

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA**

**CAMPUS DE CURITIBANOS**

**CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS**

**CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA**

**TAINARA RENATA TINELI**

**ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA E MORFOMÉTRICA DE  
GLICOGÊNIO EM BOVINOS COM INTOXICAÇÃO HEPÁTICAS  
AGUDAS E CRÔNICAS**

Curitibanos

2019.2

**TAINARA RENATA TINELI**

**ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA E MORFOMÉTRICA DE  
GLICOGÊNIO EM BOVINOS COM INTOXICAÇÃO HEPÁTICAS  
AGUDAS E CRÔNICAS**

Monografia apresentada como requisito parcial para a conclusão do curso de graduação em Medicina Veterinária, da Universidade Federal de Santa Catarina – Campus de Curitibanos, Centro de Ciências Rurais, sob a orientação do Prof. Dr. Adriano Tony Ramos.

Curitibanos – SC

2019.2

Ficha de identificação da obra elaborado pelo autor através do Programa de Geração Automática da  
Biblioteca Universitária da UFSC.

Tineli, Tainara Renata

ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA E MORFOMÉTRICA DE GLICOGÊNIO EM  
BOVINOS COM INTOXICAÇÃO HEPÁTICAS AGUDAS E CRÔNICAS /

Tainara Renata Tineli ; orientador, Adriano Tony Ramos,

2019.

47 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -

Universidade Federal de Santa Catarina, Campus

Curitibanos, Graduação em Medicina Veterinária,

Curitibanos, 2019.

Inclui referências.

1. Medicina Veterinária. 2. patologia animal. 3.

plantas tóxicas. 4. Senecio. 5. Fígado. I. Ramos, Adriano

Tony. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Medicina

Veterinária. III. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS  
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA E MORFOMÉTRICA DE GLICOGÊNIO  
EM BOVINOS COM INTOXICAÇÃO HEPÁTICAS AGUDAS E CRÔNICAS

Área Patologia Veterinária Animal

Tainara Renata Tineli

Esta Monografia foi apresentado ao Curso de Graduação em Medicina Veterinária, do Centro de Ciências Rurais, da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito para a obtenção do título de Médico Veterinário e julgado \_\_\_\_\_ (aprovado/reprovado) em defesa pública realizada em \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_.

Banca Examinadora

---

Prof. Adriano Tony Ramos – orientador  
CCR/UFSC

---

Prof. Aldo Gava  
Centro Ciências Agroveterinárias/ UDESC

---

Prof. Guilherme Carvalho Serena  
Centro Ciências Rurais/ UFSC

Curitibanos, 2019

Dedico este trabalho à minha família que  
guiaram meus passos desde o início até aqui.

Especialmente ao meu irmão Tainan Tomazi Tineli, esta conquista também é sua.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus, que caminha lado a lado com todos os desafios que encontrei no caminho, por todos os cantos que percorri no Brasil, sempre guiando meus passos e meus pensamentos.

Agradeço aos meus pais, Irene Tomazi Tineli e Roberto Antônio Tineli, e aos meus irmãos Taise, Tiago e Tainan, minha prima querida, Maylise e irmã de coração Lare por terem sido os pilares mais importantes durante esta trajetória, que me ajudaram a suportar todos os momentos.

Agradeço aos mestres que passaram de forma excepcional seu conhecimento para que eu me tornasse a profissional de hoje. Agradeço principalmente ao professor Adriano Tony Ramos e professora Francielli Cordeiro Zimmermann, que me orientaram, e me forneceram diversas oportunidades, pelos conhecimentos, pelos conselhos, confiança, e por me orientar durante a graduação, não medindo esforços em ensinar e compartilhar suas experiências. Vocês são exemplos de profissionais e de pessoas!

A Universidade Federal de Santa Catarina - Campus Curitibanos, por me oferecer ensino de qualidade e condições necessárias para meu desenvolvimento acadêmico. Em especial, a todos os docentes, funcionários e técnicos do Curso de Medicina Veterinária pelo carinho, atenção e ensinamentos. Serei eternamente grata.

Agradeço aos meus amigos, pela parceria e alegria de todos os momentos durante a faculdade e principalmente nesta fase final, compartilhando bons e difíceis momentos. Obrigada por fazerem parte da minha vida. Amo vocês.

Aos docentes, técnicos administrativos e discentes do Laboratório de Patologia Animal Veterinária - UFSC Campus Curitibanos - LABOPAVE e do Laboratório de Patologia Animal - CAV/UDESC e Setor de Patologia Animal - UFRGS, pelo companheirismo e por suas valiosas contribuições em minha formação. Em especial, aos colegas e companheiros de estágio curricular que encontrei nestes períodos Igor, Lia e Nayara, e aos pós-graduandos que não mediram esforços em compartilhar seus

conhecimentos. Aos meus colegas de graduação e de laboratório, que durante estes anos, contribuíram para meu crescimento pessoal e acadêmico.

Enfim, a todos aqueles que de alguma forma contribuíram para a formação e concretização deste sonho.

*“Procure a perfeição mesmo sabendo que nunca a irá alcançá-la.”*

*(Lucas Pasin)*

## RESUMO

A patologia veterinária animal é uma área de grande importância para a pesquisa científica, considerando que, o exame necroscópico permite uma maior abrangência na coleta de materiais para exames complementares. O Estado de Santa Catarina apresenta mortalidade anual de bovinos em aproximadamente 5%. Dados mostram que as mortes por plantas tóxicas, representam 13,9% do total de mortes, com uma variação anual de 8,5% a 24,3%. A mortalidade média de bovinos, por ano, devido a intoxicações por plantas é estimada em aproximadamente 35 mil cabeças. O presente trabalho tem como objetivo estudar por métodos estereológicos a morfologia hepática em bovinos acometidos por intoxicações hepáticas, na tentativa de evidenciar seus efeitos sobre a metabolização do glicogênio, quando sob diferentes efeitos tóxicos.

**Palavras-chave:** plantas, tóxicas, patologia, necrose hepática, aguda, crônica

## **ABSTRACT**

Animal veterinary pathology is a very important area for scientific research, considering that, the necroscopic exam allows wide range in the collection of materials for complementary exams. The state of Santa Catarina has anual cattle herdo mortality of approximately 5%. Data show that deaths by toxic plants account for 13.9% of total deaths, with an annual variation of 8.5% to 24.3%. The average mortality of cattle in year by plant poisoning is estimated at 34.573 number of head. Goal of study to evaluate liver through morphology stereological methods in cattle affected by liver poisoning in an attempt to show its effects on glycogen metabolism under different toxic effects.

**Keywords:** plants, toxic, pathology, hepatic necrosis, acute, chronic

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** *Cestrum corymbosum*, inflorescência amarela, Lages, Santa Catarina, Brasil. *Cestrum intermedium*, Iomerê, Santa Catarina, Brasil (Autor, 2019)..... 21
- Figura 2:** A: *Xanthium* spp. próximo à área alagadiça com brotação da planta; B: planta adulta com frutos (carrapicho), Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil (Autor, 2019).22
- Figura 4:** Árvore de *Trema micrantha*, aspecto rendilhado dos bordos das folhas. Porto Alegre, Rio Grande do Sul (Autor, 2019). ..... 24
- Figura 5:** Larvas de *Perreya flavipes*, agrupadas em coluna sobre a pastagem (RAYMUNDO, 2008). ..... 26
- Figura 6:** *Senecio brasiliensis*, evidenciando a forma arbustiva, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, e sua respectiva floração (inferior esquerdo) Lages, Santa Catarina(Autor, 2019). ..... 27
- Figura 8:** Análise de área estimada com presença de glicogênio, corado fortemente em roxo através da coloração de PAS e evidenciado po contraste e saturação pelo software ImageJ. .... 30
- Figura 9:** Diagrama mostrando o ponto para a introdução da agulha de biópsia, no cruzamento de duas linhas imaginárias: uma que vai da tuberosidade do íleo à escápula (A-B) e outra perpendicular ao 11º espaço intercostal (BARROS et al., 2007). ..... 32
- Figura 10:** Fragmentos hepáticos (SOMATÓRIO 10), com acentuada fibrose e melagocitose associada à proliferação de ductos biliares, obj. 20x, PAS (A e C). Fígado, fibrose acentuada associada a melagocitose e necrose, evidenciação de raros grânulos de glicogênio no interior de hepatócitos, obj. 40x, PAS (B e D). ..... 38
- Figura 11:** A: Superfície de corte do fígado de bovino observe a leve irregularidade do parênquima e a presença de áreas mais claras intercaladas com áreas avermelhadas. B: (B) Superfície de corte do fígado do bovino da figura A. Esse representou o primeiro padrão de lesão hepática observado nesse surto (Padrão 1). Note que o parênquima hepático está difusamente alaranjado (PANZIERA et al., 2017)..... 40

## LISTA DE QUADROS E GRÁFICOS

<b>Quadro 1:</b> Levantamento dos principais agentes hepatotóxicos nos estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina e suas principais lesões microscópicas.....	30
<b>Quadro 2:</b> Achados epidemiológicos, patológicos e clínicos dos animais suspeitos de intoxicação por Senecio sp. na Região Centro-Oeste do estado de Santa Catarina. ....	32
<b>Quadro 3:</b> Achados microscópicos em fígados bovinos com suspeita de intoxicação por Senecio sp. submetidos à biopsias hepáticas na Região Centro-Oeste do estado de Santa Catarina.....	34
<b>Gráfico 1:</b> Análise referente às 40 biópsias hepáticas, consideradas suspeitas de intoxicação crônica por Senecio, apresenta crescente relação às áreas afetadas em porções hepáticas quando relacionadas ao somatório de alterações. ....	39
<b>Gráfico 2:</b> Análise referente às 18 amostras hepáticas em necropsias, consideradas suspeitas de intoxicação hepatotóxica aguda e crônica. ....	41

## **LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS**

**CL** - Corpo lúteo

**FAVET** - Faculdade de Medicina Veterinária

**LAPA**- Laboratório de Patologia Animal

**SPV** - Setor de Patologia Veterinária

**UAB/MEC** - Universidade Aberta do Brasil, do Ministério da Educação

**UDESC** - Universidade do Estado de Santa Catarina

**UFRGS** - Universidade Federal do Rio Grande do Sul

**UFSC** - Universidade Federal de Santa Catarina

**LAPA**- Laboratório de Patologia Animal

**SPV** - Setor de Patologia Veterinária

**UAB/MEC** - Universidade Aberta do Brasil, do Ministério da Educação

**UDESC** - Universidade do Estado de Santa Catarina

**UFRGS** - Universidade Federal do Rio Grande do Sul

**UFSC** - Universidade Federal de Santa Catarina

# SUMÁRIO

RESUMO	12
ABSTRACT	13
LISTA DE FIGURAS	14
LISTA DE QUADROS E GRÁFICOS	15
LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS	16
1 INTRODUÇÃO	16
2 2. OBJETIVOS	18
2.1. GERAIS	18
2.2. ESPECÍFICOS	18
2.3. DESENVOLVIMENTO DO TRABALHO	18
3 3. MANIFESTAÇÕES PATOLÓGICAS	19
3.1. PLANTAS HEPATOTÓXICAS AGUDAS	19
3.1.1. <i>Cestrum</i> spp.	19
3.1.2. <i>Xanthium</i> spp.	21
3.1.3. <i>Trema micrantha</i>	23
3.1.4. Intoxicação Hepática Aguda por Larva de <i>Perreya</i> spp.	24
3.2. PLANTAS HEPATOTÓXICAS CRÔNICAS	26
<b>3.2.1. <i>Senecio brasiliensis</i></b>	26
3.3. METABOLISMO DO GLICOGÊNIO NO FÍGADO	28
3.4. DIAGNÓSTICO	28
4 ESTUDO DE CASO	29
4.1 MATERIAIS E MÉTODOS	29
4.1.1 Colorações especiais	36
4.1.1.1 <i>Coloração Ácido Periódico-Schiff (PAS)</i>	36
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	37
6 CONCLUSÃO	43
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44

## 1 INTRODUÇÃO

Durante a última década, o Brasil, permaneceu como um grande produtor e exportador de carne e leite bovino. Considerando que a região Sul do país apresenta um rebanho bovino que contribui significativamente, com grande parcela, para a ocupação do espaço agrário, sendo considerada presença efetiva, tanto na economia, quanto na cultura dos estados (LUCENA, et al., 2012).

Aproximadamente de 90% das análises de tecidos realizadas em bovinos no Brasil, são provindas de animais criados em manejos extensivos ou semi-intensivo, característica importante para determinar a ocorrência de algumas enfermidades. As doenças, condições e distúrbios clinicopatológicos de animais de produção têm sido avaliados e diagnosticados cada vez mais ao longo dos anos, importantes em medicina veterinária e particularmente em patologia veterinária (MENDES et al., 2018).

A patologia veterinária animal é uma área de importância relativamente alta para a pesquisa científica, considerando que, o exame necroscópico permite uma maior abrangência na coleta de materiais para exames complementares (viroológicos, bacteriológicos, parasitológicos e toxicológicos). O exame *post-mortem* pode confirmar, esclarecer e/ou modificar o diagnóstico. Portanto, numerosos erros de diagnóstico podem ser evitados ou corrigidos se a necropsia for realizada (PEIXOTO & BARROS, 1998).

McConnel, em 2008, observou no Sul do Brasil, que as principais doenças que acometem bovinos estão diretamente ligadas às pastagens, além disso, cita, Santa Catarina como sendo considerado o estado que apresenta a maior casuística de morte devido às intoxicações por plantas.

No Estado de Santa Catarina, a população bovina é de 4.296.052 de cabeças (IBGE, 2019) e a mortalidade anual é de cerca de 5% (214.802). Dados mostram que as mortes por plantas tóxicas, em uma década, representam 13,9% do total de mortes, com uma variação anual em média de 16% (GAVA, 2010). A mortalidade média de bovinos, por ano, devido a intoxicações por plantas é estimada em 34.368 cabeças.

Denomina-se planta tóxica, todo vegetal, que introduzido no organismo, em condições naturais, capaz de causar danos, que refletem na saúde e vitalidade do animal (MENDES et al., 2018). O diagnóstico nestes casos é realizado através da associação entre os dados epidemiológicos, observados na região em que o animal vive e sinais clínicos, confirmados através de vários testes, como análises histológicas e respostas a tratamentos específicos (TOKARNIA et al., 2012).

Sabe-se, que as enfermidades que acometem os animais de produção têm origens variadas. Diversos fatores podem ser considerados predisponentes, para intoxicação por plantas, dentre eles, o principal é a fome, entretanto, há relatos de que algumas plantas podem levar ao vício, além de ingestão acidental, contaminação do feno fornecido aos animais no cocho ou dieta pobre em fibras, que faz com os animais ingerirem planta, numa tentativa compensatória (TOKARNIA et al., 2012).

O fígado e o sistema biliar estão expostos a infecções e substâncias causadoras de lesões através de três vias principais: hepatógena, biliar e penetração direta. O órgão recebe o fluxo total da veia porta, e, como consequência, é afetado de forma intensa por microrganismos potencialmente lesivos, que habitam ou penetram o sistema digestório, e/ou por substâncias tóxicas tenham sido ingeridas ou produzidas pela microbiota intestinal (CULEN, 2009).

O fígado realiza várias funções importantes, um axioma apresenta alterações ou supressões de mecanismos mais comumente afetados em casos de insuficiência hepática, são: metabolismo de bilirrubina, dos ácidos biliares, das gorduras, dos carboidratos e neutralização de substâncias tóxicas (SANTOS & ALESSI, 2016).

As manifestações morfológicas de necrose hepatocelular, incluem necrose coagulativa e lítica. O último tipo ocorre quando lesões súbitas (tóxicas ou hipóxicas) e intensas afetam os hepatócitos. Na necrose coagulativa, há desnaturação das proteínas citoplasmáticas o que impede que as enzimas lisossomais liquefaçam os componentes citoplasmáticos dos hepatócitos (SANTOS & ALESSI, 2016).

## 2 2. OBJETIVOS

### 2.1. GERAIS

O presente trabalho tem como objetivo estudar por métodos estereótipos da morfologia hepática em bovinos acometidos por intoxicações, na tentativa de evidenciar seus efeitos sobre a metabolização e síntese do glicogênio, quando, sob diferentes efeitos tóxicos.

### 2.2. ESPECÍFICOS

Verificar através das análises histológicas, a diferença da produção de glicogênio intracitoplasmática em hepatócitos de animais acometidos por intoxicações hepáticas agudas e crônicas, levando em consideração os diferentes estágios e diferentes agentes tóxicos.

Analisar de forma comparativa a quantidade de glicogênio produzida pelos hepatócitos saudáveis em relação aos hepatócitos afetados, devido aos princípios tóxicos de cada planta.

Correlacionar as diferenças entre a ação de ocorre de forma abrupta, aguda e de forma crônica. Quantificar a localização e quantidade de glicogênio

Além disso, avaliar se há diferença na quantidade estimada de glicogênio em amostras coletadas através de biópsias, ou seja, onde os animais ainda estão vivos e após a morte, através de necropsias.

### 2.3. DESENVOLVIMENTO DO TRABALHO

O presente trabalho foi desenvolvido entre período de junho a novembro de 2019, inicialmente coletando dados e informações sobre os casos/amostras de necropsias por intoxicações hepáticas recebidas, pelo LABOPAVE (Laboratório de Patologia Veterinária - UFSC), LAPA (Laboratório de Patologia Animal - UDESC) e SPV (Setor de Patologia Veterinária - UFRGS).

### 3 3. MANIFESTAÇÕES PATOLÓGICAS

No Brasil as plantas de interesse pecuário que afetam o fígado, podem ser agrupadas em: plantas que, sob condições naturais causam intoxicação aguda com necrose coagulativa do fígado, dentre elas a *Cestrum spp* e *Sessea sp.*, *Vernonia e Xanthium*, *Dodanaea*, e *Trema*; plantas que, sob condições naturais causam cirrose hepática, como o *Senecio spp.*, *Echium plantagineum*, *Crotalaria sp.* e *Tephosia spp.*. Além de plantas tóxicas, há também micotoxinas produzidas através de fungos, como *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus* e a presença da larva *Perreya*, que podem causar alterações semelhantes (TOKARNIA et al., 2012).

No Sul do Brasil, as principais plantas hepatotóxicas de ação aguda são pertencentes aos gêneros: *Cestrum*, *Xanthium*, *Trema*, e ainda, a larva da vespa *Perreya*. As plantas de ação hepatotóxica crônica, de maior importância na região sul do país pertencem ao gênero *Senecio* conhecida popularmente como flor das almas (*S. brasiliensis*), que possui o principal período de florescência no final de outubro e início de novembro.

Contudo, larvas de diferentes espécies de insetos himenópteros têm sido descritas como tóxicas para animais domésticos. *Perreyia flavipes*, conhecida como bicho-da-chuva, bicho-mata-porco, carestia, tem sido encontrada na Argentina, no Uruguai, e no Brasil (SOARES, et al., 2008). A ingestão da fase larval desses insetos tem sido reportada como causa de necrose hepática aguda em bovinos (JONCK, et al., 2010).

#### 3.1. PLANTAS HEPATOTÓXICAS AGUDAS

##### 3.1.1. *Cestrum spp.*

O *Cestrum spp.*, é um arbusto da família Solanaceae, possui inflorescência amarela (**Figura 1**) e é indicado como causador de mortes em bovinos no estado de Santa Catarina, considerada uma planta tóxica importante (FURLAN et al, 2008). Porém, também já foi descrita intoxicação no estado de Minas Gerais e a presença da mesma em São Paulo. Esta planta ocorre principalmente no Planalto Catarinense e Alto Vale do Itajaí, com habitat em capoeiras (TOKARNIA et al., 2012).

Dentre as espécies animais, apenas os bovinos são mencionados como sensíveis, tanto em condições naturais como experimentais. A intoxicação ocorre decorrente de períodos extensos de escassez de alimento, podendo variar o período dos surtos nas diferentes regiões, devido às ações climáticas (GAVA, 2010).

A ingestão de 35g/kg é considerada letal para bovinos, quando ingerida em uma única vez, contudo, em experimentos realizados pela Universidade Estadual de Santa Catarina em 1991, demonstra que há efeito acumulativo da planta em doses diárias que variam de 2,5g/kg à 5g/kg, levando ao óbito após 23 e 14 ou 19 administrações respectivamente. Contudo, o princípio tóxico ainda é desconhecido (TOKARNIA et al., 2012).

Em análises experimentais, os sinais clínicos aparecem cerca de 7 horas após a ingestão da planta, que se caracterizam por anorexia, congestão da esclera e da conjuntiva, atonia do rúmen, dificuldade de locomoção, salivação, globos oculares retraídos, cabeça baixa ou apoiada em obstáculos, decúbito com a cabeça voltada para o flanco ou estendida sobre o solo, opistótono, movimentos de pedalagem, tremores musculares, fezes pastosas e escuras ou em formas de esferas, com muco e sangue, orelhas caídas, ranger de dentes e gemidos (TOKARNIA et al., 2012).

Nos achados da necropsia pode-se observar fígado levemente amarelado, com pequenas hemorragias subcapsulares arredondadas e com aspecto de noz moscada, evidente na superfície de corte com mais clareza. Edema da parede da vesícula biliar, ressecamento do omaso, cólon e reto, por vezes envoltos por muco e em alguns casos por sangue. Sulfusões na serosa do rúmen, omaso, intestino, assim como, equimoses no sulco coronário e no endocárdio do ventrículo esquerdo (TOKARNIA et al., 2012).

As análises histopatológicas revelaram necrose hepática, frequentemente afetando todo o lóbulo, caracterizada por eosinofilia citoplasmática dos hepatócitos, com núcleos picnóticos e em cariorrexe, por vezes, presença de esteatose dos hepatócitos (FURLAN et al., 2008)

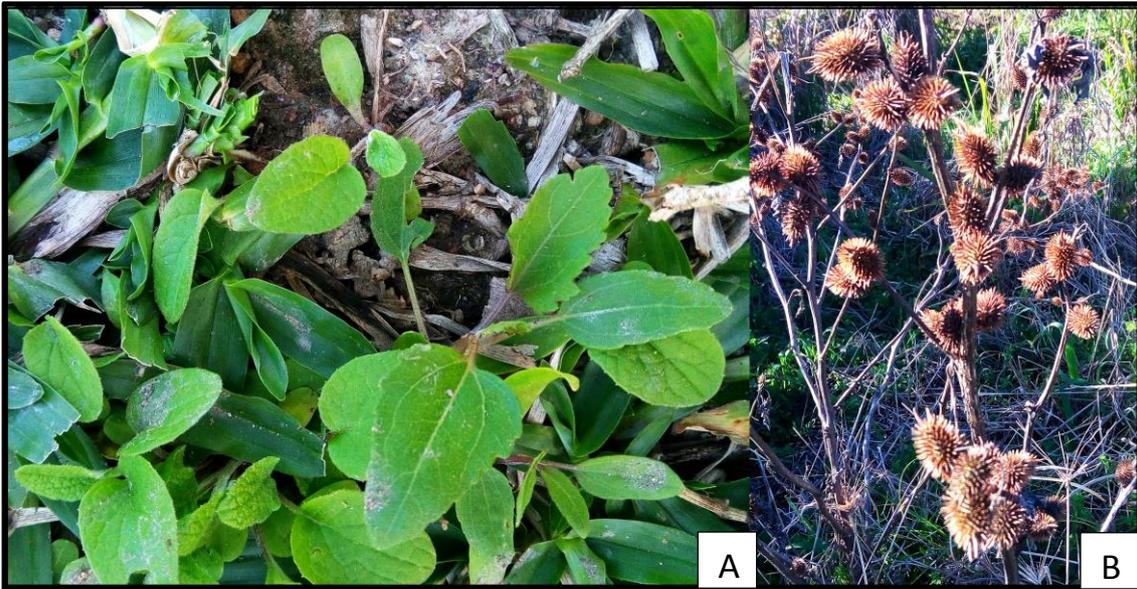
Existem relatos de algumas tentativas de tratamentos à base de purgante oleoso e glicose por via endovenosa. A profilaxia consiste em erradicar o arbusto das pastagens, ou evitar o acesso dos animais às regiões infestadas ou com escassez de pasto (TOKARNIA et al., 2012).



**Figura 1:** *Cestrum corymbosum*, inflorescência amarela, Lages, Santa Catarina, Brasil. *Cestrum intermedium*, Iomerê, Santa Catarina, Brasil (Autor, 2019).

### 3.1.2. *Xanthium* spp.

*Xanthium* gênero que pertence à família Asteraceae, considerada planta herbácea ou subarbustiva, também chamada popularmente de “figo-bravo ou fumo-bravo” pelos agricultores Catarinenses, é uma planta invasora de cultura e terras não cultivadas, porém, ocorre principalmente em áreas que ficam submersas durante parte do ano, próximo a lagos, rios ou áreas inundadas (**Figura 2**). Alguns taxonomistas reconhecem diferenças entre gêneros, encontradas nas estruturas do fruto, conhecido como carrapicho. Entretanto, a toxicidade é similar entre todas as espécies (RIET-CORREA et al., 2007).



**Figura 2:** A: *Xanthium* spp. próximo à área alagadiça com brotação da planta; B: planta adulta com frutos (carrapicho), Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil (Autor, 2019).

Esta intoxicação é relatada em diversas espécies de animais domésticos, com mais frequência em estados norte americanos, no Brasil, ocorre principalmente na região Sul. A forma natural se dá pela ingestão no período de brotação da planta ou pelos frutos, em bovinos, misturados acidentalmente ao alimento fornecido no cocho. Contudo, pode acometer outras espécies, como: suínos, ovinos e equinos (MENDES et al., 2018).

Além do princípio tóxico, segundo Mendes (2018) (apud Cole et al. 1980), é o carboxiatractilósídeo, confirmado através de espectroscopia, que conforme o desenvolvimento da planta diminui; esta, possui alta palatabilidade para os animais. Sendo que, a dose letal para bovinos é de 7,5 a 10 g/kg, na fase cotiledonária, todavia, não possui efeito acumulativo (MENDES et al., 2018).

Em intoxicações que ocorrem de forma natural, os primeiros sinais clínicos foram observados 24 horas após a ingestão da planta, contudo, quando ocorre a ingestão da planta os sinais podem aparecer em cerca de 3 horas. O animal pode apresentar anorexia, hipomotilidade, do rúmen, apatia, incoordenação motora, tremores musculares, agressividade, salivação, decúbito e morte (TOKARNIA et al., 2012).

Os achados de necropsia consistem em fígado com padrão lobular acentuado, edema perirrenal, ascite, hidrotórax, conteúdo de ceco e cólon ressecado, recoberto de muco e sangue

coagulado. As principais lesões histológicas, no fígado são necrose centrolobular e vacuolização dos hepatócitos (RIET-CORREA et al., 2007).

Não há tratamento específico, porém, a administração de substâncias gordurosas, se aplicadas pouco tempo após a ingestão, podem prevenir a intoxicação. Como medida profilática, recomenda-se manter os animais fora de áreas infestadas pela planta jovem, e/ou onde os alimentos são escassos. A planta é facilmente controlada com herbicida (RIET-CORREA et al., 2007).

### 3.1.3. *Trema micrantha*

*Trema micrantha* é uma planta arbórea distribuída amplamente no Brasil (PAVERINI et al., 2013). O gênero *Trema* inclui espécies de árvores de crescimento rápido que são utilizadas como pioneiras em sistemas de reflorestamento depois de queimadas e na recuperação ambiental de áreas degradadas (TRAVERSO et al., 2004), folhas apresentam bordos serrilhados (**Figura 4**) e textura aspera.

Árvore da família *Ulmaceae*, popularmente conhecida como “periquiteira”, é encontrada principalmente em áreas abandonadas, em quase todos os estados do Brasil, todavia o acesso para os animais é restrito, devido à altura. Foi reproduzida experimentalmente em bovinos, em 2004 por Traverso, é caracterizada por possuir alta palatabilidade. Surtos ocorrem após queda ou corte da árvore na pastagem.

Nas espécies que a intoxicação experimental já foi realizada o quadro clínico-patológico observado é de insuficiência hepática aguda. Além da lesão hepática, ovinos que receberam sub-doses sucessivas da planta desenvolveram graves lesões pulmonares (WOUTERS et al., 2013; PAVERINI et al., 2013).

Doses únicas de 54 e 106 g/kg de folhas frescas, causam intoxicação letal, entretanto não demonstra efeito acumulativo, quando administrada em frações (TOKARNIA et al., 2012). Os principais achados de necropsia são observados no fígado, moderadamente aumentados e com padrão lobular evidente (PAVERINI et al., 2013), caracterizadas por áreas vermelhas escuras, deprimidas, delimitadas por áreas claras e hemorragias aleatórias (TRAVERSO et al., 2004) e no sistema nervoso central (SNC), com múltiplas áreas

amareladas, focos de malácia e hemorragia, principalmente, no tronco cerebral e cerebelo (PAVERINI et al., 2013).

Ao exame histológico observa-se, no fígado, necrose massiva de hepatócitos, caracterizam-se por desorganização dos cordões de hepatócitos com eosinofilia intensa de citoplasma, e perda de bordos citoplasmáticos, com núcleos em picnose, cariólise e cariorrexe (TRAVERSO et al., 2004) acompanhada de congestão e hemorragia centrolobular, por vezes, necrose hepática centrolobular associada a degeneração vacuolar dos hepatócitos (GAVA et al., 2010) e proliferação moderada de ductos biliares (TRAVERSO et al., 2004). No SNC, há tumefação neuronal, satellitose, edema perineuronal, perivascular e na camada molecular do cerebelo (GAVA et al., 2010).



**Figura 3:** Árvore de *Trema micrantha*, aspecto rendilhado dos bordos das folhas. Porto Alegre, Rio Grande do Sul (Autor, 2019).

#### 3.1.4. Intoxicação Hepática Aguda por Larva de *Perreya* spp.

A ingestão na fase larval destes insetos tem sido reportada, como causa de intoxicação hepática aguda em pelo menos quatro países (RAYMUNDO, 2008). As larvas aparecem nas pastagens a partir de março, apresentam coloração preta brilhante (**Figura 5**). Alimentam-se de matéria vegetal em decomposição, folhas secas e fezes de bovino secas. Dois princípios tóxicos têm sido isolados das larvas de *P. flavipes*: pergidina, que é um heptapeptídeo

contendo um resíduo fosfoseril e lofirotomina que é um octapeptídeo. Experimentalmente a dose tóxica de larvas para bovinos foi reproduzida com 40g/kg de peso vivo e a morte ocorreu em 24 horas (SOARES et al., 2008).

Os sinais clínicos observados caracterizaram-se por depressão, prostração, icterícia discreta, decúbito com movimentos de pedalagem e coma. A morte ocorre após curso clínico de 24-48 horas (SOARES et al., 2008). Segundo Raymundo (2008) os sinais apresentados são inespecíficos, porém com mais frequência observa-se fraqueza, depressão e anorexia.

Achados de necropsia também são considerados inespecíficos por alguns autores, (RAYMUNDO, 2008), porém, frequentemente observa-se o aumento do padrão lobular hepático, além de lesões hemorrágicas no fígado, coração e presença de líquido nas cavidades corporais, além disso, pode ser observada icterícia. Alguns animais apresentam retenção biliar, com distensão da vesícula e edema da parede, que se estendia até o colédoco e mesentério adjacente. Ao observar o conteúdo dos pré-estômagos alguns animais necropsiados, demonstrou a presença de fragmentos não digeridos das larvas, geralmente cabeça e porções do corpo (SOARES et al., 2008).

Histologicamente, observa-se necrose hepática hemorrágica com padrão centrolobular e por vezes estendendo-se a região mediozonal (SOARES et al., 2008). Em casos mais severos apresentam congestão e hemorragia de forma massiva e circundando as áreas de necrose, vacuolização dos hepatócitos (RAYMUNDO, 2008). O tratamento e prevenção das toxinas é pouco eficaz, nestes casos ou apresenta elevado custo, sendo pouco conhecido e

utilizado

(RAYMUNDO,

2008).



**Figura 4:** Larvas de *Perreya flavipes*, agrupadas em coluna sobre a pastagem (RAYMUNDO, 2008).

## 3.2. PLANTAS HEPATOTÓXICAS CRÔNICAS

### 3.2.1. *Senecio brasiliensis*

Plantas do gênero *Senecio* são nativas em várias regiões do mundo (**Figura 6**) e consideradas causadoras de uma enfermidade de caráter enzoótico em bovinos, com importante reflexo na produção animal, acometendo principalmente, bovinos e equinos. O princípio tóxico da espécie inclui um potente grupo de hepatotoxinas, conhecidas como alcalóides pirrolizidínicos (MENDES et al., 2018).

A intoxicação por *Senecio* constitui-se como uma das principais causas de mortes em bovinos adultos no estado do Rio Grande do Sul. Sabe-se, que a ingestão diária entre 0,6 a 5 g de planta verde por kg de peso vivo, por 08 meses, é suficiente para provocar lesões hepáticas progressivas e irreversíveis (BASILE et al., 2005).

A evolução da doença na forma aguda a morte ocorreu entre 22 a 25 horas após a ingestão da planta e subaguda entre 16 e 21 dias; casos crônicos apresentaram sinais clínicos que podem ser observados de 2 a 92 dias após a ingestão da planta. Os animais demonstram depressão, diarreia com fezes escuras líquidas associada à tenesmo e por vezes pode ser observado prolapso de reto. Os sinais nervosos caracterizam-se pelo andar cambaleante ou em

círculos, agressividade, apoio da cabeça e paraplegia, menos comum, além disso, todos os animais apresentam emagrecimento progressivo (MORAES, 2019).



**Figura 5:** *Senecio brasiliensis*, evidenciando a forma arbustiva, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, e sua respectiva floração (inferior esquerdo) Lages, Santa Catarina(Autor, 2019).

No sistema nervoso central, há focos de malacia e satelitose leve, estas lesões, são provocadas secundariamente, pela incapacidade do fígado lesado em metabolizar a amônia, sendo assim, a hiperamonemia determina as lesões cerebrais, denominada encefalopatia hepática (KRABBE et al., 2015).

Durante a necropsia pode-se observar graus variáveis de fibrose hepática, podendo ou não estar acompanhada de lesões necro-hemorrágicas, vesícula biliar dilatada e edemas viscerais cavitários. Os achados microscópicos condizem com hepatomegalocitose, fibrose e hiperplasia de células epiteliais dos ductos biliares, resultam da ação dos alcalóides presentes na planta ingerida. As lesões degenerativas e inflamatórias podem apresentar diferentes graus de severidade (TOKARNIA et al., 2012).

### 3.3. METABOLISMO DO GLICOGÊNIO NO FÍGADO

O fígado tem papel essencial para diversos metabolismos, sendo que o glicogênio é um componente importante do hepatócito, que em microscopia eletrônica se apresenta sob a forma de grânulos grosseiros, geralmente localizados na zona do retículo endoplasmático liso, funcionando como um depósito que o hepatócito mobiliza quando ocorre hipoglicemia (CULLEN, 2009).

O exercício e condições anormais, como hipóxia e acidose, reduzem a quantidade do glicogênio no fígado. Além disso, o conteúdo de glicogênio hepático fica sob regulação endócrina, a adrenalina e o glucagon possuem atividade glicogenolítica, e a insulina e os glicocorticóides favorecem o acúmulo do glicogênio hepático (DUKES, 2006).

Dentre algumas mudanças que podem afetar o metabolismo hepático, as alterações na concentração de hormônios circulantes têm efeitos diretos no metabolismo do glicogênio (insulina, glucagon e catecolaminas), alterações na sensibilidade do hepatócito a hormônios glicogenolíticos e alterações na oferta de glicose ou precursores glicogênicos ao fígado (ENGELMAN et al., 2001).

O glicogênio representa a forma de armazenamento de açúcares na célula animal, sendo estocada naturalmente no hepatócito. Em sua dinâmica metabólica ocorre participação de receptores, hormônios e enzimas que mantêm e equilibram os níveis séricos desse componente.

### 3.4. DIAGNÓSTICO

O diagnóstico dessas intoxicações se realiza através dos dados epidemiológicos, pela presença da planta, sinais clínicos, as lesões macroscópicas, e as alterações histológicas do fígado. Deve-se fazer diagnóstico diferencial com doenças que afetam o sistema nervoso central, incluindo raiva (RIET-CORREA et al., 2007).

O fato de que as mortes podem ocorrer durante um período prolongado de tempo, está relacionado à intoxicações crônicas, muitas vezes, vários meses após os animais terem deixado de ingerir a planta, sem apresentarem sinais clínicos até pouco tempo antes da morte, deve ser considerado no diagnóstico (RIET-CORREA et al., 2007).

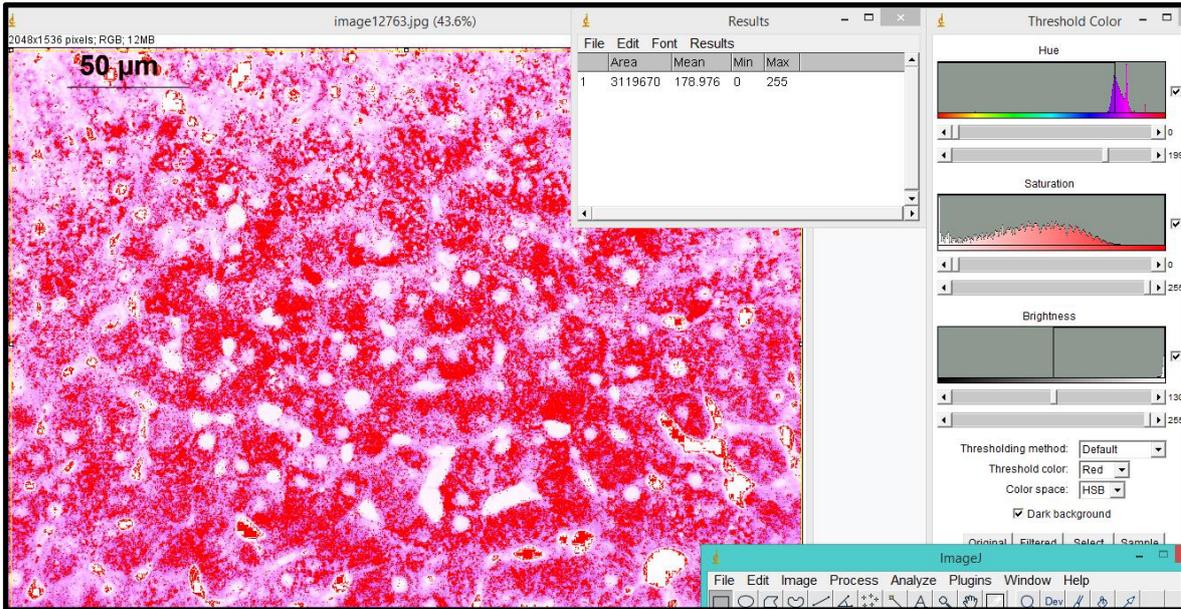
Os testes de função hepática, principalmente a determinação de gamaglutamil transferase (GGT), assim como estudos histológicos de biópsia hepática, também podem ser eficientes para estabelecer o prognóstico, nos animais ainda não afetados clinicamente (SOARES et al., 2011). Além disso, diferencial com doenças que causam icterícia, como babesiose e anaplasmose devem ser considerados (RIET-CORREA et al., 2007).

## **4 ESTUDO DE CASO**

### **4.1 MATERIAIS E MÉTODOS**

No estudo foi utilizado a auxílio de microscopia óptica, para análise dos cortes histológicos de fígado com especial atenção ao componente de glicogênio, à sua distribuição e relação com parte da unidade funcional hepática, evidenciado pela técnica do PAS (ácido periódico e reativo Schiff), marcando-o fortemente em roxo, sem amilase.

Foram analisadas 58 amostras histológicas de fígados com diferentes alterações hepáticas por princípios tóxicos, dentre elas, a principal foi necrose, além de infartos, fibrose e congestão. Os cortes foram corados através da coloração de PAS, para evidenciar o glicogênio intracitoplasmático e em seguida avaliados em microscopia de luz e fotografados com auxílio do programa Laz Es e a análise quantitativa através do Software ImageJ conforme demonstrado na **Figura 8**.



**Figura 6:** Análise de área estimada com presença de glicogênio, corado fortemente em roxo através da coloração de PAS e evidenciado pelo contraste e saturação pelo software ImageJ.

A análise quantitativa, consiste na marcação, através do software de áreas de produção de glicogênio, às quais diferem da coloração do restante do corte, podendo assim, ser medida através de diferenças de contraste.

Os mat,

eriais foram coletados em três locais diferentes, 40 amostras foram adquiridas através de biópsias hepáticas pelo Laboratório de Patologia Veterinária (LABOPAVE), da UFSC, Campus Curitibanos, e os demais adquiridos em necropsias, 11 casos de intoxicações por plantas hepatotóxicas e 2 casos de intoxicação por *Perreya*, realizados no SPV-UFRGS e 04 casos de intoxicações por plantas hepatotóxicas e 1 caso de intoxicação por *Perreya* no LAPA-UDESC (**Quadro 1**).

**Quadro 1:** Levantamento dos principais agentes hepatotóxicos nos estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina e suas principais lesões microscópicas.

Nome	Quantidade	Lesão histológica
<i>Cestrum sp.</i>	4	necrose hepática lobular
<i>Xanthium sp.</i>	1	necrose centrolobular e vacuolização
<i>Senecio brasiliensis</i>	5	cirrose e proliferação de ductos biliares
<i>Trema micrantha*</i>	3	necrose hepática massiva e desorganização

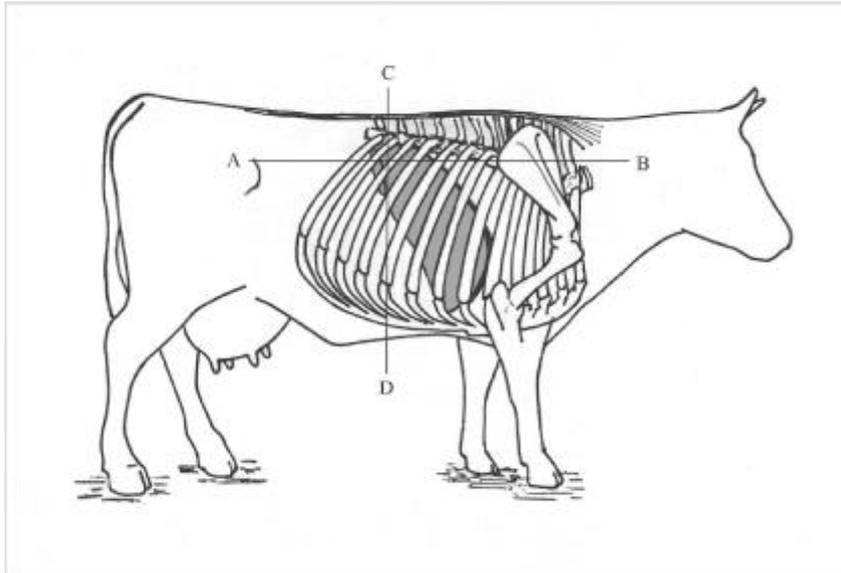
<i>Perreya sp.**</i>	3	necrose hepática hemorrágica
* acometimento em equinos **Larva heminoptera		

Destas 58 amostras, obteve-se 573 imagens através do programa Las Ez. E as mesmas foram avaliadas e quantificadas pelo ImageJ, onde, cada ponto de glicogênio através do PAS, fortemente marcado, é somado e determina-se a área de produção (grânulos (AREA)), o valor considerado a área total corresponde à 3145728 (obtido através do ImageJ (100% pixel)), a partir destes valores, obtêm-se a porcentagem de área de produção de glicogênio (AREA/área total\*100) (**Figura 8**). Para obter a porcentagem do órgão afetado associa-se à área restante de armazenamento, e subtrai 100 do valor obtido anteriormente (área de produção de glicogênio -100).

Após a coleta as amostras dos órgãos foram fixadas em solução de formalina neutra a 10%. Do material coletado, foram realizados cortes histológicas com 3µm de espessura, coradas pela técnica da hematoxilina-eosina conforme a rotina do laboratório e os cortes histológicos de fígado foram corados com PAS (ácido periódico e regente de Schiff). Realizou-se o estudo morfométrico para quantificar o glicogênio hepático, utilizando as preparações histológicas pela coloração supracitada, em campos de maior aumento (200x e 400x), já que se trata de um elemento intracitoplasmático.

O método de biópsia utilizado foi introdução da agulha no 11º espaço intercostal direito, cerca de 20 cm abaixo da linha do dorso, no cruzamento de uma linha imaginária entre a tuberosidade externa do íleo e a escápula e outra linha perpendicular ao 11º espaço intercostal; esse ponto corresponde à posição topográfica do lobo direito do fígado, conforme demonstrado na **Figura 9** (BARROS, et al., 2007).

Ainda, avaliou-se a condição corporal de cada animal biopsiado, ciclo reprodutivo; em casos que apresentavam sinais de fotossensibilização, estes dados também foram registrados. Dos 40 animais apenas 1 apresentou sinais clínicos característicos de fotossensibilização hepática, porém a propriedade apresentava histórico de perda de alguns animais devido à intoxicação por *Senecio*, sugere-se então a biópsia do rebanho (**Quadro 2**), já que testes laboratoriais da função hepática nem sempre são indicadores confiáveis de animais afetados de forma subclínica (BARROS et al., 2007).



**Figura 7:** Diagrama mostrando o ponto para a introdução da agulha de biópsia, no cruzamento de duas linhas imaginárias: uma que vai da tuberosidade do íleo à escápula (A-B) e outra perpendicular ao 11º espaço intercostal (BARROS et al., 2007).

**Quadro 2:** Achados epidemiológicos, patológicos e clínicos dos animais suspeitos de intoxicação por *Senecio* sp. na Região Centro-Oeste do estado de Santa Catarina.

#	Brinco	Condição	Gestação	Observações
1	792604	3	Vazia	CL; ciclando; Fotossensibilização
2	519982	4	Vazia	Ciclando em cio
3	792745	4	Vazia	Ciclando
4	786671	4	Prenha	-----
5	456413	4	Vazia	CL; ciclando
6	182588	4	Vazia	CL; ciclando
7	519974	4	Vazia	CL; ciclando
8	211901	4	Prenha	-----
9	696693	4	-----	Touro
10	792693	4	Prenha	-----
11	649147	4	Prenha(v)	-----
12	433422	4	Prenha(v)	-----
13	989488	4	Prenha(v)	-----

14	270131	4	Vazia	Ciclando
15	066964	4	-----	Endometrite; CL
16	067007	4	Vazia	CL; ciclando
17	614802	4	Prenha	-----
18	105310	3	Vazia	Folículo; Fotossensibilização
19	692276	4	Prenha	-----
20	182601	4	Vazia	CL; ciclando
21	792610	4	Vazia	CL; ciclando
22	997581	3	Prenha	-----
23	215384	4	Prenha(v)	-----
24	066981	4	Prenha(v)	-----
25	182623	3	Prenha(v)	-----
26	614803	3	Prenha	-----
27	989484	3	Prenha(v)	-----
28	792606	4	Prenha(v)	-----
29	792613	4	Prenha(v)	-----
30	182621	3	Prenha	-----
31	182578	3	Prenha(v)	-----
32	692135	4	Prenha(v)	-----
33	182574	3	Prenha	-----
34	696650	3	Vazia	Folículo
35	696671	3	Prenha(v)	-----
36	997575	3	Vazia	Folículo (vaca que escapou)
37	182614	2	Vazia	Fotossensibilização, folículo pequeno; mucosa pálida
38	182600	3	Vazia	Fotossensibilização, ovários sem nada
39	696502	4	Prenha(v)	-----
40	614798	4	Prenha(v)	Não realizou biópsia, febre 39,3 °C

As biópsias hepáticas foram realizadas no município de Brunópolis, no Centro-Oeste do Estado de Santa Catarina, e, de forma geral, as análises histológicas apresentam fragmentos medindo em média 0,5 X 0,2 cm, com consistência macia, na maioria, aspecto gelatinoso e coloração marrom escuro.

A metodologia de diagnóstico histológico se deu a partir da avaliação da quantidade de fibrose (0-3), megalocitose (0-3), proliferação ductos (0-3) e células binucleadas (0-1), e, a partir da somatória dos fatores, foram definidos em graus, de acordo com cada animal, que variou de 0 a 10 pontos. Portanto, amostras com soma de 1 ponto, equivalem a lesões pouco significativas, lesões leves de 2 a 4 pontos, lesões leves à moderadas, 5 pontos; lesões moderadas, entre 6 e 8 pontos; lesões acentuadas, 10 pontos. De todas as amostras avaliadas, 42,5% (17/40) não apresentaram alterações significativas, ou seja, somatório zero (**Quadro 3**).

**Quadro 3:** Achados microscópicos em fígados bovinos com suspeita de intoxicação por *Senecio sp.* submetidos à biopsias hepáticas na Região Centro-Oeste do estado de Santa Catarina.

#	Brinco	Histopatologia				Somatório
		Fibrose	Megalocitose	Proliferaçã o ductos	Célula binucleada	
1	792604	3	3	3	1	10
2	519982	0	0	0	0	0
3	792745	0	1	1	1*	3
4	786671	0	1	1	1	3
5	456413	0	0	0	0	0
6	182588	0	0	0	0	0
7	519974	3	3	3	1	10
8	211901	0	0	0	0	0
9	696693	0	0	0	0	0
10	792693	0	1	0	0	1
11	649147	1	2	1	1	5
12	433422	0	1	0	0	1
13	989488	0	1	0	0	1
14	270131	0	0	0	1	1
15	066964	0	1	0	1	2
16	067007	0	0	0	0	0

17	614802	0	0	0	0	0
18	105310	2	2	2	1	7
19	692276	0	1	0	0	1
20	182601	0	0	0	0	0
21	792610	0	1	0	1	2
22	997581	1	2	2	1	6
23	215384	0	0	0	0	0
24	066981	0	0	0	0	0
25	182623	0	0	0	0	0
26	614803	0	0	0	0	0
27	989484	0	0	0	0	0
28	792606	0	1	0	1	2
29	792613	Amostra inconclusiva				
30	182621	1	2	2	1	6
31	182578	0	0	0	0	0
32	692135	0	2	2	1	5
33	182574	0	0	0	0	0
34*	696650	0	1	1	1	3
35	696671	0	0	0	1	1
36	997575	0	2	2	1	5
37	182614	3	3	3	1	10
38	182600	1	2	2	1	6
39	696502	0	0	0	0	0
40	614798	Amostra inconclusiva				

### 4.1.1 Colorações especiais

Os corantes são compostos orgânicos constituídos por cíclicos aromáticos e a sua associação a moléculas maiores resultando em transições que originam cor. Os corantes básicos ligam-se preferivelmente à cromatina e às proteínas nucleares, estas estruturas são denominadas de basófilas. Os corantes ácidos têm uma afinidade particular para o citoplasma das células e substâncias essenciais, denominadas de acidófilas. Os corantes neutros são correspondentes aos dois compostos das suas moléculas (o ácido e o básico). Os corantes indiferentes não possuem grupos capazes de formar sais; são em geral insolúveis em água, mas solúveis em solventes orgânicos (MARTINS et al., 2015).

#### 4.1.1.1 Coloração Ácido Periódico-Schiff (PAS)

As técnicas de colorações especiais são utilizadas para aprimorar os conhecimentos dos tecidos e a visualização microscópica destes. Nos tecidos conjuntivos, mucos e lâminas basais, podendo diferenciar tipos de doenças de estocagem de glicogênio, indicativos de algumas neoplasias e infecciosas (MARTINS et al., 2015).

Esse método é usado principalmente para identificar o glicogênio em tecidos. O reagente atua fixando-se seletivamente em determinadas estruturas celulares, conferindo a elas diferentes graus de absorção da luz incidente e possibilitando a identificação de suas alterações. A realização do ácido periódico oxida os resíduos de glicose, produzindo aldeídos que reagem com o reagente de Schiff e produz uma cor púrpura-magenta (MARTINS et al., 2015).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

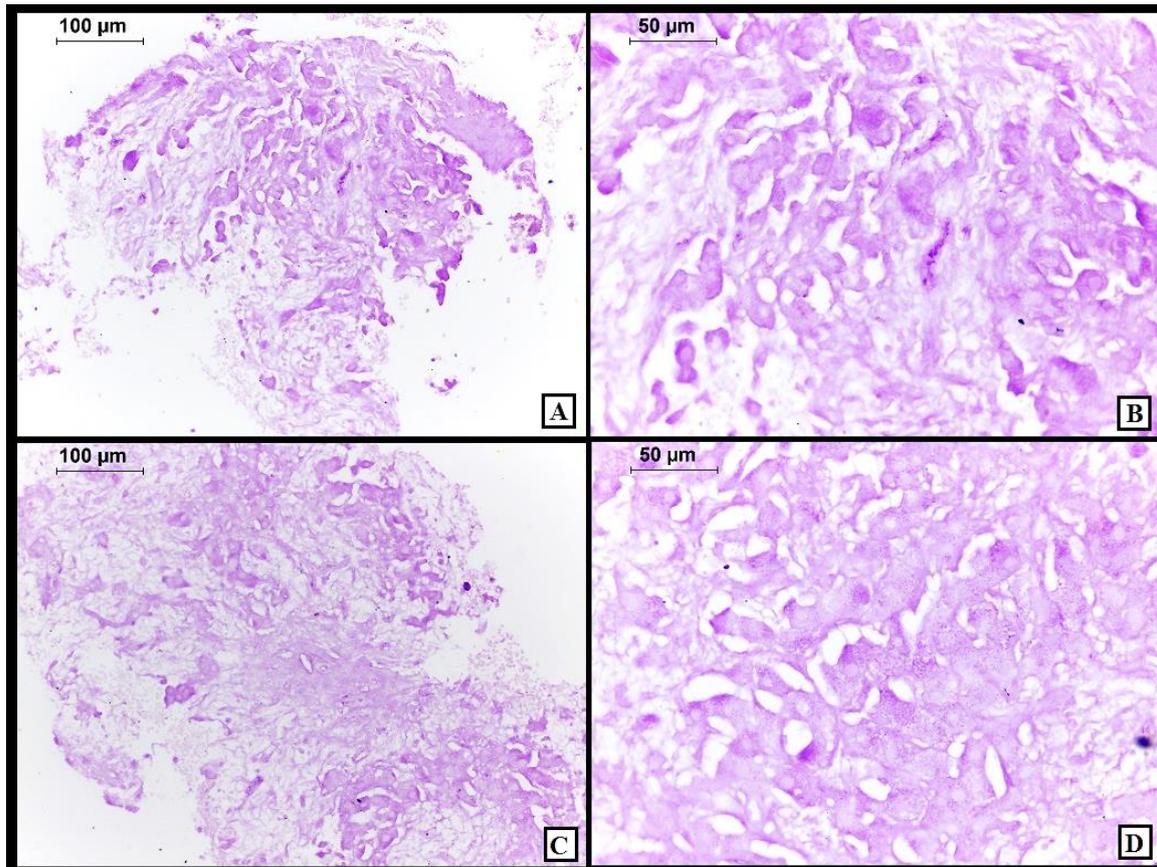
A biópsia hepática é indicada para identificar bovinos com suspeita de lesões hepáticas, sem sinais clínicos, e pode apresentar valor prognóstico, uma vez que, se acredita que as lesões hepáticas evoluem para insuficiência hepática e morte. Tais bovinos podem ser selecionados pela biópsia hepática e enviados para o abate antes de desenvolverem os sinais clínicos graves e progressivos, minimizando assim os prejuízos ao produtor (BARROS et al., 2007).

Em um estudo feito por Barros et al., em 2007, com quadro de intoxicação por *Senecio spp.* em bezerros, apresenta coeficientes de morbidade e mortalidade respectivamente de 19,3 e 17,9%. Dados estes, que aproximados aos encontrados, já que dentre os resultados obtidos através das biópsias apenas 7,5% apresentaram lesões graves e 10% lesões moderadas, ou seja, 17,5%, justificativa de morbidade do rebanho, além disso, 15% apresentam lesões leves, que tendem a evoluir.

Das biópsias coletadas, 40% (16/40) não apresentaram alterações hepáticas significativas, zero pontos no somatório, 15% (6/40) apresentaram lesões pouco significativas, ou seja, apenas um 1 ponto do somatório, 15% (6/40) apresentaram lesões leves 2 a 4 pontos no somatório, 7,5% (3/40) lesões leves à moderadas, 5 pontos no somatório, 10% lesões moderadas, entre 6 e 8 pontos (4/40) e 7,5% dos casos apresentaram lesões acentuadas (3/40), somatório máximo de 10 pontos e 5% das amostras apresentaram-se inconclusivas, ou seja, não houve presença de tecido hepático para análise.

Barros cita (2007) 92,8% de letalidade dos animais coletados, sendo essencial o exame para indicar a destinação ao abate dos animais, considerando que, mais de 20% os animais já apresentam lesões características e progressivas da enfermidade. O ciclo reprodutivo dos animais não apresentou correlação com as alterações microscópicas observadas, da mesma

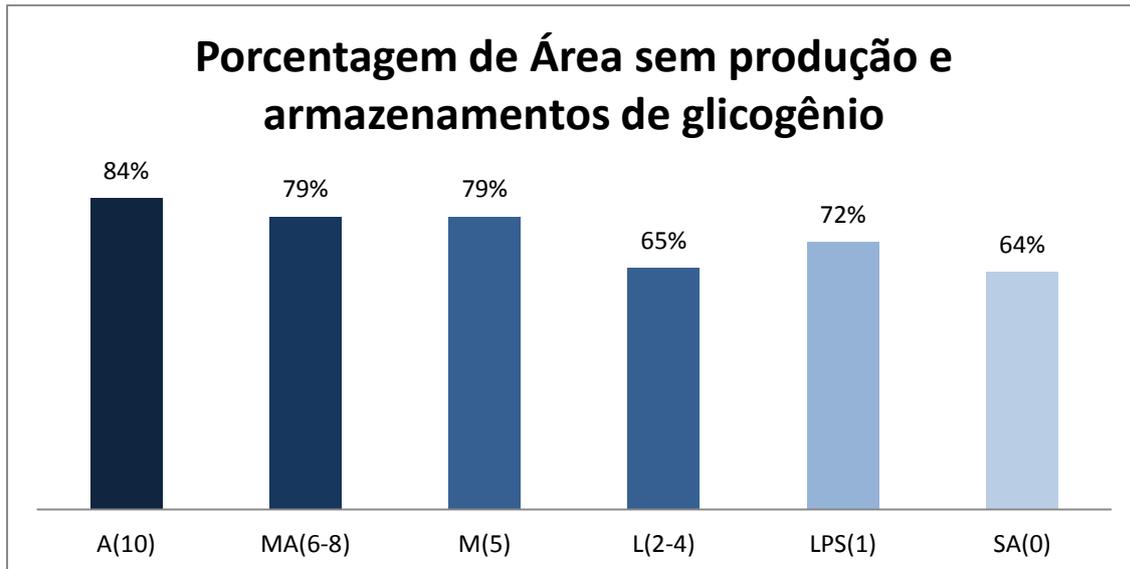
forma que o escore corporal.



**Figura 8:** Fragmentos hepáticos (SOMATÓRIO 10), com acentuada fibrose e melagocitose associada à proliferação de ductos biliares, obj. 20x, PAS (A e C). Fígado, fibrose acentuada associada a megalocitose e necrose, evidenciação de raros grânulos de glicogênio no interior de hepatócitos, obj. 40x, PAS (B e D).

Para analisar a quantidade do órgão afetada, realizou-se análise de aproximadamente 10 imagens por amostra, em várias objetivas, mas, principalmente em aumento de 200x e 400x para melhor visualização das alterações.

Para mensurar a porcentagem do parênquima hepático afetado, utilizou-se a avaliação de 573 imagens obtidas através do programa Las Ez. Pode-se observar, a partir da média estimada para determinada espécie de planta de ação crônica, o *Senecio*, que, quanto maior o estágio da doença, menor será o desenvolvimento das funções fisiológicas e metabólicas do órgão, como elucidado no **Gráfico 1** às alterações causam um grau crescente de lesões no órgão levando a uma disfunção e insuficiência do mesmo.



**Gráfico 1:** Análise referente às 40 biópsias hepáticas, consideradas suspeitas de intoxicação crônica por *Senecio*, apresenta crescente relação às áreas afetadas em porções hepáticas quando relacionadas ao somatório de alterações.

Dentre as 573 imagens, 366 equivalem às imagens provenientes de biópsias, das quais, 38 amostras apresentam material suficiente para análise. Dentre as amostras que apresentam lesões consideradas acentuadas, em média demonstram, 84% do órgão foi afetado, em lesões moderadas apresentam acometimento de 79%, já as lesões leves e pouco significativas em média apresentam 46% de produção e armazenamento efetivo, ou seja, 64% de acometimento.

Em casos submetidos à necropsia, o exame macroscópico de animais com suspeitas de intoxicação hepática crônica, o mais comum no sul do Brasil é *Senecio*, apresenta-se com 91% do órgão afetado, no qual se observa principalmente fígado moderadamente diminuído de tamanho, com acentuada atrofia dos lobos hepáticos, firme e pálido (**Figura 11**) (PANZIERA et al., 2017). Histologicamente, em espaços periportais observa-se proliferação acentuada de tecido conjuntivo fibroso (**Figura 10B**), por vezes formando pontes, estas áreas associadas a moderada proliferação de ductos biliares (**Fígado 10D**), bem como discreto infiltrado inflamatório multifocal de linfócitos. Ainda observam-se frequentes hepatócitos acentuadamente tumefeitos, apresentando acentuada cariomegalia (megalocitose) (**Fígado 10C**). Estas células apresentam, de forma moderada difusa, microvacúolos intracitoplasmáticos.



**Figura 9:** A: Superfície de corte do fígado de bovino observe a leve irregularidade do parênquima e a presença de áreas mais claras intercaladas com áreas avermelhadas. B: (B) Superfície de corte do fígado do bovino da figura A. Esse representou o primeiro padrão de lesão hepática observado nesse surto (Padrão 1). Note que o parênquima hepático está difusamente alaranjado (PANZIERA et al., 2017).

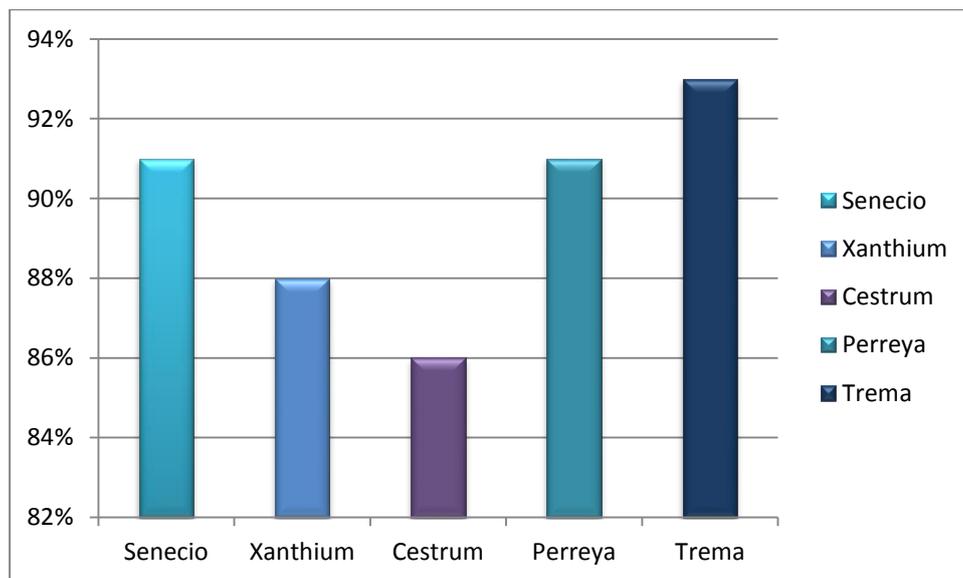
Dentre as intoxicações que causam necrose aguda no sul do país, estão: *Cestrum* spp. (FURLAN et al., 2008), *Perreya* spp. (JONCK, et al., 2010), apresentam alterações semelhantes nos exames *post-mortem*, *Xanthium* spp, afeta principalmente suínos e *Trema micrantha*, que acomete equinos (GAVA et al., 2010). Macroscopicamente, em todos os casos o fígado apresenta-se aumentado de tamanho, com acentuada evidência do padrão lobular.

As principais lesões observadas nas amostras de intoxicações supracitadas são necrose hepática aguda (JONCK, et al., 2010), predominantemente em regiões centrolobulares (RIET-CORREA et al., 2007) e estendendo-se à região mediozonal (SOARES et al., 2008), há vacuolização e tumefação hepatocelular (RAYMUNDO, 2008). Ainda nota-se de maneira multifocal aleatória megalocitose além de hiperplasia de ductos e áreas discretas de leucocitoestase (ASSIS et al., 2010), algumas vezes apresentando hemorragias, sendo que os graus de severidade podem variar.

As 207 amostras restantes, equivalem às lesões hepáticas de animais submetidos à necropsia, conforme mencionado anteriormente, destas, as plantas com características de intoxicação hepática aguda, apresentaram um grau elevado de comprometimento do órgão de forma geral, 93% em animais intoxicados por *Trema micrantha*, 92%, 91 % por larva de *Perreya* e 86% por *Cestrum* spp. (**Gráfico 2**), dados estes, que corroboram com Radostits (2002), este, afirma que um dos efeitos primários da lesão hepática aguda grave é uma precipitada queda da glicose sanguínea, podendo ser acompanhada por sinais nervosos.

Das amostras coletadas através de necropsias, pode-se observar maior perda de função e metabolismo hepático tanto em casos agudos como crônicos. Casos agudos que acometem extensas partes dos cortes avaliados apresentam-se com elevadas taxas afetadas, como destaques, *Trema* (casos diagnosticados em equinos). Já em casos de intoxicação crônica, as áreas afetadas são consideradas multifocais, sendo assim, a média aritmética mantém os resultados elevados, como apresenta os casos de intoxicação por *Senecio* (**Gráfico 2**).

Aproximadamente 50% das mortes causadas por plantas tóxicas devem-se à intoxicação por diversas espécies de *Senecio* (KARAM et al., 2004), planta de caráter crônico, apresenta lesões aleatórias, porém, média permaneceu elevada, considerada severa, intensas e/ou massiva, cerca de 91% do órgão afetado, dados estes superiores aos demonstrados nas coletas através biópsias, podendo estar associado com a severidade da lesão, porém corroboram com as descrições em bovinos (BASILE et al., 2005) equinos (PILATI & BARROS, 2007) e aves (BIFFI, 2017), que relatam alterações hepáticas histológicas severas e intensas, acentuadas e intensas respectivamente. (**Gráfico 2**).



**Gráfico 2:** Análise referente às 18 amostras hepáticas em necropsias, consideradas suspeitas de intoxicação hepatotóxica aguda e crônica.

Em bovinos que receberam suplementação os níveis de glicogênio hepático variaram entre 86,8 a 168,4  $\mu\text{mol/g}$ , citado por Burns (2014) (apud DAMGAARD; WEISBJERG; LARSEN, 2013), além disso, cita que animais submetidos a estresse apresentam níveis de glicogênio hepático inferiores níveis séricos.

Observa-se, nos animais submetidos à biópsia discreta quantidade a mais de glicogênio intracitoplasmático, marcado através de coloração de PAS, quando comparados a animais submetidos à necropsia, apenas 7% de diferença, ou seja, os animais necropsiados apresentam severo comprometimento hepático e sistêmico. Sendo assim, é provável que devido às alterações que desencadeiam a morte, estes animais tenham tido maior demanda de glicogênio, fazendo com que o estoque de armazenagem do mesmo diminuísse.

## 6 CONCLUSÃO

Conclui-se então, que animais acometidos por lesões hepáticas crônicas, devem ter acompanhamento através de biópsias, para que tenham um desempenho efetivo no rebanho e a partir disto, obter o prognóstico animal para encaminhá-lo ou não ao abate. Já intoxicações agudas, apresentam queda abrupta na quantidade de glicogênio armazenada, considerados casos irreversíveis, que apresentam elevados índices de perda do parênquima tecidual. As intoxicações agudas e crônicas em bovinos apresentaram elevadas porcentagens da queda da produção e armazenamento do glicogênio, sendo, *Senecio spp.* e *Perreya spp.* (91%), *Xanthium spp.* (88%) e por fim *Cestrum spp.* (86%) assim como em equinos, *Trema micranta* (93%). Observa-se ainda, animais que se mantêm fisiologicamente ativos, ou seja, não apresentam-se demasiados e/ou com sinais clínicos acentuados, demonstram maior carga de glicogênio intracitoplasmático, armazenados e produzidos devido à demanda diária.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASSIS T.S., MEDEIROS R.M.T., RIET-CORREA F., GALIZA G.J.N., DANTAS A.F.M. & OLIVEIRA M.D. 2010. Intoxicações por plantas diagnosticadas em ruminantes e equinos e estimativa das perdas econômicas na Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira** 30(1):13-20. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/pvb/v30n1/v30n1a03>. Acesso em: 18/08/2019.
- BIFFI, C. P. **Intoxicação por *Senecio brasiliensis* em bovinos no estado de santa catarina e intoxicação experimental por *Senecio* spp em frangos de corte.** Tese (Doutorado) - Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Lages, 2017. 62 p.
- BARROS C.S.L., CASTILHOS L.M.L., RISSI D.R., KOMMERS G.D. & RECH R.R. 2007. (Asteraceae) poisoning in cattle Biópsia hepática no diagnóstico da intoxicação por *Senecio brasiliensis* (Asteraceae) em bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira** 27(1):53-60. D
- BASILE J.R., DINIZ J.M.F., OKANO W., CIRIO S.M. & LEITE L.C. 2005. Intoxicação por *Senecio* spp. (Compositae) em bovinos no sul do Brasil. **Acta Scientiae Veterinariae**. 33: 63-68.
- BURNS, L.V. 2014. Determinação do nível de estresse em bovinos com lesões graves e causa da morte durante o transporte ao frigorífico. Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre, junto ao Programa de Pós Graduação em Ciência Animal Tropical da Universidade Federal do Tocantins. 85p.
- CULLEN J.M. 2009. Fígado, sistema biliar e pâncreas exócrino, p.393-461. Em: McGAVIN, M.D.; ZACHARY, J.F. **Bases da Patologia em Veterinária**. 4 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009. 1476p.
- DAMGAARD, B.M.; WEISBJERG, M.R.; LARSEN, T. Priming the cow for lactation by rapeseed supplementation in the dry period. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 6, p. 3652-3661, 2013.
- DUKES, H. H. **Fisiologia dos Animais Domésticos**. 12a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.
- GAVA A., LUCIOLI J., FURLAN F.H., LEAL M.B. & TRAVERSO S.D. 2010. Intoxicação por *Trema micrantha* (Ulmaceae) em caprinos no Estado de Santa Catarina. **Pesquisa Veterinária Brasileira** 30(3):191-194. Disponível em: [https://www.researchgate.net/profile/Joelma\\_Lucioli/publication/262517830\\_Poisoning\\_by\\_Trema\\_micrantha\\_Ulmaceae\\_in\\_goats\\_in\\_the\\_State\\_of\\_Santa\\_Catarina/links/54c0cbc40cf21674ce9fdfaa/Poisoning-by-Trema-micrantha-Ulmaceae-in-goats-in-the-State-of-Santa-Catarina.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Joelma_Lucioli/publication/262517830_Poisoning_by_Trema_micrantha_Ulmaceae_in_goats_in_the_State_of_Santa_Catarina/links/54c0cbc40cf21674ce9fdfaa/Poisoning-by-Trema-micrantha-Ulmaceae-in-goats-in-the-State-of-Santa-Catarina.pdf). Acesso em: 18/08/2019.
- ENGELMAN MF, GUIDUGLI NETO J, ANDRADE CH, HERNANDEZ R, GOULART LB. 2001. Estudo morfológico do fígado de ratos submetidos a doses supra-fisiológicas de tiroxina. **Arq Bras Endocrinol Metab**. 45(2):173-9.

FURLAN F.H., LUCIOLI J., BORELLI V., FARIA JUNIOR O.O., REBELATTO S.V., GAVA A. & TRAVERSO S.D. 2008. Intoxicação por *Cestrum intermedium* (Solanaceae) em bovinos no Estado de Santa Catarina, **Acta Scient. Vet.** 36(3):281-284.

JONCK F., CASAGRANDE R.A., FROEHLICH D.L., RIBEIRO JR D.P. & GAVA A. 2010. Intoxicação espontânea por larvas de *Perreyia flavipes* (Pergidae) em suínos no Estado de Santa Catarina. **Pesquisa Veterinária Brasileira** 30(12):1017-1020.

KARAM F.S.C., SOARES M.P., HARAGUCHI M., RIET-CORREA F., MENDÉZ M.C. & JARENKOW J.A. 2004. Aspectos epidemiológicos da seneciose na região sul do Rio Grande do Sul, Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira** 24(4):191-198.

KRABBE A.A., GONÇALVES M.A., POZZOBON R., PESSOA C.R.M., SOARES M.P., COSTA R.A. & ANJOS B.L. 2015. Megalocitose de células luteínicas grandes de vacas prenhes com seneciose crônica. **Pesquisa Veterinária Brasileira** 35(1):33-38. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/pvb/v35n1/0100-736X-pvb-35-01-00033.pdf>. Acesso em: 19/08/2019.

LUCENA R.B., RISSI D.R., MAIA L.A., DANTAS A.F.M., FLORES M.A., NOBRE V.M.T., RIET-CORREA F. & BARROS C.S.L. 2010. Intoxicação por alcaloides pirrolizidínicos em ruminantes e equinos no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira** 30(5):447-452. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/pvb/v30n5/a13v30n5>. Acesso em: 18/08/2019

MARTINS, G. B. C.; SUCUPIRA, R. R.; SUAREZ, P. A. Z. A Química e as Cores. **Rev. Virtual Quim.**, 2015, 7 (4), 1508-1534.

MCCONNELL C.S., GARRY F.B., LOMBARD J.E., KIDD J.A., HILL A.E. & GOULD D.H. 2008. A necropsy-based descriptive study of dairy cow deaths on a Colorado dairy. **J. Dairy Sci.** 92:1954-1962.

MENDES, R. E.; CARNEIRO, C.; GOMES, T. M. A. 2018. **Boletim de diagnóstico do laboratório de Patologia Veterinária: IFC Campus Concórdia.** v. 2. n. 1.

MENDÉZ, M.D.C.; RIET-CORREA, F. Plantas tóxicas e micotoxícoses. In: Plantas que causam necrose hepática. 2 ed. rev. e ampl. Pelotas. ed. Universitária. UFPEL. 2008. 298p.

MORAES, D. P. Alterações gonadais em ratos Wistar machos pré-púberes e púberes causadas pela intoxicação aguda por *Senecio brasiliensis*. 77 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal do Pampa, Campus Uruguaiana, Uruguaiana, 2019.

PANZIERA, Welden, Maiara A. GONÇALVES, Luiz G.S. OLIVEIRA, Marina P. LORENZETT, Matheus REIS, Márcia E. HAMMERSCHMITT, Saulo P. PAVARINI e David DRIEMEIER. 2017. Intoxicação por *Senecio brasiliensis* em bezerros: padrão e evolução de lesões hepáticas. **Pesq. Vet. Bras.** 37(1):8-16.

PAVARINI S.P., BANDINELLI M.B., BASSUINO D.M., CORREA G.L.F., BANDARRA P.M., DRIEMEIER D., HOHENDORFF R.V. & BOTH M.C. 2013. Novos aspectos sobre a intoxicação por *Trema micrantha* (Cannabaceae) em equídeos. **Pesquisa Veterinária Brasileira** 33(11):1339-1344. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/pvb/v33n11/v33n11a09.pdf>. Acesso em: 18/08/2019.

PILATI C. & BARROS C.S.L. 2007. Intoxicação experimental por *Senecio brasiliensis* (Asteraceae) em eqüinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira** 27(7):287-296.

PEIXOTO, P.V.; BARROS, C.S.L. A importância da necropsia em medicina veterinária **Pesq. Vet. Bras.** vol.18 n.3-4 Rio de Janeiro July 1998. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-736X1998000300008](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-736X1998000300008). Acesso em: 14/08/2019.

RADOSTITS, O. M.; Gay, C.C.; BLOOD, D.C; HINCHCLIFF, K.W. **Clínica Veterinária – Um tratado de Doenças dos Bovinos, Ovinos, Suínos, Caprinos e Equinos.** 9ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

RAYMUNDO, Djeison Lutier. Intoxicação espontânea por larvas de *Perreyia flavipes* (Pergidae) em ovinos e bovinos e intoxicação experimental em ovinos e coelhos. Porto Alegre: 2008. Disponível em: <http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/12431/000628568.pdf?sequence=1>>. Acesso em: 18/08/2019.

RIET-CORREA, F. & MEDEIROS, R.M.T. Intoxicações por plantas em ruminantes no Brasil e no Uruguai. **Pesq. Vet. Bras.** 21(1):38-42, jan./mar. 2001. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/pvb/v21n1/a08v21n1.pdf>. Acesso em: 18/08/2019

RIET-CORREA, F.; SHILD, A.L.; LEMOS, R.A.A.; BORGES, R.J. **Doenças de ruminantes e equídeos.** São Paulo. ed. 3. v. II. 2007. 669p.

TOKARNIA, C.H. et al. **Plantas tóxicas do Brasil para animais de produção.** 2.ed. Rio de Janeiro: Helianthus, 2012. 566p.

TRAVERSO S.D., CORREA A.M.R., SCHMITZ M., COLODEL E.M. & DRIEMEIER D. 2004 .- Intoxicação experimental por *Trema micrantha* (Ulmaceae) em bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira** 24(4):211-216. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/pvb/v24n4/a08v24n4.pdf>. Acesso em: 18/08/2019.

SANTOS, R. L.; ALESSI, A.C. **Patologia veterinária.** 2 ed. Rio de Janeiro. Roca, 2016. 856p.

SILVA, M. A.; Scárdua, C.M.; Dórea, M.D.; Nunes, L.C.; Martins, L.V.F; Donatele, D.M. 2009. Prevalência de hematuria enzoótica bovina em rebanhos leiteiros na microrregião do Caparaó, Sul do Espírito Santo, entre 2007 e 2008. **Cienc. Rural.** 2009, vol.39, n.6, pp.1847-1850.

SOARES M.P., QUEVEDO P.S. & SCHILD A.L. 2008. Intoxicação por larvas de *Perreyia flavipes* em bovinos na região sul do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira** 28(3):169-173.

SOARES FILHO, P. J. KANAAN, S; GUZMAN-SILVA, M.A. 2011. Avaliação do glicogênio hepático correlacionado com glicose sérica em ratas castradas sob tratamento com tibolona. **J Bras Patol Med Lab.**, v. 47, n. 5, p. 561-568, outubro 2011. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/jbpml/v47n5/v47n5a11.pdf>. Acesso em: 01/09/2019

UBIALI D.G., BOABAID F.M., BORGES N.A., CALDEIRA F.H.B., LODI L.R., PESCADOR C.A., SOUZA M.A. & COLODEL E.M. 2011. Intoxicação aguda com sementes de *Crotalaria spectabilis* (Leg. Papilionoideae) em suínos. **Pesquisa Veterinária Brasileira** 31(4):313- 318. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/pvb/v31n4/a07v31n4>. Acesso em: 18/08/2019.

WOUTERS F., WOUTERS A.T.B., WATANABE T.T.N., SOARES M.P., CRUZ C.E.F. & DRIEMEIER D. 2013. Pneumopathy in sheep caused by *Trema micrantha* poisoning. **Vet. Pathol.** 50:307-312.