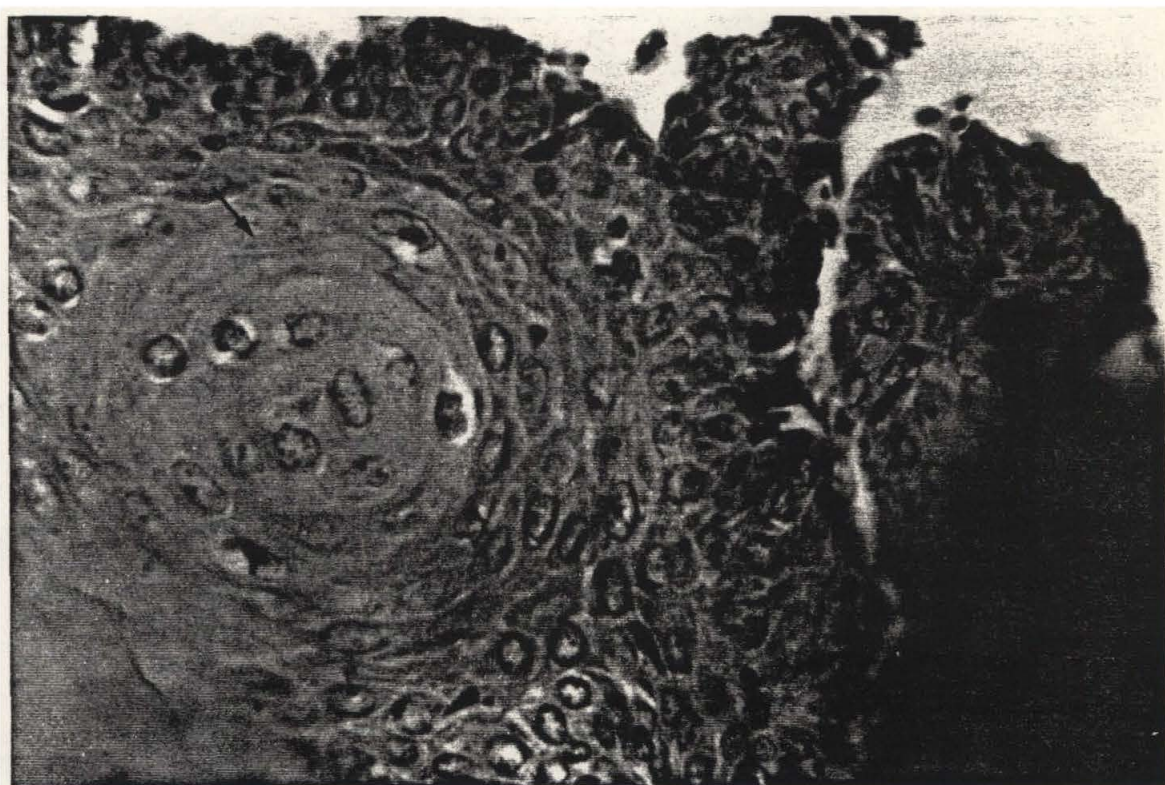


FIGURA 15 - ESTÔMAGO DE RATO (*R. norvegicus*) INTOXICADO EXPERIMENTALMENTE COM SUSPENSÃO AQUOSA DE FRUTOS VERDES DE *M. azedarach*. LESÃO CARCINOMATOSA NA REGIÃO AGLANDULAR MOSTRANDO QUERATINIZAÇÃO CONCÊNTRICA (→) HEMATOXILINA DE HARRIS E EOSINA. Ob.40x.



4.5 Alterações microscópicas do intestino delgado

Os cortes de intestinos mostram hiperemia e leve infiltração linfoplasmocitária na túnica mucosa, há hiperplasia de células caliciformes e as vilosidades estão preservadas assim como o bordo em escova. Alguns cortes mostram descolamento da camada epitelial do corion das vilosidades (Fig.16). Em alguns cortes a infiltração linfoplasmocitária e exsudação neutrofílica estão acentuadas na túnica mucosa. A intensidade das alterações é proporcional à concentração da suspensão aquosa da planta ingerida, sendo mais acentuadas nos animais do tratamento 1 (T-1) que receberam a suspensão de frutos verdes mais concentrada.

FIGURA 16 - INTESTINO DE RATO (*R. norvegicus*) INTOXICADO EXPERIMENTALMENTE COM SUSPENSÃO AQUOSA DE FRUTOS VERDES DE *M. azedarach*. DESCOLAMENTO DA CAMADA EPITELIAL DO CORION DA VILOSIDADE (EDEMA) (\rightarrow), INFILTRAÇÃO POR CÉLULAS MONOMORFONUCLEARES (\blacktriangleright). HEMATOXILINA DE HARRIS E EOSINA. Ob.40x.



4.6 Alterações microscópicas do fígado

Ao exame microscópico, os cortes de fígados dos animais que receberam suspensão aquosa de frutos verdes, mostram hiperemia, acentuada megalocitose, os nucléolos são proeminentes, muitas vezes múltiplos, até em número de quatro. Há necrose de hepatócitos isolados, necrose centrolobular moderada, às vezes existem áreas com necrose sem localização lobular preferencial (Fig. 17). Observam-se também áreas com vacuolização citoplasmática na região centrolobular e hemorragias focais nessa mesma região (Figs. 18, 19, 20, 21, 22 e 23). Raros eritrócitos também são observados nos espaços de Disse. Há leve fibrose, fibras colágenas irregulares nos espaços Porta com infiltração linfoplasmocitária e às vezes há hiperplasia de ductos biliares (Figs. 24, 25, 26 e 27).

A rede reticular em relação ao tratamento testemunha, está aumentada em quantidade e apresenta-se desarranjada (Figs 28 e 29). Com relação às fibras elásticas, estas não apresentam alterações.

Os animais desse mesmo grupo que receberam suspensão aquosa de folhas apresentam essas mesmas alterações microscópicas, porém menos acentuadas que os animais que receberam suspensão aquosa de frutos verdes. Entretanto, os animais que receberam a suspensão aquosa de frutos maduros

apresentam essas alterações com menos intensidade em relação aos que receberam suspensão aquosa de folhas.

Focos histiolinfoplasmocitários isolados sem localização lobular preferencial também são observados em animais que receberam suspensão aquosa de frutos maduros. Esses mesmos focos, em geral localizados ao redor de vasos de pequeno calibre são observados em quatro (4) animais do tratamento (T-1) que receberam suspensão aquosa de folhas.

FIGURA 17 - FÍGADO DE RATO (*R. norvegicus*) INTOXICADO EXPERIMENTALMENTE COM SUSPENSÃO AQUOSA DE FRUTOS VERDES DE *M. azedarach*. NECROSE CENTROLOBULAR (▶). HEMATOXILINA DE HARRIS E EOSINA. Ob.10x.

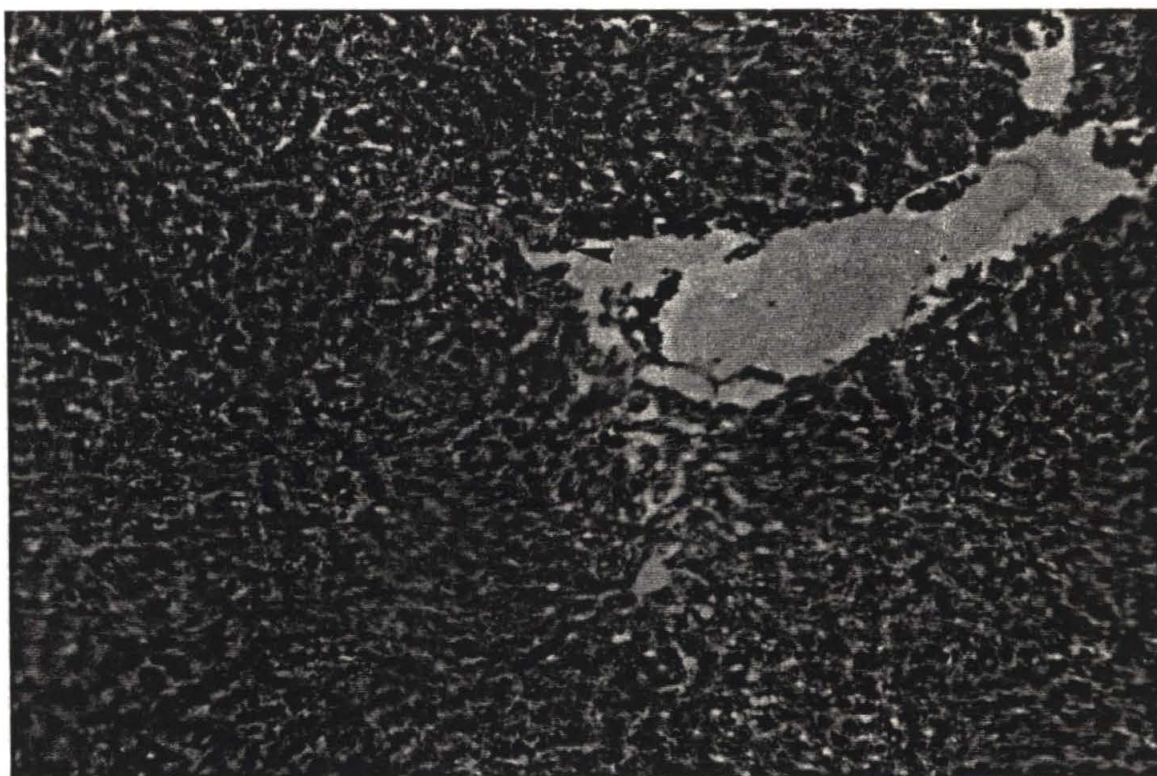


FIGURA 18 - FÍGADO DE RATO (*R. norvegicus*) INTOXICADO EXPERIMENTALMENTE COM SUSPENSÃO AQUOSA DE FRUTOS VERDES DE *M. azedarach*. EDEMA NO ESPAÇO PORTA (➤), NECROSE DE HEPATÓCITOS (◆), INFILTRAÇÃO MONOMORFONULAR PERIVASCULAR (➡). TRICRÔMICO DE MALLORY. Ob.40x.

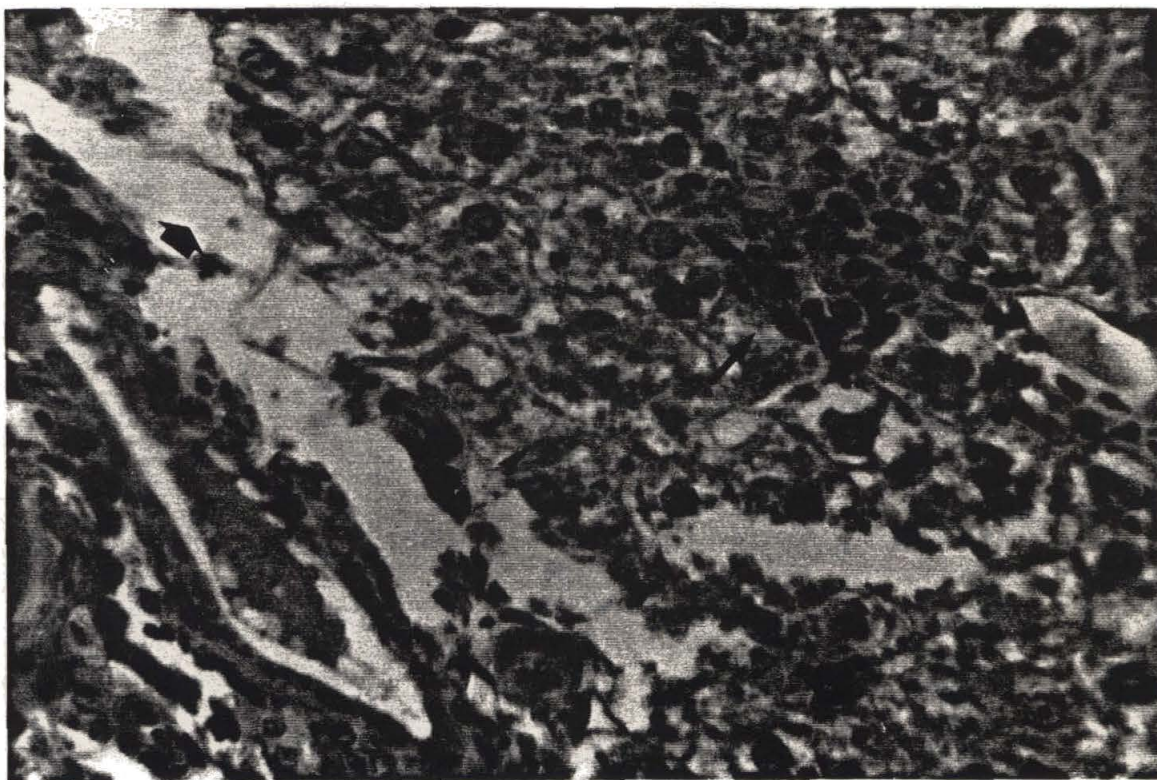


FIGURA 19 - FÍGADO DE RATO (*R. norvegicus*) INTOXICADO EXPERIMENTALMENTE COM SUSPENSÃO AQUOSA DE FRUTOS VERDES DE *M. azedarach*. MEGALOCITOSE (→), NECROSE DE HEPATÓCITOS ISOLADOS (▷) E NECROSE FOCAL (▷). HEMATOXILINA DE HARRIS E EOSINA. Ob.40x.

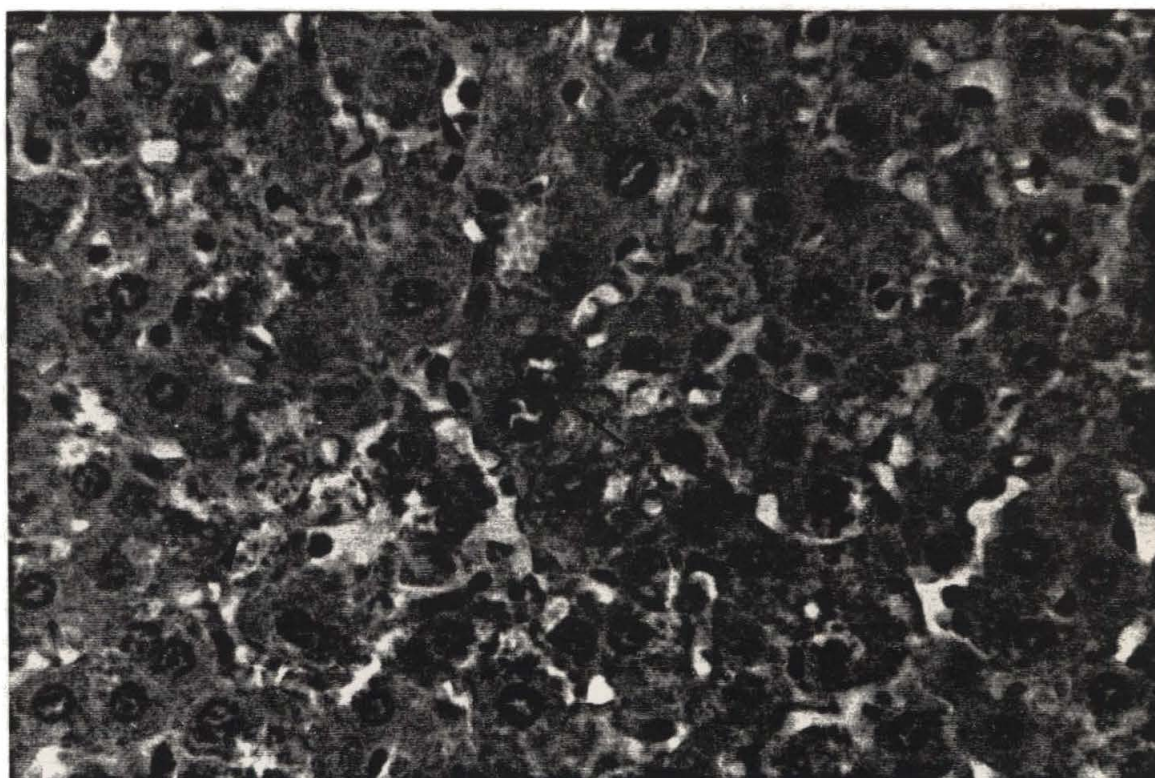


FIGURA 20 - FÍGADO DE RATO (*R. norvegicus*) INTOXICADO EXPERIMENTALMENTE COM SUSPENSÃO AQUOSA DE FRUTOS VERDES DE *M. azedarach*. NECROSE CENTROLOBULAR (→). HEMATOXILINA DE HARRIS E EOSINA. Ob. 40x.

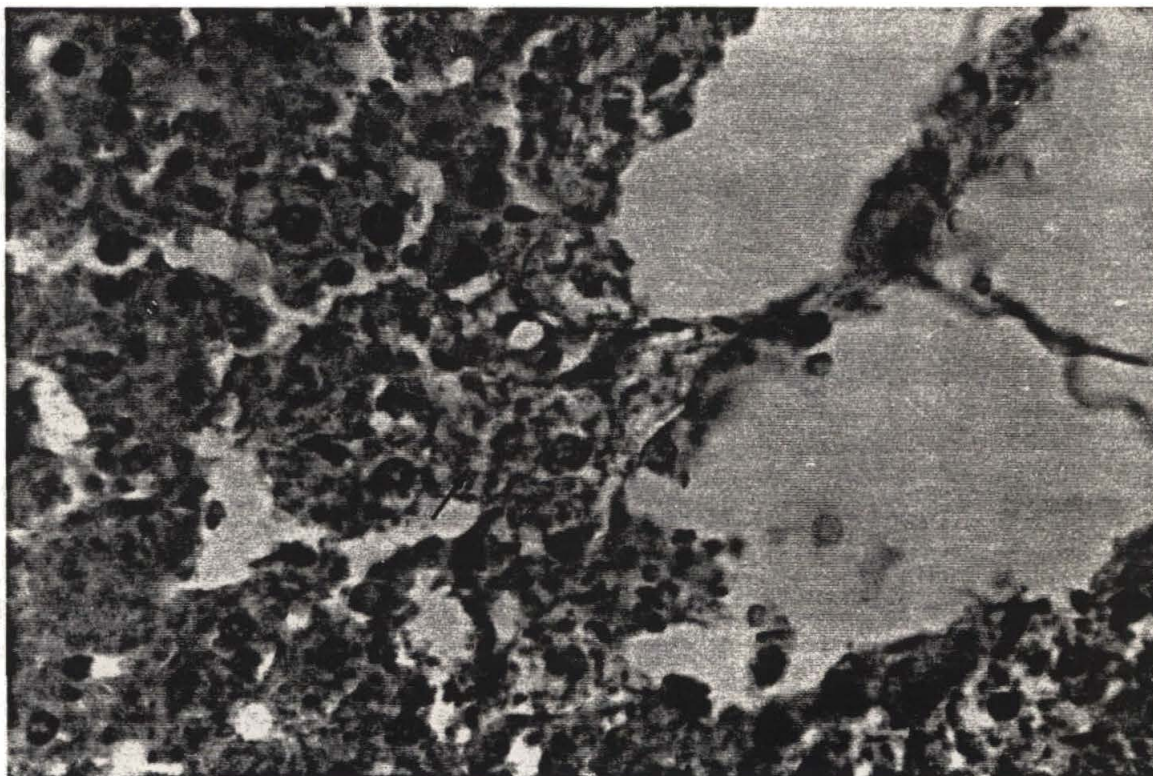


FIGURA 21 - FÍGADO DE RATO (*R. norvegicus*) INTOXICADO EXPERIMENTALMENTE COM SUSPENSÃO AQUOSA DE FRUTOS VERDES DE *M. azedarach*. VACUOLIZAÇÃO CITOPLASMÁTICA (→), NECROSE CENTROLOBULAR (>) DILATAÇÃO DE SINUSÓIDES (→). TRICRÔMICO DE MALLORY. Ob.40x.

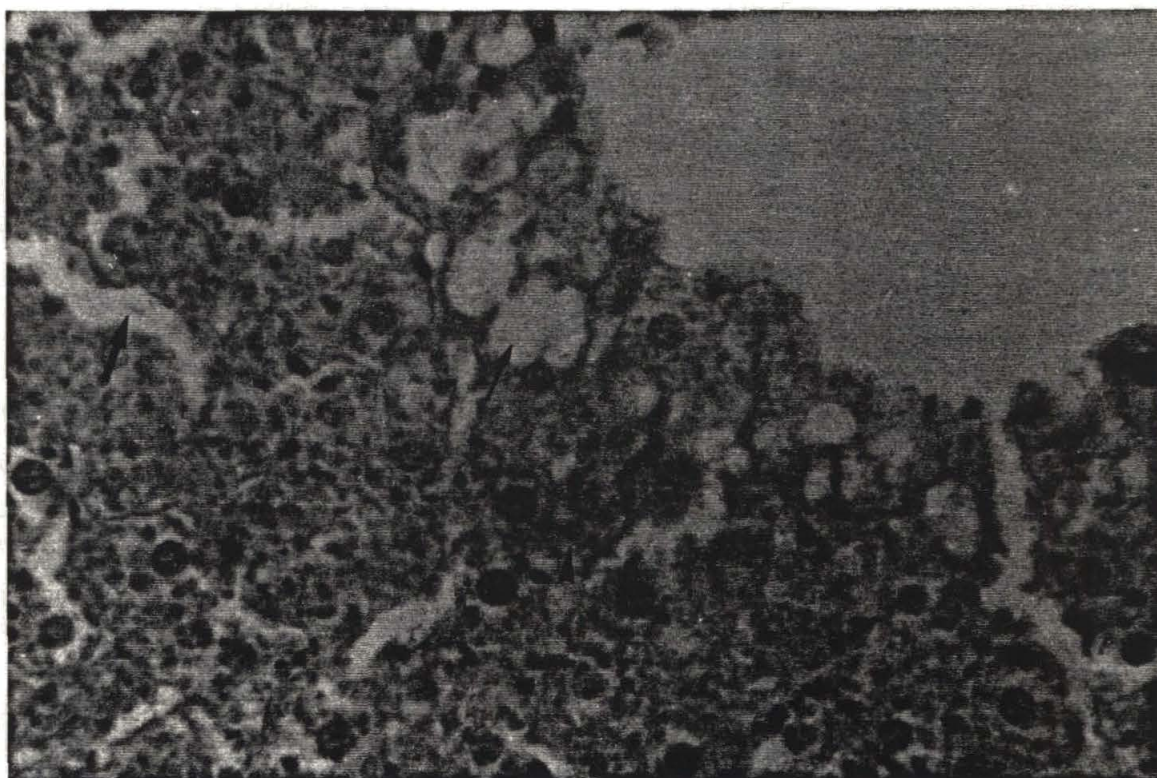


FIGURA 22 - FÍGADO DE RATO (*R. norvegicus*) INTOXICADO EXPERIMENTALMENTE COM SUSPENSÃO AQUOSA DE FRUTOS VERDES DE *M. azedarach*. NECROSE CENTROLOBULAR (▶) E HEMORRAGIA (→). HEMATOXILINA DE HARRIS E EOSINA. Ob.40x.

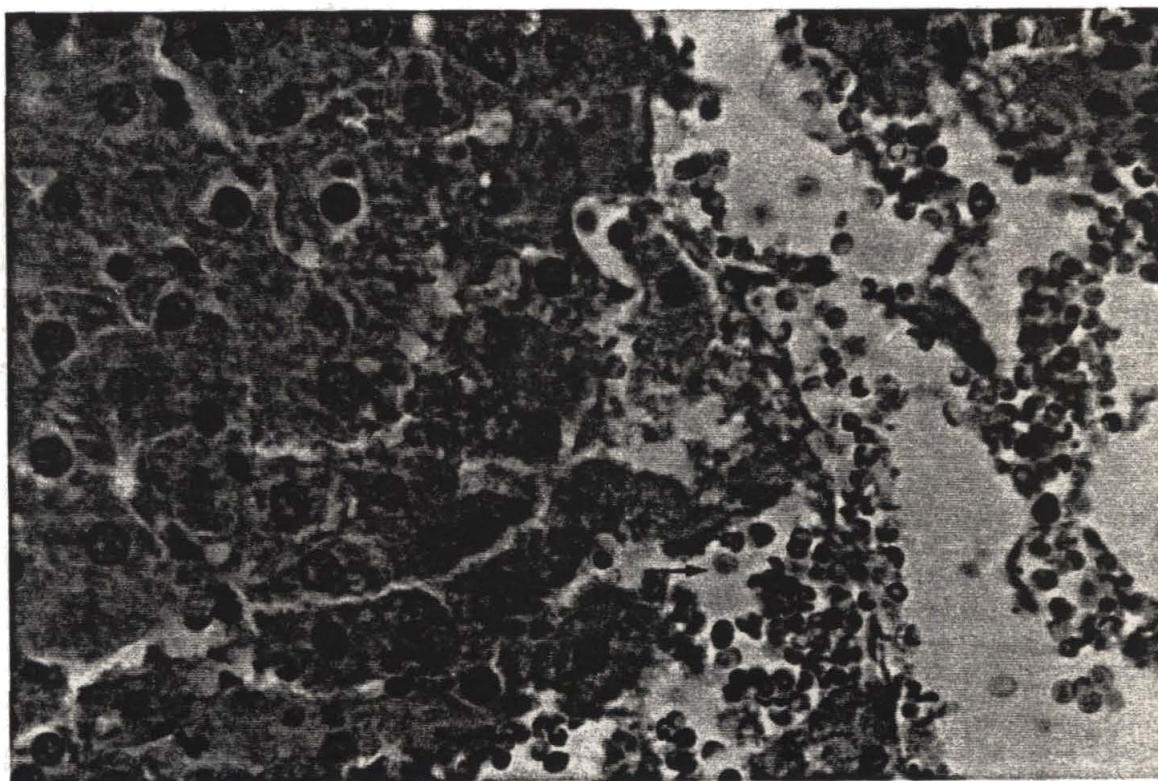


FIGURA 23 - FÍGADO DE RATO (*R. norvegicus*) INTOXICADO EXPERIMENTALMENTE COM SUSPENSÃO AQUOSA DE FRUTOS VERDES DE *M. azedarach*. MEGALOCITOSE (▶), DILATAÇÃO DE SINUSÓIDES (▶) E HEMORRAGIA (→). HEMATOXILINA DE HARRIS E EOSINA. Ob.40x.

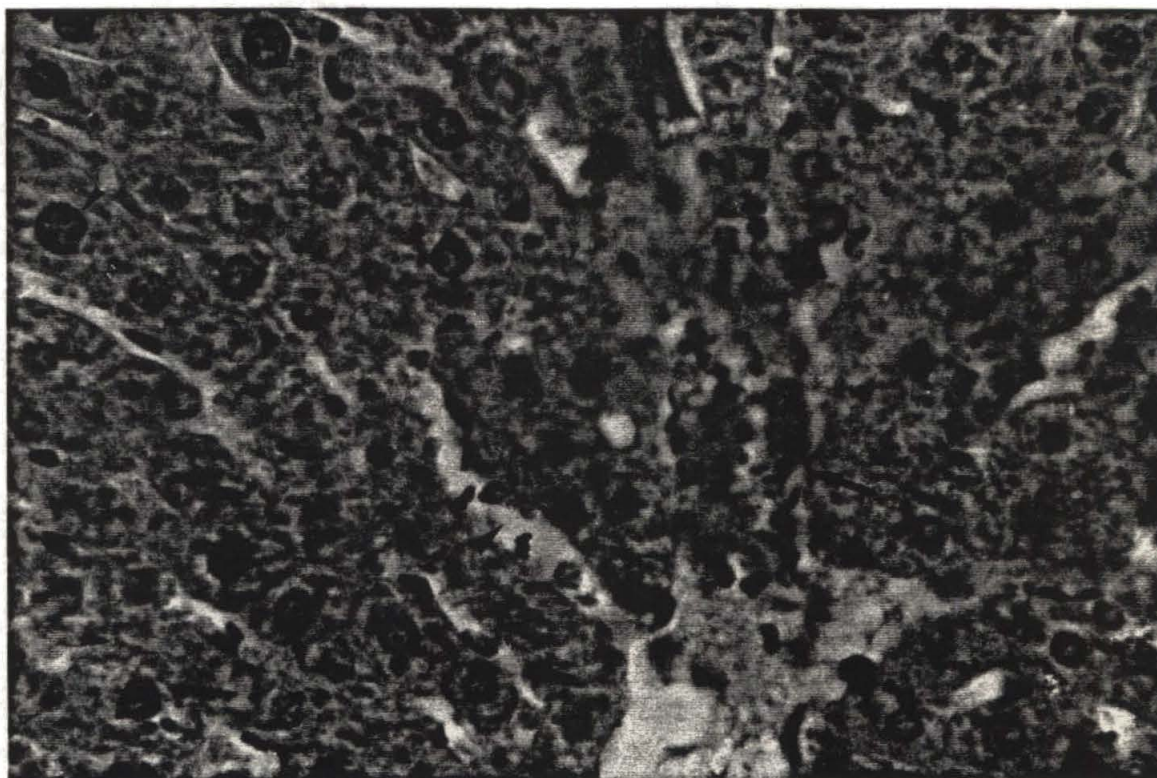


FIGURA 24 - FÍGADO DE RATO (*R. norvegicus*) INTOXICADO EXPERIMENTALMENTE COM SUSPENSÃO AQUOSA DE FRUTOS VERDES DE *M. azedarach*. FIBROSE E INFILTRAÇÃO POR CÉLULAS MONOMORFONUCLEARES NO ESPAÇO PORTA (▶), HIPERPLASIA DE DUCTOS BILIARES (→). HEMATOXILINA DE HARRIS E EOSINA. Ob.40x.

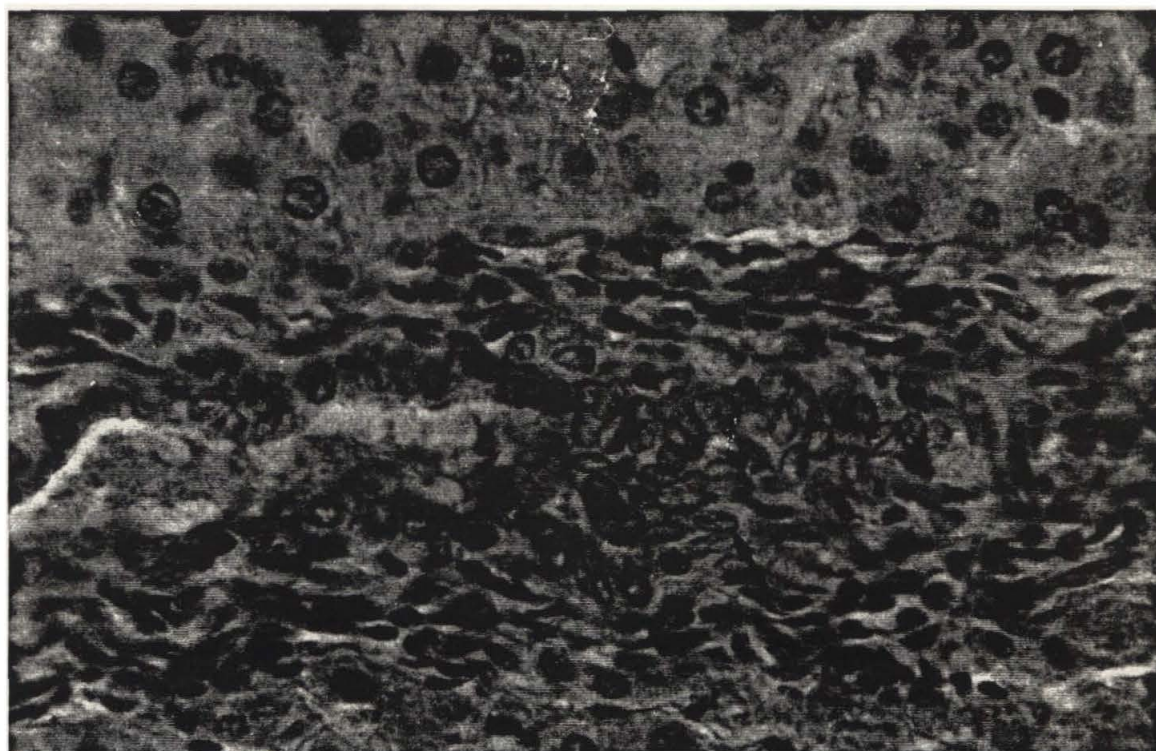


FIGURA 25 - FÍGADO DE RATO (*R. norvegicus*) INTOXICADO EXPERIMENTALMENTE COM SUSPENSÃO AQUOSA DE FRUTOS VERDES DE *M. azedarach*. FIBRAS COLÁGENAS IRREGULARES (→), HIPERPLASIA DE DUCTOS BILIARES (→) E INFILTRAÇÃO MONOMORFONUCLEAR NO ESPAÇO PORTA (▶). TRICRÔMICO DE MALLORY. Ob.40x.

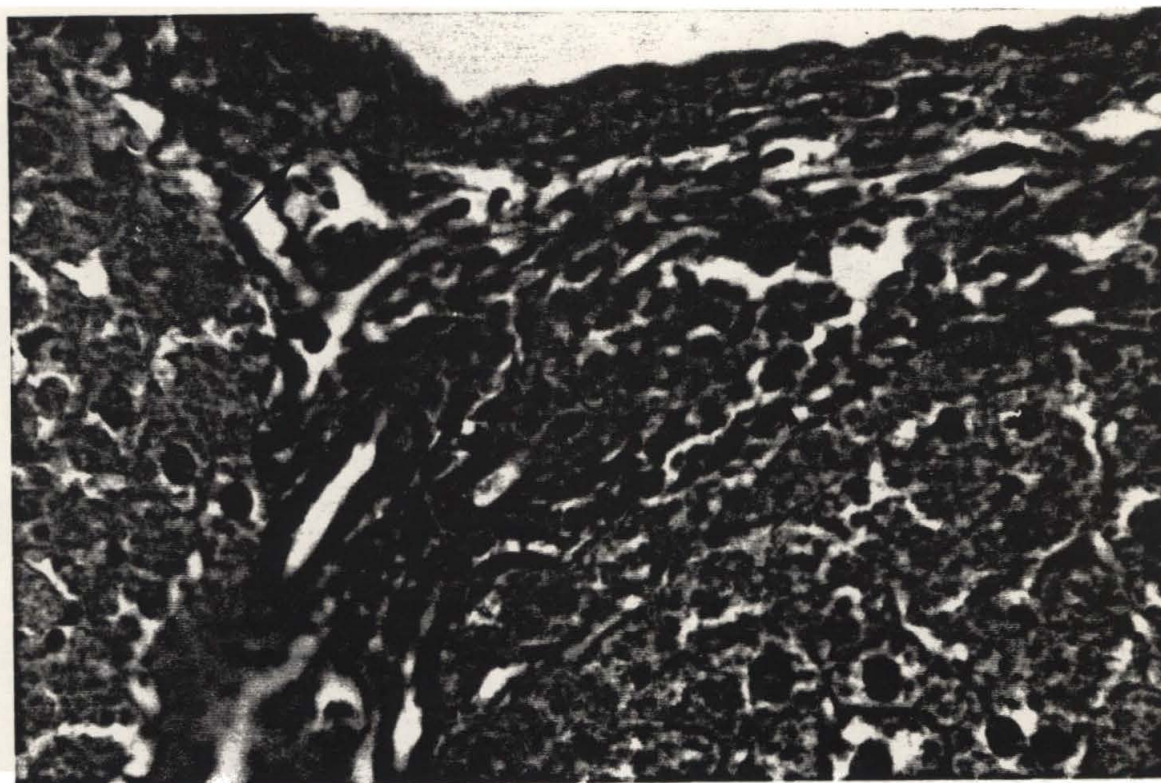


FIGURA 26 - FÍGADO DE RATO (*R. norvegicus*) INTOXICADO EXPERIMENTALMENTE COM SUSPENSÃO AQUOSA DE FRUTOS VERDES DE *M. azedarach*. INFILTRAÇÃO MONOMORFONUCLEAR NO ESPAÇO PORTA (→). HEMATOXILINA DE HARRIS E EOSINA. Ob.40x.

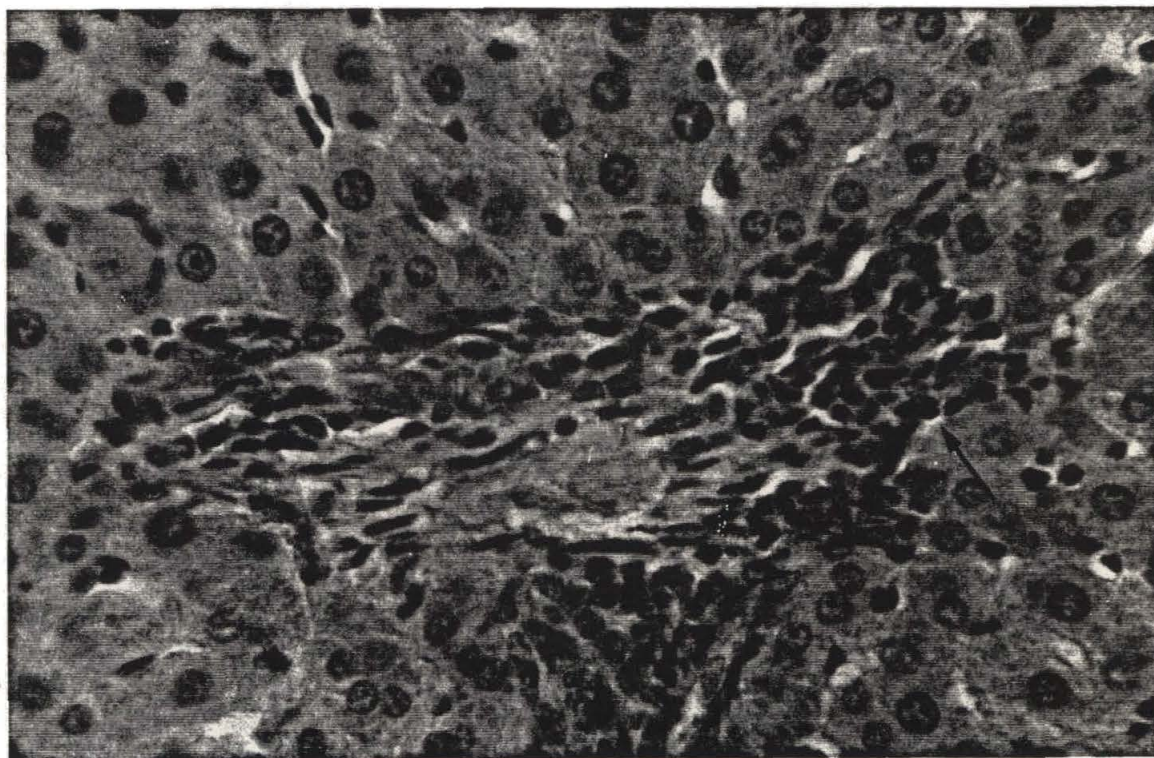


FIGURA 27 - FÍGADO DE RATO (*R. norvegicus*) INTOXICADO EXPERIMENTALMENTE COM SUSPENSÃO AQUOSA DE FRUTOS VERDES DE *M. azedarach*. FIBRAS COLÁGENAS IRREGULARES (→) E HIPERPLASIA DE DUCTOS BILIARES NO ESPAÇO PORTA (▷) . TRICRÔMICO DE MALLORY. Ob. 40x.



FIGURA 28 - FÍGADO DE RATO (*R. norvegicus*) INTOXICADO EXPERIMENTALMENTE COM SUSPENSÃO AQUOSA DE FRUTOS VERDES DE *M. azedarach*. REDE RETICULAR AUMENTADA E DESARRANJADA (▶). TÉCNICA DE RIO HORTEGA. Ob.10x.

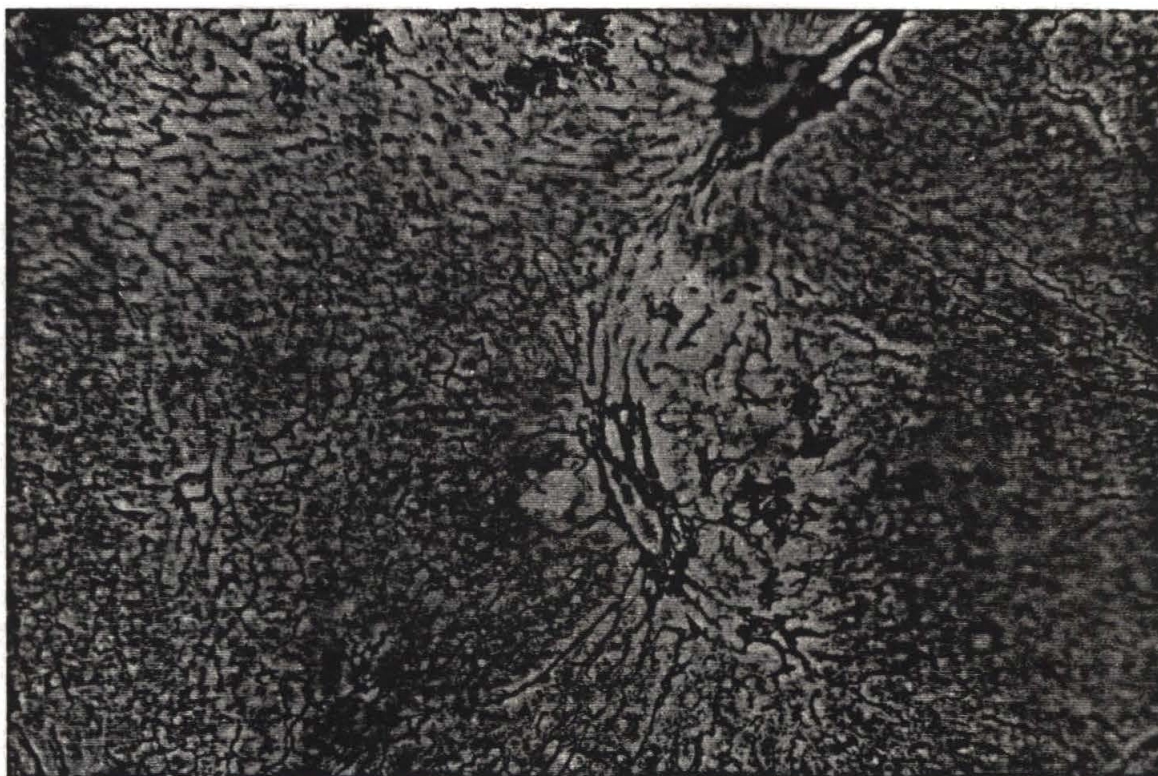
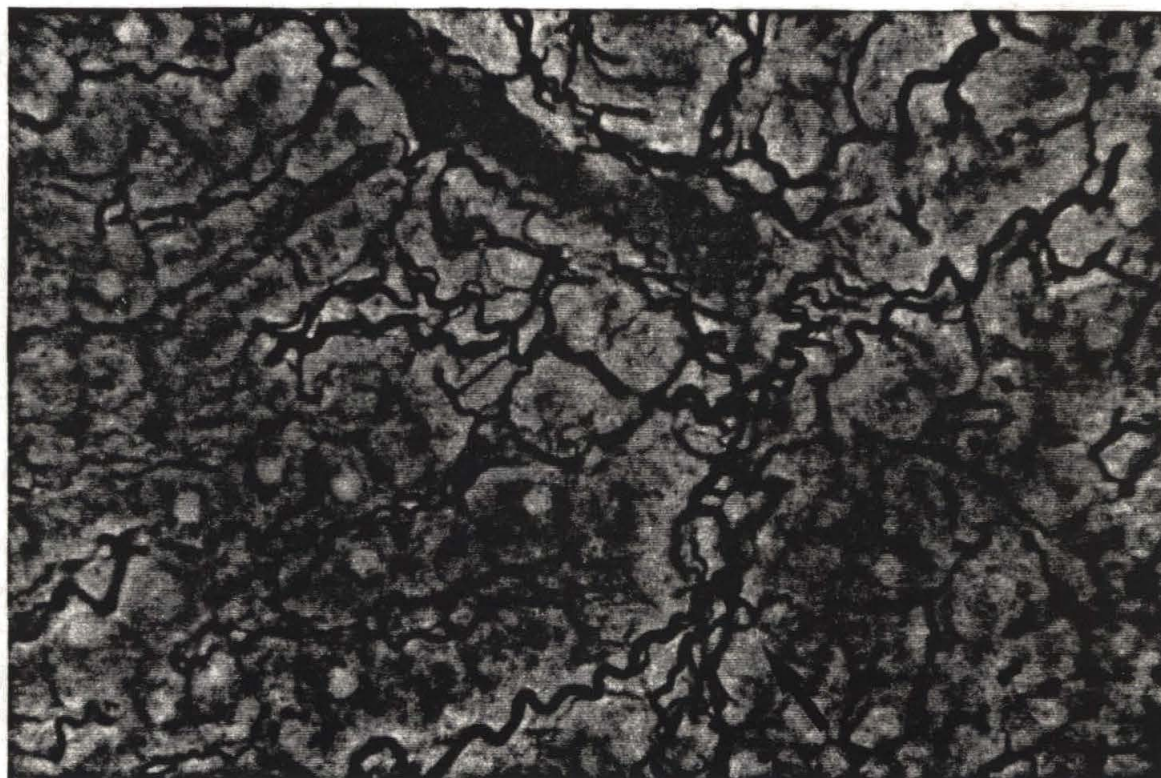


FIGURA 29 - FÍGADO DE RATO (*R. norvegicus*) INTOXICADO EXPERIMENTALMENTE COM SUSPENSÃO AQUOSA DE FRUTOS VERDES DE *M. azedarach*. REDE RETICULAR AUMENTADA E DESARRANJADA (→). TÉCNICA DE RIO HORTEGA. Ob.40x.



4.7 Alterações microscópicas dos rins

Os cortes histológicos de rins, apresentam dilatação de alguns túbulos contornados e em muitos deles observa-se proteína em forma de massa hialina homogênea, em fina granulação ou em pequenos glóbulos, nesta forma também são observados nos espaços de Bowman (Figs. 30, 31 e 32). Alguns eritrócitos são observados nesses espaços e também na luz de alguns túbulos, às vezes existem áreas de hemorragia (Fig. 33 e 34). Raros neutrófilos são observados em poucos túbulos de um animal. Em algumas áreas existe necrose de túbulos isolados.

As alterações histológicas gastrointestinais, hepáticas e renais do tratamento que recebeu suspensão aquosa de folhas, ocorrem em menor intensidade em relação aos que receberam suspensão aquosa de frutos verdes e levemente mais acentuada em relação aos que receberam a suspensão aquosa de frutos maduros do mesmo grupo. Proporcionalmente, as alterações foram menos acentuadas nos tratamentos T-2, T-3 e T-4 em relação à quantidade da planta ingerida.

FIGURA 30 - RIM DE RATO (*R. norvegicus*) INTOXICADO EXPERIMENTALMENTE COM SUSPENSÃO AQUOSA DE FRUTOS VERDES DE *M. azedarach*. DILATAÇÃO TUBULAR E PRESENÇA DE PROTEÍNA NA LUZ DOS TÚBULOS CONTORNADOS (▶). HEMATOXILINA DE HARRIS E EOSINA Ob.10x.

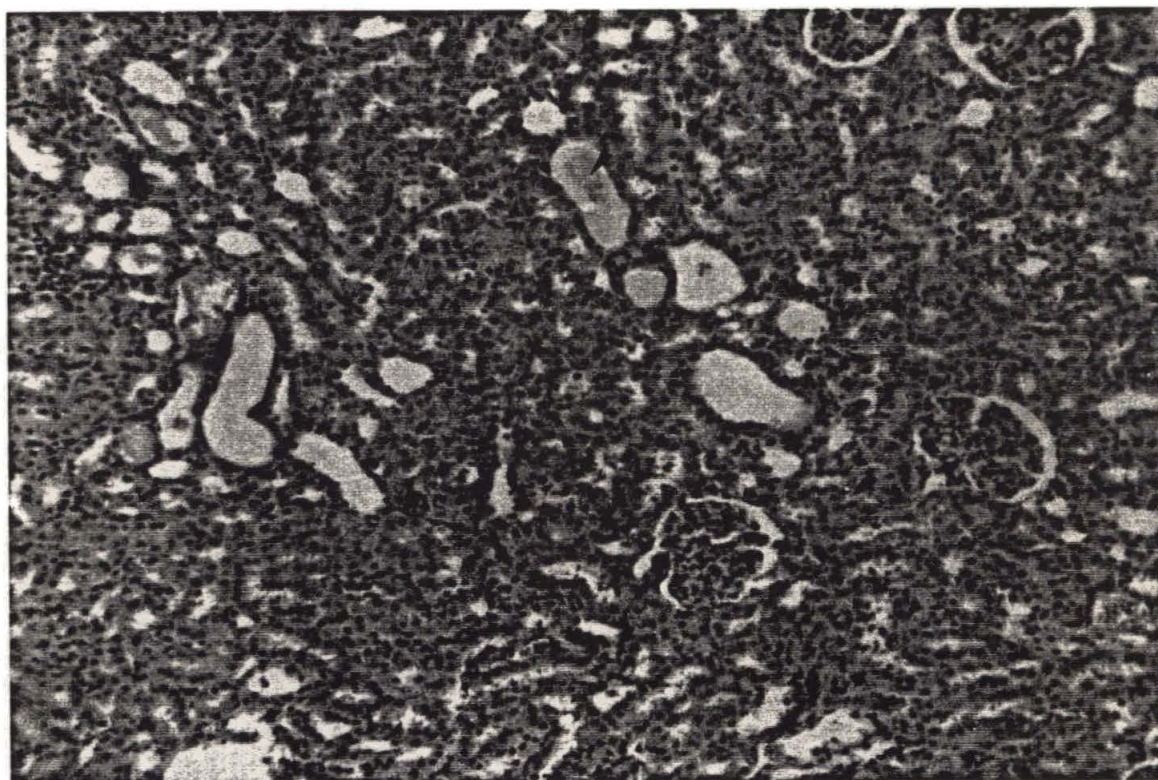


FIGURA 31 - RIM DE RATO (*R. norvegicus*) INTOXICADO EXPERIMENTALMENTE COM SUSPENSÃO AQUOSA DE FRUTOS VERDES DE *M. azedarach*. PRESENÇA DE PROTEÍNA NA LUZ DOS TÚBULOS CONTORNADOS (>). HEMATOXILINA DE HARRIS E EOSINA. Ob.40x.

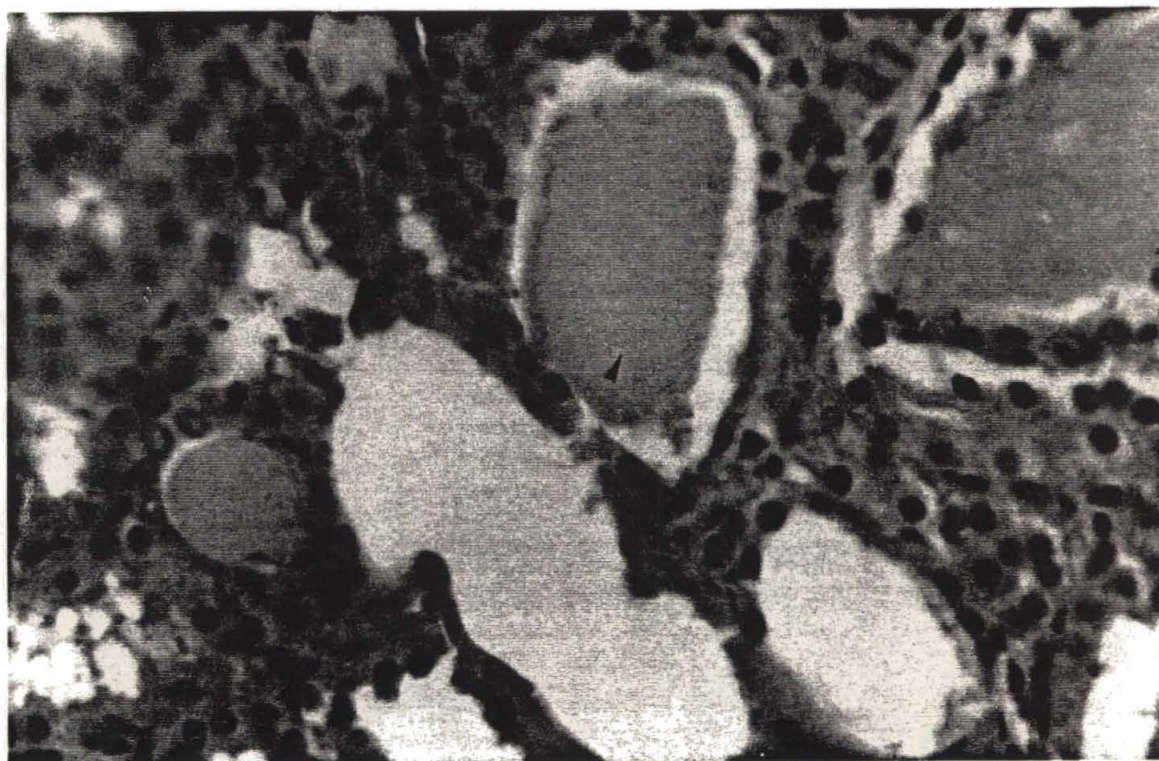


FIGURA 32 - RIM DE RATO (*R. norvegicus*) INTOXICADO EXPERIMENTALMENTE COM SUSPENSÃO AQUOSA DE FRUTOS VERDES DE *M. azedarach*. PROTEÍNA NA LUZ DOS TÚBULOS CONTORNADOS E ESPAÇO DE BOWMAN (▶) HEMATOXILINA DE HARRIS E EOSINA. Ob.40x.

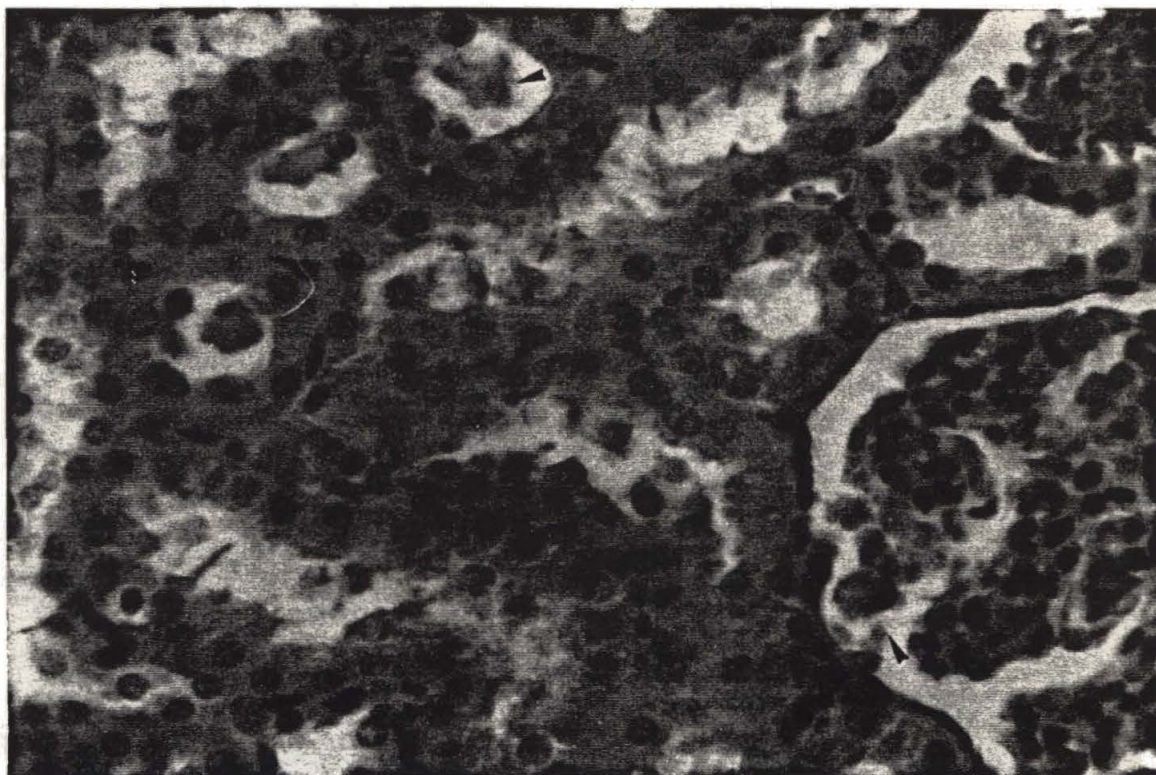


FIGURA 33 - RIM DE RATO (*R. norvegicus*) INTOXICADO EXPERIMENTALMENTE COM SUSPENSÃO AQUOSA DE FRUTOS VERDES DE *M. azedarach*. HEMORRAGIA FOCAL (▶), HEMATOXILINA DE HARRIS E EOSINA. Ob.40x.

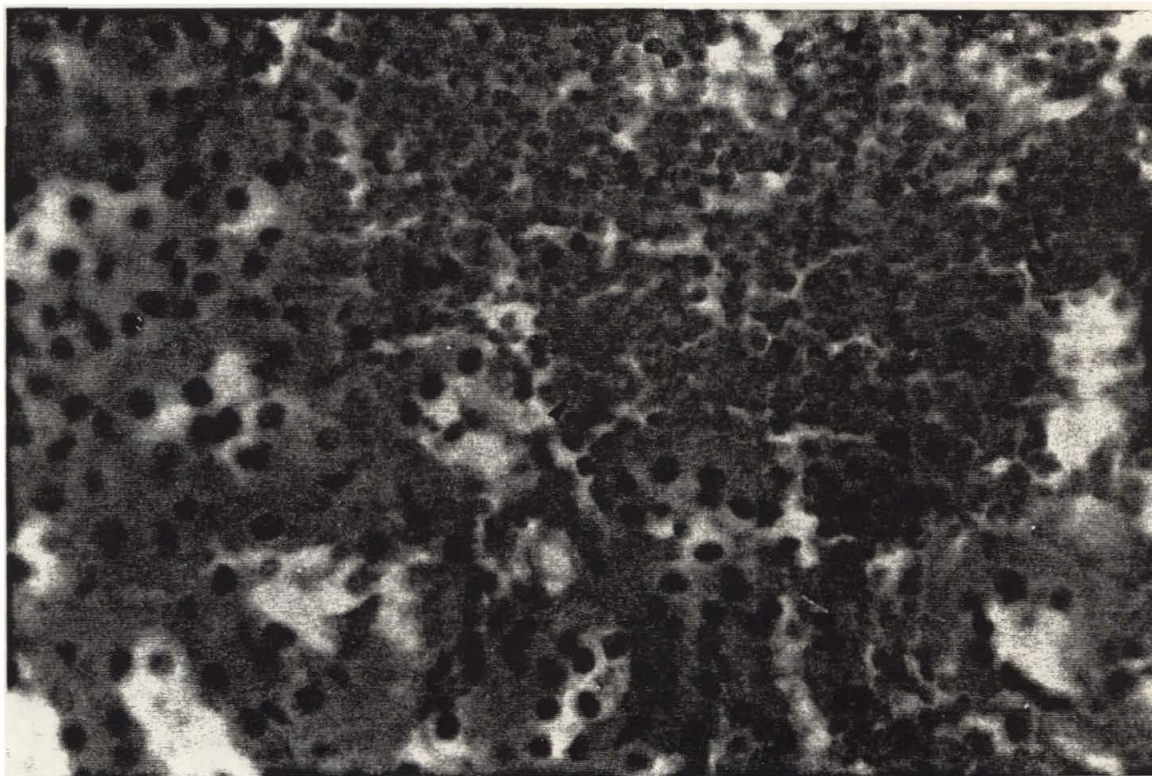
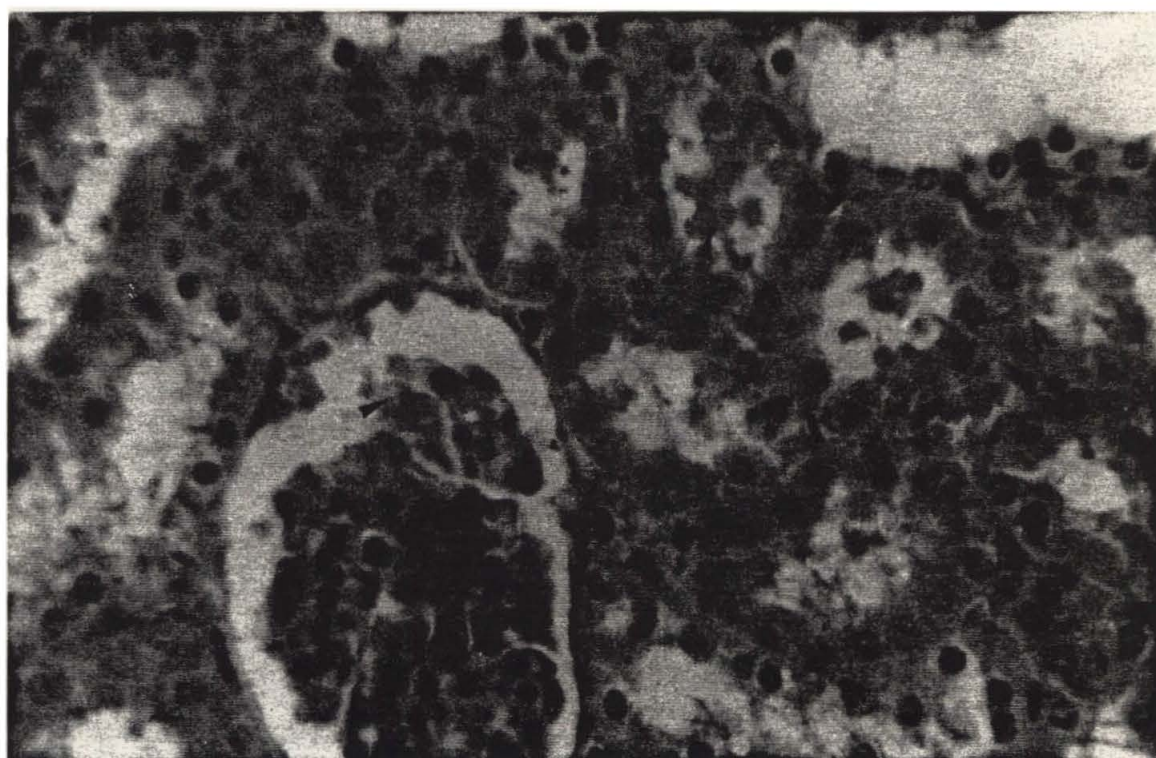


FIGURA 34 - RIM DE RATO (*R. norvegicus*) INTOXICADO EXPERIMENTALMENTE COM SUSPENSÃO AQUOSA DE FRUTOS VERDES DE *M. azedarach*. ERITRÓCITOS NA LUZ DE TÚBULOS CONTORNADOS E ESPAÇO DE BOWMAN (▶). TRICRÔMICO DE MALLORY. Ob. 40x.



5 DISCUSSÃO

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a toxicidade dos frutos verdes, frutos maduros e folhas de *M. azedarach* da região de Curitiba, quanto à possibilidade de causar lesões no organismo do rato (*R. norvegicus*), modelo experimental adotado, citado por MIRANDA *et al.*, 1991, como animal altamente sensível aos efeitos dos alcalóides, um dos princípios tóxicos da planta conforme MORRISON; GRANT, 1932, citados por OELRICHS *et al.*, 1982 e WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1990.

O estudo foi baseado nos relatos de autores como STEYN; RINDL, 1929; CARNEIRO, 1945; KAPLAN; SAPEIKA, 1971; HOTHY *et al.*, 1975; OELRICHS *et al.*, 1982; JONES; HUNT, 1986; MARDEROSIAN; LIBERTI, 1988 e BLACKWELL, 1990, que afirmam que os princípios tóxicos dessa planta atuam principalmente no trato gastro intestinal, no tecido hepático e renal, corroborando com os mesmos no presente estudo, as lesões foram evidentes no fígado, rins, estômago e intestino.

Os resultados deste estudo também estão de acordo com os relatos de LACAZ, 1953; FORSYTH, 1968; JONES; HUNT, 1983; THOMSON, 1990; JUBB *et al.*, 1991 e LAMPE, 1991, em que os órgãos citados acima são alvos da maioria dos princípios tóxicos encontrados nos vegetais e que estes princípios encontram-se distribuídos em várias partes da planta.

O odor nauseante dos frutos conforme afirmativas de STEYN; RINDL, 1929, não deve interferir na aceitabilidade porque é fato notório que animais domésticos e crianças os ingerirem como nos casos de intoxicação relatados por SCHMUTZ *et al.*, 1968; KAPLAN; SAPEIKA, 1971; OELRICHS *et al.*, 1982;

OELRICHS *et al.*, 1982 relatam que na Argentina a *M. azedarach* é inofensiva e na Califórnia as crianças ingerem os frutos. Esses mesmos autores relatam como sendo tóxica em muitos países, onde causam acidentes inclusive com crianças.

RADELEFF, 1964 e CLARKE; CLARKE, 1977, citados por HOTHY *et al.*, 1975 e KAPLAN; SAPEIKA, 1971 afirmam que a parte mais tóxica da planta é o fruto maduro, entretanto, HOTHY *et al.*, 1975 relatam que a toxicidade decresce com o amadurecimento (que os frutos verdes são mais tóxicos que os frutos maduros).

No presente estudo, os resultados evidenciam que os sinais clínicos como perda de peso, pêlos arrepiados, apatia e as alterações tanto macro como microscópicas foram mais acentuadas nos animais que receberam a suspensão aquosa de frutos verdes, seguida de folhas e frutos maduros, comprovando portanto as afirmações de HOTHY *et al.*, 1975.

A toxicidade da *M. azedarach* é evidenciada em várias espécies, por diversos autores como STEYN; RINDL, 1929; SCHMUTZ *et al.*, 1968; KAPLAN; SAPEIKA, 1971; HOTHY *et al.*, 1975; OELRICHS *et al.*, 1982; JONES; HUNT, 1986; MARDEROSIAN;

LIBERTI, 1988; BLACKWELL, 1990; NETTO, 1994. Nenhum dos autores consultados relatam intoxicação em ratos albinos *R. norvegicus*, nessa espécie as lesões causadas pela ação tóxica da *M. azedarach* também foram evidentes.

Quanto aos sinais clínicos observados relacionados ao trato gastro intestinal, os ratos que receberam suspensões aquosas de frutos maduros apresentaram fezes amolecidas e de coloração ligeiramente mais clara que as normais no início do experimento. Estas voltaram a ter consistência e cor normal após 3 a 4 dias, aparentemente não apresentando qualquer outra anormalidade. Porém, no caso relatado por OELRICHS et al., 1982, as crianças que ingeriram 6 a 8 frutos maduros do cinamomo, apresentaram além de diarreia, náusea, vômito, comprometimento a nível do sistema nervoso e respiratório como sonolência, dispnéia, convulsão seguida de morte.

Os sinais clínicos indicando comprometimento do sistema nervoso, como observado por CARNEIRO, 1945; OELRICHS et al., 1982; KAPLAN; SAPEIKA, 1971, como a dispnéia, paralisia respiratória, perda de equilíbrio, paresia, tremores, depressão, convulsão, excitação não foram observados nos ratos do presente estudo. Com exceção da apatia e sonolência que foram observados em quatro (4) ratos que receberam a suspensão aquosa de frutos verdes. Além desses sinais clínicos, houve perda progressiva de peso e inapetência.

O exame macroscópico nos órgãos dos ratos que receberam a suspensão aquosa de frutos maduros e de folhas não revelaram lesões significativas, entretanto, nos quatro (4) ratos que receberam suspensão aquosa de frutos verdes, observou-se lesões ulcerativas com hemorragias na mucosa gástrica, corroborando com STEYN; RINDL, 1929 e HOTHY et al., 1975, onde após intoxicações experimentais em coelhos, carneiros, bezerros bubalinos, aves domésticas e suínos com sementes de cinamomo, verificaram alterações semelhantes no trato gastrointestinal. Essas alterações da mucosa gastrointestinal podem ser atribuídas não só às toxinas mas também pela ação irritante do material como afirmam STEYN; RINDL, 1929.

Quanto ao efeito da *M. azedarach* no peso corporal dos animais, ao contrário do que foi observado por HOTHY et al., 1975, após experimentos com frutos de cinamomo em suínos e ovinos onde observaram que apenas 0.5% dos animais utilizados apresentaram diferenças significativas em relação ao grupo controle. No presente estudo, os ratos dos tratamentos 1, 2 e 3 que receberam suspensões aquosas dos frutos verdes concentradas e diluídas a 1:2 e 1:3 respectivamente apresentaram diferenças significativas do peso corporal em relação ao tratamento testemunha (T-5).

No experimento com folhas, os animais que receberam a suspensão aquosa concentrada apresentaram diferenças

significativas do peso corporal com o peso dos animais do tratamento T-5 (testemunha).

Os frutos maduros não influenciaram no peso corporal dos animais.

As alterações morfológicas foram mais acentuadas nos animais que receberam a suspensão aquosa de frutos verdes, sendo de menor intensidade nos animais que receberam suspensões aquosas de frutos maduros e folhas.

Estas afirmações, não estão de acordo com RADELEFF, 1964 e CLARKE; CLARKE, 1977, citados por HOTHY *et al.*, 1975 e KAPLAN; SAPEIKA, 1971, que afirmam que os frutos maduros são mais tóxicos que os verdes. Porém, autores como HOTHY *et al.*, 1975, afirmam que a toxicidade dos frutos decresce à medida que estes amadurecem, como foi observada no presente estudo através de várias evidências como clínicas, macro e microscópicas.

No tecido hepático, as alterações observadas como necrose de hepatócitos, infiltração de células monomorfonucleares, hiperemia do tecido hepático nos ratos que receberam as suspensões aquosas de frutos verdes, frutos maduros e folhas também foram observadas pelos autores como STEYN; RINDL, 1929; HOTHY *et al.*, 1975; OELRICHS *et al.*, 1982, após intoxicações experimentais com frutos e sementes de cinamomo utilizando várias espécies de animais domésticos.

No trato gastrointestinal dos animais do presente estudo, observa-se hiperemia, edema, infiltração

linfoplasmocitária, hiperqueratose e hiperplasia epitelial, áreas com perda total do epitélio com os bordos em regeneração e acentuada reação inflamatória comprometendo todas as túnicas gástricas. Quadro semelhante foi observado por STEYN; RINDL, 1929 após experimentos com sementes moídas administradas em coelhos e carneiros.

Em um animal do experimento com frutos verdes, foi observado lesão carcinomatosa no estômago. CHEEKE, 1988, relata que grupos de alcalóides causam severas lesões hepáticas e muitos deles são carcinogênicos, sendo um alerta para aqueles que usam o cinamomo para fins medicinais conforme citado por KAPLAN; SAPEIKA, 1971; GARCIA *et al.*, 1990, ou para os próprios animais pela ingestão voluntária ou acidental da planta.

Em experimentos onde extratos de frutos do cinamomo foram administrados em suínos e camundongos relatado por OELRICHS *et al.*, 1982, foi observada presença de proteínas nos túbulos renais. O quadro renal apresentado no presente estudo foi dilatação dos túbulos contornados com presença de proteína em forma de massa hialina homogênea e alguns eritrócitos e neutrófilos nos espaços de Bowman e na luz dos túbulos contornados, mais acentuados nos animais que receberam as suspensões aquosas de frutos verdes e com intensidade menor nos animais que receberam suspensões aquosas de folhas e frutos maduros.

As alterações tanto clínicas, macro e microscópicas observadas nos ratos deste estudo parecem estar relacionadas com vários princípios tóxicos conforme citados por STEYN; RINDL, 1929; SCHMUTZ *et al.*, 1968; KAPLAN; SAPEIKA, 1971; OELRICHS *et al.*, 1982; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1990, que afirmam que a *M. azedarach* possui princípios tóxicos como alcalóides, resinas e glicosídeos

Segundo KELLY, 1991, os princípios tóxicos como alcalóides produzem alterações como megalocitose e necrose focal. Essas alterações foram observados nos cortes de fígados do estudo, sendo mais evidentes nos animais que receberam suspensão aquosa de frutos verdes.

A necrose centrolobular observada nos fígados dos animais que receberam suspensões aquosas de frutos verdes, deve-se ao fato, conforme KELLY, 1990 e PLAA, 1991, de que, as células dessa região hepática são mais ativas, pois possuem maior concentração de enzimas (oxidases de função mista) que transformam certos compostos exógenos em metabólitos reativos que lesam as próprias células que as produzem.

Microscopicamente, a necrose do parênquima hepático e renal com infiltração de células monomorfonucleares; alterações em todo o trato digestivo com necrose celular da área interglandular, com presença de células necróticas e os túbulos renais com conteúdo protéico foram observados por

STEYN; RINDL, 1929; HOTHY *et al.*, 1975; OELRICHS *et al.*, 1982.

No presente estudo, os tecidos avaliados apresentam dilatação dos túbulos contornados com presença de proteína, alguns eritrócitos e neutrófilos nos espaços de Bowman; no tecido hepático observam-se necrose de hepatócitos isolados e centrolobular, megalocitose, áreas com vacuolização citoplasmática, hemorragia e edema, hiperplasia dos ductos biliares mais evidentes nos animais que receberam a suspensão aquosa dos frutos verdes.

6 CONCLUSÕES

Nas condições em que foram realizados os experimentos com folhas, frutos verdes e frutos maduros de *M. azedarach* do presente trabalho, pode-se concluir que:

1. As alterações macroscópicas foram evidentes no estômago dos ratos (*R. norvergicus*) que receberam suspensões aquosas de frutos verdes de *M. azedarach*, podendo concluir que os frutos verdes desta planta possuem substâncias nocivas a mucosa gástrica

2. O exame microscópico confirma a toxicidade das folhas, frutos verdes e frutos maduros da *M. azedarach* para ratos (*R. norvergicus*).

3. O efeito sobre o peso foi observado principalmente nos ratos que receberam suspensões aquosas de frutos verdes. Conclui-se que estes possuem princípios tóxicos com efeito sobre este parâmetro.

4. Os frutos verdes, frutos maduros e folhas da *M. azedarach* possuem propriedades hepato e nefrotóxicas.

5. A toxicidade confirmada em um modelo experimental, seguramente é nociva para muitas outras espécies, representando um risco quanto a utilização de *M. azedarach* na

arborização junto às pastagens ou próximo a criações de animais domésticos.

6. A indicação da planta para fins fitoterápicos por via oral, deve ser conduzida com certa cautela, tendo em vista que foi constatada presença de lesões carcinomatosas e lesões gástricas ulcerativas.

7. Conforme os resultados obtidos neste trabalho a planta da região de Curitiba pode ser considerada tóxica e que os frutos verdes apresentam maior toxidez, seguindo-se das folhas e frutos maduros.

7 ANEXOS

ANEXO 3 - ANÁLISE ESTATÍSTICA DO PESO MÉDIO (gramas) DOS RATOS (*R. norvegicus*) DE CADA TRATAMENTO DO EXPERIMENTO COM SUSPENSÃO AQUOSA DE FRUTOS VERDES DE *M. azedarach* (CINAMOMO).

ANÁLISE DE VARIÂNCIA

Fator	GL	SQ	QM	F	P
Tratamento	4	1212.1	303.0	6.57	0.003
Erro exp.	16	738.0	46.1		
Total	20	1950.0			

Intervalo de Confiança (95%) para cada uma das médias

Nível	N	Média	s	Intervalo de Confiança (95%)
Puro	2	66.600	3.960	(-----*-----)
1:2	4	45.225	6.230	(-----*-----)
1:3	5	47.380	9.254	(-----*-----)
1:5	5	49.820	7.135	(-----*-----)
Cont.	5	61.860	3.862	(-----*-----)

48 60 72

ANEXO 4 - ANÁLISE ESTATÍSTICA DO PESO MÉDIO (gramas) DOS RATOS (*R. norvegicus*) DE CADA TRATAMENTO DO EXPERIMENTO COM SUSPENSÃO AQUOSA DE FRUTOS MADUROS DE *M. azedarach* (CINAMOMO)

ANÁLISE DE VARIÂNCIA

Fator	GL	SQ	QM	F	P
Tratamento	4	712	178	0.91	0.477
Erro exp.	20	3913	196		
Total	24	4625			

Intervalo de Confiança (95%) para cada uma das médias

Nível	N	Média	s	Intervalo de Confiança (95%)
Puro	5	58.20	6.41	(-----*-----)
1:2	5	60.34	13.76	(-----*-----)
1:3	5	61.44	14.00	(-----*-----)
1:5	5	58.88	20.80	(-----*-----)
Cont.	5	72.76	10.92	(-----*-----)

48 60 72 84

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 01 ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS -
A.O.A.C. **Methods of analisis**. 14 ed. Whashington,
1984. 1094 p.
- 02 ANSARI, M. H.; AHMAD, S. Screening of some
Medicinal plants for antiamebic action.
Fitoterapia, Milan v.62, n.2, p.171-175, 1991.
- 03 BETTIOL, A.; MAIA, N.G. **Cartilha do agricultor**.
Porto Alegre: Tabajara, 1970. v.4, p.49.
- 04 BLACKWELL, W.H. Poisonous plants of the Eastern
United States. In: _____ **Poisonous and medicinal
plants**. New Jersey: Prentice Hall, 1990. p. 235-6
- 05 BRAGA, Renato. **Plantas do Nordeste, especialmente do
Ceará**. 4.ed. Natal, RN: Editora Universitária da
UFRN, 1960. p.191-192
- 06 CARNEIRO, P.de T.A. Plantas venenosas e sua
ocorrência em Minas Gerais. **Rev. Ceres**, Viçosa,
v.6, n.34, p.221-256, jul./ago., 1945.
- 07 CHEEKE, P. R. Toxicity and metabolism of
pyrrolizidine alkaloids. **J. Anim. Sci.**, Utah
(USA), v.66, p. 2343-2350, 1988.
- 08 CINAMOMO. Plantas que curam. São Paulo, v.2, p.
158-9, 1983.
- 09 FORSYTH, A. A. **Iniciacion a la toxicologia vegetal**.
Zaragoza: Acribia, 1968
- 10 GARCIA, G.H. et al. Antiherpetic activity of some
Argentine medicinal plants. **Fitoterapia**, Milan,
v.59, n.6, p.542-546, 1990.
- 11 GUERRA, M. de S. Receituário caseiro: alternativas
para o controle de pragas e doenças de plantas
cultivadas e de seus produtos. **Série de
Informações Técnicas EMBRATER**, Brasília, n.7,
p.25, 1985.
- 12 HARKNESS, J.E.; WAGNER, J.E. **Biologia e clínica de
coelhos e roedores**, 3. ed. São Paulo: Roca, 1993.
p.48-55.

- 13 HEWITT, R.W. et al. Toxic responses of the kidney. In: AMDUR, M.O. et al. **Casarett and Doull's Toxicology: the basic science of poisons**. 4 ed. New York: Pergamon Press, 1991. p.354-382
- 14 HOTH, D.S. et al. A note on the comparative toxicity of *Melia azedarach* (DHREK) berries to piglets, buffalo calves, rabbits and fowls. **J. Res.**, v.13, n.2, p.232-234, 1975.
- 15 JONES, T.C.; HUNT, R. D. Enfermidades debidas a venenos exógenos. In: **Patologia veterinária**. Buenos Aires: Hemisferio Sur, 1986. v.6, p.1036
- 16 JUBB, K, V. F.; **Patologia de los animales domésticos**. 3. Ed. Montevideo: Hemisferio Sur, v.2 , 1991.
- 17 JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 7.ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1990.
- 18 KAPLAN, E.R.; SAPEIKA, N. Chemical composition of the fruit of *Melia azedarach* L. **S. Afr. J. Med. Sci.** v.36, p.83-84, 1971.
- 19 KELLY, R.W. El fígado y el sistema biliar. In: JUBB, K.V.F. et al. **Patologia de los animales domésticos**. 3.ed. Montevideo: Hemisferio Sur, 1991. v.2, p.277-353.
- 20 LACAZ, J.S. Acidentes em bovídeos por plantas tóxicas (ervas). **O Biológico**. São Paulo, v.19, n.2, p. 21-30, fev. 1953.
- 21 LAMPE, K.F. Toxic effects of plants toxins. In: AMDUR, M.O. et al. **Casarett and Doull's Toxicology: the basic science of poisons**. 4.ed. New York: Pergamon Press, 1991. p.804-815.
- 22 MANUAL para técnicos em animais de laboratório: capacitação de pessoal de níveis elementar e médio em biotérios. Rio de Janeiro: Fundação Oswaldo Cruz, 1994.
- 23 MARDEROSIAN, A.; LIBERTI, L. Poisonous plants In: **Natural product medicine: a scientific guide to foods, drugs, cosmetics**. Philadelphia: G.F.Stickley, 1988. p.147-182.

- 24 MICHALANY, J. **Técnica histológica em anatomia patológica**: com instruções para cirurgião, enfermeiro e citotécnico. São Paulo: Ed. Pedagógica e Universitária EPU, 1980.
- 25 MIRANDA, C. L. et al. Flavin-containing monooxygenase: a major detoxifying enzyme for the pyrrolizidine alkaloid senecione in guinea pig tissues. **Biochem. Biophys. Res. Commun.** San Diego, CA, v. 178, n. 2, p. 546-552, 1991.
- 26 MOREIRA, F. **As plantas que curam - cuide da sua saúde através da natureza**. 5 ed. São Paulo: Hemes, 1994. p. 125-129.
- 27 MORGAN, E.D.; THORNTON, M.D. Azadirachtin in de fruit of *Melia azedarach*. **Phytochemistry**, Oxford, v.12, p.391-2, 1973.
- 28 NETTO, D.P. **Intoxicação experimental por *Melia azedarach*, em ovinos**. Londrina, 1994. Dissertação (Mestrado em Sanidade animal), Universidade Estadual de Londrina.
- 29 O CINAMOMO. **Almanaque Agrícola Chácaras e Quintais**, São Paulo, v.100, n.1, p.271-273, jul. 1959.
- 30 OELRICHS, P.B. et al. Toxic tetranortriterpenes of fruit of *Melia azedarach*. **Phytochemistry**, Oxford, v.22, .n.2, p.531-534, 1983.
- 31 OKOGUN, J.I. et al. Chemistry of the Meliacins (Limonoids). The structure of Meliacin A, a new Protomeliacin from *Melia azedarach*. **J. Chem. Soc. Perkin Trans. I**, Cambridge, p.1352-1356, 1975.
- 32 PLAA, G.L. Toxic responses of the liver. In: AMDUR, M.O. **Casarett and Doull's Toxicology: the basic science of poisons**. 4.ed. New York: Pergamon Press, 1991. p.334
- 33 PLANTAS que curam. **Planeta**, São Paulo, n.119A, p.22, ago. 1982.
- 34 SAMPAIO, A.J. de. Plantas venenosas ou mais ou menos nocivas para o gado. **Almanak Agrícola Brasileiro**, São Paulo, p. 257-290, 1916.
- 35 SCHMUTZ, E.M. et al. **Livestock poisoning plants of Arizona**. Tucson, Arizona: The University of Arizona Press, 1968. p.159

- 36 SILVA, F. C. et al. Population behavior of *Melia azedarach* L., Santa Bárbara, established on the border of Parque Estadual Mata dos Godoy, Londrina, Paraná, Brazil. **Arq. Biol Tecnol.**, Curitiba, v.37, n.4, p.951-958, dez. 1994.
- 37 SNEDECOR, G.W.; COCHRAN, W. G. **Statistical methods**. 6.ed., Ames, Iowa: The Iowa State University Press, p. 593, 1967
- 38 SRIVASTAVA, Savitri D. Further constituent from the seeds of *Melia azedarach*. **Plant. Med.**, Stuttgart, p.100-101, 1987.
- 39 STEYN, D. G.; RINDL, M. Preliminary report on the toxicity of the fruit of *Melia azedarach* (syringa berries). **Trans. R. Soc. S. Afr.**, Rondebosch, v.17, p.295-308, 1929.
- 40 TOKARNIA, C.H. et al. **Plantas tóxicas da Amazônia: a bovinos e outros herbívoros**. Manaus: INPA, 1979.
- 41 TOKARNIA, C. H. et al. Poisonous plants of Brazil. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM OF POISONOUS PLANTS (1988: Utah). **Proceedings**. Ames: Iowa State University, 1992. p.63
- 42 THOMSON, R. G. **Patologia veterinária especial**. São Paulo: Ed. Manole, 1990.
- 43 WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Medicinal plants in Viet Nam**. Manila, 1990. p. 241 (WHO Regional Publications, Western Pacific series, n.3)