

## INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL POR *Leucaena leucocephala* (Leg. Mimosoideae) EM COELHOS<sup>1</sup>

PEDRO MALAFAIA<sup>2</sup>, ANIBAL GUILLERMO ARMIÉN<sup>3</sup> e PAULO VARGAS PEIXOTO<sup>4</sup>

**ABSTRACT.**- Malafaia P., Armien A.G. & Peixoto P.V. 1994. [Experimental poisoning of rabbits by *Leucaena leucocephala* (Leg. Mimosoideae).] Intoxicação experimental por *Leucaena leucocephala* (Leg. Mimosoideae) em coelhos. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 14(4):105-109. Instituto de Zootecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23851-970, Brazil.

The exclusive feeding of the fresh sprouts of *Leucaena leucocephala* to four rabbits, caused progressive loss of appetite, loss of weight, severe debility and death in all animals, in six to eight weeks after the beginning of the experiment; areas of alopecia were observed in three of them. At post-mortem examination, besides the cachexia and the areas of alopecia, enlargement of the thyroid was found in one animal. Histopathologic examination of the skin revealed atrophy and hyperkeratinization of the epidermis affecting also the hair follicles. In the kidney cortex distended uriniferous tubules, with their epithelial cells flattened and small foci of vacuolized epithelial cells or partially in lysis were observed. The liver parenchyme contained lipofuscine. Other four rabbits which, besides *L. leucocephala* ad libitum, received 40g/animal/day of a commercial ration, showed an irregular decrease in the ingestion of the plant, but maintained their initial weight during the whole experiment. In only one of these rabbits a slight alopecia was observed, but in all of them there was excessive loss of hair. None of these rabbits died, and no significant macro and microscopic changes were found after euthanasia. The control animals showed progressive weight gains.

**INDEX TERMS:** *Leucaena leucocephala*, Leguminosae Mimosoideae, rabbit, experimental plant poisoning.

**SINOPSE.**- A administração exclusiva da brotação fresca de *Leucaena leucocephala* a quatro coelhos, provocou progressiva diminuição do apetite, perda de peso, debilidade orgânica acentuada e morte entre 6 e 8 semanas desde o início do experimento em todos os animais; áreas de alopecia foram observadas em três deles. Os achados de necropsia foram, além das áreas de alopecia, caquexia e, em um, aumento da tireóide. Os exames histopatológicos revelaram lesões da pele sob forma de atrofia com hiperqueratinização da epiderme dos folículos pilosos; ainda foram observados no cortex renal dilatação dos túbulos uriníferos com achatamento das células epiteliais por excesso de líquido filtrado pobre em proteína e pequenos focos em que as células epiteliais estavam vacuolizadas e até em lise, e no fígado a presença de lipofuscina. Quatro coelhos que receberam além de *L. leucocephala* à vontade, 40 g/cabeça/dia de ração comercial, mostraram igualmente uma redução no consumo da planta, porém um tanto quanto irregular, entretanto os animais manteve-

ram seu peso inicial por todo período experimental; só em um desses coelhos houve leve alopecia, porém em todos os coelhos observou-se perda exagerada de pêlos e que estes soltavam com maior facilidade quando levemente tracionados. Nenhum desses coelhos morreu, e após sacrificados, não se constataram alterações macro e microscópicas dignas de nota. Os coelhos controles aumentaram progressivamente seu peso.

**TERMOS DE INDEXAÇÃO:** *Leucaena leucocephala*, Leguminosae Mimosoideae, coelho, intoxicação experimental por planta.

### INTRODUÇÃO

*Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. (sin. *Leucaena glauca* (L.) Benth.), arbusto da família Leguminosae Mimosoideae, é planta de alto valor nutritivo e boa digestibilidade, porém o seu valor como forrageira tem sido limitado pela presença de mimosina, um amino-ácido não protéico, tóxico para ruminantes e monogástricos, cujo efeito depilatório é o que mais chama atenção (Hegarty et al. 1964, Jones 1985).

A intoxicação por leucena em ruminantes tem sido objeto de muitos estudos, devido ao aspecto interessante da ação de bactérias ruminais que metabolizam a mimosina transformando-a em 3,4 dihidroxipiridona (3,4 DHP), um

<sup>1</sup>Aceito para publicação em 28 de julho de 1994.

<sup>2</sup>Depto Nutrição Animal e Pastagens, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Km 47, Seropédica, RJ 23851-970.

<sup>3</sup>Médico Veterinário, bolsista da FAPERJ, Projeto Saúde Animal Embrapa/UFRRJ, Km 47, Seropédica, RJ 23851-970.

<sup>4</sup>Depto Epidemiologia e Saúde Pública, Setor de Anatomia Patológica, UFRRJ; bolsista do CNPq (302342/86-9).

bocígeno potente (Jones 1985); por outro lado, há poucos estudos sobre a intoxicação por essa planta em monogástricos.

Em relação ao coelho os dados sobre o efeito tóxico de *L. leucocephala* são escassos; há os trabalhos experimentais, bastante resumidos, de Szyszka et al. (1984) sobre a tolerância do coelho à mimosina extraída de sementes de leucena, e os relativos à sintomatologia da intoxicação pela leucena, de Ekpenyong (1985) e Malini et al. (1989). Não encontramos dados sobre aspectos patológicos da intoxicação pela leucena em coelhos.

O presente estudo foi realizado para contribuir no esclarecimento sobre a toxidez da leucena para coelhos.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram usados dez coelhos, machos e fêmeas, mestiços das raças California e Nova Zelândia. Após a desmama, esses coelhos receberam como alimento exclusivo ração comercial. Quando atingiram o peso de aproximadamente 3 kg, oito deles passaram a receber, durante uma semana, *Leucaena leucocephala* fresca (ramos com diâmetro inferior a 5 mm), cortada pela manhã, em seguida picada com faca e fornecida em quantidade suficiente para que houvesse sobras; na manhã seguinte, as sobras eram pesadas para se obter o consumo, levando-se em conta o percentual de água perdida de um dia para outro. Além da leucena cada coelho recebeu 100 g de ração comercial por dia.

Na semana seguinte os oito coelhos receberam o mesmo tratamento descrito acima, porém com redução para 40 g da ração comercial por animal/dia.

Na terceira semana, quatro desses coelhos (Coelhos 1166 a 1169) passaram a receber exclusivamente leucena, enquanto os outros quatro (Coelhos 1170 a 1173) permaneceram no mesmo

tratamento da semana anterior, isto é leucena à vontade e 40 g de ração comercial por animal/dia.

Os dois animais restantes (Coelhos 1174 e 1175), foram usados como controle, recebendo exclusivamente ração comercial.

Todos os animais foram alojados em gaiolas individuais e tinham acesso livre aos alimentos e a água. Os animais eram pesados duas vezes por semana.

Diariamente os coelhos foram observados para verificar o aparecimento de sinais de doença, especialmente em relação a modificações do comportamento, ao aparecimento de alopecia e a alterações das fezes e da urina.

A duração do experimento foi de 78 dias, iniciando-se no dia 1.10.91 e terminando no dia 17.12.91, sendo conduzido no Setor de Cunicultura do Instituto de Zootecnia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

### RESULTADOS

Os principais dados dos experimentos constam nos Quadros 1 a 3 e nas Figuras 1 e 2.

#### *Grupo dos coelhos que recebeu exclusivamente leucena*

Pela análise do Quadro 1 e da Figura 1, verifica-se que os quatro coelhos que receberam leucena como alimento exclusivo, perderam peso continuamente, já a partir da primeira semana em que não receberam mais ração comercial (a partir de 15.10.91).

Pela análise do Quadro 2 e da Figura 2 verifica-se que houve a partir da primeira até a quarta semana do experimento, um aumento no consumo da planta fresca, paralelamente à redução da administração da ração comercial. Posteriormente à quarta semana experimental (segunda semana de ingestão de leucena exclusivamente) houve

Quadro 1. *Varição do peso vivo dos coelhos segundo os tratamentos, nos experimentos com Leucaena leucocephala*

Data	Grupo 100% Leuc. (N=4)				Grupo 40 g Ração/dia (N=4)				Grupo controle (N=2)			
	X (g)	DP (g)	CV (%)	Obs.	X (g)	DP (g)	CV (%)	Obs.	X (g)	DP (g)	CV (%)	Obs.
01/10	3160	259,74	8,22	a	3165	164,62	5,20	a	2860	127,29	4,45	+
08/10	3190	230,51	7,23	b	3152,5	148,63	4,71	b	2960	141,42	4,78	+
15/10	3255	246,77	7,58	c	3195	133,04	4,16	b	3135	162,63	5,18	+
22/10	3085	191,39	6,20	c	3175	134,06	4,22	b	3220	169,71	5,27	+
29/10	2930	168,52	5,75	c	3175	170,00	5,35	b	3230	183,85	5,69	+
05/11	2827,5	197,21	6,97	c	3210	184,93	5,76	b	3290	197,99	6,02	+
12/11	2670	187,79	7,03	c	3190	139,28	4,37	b	3340	197,98	5,93	+
19/11	2520	117,76	4,67	c	3152	166,0	5,27	b	3380	141,42	4,18	+
26/11	2185	355,29	16,26	c,d	3127,5	141,04	4,51	b	3410	155,56	4,56	+
03/12	2245	35,36	1,57	c	3157,5	124,73	3,95	b	3300	141,42	4,28	+
10/12	2080	197,99	9,52	c,e	3165	196,72	6,21	b	3315	162,63	4,91	+
17/12	-	-	-	-	3062,5	147,96	4,83	b,f	3400	141,40	4,16	+ f

<sup>a</sup> Fase de redução do fornecimento diário de ração comercial para 100 g/cab./dia, além do início da administração de leucena fresca à vontade.

<sup>b</sup> Fase de redução do fornecimento diário de ração comercial para 40 g/cab./dia, além da administração de leucena fresca à vontade.

<sup>c</sup> Fase de administração de leucena exclusivamente.

<sup>+</sup> Consumo de ração comercial à vontade.

<sup>d</sup> Morte dos animais 1166 (26/11) e 1167 (28/11).

<sup>e</sup> Morte dos animais 1168 (11/12) e 1169 (12/12).

<sup>f</sup> Final do experimento.

Quadro 2. *Consumo de Leucaena leucocephala (g/dia)*

Período	Grupo 100 % Leucaena (N=4)				Grupo 40 g ração/dia (N=4)			
	X	DP	CV(%)	Obs.	X	DP	CV(%)	Obs.
01 - 07/10	139,3	27,12	19,47	a	139,7	28,33	20,28	a
08 - 14/10	210,8	23,79	11,28	b	200,3	31,89	15,92	b
15 - 21/10	197,5	54,4	27,56	c	167,3	34,12	20,39	b
22 - 28/10	236,8	15,46	6,53	c	229,6	13,99	6,09	b
29 - 04/11	191,7	42,05	21,93	c	181,8	30,95	17,02	b
05 - 11/11	109,9	42,26	38,45	c	135,3	35,70	26,39	b
12 - 18/11	102,2	33,59	32,86	c	95,6	29,88	31,25	b
19 - 25/11	100,6	22,99	22,86	c	94,3	24,38	25,85	b
26 - 02/12	104,8	21,65	20,66	c,d	103,6	22,93	22,13	b
03 - 09/12	98,9	13,04	13,18	c	89,7	20,78	23,16	b
10 - 17/12	-	-	-	c,e	109,4	19,21	17,56	b,f

Significado das chamadas vide Quadro 1.

uma contínua diminuição da ingestão de leucena fresca, até a morte dos animais.

Os sinais clínicos que mais chamaram a atenção foram relativos aos pêlos. A partir do 16º ao 18º dia após o início do experimento, observou-se nos quatro coelhos perda exagerada de pêlos e ao exame verificou-se que eles soltavam com maior facilidade quando levemente tracionados. No coelho 1166 apareceram, a partir do 22º dia do experimento, áreas de alopecia, inicialmente na região inguinal e em seguida na cauda, no abdômen, no peito, na região lombar, nos flancos e na parte anterior dos membros anteriores, que progressivamente foram aumentando (Fig. 3 e 4). No coelho 1167 não foram observadas áreas de alopecia. No coelho 1168 apareceu a partir do 22º dia do experimento uma área de alopecia no chanfro (parte dorsal do nariz), que foi aumentando progressivamente. No coelho 1169 foi observada, a partir do 21º dia do experimento, uma área de alopecia na nuca, e a partir do 25º dia outra no chanfro, que foram aumentando progressivamente. Além dessas alterações dos pêlos foi observada em todos os coelhos nos últimos dias de vida, debilidade orgânica

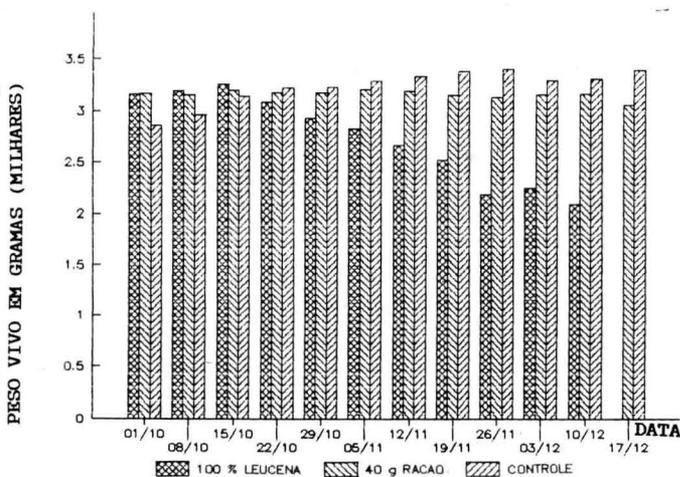


Fig. 1. *Varição do peso vivo dos coelhos durante a administração de Leucaena leucocephala.*

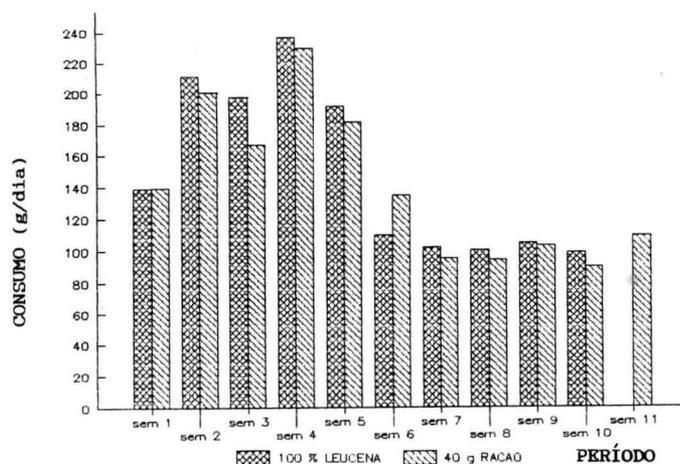


Fig. 2. *Consumo de L. leucocephala pelos coelhos experimentais.*

acentuada. Salivação abundante e movimentos desordenados foram observados nos coelhos 1168 e 1169.

À necropsia não foram encontradas outras alterações, além das dos pêlos descritas acima e caquexia, e ainda no coelho 1169 um aumento da tireóide, que pesava 1,3 g, cada lobo medindo 2,5 x 0,6 cm; nos outros coelhos a tireóide pesava um terço disto ou menos.

Os exames histopatológicos revelaram lesões na pele sob forma de atrofia da epiderme com hiperqueratinização, e também atrofia com hiperqueratinização de numerosos folículos pilosos (folículos pilosos com plugues), outros em fase telógena (Fig. 5). A tireóide do coelho 1169 apresentou as células foliculares mais volumosas com citoplasma espumoso; havia discreto edema no interstício.

Nos rins de todos os coelhos que ingeriram leucena

Quadro 3. *Consumo de ração comercial pelos coelhos controle, durante os 78 dias do experimento*

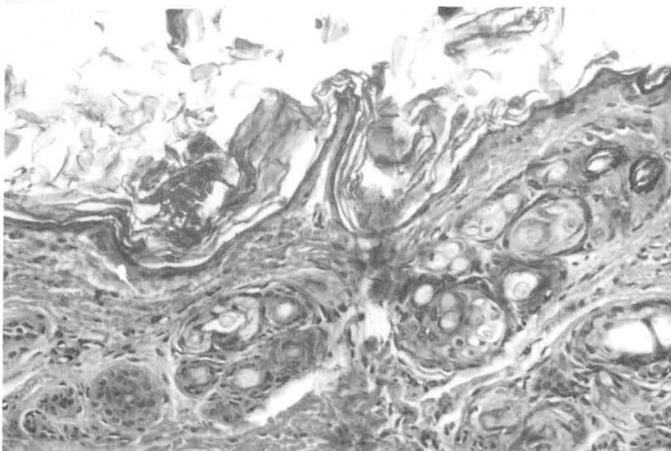
Coelho	X (g/dia)	DP (g/dia)	CV (%)
208	143,59	16,86	11,74
205	149,68	17,29	11,55



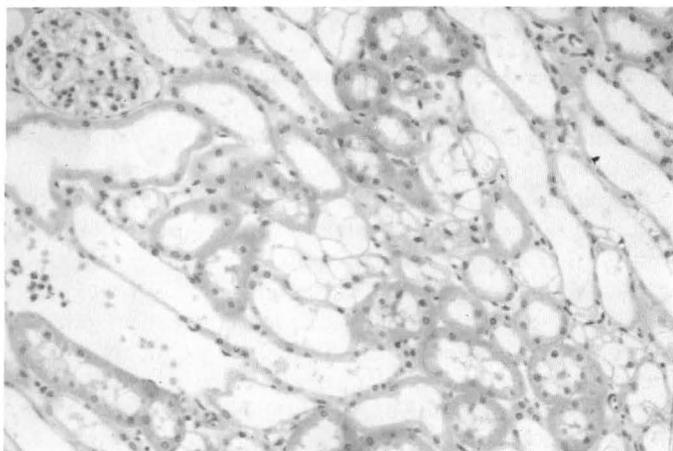
3



4



5



6

Fig. 3. Alopecia na região do períneo. Intoxicação experimental por *L. leucocephala* (Coelho 1166).

Fig. 5. Atrofia da epiderme com hiperqueratose (Coelho 1166, SAP 25542). HE, obj. 25.

Fig. 4. Alopecia da cauda. Intoxicação experimental por *L. leucocephala* (Coelho 1166). Fig. 5. Atrofia da epiderme com hiperqueratose (Coelho 1166, SAP 25542). HE, obj. 25.

Fig. 6. Dilatação dos túbulos uriníferos com achatamento das células epiteliais; em alguns túbulos vacuolização com evolução para lise. Intoxicação experimental por *L. leucocephala* (Coelho 1166, SAP 25544). HE, obj. 10.

exclusivamente, foi observada dilatação dos túbulos uriníferos no cortex com achatamento das células epiteliais (Fig. 6), por excesso de líquido filtrado pobre em proteína; ainda se verificou no cortex renal a presença de pequenos focos em que as células epiteliais estavam vacuolizadas e até em lise. Nos glómerulos se constatou dilatação dos capilares. No fígado dos quatro coelhos, especialmente dos coelhos 1168 e 1169, havia presença de um precipitado amarelado-acinzentado nos hepatócitos, que foi identificado como lipofuscina e no coelho 1167 vacuolização difusa dos hepatócitos, mais acentuada no centro dos lóbulos.

#### Grupo dos coelhos que recebeu além de leucena 40 g/dia de ração comercial

Pela análise do Quadro 1 e da Figura 1, verifica-se que os quatro coelhos que receberam 40 g de ração comercial por dia mais leucena fresca à vontade, mantiveram praticamente o seu pêso inicial por todo período experimental.

Pela análise do Quadro 2 e da Figura 2 nota-se que semelhantemente ao grupo de coelhos que comeram leucena exclusivamente, ocorreu um aumento da ingestão da planta até a quarta semana experimental. Posteriormente houve uma redução, porém um tanto quanto irregular, no consumo da leucena.

Os únicos sinais significativos observados nestes coelhos foram relativos aos pêlos. Entre o 15º e 20º dias do experimento observou-se perda exagerada de pêlos e ao exame verificou-se que eles soltavam com maior facilidade quando levemente tracionados, em comparação aos animais controle. No coelho 1172 apareceu no mesmo período uma área de alopecia com formação de crostas na região da nuca que foi se estendendo em direção ao dorso.

Nenhum desses coelhos morreu. Eles foram sacrificados um mês após o término de ingestão da leucena, em 16.1.1992. À necropsia não foram encontradas outras alterações além das referidas aos pêlos e à pele. Os exames histológicos dos órgãos não revelaram lesões significativas.

### Grupo dos coelhos controle

Pela leitura dos Quadro 1 e 3 e da Figura 1, verifica-se que os coelhos aumentaram progressivamente de peso e que o consumo médio diário de ração concentrada durante o experimento foi em torno de 145 g por cabeça.

### DISCUSSÃO

A alimentação dos coelhos exclusivamente à base de leucena produziu sintomas semelhantes aos relatados por Ekpenyong (1985) e Malini et al. (1989). Ela levou os animais à morte em um período de 6 a 8 semanas; o advento desta pode ser atribuído, pelo menos em parte, à drástica redução no consumo de alimentos. O efeito depressivo sobre a ingestão da dieta pode estar ligado à uma redução dos níveis séricos dos hormônios tireoidianos, promovida pela ação tireostática de algum catabólito da mimosina, já que a leucena é relatada na literatura como planta bastante palatável.

A degradação da mimosina através de enzimas endógenas presentes no próprio tecido vegetal ou via ação microbiana (bactérias ruminais) produz 3,4 DHP (Lowry et al. 1983, Allison et al. 1990). Este composto possui uma marcada ação bocígena, já que interfere no processo intracelular de oxidação do iodo na glândula tireóide, sendo um tireostático do tipo tiouracil (Jones 1985).

Até o presente, não foi descrita a degradação da mimosina à 3,4 DHP por bactérias no ceco dos herbívoros monogástricos; portanto, uma possível explicação para a redução do consumo de alimentos (Fig. 2) e do aumento da tireóide do coelho 1169, seria a autólise da mimosina à 3,4 DHP durante a mastigação, através de enzimas endógenas das folhas de *L. leucocephala*. Este catabólito por sua vez, deprime a ingestão de alimentos, por reduzir os níveis séricos dos hormônios tireoidianos (Jones & Hegarty 1984). Esta hipótese é reforçada pelo fato de ratos alimentados com mimosina não desenvolverem bócio e não apresentarem nenhuma alteração histológica na tireóide, enquanto ratos alimentados com 3,4 DHP desenvolveram bócio e exibiram tireóides hiperplásicas com grandes vesículas deficientes em colóides (Hegarty et al. 1976). Os colóides da tireóide contêm tireoglobulina a qual por proteólise, dá origem aos hormônios tireoidianos. A ação da 3,4 DHP, é então explicada pelo efeito tireostático que exerce sobre a glândula tireóide, levando-a a uma menor biossíntese de colóides ricos em tireoglobulinas; isto causa uma sensível redução dos níveis de tiroxina, e obviamente da ingestão de alimentos.

O emagrecimento progressivo, também pode ser explicado pela inibição causada pela mimosina, sobre as enzimas que atuam na síntese protéica, e que requerem piridoxal fosfato como coenzima (Hylin 1969).

A patogênese do efeito depilatório de *L. leucocephala* ainda não está bem esclarecida. Crouse et al. (1962) concluíram que somente na fase de crescimento ativo do pêlo (anagênica), a ingestão de mimosina exerceria efeito depilatório. Hylin (1969) explica que a propriedade

depilatória da mimosina, durante a fase anagênica, é devido a interferência na biossíntese de cisteína a partir da metionina.

A inibição do sistema formador da cisteína, reduz a síntese da proteína do pêlo, já que esta contém significativa quantidade de cisteína. O decréscimo na biossíntese de cisteína, retarda ou até mesmo interrompe o crescimento do pêlo, com subsequente perda dos pêlos pré-formados, podendo afetar também seu posterior crescimento (Hylin 1969).

A perda dos pêlos também poderia ser causada pela redução nos níveis plasmáticos de tiroxina. A esse respeito Jones et al. (1978) comentam que a ausência de mimosina nas amostras de sangue nos animais experimentais (bovinos) que receberam leucena, evidencia que a perda de pêlos constatada não pode ter sido causada por esse agente antimitótico conhecido. Além disto, comentam, que a perda de pêlos que se verifica sob condições naturais, que ocorre frequentemente muitos meses após o primeiro acesso de bovinos a leucena, pode ser explicado melhor pelo efeito depressivo da tiroxina no soro ou um efeito acumulativo do DHP *per se* do que por uma falha dos microorganismos do rúmen em degradar a mimosina.

*Agradecimentos.* - À Profª Gláucia Kommers, Departamento de Patologia, Universidade Federal de Santa Maria, pelas sugestões no estudo histológico e ao Professor Carlos Hubinger Tokarnia, UFRRJ, pela orientação.

### REFERÊNCIAS

- Allison M.J., Hammond A.C. & Jones R.J. 1990. Detection of ruminal bacteria that degrade toxic dihydroxypyridine compounds produced from mimosine. *Appl. Environm. Microbiol.* 56:590-594.
- Crouse R.G., Maxwell J.D. & Blank H. 1962. Inhibition of growth of hair by mimosine. *Nature* 194:694-695.
- Ekpenyong T.E. 1985. Toxic effects of feeding leucaena leaves to growing rabbits. *Nutrition Reports International* Vol. 31(2):345-350.
- Hegarty M.P., Court R.D. & Throne P.M. 1964. The determination of mimosine and 3,4-dihydroxypyridine in biological material. *Aust. J. Agric. Res.* 15:168-179.
- Hegarty M.P., Court R.D., Christie G.S. & Lee C.P. 1976. Mimosine in *Leucaena leucocephala* is metabolized to a goitrogen in ruminants. *Aust. Vet. J.* 52:490.
- Hylin J.W. 1969. Toxic peptides and amino acids in foods and feeds. *J. Agr. Food Chem.* 17(3):492-496.
- Jones R.J. 1985. *Leucaena* toxicity and the ruminal degradation of mimosine, p. 111-119. In: Seawright A.A., Hegarty M.P., James L.F. & Keeler R.F. (ed.) *Plant Toxicology*. Brisbane, Australia.
- Jones R.J., Blunt C.G. & Nurnberg B.I. 1978. Toxicity of *Leucaena leucocephala*. The effect of iodine and mineral supplements on penned steers fed a sole diet of *Leucaena*. *Aust. Vet. J.* 54:387-392.
- Jones R.J. & Hegarty M.P. 1984. The effect of different proportions of *Leucaena leucocephala* in the diet of cattle on growth, feed intake, thyroid function and urinary excretion of 3-hydroxy-4(1H)-pyridone. *Aust. J. Agric. Res.* 35:317-325.
- Lowry J.B., Tangendjaja M. & Tangendjaja B. 1983. Autolysis of mimosine to 3-hydroxy-4(1H) pyridone in green tissues of *Leucaena leucocephala*. *J. Sci. Food Agric.* 34:529-533.
- Malini B.P., Glori Doss R.G., Munne Gowda M.K. & Govindaiah M.G. 1989. Preliminary studies on the effects of feeding *Leucaena leucocephala* to rabbits. *Leuc. Res. Rep.* 10:31-32.
- Szyska M., ter Meulen U., Cheva-Isarakul B., Posri S., & Potikanond N. 1984. Results of research on leucaena as an animal feed in West Germany. *Leuc. Res. Rep.* 5:5-11.