

ALTERAÇÕES ANÁTOMO E HISTOPATOLÓGICAS DA INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL DE CAPRINOS (*Capra hircus*, L.) POR *Cestrum laevigatum* Schlecht *

MÁRIO MARTINS MENEZES

Prof. Adjunto do Dep. de Medicina Veterinária da UFRPE.

Estudou-se experimentalmente em caprinos as alterações macroscópicas e microscópicas que ocorrem da toxicidade das folhas maduras e dos brotos recém-colhidos de *Cestrum laevigatum* Schlecht, e da consociação destes, quando administrados por via oral. O estudo foi realizado em 20 caprinos jovens, machos, mestiços, com idade de nove a 17 meses, e o peso variando de 10 a 32 quilogramas. Os animais foram divididos em dois grupos, A e B. Aos animais do A foram administrados de 10 a 85 g/kg da planta dentro de 24 a 72 horas, com o objetivo de causar intoxicação aguda. Aos animais do grupo B administraram-se doses pequenas, oscilando de 3 a 9 g/kg por dia até adoecerem, isto é, durante o período de 19 a 49 dias, com o objetivo de causar intoxicação crônica. Reproduziu-se experimentalmente a intoxicação em 18 caprinos morrendo 16 deles. No grupo A, a intoxicação teve evolução de 8h a 24h 30min. No grupo B a evolução foi de 16h 40min. a 57h 40min. O quadro anátomo-patológico da intoxicação nos caprinos do grupo A consistiram em ressecamento do conteúdo do omaso e do intestino grosso, neste coberto de muco e sangue, e em modificações do aspecto da superfície de corte do fígado, que estava amarelo acinzentado com a sua lobulação perceptível, em dois casos com aspecto nítido, e em um terceiro, leve, de noz-moscada. Nos achados de necropsia do grupo B, observou-se que o conteúdo do omaso e do intestino grosso era pastoso e o fígado se apresentava na superfície de corte, cinza-amarelado e era um pouco mais resistente ao corte do que o normal, em dois casos com aspecto leve a moderado de noz-moscada. Nos caprinos de ambos os grupos havia ainda hemorragias em diversos órgãos. Os achados histopatológicos mais importantes foram relativos ao fígado. Em todos os oito caprinos do grupo A havia necrose centrolobular e mediodzonal do parênquima hepático. Nos do grupo B observou-se leve a moderada proliferação dos dutos biliares em três dos oito animais, e em dois, leve a moderada congestão centrolobular hepática. Tanto nos caprinos do grupo A como nos grupo B observou-se ainda congestão dos rins, pulmões, cérebro, cerebelo, baço e ainda enterite e hiperplasia dos linfonodos.

INTRODUÇÃO

O desenvolvimento da pesquisa no campo das plantas tóxicas no Brasil é importante devido as freqüentes ocorrências de doenças e mortalidade, de etiologia obscura em ruminantes, e mais particularmente em caprinos, suspeitas de

* Parte da Dissertação apresentada pelo autor ao Curso de Mestrado em Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco.

serem causadas por plantas tóxicas, principalmente no período seco do ano. No Nordeste, existem aproximadamente sete milhões de caprinos (IBGE, 1980). Comparativamente com o dos bovinos, o estudo da patologia dos caprinos no Brasil, principalmente no Nordeste, e mais particularmente em Pernambuco, não tem recebido a devida atenção, inclusive no que se refere às doenças causadas por plantas tóxicas. Entretanto, um rebanho caprino considerável, atualmente em expansão está exposto, nas diversas regiões do estado, como o Sertão, o Agreste e a Mata, aos efeitos nefastos da ingestão de plantas tóxicas, em função do desconhecimento que persiste a respeito delas. Entre as plantas suspeitas de toxicidade para os caprinos figura *Cestrum laevigatum*.

Cestrum laevigatum é uma das plantas tóxicas mais importantes no Brasil. Sua ocorrência, no país, foi relatada por ALVIN-CARNEIRO (1945) e HOEHNE (1939). É uma planta bastante difundida nas regiões Sudeste e Centro-Oeste do Brasil, ocorrendo também na região Nordeste, especialmente nos estados da Bahia e de Sergipe, estendendo-se até o estado de Pernambuco. Sua toxicidade já está comprovada para bovinos (DÖBEREINER, TOKARNIA, CANELLA, 1969; THORBURN, 1934 e NUNES 1972), entretanto, não se pode dizer o mesmo com relação a animais de menor porte, uma vez que são poucos os experimentos realizados com eles (THORBURN, 1934; BARROS, DÖBEREINER, 1968; PACHECO, CARNEIRO, 1933 e STEYN, 1934).

A ampliação do conhecimento da patologia dos caprinos especialmente no que se refere aos efeitos tóxicos de plantas é de grande interesse por ser este animal de suma importância para o Nordeste, onde as condições climáticas favorecem o bom desenvolvimento da caprinocultura, que assim assume grande valor para a economia regional; com papel fundamental nas pequenas comunidades do interior, principalmente nas regiões mais áridas, o caprino é um grande fornecedor de carne e leite para a família de renda mais baixa, assim como de peles para a indústria de calçados, a qual dá preferência aos couros de caprinos por serem mais resistentes e menos permeáveis do que os de bovinos.

O objetivo do presente trabalho foi o de estudar experimentalmente, em caprinos, as alterações anátomo e histopatológicas resultantes da ingestão de *Cestrum laevigatum*.

MATERIAL E MÉTODO

PLANTA

O material vegetal de *Cestrum laevigatum* Schlecht. para experimentação foi colhido em uma única região, localizada no município de Escada, Pernambuco.

Trata-se de arbusto de até 3 metros de altura, ramoso, de caule glabro e quebradiço, com folhas pecioladas, alternas, oblongo-lanceoladas, acuminadas, inteiras, flores esverdeadas, odorantes, cálices pulverulento-tormentosos, com fascículos aglomerados, frutos em bagas ovóides, pequenas, com sementes reniformes e amareladas.

ANIMAIS

Foram utilizados 20 caprinos jovens, desmamados, com idade oscilando de nove a dezessete meses, mestiços, machos, com peso variando de 10 a 32 kg. Estes animais eram submetidos a exames clínicos antes do início dos trabalhos e se apresentaram clinicamente normais.

Todos os animais eram vermifugados, identificados e pesados antes do início da administração da planta, foram colocados em baias individuais com piquete nativo de grama Pernambuco ou gengibre (*Paspalum maritimum* Trin.), sendo a alimentação constituída de capim-colonião (*Panicum maximum* Jacq.) picado e fornecido diariamente em cochos, com água à vontade.

EXPERIMENTOS

A planta, após pesada, foi administrada por via oral durante diversos períodos e, em quantidades variáveis, utilizando-se, indistintamente, a brotação e as folhas maduras, recentemente colhidas. Havia casos de ingestão espontânea da planta pelo animal, mas geralmente era preciso colocar o material vegetal na boca dos animais, obrigando-os assim a mastigá-los e engolir-lo.

Aos animais do grupo A foram administradas doses grandes da planta (10 a 85 g/kg) num período de 24 a 72 horas, com o intuito de se provocar uma intoxicação aguda. Esses animais foram distribuídos em subgrupos, A₁, A₂ e A₃. Os caprinos dos subgrupos A₁ e A₂ receberam, por via oral, brotos de *Cestrum laevigatum*. O do subgrupo A₃ recebeu brotos e folhas maduras da planta.

Aos animais do grupo B foram ministradas pequenas doses diárias (3 a 9 g/kg), repetidas até adoecerem (19 a 49 dias), com o intuito de se provocar uma intoxicação crônica.

Eles também foram distribuídos em subgrupos, B₁, B₂ e B₃. Os caprinos do subgrupo B₁ receberam por via oral brotos. Os dos subgrupos B₂ e B₃ receberam brotos e folhas maduras da planta.

Em todos os animais eram feitas observações clínicas diárias e, dependendo principalmente da gravidade da doença, realizadas diversas vezes ao dia. Essas observações consistiram em exames geral do animal, do apetite, do aspecto

físico das fezes e verificação da frequência e da intensidade dos movimentos do rúmen. Em caso de morte procedia-se à necrópsia o mais breve possível, de acordo com as técnicas preconizadas por VAN KRUIJNINGEN (1954) e por WINTER (1969). No ato da necrópsia eram colhidos, para exames histopatológicos, fragmentos de diversos órgãos e tecidos, principalmente de fígado, vesícula biliar, rins, coração, pulmões, baço, linfonodos, intestino e sistema nervoso central, (LUNA, 1968a e SANTOS, MELLO, 1974). O material colhido era fixado em formol neutro a 10%, e recortado, desidratado, diafanizado, incluído em parafina e laminado em micrótomo com espessura de 5 μm (LUNA, 1968ab), sendo corado pela hematoxilina-eosina para posterior estudo histopatológico (LUNA, 1968d e THORLONI, 1975).

RESULTADOS

ANIMAIS DO GRUPO A

Achados Necroscópicos

As lesões mais constantemente observadas, presentes em todos os casos, eram edema da parede da vesícula biliar, ressecamento do conteúdo do omaso e do intestino grosso, neste último geralmente coberto de muco e na maioria das vezes sanguinolento, e superfície de corte do fígado amarelado-acinzentado com a acentuação de sua lobulação, em dois casos com aspecto nítido, em um com aspecto leve de noz-moscada (figura 1). Foram observadas petéquias no tecido peritraqueal, em um caso, nos pulmões, com localização subpleural, em cinco casos, no pericárdio e endocárdio, em quase todos os casos, na mucosa, da vesícula biliar, em seis casos, e na parede intestinal, em cinco casos. Outras alterações macroscópicas observadas foram: congestão do cérebro e cerebelo, em todos os casos, hemorragias no tecido subcutâneo e intramusculares, em dois casos, nos rins, com localização subcapsular, em dois casos, no baço sob a cápsula, em um caso, na mucosa do abomaso, em dois casos, aumento de volume dos linfonodos, deixando fluir ao corte líquido de coloração róseo-clara, principalmente dos mesentéricos, em três casos, e hilo-hepático em dois casos, coloração esbranquiçada do miocárdio, com aspecto de coração cozido, em dois casos, presença de parasito intestinal do gênero *Moniezia* sp., em um caso, formações nodulares calcificação na subserosa do intestino delgado, decorrentes da insinuação de larvas do gênero *Oesophagostomum* em dois casos.

Achados Microscópicos

A alteração mais constante, observada em todos os casos, foi necrose centrolobular e mediozonal do parênquima hepático (figuras 2 e 3), em dois casos acompanhada de vacuolização de células hepáticas mais na periferia do lóbulo em dois casos. Em três casos havia congestão centrolobular, em dois destes acentuada, em um leve. Outras alterações freqüentes eram congestão em diversos órgãos, principalmente nos rins nos pulmões, cérebro, cerebelo e baço, enterite e hiperplasia dos linfonodos mesentéricos e gastroepáticos.

ANIMAIS DO GRUPO B

Achados Necroscópicos

Os achados de necropsia consistiram principalmente em alterações do fígado, que se apresentava na superfície e ao corte, com coloração cinza-amarelada (figura 4) e que era um pouco mais resistente ao corte que o normal, em quase todos os casos. A superfície de secção, em dois casos mostrava aspecto leve a moderado de noz-moscada. Além disto, havia edema da parede da vesícula biliar em dois casos, ressecamento do conteúdo do intestino grosso com presença de muco e sangue em um caso, petéquias no pericárdio, epicárdio e endocárdio em quatro casos, na mucosa da vesícula biliar em dois casos, consociação de folhas de *Cestrum laevigatum* parcialmente digeridas com conteúdo pastoso no omaso e intestino grosso em sete casos.

Achados Microscópicos

Foi observada leve a moderada proliferação de dutos biliares em três dos oito animais e em dois, leve a moderada congestão centrolobular hepática. Outras alterações freqüentes eram congestão em diversos órgãos, principalmente nos rins, pulmões, cérebro, cerebelo e baço, enterite e hiperplasia dos linfonodos mesentéricos e gastroepáticos.



Figura 1 – Intoxicação experimental por *Cestrum laevigatum*. Fígado com aspecto leve de noz-moscada

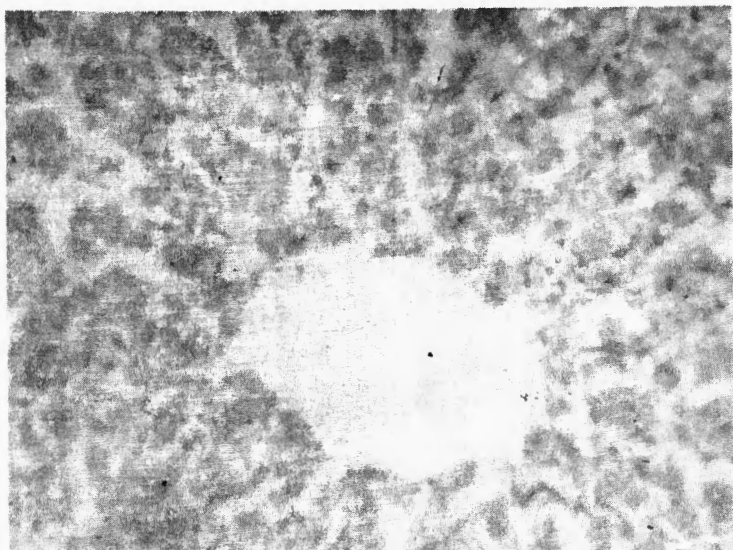


Figura 2 – Intoxicação experimental por *Cestrum laevigatum*. Fígado. Necrose centrolobular acentuada (H.E., aprox. 400 x)

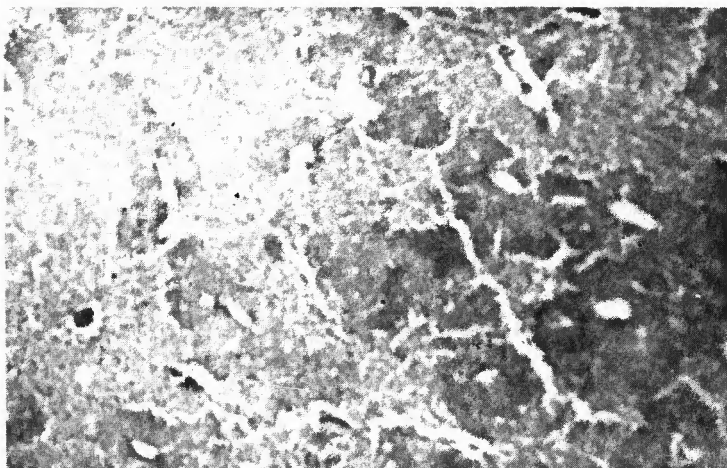


Figura 3 – Intoxicação experimental por *Cestrum laevigatum*. Fígado. Necrose centrolobular e me-
diozonal acentuada (H.E., aprox. 25x)



Figura 4 – Intoxicação experimental por *Cestrum laevigatum*. Fígado de coloração cinza-amarelada

DISCUSSÃO

Os brotos e consociação deles com folhas maduras, em estado fresco (recentemente colhidos) de *Cestrum laevigatum*, neste estudo, revelaram-se tóxicos para caprinos.

A dose necessária para causar a morte desses animais variou bastante. Nos caprinos do grupo A, aos quais se administraram grandes quantidades da planta (10 a 85/gkg), durante um período de 24 a 72 horas, a menor dose que causou morte foi de 30 g por quilograma de peso do animal.

A maior dose da planta que não provocou o aparecimento de sintomas de intoxicação foi de 50 g por quilograma de peso do animal, administrados em 24 horas. A maior dose da planta que não causou a morte do animal, porém provocou o aparecimento de sintomas, foi a de 80 g por quilograma de peso do animal, ingerida em 24 horas.

Nos caprinos do grupo B, aos quais foram administradas pequenas doses (3 a 9 g/kg /dia) repetidas durante 19 a 49 dias, a menor dose diária da planta que causou a morte foi de 3 g por quilograma de peso do animal, administrada durante 36 dias. Na necropsia dos animais do grupo A, a lesão mais constantemente observada, presente em todos os casos, foi o aspecto amarelo-acizentado com acentuação da lobulação do órgão, em dois casos com aspecto nítido e em um terceiro, leve, de noz-moscada, visto na superfície de corte do fígado. Outras alterações verificadas, em todos os casos, consistiram em edema da parede da vesícula biliar, ressecamento do conteúdo do omaso e do conteúdo do intestino grosso, neste último geralmente coberto de muco, algumas vezes sanguinolento. Os achados de necropsia nos casos do grupo B consistiram em leve aumento da resistência ao corte do fígado, que se apresentava na superfície e ao corte com coloração cinza-amarelada, em dois casos com aspectos leve a moderado de noz-moscada. O conteúdo do omaso e intestino grosso era pastoso.

Em relação aos exames histopatológicos dos animais do grupo A, um achado constante foi necrose centrolobular e mediozonal do parênquima hepático ao lado de congestão variando de leve a severa em diversos órgãos. Outros achados foram processo inflamatório agudo a nível do intestino delgado e hiperplasia das células reticulares dos linfonodos mesentéricos e gastroepáticos, também observados em todos os casos. As alterações histopatológicas dos animais do grupo B foram leve a moderada proliferação de dutos biliares em três dos oito animais e leve a moderada congestão centrolobular hepática em dois animais; havia ainda a acentuada congestão de diversos órgãos, enterite, hiperplasia dos linfonodos mesentéricos e gastroepáticos.

Os achados de necropsia e histopatológicos observados nos caprinos do grupo A com os do grupo B, verifica-se que nos animais do grupo A a intoxi-

cação teve evolução aguda, predominando na necropsia, alterações hepáticas, que microscopicamente se verificou ser necrose centrolobular acentuada, ao passo que nos animais do grupo B ela apresentou evolução um pouco mais lenta, predominando na necropsia, também alterações hepáticas, que microscopicamente se verificou ser leve a moderada proliferação de dutos biliares. Desta maneira, enquanto que no grupo A os caprinos sofreram uma intoxicação aguda caracterizada principalmente por necrose centrolobular, os animais do grupo B tiveram uma intoxicação tendente à cronicidade.

Comparando a intoxicação por *Cestrum laevigatum* em bovinos (THORBURN, 1934; DÖBEREINER, TOKARNIA, CANELLA, 1969; TOKARNIA, 1965 e NUNES, 1972) com a em caprinos, poder-se-ia sugerir que o caprino é mais resistente que o bovino à ação de *Cestrum laevigatum* Schlecht. Para o bovino, a dose tóxica, de acordo com DÖBEREINER, TOKARNIA, CANELLA (1969), é de 10,5 a 50 g por quilograma de peso animal, administrada de uma só vez ou em dois dias, e de acordo com NUNES (1972), é de 12,5 a 50 g por quilograma de peso do animal, administrada de uma só vez ou em dois dias. Para os caprinos, neste estudo, foram doses de 30 a 85 g por quilograma de peso do animal, administradas num prazo de 24 a 72 horas, que causaram intoxicação semelhante. O tempo decorrido entre o início do experimento e o aparecimento dos primeiros sintomas de intoxicação foi mais longa no caprino, variando de 23 a 82 horas. No bovino os primeiros sintomas apareceram de 14 a 24 horas após a ingestão da planta (DÖBEREINER, TOKARNIA, CANELLA, 1969) e de 5 a 52 horas (NUNES, 1972).

Os achados de necropsia coincidem, em linhas gerais com os descritos em bovinos por THORBURN (1934), DÖBEREINER, TOKARNIA, CANELLA (1969), TOKARNIA (1965) e NUNES (1972).

Nos experimentos de intoxicação em bovinos com esta planta, DÖBEREINER, TOKARNIA, CANELLA (1969) e TOKARNIA (1965) descrevem um quadro agudo e outro crônico, este último caracterizado por cirrose hepática. Neste estudo, cirrose hepática foi observada somente em grau incipiente em caprinos do grupo B, provavelmente devido à morte prematura dos animais, por enterite.

Embora não haja alteração patognomônica na intoxicação por *Cestrum laevigatum* em caprinos, como tem sido verificado também no bovino, o conjunto dos sintomas clínicos e das alterações anátomo e histopatológicas, aliado à anamnese, permite o diagnóstico dessa intoxicação sob condições naturais.

CONCLUSÕES

Da análise dos resultados deste trabalho, é lícito concluir que :

- a) os brotos de *Cestrum laevigatum* Schlecht, e a consociação deles com folhas maduras podem causar a morte de caprinos nas doses a partir de 30 g por quilograma de peso do animal, quando administrados dentro de 24 a 72 horas;
- b) doses pequenas (3 a 9 g/kg de peso do animal por dia), repetidas durante 19 a 49 dias e que determinaram a morte dos animais, provocaram quadro com tendência a cronicidade, tanto em relação à evolução como em relação ao quadro clínico-patológico;
- c) se bem que não sejam específicos da intoxicação aguda por *Cestrum laevigatum* Schlecht., os seguintes achados anátomo e histopatológicos podem, ao lado dos dados clínicos, da anamnese, e da presença da planta: hemorragia em diversos órgãos, aspecto de nozmoscada na superfície de corte do fígado, ressecamento do conteúdo do omaso e sangue, e necrose hepática centrolobular e mediozonal;
- d) as alterações hepáticas, mais especificamente centrolobulares e mediozonal, por sua predominância indicam que há ação hepática, também para caprinos, desta planta;
- e) diante dos resultados obtidos, acreditamos que o caprino poderá servir como animal de experimentação para verificação dos princípios tóxicos entre as substâncias isoladas desta planta, já que o coelho, segundo informa a literatura, é pouco sensível.

ABSTRACT

Experimental toxicity studies were carried out in goats using freshly-collected leaves and shoots, or their combination, of *Cestrum laevigatum* Schlecht, which were administered orally. Twenty goats of mixed breed, males, between nine and 17 months of age and between 10 and 32 kg. Were divided into two groups, A and B. Those of group A were given 10 to 85 g/kg of the plant within 24 to 72 hours, in order to obtain an acute intoxication. Those of group B were given small doses varying between 3 and 9 g/kg daily, until they became ill – a period of 19 to 49 days with the intention of causing a chronic intoxication. The intoxication was reproduced in 18 goats, of which 16 died. In group A, the intoxication developed in 8 to 24 hs. In group B the development of symptoms was between 16 hs 40 mins and 57 hs 40 mins. The post-mortem findings of group A consisted of the dehydration of the omasal contents and of the large intestine, which was covered with mucus and blood, and modifications of the cut surface of the liver, which was yellow-grey with noticeable lobulation. In two cases there was an obvious, and in one case a slight, nutmeg appearance. In group B, the contents of the omasum and large intestine were pasty and the liver showed a grey-yellow aspect at the cut surface, being more resistant to slicing than normal. Two cases had a slight to moderate nutmeg appearance. In the animals of both groups there were hemorrhages in various organs. The most important histopathological findings were related to the liver. In all eight goats of group A there was a centrolobular and mediozonal

necrosis of the hepatic parenchyma. In group B a moderate proliferation of the bile duct was seen in three of the eight animals and in two a moderate to light hepatic centrilobular congestion was observed. In animals of both groups congestion of the kidney, lungs, brain, cerebellum, and spleen was observed, as well as enteritis and hyperplasia of the lymphnodes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - ALVIM-CARNEIRO, P. T. Plantas venenosas e sua ocorrência em Minas Gerais. *Revista Ceres*, Viçosa, MG, v. 6, n. 34, p. 221-256, 1945.
- 2 - ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO BRASIL. Rio de Janeiro : IBGE, v. 41, 1980. p. 378.
- 3 - BARROS, G. C., DÖBEREINER, J. Experimentos com *Cestrum laevigatum* Schlecht., em animais de laboratório. *Pesquisa Agropecuária Brasileira. Série Veterinária*, Rio de Janeiro, v. 3, n. 1, p. 307-311, 1968.
- 4 - DÖBEREINER, J., TOKARNIA, C. H., CANELLA, C. F. C. Intoxicação por *Cestrum laevigatum* Schlecht., a causa de mortalidade em bovinos no estado do Rio de Janeiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira. Série Veterinária*, Rio de Janeiro, v. 4, n. 2, p. 165-193, 1969.
- 5 - HOEHNE, F. C. *Plantas e substâncias vegetais tóxicas e medicinais*. São Paulo : Graphicars, 1939.
- 6 - LUNA, L. G. *Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institut*. 3. ed. New York : McGraw-Hill Book, 1968a. cap. 3, p.1-11 : Preparation of tissue.
- 7 - —. —. 3. ed. New York : McGraw-Hill Book, 1968b. cap. 2, p. 12-20 : Processing of tissue.
- 8 - —. —. 3. ed. New York : McGraw-Hill Book, 1968c. cap. 3, p. 21-31 : Preparation of sections.
- 9 - —. —. 3. ed. New York : McGraw-Hill Book, 1968d. cap. 4, p. 32-46 : Routine staining procedures.
- 10 - NUNES, L. P. *Intoxicação experimental em bovinos por Cestrum laevigatum Schlecht. I. Sinais clínicos. II. Alterações no sangue, líquido cefalorraquiano e urina. III. Alterações anatomo e histopatológicas*. Belo Horizonte, 1972. 40 p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) — Universidade Federal de Minas Gerais.
- 11 - PACHECO, G., CARNEIRO, V. Estudos experimentais sobre plantas tóxicas. III. Ensaio com 32 novas espécies. *Revista da Sociedade Paulista de Medicina Veterinária*, São Paulo, v. 3, n. 3/4, p. 49-58, 1983.
- 12 - SANTOS, J. A., MELLO, M. R. *Diagnóstico médico veterinário; colheita de material*. São Paulo : Nobel, 1974. cap. 3, p. 28-46 : A abertura do cadáver.
- 13 - STEYN, D. G. *The toxicology of plants in south Africa*. Johannesburg : Central New Agency, 1934.

- 14 - THORBURN, J. A. Chase valley disease, *Cestrum laevigatum* Schlecht., its toxic effects on ruminants. *Onderstepoort Journal of Veterinary Science and Animal Industry*, Pretoria, v. 2, n. 2, p. 667-679, 1934.
- 15 - TOKARNIA, C. M. A. *Alterações anátomo e histopatológicas da intoxicação de bovinos por Cestrum laevigatum Schlecht.* Porto Alegre, 1965. 57 p. Docente Livre - Faculdade de Agronomia e Veterinária da Universidade do Rio Grande do Sul.
- 16 - THORLONI, H. *Práticas de histotecnologia.* 2. ed. Brasília : Divisão Nacional do Câncer do Ministério da Saúde, 1975. 110 p.
- 17 - VAN KRUNINGE R. H. J. *Veterinary autopsy procedure.* Philadelphia : Lippincott, 1954. p. 163-182.
- 18 - WINTER, H. *Guía para la necropsia de los ruminantes domesticos.* Zaragoza : Acrbia, 1969. 118 p.

Recêbido para publicação em 31 de março de 1989.