ROSANE MARIA TRINDADE DE MEDEIROS

DEDALUS - Acervo - FMVZ

11300024647

VEICULAÇÃO DO PRINCÍPIO TÓXICO DA *Crotalaria spectabilis* (Roth) EM LEITE DE CABRA E RATA: UMA AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA

ID: 11084

N.º CLASSIFICAÇÃO
T 445
FMVZ
e.1
N.º TOMBO
16550
SYSNO 1739877

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre, junto à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.
Área de concentração:
Patologia Experimental e Comparada

Orientador: Profa. Dra. Silvana L. Gorniak

FMVZ 016550

São Paulo
1994

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca da

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

Medeiros, Rosane Maria Trindade de

Veiculação do princípio tóxico da **Crotalaria spectabilis Roth** em leite de cabra e rata : uma avaliação toxicológica /Rosane Maria Trindade de Medeiros – São Paulo, 1994.

Dissertação (mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

Departamento de Patologia.

Área de concentração: Patologia Experimental e Comparada.

Orientador: Profa. Dra. Silvana Lima Górniak

Unitermos: 1.Intoxicação 2.**Crotalaria spectabilis** 3.Leite 4.Alcalóide pirrolizidínico 5.Monocrotalina

A VIDA É FEITA DE LUTAS E SACRIFÍCIOS;
SÓ OS FRUTOS DO TRABALHO GLORIFICAM AS PESSOAS.
LUTAR POR UM IDEAL, É O MOTIVO MAIOR DA EXISTÊNCIA;
ATINGIR ESSE IDEAL, É JUSTIFICAR A PRÓPRIA VIDA.

VIRGÍLIO TRINDADE

DEDICO

Ao Grande Mestre "***DEUS***"
Pela proteção e por ter me dado um espírito batalhador.

Aos meus pais
RAIMUNDO E RIZAURA
Que com muito amor e carinho nunca mediram esforços ao me ensinar os caminhos dessa estrada longa da vida.

Aos meus irmãos
ROSÂNGELA, REGEANE E RÔMULO
Que juntos emanando amor e carinho me deram forças para superar as dificuldades e atingir o meu ideal.

À Profa. Dra. ***SILVANA LIMA GÓRNIAK***
Que na essência de sua juventude, abriu-me as portas para o mundo científico, dano-me exemplo de competência, dedicação e especialmente, pela confiança e apoio durante a realização deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

-Ao engenheiro Emílio Della Cella da EMPASC-SC pela concessão das sementes de *C. spectabilis*.

-Ao Dr. Osmar Ângelo Cantelmo e Maria ângela Ribeiro Pesquisadores do CEPTA-IBAMA Pirassununga - SP pelo auxílio na peletização da ração e liofilização do leite.

- À Rosa Anna Maria Barbarulho Borgheresi e Celina Maria Pompeu Mome Ueda pesquisadoras do Instituto Butanta, pela colaboração na liofilização do leite, utilizado no presente trabalho.

-À Profa. Anneliese de Souza Traldi pelo fornecimento dos caprinos.

-Aos órgãos FAPESP pelo apoio finaceiro e à CAPES-PICD pela concessão de Bolsa de Estudos.

-Ao Prof. Dr. Luiz Guerra pela interpretação dos exames histopatológicos e ensinamentos.

-Ao casal Paulo Cézar Raspantini e Leonila Éster Raspantini, pelo interesse, dedicação e apoio no desenvolvimento deste trabalho e pelo carinho e amizade despreendida.

-Aos funcionários do CEPTOX, Sueli, Amaris, Sérgio, Estevão, Adilson e Marcos, pelo amizade, convívio e apoio na realização desse trabalho.

Às grandes amigas Cida, Consuêlo, Marli e Mariêta, pela carinho, companheirismo, amizade e principalmente por estarem sempre ao meu lado nas horas mais difíceis.

-À Leila da Conceição Teixeira Cruz, pela receptividade, confiaça, amizade e apoio desde o primeiro instante desta minha nova caminhada.

-À Pós - Graduanda Ana Cristina Tasaka companheira de horas difíceis na pós-graduação, pela amizade, solidariedade e valioso auxílio na confecção deste trabalho.

-Aos demais colegas da Pós-graduação pela receptividade, amizade, convivência e troca de conhecimentos.

- Ao Prof. Dr. João Palermo Neto e à Profa. Dra. Helenice de Sousa Spinosa pela oportunidade, confiança e incentivos diários.

-À profa. Dra. Maria Martha Bernardes pelo incentivo constante, amizade, sugestões e auxílio na revisão e ordenação do texto.

-Aos professores e alunos do Curso de Pós-Graduação pelas valiosas sugestões e ensinamentos.

-Ao prof. César Gonçalves de Lima, pelo auxílio na análise estatística.

-À Edval Motta dos Santos pelo auxílio indispensável na área de informática.

-Às bibliotecárias Marfísia Pereira Lancellotti e Dorlivette Shitsuka pelo apoio na orientação bibilográfica.

-À Aparecida Lopes e Gildete pela amizade, carinho e apoio na correção do texto.

-Ao Departamento de Medicina Veterinária do Centro de Saúde e Tecnologia Rural da Universidade Federal da Paraíba, Campus VII, pelo incentivo e apoio na realização deste trabalho.

-À Faculdade de Medicina Vetarinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, por esta oportunidade.

-Às Secretárias e Técnicos do VPT, por estarem dispostos a ajudar.

Quero agradecer em especial:

-Aos professores do Curso de Medicina Veterinária da UFPB, Ernande Arante Leite, Maria das Graças Santa Rosa e Clebert José Alves que como mestres e amigos contribuiram de forma valiosa na minha formação profissional, com incentivo e apoio constantes na busca do progresso científico.

-À "Zezinho" pelos momentos felizes que me proporcionou com o seu amor, carinho e dedicação e por estar sempre junto a mim, em momentos difíceis desta jornada.

-A todos aqueles que com uma palavra de carinho, um gesto, um sorriso, um incentivo... contribuiram para o meu bem estar e para a realização deste trabalho, os meus ***sinceros agradecimentos***.

O presente trabalho foi realizado no
Centro de Pesquisa em Toxicologia - CEPTOX, do Departamento de Patologia, da Faculdade De Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, Campus de Pirassununga.

Este trabalho recebeu apoio financeiro da
Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo-FAPESP,
através do processo nº 91/2296-3 e está vinculado ao
Núcleo de Apoio da Pesquisa em Glândula Mamária, NAP-GAMA
do Campus de Pirassununga-SP.

SUMÁRIO

RESUMO

1. INTRODUÇÃO 01

1.1. Sobre as Plantas Tóxicas 01
1.2. Sobre os Alcalóides Pirrolizidínicos (APs) 03
1.3. Sobre o Gênero *Crotalaria* 09

2. OBJETIVOS 13

2.1. Objetivo Geral 13
2.2. Objetivos Específicos 13

3. MATERIAL E MÉTODOS 14

3.1. Animal 14
3.2. Droga 19
3.3. Sementes de *C. spectabilis* 19
3.4. Preparo de Ração 19
3.5. Procedimento 21
3.5.1. Confirmação da Prenhez 21
3.5.2. Avaliação do ganho de peso 21
3.5.3. Dosagem bioquímica 22
3.5.4. Estudo Anátomo-patológico 23
3.6. Delineamento Experimental 23
3.6.1. Experiência 1. Efeitos, nas ratas em lactação, da administração de diferentes concentrações de *C. spectabilis* na ração 24

3.6.2. Experiência 2. Efeitos na prole, da administraçãode diferentes concentrações de sementes de *C.spectabilis* na ração de ratas em lactação 25

3.6.3. Experiência 3. Efeitos, nas ratas em lactação da administração de diferentes concentrações de MCT na ração 25

3.6.4. Experiência 4. Efeitos na prole, da administração de MCT na ração de fêmeas em lactação 26

3.6.5. Experimentação 5. Efeitos da exposição natural, durante a lactação, de 0,2% de sementes de *C. spectabilis*, na prole de ratas observada 2 meses após o desmame 27

3.6.6. Experiência 6. Efeitos em ratos em crescimento, da administração de ração contendo leite de cabra exposta às sementes de *C. spectabilis* 28

3.7. Análise Estatística 29

4. RESULTADOS 30

4.1. Experiência 1 30
4.2. Experiência 2 33
4.3. Experiência 3 37
4.4. Experiência 4 38
4.5. Experiência 5 40
4.6. Experiência 6 41
4.7. Tabelas e figuras 43

5 DISCUSSÃO 119

6. CONCLUSÕES 130

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 131

ABSTRACT

RESUMO

A *Crotalaria spectabilis* é uma leguminosa popularmente conhecida como "guizo de cascavel", "xique-xique" ou "cascaveleira", estando amplamente distribuída em áreas tropicais e subtropicais do planeta. As plantas desse gênero vêm sendo largamente utilizadas como adubação verde. Na flora brasileira, já foram registradas 32 espécies de *Crotalaria*, as quais são encontradas em várias regiões do país como planta nativa, sendo muitas vezes utilizada como forrageira para o gado. A toxicidade dessa leguminosa deve-se à presença do alcalóide pirrolizidínico (AP), denominado monocrotalina (MCT), que, uma vez no fígado, é ativado a um metabólito tóxico, altamente reativo, denominado pirrol, o qual liga-se ao DNA ou enzimas hepáticas, resultando em lesões hepáticas; além disso, causa também danos no parênquima pulmonar e renal. Princípios tóxicos de várias plantas, ou seus metabólitos, podem ser eliminados no leite de animais que as ingeriram, representando risco potencial de intoxicação aos indivíduos consumidores desse alimento. Assim, o objetivo desse trabalho foi verificar se a administração de MCT a animais lactantes poderia causar toxicidade nas proles, caracterizando dessa maneira a passagem do AP através do leite. Com este intuito, ratas em lactação foram expostas nesse período à ração contendo diferentes concentrações de sementes de *C. spectabilis* (0,7%; 0,4%; 0,2% e 0,1%) ou MCT (0,012% e 0,006%). Os resultados mostraram que as concentrações de 0,7%, 0,4% e 0,2%, bem como ambas as doses de MCT, causaram efeitos tóxicos nas mães e proles. Os principais sinais e sintomas de intoxicação por AP foram debilidade, ascite ou anasarca.

Além disso, em alguns grupos foram observadas alterações bioquímicas. O estudo histopatológico revelou lesões como degeneração e necrose hepatocitária, pneumonia intersticial e nefrose tubular. Por outro lado, a administração de 0,1% de sementes na ração de mães lactantes não promoveu efeitos tóxicos nesses animais, entretanto suas proles apresentaram os mesmos efeitos tóxicos descritos para as proles dos grupos anteriores. Em um outro experimento, procurou-se verificar as possíveis diferenças dos efeitos tóxicos entre machos e fêmeas de proles de mães tratadas com sementes de *C. spectabilis*. Os resultados mostraram não haver diferenças sexuais, quanto a intensidade de efeitos tóxicos, durante a fase de aleitamento. Com o objetivo de se verificar os efeitos da administração a ratos em crescimento, de leite de cabra alimentados com *C. spectabilis*, realizou-se o próximo experimento. Os resultados mostraram profundas alterações nesses animais, verificando-se diminuição no ganho de peso, alterações bioquímicas e além disso, o estudo histopatológico revelou danos hepáticos, pulmonares e renais. Esses resultados mostram claramente que o MCT e/ou seu metabólito (MCTP) é eliminado no leite de animais lactantes, representando assim, um risco potencial para a saúde dos indivíduos consumidores desse alimento. Portanto, os resultados verificados no presente estudo, mostram a grande relevância também no que diz respeito à saúde pública, uma vez que o leite é o principal alimento na infância.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Sobre as Plantas Tóxicas

No Brasil os acidentes tóxicos em animais de criação por ingestão de plantas, datam do início da colonização, quando da introdução das primeiras cabeças de gado trazidas pelos portugueses (BICUDO, 1987).

Inúmeros trabalhos têm apontado que, apesar da evolução do setor agropecuário e o aumento significativo do rebanho brasileiro, sabe-se pouco sobre a intoxicação por plantas, sendo este um dos fatores limitantes do aumento da produtividade (BICUDO, 1987). De acordo com o artigo publicado em 1988, a intoxicação por plantas juntamente com o botulismo e a raiva têm sido as principais causas da mortalidade de bovinos adulto. Nesse sentido calcula-se que anualmente são perdidos em nosso país aproximadamente 150.000 bovinos vítimas por ingestão de plantas tóxicas. Portanto, esse tipo de intoxicação deve ser considerado não só no Brasil, mas em outros países onde a agropecuária é sua principal base econômica. Assim, a Austrália, Nova Zelândia, África do Sul e alguns países do Sudeste Asiático vêm desenvolvendo estudos com o objetivo de caracterizar as principais plantas tóxicas e verificar quais as formas adequadas de minimização desse tipo de problema (CHEEKE & SHULL, 1985).

Segundo STEYN (1933), plantas tóxicas são aquelas que, quando ingeridas naturalmente por um período curto ou prolongado, causam danos a sua saúde ou mesmo a morte. A partir dessa definição, verifica-se que a importância do estudo desses vegetais amplia-se, pois devemos considerar não somente a mortalidade, mas também outros efeitos, como por exemplo queda na produção, queda na imunidade e também efeitos na reprodução (NIELSEN & JAMES, 1989).

Até o momento, em nosso país, não existem estatísticas relativas às perdas através de plantas tóxicas na criação animal; por outro lado, um levantamento dessa natureza foi realizado nos Estados Unidos, revelando que U$ 339 milhões são perdidos anualmente (NIELSEN & JAMES, 1989), esses valores estão computados apenas 17 estados americanos, exceto o cálculo das perdas indiretas com medicamentos, manejo, entre outros.

Outro fator relevante a ser considerado no estudo de plantas tóxicas, é o risco potencial para a saúde humana, uma vez que fitotoxinas podem ser veiculadas através de produtos de origem animal, principalmente o leite (PANTER & JAMES, 1990). Partindo de estudos iniciais conduzidos por DRAKE (1941), vários outros seguiram-se, mostrando a presença de toxinas de plantas no leite, tais como: os glicosilatos da *Brassica sp* (WHITE & CHEEKE, 1983); os alcalóides piperidínicos do *Conium maculatum* (KEELER, 1978); os alcalóides quinolizidínicos do *Lupinus sp* (KEELER, 1978); os alcalóides indolizidínicos do *Astragalus lentiginosus* e *Oxytropis suecia* (MOLLYNEUX & JAMES, 1982). Estudos dessa natureza, têm grande

importância não só no que diz respeito à saúde do homem, mas também pelas perdas na criação animal devido aos prováveis efeitos tóxicos nos lactentes, uma vez que esses têm menor capacidade de detoxificação (PANTER & JAMES, 1990; SIPES & GANDOLFI, 1986).

1.2. Sobre os Alcalóides pirrolizidínicos (APs).

Os alcalóides pirrolizidínicos (APs) são compostos que podem ser encontrados em várias famílias de plantas como *Boraginaceae*, *Compositae* e *Leguminosae*, porém, até o momento, não se sabe exatamente qual a função desses compostos na fisiologia desses vegetais (McLEAN, 1970). LEVIN (1976) sugeriu que os APs teriam uma ação protetora contra microorganismos, insetos e ainda mamíferos herbívoros; entretanto, essa última parece pouco provável, uma vez que o próprio autor, em trabalhos posteriores, verificaram que a presença de APs nas plantas não conferia maior proteção contra mamíferos hervívoros que àquelas desprovidas dessas substâncias.

Os APs foram detectados pela primeira vez em 1867 em plantas do gênero *Senecio*. Um levantamento do uso de plantas contendo APs em medicina popular foi realizado por KLÁSEK (1973), o qual relata serem esses compostos encontrados em várias famílias e gêneros de vegetais. O autor afirma ainda que, THEOPHRASTOS (371 - 286 a.C.) foi o primeiro a mencionar plantas do gênero *Senecio*, recomendando sua utilização para tratamento de feridas e sua inclusão em poções para dores gástricas. Até cerca de 1.900, os APs do *Senecio* eram comercializados para uso em ginecologia (RAMOS, 1986). Por esses motivos,

inicialmente, os APs foram conhecidos por suas propriedades curativas, porém estudos posteriores verificaram que essas substâncias causavam, entre outros, efeitos mutagênicos, carcinogênicos e antimitóticos. Atualmente são conhecidas várias doenças, principalmente em animais domésticos, relacionadas à ingestão de plantas contendo APs. Nesse sentido, pesquisadores americanos descrevem a "Walking disease", doença que acomete bovinos e ovinos, como estando relacionada com ingestão de plantas do gênero *Senecio.* Da mesma forma, pesquisadores de outros países como Tchecoslováquia, Alemanha, Nova Escócia, Austrália, Nova Zelândia, África do Sul e Ásia Central, relatam doenças na criação animal, causadas por ingestão de vegetais contendo APs (HILL, 1968).

No Brasil, são escassos os levantamentos relativos à intoxicação por plantas que contenham APs, na criação animal; entretanto, estudos realizados na região sul do país, relacionam vários casos de intoxicação e morte de bovinos e ovinos à ingestão de diferentes espécies de *Senecio*, bem como de *Echium plantagineum* (RIET-CORREA et al., 1985).

Dos gêneros de plantas que contém APs e que têm grande importância como causadora de intoxicações na criação animal citam-se: *Senecio, Crotalaria, Heliotropium e Echium* (CHEEKE & SHULL, 1985), que podem conter apenas um ou vários APs. A tab. 1 relaciona as principais espécies desses gêneros de plantas com seus correspondentes APs. De maneira geral, em animais domésticos, a intoxicação por vegetais que contenham APs deve-se principalmente à ingestão desses

quando há escassêz de pastagens. Além disso, esses animais podem ainda intoxicar-se pelo consumo prolongado de feno ou grãos contaminados com essas plantas, pois esses compostos têm ação acumulativa (McLEAN, 1970).

Nos seres humanos, a intoxicação pode ocorrer através da ingestão proposital e contínua de plantas que contenham APs. Na Jamaica, por exemplo, verifica-se a ocorrência de consumo de uma bebida quente denominada "bush tea", principalmente nas populações mais pobres. Esta bebida é feita por infusão de plantas colhidas no mato, especialmente àquelas do gênero *Crotalaria* (McLEAN, 1974). HUXTABLE (1980), relaciona a ingestão desse chá com a doença hepática veno-oclusiva que ocorre em proporções endêmicas naquele país. Um outro exemplo de intoxicação desse tipo, é o consumo de *Symphytum officinalle* (Confrei), o qual é muito utilizado em diferentes países, inclusive no Brasil*como verdura, refresco e ainda em medicina popular, na confecção de chá, supostamente com diversos efeitos benéficos (MATTOCKS, 1980). No entanto, sabe-se que as folhas dessa planta contém pelo menos oito APs (CULVENOR et al., 1980), os quais sabidamente produzem efeitos tóxicos e carcinogênicos (HIRONO, et al., 1981).

Uma outra maneira pela qual os APs poderão causar efeitos nocivos ao ser humano, é através da intoxicação acidental epidêmica. Nesse caso, há uma contaminação ocasional e massiva de alimentos como a que ocorreu no Afeganistão e Índia em 1976, quando foram registrados cerca de 1.600 casos de intoxicação devido ao consumo de

---

* O Ministério da Saúde do Brasil, proibiu a comercialização de chás à base de confrei a partir de fevereiro 1992.

Tabela 1. Principais APs encontrados em algumas espécies pertencentes às famílias: ***Compositae, Leguminosae, Boraginaceae e Gramineae.****

PLANTA TÓXICA	AP
Compositae	
Senecio jacobaea, Senecio vulgaris Senecio longilobus	Senecifilina, Senecionina, Jacobina, Jacolina, Jacozina, Retrarsina, Ridelina
Leguminosae	
Crotalaria spectabilis, Crotalaria retusa.	Monocrotalina, Espectabilina, Retusina
Boraginaceae	
Heliotropium europaeum	Heliotrina, Lasiocarpina, Europina, Supinina, Heleurina
Echium plantagineum	Echiumina, Echimidina
Amsinckia intermedia	Intermedina, Echiumina, Licopsamina
Symphytim officinalle	Sinfitina, Echimidina, Heliosupina
Cynoglossum officinalle	Echinatina
Graminea	
Festuca arundinacea	Lolina, N-acetillolina, N-formiflolina

* Adaptado de CHEEKE & SHULL, 1985.

alimentos à base de trigo contaminado com sementes de *Crotalaria* e *Heliotropium*.

Os APs podem ainda, entrar na cadeia alimentar humana e assim criar uma potencial fonte de intoxicação através da ingestão acidental em baixos níveis. Essa exposição pode ocorrer por exemplo pelo consumo de mel feito do néctar de plantas que contém APs (DIENZER et al., 1977 e CULVENOR et al.,1981) do leite obtido de animais que ingeriram essas plantas (SHOENTHAL, 1959; DICKINSON et al., 1976; JOHNSON, 1976; GOEGER et al., 1979; DICKINSON, 1980; EASTMAN et al., 1982) ou possivelmente da carne (EASTMAN et al., 1982). A contaminação crônica de alimentos tem sido um problema na África do Sul, onde as espécies mais importantes que contaminam grãos utilizados na preparação dos alimentos há evidências que são do gênero *Crotalaria* e *Senecio* sendo a intoxicação causada por essas plantas a responsável pelo alto índice de carcinoma hepático primário entre os africanos.

Em relação à estrutura química dos APs, esses são ésteres de amino-alcoóis, derivados do núcleo pirrolizidínico heterocíclico, sendo características essenciais para a sua hepatotoxicidade uma dupla ligação na posição 1-2 do núcleo pirrolizidina e a esterificação de pelo menos um grupo hidroxil (MATTOCKS, 1972)-Fig.1. Segundo CHEEK & SHULL (1985) essa porção esterificada pode formar uma estrutura cíclica, como a retrorsina, os quais são considerados os mais tóxicos, os diesteres não cíclicos são de toxicidade intermediária, e os monoesteres são os menos tóxicos.

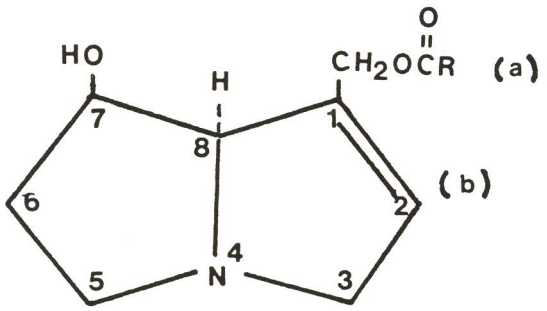


Figura 1- Estrutura química do núcleo pirrolizidínico com as características requeridas para toxidez dos alcalóides pirrolizidínicos: (a) esterificação de pelo menos um grupo hidroxil; (b) dupla ligação na posição 1,2 do anel pirrolizidina (MATTOCKS, 1972).

Uma vez no organismo, os APs podem se distribuir por vários tecidos ou serem convertidos em metabólitos tóxicos ou não, ao nível hepático, e especialmente na região centrolobular (MATTOCKS, 1968). Assim, as principais vias de biotransformação desses compostos em mamíferos são: 1.) a detoxificação através da reação de hidrólise por esterases hepáticas, fornecendo uma base e um ácido bastante hidrossolúveis e não tóxicos, sugerindo portanto que esse seja o provável mecanismo de detoxificação; 2.) A N-oxidação dos ésteres, catalizada por oxidases de função mista. Nessa reação haverá formação de N-oxidos, os quais são hidrossolúveis, o que favorecerá sua excreção renal. Os APs podem ainda sofrer ativação, também pelas oxidases de função mista, formando metabólitos tóxicos denominados pirróis ou derivados dihidropirrolizínicos; sendo esses compostos altamente reativos e agentes alquilantes, podem ligar-se ao DNA, RNA e proteínas, causando efeitos tóxicos, tais como: edema, necrose centrolobular, megalocitose,

proliferação dos ductos biliares, oclusão venosa e perda da função hepática (CHEEKE & SHULL, 1985) e efeitos carcinogênicos (CHEEKE, 1988).

Além de danos hepáticos, a monocrotalina (MCT) causa danos pulmonares e renais. Dessa maneira, pequenas quantidades de pirrol podem adentrar à corrente circulatória alcançando os pulmões e rins, causando também lesões severas nesses órgãos (KAY & HEATH, 1966; McLEAN, 1970; HOOPER, 1978).

1.3. Sobre o Gênero *Crotalaria*.

O gênero *Crotalaria* pertence à família *Leguminosae*, sub-família Papilionoidea, que compreende cerca de 600 espécies, as quais estão distribuídas principalmente em áreas tropicais e sub-tropicais do planeta (WILLIAMS & MOLYNEUX, 1987). Segundo HOEHNE (1939), "para que se possa reconhecer esse gênero deve-se levar em consideração o fruto, que é um legume quase vesiculoso de casca membranácea rija, em que as sementes, depois de maduras, se soltam e chocalham produzindo um rumor de guizo de cascavel, razão pela qual lhes deram esse nome, bem como o de xique-xique, maracá da cobra, cascaveleira e chocalho. Suas folhas podem ser simples ou ternadas, em algumas espécies são também compostas de 5-7 folíolos. Às vezes existem estípulas decorrentes mais largas e mais vistosas do que as próprias folhas".

As plantas do gênero *Crotalaria* são amplamente utilizadas como adubação verde, destinadas à recuperação de solos empobrecidos. Nesse sistema, a C*rotalaria* é plantada e posteriormente enterrada no solo, para melhorar o conteúdo de compostos nitrogenados, essenciais para outras culturas (JOLY, 1977). No Brasil, essa leguminosa encontra-se amplamente distribuida em várias regiões como planta nativa, sendo usada muitas vezes como forrageira para o gado (HOEHNE, 1939; FIGUEREDO et al., 1987). Já foram catalogadas 32 espécies de C*rotalaria* e, apesar da sua ampla distribuição geográfica e da grande diversidade de espécies, não existem até o momento, relatos referentes à intoxicação natural por esse gênero, tanto nos animais domésticos quanto nos seres humanos.

Do gênero *Crotalaria*, a *C. spectabilis* - Fig. 2, é a mais tóxica, sendo que, essa toxicidade está relacionada à quantidade do AP MCT, em suas folhas e sementes. De fato, WILLIANS & MOLINEUX (1988), estudando a concentração de APs em sementes de 41 espécies distintas de *Crotalaria* verificaram que nas amostras de *C. spectabilis* havia maior quantidade dessa substância (aproximadamente 3,5%), quando comparada com as outras. A espectabilina, outro AP, pode também ser encontrada, no entanto, numa quantidade muito pequena (aproximadamente 0,05%), além disso, possui menor toxicidade que a MCT. Assim, a DL_{50} de MCT para ratos por via intraperitoneal está ao redor de 100mg/Kg (ALLEN et al., 1972), enquanto que a da espectabilina é de aproximadamente 250mg/Kg (WILLIAMS & MOLYNEUX, 1987).

Figura 2: *Crotalaria spectabilis*

Vários autores têm verificado a toxicidade das espécies de *Crotalaria* para os animais domésticos (STEYN, 1934; WEBB, 1948; VÖLKER, 1950; CLARKE & CLARKE, 1967; VERDCOURT & TRUMP, 1969; JUBB & KENEDY, 1970; SMITH et al., 1972; HOOPER & SCANLAN, 1977; TOKARNIA & DOBEREINER, 1982); por outro lado, pouco se sabe sobre a passagem de seu principal AP, a MCT, através do leite.

Assim, no presente trabalho, procurou-se verificar a veiculação da MCT e/ou do seu metabólito, no leite de animais expostos às sementes de *C. spectabilis* através da ração, observando seus efeitos tóxicos nos animais consumidores desse alimento, visando contribuir para o esclarecimento do risco potencial de intoxicação pela ingestão prolongada desse produto, principalmente pelos lactentes.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral.

2.2.1. Estudar os efeitos tóxicos da ingestão de leite proveniente de animais expostos à sementes de *C. spectabilis*, em ratos.

2.2. Objetivos específicos

2.2.1. Estudar os efeitos na prole de ratas expostas a *C. spectabilis* ou MCT, na ração.

2.2.2. Verificar se a toxicidade da *C. spectabilis* é semelhante à da MCT, em ratos.

2.2.3. Verificar possíveis diferenças na susceptibilidade aos efeitos tóxicos produzidos por MCT entre animais lactantes e lactentes.

2.2.4. Verificar possíveis diferenças na toxicidade da MCT entre lactentes machos e fêmeas, quando observados 2 meses após o desmame.

2.2.5. Estudar os efeitos, em ratos em crescimento, da administração de leite de cabra exposta a *C. spectabilis*.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Animais

3.1.1. Ratos

Foram utilizados ratos Wistar, machos e fêmeas, de mesma linhagem, provenientes do biotério do Centro de Pesquisa em Toxicologia Veterinária (CEPTOX), do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, Campus Administrativo de Pirassununga. Os animais foram alojados em gaiolas de plástico fosco com tampas metálicas, medindo 40x50x20 cm. Todas as gaiolas foram mantidas em salas com temperatura ambiente aproximadamente constante (21-24 °C) controlada por meio de aparelhos de ar condicionado, em um ciclo de luz natural.

Durante o período de acasalamento, machos e fêmeas foram colocados nas gaiolas acima descritas, na proporção de 2:4 respectivamente e, constatada a prenhez, as fêmeas foram mantidas individualmente em gaiolas até o nascimento e desmame dos filhotes.

Ao nascerem, as ninhadas foram homogeneizadas em número, mantendo-se 4 machos e 4 fêmeas, que permaneceram com as mães até o desmame, aos 21 dias de idade. A partir da abertura dos olhos dos filhotes (aproximadamente do 10° ao 13° dia de vida), inseriu-se junto às paredes das gaiolas, onde estavam alojadas as mães, uma estrutura de

madeira com 5 cm de altura. Esse procedimento foi realizado com a finalidade de evitar que a prole tivesse acesso à ração destinada às mães. Ao mesmo tempo, coaptou-se uma divisória de madeira no interior da caixa no sentido transversal. Essa divisória possuía orifícios na base inferior, possibilitando somente os filhotes alcançar o outro lado, onde depositou-se ração comercial comum (Figuras 3,4 e 5).

Alguns cuidados foram tomados para o manuseio dos animais: antes de tocá-los, lavava-se as mãos em água corrente, esfregando-as em seguida na ração e na maravalha que servia de cama aos animais com o intuito de não introduzir odores estranhos no ambiente. Estes não foram suspensos pela cauda ou por qualquer uma das patas, tendo-se sempre o cuidado de retirá-los delicadamente das gaiolas.

3.1.2. Caprino

Foi utilizada uma cabra em lactação, sem raça definida (SRD), obtida da caprinocultura do Departamento de Criação Animal (VCA) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, Campus Adminstrativo de Pirassununga. A cabra foi alojada no CEPTOX em um piquete com baia de área coberta, até o final do experimento. O leite sempre foi coletado em duas ordenhas diárias (manhã e tarde), armazenado em sacos plásticos, os quais foram imediatamente estocados no congelador.

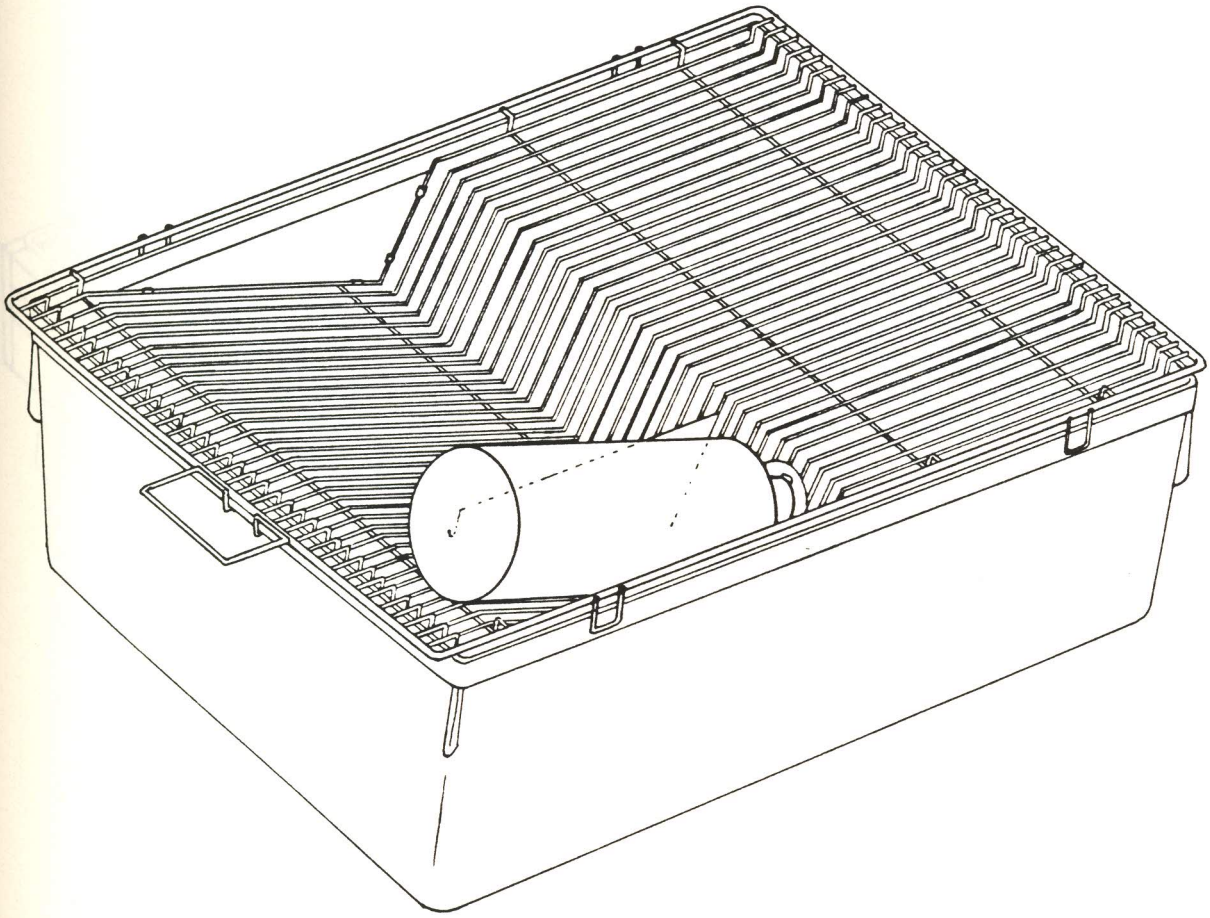


FIGURA 3- Desenho da gaiola normal de manutenção de ratas e proles.

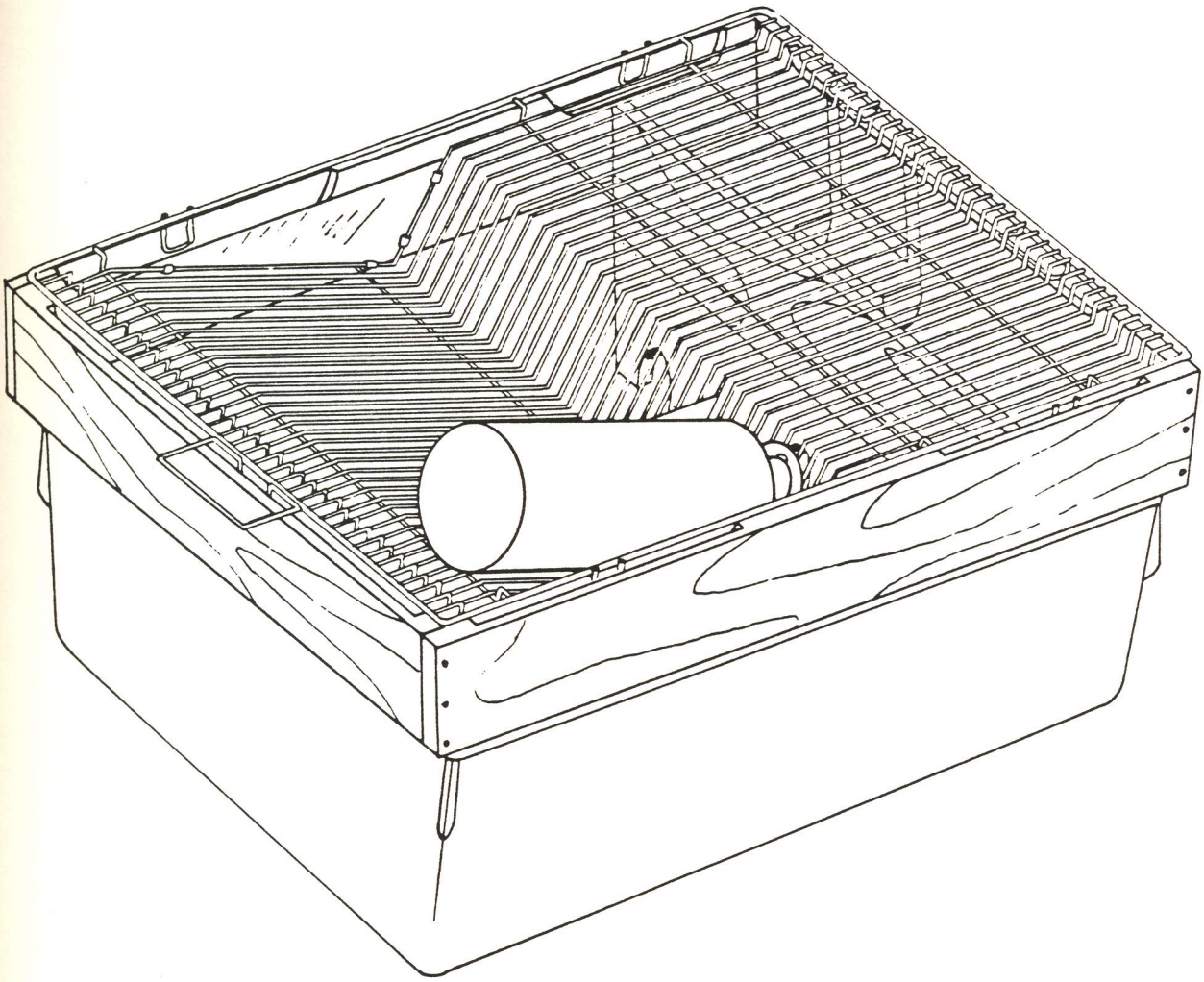


FIGURA 4- Aspecto externo da gaiola de manutenção adaptada, na qual se observam os compartimentos onde mãe e prole se alojavam, de forma que a prole não tivesse acesso ao alimento da mãe e vice versa.

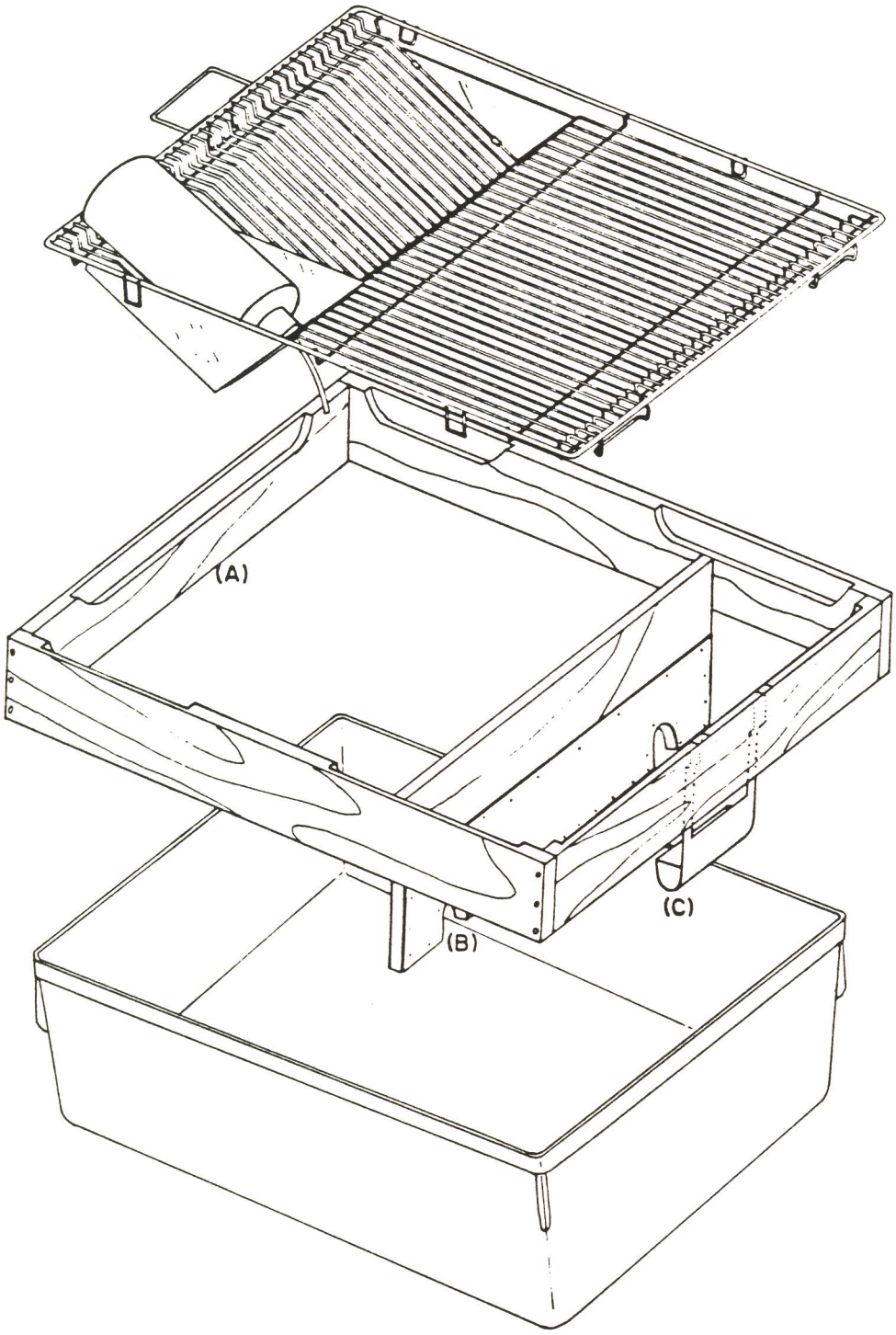


FIGURA 5- Esquema administrativo da adaptação feita na gaiola de manutanção de ratas e prole.

A - Moldura de madeira elevatória da tampa metálica.

B - Orifício de acesso somente da prole ao compartimento onde se encontrava ração normal.

C - Coxo contendo ração normal de livre acesso para a prole.

3.2. Droga

- Monocrotalina

A MCT foi obtida do Laboratório Sigma e conservada em refrigerador até sua completa utilização.

3.3. Sementes de *C. spectabilis*

As sementes de *Crotalaria spectabilis* utilizadas no preparo da ração dos animais, foram obtidas da Estação Experimental de Urussunga (EMPASC) - SC, através do engenheiro agrônomo Emílio Dela Cella.

3.4. Preparo de ração

3.4.1. Para ratas em lactação

As sementes de *C. spectabilis* foram moídas e adicionadas à ração comercial também previamente moída, em diferentes concentrações de (0,7%;* 0,4%; 0,2% e 0,1%). A mistura (semente + ração) foi homogeneizada em um misturador (Hovart Mod. H-600), acrescentando-se 20% de água sendo em seguida peletizada (Cpm California Peletizador).

---

* Escolheu-se inicialmente a concentração de 0,7% de sementes de *C. spectabilis* na ração, o que corresponderia a um consumo diário de aproximadamente 10mg/Kg de MCT. Esse valor refere-se a 1/10 da DL_{50} para ratos, por via i.p. (ALLEN et al., 1972)

O AP, MCT, foi adicionado à ração numa percentagem de 0,012% e 0,006%, realizando-se procedimento idêntico àquele descrito para a mistura das sementes de *C. spectabilis*. A ração, uma vez pronta, foi acondicionada em lugar seco, a fim de evitar-se o desenvolvimento de fungos.

A ração contaminada com as diferentes concentrações de sementes de *C. spectabilis* ou MCT, foram oferecidas "ad libitum" às ratas lactantes, a partir do primeiro dia de lactação até o desmame dos filhotes (21° dia de lactação), perfazendo um total de 21 dias.

A cada dois dias, até o final do experimento, a ração foi pesada, com a finalidade de se verificar o consumo da mesma pelos animais.

3.3.2. Para ratos em crescimento

No preparo da ração para ratos em crescimento, misturou-se à ração comercial 11,3% de leite de cabra liofilizado, valor esse que corresponde à 50% de leite "in natura". Essa ração foi balanceada com 8g de Duramix mineral e 20g de Duramix vitamínico. Uma vez pronta (peletizada) foi colocada na estufa numa temperatura de 60°C por 24 horas para a secagem e, posteriormente, acondicionada em depósito de plástico e conservada em refrigerador.

3.4.3. Para Cabras

A alimentação da cabra foi dividida em duas fases; na primeira o animal recebeu, por um período de 20 dias, ração comercial e pastagem (*Brachiaria brizantha*) a vontade. A segunda fase iniciou-se no 21° dia onde, além de pastagem, o animal recebeu ração acrescida de 10g/dia de sementes de *C. spectabilis*, por um período de 15 dias.

3.5. Procedimento

3.5.1. Confirmação da prenhez

A prenhez foi confirmada pela presença de espermatozóides no lavado vaginal, sendo esta verificada através da observação microscópica diária do esfregaço vaginal (VICKERY & BENNETT, 1970). Os esfregaços foram realizados exclusivamente pela manhã, entre 8 e 10 horas, através da introdução vaginal de uma solução de NaCl 0,9% utilizando uma pipeta de Pasteur, tendo o cuidado para não se introduzir a mesma profundamente, o que levaria à pseudo-prenhez. A presença de espermatozóide no esfregaço vaginal foi considerado como indicador do 1° dia da prenhez.

3.5.2. Avaliação do ganho de peso

As observações no desenvolvimento tanto das mães como dos filhotes foram realizadas sempre pela manhã entre 8 e 10 horas, a cada dois dias, através do acompanhamento do ganho de peso. A partir da

padronização da ninhada, os filhotes foram pesados em conjunto (machos e fêmeas) até o desmame. Para os ratos em crescimento, a pesagem foi realizada a cada sete dias. O consumo de ração (mães) foi medido a cada dois dias.

3.5.3. Dosagem bioquímica

A coleta de sangue para esse estudo foi efetuada no primeiro dia do desmame nas ratas mães e dez dias após esse procedimento nas proles, sempre no período da manhã. Para os ratos em crescimento a coleta de sangue foi realizada 2 meses após o desmame.

O sangue dos animais controle e experimental, foi coletado da veia hepática e acondicionado individualmente em tubos de ensaio sem anticoagulante e mantidos a temperatura ambiente até a formação do coágulo. Formado o coágulo, o sangue foi centrifugado à 4.000 rpm durante 15 minutos (centrífuga Fanem Eselsa Baby mod. 206R). Em seguida, o soro foi separado para as dosagens bioquímicas. Quando não foi possível realizar as análises bioquímicas num período de até 24 h, os soros foram mantidos no congelador, numa temperatura aproximada de -20°C, até realização das mesmas.

Para as dosagens bioquímicas da prole utilizou-se o sangue de 4 filhotes de mesmo sexo, considerado essa, então como uma amostra de sangue.

Para a realização dos exames bioquímicos foram utilizados "kits" comerciais específicos (Reactoclin - CELM ^{R}) e medidos em espectrofotômetro (Micronal ^{R}). Os exames bioquímicos consistiram em dosagens séricas dos níveis de aspartato aminotransferase (AST), alanina

aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina (FA), gama glutamil transferase (GGT), lactato desidrogenase (LDH), proteínas totais (PT), albumina, bilirrubina direta (BD), indireta (BI) e total (BT), creatinina e uréia. Para as dosagens de AST e ALT foi aplicado o método descrito por REITMAM & FRANKEL (1957); a FA foi determinada pela técnica de substrato de fenil fosfato e o GGT pelo método naftaleno modificado. As proteínas totais pela reação do biureto e a albumina pela reação com o verde de bromocresol. A bilirrubina pela reação com o ácido sulfanílico diazotado produzindo azobilirrubina, a creatinina através da reação do picrato alcalino para formar um cromógeno, a uréia foi dosada pelo método da urease.

3.5.4. Estudo Anátomo-patológico

As mães foram sacrificadas no primeiro dia do desmame e, dez dias após esse procedimento, sacrificou-se a prole, procedendo-se à necrópsia completa.* Após a inspeção macroscópica, foram retirados fragmentos representativos de tecido hepático, renal e pulmonar. Os mesmos foram fixados em formol à 10%, cortados e corados com hematoxilina-eosina, para observação de possíveis lesões ao nível de microscopia óptica. **

3.6. Delineamento Experimental

---

* Os ratos em crescimento foram sacrificados 2 meses após o início do experimento.

** Realizado pelo Prof. Dr. Luiz Guerra do Departamento de Patologia da FMVZ-USP.

3.6.1. EXPERIÊNCIA 1: Efeitos, nas ratas em lactação, da administração de diferentes concentrações de *C. spectabilis* na ração.

Para avaliação da mortalidade, foram utilizadas 36 ratas divididas em 6 grupos: 4 experimentais e 2 controles. As ratas dos grupos experimentais receberam, durante toda a fase de lactação, ração contendo as seguintes concentrações de sementes de *C. spectabilis*: 0,7% (Grupo E_1 n=6); 0,4% (Grupo E_2 n=6); 0,2% (Grupo E_3 n=6) ou 0,1% (Grupo E_4 n=6). Os animais dos grupos controles (C_1 e C_2 ambos com n=6)* receberam somente a ração comercial durante esse período. Todos esses animais foram observados duas vezes ao dia, até o final da lactação verificando-se a ocorrência ou não de morte. Os animais do grupo C_1 serviram de controle para os animais dos grupos experimentais E_1 e E_2, enquanto os do grupo C_2 serviram de controle para aqueles dos grupos experimentais E_3 e E_4,

O ganho de peso e o consumo de ração das ratas dos grupos experimentais e controles, foram avaliados a partir do 1° dia de lactação e a cada dez dias.

Após o 21° dia de lactação, as fêmeas dos grupos experimentais e controles foram anestesiadas, coletando-se o sangue para exames bioquímicos conforme descrito no ítem 3.5.3. A seguir, esses animais foram sacrificados em cuba com éter, procedendo-se à necrópsia e estudos histopatológicos conforme descrito no ítem 3.5.4.

---

* Foram realizados 2 grupos controles pois os experimentos foram conduzidos em épocas do ano diferentes.

3.6.2. EXPERIÊNCIA 2: Efeitos na prole, da administração de diferentes concentrações de sementes de *C. spectabilis*, na ração de ratas em lactação.

Foram utilizados 288 filhotes (144 machos e 144 fêmeas). divididos em 6 grupos iguais, 4 experimentais e 2 controles, 48 animais cada (24 machos e 24 fêmeas). As proles dos grupos experimentais Ep_1, Ep_2, Ep_3 e Ep_4, foram aqueles animais provenientes de mães dos grupos experimentais E_1, E_2, E_3 e E_4, respectivamente. Enquanto que as proles dos grupos controles (Cp_1 e Cp_2) foram aqueles provenientes de mães dos grupos controles, C_1 e C_2, respectivamente.

Os animais das proles referentes aos grupos controles e experimentais foram pesadas, por ninhada, a partir do 1° dia de vida e, a cada dois dias, até o desmame (21° dia de vida), conforme descrito no ítem 3.5.2.

Dez dias após o desmame os filhotes sobreviventes dos grupos experimentais e controles foram anestesiados, coletando-se sangue para as dosagens séricas das diferentes substâncias, conforme procedimento descrito no ítem 3.5.3. A seguir, esses animais foram sacrificados em cuba com éter, procedendo-se à necrópsia e estudo histopatológico conforme descrito no ítem 3.5.4.

3.6.3. EXPERIÊNCIA 3: Efeitos, nas ratas em lactação, da administração de diferentes concentrações de MCT na ração.

Foram utilizadas 24 ratas, divididas em 4 grupos iguais, sendo 2 experimentais e 2 controles. As ratas dos grupos experimentais

receberam, durante toda a lactação, ração contendo 0,012% (Grupo E_5) ou 0,006% (Grupo E_6) de MCT. As ratas dos grupos controles (C_1 e C_2) receberam, durante todo o período experimental, ração comercial comum. Esses animais foram observados, duas vezes ao dia, todos os dias, até o final da lactação, verificando-se a ocorrência de morte ou não. As ratas lactantes do grupo C_1 serviram de controle para os animais do grupo E_5, enquanto os animais do grupo C_2 serviram de controle para aqueles do grupo E_6.

O ganho de peso e o consumo de ração das mães dos grupos experimentais e controles, foram avaliados a cada dois dias, a partir do 1° dia de lactação até o desmame.

Após o último dia de lactação, as ratas dos grupos E_5, E_6, C_1 e C_2 foram anestesiadas, coletando-se sangue para exames bioquímicos, conforme descrito no ítem 3.5.3. Em seguida, esses animais foram sacrificados em cuba com éter, procedendo-se à necrópsia e estudo histopatológico, conforme descrito no ítem 3.5.4.

3.6.4. EXPERIÊNCIA 4: Efeitos, na prole, da administração de MCT na ração de fêmeas em lactação.

Foram utilizados 192 filhotes (96 machos e 96 fêmeas) divididos em 4 grupos iguais, 2 experimentais e 2 controles com 48 animais cada (24 machos e 24 fêmeas). As proles dos grupos experimentais Ep_5 e Ep_6, foram aquelas provenientes de mães dos grupos experimentais E_5 e E_6 respectivamente, enquanto que as proles dos grupos controles (Cp_1 e Cp_2) foram aqueles provenientes de mães dos grupos controles, C_1 e C_2, respectivamente. Esses foram observados 2

vezes ao dia, todos os dias, até o 31° dia de vida, e avaliados quanto ao aparecimento de morte ou não.

As proles dos grupos experimentais e controles foram pesadas, por ninhada, a partir do 1° dia de vida, e a cada dois dias até o desmame, conforme procedimento descrito no ítem 3.5.2.

Dez dias após o desmame, os filhotes sobreviventes, 48 do grupo E_5, 48 do grupo E_6 e 96 dos grupos C_1 e C_2 foram anestesiados, coletando-se sangue para a realização de dosagens séricas das diferentes substâncias, como descrito no ítem 3.5.3. Em seguida, esses animais foram sacrificados em cuba com éter, procedendo-se a necrópsia e estudo histopatológico, conforme descrito no ítem 3.5.4.

3.6.5. EXPERIÊNCIA 5: Efeitos da exposição natural, durante a lactação, de 0,2% de sementes de *C. spectabilis*, na prole de ratas observada 2 meses ápos o desmame.

Foram utilizados 80 filhotes, sendo que 40 desses (20 machos e 20 fêmeas) provenientes de mães tratadas, durante toda a lactação, com ração contaminada com 0,2% de sementes de *C. spectabilis* (grupo experimental). Os outros filhotes (20 machos e 20 fêmeas) foram aqueles provenientes de mães que receberam, durante a lactação, ração comercial comum (grupo controle).

As proles dos grupos controle e experimental, foram observadas diariamente, desde o nascimento até o 81° dia de vida quanto a ocorrência ou não de morte. No final do período, os filhotes sobreviventes dos grupos controle e experimental foram anestesiados, coletando-se sangue para as dosagens séricas das diferentes substâncias,

conforme descrito no ítem 3.5.3. Logo após, os animais foram sacrificados em cuba com éter, procedendo-se à necrópsia e estudo histopatológico, conforme descrito no ítem 3.5.4.

3.6.6. EXPERIÊNCIA 6: Efeitos em ratos em crescimento, da administração de ração contendo leite de cabra exposta às sementes de *C. spectabilis.*

Foram utilizados 20 ratos machos com 22 dias de idade, divididos em dois grupos iguais: experimental e controle. Os animais do grupo experimental receberam, por um período de dois meses, ração comercial contendo 11,3% de leite liofilizado, de cabra exposta às sementes de *C. spectabilis.* Os animais do grupo controle, receberam ração contendo leite de cabra liofilizado, porém coletado antes desta receber as sementes dessa planta na ração. Os ratos foram avaliados no 1° dia do experimento e a cada oito dias, durante dois meses quanto à ocorrencia de morte ou não.

Esses animais foram pesados a cada oito dias, a partir do 1° dia do desmame, durante um período de dois meses.

Dois meses após o início do tratamento, os animais foram anestesiados, coletando-se sangue para exames bioquímicos conforme procedimento descrito no ítem 3.5.3. A seguir, esses animais foram sacrificados em cuba com éter procedendo-se à necrópsia e estudo histopatológico, conforme descrito no ítem 3.5.4.

3.7. Análise Estatística

3.7.1. Teste "t"de Student

O teste "t" de Student (PIMENTEL, 1981) foi utilizado para analisar as médias das diferenças entre os pesos finais e iniciais dos animais utilizados dos grupos experimentais e controles, bem como do consumo de ração. Esse teste foi empregado para a comparação de dados bioquímicos de 2 grupos.

3.7.2. Análise de Variância e Teste de DUNCAN

A análise de Variância proposta por SNEDECOR (1946), seguida pelo teste de DUNCAN (1955), foi usada para a comparação de 3 ou mais amostras do estudo bioquímico.

4. RESULTADOS

4.1. EXPERIÊNCIA 1: Efeitos, nas ratas em lactação, da administração de diferentes concentrações de *C. spectabilis*, na ração.

A porcentagem de mortalidade referente à administração de diferentes concentrações (0,7%; 0,4%; 0,2% e 0,1%) de sementes de *C. spectabilis* a ratas em lactação, são mostradas na Tab. 2 e ilustrados na Fig. 6. Assim, observou-se que os animais tratados com 0,7% e 0,4% das sementes de *C. spectabilis*, apresentaram 16,6% de mortalidade. Por outro lado, não foram verificadas mortes nas lactantes dos outros dois grupos experimentais, nem naquelas dos grupos controle.

O consumo de ração desses animais é mostrado na Tab.3 e ilustrado na Fig. 7. Assim, quando analisou-se esse parâmetro, no período compreendido entre o 1° e o 11° dia de lactação, verificou-se uma diminuição significante ($p<0,05$) no consumo de ração daquelas lactantes tratadas com 0,2% e 0,1% de sementes de *C. spectabilis*, quando comparado com os valores obtidos dos animais do grupo controle. A comparação do consumo de ração entre os grupos controles e experimentais entre o 11° e o 21° dia, revelou haver uma diminuição significante ($p<0,05$) desse parâmetro nos animais de todos os grupos experimentais tratados com as sementes de *C. spectabilis*. Quando essa comparação foi realizada no período de toda a lactação, ou seja, do 1° ao 21° dia, a análise estatística revelou haver uma diminuição significante ($p<0,05$) nos animais de todos os grupos experimentais exceto àquele tratado com 0,1% de sementes de *C. spectabilis*.

A Tab. 3 mostra e a Fig. 8 ilustra, o ganho de peso desses animais, durante o período da lactação. Assim, quando comparou-se esses valores entre animais dos grupos controles e experimentais, verificou-se uma diminuição significante ($p<0,05$) no ganho de peso, das lactantes tratadas com 0,7% e 0,4% de sementes de *C. spectabilis*, no período compreendido entre o 1° e o 11° dia de lactação. A análise desse parâmetro, no período entre o 11° e o 21° dia de lactação, mostrou que exceto naqueleas ratas tratadas com 0,4% de *C. spectabilis*, todos os animais dos grupos experimentais diminuiram significantemente ($p<0,05$) o consumo de ração, quando comparado com aqueles valores obtidos do grupo controle. Quando o ganho de peso foi comparado no período total da lactação, ou seja, do 1° ao 21° dia, a análise estatística revelou uma diminuição significante ($p<0,05$) desse parâmetro em todos os animais dos grupos experimentais, exceto naqueles tratados com 0,1% de sementes de *C. spectabilis*.

Os resultados relativos aos efeitos da administração de ração contendo diferentes concentrações de sementes de *C. spectabilis* na atividade de enzimas séricas ALT, AST, GGT, FA e LDH de ratas lactantes, são apresentados na Tab. 4 e Fig. 9, 10 e 11. Assim, quando comparou-se esses valores entre os diferentes grupos, observou-se uma diferença significante nos níveis séricos de ALT ($F = 6,12$; $df = 15/2$; $p<0,05$) e FA ($F = 5.29$; $df = 15/2$; $p<0,05$). A aplicação do teste de Duncan, comparando-se grupo controle e experimental revelou um aumento significante ($p<0,05$) nos níveis séricos de ALT nos animais tratados com 0,7% e 0,4% de sementes de *C. spectabilis* e uma diminuição significante ($p<0,05$) nos níveis séricos de FA naquelas ratas tratadas com 0,1% de sementes de *C. spectabilis*. Nas demais enzimas

analisadas, a análise estatística não revelou alteração significante quando comparou-se os animais dos 6 diferentes grupos experimentais com aqueles do grupo controle.

A Tab. 5 mostra e as Fig. 12, 13, 14 e 15 ilustram os dados obtidos das dosagens dos níveis séricos de albumina, PT, BD, BI, uréia e creatinina. Assim, quando comparou-se os valores obtidos entre os 6 diferentes grupos, verificou-se uma diferença significante nos níveis séricos de PT ($F = 9.06$; $df = 15/2$; $p<0,05$), albumina ($F = 7.83$; $df = 15/2$; $p<0,05$) e creatinina ($F = 7.83$; $df = 15/2$; $p<0,05$). A aplicação do teste de Duncan revelou um aumento significante ($p<0,05$) nos níveis séricos de PT naqueles animais tratados com 0,1% de sementes de *C. spectabilis* e uma diminuição significante nos níveis séricos de albumina e creatinina nos animais tratados com 0,7% de sementes de *C. spectabilis*, quando comparados com àqueles dos ratos do grupo controle.

O exame histopatológico de espécimes, provenientes do fígado, pulmões e rins das ratas tratadas com as diferentes concentrações de sementes de *C. spectabilis*, revelou o seguinte quadro morfológico:

- **Fígado**: A arquitetura lobular hepática apresentou-se parcialmente preservada. As lesões foram predominantemente focais e caracterizavam-se por apresentar grupos de hepatócitos com degeneração vacuolar microgoticular, figuras de degeneração nuclear tais como cariorrexia, picnose e cariólise. Nas regiões peri-portais observou-se um número significante de hepatócitos necróticos, tendo sido a referida àrea transformada em massa acidófila e homogênea de tecido. Nestas áreas haviam células mononucleares e hemácias extravasadas, caracterizando quadro morfológico de necrose hemorrágica peri-portal. Não foram

observadas em nenhum dos espécimes examinados indícios de fibrose - Fig. 16.

- **Pulmões**: As lesões foram caracterizadas por quadro de pneumonia intersticial. Observou-se alargamento e fusão dos septos alveolares, presença de grande quantidade de células mononucleares, polimorfonucleares infiltrando os septos. No tecido conjuntivo peri-vascular e peri-bronquiolar, verificou-se o afrouxamento dos mesmos, pela deposição de fluído do edema e dilatação linfática. Havia nas áreas afetadas infiltrado celular mononuclear, além de hiperplasia do tecido linfóide peri-brônquico. Alguns dos espaços alveolares exibiram seus pneumócitos com aspecto reacional e com grande quantidade de macrófagos espumosos preenchendo-os completamente -Fig. 17.

- **Rins**: Nesse órgão as lesões foram do tipo nefrose tubular tóxica caracterizadas por degeneração vacuolar e necrose do epitélio tubular renal-Fig. 18.

Nos animais controles e nos experimentais, tratados com 0,1% de sementes de *C. spectabilis* não foram evidenciadas alterações em nenhum dos órgãos estudados. Nas ratas tratadas com 0,4% e 0,2% de sementes de *C. spectabilis*, não foram absrvadas lesões ao nível renal.

4.2. EXPERIÊNCIA 2: Efeitos na prole, da administração de diferentes concentrações de sementes de *C. spectabilis* na ração, de fêmeas em lactação.

A Tab. 6A mostra e a Fig. 19 ilustra, a porcentagem de mortalidade das proles de ratas lactantes tratadas com diferentes concentrações (0,7%; 0,4%; 0,2% e 0,1%) de sementes de *C. spectabilis* na ração. Assim, observou-se uma porcentagem de mortalidade de 41,6%; 12,5% e 2,08% nas proles dos grupos tratados com 0,7%; 0,4% e 0,1% de sementes de *C. spectabilis,* respectivamente. Por outro lado, não foram verificadas mortes nas proles de mães tratadas com 0,2% de sementes, bem como naquelas do grupo controle.

Em relação ganho de peso das proles, foi verificada uma diminuição significante ($p<0,05$) entre o 1° e o 11° dia de aleitamento, somente nos filhotes das ratas do grupo tratado com 0,2% de sementes, em comparação àqueles do grupo controle. Quando esse parâmetro foi analisado no período compeendido entre o 11° e o 21° e no período total de aleitamento (1° ao 21°), observou que, exceto naquelas proles de mães tratadas com 0,1% de sementes de *C. spectabilis*, todos os outros grupos de animais apresentaram uma diminuição significante ($p<0,05$) do ganho de peso, quando comparado com aqueles valores dos animais do grupo controle - Tab. 6B e Fig.20.

Os resultados referentes à administração de diferentes concentrações de sementes de *C. spectabilis* à ratas lactantes, na atividade de enzimas séricas ALT, AST, FA, GGT e LDH dos machos e fêmeas de suas proles, são apresentados na Tab. 7A e 7B e Fig 21, 22, 23 e 24. Não foi possível fazer a análise dos dados bioquímicos dos machos da prole de mães tratadas com 0,7% de sementes de *C. spectabilis*, devido a alta mortalidade entre eles, não restando portanto animais suficientes para tal. Por outro lado, a comparação entre os níveis de enzimas séricas, obtidos daqueles machos de prole de mães tratadas com

0,4% de sementes de *C. spectabilis* e os animais do grupo controle, mostrou haver uma diferença significante ($p<0,05$) nos níveis séricos de ALT. A aplicação da análise de variância entre os valores obtidos dos machos das proles de mães tratadas com 0,2% e 0,1% e aqueles do grupo controle, mostrou não haver diferenças entre os mesmos. Em relação às fêmeas, a análise de variância revelou haver diferenças significantes nos níveis séricos de ALT ($F = 14.92$; $df = 15/2$; $p<0,05$) ; FA ($F = 67.49$; $df = 15/2$; $p<0,05$) e LDH ($F = 10.67$; $df = 15/2$; $p<0,05$) entre os 6 diferentes grupos. A aplicação do teste de Duncan revelou um aumento significante ($p<0,05$) nos níveis séricos de ALT naquelas fêmeas de mães tratadas com 0,7% de *C. spectabilis*; um aumento significante ($p<0,05$) nos níveis séricos de FA naquela prole de fêmeas de mães tratadas com 0,7% e 0,4% de sementes de *C. spectabilis* e uma diminuição significante ($p<0,05$) nos níveis séricos de LDH nos animais provenientes de mães tratadas com 0,1% de sementes de *C. spectabilis,* quando comparado com aqueles do grupo controle.

Os valores obtidos, das dosagens de PT, BD, BI e BT, albumina, uréia e creatinina nos machos e fêmeas da prole de mães tratadas com as diferentes concentrações de *C. spectabilis*, são mostrados nas Tab.8 e 9 e Fig. 25, 26, 27, 28, 29 e 30. Assim, em relação aos machos da prole, a análise estatística revelou não haver diferenças significantes dos valores obtidos, entre os grupos controle e experimentais. Por outro lado, em relação às fêmeas das proles, essa mesma análise mostra diferenças significantes entre os 6 grupos: nos níveis de BI, ($F = 22.65$; $df = 15/2$; $p<0,05$) e BT ($F = 16.31$; $df = 15/2$; $p<0,05$). A aplicação do teste de Duncan mostrou um aumento

significante ($p<0,05$), nos níveis de BI e BT nos animais do grupo proveniente de mães tratadas com 0,2% de sementes de *C. spectabilis.*

O exame histopatológico de espécimes provenientes do fígado, pulmões e rins de proles de mães tratadas com sementes de *C. spectabilis*, revelou o seguinte quadro morfológico.

- **Fígado**: As lesões hepáticas foram as mesmas descrita paras as mães correspondentes, como degeneração e necrose hepatocitária, porém essas foram bem mais discretas.

- **Pulmão**: Foram observadas lesões exuberantes ao nível pulmonar nos animais de todos os grupos experimentais exceto naqueles de mães tratadas com 0,1% de sementes de *C. spectabilis*. As lesões foram caracterizadas por quadro de pneumonia intersticial Assim, da mesma maneira que foi verificado nas mães, observou-se alargamento e fusão de septos alveolares, presença de uma grande quantidade de células mononucleares e alguns polimorfonucleares infiltrando os septos.

- **Rins**: As alterações nas proles foram do tipo necrose tubular tóxica, caracterizadas por degeneração vacuolar e necrose do epitélio tubular renal.

Não foram evidenciadas alterações nos diferentes órgãos estudados, nos animais do grupo controle. Nas proles de mães tratadas com 0,1% de sementes de *C. spectabilis* na ração, não foram observadas lesões ao nível de parênquima pulmonar e renal. Naquelas proles de mães tratadas com 0,2% de sementes de *C. spectabilis* também não foram evidenciadas lesões ao nível renal.

4.3. EXPERIÊNCIA 3: Efeitos, nas ratas em lactação, da administração de diferentes concentrações de (MCT) na ração.

A porcentagem de mortalidade referentes à administração de diferentes concentrações de MCT (0,012% e 0,006%) na ração de ratas durante a lactação é mostrada na Tab. 10. Assim, observa-se que não foram verificadas mortes nas ratas lactantes dos grupos experimentais e controles.

Em relação ao consumo de ração não se observou alteração significante entre os animais dos grupos controles e experimentais - Tab. 12 e Fig. 34. Quanto ao ganho de peso desses animais, quando comparou-se do 1° ao 11° dia e do 1° ao 21° dia de lactação, observou-se uma diminuição significante ($p<0,05$) nas ratas tratados com 0,012% de MCT - Tab. 12 e Fig. 35.

Em relação ao estudo da atividade de enzimas séricas ALT, AST, FA, GGT e LDH, verificou-se uma diminuição significante ($p<0,05$) nos níveis séricos de FA nas ratas tratadas com 0,012% de MCT e um aumento significante ($p<0,05$), nos níveis séricos de GGT naquelas tratadas com 0,006% de MCT quando comparados com aqueles dos animais do grupo controle - Tab. 11 e Fig. 31, 32 e 33. Os outros parâmetros bioquímicos analisados: PT, BD, BI e BT, albumina, uréia e creatinina, são mostrados na Tab. 13 e ilustrados nas Fig. 36, 37, 38 e 39. Assim, observou-se uma diminuição significante ($p<0,05$) nos níveis séricos de creatinina, nos grupos de animais tratados com 0,012% de MCT. Por outro lado, naqueles tratados com 0,006% de MCT observou-se aumento significante ($p<0,05$) nos níveis de PT.

O exame histopatológico de espécimes provenientes do fígado, pulmões e rins dos ratos tratados com monocrotalina, revelou o seguinte quadro morfológico:

Fígado: A lesão nesse órgão foi semelhante à descrita anteriormente para as ratas tratadas com as sementes de *C. spectabilis*, assim observou-se um quadro característico de degeneração e necrose hepatocitária.

Pulmão: Nesse órgão, foram evidenciadas lesões caracterizadas por um quadro de pneumonia intersticial. Esse quadro também foi semelhante àquele descrito para os animais tratados com as sementes de *C. spectabilis.*

Rins: Foram observadas lesões semelhantes àquelas descritas anteriormente, (Experiência 1) caracterizadas por um quadro de nefrose tubular tóxica. Nos animais tratados com 0,012% de MCT não foram observadas lesões ao nível renal.

Nos animais dos grupos controles não foram evidenciadas lesão em nenhum dos órgãos pesquisados.

4.4. EXPERIÊNCIA 4: Efeitos na prole, da administração de (MCT) na ração de fêmeas em lactação.

A porcentagem de mortalidade da prole de ratas tratadas durante a lactação, com diferentes concentrações (0,012% e 0,006%) de MCT é mostrada na Tab. 14A. Assim, observa-se que não houve mortalidade das proles em nenhum dos grupos avaliados.

Em relação ao ganho de peso, não foram evidenciadas diferenças significantes entre os animais dos grupos controles e experimentais nos diferentes períodos analisados -Tab. 14B e Fig. 40.

As alterações enzimáticas das proles macho e fêmea de ratas tratadas com MCT são mostradas nas Tab. 15A e 15B e ilustradas nas Fig. 41, 42, 43 e 44 . Dessa forma, verificou-se uma diminuição significante ($p<0,05$) nos níveis séricos de FA nos machos da prole de ratas tratadas com 0,006% de MCT. Em relação às fêmeas da prole observou-se diminuição significante ($p<0,05$) nos níveis séricos de LDH naquelas de ratas tratadas com 0,006% de MCT.

As Tab. 16 e 17 mostram e as Fig.45, 46, 47, 48, 49 e 50 ilustram, os valores dos níveis séricos obtidos das substâncias analisadas: PT, BD, BI e BT, albumina, uréia e creatinina. A análise estatística analizada revelou não haver diferenças significantes entre os grupos controles e experimentais.

O exame histológico de espécimes provenientes do fígado, pulmões e rins de proles de mães tratadas com MCT, revelou o seguinte quadro morfológico:

- **Pulmões**: As lesões pulmonares observadas foram caracterizadas por pneumonia-intersticial, observadas somente nas proles de ratas tratadas com 0,012% de MCT.

Nos animais dos grupos controles, bem como naqueles animais provenientes de ratas tratadas com 0,006% de MCT, não foram evidenciadas lesões em nenhum dos órgãos pesquisados. Não foram observadas lesões ao nível de fígado e rins naqueles animais provenientes de mães tratadas com 0,012% de MCT.

4.5. EXPERIÊNCIA 5: Efeitos da exposição natural, durante a lactação, de 0,2% de sementes de *C. spectabilis*, na prole de ratas, observadas 2 meses após o desmame.

A porcentagem de mortalidade dois meses após o desmame, de filhotes machos e fêmeas, de ratas tratadas com 0,2% de sementes de *C. spectabilis* é mostrada na Tab. 18A e ilustrada na Fig. 51. Assim, observou-se 20% de mortalidade nos machos e 30% nas fêmeas da prole. Por outro lado não foram verificadas mortes nas proles (machos e fêmeas) provenientes de ratas do grupo controle.

A Tab. 18B mostra e a Fig. 51 ilustra, os resultados referentes ao ganho de pesos dos animais das proles (machos e fêmeas) no período compreendido entre o 21° e o 81° dia de vida. A análise estatística revelou não haver diferença significante no ganho de peso entre as proles (machos e fêmeas) dos grupos controle e experimentais.

A análise da atividade de enzimas séricas: ALT, AST, FA, GGT e LDH, desses animais são mostrada na Tab. 19A e 19B e ilustradas nas Fig. 52 e 53. Assim, verificou-se aumento significante ($p<0,05$) nos níveis séricos FA e LDH, nos machos e fêmeas da prole do grupo experimental, quando comparados com àqueles do grupo controle.

Quando comparou-se os níveis séricos de PT, BD, BI e BT, albumina, uréia e creatinina, da prole de animais provenientes de mães tratadas com sementes de *C. spectabilis* com aqueles do grupo controle, observou-se uma aumento significante ($p<0,05$), nos níveis séricos de BI, BT e uréia, nos animais machos da prole de ratas do grupo experimental. Em relação às fêmeas da prole observou-se uma diminuição

significante ($p<0,05$) nos níveis séricos de BD e creatinina naquelas proles de fêmeas do grupo experimental- Tab. 20 e Fig. 54, 55 e 56.

O exame histopatológico de espécimes provenientes desses animais apresentaram o seguinte quadro morfológico.

Fígado: O quadro verificado nos animais do grupo experimental foi de necrose hepatocitária.

Pulmão: As lesões observadas ao nível pulmonar foram de pneumonia intersicial, sendo estas bem mais discreta que nas experiências anteriores.

Rins: Nesse órgão não foram observadas lesões.

Em relação aos animais do grupo controle, não foram verificadas nenhuma alteração nos diferentes órgãos avaliados.

4.6. EXPERIÊNCIA 6: Efeitos em ratos em crescimento, da administração de ração contendo leite de cabra exposta às sementes de *C. spectabilis.*

Em relação a morte, não foi observado esse parâmetro tanto nos animais do grupo controle como naqueles do grupo experimental- Tab. 21.

Quanto ao ganho de peso, a análise estatística das médias obtidas entre a 1° e a 3° semana (21 dias do início do experimento) observou-se uma diminuição significante ($p<0,05$) do ganho de peso dos animais do grupo experimental, quando comparado com aqueles dos animais do grupo controle-Tab. 22 e Fig. 57.

Os resultados referentes aos efeitos da administração de ração contendo leite de cabra exposta à sementes de *C. spectabilis* na atividade de enzimas séricas de ratos em crescimento são mostrados na Tab. 23 e ilustrados nas Fig. 58. Assim, quando comparou-se esses valores, entre os grupos controle e experimental, observou-se aumento significante ($p<0,05$) nos níveis séricos de ALT, LDH e GGT, naqueles animais do grupo experimental.

A Tab. 24 mostra e as Fig. 59 e 60 ilustram, os dados obtidos nas dosagens dos níveis séricas de PT, BD, BI e BT, albumina, uréia e creatinina. Assim, quando comparou-se os valores obtidos entre os grupos e controle e experimental a análise estatística revelou não haver diferença significante.

O exame histopatológico de espécimes provenientes do fígado, pulmões e rins de ratos machos tratados com ração contendo leite de cabra exposta à sementes de *C. spectabilis*, revelou o seguinte quadro morfológico:

Fígado: As lesões hepáticas observadas nos animais do grupo experimental, foram de degeneração e necrose hepatocitária.

Pulmões: Foram observadas lesões caracterizadas por um quadro de pneumonia intersticial.

Rins: As alterações nesse órgão foram do tipo tubular tóxica caracterizadas por degeneração e necrose do epitélio tubular renal.

Não foram observadas nenhuma alteração nos diferentes órgãos examinados, provenientes de ratos do grupo controle.

4.7. Tabelas e figuras.

Tabela 2: Efeitos da administração de diferentes concentrações *C. spectabilis* (0,7%; 0,4%; 0,2% ou 0,1%) na mortalidade de ratas lactantes. São apresentados o número e porcentagem de animais mortos no final do experimento.

GRUPOS	n	Nº DE ANIMAIS MORTOS NO FINAL DO EXPERIMENTO	PORCENTAGEM MORTE (%)
CONTROLE(C_1)	6	0	0
C.spectabilis 0,7%	6	1	16,2
C.spectabilis 0,4%	6	1	16,2
CONTROLE(C_2)	6	0	0
C.spectabilis 0,2%	6	0	0
C.spectabilis 0,1%	6	0	0

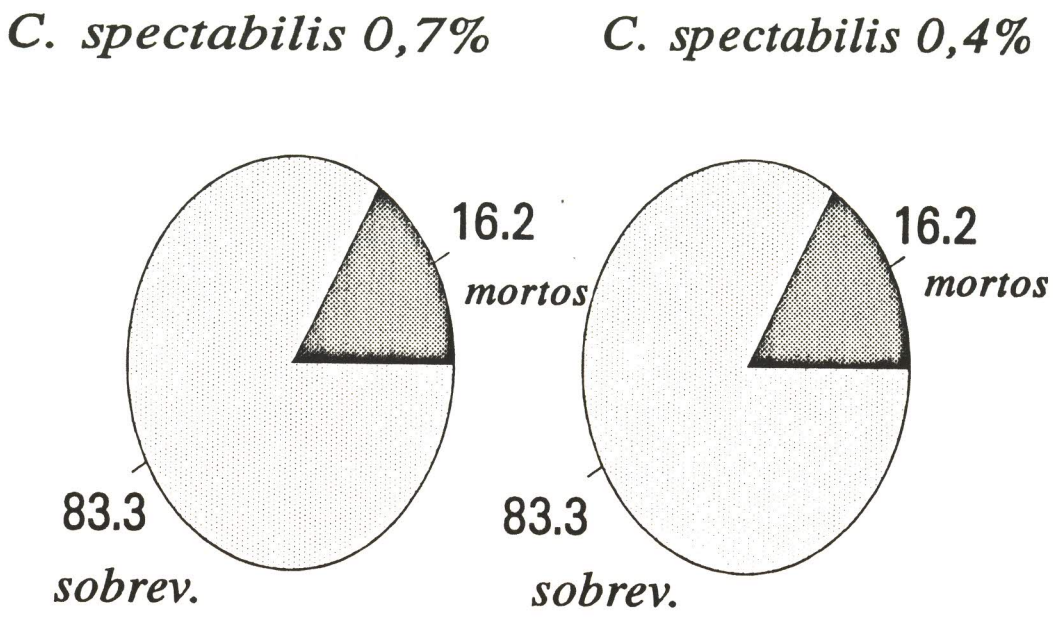


FIGURA 6- Porcentagem de mortalidade de ratas lactantes expostas às concentrações de 0,7% ou 0,4% (A) e 0,2% ou 0,1% (B) de semente de *C. spectabilis* na ração.

Tabela 3: Efeitos da administração de diferentes concentrações de sementes de *C. spectabilis* (0,7%; 0,4%; 0,2% ou 0,1%) no consumo de ração e ganho de peso das mães, durante os 21 dias de lactação. São apresentadas as médias aritméticas e os respectivos desvios-padrões dos pesos em gramas da ração consumida e do ganho de peso dos animais, respectivamente.

GRUPOS	n	CONSUMO DE RAÇÃO			GANHO DE PESO		
		1° - 11°	11° - 21°	1° - 21° (a)	1° - 11°	11° - 21°	1° - 21° (a)
CONTROLE(C_1)	6	313,6 ±22,8	505,2 ±12,1	738,8 ±28,1	64,0 ± 9,6	39,0 ±6,6	52,0 ±7,2
C. spectabilis 0,7%	6	288,1 ±33,1	368,4★ ±99,8	585,8★ ±109,6	25,3★ ±16,9	4,0★ ±22,6	15,6★ ±26,7
C. spectabilis 0,4%	6	295,6 ±44,7	397,1★ ±90,7	620,0★ ±118,4	42,0★ ±9,8	19,3 ±13,2	11,0★ ±9,3
CONTROLE (C_2)	6	314,8 ±26,7	568,5 ±28,8	789,5 ±38,8	43,6 ±47,1	50,5 ±8,5	44,1 ±14,6
C. spectabilis 0,2%	6	252,5★ ±31,3	429,1★ ±50,8	614,6★ ±68,4	41,9 ±8,5	36,8★ ±10,7	28,3★ ±7,8
C. spectabilis 0,1%	6	360,8★ ±38,3	477,6★ ±58,1	838,5 ±88,1	56,8 ± 8,7	34,5★ ±23,6	41,3 ±24,8

(a) dias de lactação

★ $p < 0,05$ em relação ao grupo controle - Teste "t" de Student

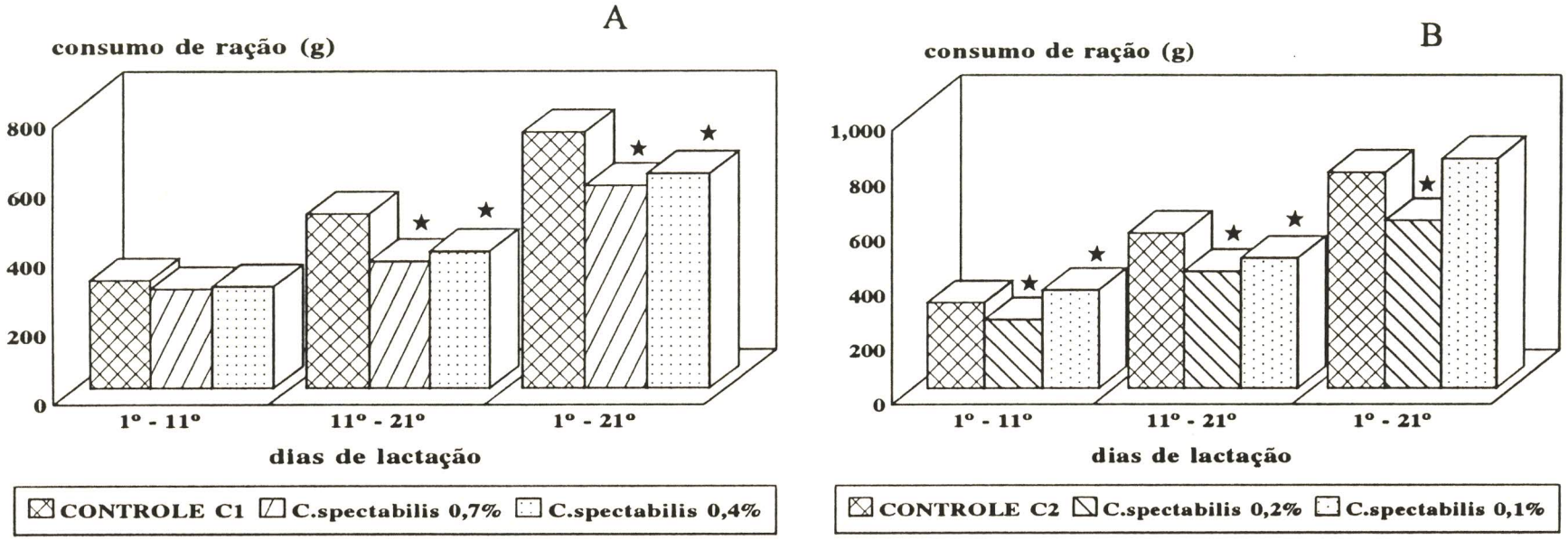


FIGURA 7- Consumo de ração de ratas lactantes expostas às concentrações de 0,7% ou 0,4% (A) e 0,2% ou 0,1% (B) de semente de *C. spectabilis* na ração.
★ $p < 0.05$ em relação ao grupo controle- Teste "t"de Student.

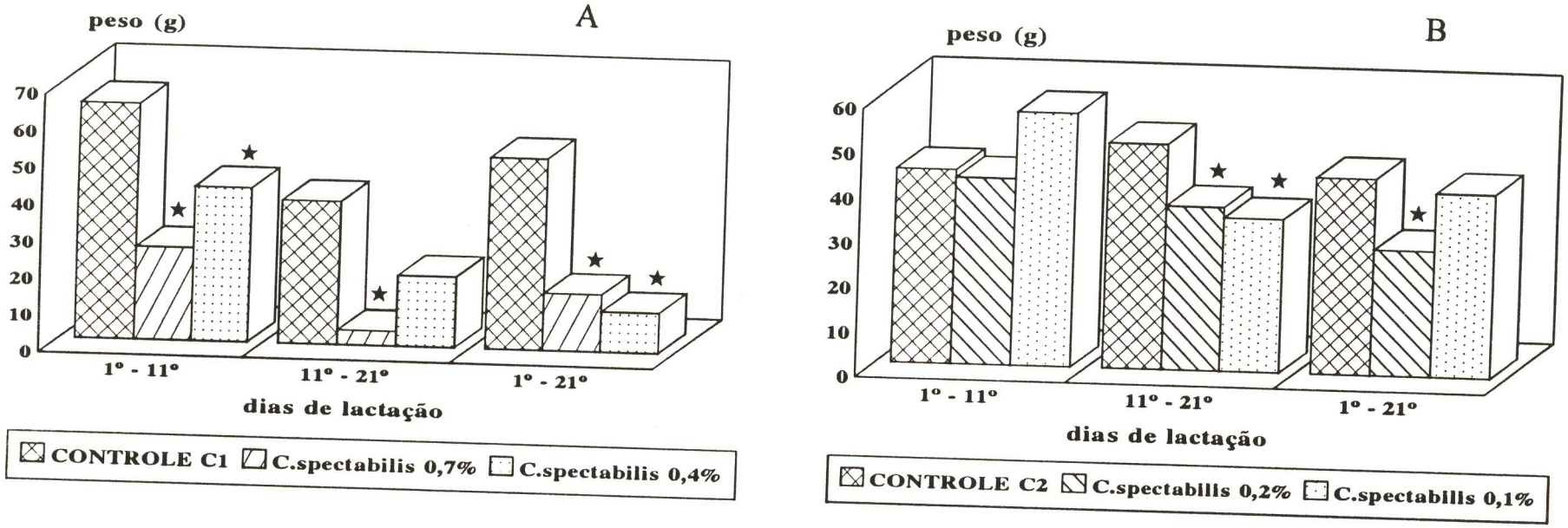
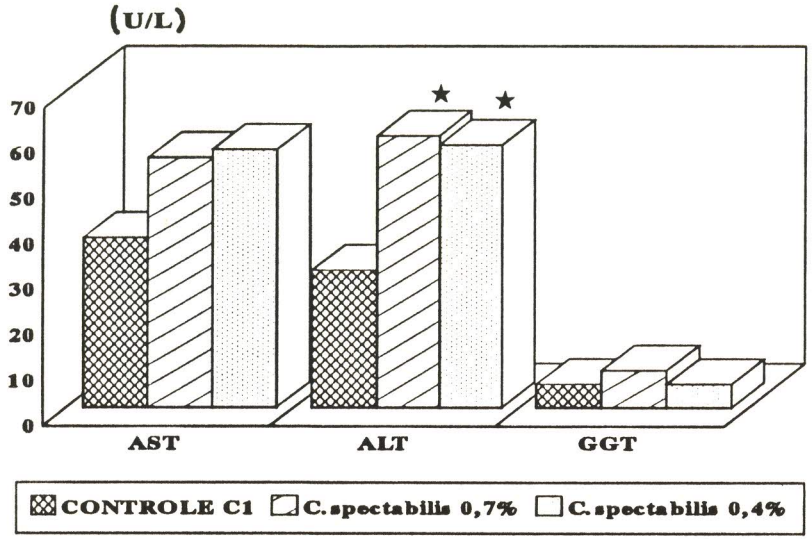


FIGURA 8- Ganho de peso de ratas lactantes expostas às concentrações de 0,7% ou 0,4% (A) e 0,2% ou 0,1% (B) de semente de *C. spectabilis* na ração.
★ $p < 0.05$ em relação ao grupo controle- Teste "t"de Student.

Tabela 4: Efeitos da administração das diferentes concentrações de sementes de *C. spectabilis* (0,7%; 0,4%; 0,2% ou 0,1%) na atividade de enzimas sérica das mães: Aspartato amino transferase (AST), alanina amino transferase (ALT), gama glutamil transferase (GGT), fosfatase alcalina (FA) e lactato desidrogenase (LDH). São apresentadas as médias aritiméticas e os respectivos desvios-padrões.

GRUPOS	ENZIMAS SÉRICAS ANALISADAS NAS MÃES				
	AST (U/L)	ALT (U/L)	GGT (UI/L)	FA (mU/mL)	LDH (UI/L)
CONTROLE (C_1)	37,30 ± 6,00	30,30 ± 5,62	5,20 ± 2,80	975,91 ± 145,2	410,00 ± 207,15
C. spectabilis 0,7%	55,00 ± 24,70	59,80 ★ ± 17,71	8,20 ± 2,21	674,10 ± 228,72	287,50 ± 176,85
C. spectabilis 0,4%	56,80 ± 31,30	57,81 ★ ± 21,3	5,21 ± 3,0	937,75 ± 164,13	503,33 ± 343,56
CONTROLE (C_2)	18,00 ± 12,71	18,82 ± 5,40	12,65 ± 3,23	851,36 ± 482,01	621,00 ± 185,42
C. spectabilis 0,2%	25,83 ± 8,84	19,83 ± 5,67	17,28 ± 5,30	857,37 ± 344,46	544,16 ± 265,64
C. spectabilis 0,1%	26,33 ± 3,26	15,00 ± 3,79	15,65 ± 6,95	285,55 ★ ±126,15	747,50 ± 58,80

★ $p < 0,05$ em relação ao grupo controle - Análide de Variância



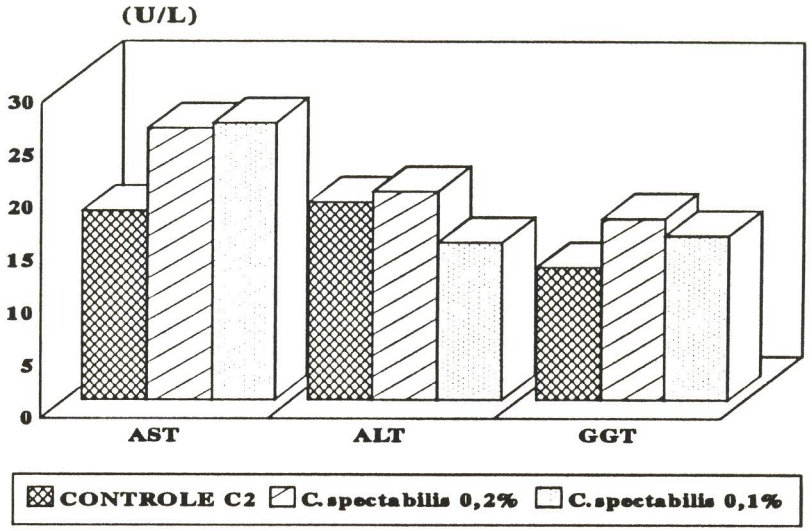
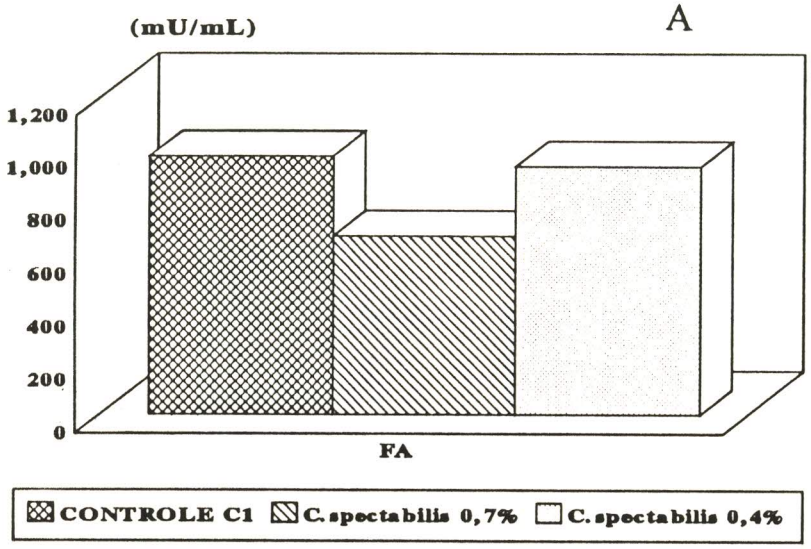


FIGURA 9- Níveis séricos das enzimas: aspartato aminotranferase-AST, Alanina aminotransferase-ALT, gama glutamiltrasferase-GGT; em ratas lactantes expostas às concentrações de 0,7% ou 0,4% (A) e 0,2% ou 0,1% (B) de sementes de *C. spectabilis* na ração.
★ $p < 0,05$ em relação ao grupo controle- Análise de Variância.



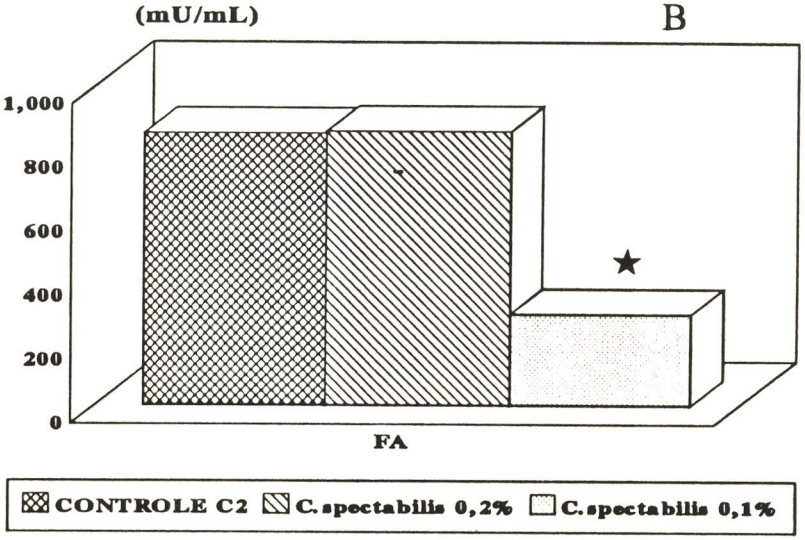


FIGURA 10- Níveis séricos da enzima: fosfatase alcalina -FA em ratas lactantes expostas às concentrações de 0,7% ou 0,4% (A) e 0,2% ou 0,1% (B) de sementes de *C. spectabilis* na ração.
★ $p<0,05$ em relação ao grupo controle - Análise de Variância.

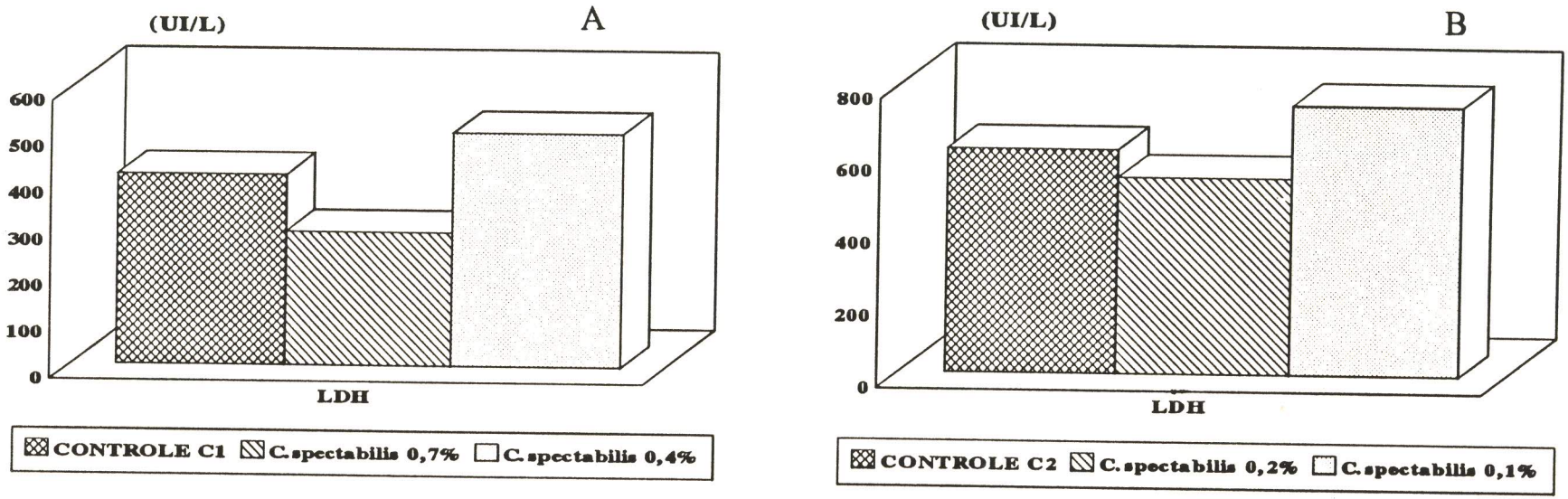


FIGURA 11- Níveis séricos da enzima: lactato desidrogenase -LDH em ratas lactantes expostas às concentrações de 0,7% ou 0,4% (A) e 0,2% ou 0,1% (B) de sementes de *C. spectabilis* na ração.

Tabela 5: Efeitos da administração de diferentes concentrações de sementes de *C. spectabilis* (0,7%; 0,4%; 0,2% ou 0,1%) sobre parâmetros bioquímicos séricos detectados nas mães: Proteína total, biluirrubina direta, indireta e total, uréia , creatinina e albumina. São apresentadas as médias aritméticas e os respectivos desvios-padrões.

GRUPOS	PARÂMETROS BIOQUÍMICOS SÉRICOS ANALISADOS NAS MÃES						
	Prot. Total (g/dl)	Bil. Direta (mg/dl)	Bil. Indireta (mg/dl)	Bil. Total (mg/dl)	Uréia (mg/dl)	Creat. (mg/dl)	Albumina (g/dl)
CONTROLE (C_1)	5,65 ±0,68	0,30 ±0,24	0,67 ±0,79	0,91 ±0,60	45,07 ± 4,59	1,58 ±0,22	4,30 ± 0,64
C. spectabilis 0,7%	5,79 ±0,88	1,26 ±1,59	1,57 ±1,23	2,58 ±2,53	56,46 ±21,42	1,18 ★ ±0,20	3,21 ★ ± 0,46
C. spectabilis 0,4%	5,57 ±0,37	0,29 ±0,18	0,69 ±0,38	0,98 ± 0,44	50,49 ± 17,20	1,32 ± 0,23	3,41 ± 0,39
CONTROLE (C_2)	5,22 ± 0,40	0,08 ± 0,05	0,28 ± 0,16	0,36 ± 0,15	80,09 ± 46,67	1,24 ± 0,31	3,72 ± 0,43
C. spectabilis 0,2%	5,12 ± 0,24	0,07 ± 0,04	0,34 ± 0,16	0,42 ± 0,13	83,27 ± 22,19	1,19 ± 0,22	3,21 ± 0,29
C. spectabilis 0,1%	6,10 ★ ± 0,60	0,30 ±0,15	0,29 ± 0,09	0,59 ± 0,15	64,00 ± 4,38	0,97 ± 0,12	4,16 ± 0,27

★ $p < 0,05$ em relação ao grupo controle - Análise de Variância

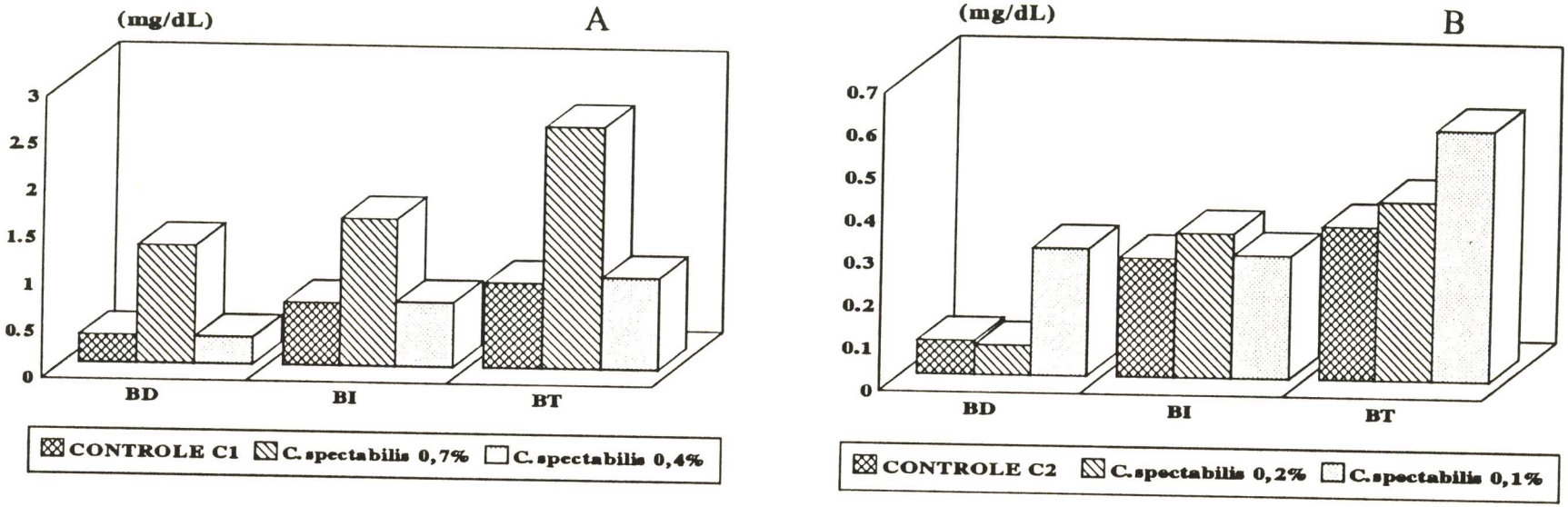


FIGURA 12- Níveis séricos das substâncias endógenas: bilirrubina direta-BD, indireta-BI e total-BT em ratas lactantes expostas às concentrações de 0,7% ou 0,4% (A) e 0,2% ou 0,1% (B) de sementes de *C. spectabilis* na ração.

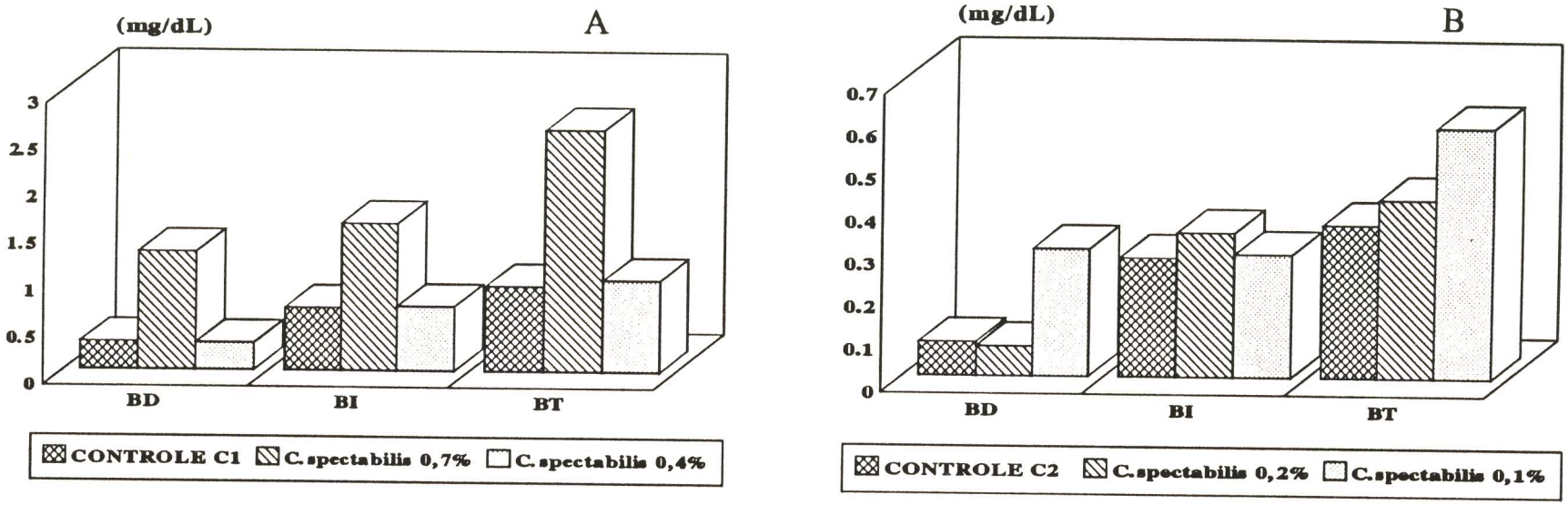


FIGURA 12- Níveis séricos das substâncias endógenas: bilirrubina direta-BD, indireta-BI e total-BT em ratas lactantes expostas às concentrações de 0,7% ou 0,4% (A) e 0,2% ou 0,1% (B) de sementes de *C. spectabilis* na ração.

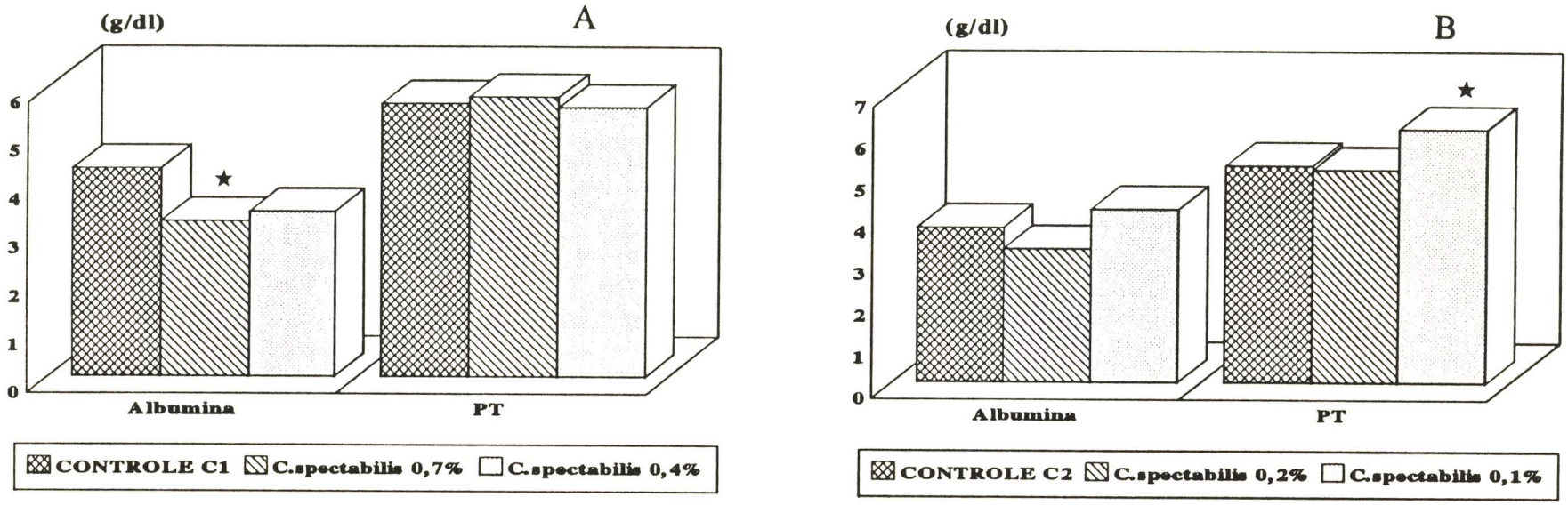


FIGURA 13- Níveis séricos das substâncias endógenas: albumina e proteina total-PT, em ratas lactantes expostas às concentrações de 0,7% ou 0,4% (A) e 0,2% ou 0,1% (B) de sementes de *C. spectabilis* na ração.
★ $p < 0,05$ em relação ao grupo controle- Análise de Variância.

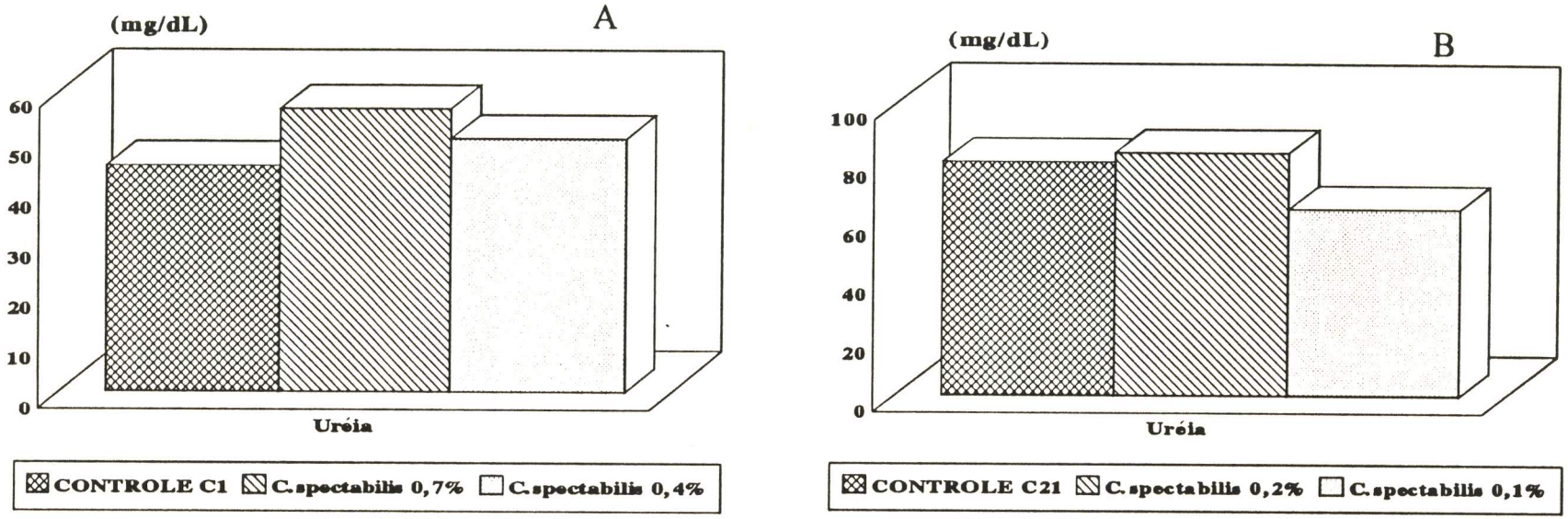


FIGURA 14- Níveis séricos de uréia em ratas lactantes expostas às concentrações de 0,7% ou 0,4% (A) e 0,2% ou 0,1% (B) de sementes de *C. spectabilis* na ração.

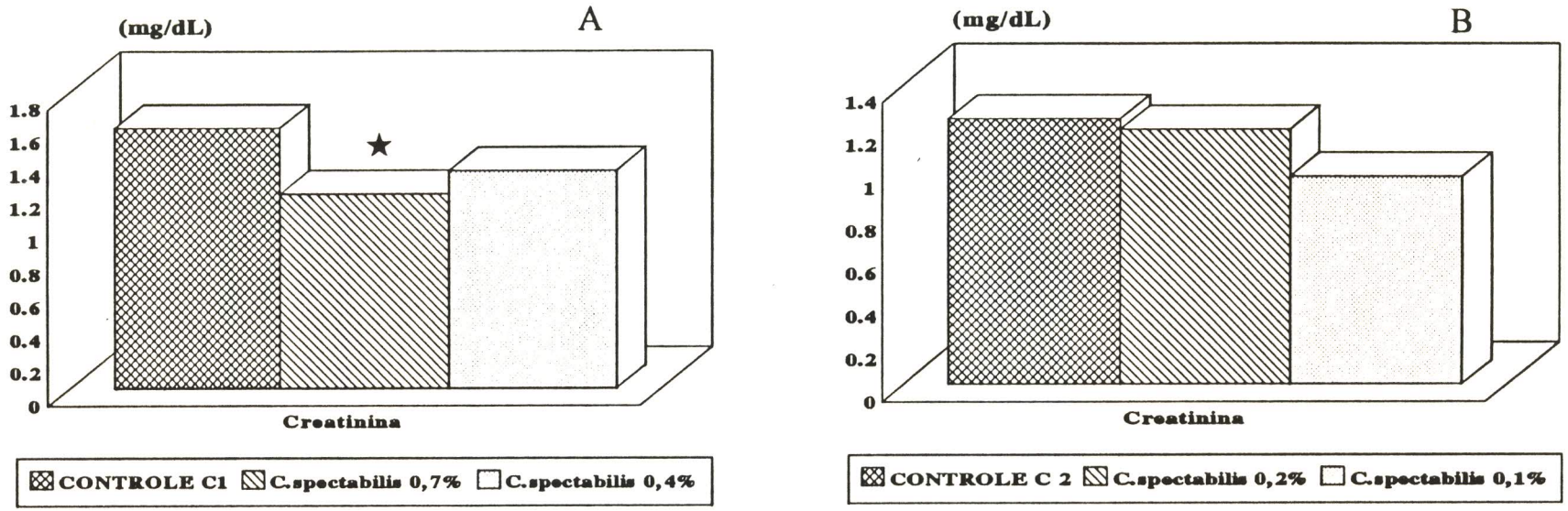


FIGURA 15- Níveis séricos de creatinina em ratas lactantes expostas às concentrações de 0,7% ou 0,4% (A) e 0,2% ou 0,1% (B) de sementes de *C. spectabilis* na ração.
★ $p<0,05$ em relação ao grupo controle- Análise de Variância.

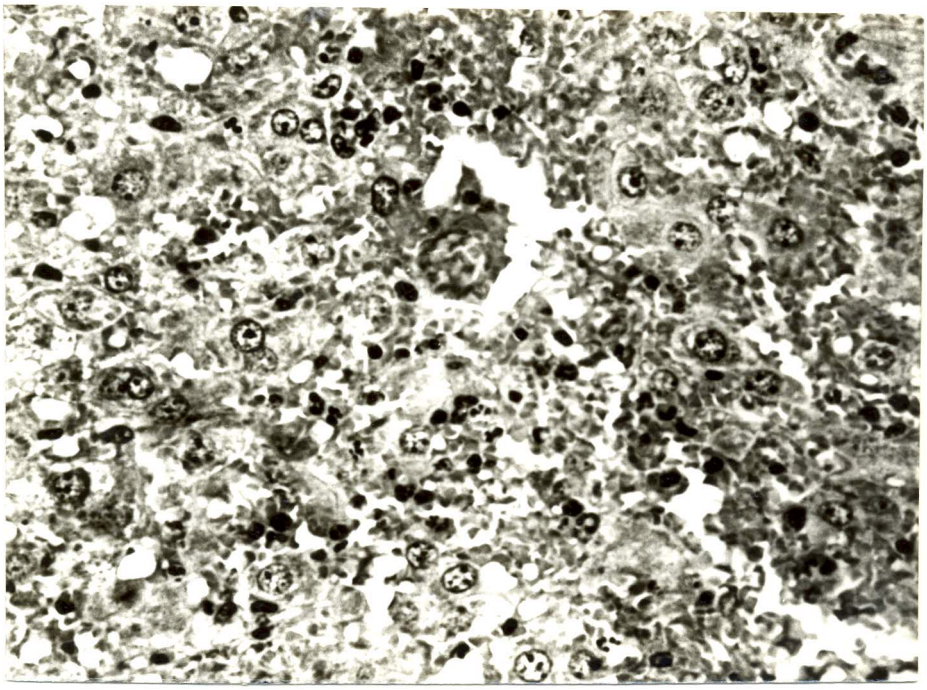


FIGURA 16 - Fotomicrografia de corte histológico de fígado de rata tratada com (0,7%) de semente de *C. spectabilis*, mostrando área de necrose com hepatócitos necróticos, debris celularis e infiltrado de mono e polimorfonucleares. Col. H.E. Aumento 660x.

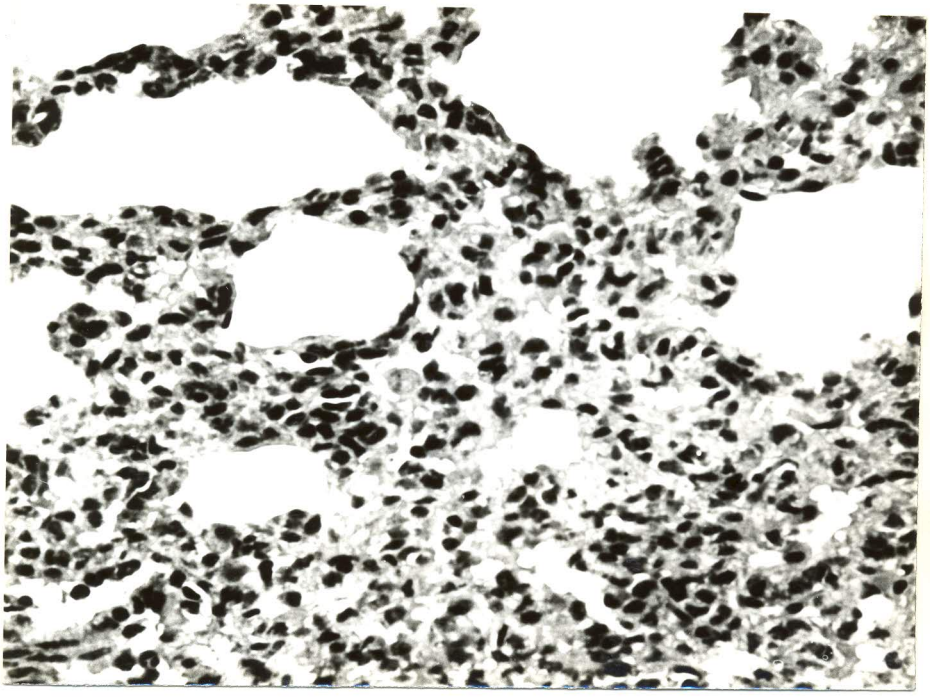


FIGURA 17 - Fotomicrografia de corte histológico de pulmão de rata tratada com (0,7%) de semente de *C. spectabilis*, mostrando pneumonia intersticial e infiltrado inflamatório com predomínio de mononucleares nos septos alveolares. Col. H.E. Aumento 166x.

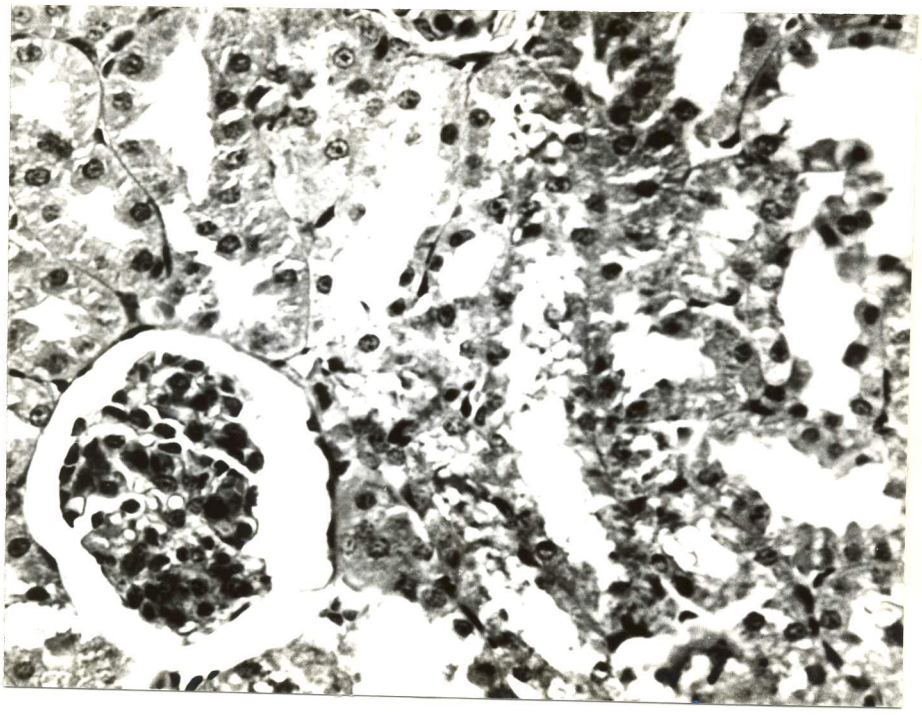


FIGURA 18 - Fotomicrografia de corte histológico de rim de rata tratada com (0,7%) de semente de *C. spectabilis*, mostrando o epitélio tubular com degeneração vacuolar. Col. H.E. Aumento 166x.

Tabela 6: Efeitos da administração de diferentes concentrações de sementes de *C. spectabilis* (0,7%; 0,4% ; 0,2% ou 0,1%) a fêmeas lactantes na mortalidade (A) e ganho de peso (B) de suas proles. São apresentados o número e porcentagens de animais mortos no final do experimento e as médias aritméticas com seus respectivos desvios-padrões dos pesos em gramas dos animais dos grupos controles e experimentais.

A

GRUPOS	n	Nº DE ANIMAIS MORTOS NO FINAL DO EXPERIMENTO	PORCENTAGEM MORTE (%)
CONTROLE(C_1)	48	0	0
C.spectabilis 0,7%	48	20	41,6
C. spectabilis 0,4%	48	6	12,5
CONTROLE(C_2)	48	0	0
C.spectabilis 0,2%	48	0	0
C.spectabilis 0,1%	48	1	2,08

B

GRUPOS	DIAS APÓS O NASCIMENTO		
	1°-11°	11°-21°	1°-21°
CONTROLE(C_1)	101,67 ±11,64	116,00 ±7,40	217,67 ±17,24
C. spectabilis 0,7%	93,17 ±10,34	64,00 ★ ±18,68	160,00 ★ ±13,23
C. spectabilis 0,4%	98,33 ±9,85	69,00 ★ ±15,80	167,60 ★ ±22,98
CONTROLE(C_2)	103,33 ±10,46	119,67 ±14,39	223,00 ±21,64
C. spectabilis 0,2%	88,67 ★ ±8,43	83,50 ★ ±18,38	172,17 ★ ±25,44
C. spectabilis 0,1%	121,33 ±16,44	85,83 ±29,56	207,16 ±35,12

★ $p < 0,05$ em relação ao grupo controle - Test "t" de Student

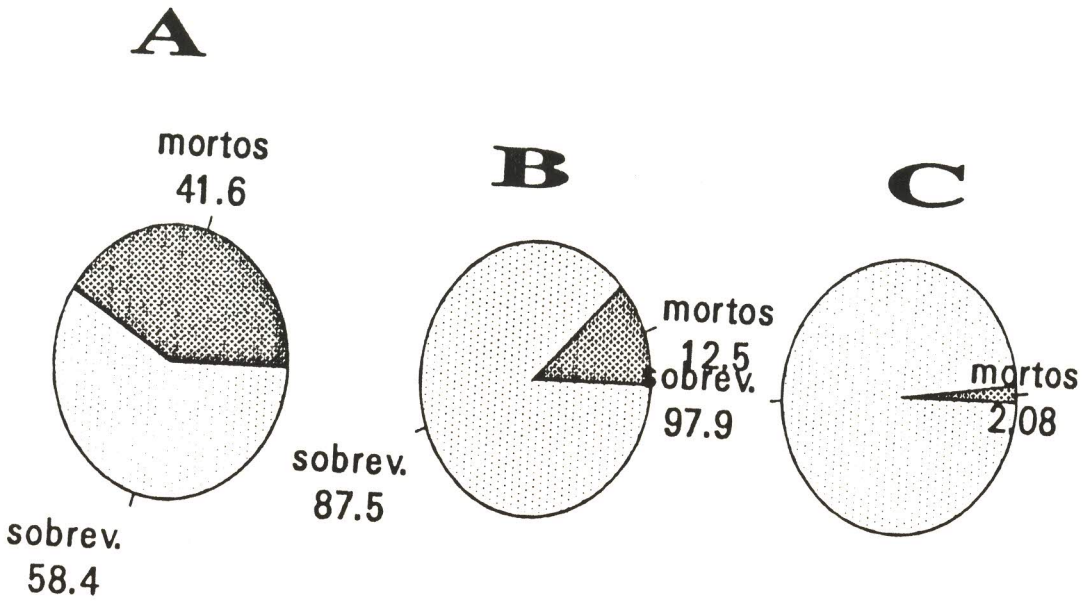


FIGURA 19- Porcentagem de mortalidade na prole de ratas lactantes expostas às concentrações de 0,7% ou 0,4% (A) e 0,2% ou 0,1% (B) de sementes de *C. spectabilis* na ração.

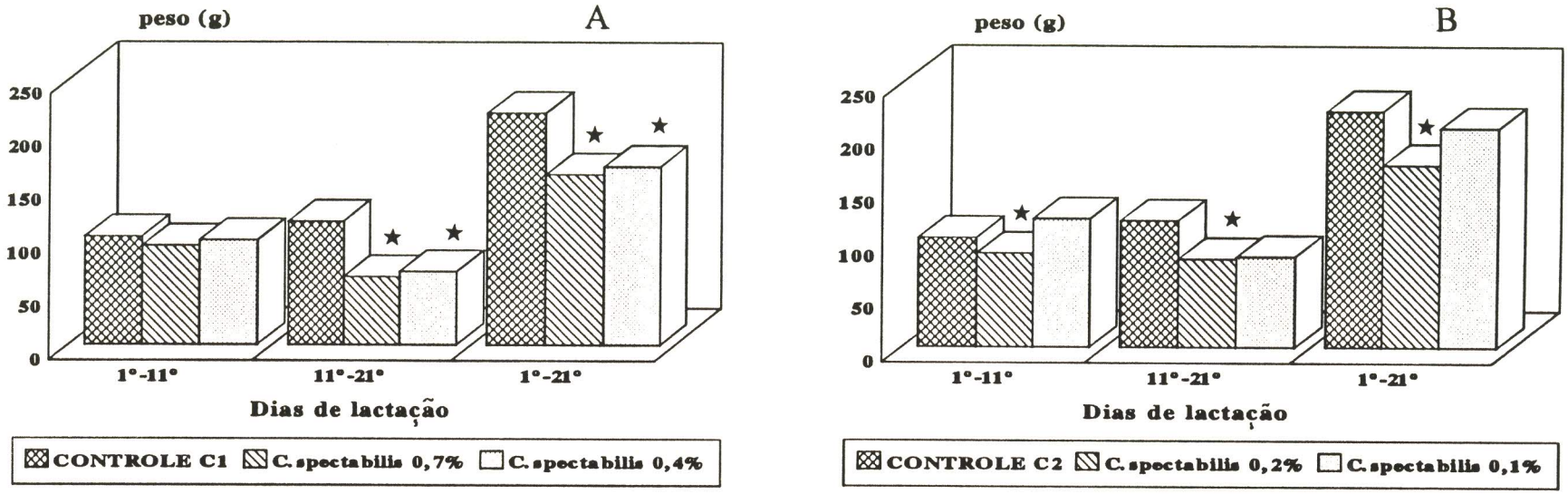


FIGURA 20- Ganho de peso na prole de ratas lactantes expostas às concentrações de 0,7% ou 0,4% (A) e 0,2% ou 0,1% (B) de sementes de *C. spectabilis* na ração.
★ $p < 0,05$ em relação ao grupo controle- Teste "t"de Student.

Tabela 7: Efeitos da administração de diferentes concentrações de sementes de *C. spectabilis* (0,4% ; 0,7%; 0,2% ou 0,1%) à ratas lactantes, sobre a atividade de enzimas séricas de suas proles Macho (A) prole Fêmea (B): Aspartato amino transferase (AST), alanina amino transferase (ALT), fosfatase alcalina (FA), gama glutamil transferase (GGT), lactato desidrogenase (LDH). São apresentadas as médias aritméticas e os respectivos desvios-padrões.

A

GRUPOS	ENZIMAS SÉRICAS ANALISADAS				
	AST (U/L)	ALT (U/L)	GGT (U/L)	FA (mU/ml)	LDH (U/L)
CONTROLE (C_1)	25,16 ±20,71	4,16 ± 0,98	25,50 ± 7,55	761,54 ±247,66	1.321,00 ±831,50
C. spectabilis 0,7%	s/n	s/n	s/n	s/n	s/n
C. spectabilis 0,4%	25,66 ± 8,14	20,25 ★★ ± 3,50	30,00 ±15,13	1.155,98 ±254,90	1.480,00 ±106,42
CONTROLE (C_2)	17,83 ± 3,71	12,00 ± 2,09	26,72 ± 8,10	864,01 ±233,03	1.035,00 ±244,64
C. spectabilis 0,2%	18,00 ± 6,27	12,00 ± 4,43	28,18 ± 3,78	894,17 ±183,91	1.007,50 ±312,69
C. spectabilis 0,1%	21,83 ± 2,04	11,20 ± 1,64	20,40 ±12,50	729,66 ±100,12	489,00 ± 86,50

B

CONTROLE(C_1)	25,80 ± 5,84	14,80 ± 0,83	20,75 ± 1,50	709,25 ±143,61	2.051,25 ± 513,72
C. spectabilis 0,7%	32,00 ± 4,35	31,00 ★ ± 10,00	s/n	1.272,00 ★ ± 47,60	s/n
C. spectabilis 0,4%	32,25 ± 6,70	17,50 ± 2,64	27,50 ± 8,54	1.172,90 ★ ± 35,63	1.815,00 ± 598,25
CONTROLE (C_2)	19,50 ± 4,32	9,16 ± 2,63	35,03 ± 7,54	966,67 ± 210,93	1.172,50 ± 238,20
C. spectabilis 0,2%	23,85 ± 5,17	8,60 ± 1,14	27,59 ± 6,06	883,76 ± 191,53	979,28 ± 287,06
C. spectabilis 0,1%	21,00 ± 4,58	8,40 ± 0,89	37,61 ± 5,91	722,40 ± 124,17	579,00 ★ ± 122,14

s/n - sem númeo de animais suficientes para análise

★ $p < 0,05$ em relação ao grupo controle - Análise de Variância

★★ $p < 0,05$ em relação ao grupo controle - Teste "t" de Student

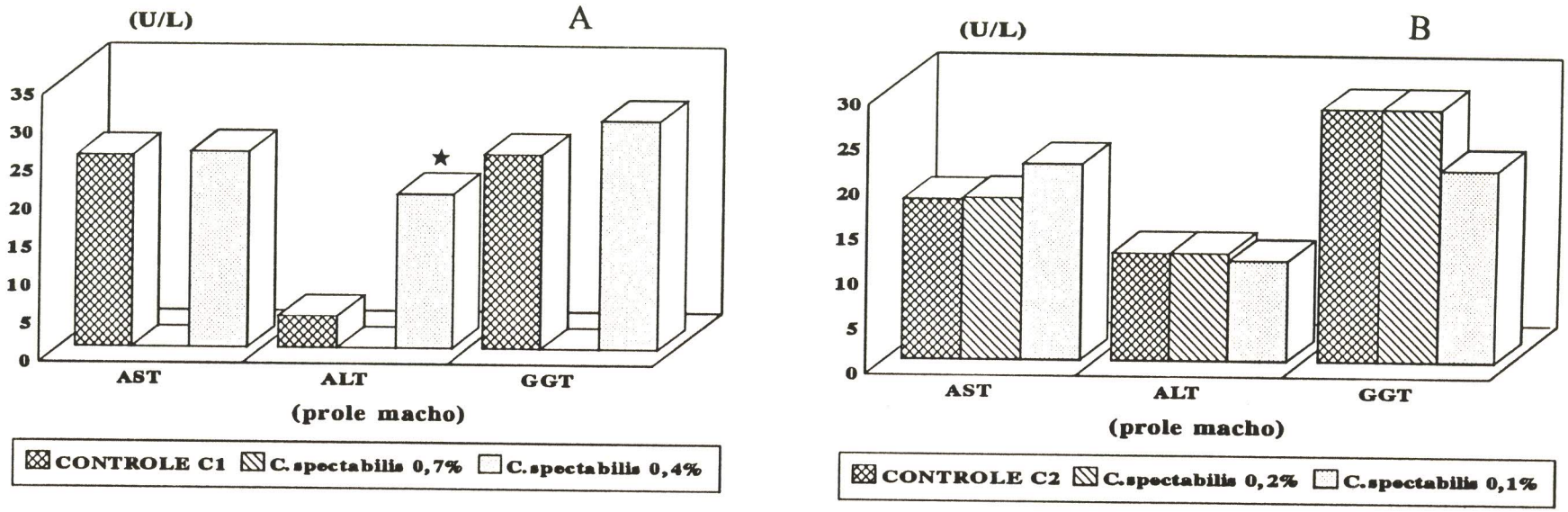


FIGURA 21- Níveis séricos das enzimas: aspartato aminotransferase-AST, alanina aminotransferase-ALT e gama glutamiltransferase-GGT nos machos da prole de ratas lactantes expostas às concentrações de 0,7% ou 0,4% (A) e 0,2% ou 0,1% (B) de semente de *C. spectabilis* na ração.
★ $p < 0,05$ em relação ao grupo controle- Teste "t " de Student.

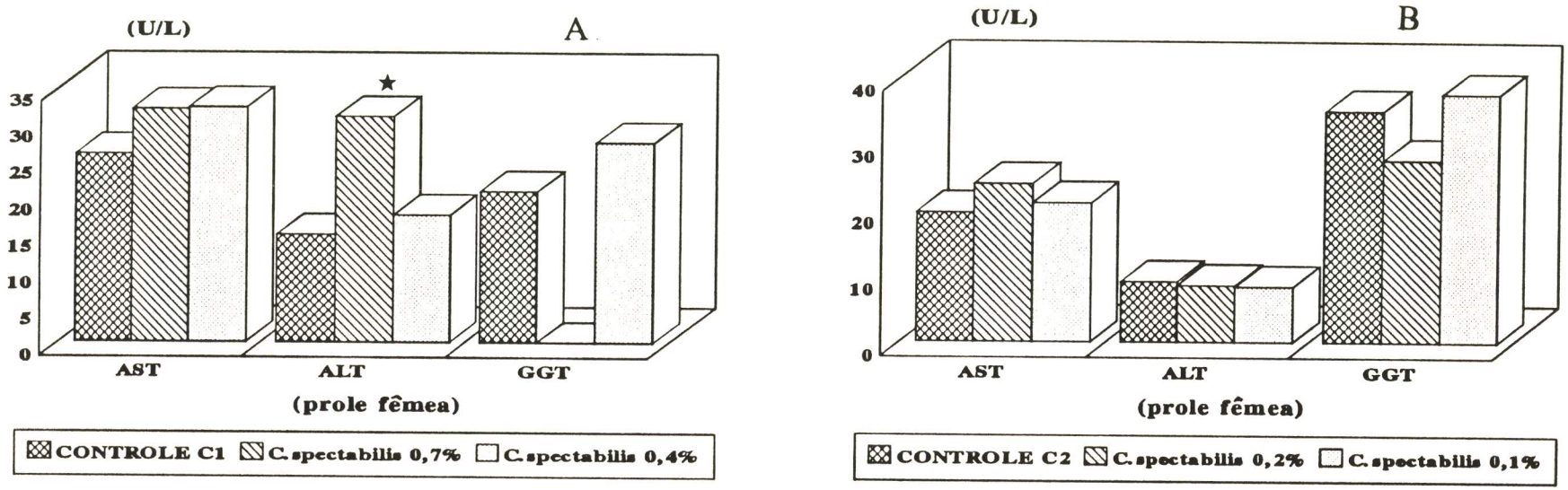


FIGURA 22- Níveis séricos das enzimas: aspartato aminotransferase-AST, alanina aminotransferase-ALT e gama glutamiltransferase-GGT nas fêmeas da prole de ratas lactantes expostas às concentrações de 0,7% ou 0,4% (A) e 0,2% ou 0,1% (B) de semente de *C. spectabilis* na ração.
★ $p < 0,05$ em relação ao grupo controle- Teste "t " de Student.

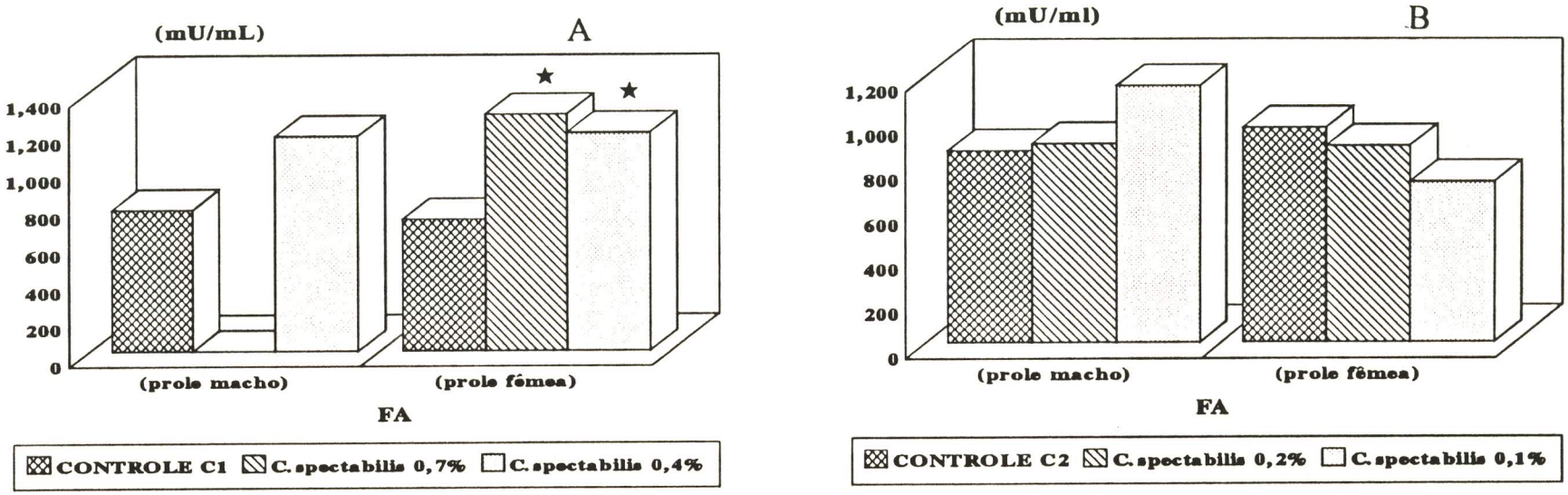


FIGURA 23- Níveis séricos de fosfatase alcalina-FA nos machos e fêmeas da prole de ratas lactantes expostas às concentrações de 0,7% ou 0,4% (A) e 0,2% ou 0,1% (B) de semente de *C. spectabilis* na ração.
★$p < 0,05$ em relação ao grupo controle- Análise de Variância.

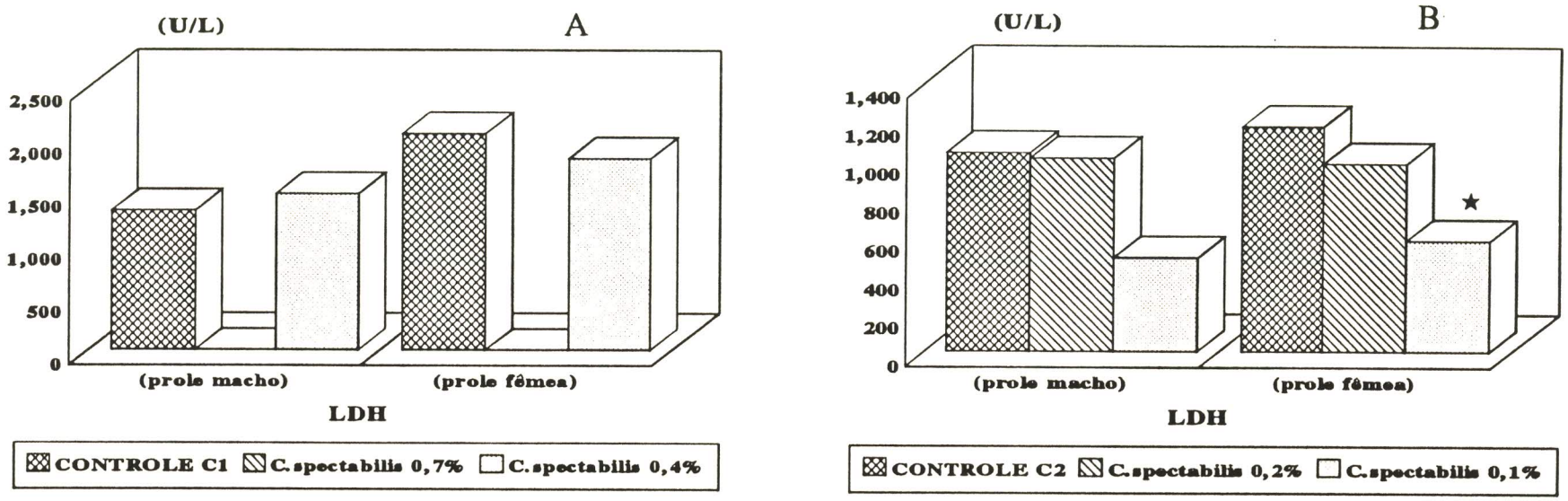
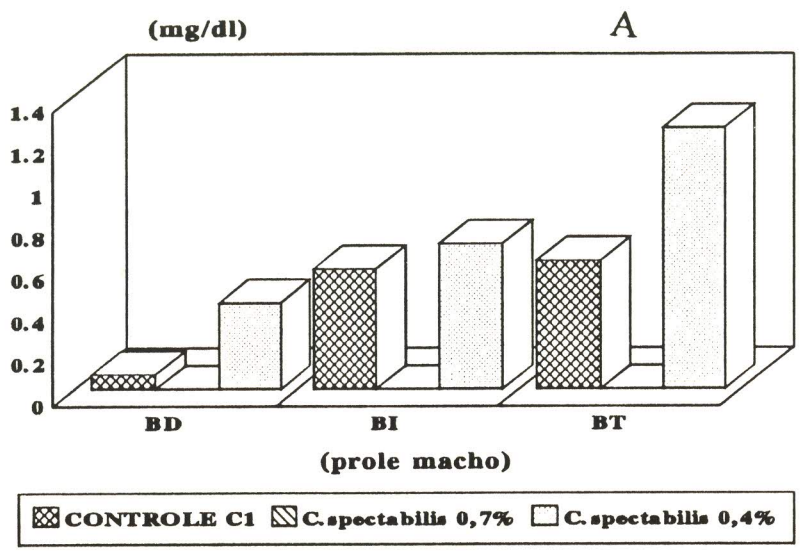


FIGURA 24- Níveis séricos de lactato desidrogenase-LDH nos machos e fêmeas da prole de ratas lactantes expostas às concentrações de 0,7% ou 0,4% (A) e 0,2% ou 0,1% (B) de semente de *C. spectabilis* na ração.
★ $p < 0,05$ em relação ao grupo controle- Análise de Variância.

Tabela 8: Efeitos da administração de diferentes concentrações de sementes de *C. spectabilis* (0,7% ; 0,4% ; 0,2% ou 0,1%) à ratas lactantes, sobre os parâmetros bioquímicos séricos detectados na sua prole macho: Proteína total, bilirrubina direta, indireta e total, uréia, creatinina e albumina. São apresentadas as médias aritméticas e os respectivos desvios-padrões.

GRUPOS	PARÂMETROS BIOQUÍMICOS ANALISADOS NA PROLE MACHOS						
	Prot. Total (g/dl)	Bil. Direta (mg/dl)	Bil. Indireta (mg/dl)	Bil.Total (mg/dl)	Uréia (mg/dl)	Creat. (mg/dl)	Albumina (g/dl)
CONTROLE (C_1)	6,68 ±0,99	0,07 ±0,06	0,57 ±0,26	0,61 ±0,23	34,44 ±8,34	1,00 ±0,21	4,37 ±0,60
C. spectabilis 0,7%	s/n	s/n	s/n	s/n	s/n	s/n	s/n
C. spectabilis 0,4%	5,33 ±1,74	0,41 ±0,56	0,69 ±0,24	1,24 ±0,67	32,37 ±12,17	0,92 ±0,07	3,47 ±0,83
CONTROLE (C_2)	4,84 ±0,24	0,07 ±0,05	0,65 ±0,47	0,77 ±0,55	45,27 ±10,94	0,87 ±0,30	3,58 ±0,34
C. spectabilis 0,2%	4,75 ±0,12	0,15 ±0,22	0,81 ±0,76	0,97 ±0,67	45,24 ±5,69	0,73 ±0,31	3,58 ±0,36
C. spectabilis 0,1%	4,98 ±0,21	0,09 ±0,04	0,29 ±0,09	0,37 ±0,11	41,8 ±2,77	0,69 ±0,09	3,83 0,34

s/n - sem número de animais suficientes para análise



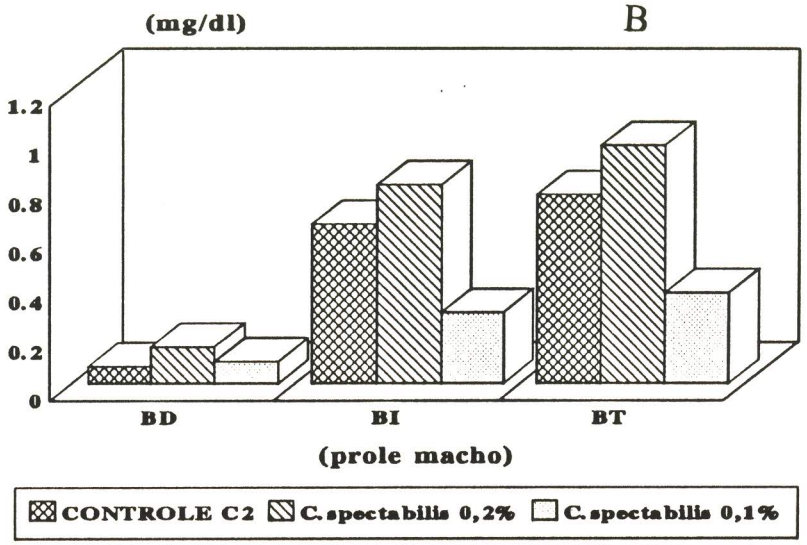


FIGURA 25- Níveis séricos das substâncias endógenas: bilirrubina direta-BD, indireta-BI e total-BT nos machos da prole de ratas expostas às concentrações de 0,7% ou 0,4% (A) e 0,4% ou 0,1% (B) de sementes de *C. spectabilis* na ração.

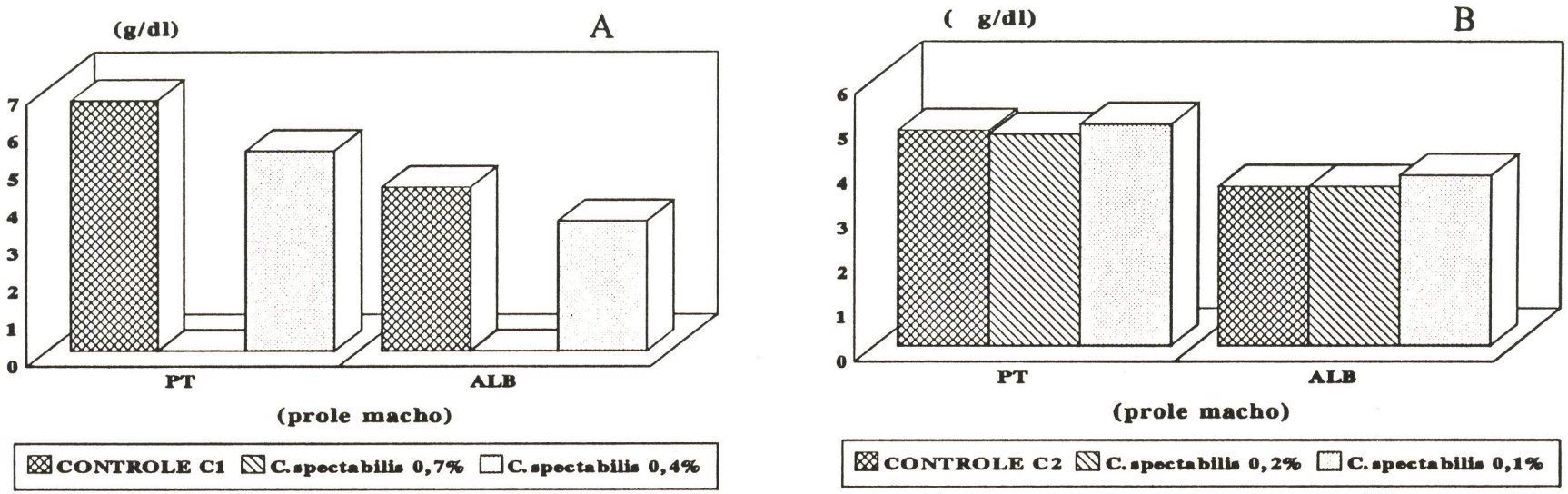
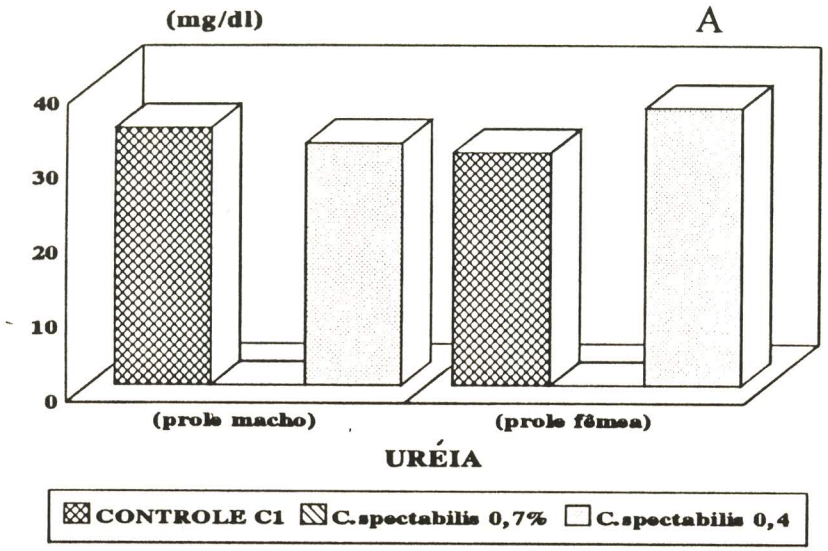


FIGURA 26- Níveis séricos das substâncias endógenas: proteína total-PT e albumina nos machos da prole de ratas expostas às concentrações de 0,7% ou 0,4% (A) e 0,2% ou 0,1% (B) de sementes de *C. spectabilis* na ração.



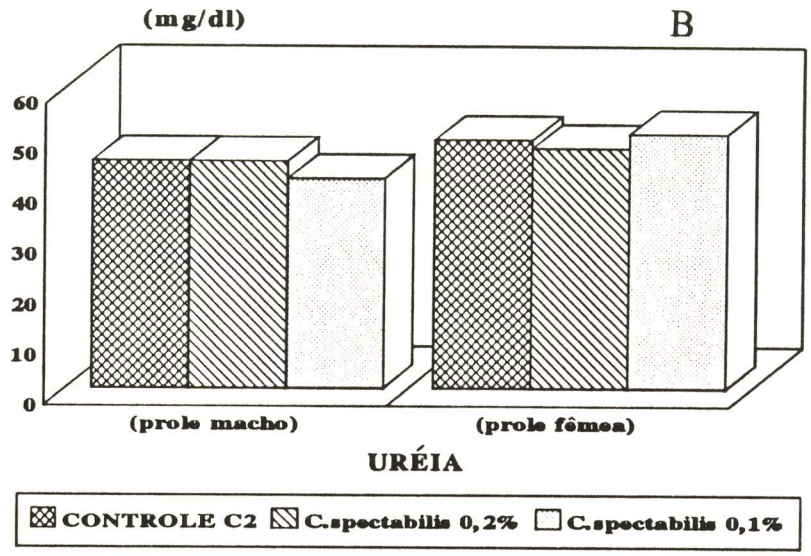


FIGURA 27- Níveis séricos de uréia nos machos e fêmeas da prole de ratas lactantes expostas às concentrações de 0,7% ou 0,4% (A) e 0,2% ou 0,1% (B) de sementes de *C. spectabilis* na ração.

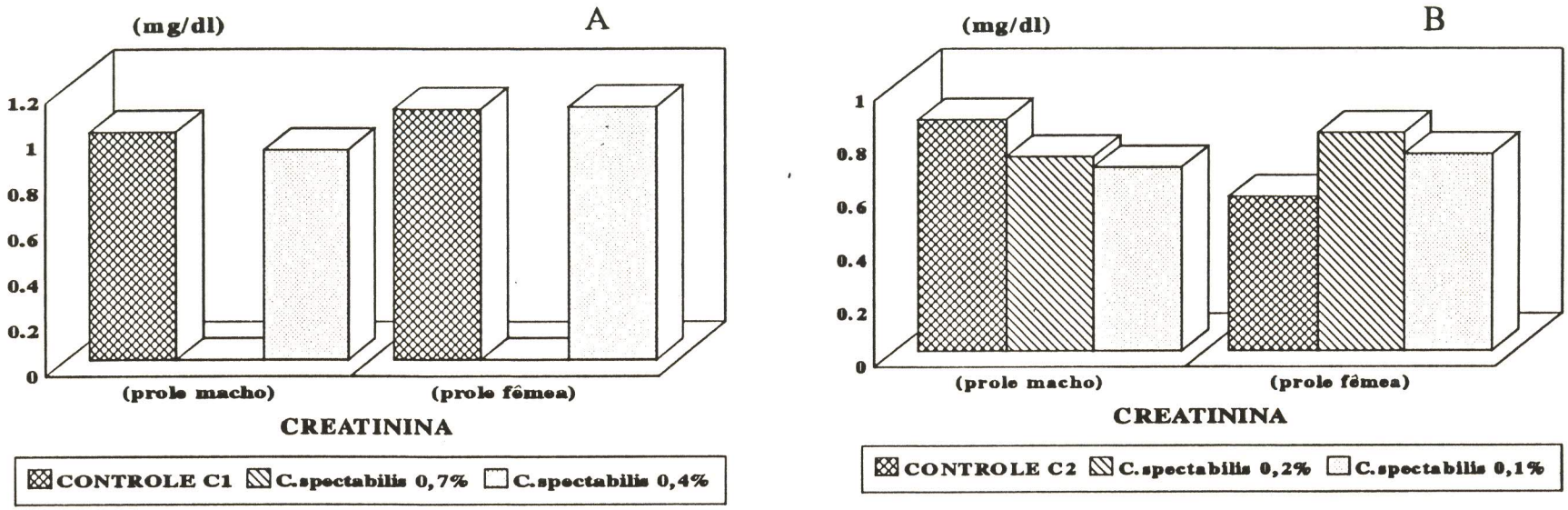


FIGURA 28- Níveis séricos de creatinina nos machos e fêmeas da prole de ratas lactantes expostas às concentrações de 0,7% ou 0,4% (A) e 0,2% ou 0,1% (B) de sementes de *C. spectabilis* na ração.

Tabela 9: Efeitos da administração de diferentes concentrações de sementes de *C. spectabilis* (0,7%; 0,4%; 0,2% ou 0,1%) sobre os parâmetros bioquímicos séricos detectados na sua prole fêmea: Proteína total, bilirrubina direta, indireta e total, uréia, creatinina e albumina. São apresentadas as médias aritméticas e os respectivos desvios-padrões.

GRUPOS	PARÂMETROS BIOQUÍMICOS ANALISADOS NA PROLE FÊMEA						
	Prot. Total (g/dl)	Bil. Direta (mg/dl)	Bil. Indireta (mg/dl)	Bil. Total (mg/dl)	Uréia (mg/dl)	Creat. (mg/dl)	Albumina (g/dl)
CONTROLE(C_1)	6,17 ± 1,60	0,27 ± 0,19	0,63 ± 0,20	0,67 ± 0,26	31,12 ± 4,22	1,10 ± 0,27	3,65 ± 0,83
C. spectabilis 0,7%	s/n	s/n	s/n	s/n	s/n	s/n	s/n
C. spectabilis 0,4%	5,66 ± 1,73	0,13 ± 0,07	0,78 ± 0,57	0,92 ± 0,60	37,14 ± 18,60	1,11 ± 0,38	3,55 ± 0,42
CONTROLE (C_2)	7,90 ± 3,51	0,10 ± 0,06	0,54 ± 0,17	0,64 ± 0,18	49,56 ± 4,17	0,58 ± 0,06	3,67 ± 0,18
C. spectabilis 0,2%	7,33 ± 3,39	0,06 ± 0,05	1,13★ ± 0,32	1,13★ ± 0,32	47,88 ± 5,94	0,82 ± 0,28	3,48 ± 0,25
C. spectabilis 0,1%	4,52 ± 0,14	0,09 ± 0,06	0,32 ± 0,09	0,41 ± 0,12	50,80 ± 5,97	0,74 ± 0,17	3,90 ± 0,76

s/n - sem núnero de animais suficientes para análise
★ $p < 0,05$ em relação ao grupo controle - Análise de Variância

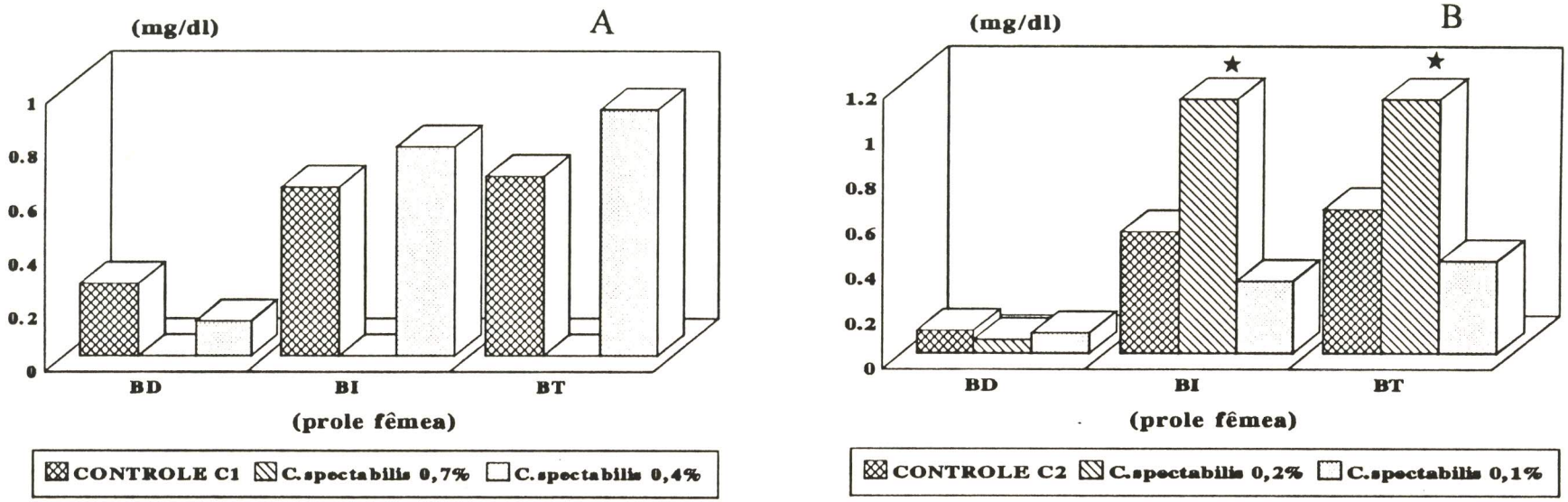
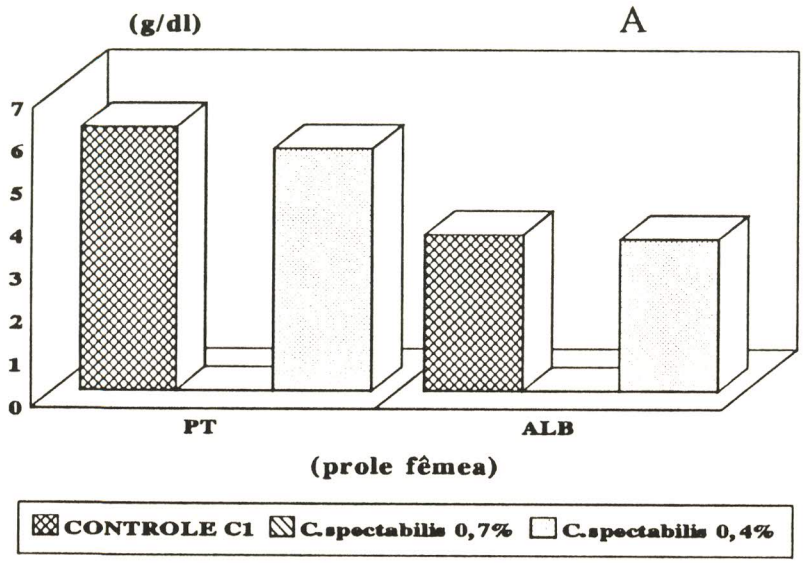


FIGURA 29- Níveis séricos das substâncias endógenas: Bilirrubina direta-BD, indireta-BI e total-BT nas fêmeas da prole de ratas expostas às concentrações de 0,7% ou 0,4% (A) e 0,2% ou 0,1% (B) de sementes de *C. spectabilis* na ração.

★$p<0,05$ em relação ao grupo controle- Análise de Variância.



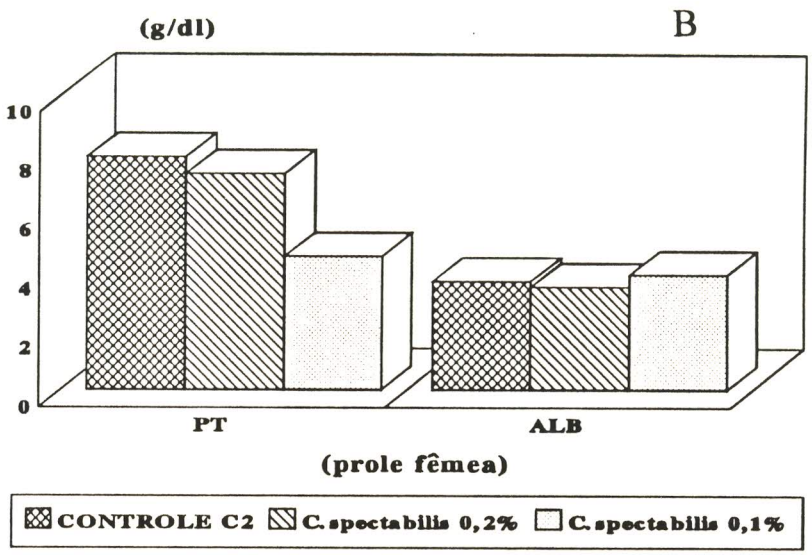


FIGURA 30- Níveis séricos das substâncias endógenas: proteína total-PT e albumina nas fêmeas da prole de ratas expostas às concentrações de 0,7% ou 0,4% (A) e 0,2% ou 0,1% (B) de sementes de *C. spectabilis* na ração.

Tabela 10: Efeitos da administração de monocrotalina (0,012% ou 0,006%) na mortalidade de mães lactantes. São apresentados o número e porcentagens de animais mortos no final do experimento.

GRUPOS	n	Nº DE ANIMAIS MORTOS NO FINAL DO EXPERIMENTO	PORCENTAGEM MORTE (%)
CONTROLE (C_1)	6	0	0
MCT 0,012%	6	0	0
CONTROLE (C_2)	6	0	0
MCT 0,006%	6	0	0

Tabela 11: Efeitos da administração de monocrotalina (0,012% ou 0,006%) na atividade de enzimas séricas das mães: Aspartato amino transferase (AST), alanina amino transferase (ALT), gama glutamil transferase (GGT), fosfatase alcalina (FA), lactato desidrogenase (LDH). São apresentadas as médias aritméticas e os respectivos desvios- padrões.

GRUPOS	ENZIMAS SÉRICAS ANALISADOS NAS MÃES				
	AST (U/L)	ALT (U/L)	GGT (U/L)	FA (mU/ml)	LDH (UI/L)
CONTROLE(C_1)	37,30 ±26,00	30,33 ± 5,68	5,20 ± 2,89	975,91 ± 145,26	410,00 ± 207,15
MCT 0,012%	25,00 ± 20,30	29,80 ± 23,10	2,46 ± 1,38	612,30★ ± 197,30	706,66 ± 168,62
CONTROLE(C_2)	18,00 ± 12,76	19,80 ± 5,40	12,60 ± 3,23	851,36 ± 482,01	621,00 ± 185,42
MCT 0,006%	27,50 ± 2,95	17,50 ± 3,08	31,16★ ± 15,65	531,50 ± 131,82	660,00 ± 84,85

★ $p < 0,05$ em relação ao grupo controle - Teste "t"de Student

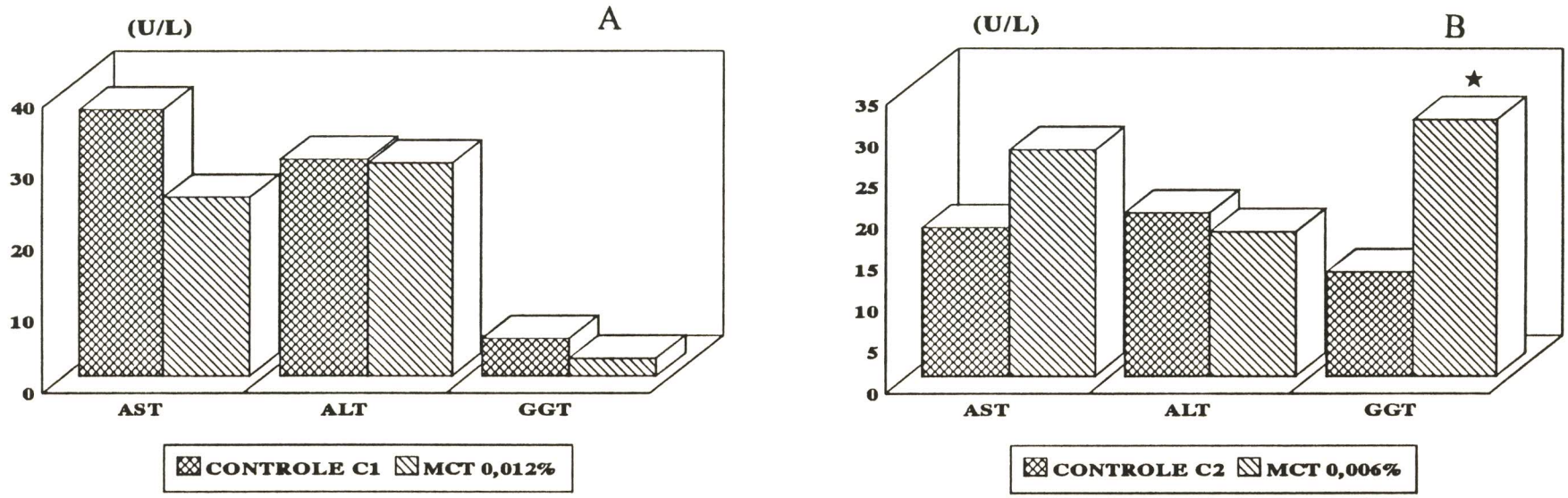


FIGURA 31- Níveis séricos de aspartato aminotransferase-AST, alanina aminotransferase-ALT e gama glutamiltransferase-GGT em ratas lactantes expostas às concentrações de 0,012% (A) ou 0,006% (B) de MCT na ração.
★ $p<0,05$ em relação ao grupo controle - Teste "t"de Student.

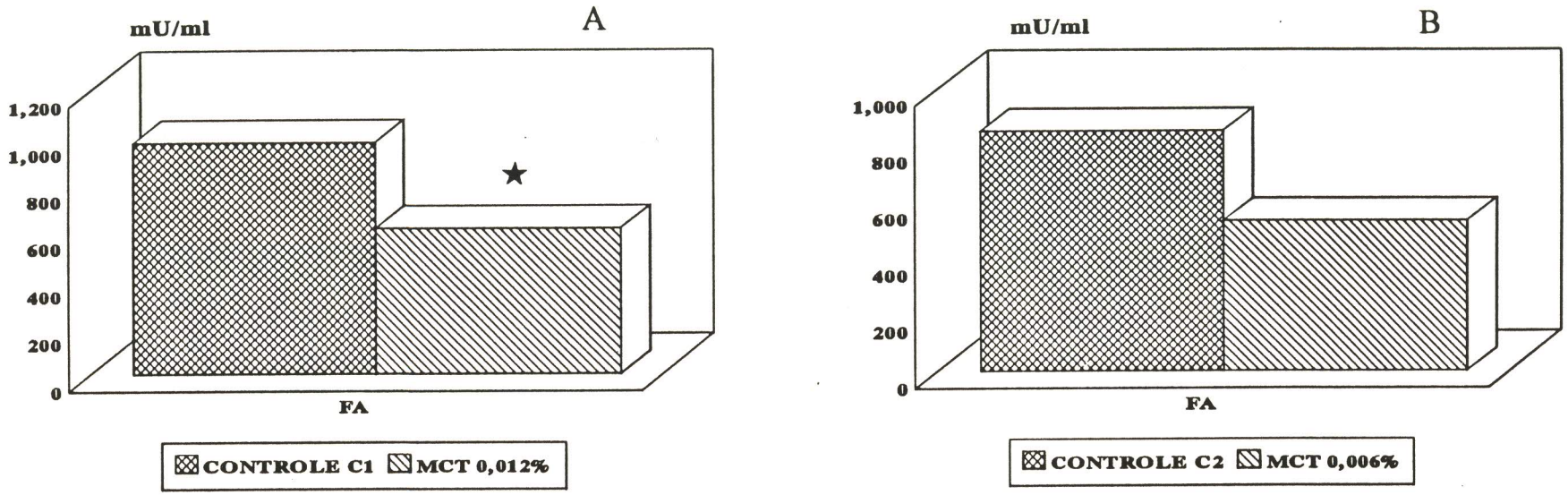
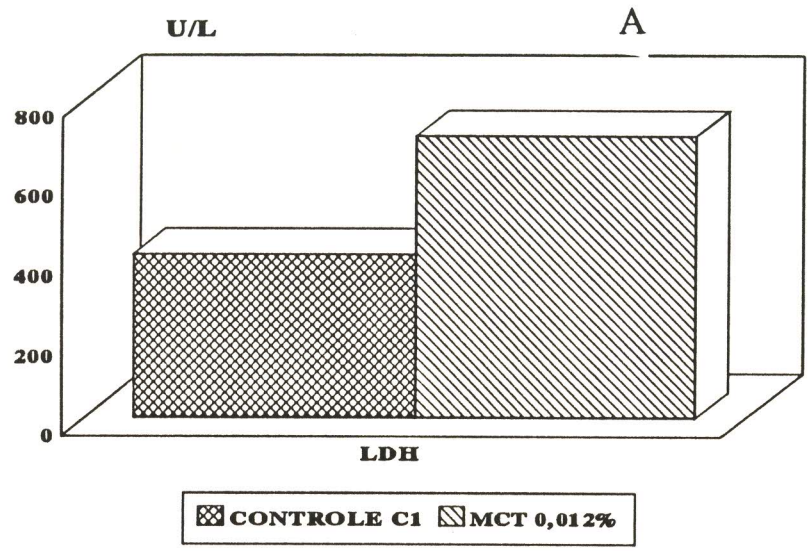


FIGURA 32- Níveis séricos das enzimas:fosfatase alcalina-FA em ratas lactantes expostas às concentrações de 0,012% (A) ou 0,006% (B) de MCT na ração.
★$p<0,05$ em relação ao grupo controle- Teste "t"de Student.



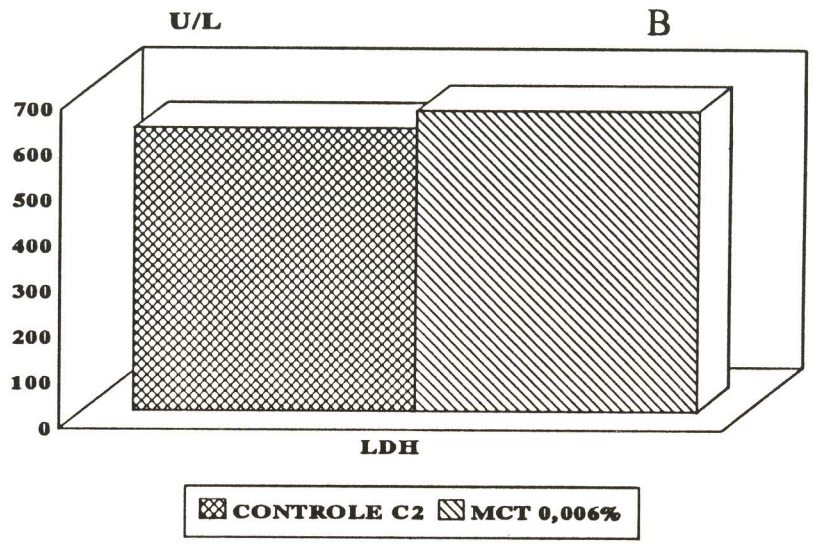


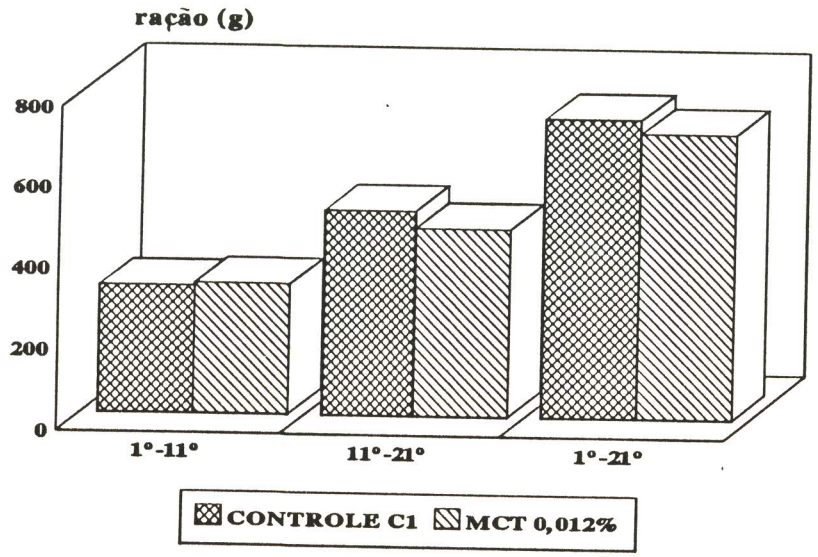
FIGURA 33- Níveis séricos das enzimas: lactato desidrogenase-LDH em ratas lactantes expostas às concentrações de 0,012% (A) ou 0,006% (B) de MCT na ração.

Tabela 12: Efeitos da administração de monocrotalina (0,012% ou 0,006%) no consumo de ração e ganho de peso das mães, durante os 21 dias de lactação. São apresentadas as médias aritméticas e os respectivos desvios-padrões dos pesos em gramas do consumo de ração e dos animais, respectivamente.

GRUPOS	n	CONSUMO DE RAÇÃO			GANHO DE PESO		
		1° - 11°	11° - 21°	1° - 21°(a)	1° - 11°	11° - 21°	1° - 21°(a)
CONTROLE (C_1)	6	313,6 ± 22,8	505,2 ± 12,1	738,8 ± 28,1	64,0 ± 9,6	39,0 ± 6,6	52,0 ± 7,2
MCT 0,012%	6	320,9 ± 47,6	463,0 ± 52,1	704,6 ± 83,3	42,6★ ± 10,7	39,3 ± 4,5	24,3★ ± 17,1
CONTROLE (C_2)	6	314,8 ± 26,7	568,5 ± 28,8	789,5 ± 38,8	43,6 ± 17,1	50,5 ± 8,5	44,1 ± 14,6
MCT 0,006%	6	293,8 ± 62,3	566,6 ± 99,2	788,5 ± 145,0	45,1 ± 18,8	48,8 ± 13,5	44,0 ± 8,8

(a) dias de lactação

★ $p < 0,05$ em relação ao grupo controle - Teste "t" de Student



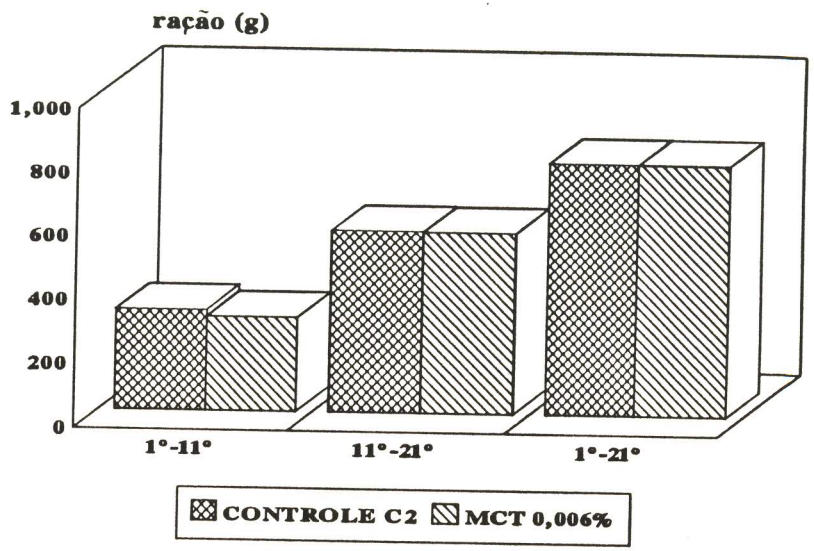
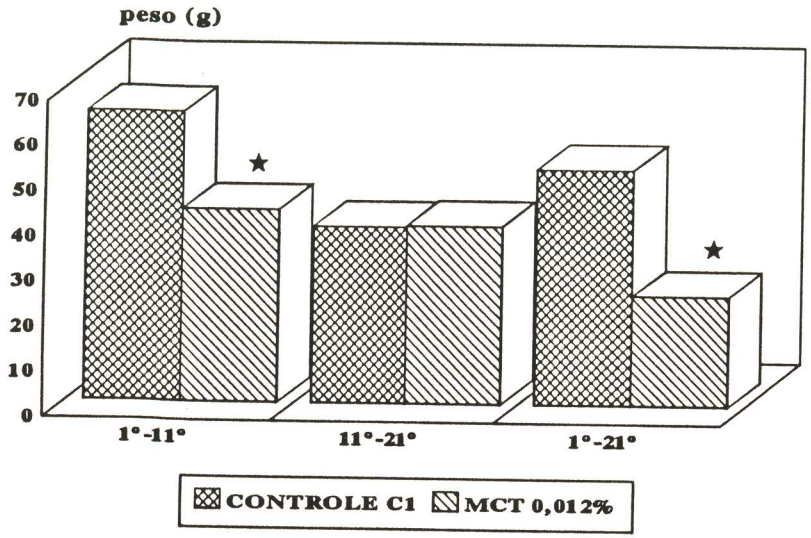


FIGURA 34- Consumo de ração nas ratas lactantes expostas às concentrações de 0,012% (A) ou 0,006% (B) de MCT na ração.



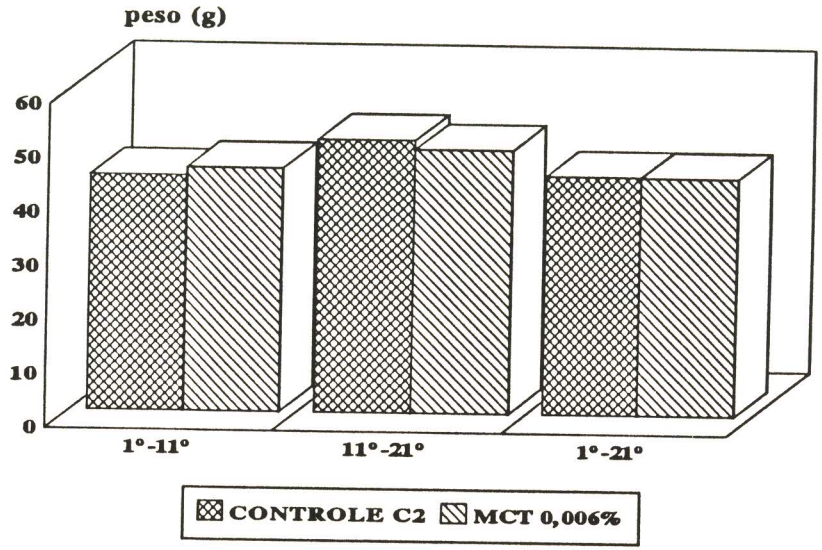


FIGURA 35- Ganho de peso nas ratas lactantes expostas às concentrações de 0,012% (A) ou 0,006% (B) de MCT na ração. ★$p<0,05$ em relação ao grupo controle - teste "t"de Student.

Tabela 13: Efeitos da administração de monocrotalina (0,012% ou 0,006%) à ratas lactantes sobre os parâmetros bioquímicos séricos : Proteína total, bilirrubina direta, indireta e total, creatinina, uréia e albumina. São apresentadas as médias aritméticas e os respectivos desvios-padrões.

GRUPOS	PARÂMETROS BIOQUÍMICOS ANALISADOS NAS MÃES						
	Prot. Total (g/dl)	Bil. Direta (mg/dl)	Bil. Indireta (mg/dl)	Bil. Total (mg/dl)	Uréia (mg/dl)	Creat. (mg/dl)	Albumina (g/dl)
CONTROLE(C_1)	5,65 ± 0,68	0,30 ±.0,24	0,67 ± 0,79	0,91 ± 0,69	45,07 ± 4,59	1,58 ± 0,22	4,30 ± 0,64
MCT 0,012%	5,07 ± 0,57	0,11 ± 0,03	0,50 ± 0,14	0,60 ± 0,10	48,69 ± 2,33	1,19★ ± 0,11	3,37 ± 0,70
CONTROLE(C_2)	5,22 ± 0,40	0,08 ± 0,05	0,28 ± 0,16	0,36 ± 0,15	80,09 ± 6,67	1,24 ± 0,31	3,72 ± 0,43
MCT 0,006%	6,31★ ± 0,64	0,38 ± 0,38	0,26 ± 0,14	0,64 ± 0,37	81,16 ± 8,77	0,96 ± 0,19	4,12 ± 0,47

★ $p < 0,05$ em relação ao grupo controle - Teste "t"de Student

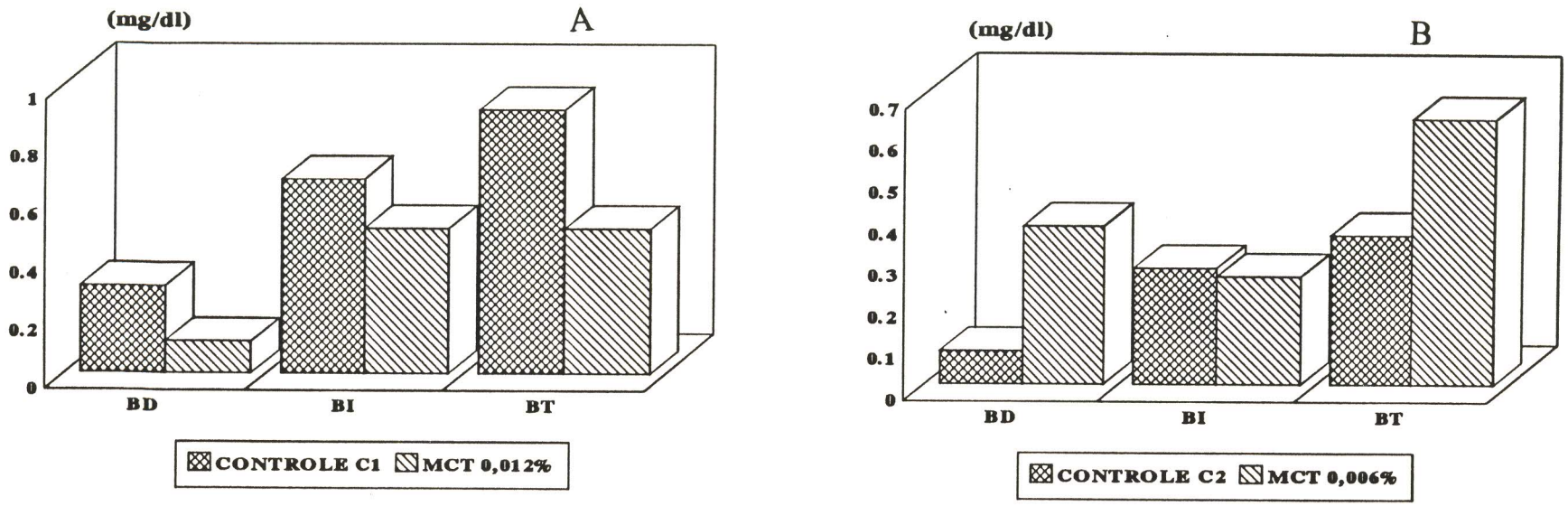


FIGURA 36- Níveis séricos das substâncias endógenas: bilirrubina direta-BD, indireta-BI e total-BT em ratas lactantes expostas às concentrações de 0,012% (A) ou 0,006% (B) de MCT na ração.

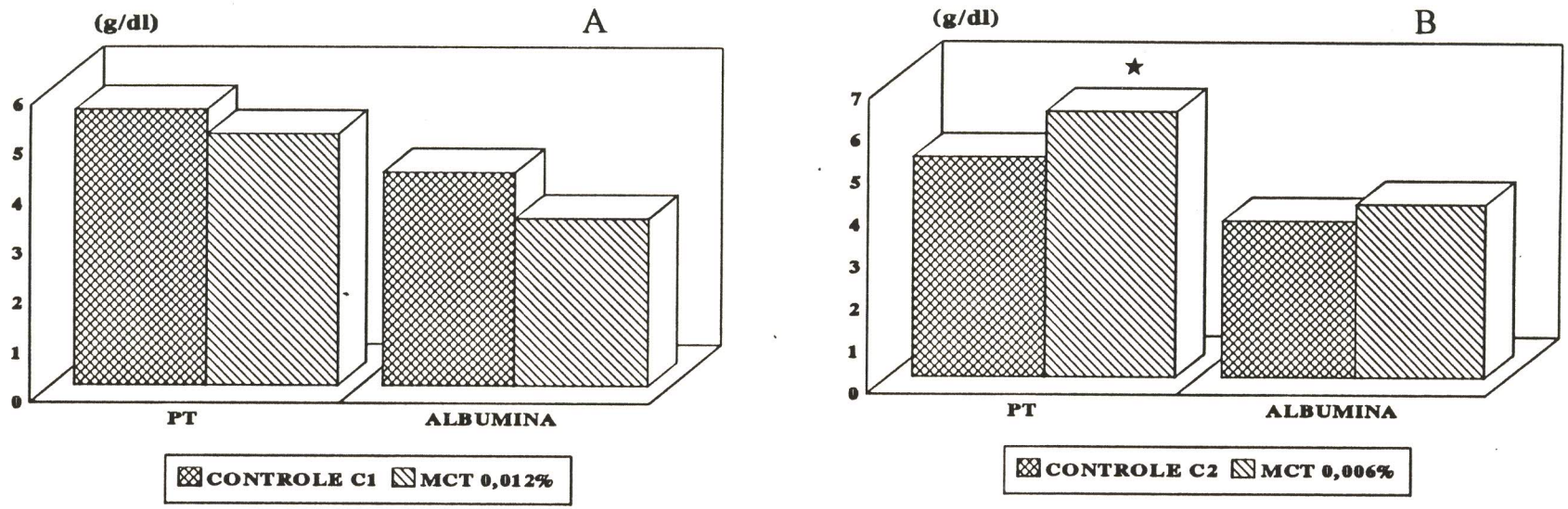


FIGURA 37- Níveis séricos das substâncias endógenas: proteína total-PT e albumina em ratas lactantes expostas às concentrações de 0,012% (A) ou 0,006% (B) de MCT na ração.
★ $p<0,05$ em relação ao grupo controle - Teste "t"de Student.

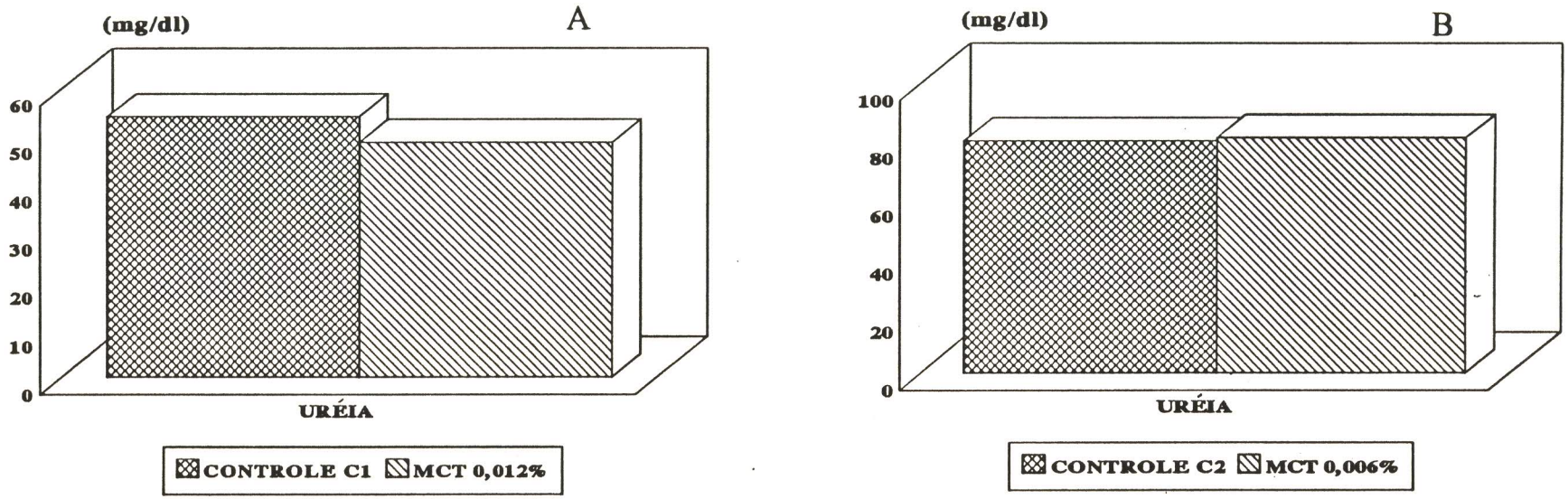


FIGURA 38- Níveis séricos de uréia em ratas lactantes expostas às concentrações de 0,012% (A) ou 0,006% (B) de MCT na ração.

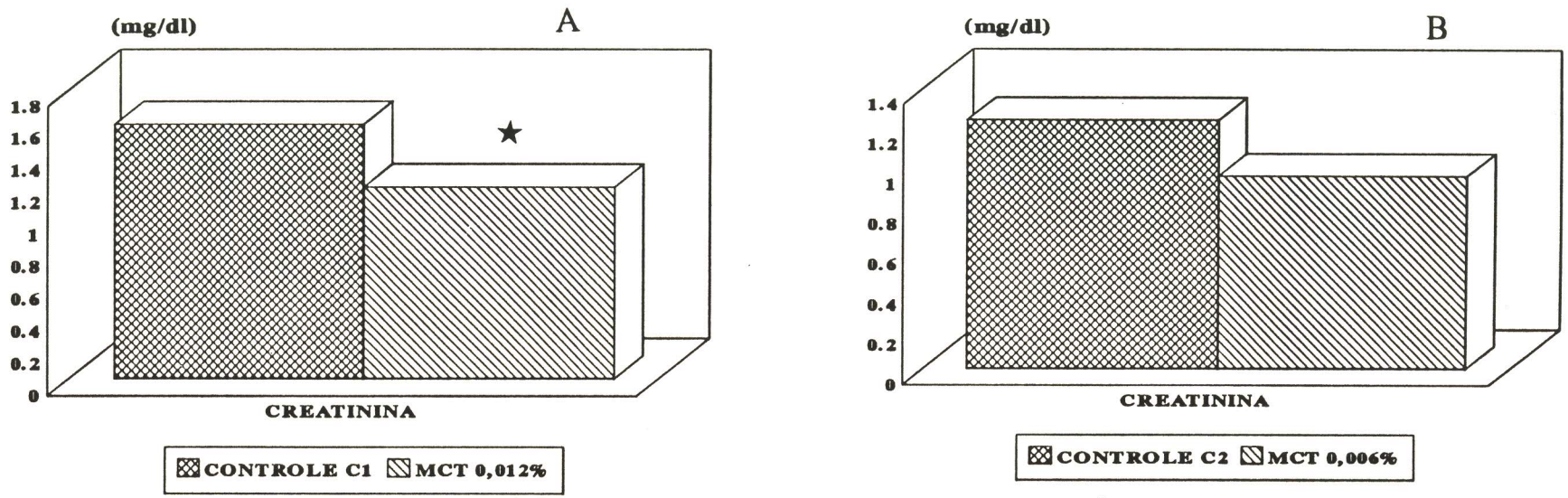


FIGURA 39- Níveis séricos de creatinina em ratas lactantes expostas às concentrações de 0,012% (A) ou 0,006% (B) de MCT na ração

★ $p < 0,05$ em relação ao grupo controle - Teste "t"de Student.

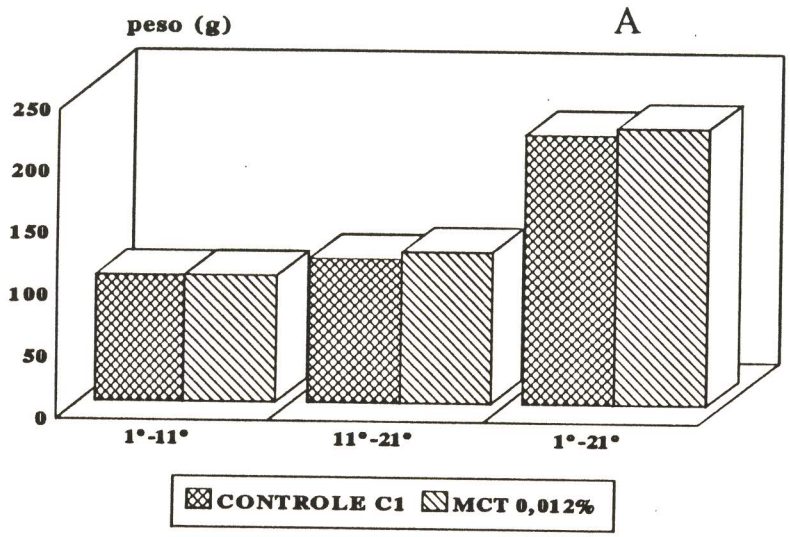
Tabela 14: Efeitos da administração de monocrotalina (0,012% ou 0,006%) à fêmeas lactantes na mortalidade (A) e ganho de peso (B) de suas proles. São apresentados o número e porcentagem de animais mortos no final do experimento e as médias aritméticas e desvios padrões do ganho de peso.

A

GRUPOS	n	Nº DE ANIMAIS MORTOS NO FINAL DO EXPERIMENTO.	PORCENTAGEM MORTE (%)
CONTROLE(C_1)	48	0	0
MCT 0,012%	48	0	0
CONTROLE(C_2)	48	0	0
MCT 0,006%	48	0	0

B

GRUPOS	DIAS APÓS O NASCIMENTO		
	1°-11°	11°-21°	1°-21°
CONTROLE(C1)	101,67 ±11,64	116,00 ±7,40	217,67 ±17,24
MCT 0,012%	101,83 ±17,33	122,00 ±27,96	223,83 ±43,72
CONTROLE(C2)	103,33 ±10,46	119,67 ±14,39	223,00 ±21,64
MCT 0,006%	108,16 ±14,94	104,83 ±21,33	213,00 ±35,29



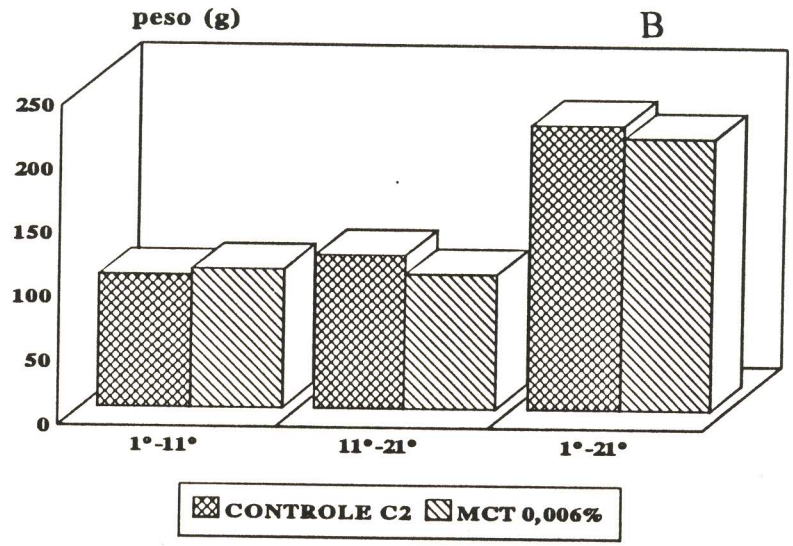


FIGURA 40- Ganho de peso na prole de ratas lactantes expostas às concentrações de 0,012% (A) ou 0,006% (B) de MCT na ração.

Tabela 15: Efeitos da administração de monocrotalina (0,012% ou 0,006%) à ratas lactantes sobre a atividade enzimática de suas proles macho (A) e prole fêmea (B): Aspartato amino transferase (AST), alanina amino trasferase (ALT), gama glutamil transferase (GGT), fosfatase alcalina (FA), lactato desidrogenase (LDH). São apresentadas as médias aritméticas e os respectivos desvios-padrões.

A

GRUPOS	ENZIMAS SÉRICAS ANALISADASDAS				
	AST (U/L)	ALT (U/L)	GGT (UI/L)	FA (mU/ml)	LDH (U/L)
CONTROLE(C_1)	25,16 ± 2,71	14,16 ± 0,98	25,50 ± 7,55	761,54 ± 247,66	1.321,00 ± 831,50
MCT 0,012%	30,66 ± 0,50	16,00 ± 1,26	32,33 ± 4,96	547,29 ± 218,81	1.680,00 ± 467,80
CONTROLE(C_2)	18,00 ± 12,76	19,80 ± 5,40	26,72 ± 8,10	551,36 ± 482,01	1.035,00 ± 244,64
MCT 0,006%	27,50 ± 2,950	17,50 ± 3,08	37,00 ± 21,02	531,50★ ± 331,82	837,50 ± 174,78

B

GRUPOS	ENZIMAS SÉRICAS ANALISADAS				
	AST (U/L)	ALT (U/L)	GGT (U/L)	FA (mU/ml)	LDH (U/L)
CONTROLE(C_1)	25,80 ±5,84	14,80 ±0,83	2,99 ±1,47	709,25 ±143,61	1.760,00 ±121,20
MCT 0,012%	29,16 ±7,08	15,50 ±1,87	3,78 ±3,81	726,66 ±188,86	1.517,00 ±440,20
CONTROLE(C_2)	19,50 ±4,32	9,16 ±2,63	35,03 ±7,54	966,67 ±210,93	1.172,50 238,20
MCT 0,006%	20,40 ±2,30	8,40 ±0,89	31,66 ±9,48	769,83 ±49,74	597,00★ 140,07

★ $p < 0,05$ em relação ao grupo controle - Teste"t"de Student

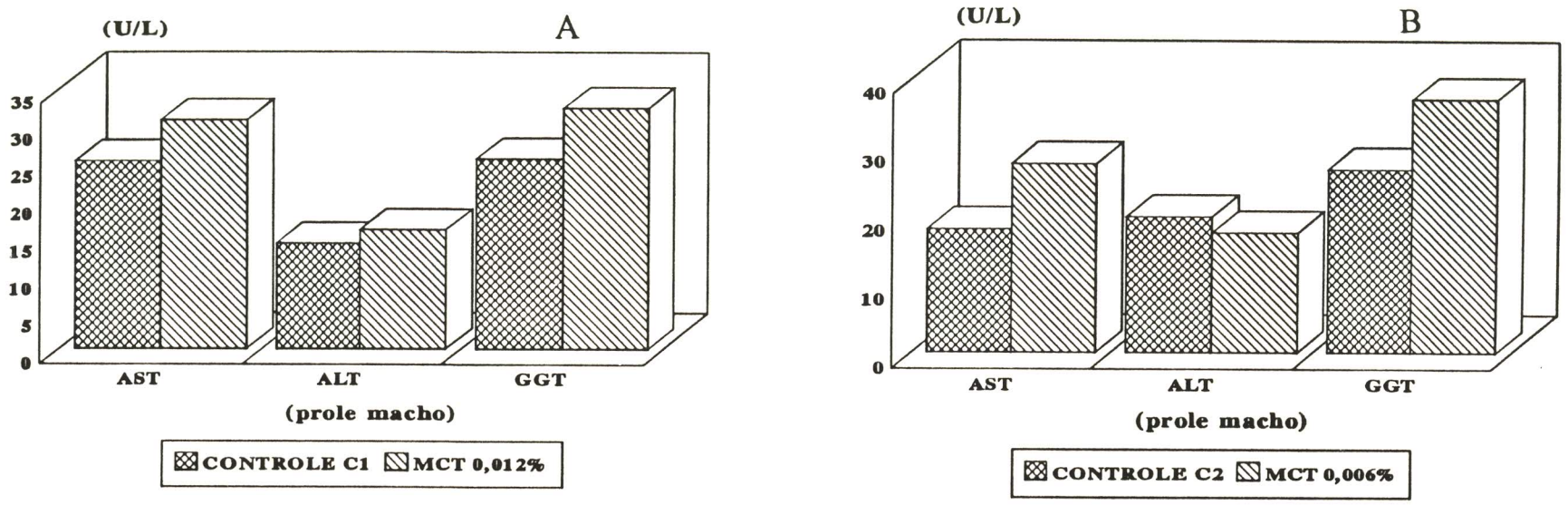
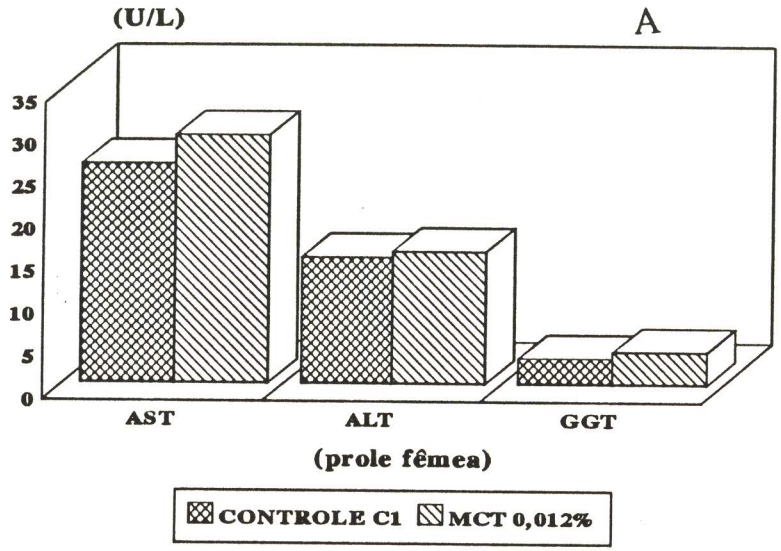


FIGURA 41- Níveis séricos das enzimas: aspartato aminotransferase-AST, alanina aminotransferase-ALT e gama glutamiltransferase-GGT nos machos da prole de ratas lactantes expostas às concentrações de 0,012% (A) ou 0,006% (B) de MCT na ração



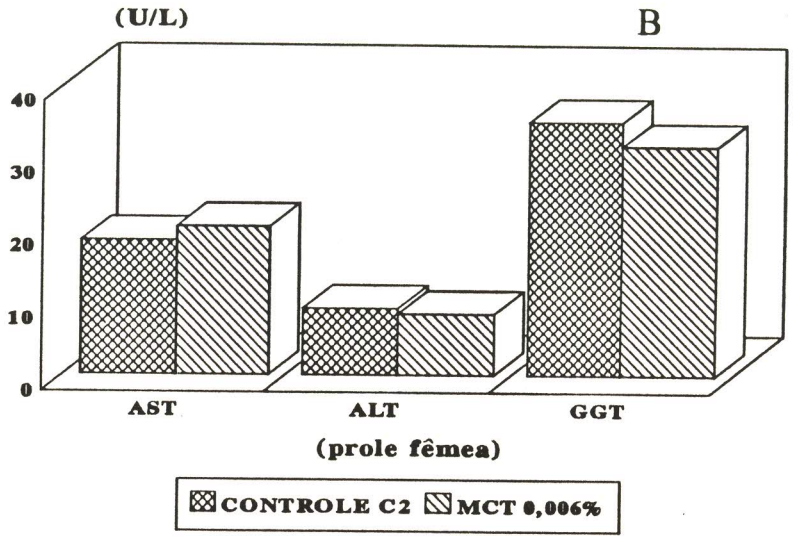
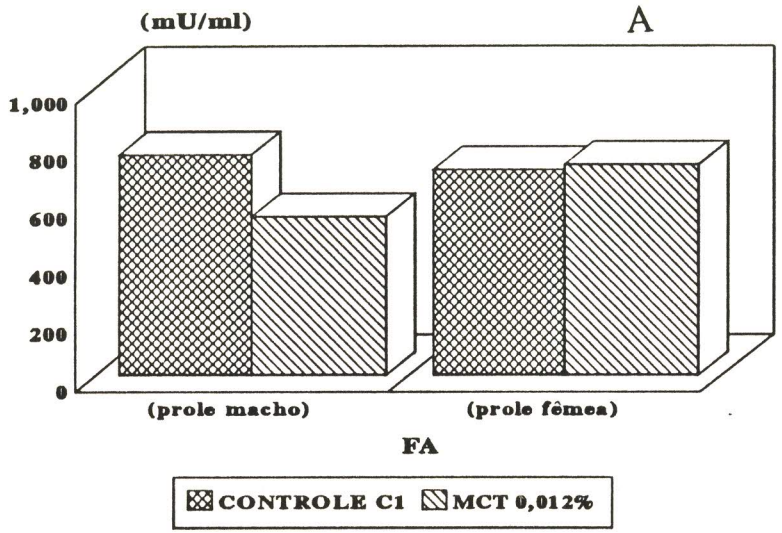


FIGURA 42- Níveis séricos das enzimas: aspartato aminotransferase-AST, alanina aminotransferase-ALT e gama glutamiltransferase-GGT nas fêmeas da prole de ratas lactantes expostas às concentrações de 0,012% (A) ou 0,006% (B) de MCT na ração.



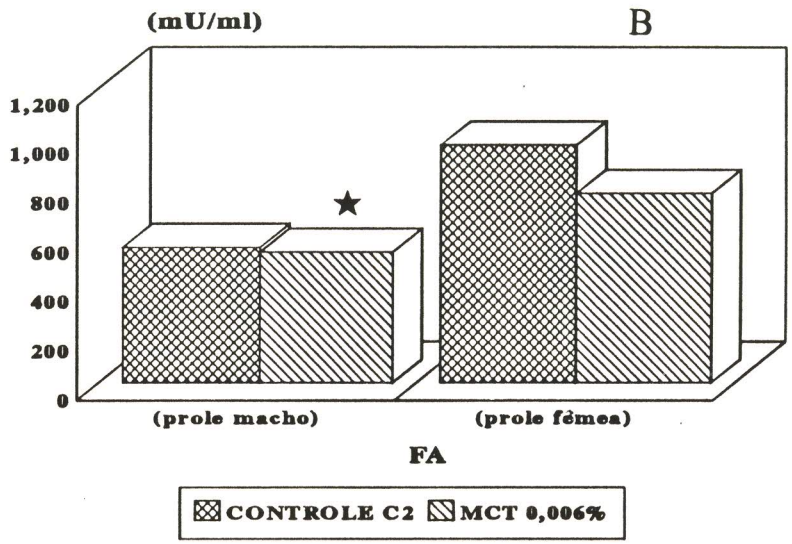


FIGURA 43- Níveis séricos de fosfatase alcalina-FA nos machos e fêmeas da prole de ratas lactantes expostas às concentrações de 0,012% (A) ou 0,006% (B) de MCT na ração.
★ $p < 0,05$ em relação ao grupo controle - Teste "t" de Student.

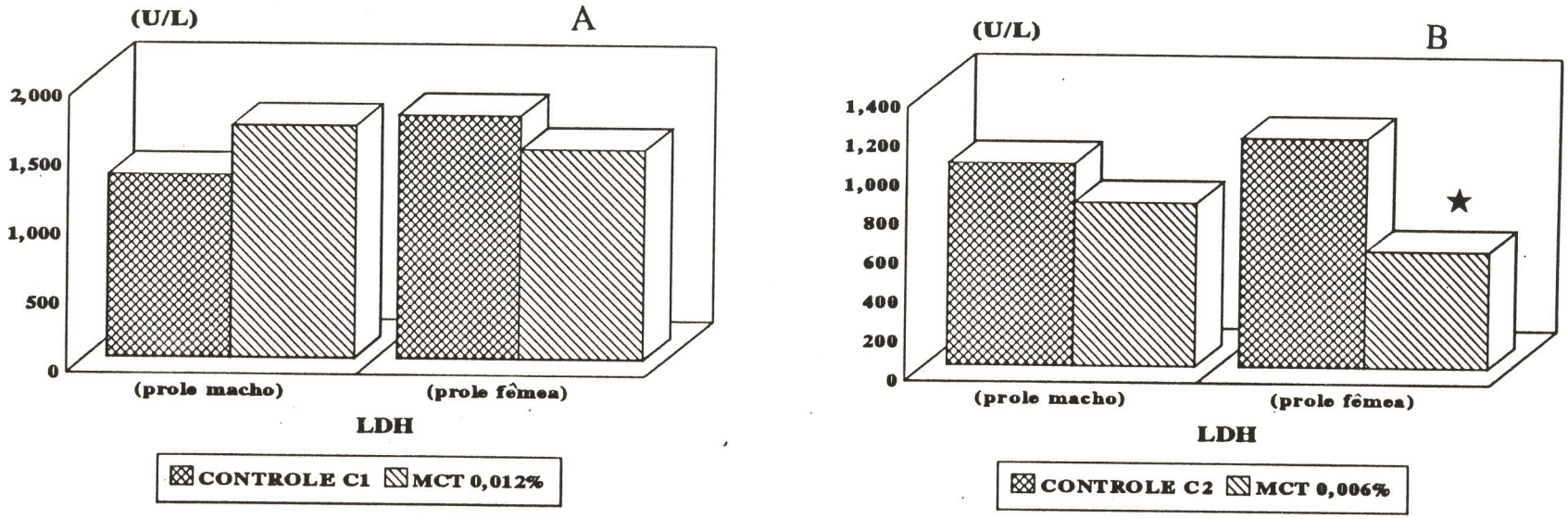


FIGURA 44- Níveis séricos das enzimas: lactato desidrogenase-LDH nos machos e fêmeas da prole de ratas lactantes expostas às concentrações de 0,012% (A) ou 0,006% (B) de MCT na ração.
★ $p < 0,05$ em relação ao grupo controle - Teste "t" de Student.

Tabela 16: Efeitos da administração de monocrotalina (0,012% ou 0,006%) à ratas lactantes sobre os parâmetros bioquímicos séricos detectados na prole macho: Proteína total, bilirrubina direta, indireta e total, uréia, creatinina e albumina. São apresentadas as médias aritméticas e os respectivos desvios-padrões dos animais dos grupos controles e experimentais.

GRUPOS	PARÂMETROS BIOQUÍMICOS ANALISADOS NA PROLE MACHO						
	Prot. Total (g/dl)	Bil. direta (mg/dl)	Bil. indireta (mg/dl)	Bil. Total (mg/dl)	Uréia (mg/dl)	Creatinina (mg/dl)	Albumina (g/dl)
CONTROLE (C1)	6,68 ± 0,99	0,07 ± 0,06	0,57 ± 0,26	0,61 ± 0,23	34,44 ± 8,34	1,00 ± 0,21	4,37 ± 0,60
MCT 0,012%	5,06 ± 0,32	0,12 ± 0,12	0,36 ± 0,08	0,45 ± 0,10	59,92 ± 9,31	0,95 ± 0,29	3,51 ± 0,50
CONTROLE(C2)	4,84 ± 0,24	0,07 ± 0,05	0,65 ± 0,47	0,77 ± 0,55	45,27 ± 10,94	0,87 ± 0,30	3,58 ± 0,34
MCT 0,006%	4,76 ± 0,27	0,08 ± 0,03	0,33 ± 0,10	0,43 ± 0,09	47,50 ± 9,67	0,94 ± 0,24	3,75 ± 0,19

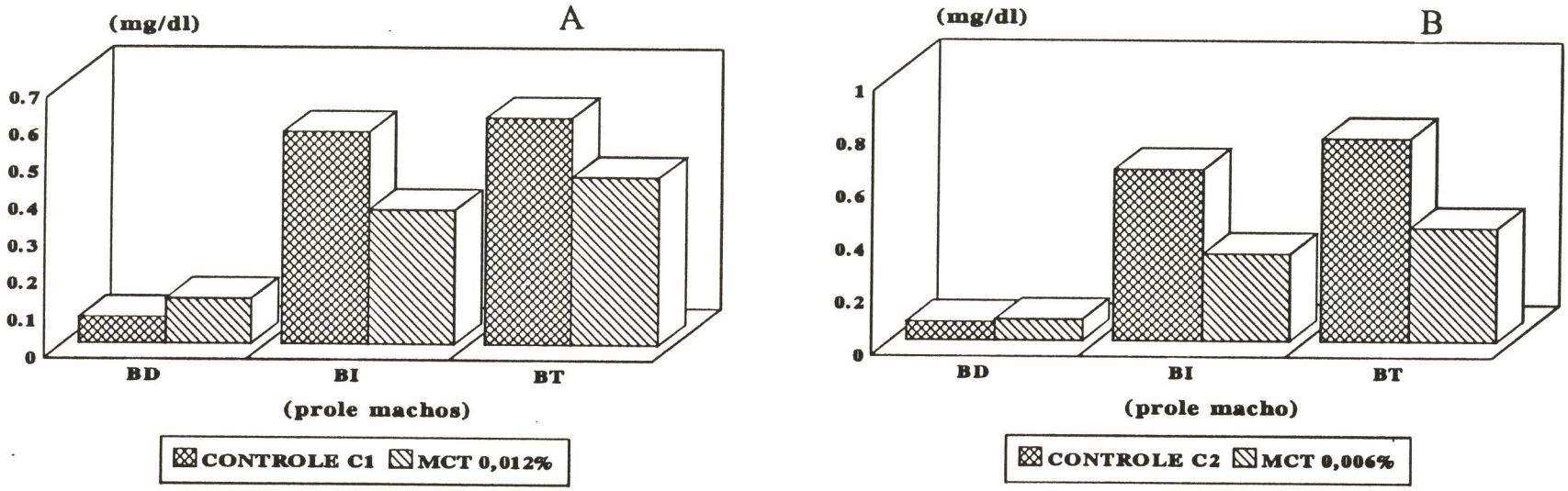


FIGURA 45- Níveis séricos das substâncias endógenas: bilirrubina direta-BD, indireta-BI e total-BT machos da prole de ratas lactantes expostas às concentrações de 0,012% (A) ou 0,006% (B) de MCT na ração.

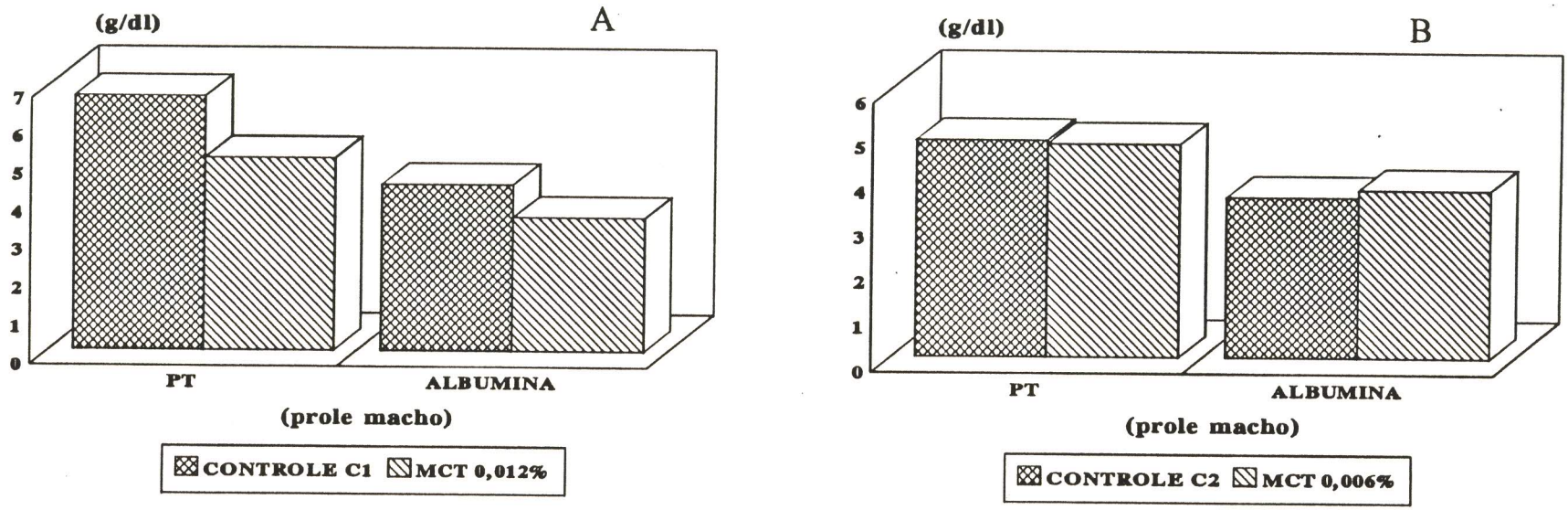


FIGURA 46- Níveis séricos das substâncias endógenas: proteína total e albumina nos machos da prole de ratas lactantes expostas às concentrações de 0,012% (A) ou 0,006% (B) de MCT na ração.

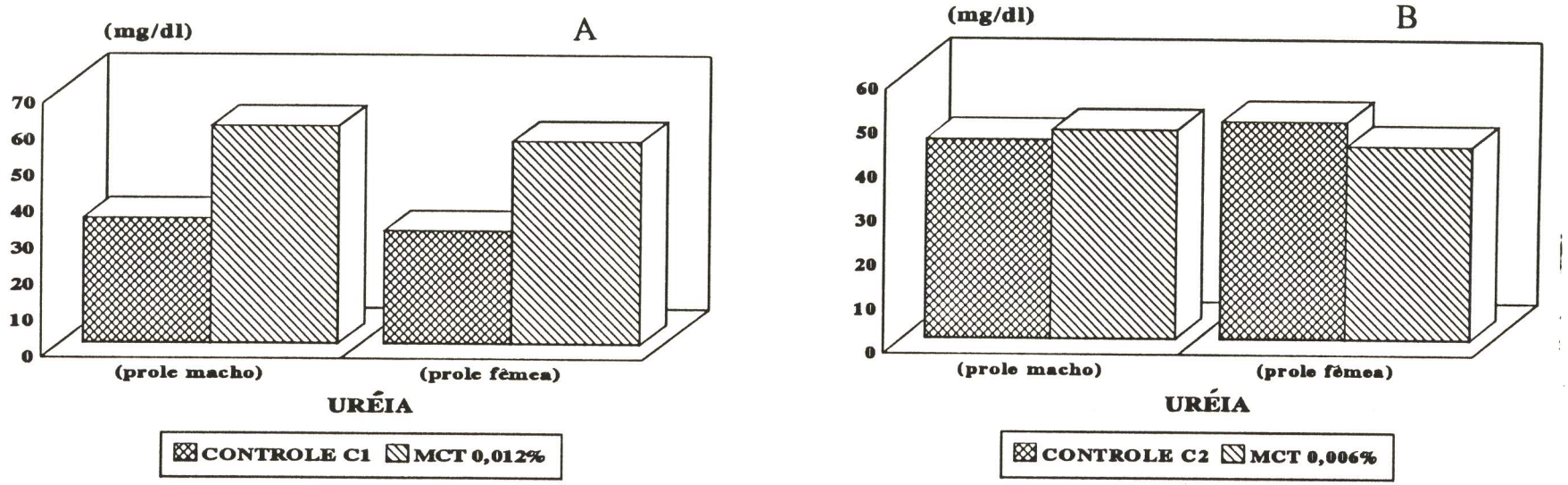


FIGURA 47- Níveis séricos de uréia nos machos e fêmeas da prole de ratas lactantes expostas às concentrações de 0,012% (A) ou 0,006% (B) de MCT na ração.

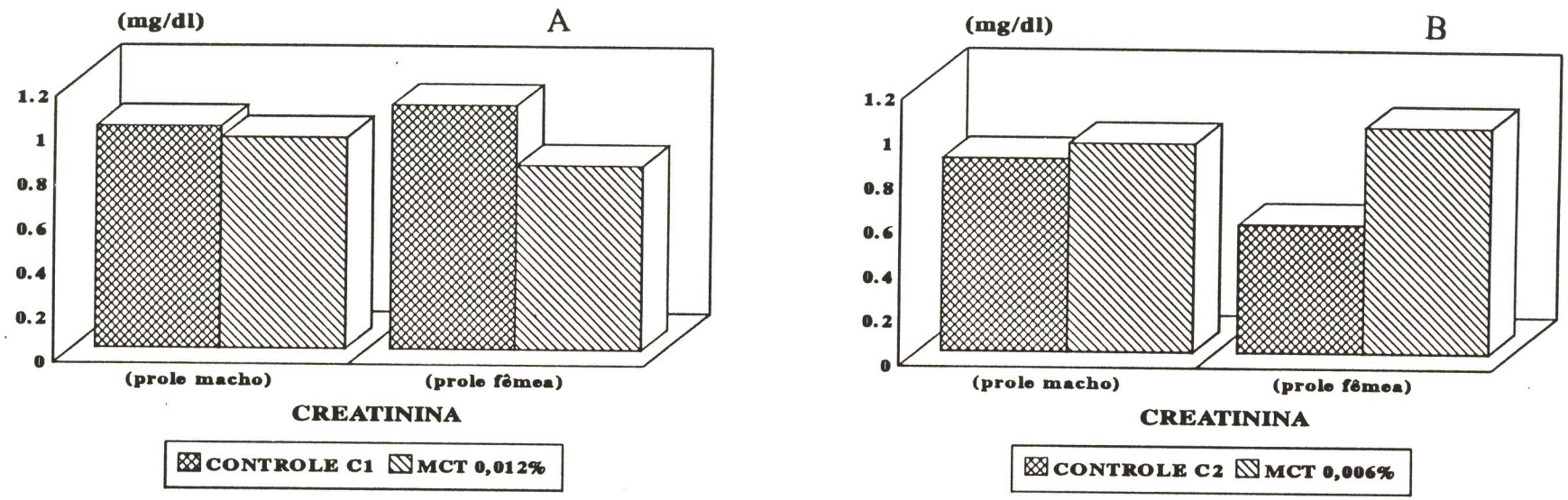


FIGURA 48- Níveis séricos de creatinina nos machos e fêmeas da prole de ratas lactantes expostas às concentrações de 0,012% (A) ou 0,006% (B) de MCT na ração.

Tabela 17: Efeitos da administração de monocrotalina (0,012% ou 0,006%) à ratas lactantes, sobre os parâmetros bioquímicos séricos analisados na prole fêmea: Proteína total, bilirrubina direta, indireta e total, uréia, creatinina e albumina. São apresentadas as médias aritméticas e os respectivos desvios-padrões dos animais dos grupos controles e experimentais.

GRUPOS	PARÂMETROS BIOQUÍMICOS ANALISADOS NA PROLE FÊMEA						
	Prot. Total (g/dl)	Bil. Direta (md/dl)	Bil. Indireta (mg/dl)	Bil Total (mg/dl)	Uréia (mg/dl)	Creat. (mg/dl)	Albumina (g/dl)
CONTROLE(C1)	6,17 ±1,60	0,27 ±0,19	0,63 ±0,20	0,67 ±0,26	31,12 ±4,22	1,10 ±0,27	3,65 ±0,83
MCT 0,012%	5,05 ±0,19	0,13 ±0,12	0,65 ±0,25	0,79 ±0,31	55,89 ±16,67	0,83 ±0,20	3,52 ±0,38
CONTROLE(C2)	7,90 ±3,51	0,10 ±0,06	0,54 ±0,17	0,64 ±0,18	49,56 ±4,17	0,58 ±0,06	3,67 ±0,18
MCT 0,006%	4,52 ±0,14	0,12 ±0,06	0,33 ±0,09	0,45 ±0,08	44,00 ±5,60	1,02 ±0,14	3,61 ±0,21

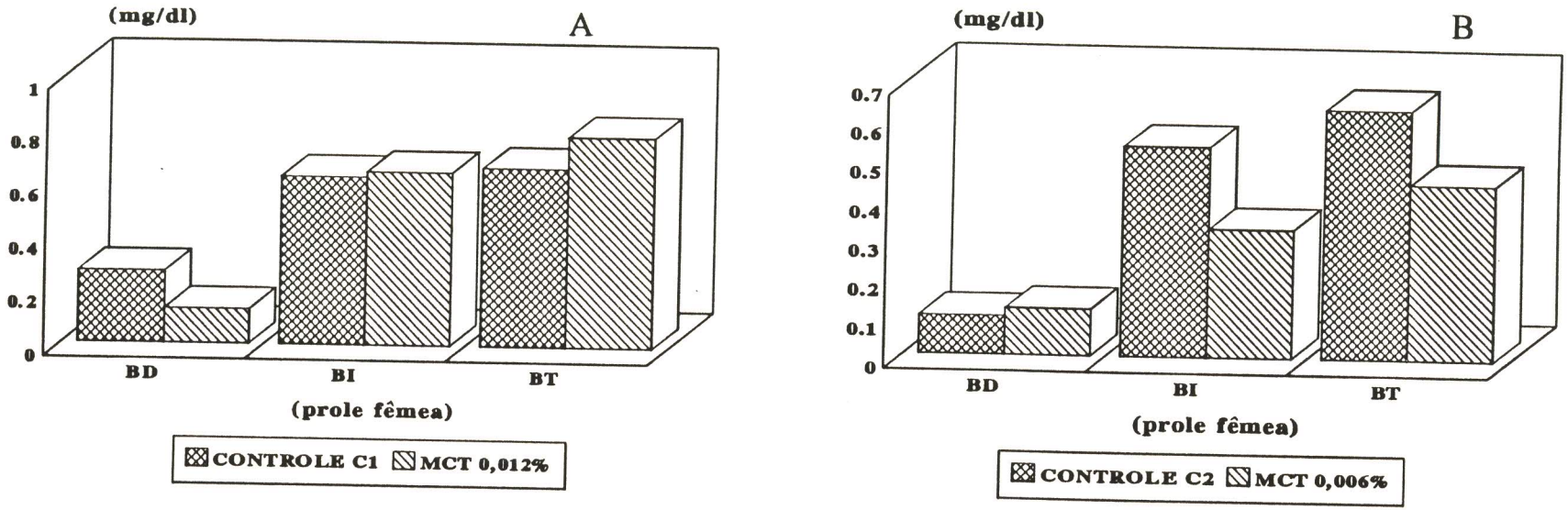
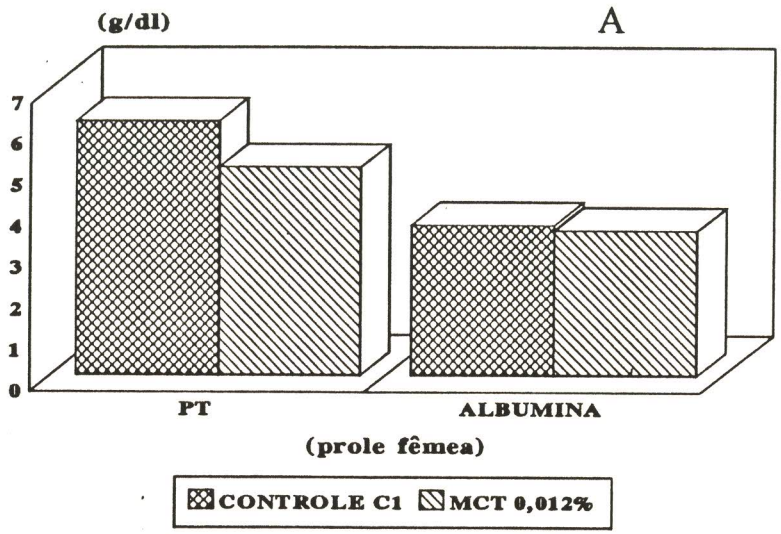


FIGURA 49- Níveis séricos das substâncias endógenas; bilirrubina direta-BD, indireta-BI e total-BT na fêmeas da prole de ratas lactantes expostas às concentrações de 0,012% (A) ou 0,006% (B) de MCT na ração.



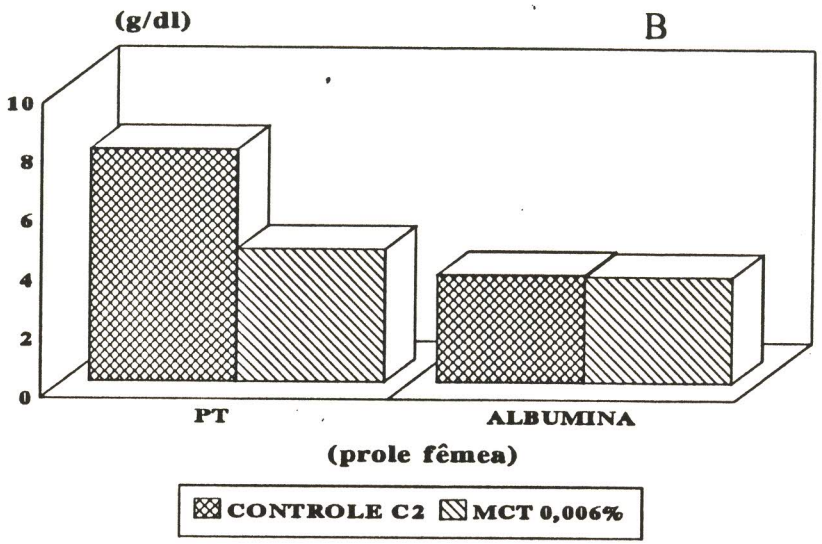


FIGURA 50- Níveis séricos das substâncias endógenas: proteína total-PT e albumina nas fêmeas da prole de ratas expostas às concentrações de 0,012% (A) ou 0,006% (B) de MCT na ração.

Tabela 18: Efeitos da administração de 0,2% de sementes de *C. spectabilis* na ração de ratas lactantes, na mortalidade das proles machos e fêmeas (A) e ganho de peso (B) observados dois meses após o desmame. São apresentados o número de animais mortos no final do experimento e as médias aritméticas e os respectivos desvios-padrões dos pesos em gramas dos animais dos grupos controle e experimental.

A

GRUPOS	n	Nº DE ANIMAIS MORTOS NO FINAL DO EXPERIMENTO	PORCENTAGEM MORTE (%)
CONTROLE	16	0	0
C .spectabilis 0,2% (MACHOS)	20	04	20%
C. spectabilis 0,2% (FÊMEAS)	20	06	30%

B

GRUPOS	n		GANHO DE PESO (a)	
	♂	♀	MACHOS	FÊMEAS
CONTROLE	8	8	250,30 ±17,70	150,30 ±7,00
EXPERIMETNTAL	16	14	238,20 ±41,60	156,70 ±28,60

(a) diferença do ganho de peso em gramas do 60° dia de vida com o 21° dia (desmame)

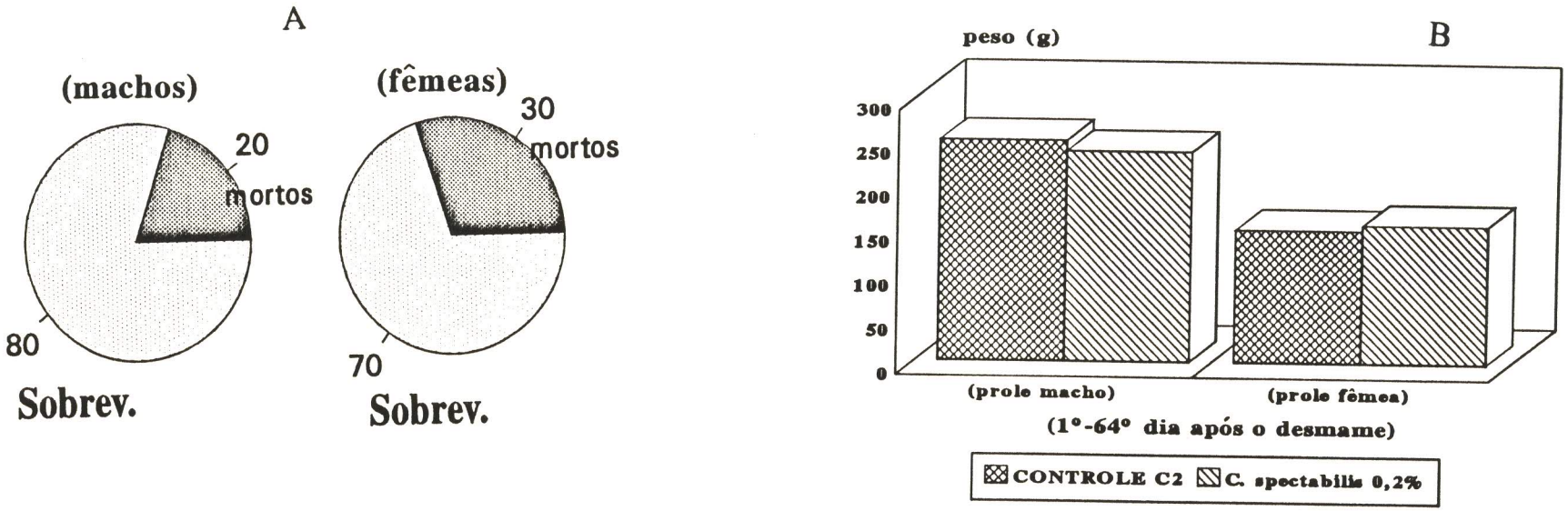


FIGURA 51- Porcentagem de mortalidade (A) e ganho de peso(B) dois meses após o desmame da prole de ratas lactantes expostas à concentração de 0,2% de sementes de *C. spectabilis* na ração.

Tabela 19: Efeitos da administração de 0,2% de sementes de *C. spectabilis* na ração à ratas lactantes, na atividade de enzimas séricas de suas proles macho (A) e fêmea (B) observados dois meses após o desmame: Aspartato amino transferase (AST), alanina amino transferase (ALT), gama glutamil transferase (GGT), fosfatase alcalina (FA), lactato desidrogenase (LDH). São apresentadas as médias aritméticas e os respectivos desvios-padrões.

A

GRUPOS	ENZIMAS SÉRICAS ANALISADAS				
	AST (U/L)	ALT (U/L)	GGT (UI/L)	FA (mU/ml)	LDH (U/L)
CONTROLE	21,90 ±2,28	12,20 ±2,86	23,20 ±4,13	381,10 ± 63,01	730,50 ±123,10
EXPERIMANTAL	23,70 ±1,70	13,00 ±1,24	26,20 ±6,56	498,70★ ±90,88	921,66★ ±141,53

B

CONTROLE	25,70 ±4,48	11,20 ±2,70	21,60 ±2,91	300,60 ±49,84	700,50 167,34
EXPERIMENTAL	23,80 ±5,84	12,50 ±3,37	27,30 ±8,09	413,10★ ±148,54	921,00★ 258,48

★ $p < 0,05$ em relação ao grupo controle - Teste "t"de Student

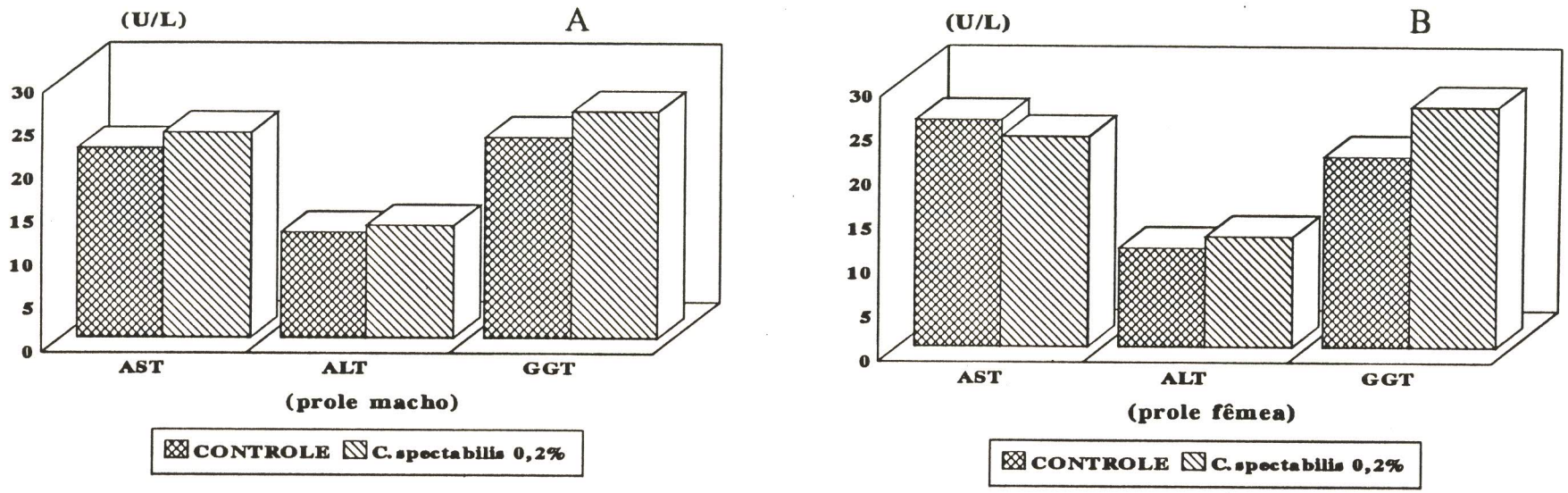
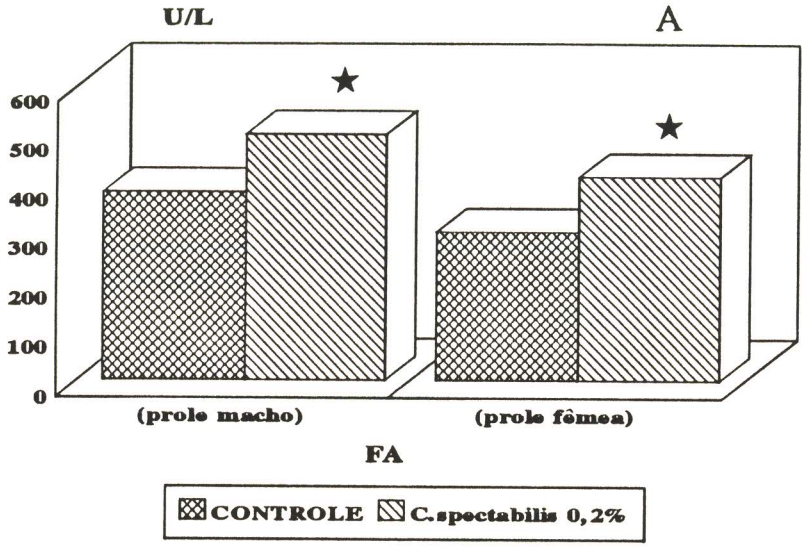


FIGURA 52- Níveis séricos das enzimas: aspartato aminotransferase-AST, alanina aminotransferase-ALT e gama glutamiltransferase-GGT dois meses após o desmame nos machos (A) e fêmeas (B) da prole de ratas lactantes expostas à concentração de 0,2% de sementes de *C. spectabilis* na ração.



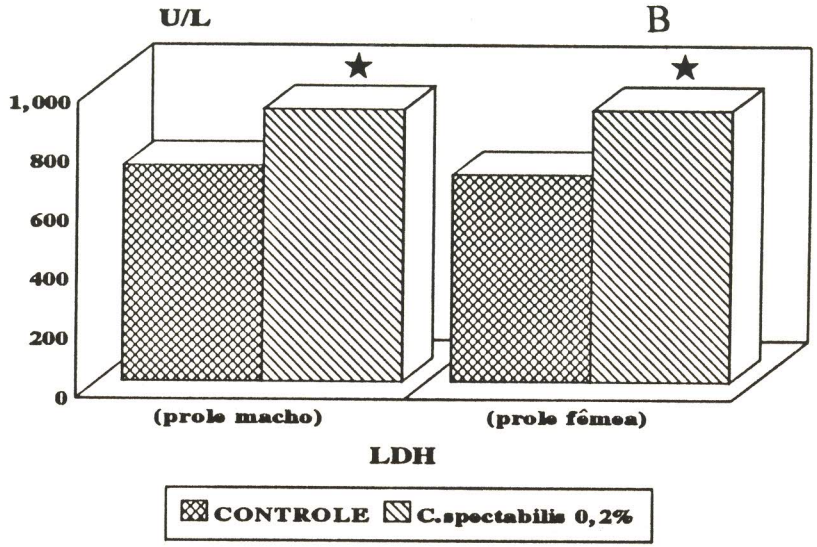


FIGURA 53- Níveis séricos de fosfatase alcalina-FA (A) e lactato desidrogenase -LDH (B) dois meses após o desmame nos machos e fêmeas da prole de ratas lactantes expostas à concentração de 0,2% de sementes de *C. spectabilis* na ração.

★ $p<0,05$ em relação ao grupo controle- Teste "t"de Student.

Tabela 20: Efeitos da adminstração de 0,2% de sementes de *C. spectabilis* na ração à ratas lactantes, nos parâmetros séricos nas proles machos (A) e fêmeas (B) observados dois meses após o desmame: Proteína total, bilirrubina direta, indireta e total, uréia, creatinina e albumina. São apresentadas as médias aritméticas e os respectivos desvios-padrões dos animais dos grupos controle e experimental.

A

GRUPOS	PARÂMETROS BIOQUÍMICOS ANALISADOS NA PROLE						
	Prot. Total (g/dl)	Bil. Direta (mg/dl)	Bil. Indireta (mg/dl)	Bil. Total (mg/dl)	Uréia (mg/dl)	Creat. (mg/dl)	Albumina (g/dl)
CONTROLE	6,42 ±1,05	0,20 ±0,05	0,27 ±0,07	0,46 ±0,04	49,20 ±7,67	0,63 ±0,11	3,72 ±0,18
EXPERIMENTAL	5,86 ±0,30	0,19 ±0,09	0,53★ ±0,28	0,72★ ±0,28	57,51★ ±8,26	0,68 ±0,11	3,82 ±0,45

B

CONTROLE	12,04 ±18,95	0,21 ±0,06	0,31 ±0,12	0,52 ±0,12	44,10 ±10,97	1,21 ±0,23	3,64 ±0,69
EXPERIMENTAL	6,12 ±0,74	0,12★ ±0,08	0,45 ±0,25	0,56 ±0,30	50,78 ±7,61	0,69★ ±0,13	4,06 ±0,57

★ $p < 0,05$ em relação ao grupo controle - Teste "t" de Student

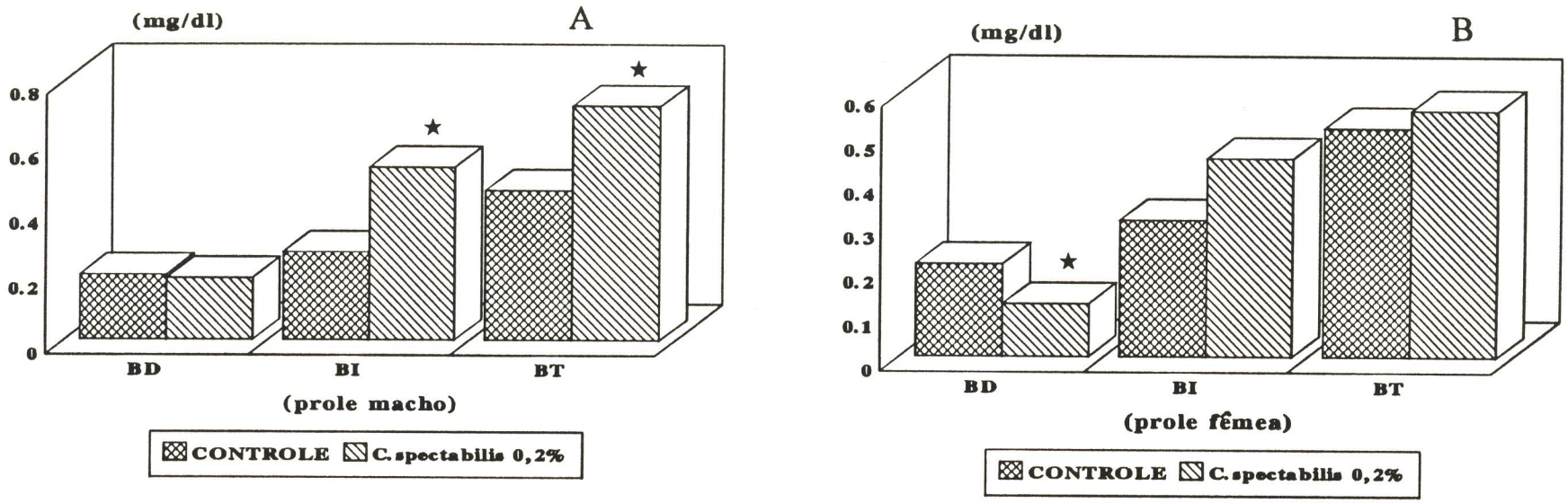


FIGURA 54- Níveis séricos das substâncias endógenas: bilirrubina direta-BD, indireta-BI e total-BT dois meses após o desmame nos machos (A) e fêmeas (B) de ratas lactantes expostas à concentração de 0,2% de sementes de *C. spectabilis* na ração.
★ $p<0,05$ em relação ao grupo controle- teste "t"de Student.

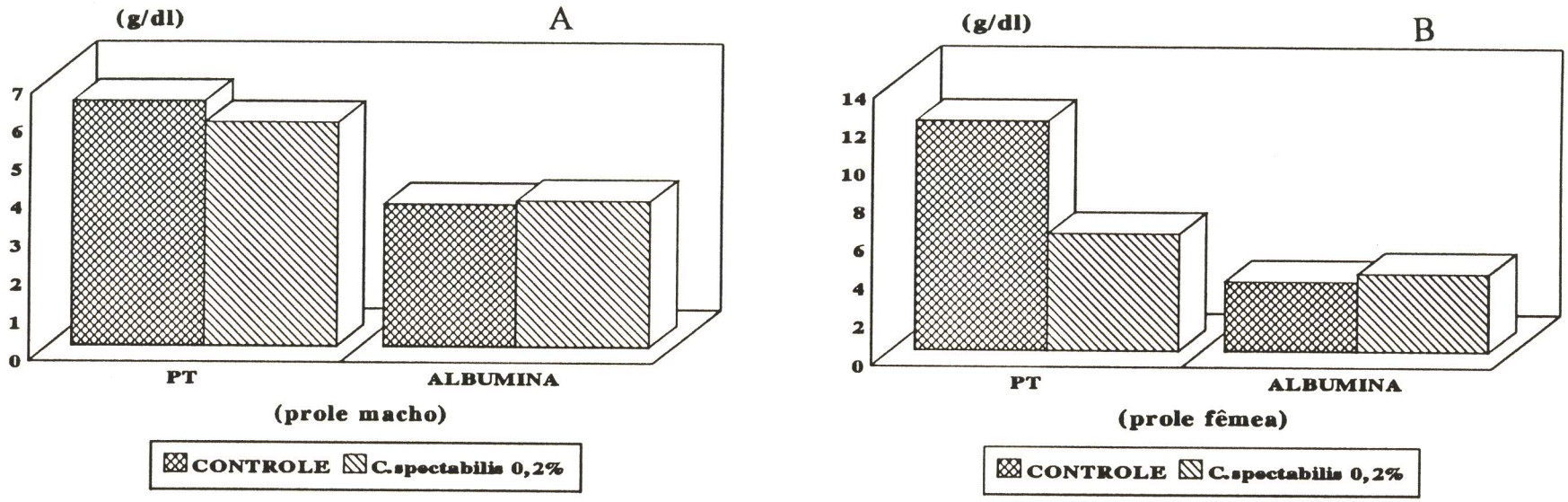


FIGURA 55- Níveis séricos das substâncias endógenas: proteina total-PT e albumina dois meses após o desmame nos mmachos (A) e fêmeas (B) de ratas lactantes expostas à concentração de 0,2% de sementes de *C. spectabilis* na ração.

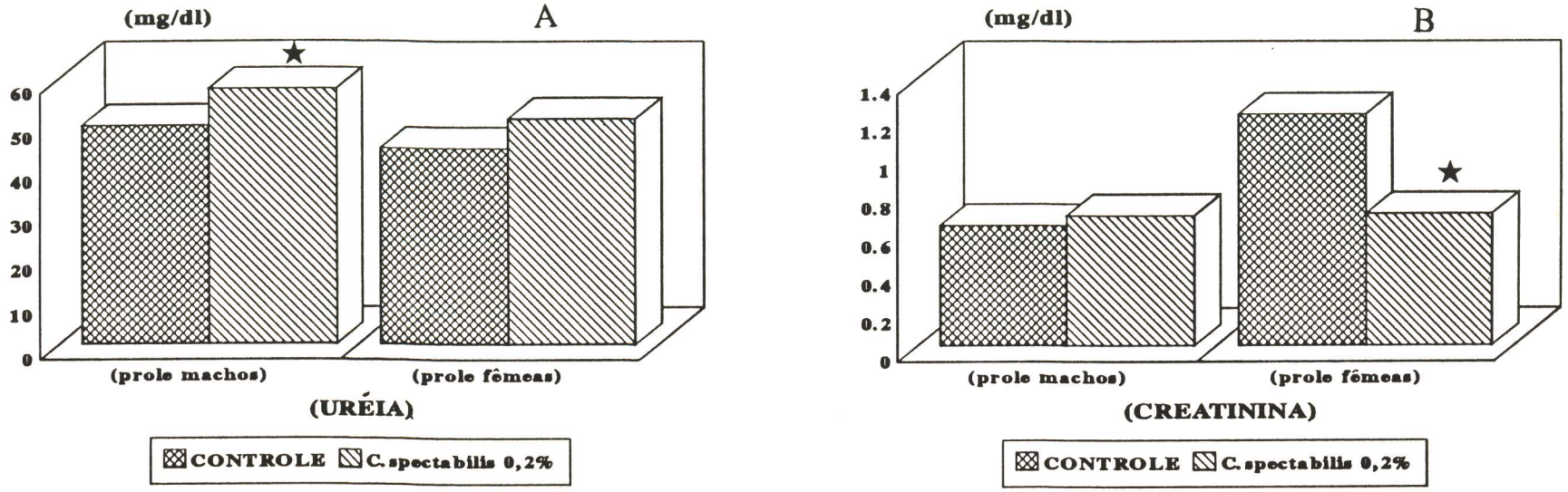


FIGURA 56- Níveis séricos de uréia (A) e creatinina(B) dois meses após o desmame nos machos e fêmeas de ratas lactantes expostas à concentração de 0,2% de semente de *C. spectabilis* na ração.
★$p<0,05$ em relação ao grupo controle. Teste "t"de Student.

Tabela 21: Efeitos da administração de ração contendo leite de cabra exposta às sementes de *C. spectabilis* a ratos machos desmamados, na mortalidade. São apresentados o número de animais mortos no final do experimento.

GRUPOS	n	Nº DE ANIMAIS MORTOS NO FINAL DO EXPERIMENTO	PORCENTAGEM MORTE(%)
CONTROLE	10	0	0
EXPERIMENTAL	10	0	0

Tabela 22: Efeitos da administração de ração contendo leite de cabra exposta à sementes de *C. spectabilis* a ratos machos desmamados, no ganho de peso. São apresentadas as médias aritméticas e os respectivos desvios padrões dos pesos em gramas dos animais dos grupos controle e experimental.

		GANHO DE PESO POR SEMANA (a)			
GRUPOS	n	1º - 3º	1º - 5º	1º - 7º	1º - 9º
CONTROLE	10	94,40 ±14,50	150,30 ±5,20	186,20 ±25,40	201,20 ±25,20
EXPERIMENTAL	10	75,7★ ±27,08	138,80 ±16,70	175,50 ±25,70	194,00 ±28,20

★$p<0,05$ em relação ao grupo controle - Teste "t"de Student

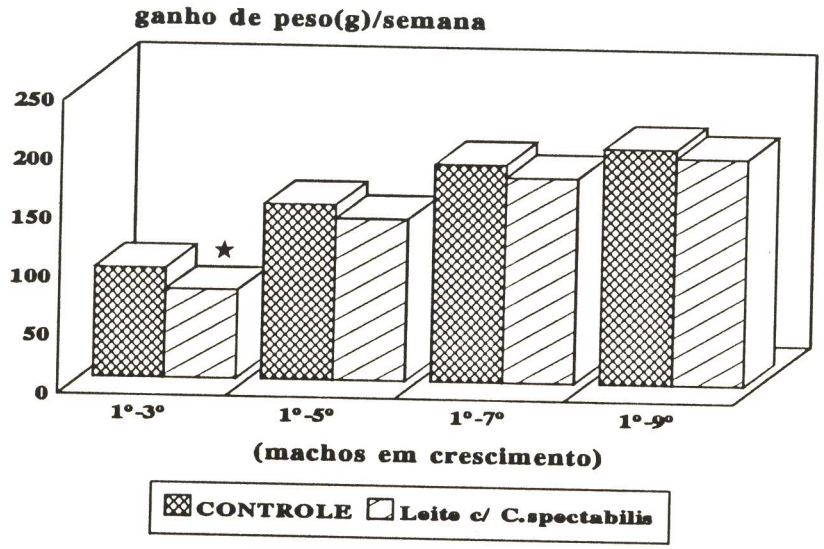


FIGURA 57- Ganho de peso de ratos machos em crescimento tratados com ração contendo leite de cabra exposta às sementes de *C. spectabilis* na ração.
★ $p < 0,05$ em relação ao grupo controle - Teste "t" de Student.

Tabela 23: Efeitos da administração de ração contendo leite de cabra exposta à sementes de *C. spectabilis* a ratos machos desmamados, na atividade de enzimas séricas: Aspartato amino transferase (AST), alanino amino transferase (ALT), gama glutamil transferase (GGT), fosfatase alcalina (FA), lactato desidrogenase (LDH). São apresentadas as médias aritméticas e os respectivos desvios padrões dos animais dos grupos controle e experimental.

GRUPOS	ENZIMAS SÉRICAS ANALISADAS EM RATOS MACHOS				
	AST (U/L)	ALT (U/L)	GGT (UI/L)	FA (mU/ml)	LDH (U/L)
CONTROLE	24,70 ± 3,40	13,70 ± 2,31	12,13 ± 4,06	338,50 ± 123,68	340,00 ± 92,61
EXPERIMENTAL	30,50 ± 5,40	15,80★ ± 1,31	26,48★ ± 6,29	280,70 ± 56,79	445,50★ ±127,57

★$p < 0,05$ em relação ao grupo controle - Teste "t"de Student

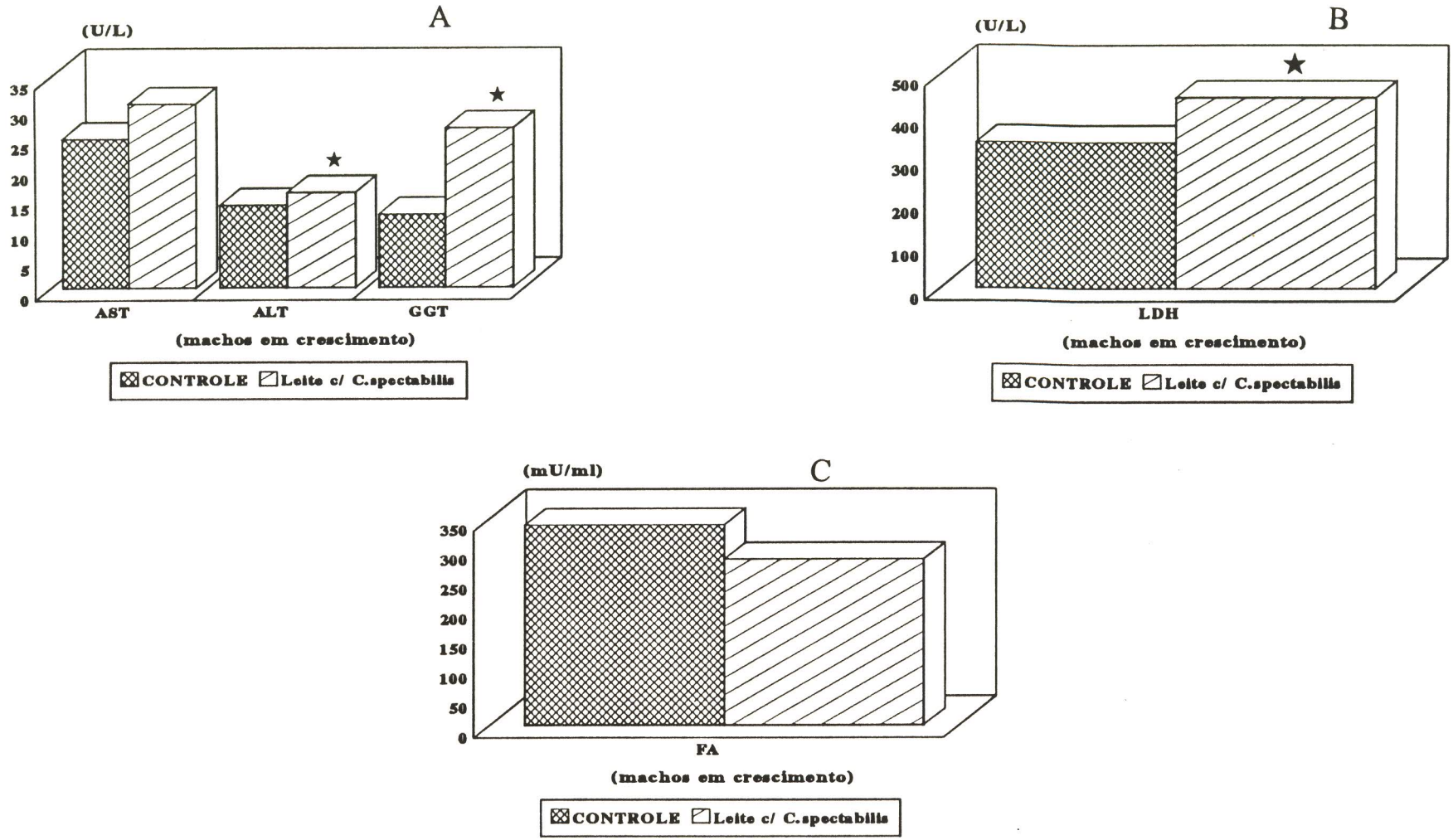


FIGURA 58- Níveis séricos das enzimas: aspartato aminotrasnferase-AST, alanina aminotransferase-ALT e gama glutamil transferase-GGT (A); fosfatase alcalina-FA (B) e lactato desidrogenase -LDH (C) em ratos machos em crescimento tratados com leite de cabra exposta às sementes de C. spectabilis na ração.
★ $p<0,05$ em relação ao grupo controle - Teste "t"de Student.

Tabela 24: Efeitos da administração de ração contendo leite, de cabra exposta à sementes de *C. spectabilis*, a ratos machos desmamados, nos parâmetros bioquímicos séricos: Proteína total, bilirrubina direta, indireta e total, uréia, creatinina e albumina. São apresentadas as médias aritméticas e os respectivos desvios-padrões dos animais dos grupos controles e experimental.

GRUPOS	PARÂMETROS BIOQUÍMICOS ANALISADOS EM RATOS MACHOS						
	Prot Total (g/dl)	Bil. Direta (mg/dl)	Bil. Indireta (mg/dl)	Bil. Total (mg/dl)	Uréia (mg/dl)	Creat. (mg/dl)	Albumina (g/dl)
CONTROLE	5,26 ±0,72	0,24 ±0,14	0,41 ±0,22	0,76 ±0,28	39,60 ±5,12	0,97 ±0,10	3,94 ±0,42
EXPERIMENTAL	5,30 ±0,52	0,23 ±0,17	0,43 ±0,17	0,66 ±0,24	44,10 ±4,97	1,00 ±0,16	4,05 ±0,34

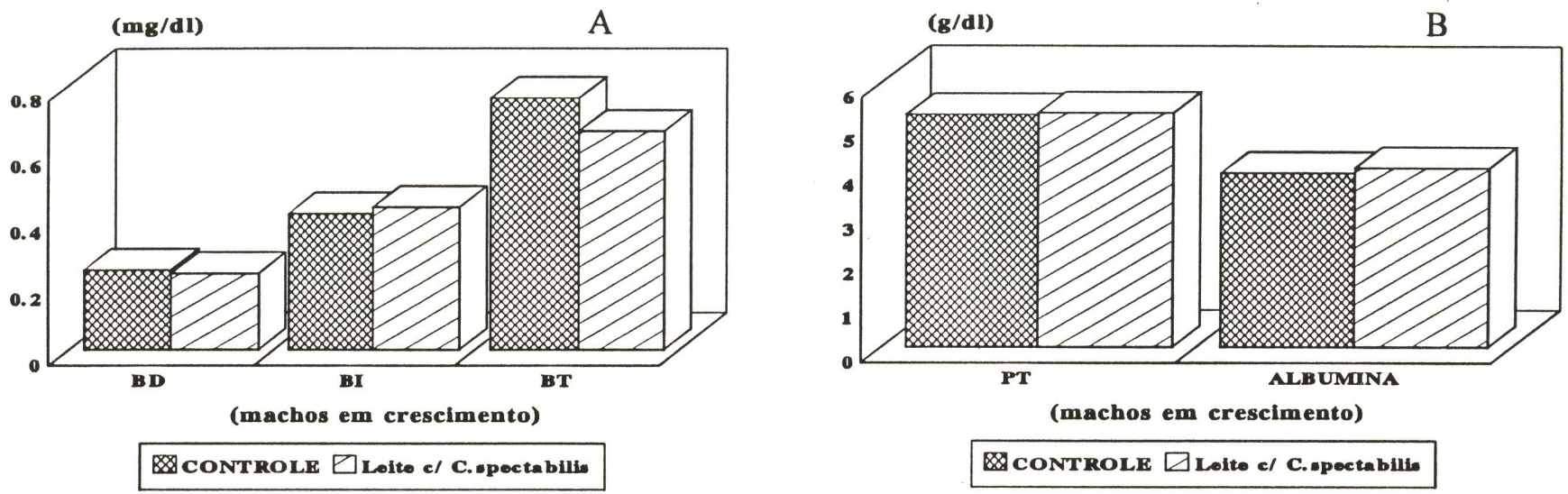


FIGURA 59- Níveis séricos das substâncias endógenas; bilirrubina direta-BD, indireta-BI e total-BT (A) e proteína total e albumina (B) em ratos machos em crescimento tratados com leite de cabra exposta às sementes de *C. spectabilis* na ração.

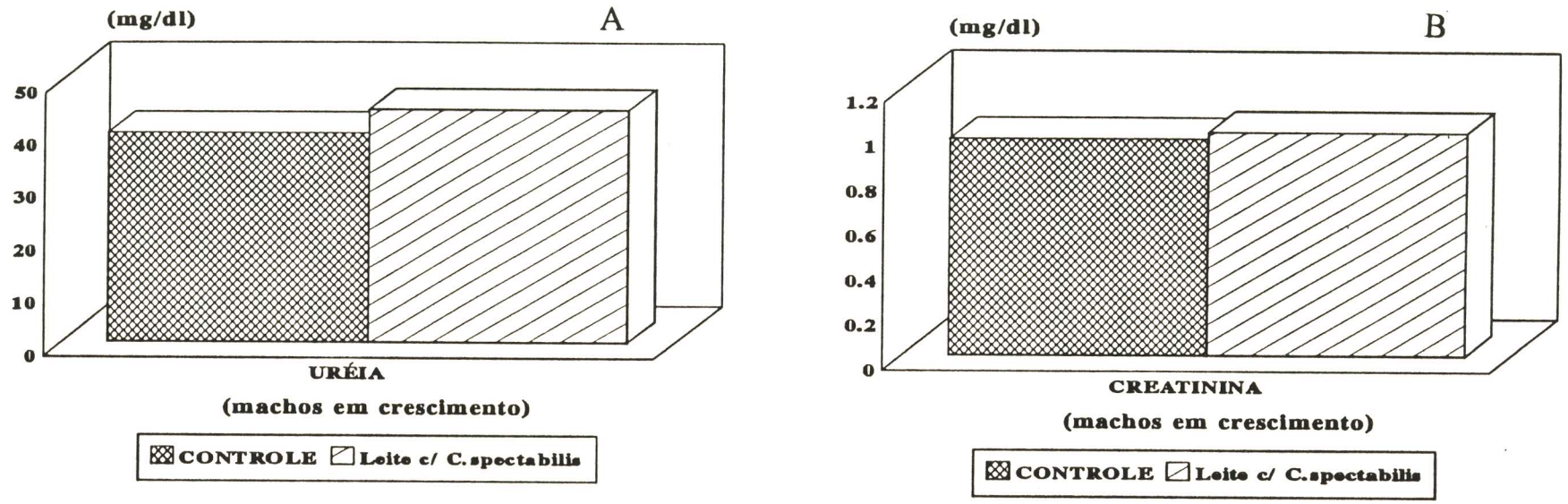
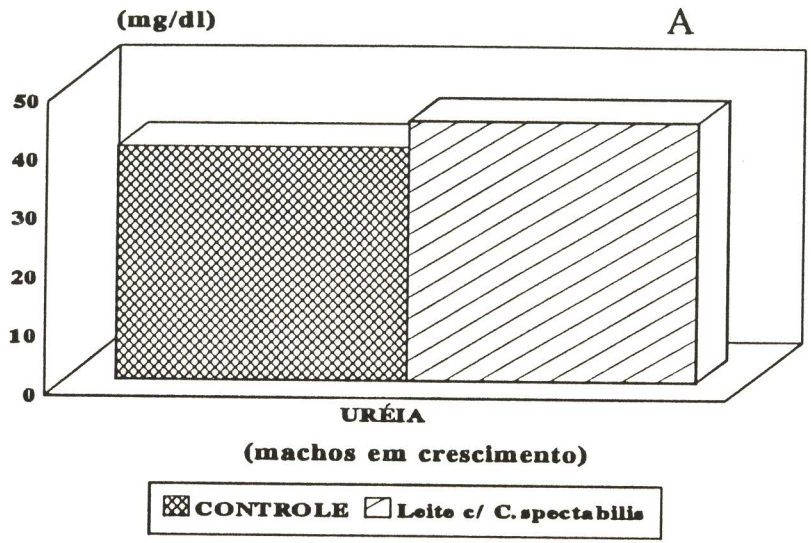


FIGURA 60- Níveis séricos de uréia (A) e creatinina (B) em ratos em crescimento tratados com leite de cabra expostas às sementes de *C. spectabilis* na ração.



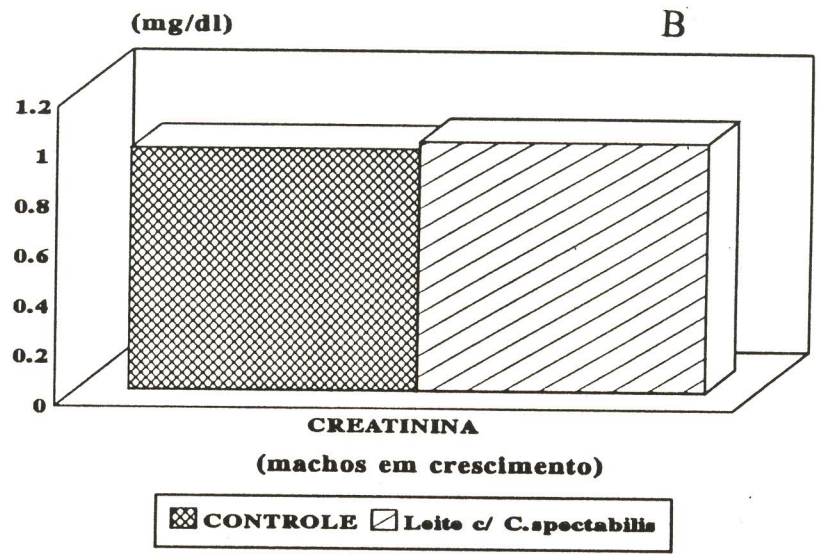


FIGURA 60- Níveis séricos de uréia (A) e creatinina (B) em ratos em crescimento tratados com leite de cabra expostas às sementes de *C. spectabilis* na ração.

5. DISCUSSÃO

A eliminação de toxicantes naturais no leite é benéfico ao animal intoxicado, pois desta forma uma parte da toxina pode ser excretada de seu organismo . Por outro lado, os animais que ingerirem esse alimento poderão sofrer os efeitos tóxicos de tais substâncias. Assim, segundo PANTER & JAMES (1990), a intoxicação em alguns casos, pode ser bem mais severa em animais jovens lactentes do que para suas mães, pois o agente tóxico estará mais concentrado no leite. De fato, sendo o leite mais ácido (pH = 6.5) que o plasma (pH = 7.0), haverá uma tendência de que compostos básicos como alcalóides, concentram-se nesse produto (FANAROFF & MARTIN, 1983). Além disso, sabe-se que o neonato tem menor capacidade para eliminar ou detoxificar xenobióticos (SIPES & GANDOLFI, 1986).

Nesse sentido, SHOENTAL (1959), administrando dois tipos de APs, a lasiocarpina e a retrorsina, a ratas lactantes, verificou que a dose desses compostos que não era letal para as mães, causava mortalidade elevada para os filhotes e nos sobreviventes, foram observadas lesões hepáticas típicas de intoxicação por APs.

O presente estudo procurou verificar se a MCT, AP encontrado nas sementes de *C. spectabilis,* à semelhança do que ocorre com os alcalóides contidos no *Senecio jacobea*, pode causar efeitos tóxicos em animais lactentes, de mães tratadas com MCT, caracterizando dessa maneira sua passagem através do leite. Objetivou-se ainda verificar se esses animais seriam mais sensíveis aos efeitos tóxicos do AP.

Na parte inicial do presente estudo, no qual foi administrado a ratas lactantes ração contendo 0,7% de sementes de *C. spectabilis* ou 0,012% de MCT (Experiência 1 e 3), verificou-se mortalidade nesses animais, além de observar-se sinais clínicos típicos de intoxicação por AP, tais como apatia, fraqueza, ascite e dispnéia. Além disso, a análise dos parâmetros bioquímicos estudados revelou alteração de função hepática, traduzida por aumento nos níveis séricos de ALT e albumina. Em relação as funções renais, verificou-se um decréscimo nos níveis séricos de creatinina; no entanto, esse resultado deve estar relacionado a uma diminuição do consumo de ração e, consequentemente uma menor ingestão de proteína e não a uma alteração das funções renais, pois segundo FINCO (1989) a quantidade de creatinina formada a cada dia, depende do conteúdo total dessa substância no organismo, o qual por sua vez depende do consumo de proteína. No que se refere ao estudo histopatológico, esse revelou lesões intensas como necrose hepatocitária, principalmente nas regiões peri-portais, além disso, verificou-se lesões focais de degeneração nuclear e, no parênquima pulmonar, detectou-se o quadro de pneumonia intersticial. No parênquima renal foi observado nefrose tubular discreta.

Em relação às ninhadas das fêmeas de ambos os grupos experimentais (Experiência. 2 e 4), a mortalidade foi extremamente elevada (41,6%) impossibilitando, dessa maneira, a análise dos dados dos parâmetros bioquímicos. Dos animais que sobreviveram até o 31° dia de vida, verificou-se emagrecimento, emaciação e palidez das membranas mucosas, além disso, na maioria deles foi observado ascite ou anasarca e fezes sanguinolentas. O estudo histopatológico mostrou alterações, principalmente no pulmão, caracterizada por pneumonia intersticial e, de

menor intensidade, no fígado e rim manifestada por degeneração e necrose e nefrose tubular, respectivamente.

Segundo MATTOCKS (1968), a toxicidade dos APs é ocasionada através de sua ativação no fígado a metabólitos tóxicos denominados pirróis ou derivados dihidropirrolizidínicos. Esses compostos, sendo altamente reativos, podem ligar-se covalentemente ao DNA ou enzimas hepáticas (MATTOCKS, 1968; SWICK, 1984), causando edema e necrose centrolobular, megalocitose, cariomegalia, fibrose, proliferação dos ductos biliares, veno-oclusão e perda da função hepática (CHEEKE & SHULL, 1985). Várias são as plantas que contém APs. No gênero *Crotalaria,* a *C. spectabilis* é a que possui o mais largo espectro de efeitos tóxicos, produzindo não somente lesão hepática, mas também doença respiratória, megalocitose renal e nefrose (HOOPER, 1978). As lesões pulmonares e renais só ocorrem depois que a MCT é convertida, no fígado, ao metabólito pirrólico (MCTP) através do sistema de monoxigenase P-450 (BRUNER et al., 1993). Devido a forte instabilidade do MCTP (MATTOCKS, 1986) esse, ao cair na corrente circulatória, poderá alcançar outros órgãos como os acima citados, causando seus efeitos tóxicos.

Os resultados aqui obtidos mostram que houve uma divergência nos achados histopatológicos. Assim, em relação aos animais lactantes, foram observadas lesões acentuadas ao nível hepático. Por outro lado, em suas proles, essas foram bastante discretas, sendo verificadas extensas lesões no parênquima pulmonar. Pouco poderia ser inferido a respeito dessa disparidade, pois não existem na literatura, dados referentes à excreção de MCT e seu metabólito ativo (MCTP) no leite. No entanto, sabe-se que esse último composto está diretamente

relacionado aos efeitos pneumotóxicos da MCT (BUTLER, 1970; CHESNEY et al, 1974; LALICHE et al., 1977; BRUNER et al., 1983; REINDEL et al., 1990). Uma vez que a biotivação da MCT em MCTP ocorre apenas no fígado, independentemente de espécie animal e idade (EISENTEIN et al., 1979; MATTOCKS, 1972; LAFRANCONI & HUXTABLE, 1984), poder-se-ia sugerir que a variação na localização da severidade das lesões nas mães e proles, estaria relacionada ao fato de haver uma maior excreção do MCTP e não da MCT, através do leite. Porém, tal inferência poderá ser confirmada somente quando da realização de estudos químicos, detectando-se e quantificando-se a MCT e seus metabólitos nesse alimento.

Analisando-se os efeitos nas proles de ambos os grupos experimentais (mães tratadas com 0,7% de sementes de *C. spectabilis* e 0,012% de MCT na ração), verifica-se que esses foram muito intensos. A alta mortalidade e o emagrecimento, além de outras alterações observadas, poderiam ser indicativas de que, o AP e/ou seus metabólitos estariam passando via leite. Por outro lado, seria ainda prematuro afirmar que tais efeitos tóxicos estariam sendo ocasionados exclusivamente pelos APs, uma vez que as fêmeas dos grupos experimentais diminuiram sensivelmente o consumo de ração além de manifestarem sinais claros de intoxicação. Desta forma, deve-se supor que houve uma queda acentuada tanto na quantidade como na qualidade do leite produzido por esses animais.

Portanto, com a finalidade de se minimizar os efeitos tóxicos do AP nas lactantes, foram formados outros três grupos experimentais, onde esses animais receberam na ração, as concentrações de 0,4% e 0,2% de sementes de *C. spectabilis* e 0,006% de MCT (Experiência. 1 e

3). Verificou-se que as fêmeas dos diferentes grupos experimentais, ainda apresentavam queda no consumo de ração, queda no ganho de peso e lesões histopatológicas típicas de intoxicação por AP, tais como: degeneração e necrose hepatocitária e pneumonia intersticial. As alterações bioquímicas analisadas, foram discretas, não sendo detectadas modificações nos níveis séricos de uréia e creatinina em nenhum dos grupos experimentais. Em relação às provas de função hepática (ALT, AST, GGT, FA, LDH, PT, albumina, BD, BI e BT); houve variação nos níveis séricos somente de ALT nas lactantes tratadas com 0,4% de sementes de *C. spectabilis* e GGT naquelas tratadas com 0,006% de MCT. Esses resultados parecem conflitantes se compararmos com aqueles obtidos no estudo histopatológico, o qual revelou lesão no parênquima hepático. Dessa maneira, seria esperado que as funções metabólicas desempenhadas pelo fígado estariam comprometidas, refletindo consequentemente na alteração desses parâmetros mensurados. Entre outros fatores que poderiam justificar essa discrepância consideraria-se as seguintes hipóteses: as retiradas de sangue para as dosagens das substâncias acima citadas foram realizadas 21 dias após o início da lactação e as alterações das substâncias séricas poderiam ter ocorrido numa fase anterior ou posterior a essa dosagem. Uma outra causa que concorreria para o resultado obtido, seria a pouca especificidade das enzimas analizadas nesse estudo em relação à ratos. Assim, apesar de escassos trabalhos encontrados na literatura a respeito dos parâmetros bioquímicos sanguíneos desses animais, citam-se que ratos têm altos níveis de ALT e GGT no fígado e os seus níveis séricos aumentam consideravelmente em caso de necrose hepática (BOYD,

1962). De fato, foram essas enzimas que apresentaram-se alteradas no experimento.

A respeito das proles das lactantes dos grupos experimentais (Experiência 2 e 4) , observou-se mortalidade naqueles animais provenientes de mães tratadas com 0,4% de sementes de *C. spectabilis* na ração e queda no ganho de peso naqueles animais da prole de mães tratadas com 0,4% e 0,2% de sementes de *C. spectabilis*. Contudo, o estudo histopatológico revelou lesões ao nível hepático e pulmonar em todos os animais das proles analisadas e ainda nefrose tubular naqueles filhotes de mães tratadas com 0,4% de sementes de *C. spectabilis*. No estudo bioquímico, poucas alterações foram observadas. Da mesma maneira que ocorreu com suas mães, ficaria difícil propor uma única causa que justificasse a disparidade entre os dados obtidos no estudo bioquímico, com os achados histopatológicos encontrados na prole.

Em face dos resultados obtidos, quando do estudo com as lactantes, foi então realizado um outro experimento (Experiência 1) no qual diminuiu-se ainda mais a porcentagem de sementes de *C. spectabilis*. Nesse experimento, as fêmeas lactantes receberam na ração a concentração de 0,1% de sementes de *C. spectabilis*. Os resultados mostraram que, de todos os parâmetros analisados, mortalidade, ganho de peso, estudo bioquímico e anátomo-patológico, encontrou-se apenas uma diminuição nos níveis séricos de FA e aumento de PT nos animais do grupo experimental, quando comparado com aqueles do grupo controle. No entanto, esses dados não poderiam ser correlacionados com uma hepatopatia, já que uma lesão hepática promoveria exatamente o contrário do que se obteve no presente trabalho, ou seja, um aumento nos níveis séricos de FA (CORNELIUS, 1963) e uma diminuição nos níveis

de PT (ALLEN, 1963), além do mais, a FA tem uma ampla variação de normalidade em seus limites de referência (KRAMER, 1989). Portanto os resultados aqui obtidos revelam que a administração de 0,1% de sementes de *C. spectabilis* na ração das lactantes, não promoveu efeitos tóxicos nas mesmas.

Por outro lado, a análise dos dados das proles provenientes dessas mães (Experiência 2), revelou efeitos tais como morte e lesões histopatológicas típicas de intoxicação por MCT, ao nível hepático e pulmonar. Esses resultados concordam com os estudos anteriores, com outros APs, os quais evidenciaram serem os APs mais tóxicos para animais jovens que adultos. Nesse sentido, JAGO (1970), verificou que ratos, com idade variando entre 1 - 2 semanas de vida, são mais susceptíveis aos efeitos dos APs heliotrina e lasiocarpina. Em concordância com esses resultados MATTOCKS & WHITE (1973) verificaram que a toxicidade da retrorsina é muito maior no 14° dia de vida, quando comparado com animais adultos. Segundo os autores, a maior toxicidade dos APs para animais jovens pode ser atribuído aos seguintes fatores: peso do fígado relativamente menor (2,8% do peso corpóreo comparado a 4,4% em ratos mais velhos) o que faz com que a dose do alcalóide no fígado praticamente dobre; maior proporção de metabólitos pirrólicos ligados ao tecido hepático e ainda a alta sensibilidade dos tecidos, onde as células encontram-se em processo de divisão.

Os resultados aqui obtidos, permitem sugerir que, em condições naturais de intoxicação na criação animal, os efeitos tóxicos da MCT deverão ser precocemente observados nos animais lactentes podendo muitas vezes ser verificada nos animais dessa faixa etária, alta

taxa de mortalidade, queda de crescimento, entre outros efeitos, sem que qualquer sintomatologia clínica possa ser evidenciada nos animais adultos.

Vários são os relatos encontrados na literatura, relacionados às diferenças sexuais com a sensibilidade aos diferentes APs. No que se refere à MCT, estudos realizados por GOLDENTHAL et al., (1964) e MATTOCKS (1972), administrando agudamente esse alcalóide a ratos fêmeas e machos adultos, mostraram que a sensibilidade aos efeitos tóxicos nestes últimos animais foram duas vezes maior que nas fêmeas. Assim, com o objetivo de verificar se a ingestão prolongada pelas proles, machos e fêmeas, de MCT e/ou seu metabólito ativo, através do leite, mostraria diferenças sexuais na sensibilidade aos efeitos tóxicos desse AP, já durante a fase de lactação, realizou-se o próximo experimento, no qual as ratas foram expostas durante o período de lactação à concentração de 0,2% de sementes de *C.spectabilis* (Experiência. 5), sendo suas proles acompanhadas até 2 meses após o desmame.

Os resultados revelaram não haver diferenças entre machos e fêmeas, em todos os parâmetros estudados. No entanto, deve-se ressaltar que os dados obtidos nessa experiência referem-se à toxicidade da MCT na lactação, período em que os animais não estão sexualmente diferenciados (OJEDA & URBANSKI, 1988); Desse modo, conclui-se que, as diferenças na sensibilidade aos APs acontecem somente na maturidade sexual, o qual em nossas condições laboratoriais, ocorrem a partir do 43° dia e 25° dia de vida de fêmeas e machos, respectivamente (CHIAVEGATTO, 1990).

DRAKE (1841), foi o primeiro a verificar o perigo potencial da ingestão de toxinas de plantas, indiretamente através do leite. Esse

pesquisador estabeleceu uma relação entre um quadro clínico denominado "doença do leite" e a ingestão desse alimento proveniente de vacas alimentadas por *Eupathorium rugosum*. A partir desse relato pioneiro, seguiram-se outros, mostrando que, de fato, os princípios ativos tóxicos de várias plantas ou de seus metabólitos poderiam ser transferidos para o leite como os glicosilatos da *Brassica sp* (WHITE & CHEEKE, 1983); os alcalóides piperidínicos do *Conium maculatum* (KEELER, 1978); alcalódes quinolizidínicos do *Lupinus sp* (KEELER, 1978); alcalóides indolizidínicos do *Astragalus lentiginosus* e *Oxytropis suecia* (MOLLYNEUX & JAMES, 1982) e a colchicina da *Colchicium auturale* (CLARKE E CLARKE, 1967), entre outros, representando risco potencial de intoxicação aos indivíduos consumidores desse alimento.

Com o objetivo de verificar os possíveis riscos do consumo de leite contaminado com AP ou seus metabólitos pela população humana DICKINSON (1976), administrou a camundongos, leite proveniente de vacas tratadas com *Senecio jacobea*. Nesse trabalho preliminar, não foram evidenciadas lesões nos camundongos; resultado semelhante foi obtido por JOHNSON (1976), que não observou alterações em ratos tratados com leite procedente de vacas alimentadas com *Senecio jacobea*. Por outro lado, estudos realizados por MIRANDA (1981) e GOEGER et al., (1982), mostraram que ratos tratados com leite oriundo de cabras alimentadas com *Senecio jacobea* apresentavam danos hepáticos evidenciado por redução da atividade de algumas enzimas, bem como desenvolvimento de megalocitose, hiperplasia biliar e fibrose hepática, indicando o envolvimento de APs nos efeitos observados.

Os resultados apresentados nesta pesquisa, revelam profundas alterações nos ratos tratados com leite obtidos de cabra

alimentada com sementes de *C. spectabilis* (Experiência. 6). Dessa maneira, quando comparou-se os dados obtidos dos animais que consumiram ração contendo leite de cabra, com aqueles de ratos tratados com ração contendo o leite proveniente do animal com a dieta normal, observou-se que o leite contaminado foi capaz de promover alterações na morfologia do parênquima hepático, evidenciando-se degeneração e necrose.

Esses resultados foram concordantes com as alterações bioquímicas, verificando-se aumento nos níveis séricos de GGT e ALT. Em relação ao estudo histopatológico do rim, detectou-se nefrose tubular, e o estudo histopatológico do parênquima pulmonar, revelou edema e hemorragia alveolar. Outro fato que deve ser salientado é que os animais dos grupos experimentais apresentaram menor ganho de peso quando comparados com aqueles do grupo controle, entre a 1ª e 4ª semana de experimento.

Os resultados obtidos nesse trabalho, mostram claramente que, a MCT ou o seu metabólito, formado ao nível hepático, é eliminado no leite dos animais lactantes. Por outro lado, sabe-se que, caprinos e ovinos são mais resistentes aos efeitos tóxicos produzidos pelos alcalóides pirrolizidínicos (GOEGER et al., 1982; SWICK et al., 1983 a,b). No entanto, não foram observadas manifestações clínicas de intoxicação pela MCT, durante ou após a administração das sementes de *C. spectabilis*. Essa resistência verificada nessas espécies animais, provavelmente está relacionada ao metabolismo hepático do AP. Assim, SHULL et al. (1976), observaram que, animais sensíveis como bovinos e equinos apresentam uma alta taxa de produção de pirrol, enquanto que, em animais resistentes aos APs como os caprinos, ocorre o contrário.

Essas constatações, permitem-nos sugerir que, possivelmente, o agente tóxico presente no leite de cabra seja a MCT e não o seu pirrol. Sendo os APs estruturas bastante estáveis (PEDERSEN, 1975; BIRECKA et al., 1980), processos como pasteurização e liofilização, não seriam eficientes na destruição desse princípio ativo tóxico. Dessa maneira, é de se supor que a presença de APs no leite, representa um grande risco à saúde dos indivíduos consumidores desse alimento.

Considerando-se a escassêz de estudos no Brasil sobre os efeitos de plantas tóxicas na criação animal, costuma-se relacionar a toxicidade de uma planta com a mortalidade. No entanto, deve-se ter em mente que, outros fatores também contribuem com enorme prejuízos como: queda no ganho de peso, diminuição do crescimento, alteração na esfera reprodutiva, entre outros. Destaca-se ainda, o potencial risco para a saúde humana, através da veiculação dessas toxinas, em produtos de origem animal, como o leite. Portanto, os resultados verificados na presente pesquisa, poderá contribuir de maneira eficaz à saúde pública, pois o leite é o principal alimento na infância, sendo prática bastante comum em nosso país, a alimentação de crianças com leite de cabra, quando essas são alérgicas ao leite de vaca.

6. CONCLUSÕES

6.1. A administração de sementes de *C. spectabilis* ou MCT na ração de animais lactantes produziu efeitos tóxicos tanto nas ratas que ingeriram a ração contaminada com as sementes de *C. spectabilis* ou MCT como nas suas proles através da ingestão do leite.

6.2. A administração de 0,1% de sementes de *C. spectabilis* na ração de ratas lactantes não causaram efeitos tóxicos às mães, no entanto, as proles apresentam sinais de toxicidade produzida pela MCT.

6.3. Os efeitos tóxicos produzidos pela MCT foram semelhantes àqueles das sementes de *C. spectabilis*, no entanto de menor intensidade.

6.4. As proles de ratas tratadas durante a lactação com sementes de *C. spectabilis* não apresentaram diferenças sexuais na intensidade dos efeitos tóxicos produzidos pela MCT.

6.5. Os ratos em crescimento, que ingeriram o leite de cabras expostas à sementes de *C. spectabilis,* apresentaram efeitos típicos de intoxicação por MCT.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS***

ALLEN, J.R.; CHESNEY, C.F.; FRAZEE, W.J. Modifications of pyrrolizidine alkaloid intoxication resulting from altered hepatic microsomal enzymes. ***Toxicology and Applied Pharmacology,*** v.23, p.470-79, 1972.

BICUDO, P.L. ***Curso de toxicologia animal. Módulo I principais plantas tóxicas de interesse veterinário.*** Viçosa, MEC - ABEAS, 1987. (Curso de especialização por tutoria à distância) - Universidade Federal de Viçosa. (Ciências Agrárias nos Trópicos Brasileiros)

BIRECKA, H.; FROHLICH, M.W.; HULL, L.; CHASKES, M.J. Pyrrolizidine alkaloids of *Heliotropium* from Mexico and Adjacent U.S.A. ***Phytochemistry***, v.19, p.421-26, 1980.

BOYD, J.W. The comparative activity of some enzimes in sheep, cattle and rats-normal serum and tissues levels and changes during experimental liver necrosis. ***Research Veterinary Science,*** v.3, p.256-68, 1962.

BRUNER, L.H.; HILLIKER, K.S.; ROTH, R.A. Pulmonary hipertension and EKG changes from monocrotaline pyrrole in the rat. ***American Jounal Physiology***. v.245, p.H300-306, 1983.

*** De acordo com:
DIRETRIZES PARA APRESENTAÇÃO DE DISSERTAÇÕES E TESES. São Paulo, FMVZ-USP, 1992.

BUTLER, W.H.; MATTOCKS, A.R.; BARNES, J.M. Lesions in the liver and lungs of rats given pyrrole derivatives of pyrrolizidine alkaloids. ***Journal of Pathology***, v.100, n.3, p.169-75, 1970.

CHEEKE, P.R.; SHULL, L.R. ***Natural toxicants in feeds and poisonous plants***. Westport, AVI Publishing, 1985.

CHEEKE, P.R. Toxicity and metabolism of pyrrolizidine alkaloid. ***Journal. of Animal Science***, v.66, p.2343-50, 1988.

CHESNEY, C.F.; ALLEN, J.R.; HSU, I.C. Regth ventricular hypertrophy in monocrotaline pyrrole treated rats. ***Experimental and Mololecular Pathology***. v.20, p.257-68, 1974.

CHIAVEGATTO, S. ***Difenidramina e gestação: Efeitos em parâmetros físicos, comportamentais e bioquímicos na prole de ratos.*** São Paulo, 1990. p.152, Dissertação (Mestrado) Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo.

CLARKE, E.G.C.; CLARKE, M.L. ***Gardner's veterinary toxicology***. 3.ed. London, Bailliere Tindall and Cassel, 1967. p.371-2.

CORNELIUS, C.E. Liver function. In: KANEKO, J.J., ed. ***Clinical biochemistry of domestic animals***. 4.ed. San Diego, Academic Press, 1989. p.364-97.

CULVENOR, C.C.J.; CLARKE, M.; EDGAR, J.A.; FRAHN, J.L.; JAGO, M.V.; PEDERSON, J.E.; SMITH, L.W. Structure and toxicity of the alkaloids of Russian confrey (*Symphytum* x *uplandicum* Nyman) a medical herb and item of human diet. ***Experientia***, v.36, p.377-9, 1980. (Citado por MATTOCKS, 1980).

CULVENOR, C.C.J.; EDGAR, J.A.; SMITH L.W. Pyrrolizidine alkaloids in honey from *Echium plantagineum* L. ***Journal of Agricultural Food Chemistry***, v.29, p.958-60, 1981.

DICKINSON, J.O.; COOKE, M.P.; MOHAMED, P.A. Milke transfer of pyrrolizidine alkaloids in cattle. ***Journal of the American Veterinary Medical Association***, v.169, p.1192-6, 1976.

DICKINSON, J.O. Release of pyrrolizidine alkaloids into milk. ***Proceedings of the Western Pharmacology Society***, v.23, p.377-9, 1980.

DIENZER, M.L.; THOMSON, P.A.; BURGETT, D.M.; ISAACSON, D.L. Pyrrolizidine alkaloids: their occurrence in honey fron tansy ragwort (*Senecio jacobea* L.). ***Science***, v.195, p.497-9, 1977.

DRAKE, 1941, apud PANTER, K.E.; JAMES, L.F., 1990. p.892.

DUNCAN, D. Multiple range and multiple F tests. ***Biometrics***, v.2, p.1-24, 1955.

EASTMANN, D.F.; DIMENNA, G.P.; SEGALL, H.J. Covalent biding of two pyrrolizidine alkaoids, senecionine and seneciphyline, to hepatic macromolecules and their distribution, excretion, and transfer into milk of lactanting mice. ***Drug Metababolism and Disposition: The Biological Fate of Chemicals***, v.10, n.3, p.236-40, 1982.

EISENSTEIN, J.A.; HUXTABLE, R. Attenuation of the toxicity of a pyrrolizidine alkaloid (monocrotaline) by metabolic inhibition. ***Proceedings of Western Pharmacology Society.*** v.22, p.193-98, 1979.

FIGUEREDO, M.L.A.; RODRIGUEZ, J.; ALFONSO, H.A. Patologia de la intoxication experimental aguda por *Crotalaria retusa* y *Crotalaria spectabilis* em pollos. ***Revista Cubana de Ciencias Veterinarias***, v.18, n.1/2, p.63-71, 1987.

FINCO, D.R. Kidney function. In: KANEKO, J.J. ed. ***Clinical biochemistry of domestics animals***. 4.ed. New York, Academic Press, 1989. p.496-592.

GOEGER, D.E.; CHEEKE, P.R.; BUHLER, D.R. The effect of dietary tansy ragwort (*Senecio jacobea*) on dairy goats and toxicity on their milk. ***Journal of Aninal Science***, v.49, p.370. Supplement 1/ to presented a 71. Animal meeting of the American Society of Animal Science, Tucson, July 28 Aug. 1979/.

GOEGER, D.E.; CHEEKE, P.R.; SCHMITZ, J.A.; BUHLLER, D.R. Effect of feeding milk from goats fed tansy ragwort (*Senecio jacobea*) to rats and calves. ***American Journal of Veterinary Research***, v.43, p.1631-3, 1982.

GOLDENTHAL, E.I.; D'AGUANNO, W.; LYNCH, J. Hormonal modification of the sex difference following monocrotaline administration. ***Toxicology and Applied Pharmacology***, v.6, p.434-41, 1964.

HILL, K.R.; MARTIN, H.M. Hepatic veno-oclusive disease and megalocytosis in Senecio poisoning of horses. ***British Veterinary Journal,*** v.114, p.345-50, 1958.

HIRONO, P.T. Natural carcinogenic produccts of plant origin. ***Critical Review Toxicology*** v.8, p.235-77, 1981.

HOEHNE, F.C. ***Plantas e substâncias vegetais tóxicas e medicinais***. São Paulo, Departamento de Botânica do Estado de São Paulo, 1939.

HOOPER, P.T. ; SACANLAN, W.A. Crotalaria retusa poisoning of pigs and poultry. ***Australian Veterinary Journal***, v.53, p.109-14, 1977.

HOOPER, P.T. Pyrrolizidine alkaloids poisoning with particular reference to differences in animal and plant species. In: KEELE, R.F.; VANKAMPEN, K.R.; JAMES, L.F., ed. ***Effects of poisonous plants on livestock***. New York, Academic Press, 1978. p.161-7.

HUXTABLE, R.J. Herbal teas and toxins: novel aspects of pyrrolizidine alkaloid (MINIREVIEW). ***General Pharmacology***, v.10, n.3, p.159-67.

JAGO, M.V. A method for the assessment of the chronic hepatotoxicity of pyrrolizidine alkaloids. ***Australian Jounal Experimental Biological Medical and Science***. v.48, p.93-103, 1970.

JOHNSON, A.E. Changes in calves and rats consuming milk from cows fed chronic lethal doses of *Senecio jacobea* (tansy ragwort). ***American Journal of Veterinary Research***, v.37, p.107-10, 1976.

JOLY, A.B. ***Botânica***: introdução à taxonomia vegetal. 4 ed. São Paulo, Editora Nacional, 1977. p.381-2 (Biblioteca Universitária. Série 3. Ciências Puras, 4)

JUBB, K.V.F.; KENENEDY, P.C. 1970. ***Pathology of domestic animals***. 2.ed. New York, Academic Press. 1870. p.216-9.

KAY, J.M.; HEATH, D. Observation on pulmonary arteries and heart weight of rats feed on *Crotalaria spectabilis* seeds, ***Journal Pathology and Bacteriology***, v.92, p.385-94, 1966.

KEELER, R.F. Reducing incidine of plant-caused congenital deformities in livestock by grazing management. ***Journal of Range Manangement***, v.5, p.355-60, 1978.

KLÀSEK, A. Investigation of pyrrolizidine alkaloids at the Institute of Chemistry of the Medical Faculty, Palacky University in Olomoac. ***Acta Universitaties Palackianae Olomucensis*** , v.65, p.33-50, 1973.

KRAMER, J.W. Clinical enzymology. In: KANEKO, J. ed. ***Clinical Biochemistry of Domestic Animal***. 4.ed. San Diego, Academic Press, 1989. p.338-63.

LAFRANCONI, W.M.; HUXTABLE, R.J. Hepatic metabolism and pulmonary toxicity of monocrotaline using isolated perfused liver and lung. ***Biochemical Pharmacology***, v.33, n.15, p.2.479-84, 1984.

LALICH, J.J.; JOHNSON, W.D.; RACZNIAK, T.J.; SHUMAKER, R.C. Fibrin thrombosis in monocrotaline pyrrole-induced cor pulmonale in rats. ***Archives of Pathology Laboratory Medical***. v.101, p.69-73, 1977.

LEVIN, 1976, apud RAMOS, 1986, p.2.

MATTOCKS, A.R. Toxicity of pyrrolizidine alkaloids. ***Nature***, London, v.217, p.723-8, 1968.

MATTOCKS, A.R. Toxicity and metabolism of *Senecio* alkaloids. In: Harbone, J.B. ed. ***Biochemical Ecology***. London, Academic Press 1972. p.179-200

MATTOCKS, A.R.; WHITE, I.N.H. Toxic effects and pyrrolic metabolites in the liver of young rats given the pyrrolizidine alkaloid retrorsine. ***Chemico-Biological Interactions***, v.6, p.297-306, 1973.

MATTOCKS, A.R. Toxic pyrrolizidine alkaloids in Confrey. ***The Lancet***, v.2, n.8204, p.1136, 1980

MATTOCKS, R.R. ***Chemistry and toxicology of pyrrolizidine alkaloids***. London, Academic Press, 1986. p.393.

McLEAN, E.K. The toxic actions of pyrrolizidine (*Senecio*) alkaloids. ***Pharmacological Reviews***, v.22, p.429-83, 1870

McLEAN, E.K. *Senecio* and other plants as liver poisons. ***Israel Journal of Medical Science***, v.10, p.436-40, 1974.

MIRANDA, C.L.; REED, R.L.; CHEEKE, P.T.; BUHLER, D.R. Protective effects of butylated hydroxyamisole against the acute toxicity of monocrotaline in mice. ***Toxicology and Apllied Pharmacology***, v.59, n.15, p.424-30, 1981.

MOLYNEUX, R.J.; JAMES, L.F. Loco intoxication: indolizidine alkaloid of spotted locoweed (*Astragallus lentiginosus*), ***Science***, v.216, p.190- 1982.

NIELSEN, D.B.; JAMES, L.F. Economic impact impact of poisonous plants in livestock production. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON POISONOUS PLANTS, 3., Utah, 1989. ***Abstracts***, p.1.

OJEDA, S.R.; URBANSKI, H.F. Puberty in the rat. In: KNOBIL, E.; NEILLS, J.D. In: ***The Physiology of Reproduction.*** ed. New York Raven Press, 1988. v.2, c. 39, p.1699-737.

PANTER, K.E.; JAMES, L.F. Natural plant toxicants in milk: a review. ***Journal of Animal Science***, v.68, p. 892-904, 1990.

PEDERSEN, 1975 apud MATTOCKS, 1986.

PIMENTEL, F.G. ***Curso de Estatística Experimental***, 9.ed. Piracicaba, Nobel, 1981.

RAMOS, A.L.L.de P. ***Ação mutagênica de alcalóides do*** *Senecio brasiliensis* ***Less. var. tripartitus***. Tese (Mestrado) Porto Alegre, 1977, 192.

REINDEL, J.F.; GANEY, P.E.; WAGNER, J.G.; SLOCOMBRE, R.F.; ROTH, R.A. Development of morphologic hemodinamic, and biochemical changes in lungs of rats given monocrotaline pyrrol. ***Toxicology and Applied Pharmacology***, v.106, p.179-200, 1990.

REITMAN, S.; FRANKEL, S. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. ***American Jounal Clinical Pathology***, v.28, p.56-63, 1957.

RIET-CORREA, F.; MÉNDEZ, M.C.; SCHILD, A.L. Plantas tóxicas do Rio Grande do Sul. In: CONGRESSO DE VETERINÁRIA, Santa Maria, 1985.

SHOENTHAL, R. Liver lesions in young rats suckled by mothers treated with the pyrrolizidine (*Senecio*) alkaloids, lasiocarpine and retronecine. ***Journal Pathology and Bacteriology***, v.77, P.485- 95, 1959.

SHULL, L.R.; BUCKMASTER, G.H.; CHEEKE, P.R. Factors influencing pyrrolizidine (*Senecio*) alkaloid metabolism: species, liver sulphydrils and rumem fermentation. ***Journal of Animal Science***, v.43, p.1247-53, 1976.

SIPES, I.G.; GANDOLFI, A.J. Biotransformation of toxicants. In: KLASSEN, C.D.; AMDUR, M.O.; DOULL, J. ***Casarett and Doull's Toxicology***: the basic science of poisons. New York, Macnuit, 1986. p.64-98.

SMITH, H.A.; JONES, T.L.; HUNT, R.D. ***Veterinary pathology***. 4.ed. Philadelphia, Lea & Febiger, 1972. p.910-4.

SNEDECOR, G.W. ***Statistical methods***, 4.ed. Ames, College Press, 1946.

STEYN, 1933 apud BICUDO, 1987. p.2.

STEYN, 1984 apud BICUDO, 1987. p.

SWICK, R.A.; CHEEKE, P.R.; RAMSDELL, H.S.; BUHLER, D.R. Effect of dietary *Senecio jacobea* and injected *Senecio* alkaloids and monocrotaline on guinea pigs. ***Journal of Animal Science***. v.55, p.1411, 1983a.

SWICK, R.A.; MIRANDA, C.L.; CHEEKE, P.R.; BUHLER, D.R. Effect of phenobarbitol on toxicity of pyrrolizidine (*Senecio*) alkaloid in sheep. ***Journal of Animal Sience***, v.56, p.889, 1983b.

SWICK, R.A. Hepatic metabolism and bioactivation of micotoxins and plants toxins. ***Journal of Animal Science***, v.58, p.1016-27, 1984.

TOKARNIA, C.H.; DOBEREINER, J. Plantas tóxicas para herbívoros no Brasil. ***Agroquímica***, v.19, p.20-6, 1982.

TODAS AS PLANTAS QUE MATAM. ***A Granja***, v.44, n.481, p.18-41, 1988.

VENEDECOURT, B.; TRUMP, E.C. ***Common poisonous plants of East Africa***. London, Collins, 1969. p.80-6.

VICKERY, B.H.; BENNETT, J.P. Rats and mice. In: HAFEZ, E.S.E., ed. ***Reproduction and breeding techniques for laboratory animals***. Philadelphia, Lea & Febiger, 1970. p.229-315.

VÖLKER, R. ***Eugen fröhners Lehrbuch der Toxicologie für Tierärzte***. 6.aulf. Stutgart, Ferdinand Enke, 1950. p.260.

WEBB, L.V. ***Guide to the medical and poisonous plants of Queensland***. Melborne, Council: of Scientific and Industrial Research, 1948. p.81-3. (Bulletin,232).

WHITE, R.D.; CHEEKE, P.R. Meadowfoam (*Lamnanthers alba*) meal as a feedstuff for dairy goats and toxicologic activity of the milk. ***Canadian Journal of Science***. v.63, p.391, 1983.

WILLIANS, M.C.; MOLYNEUX, R.J. Occurrence, concentration and toxicity of pyrrolizidine alkaloids in *Crotalaria* seeds. ***Weed Science***, v.35, p.476-81, 1987.

Release of the toxic principle of ***Crotalaria spectabilis*** (Roth) in goat's and rat's milk: a toxicological evaluation.

ABSTRACT

Crotalaria spectabilis, Leguminosae, popularly known as "guizo de cascavel", "xique-xique", "cascaveleira", is a poisonous plant that widely grows in almost all Brazilian territory and is extensively used as soil builder. Its toxicity is due to a pyrrolizidine alkaloid (PA), monocrotaline (MCT). Previous studies showed that MCT is activated to a toxic pyrrol metabolite (MCTP), which can produce lesions in lungs, liver and kidneys. It is known that PAs could be eliminated via milk by lactating animals. Thus, the purpose of the present work was to study the possible toxic effects of young rats suckled by mothers fed on diet containing *C.spectabilis* seeds (at 0.7%, 0.4%, 0.2% and 0.1%) or MCT (0.012% or 0.006%). Results showed that ***C.spectabilis*** at concentrations of 0.7% , 0.4% and 0.2% as the both concentrations of MCT produced toxic effects in both mothers and young rats. On the other hand, toxic effects were not observed in lactating rats treated with 0.1% of ***C.spectabilis*** seeds; however their offspring did show the toxic effects produced by MCT. It was also found that males and females of lactating rats fed with 0.2% of ***C.spectabilis*** seeds on the mother's diet, did not differ in susceptibility to MCT toxic effects. The following experiment was performed to study the effects, in weaned rats, of the administration of a diet containing milk from goats treated with 10g/day of ***C.spectabilis*** seeds. The results showed deep alterations in these animals; thus, decrease in weight gain and changes in serum enzymes could be observed, as well as lesions in the liver, lungs and kidneys, revealed by histopathological analyses. The data presented here allow us to infer that the toxicity of MCT via milk should be considerated, regarding the health of the neonate or food safety for humans consume.