

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS E CLINICOPATOLÓGICOS DA SENEIOSE
CRÔNICA EM BOVINOS NA MESORREGIÃO SUDOESTE RIO-GRANDENSE**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

ADRIANO ALEXANDRE KRABBE

Uruguaiana, RS, Brasil,
2014

Adriano Alexandre Krabbe

**ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS E CLINICOPATOLÓGICOS DA
SENECIOSE CRÔNICA EM BOVINOS NA MESORREGIÃO
SUDOESTE RIO-GRANDENSE**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal do Pampa, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciência Animal.

Orientador: Prof. Dr. Bruno Leite dos Anjos

Co-orientador: Prof. Dr. Ricardo Pozzobon

Uruguaiana, RS, Brasil,
2014

Adriano Alexandre Krabbe

**ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS E CLINICOPATOLÓGICOS DA SENEIOSE
CRÔNICA EM BOVINOS NA MESORREGIÃO SUDOESTE RIO-GRANDENSE**

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Ciência Animal Universidade
Federal do Pampa, como requisito parcial para
obtenção do Título de Mestre em Ciência Animal.

Área de concentração: Patologia Veterinária

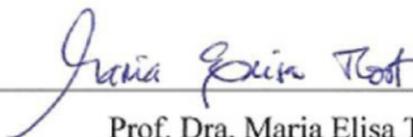
Dissertação defendida e aprovada em: 26/09/2014
Banca examinadora:



Prof. Dr. Bruno Leite dos Anjos
Orientador



Prof. Dr. Adriano Tony Ramos



Prof. Dra. Maria Elisa Trost

Dedico este trabalho a minha família, pelo apoio, exemplo de luta e persistência durante a minha vida. E pelo carinho e confiança depositado em mim.

Agradecimentos

A Deus, e aos meus pais, João e Glaci, e meus irmãos Eduardo e Katia, que me deram forças para a conquista dos objetivos traçados em minha vida. Auxiliando-me sempre em todos os momentos com muita compreensão e confiança.

Ao Professor e Orientador Bruno Leite dos Anjos, serei sempre grato pela oportunidade que me deu e aos, ensinamentos, pela amizade e pela paciência! Muito obrigado!

Ao Coordenador Professor Mário Brum e a todos os professores do Curso de Pós Graduação em Ciência Animal da Unipampa. Pelos conhecimentos transmitidos.

Aos colegas do LPV- Unipampa, meu sincero agradecimento a todos pela dedicação e amizade e apoio na condução deste trabalho. Muito obrigado!

As entidades Fundação de Amparo á Pesquisa do Rio Grande do Sul (FAPERGS) pela concessão da bolsa e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao CNPq pelo suporte financeiro.

Enfim, a todos que direta ou indireta indiretamente auxiliaram na concretização deste trabalho. Muito obrigado!

RESUMO

ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS E CLINICOPATOLÓGICOS DA SENEIOSE CRÔNICA EM BOVINOS NA MESORREGIÃO SUDOESTE RIO-GRANDENSE

AUTOR: ADRIANO ALEXANDRE KRABBE

ORIENTADOR: BRUNO LEITE DOS ANJOS

CO-ORIENTADOR: RICARDO POZZOBON

Data e Local da Defesa: Uruguaiana, 26 de setembro de 2014.

Este estudo objetivou descrever os aspectos epidemiológicos e clinicopatológicos da seneciose na mesorregião Sudoeste Rio-Grandense, enfatizando a importância da doença para a pecuária da região e da biópsia hepática para o diagnóstico conclusivo. Foram realizados questionários em 16 propriedades rurais visitadas em municípios da região que apresentaram casos suspeitos da intoxicação entre agosto de 2011 e março de 2014, através dos quais foi possível observar que a doença é possivelmente a que mais causa prejuízos econômicos à bovinocultura. De um total de 88 bovinos que apresentaram baixo desenvolvimento corporal, de nove propriedades distintas, 69 animais (aproximadamente 80%) foram positivos para seneciose crônica, e apresentaram lesões características da intoxicação como fibrose periportal (83% dos casos), hepatomegalocitose (81% dos casos) e proliferação de ductos biliares (73% dos casos), e essas alterações foram classificadas como discreta, leve, moderada ou acentuada. Foram estudados ainda 21 casos positivos de seneciose crônica, dos quais quatro vacas apresentaram alterações ovarianas caracterizadas microscopicamente por acentuada megalocitose e pseudoinclusão em células luteínicas grandes (CLG). Esse estudo confirmou a existência de bovinos intoxicados nos rebanhos, além de outros com potencial para desenvolver a forma clínica mais grave da doença. Os resultados dessas avaliações foram fundamentais para orientar os proprietários e técnicos quanto às principais características da doença e às formas de controle a serem adotadas. O presente trabalho permitiu concluir que a seneciose é a principal causa de morte de bovinos adultos na região, bem como estabelecer a real situação da doença nos rebanhos, além de descrever pela primeira vez as lesões gonadais em vacas com seneciose crônica.

Palavras chaves: alcaloides pirrolizidínicos, alterações gonadais, doenças de bovinos, distúrbios reprodutivos, patologia, plantas tóxicas, *Senecio* spp..

ABSTRACT**ASPECTS EPIDEMIOLOGICAL AND CLINICOPATHOLOGICAL
FINDINGS OF THE SENECIOSIS IN THE SOUTHWEST MESOREGION OF RIO
GRANDE DO SUL**

AUTHOR: ADRIANO ALEXANDRE KRABBE

ADVISOR: BRUNO LEITE DOS ANJOS

CO- ADVISOR: RICARDO POZZOBON

Date and Place of Defense: Uruguaiana, September 26, 2014

This work aimed to describe the epidemiological and clinicopathological findings of the seneciosis in the Southwest Mesoregion of Rio Grande do Sul, state of Brazil, emphasizing the importance of disease to livestock in the region and the importance of the liver biopsy for definitive diagnosis. Assessments were made through questionnaires in 16 rural properties in the region who had suspected cases of poisoning from August 2011 to March 2014. These assessments revealed that the disease is an important cause of mortality in adult cattle in the region and possibly the one that most causes economic losses to the raising cattle. From a total of 88 cattle that lower in the body development, from nine distinct properties, 69 animals (about 80%) were positive for chronic seneciosis after showing characteristic signs of the intoxication, as periportal fibrosis in 83% of cases, megalocytosis in 81% of cases and bile duct proliferation in 73% of cases, and these changes were classified as mild these changes were classified from mild to accentuated. Twenty-one positive cases of chronic seneciosis were also studied. These, four cows showed ovarian changes characterized microscopically by with marked megalocytosis and nuclear pseudo-inclusions in large luteal cells (LLC). This study confirmed the existence of cattle poisoned in herds, and others with potential to develop the most serious form of the disease. The results of these assessments were fundamental to guide owners and technicians about the main characteristics of the disease and forms of control to be adopted. The study showed that chronic seneciosis is the major cause of death in adult cattle in the region, as well as establish the real situation of the disease in herds, and describe the first time the gonadal lesions in cows with chronic seneciosis.

Keywords: diseases of cattle, hepatopathy, pirrolizidine alkaloids.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Artigo 1

- Fig.1.** Bovino submetido à biópsia hepática, apresentando escore de condição corporal inferior. Nota-se certa proeminência dos processos dorsais, dos íleos e dos ísquios e a cauda está menos inclusa nos coxais42
- Fig.2.** Bovino submetido à biópsia hepática, com bom escore corporal, demonstrando suave cobertura muscular e apresentando diarreia com fezes líquidas verde-escuras, sinal clínico característico de intoxicação por *Senecio* spp.42
- Fig.3.** Agulha utilizada na biópsia hepática com 155 x 2 mm adaptado com êmbolo43
- Fig.4.** Realização de biópsia hepática num bovino por acesso percutâneo e transtorácico, após antissepsia do campo com Iodo povidona e anestesia local com lidocaína 2%.43
- Fig.5.** Fragmento de fígado obtido por biópsia com aproximadamente 0,5-1,0 cm de comprimento por 0,1 cm de espessura..44
- Fig.6.** Mapa da Microrregião da Campanha Ocidental. Estão representados por letras os 10 municípios que a compõem a região do estudo. O canto inferior direito podem ser observados os números das propriedades que apresentaram casos de seneciose e que bovinos foram submetidos à biópsia hepática. (A) Maçambará (8, 10, 15, 16), (B) Uruguaiana (5 e 13), (C) São Borja (11), (D) Quaraí (7), (E) Alegrete (3)..44
- Fig.7.** Exemplares das espécies de plantas do gênero *Senecio* de maior ocorrência nas propriedades rurais avaliadas durante visitas técnicas. (A) *Senecio brasiliensis*. (B) *Senecio heterotrichius*. (C) *Senecio oxyphyllus*. (D) *Senecio selloi*..45
- Fig. 8.** Fígado. Megalocitose acentuada, caracterizada por aumento no tamanho e na proporção núcleo/citoplasma dos hepatócitos (seta). HE. Obj. 40x46
- Fig.9.** . Fígado. Fibrose periportal difusa acentuada (seta) HE. Obj. 40x.....46
- Fig.10.** Fígado. Acentuada proliferação de células epiteliais dos ductos biliares (seta). HE.100x.....47
- Fig.11.** Cortes histológicos da quantificação de graus de fibrose em fragmentos obtidos de biópsia hepática, coradas pela técnica histoquímica . (A) Fibrose discreta., (B) Fibrose leve.,(C) Fibrose moderada . (D) Fibrose acentuada. Tricrômico de Masson. Obj. 40x.....47

Fig.12. Área invadida por *Senecio brasiliensis*. Apesar da baixa palatabilidade, atrai o bovino pela oferta de plantas verdes.....48

Fig.13. Campo acima invadido por *Senecio spp.* em época de floração. Nota-se que na outra área, há pastoreio com ovinos, os mesmos citados como controle da planta, por apresentarem resistência à intoxicação.48

Artigo 2

Fig.1. Bovino – Fígado com Retração da capsula hepática com estrições brancacentas, com áreas de hemorragia. Nota-se vesícula biliar distendida.....65

Fig.2. Bovino – Fígado com superfície de corte apresenta coloração castanha, e mais pálido. Observam-se ainda inúmeras estriações brancacentas, entremeadas por áreas mais escuras.. 65

Fig.3. Bovino – Fígado apresentando megalocitose de hepatócito (seta). HE, 40x.....66

Fig.4. Bovino – Fígado apresenta hiperplasia difusa acentuada de células epiteliais de ductos biliares (seta) e fibrose periportal difusa acentuada (cabeça de seta). HE. 40x..66

Fig.5. Bovino – Ovário com megalocitose de células luteínicas grandes (seta) (CLG) HE. Obj. 40x.67

Fig.6. Ovário – Bovino. Núcleos de células luteínicas grandes de tamanho aumentado observada-se estrutura circulares, levemente eosinofílicas com margens bem definidas e envoltas por fina membrana, características semelhantes a pseudoinclusões (seta) HE. Obj. 40x.67

LISTA DE QUADROS

Artigo 1

- Quadro 1.** Aspectos epidemiológicos clínico patológicos dos casos de intoxicação por Senecio spp. relatados na microrregião da Campanha Ocidental do Rio Grande do Sul entre 2011 e 2014.38
- Quadro 2.** Achados microscópicos em fígados de bovinos com suspeita de intoxicação por Senecio spp. submetidos a biópsia hepática em propriedades da microrregião da Campanha Ocidental do Rio Grande do Sul entre 2011 e 2014.40

Artigo 2

- Quadro 1.** Levantamento epidemiológico de necropsias e histopatológicos de bovino intoxicados naturalmente por Senecio spp. registrados no LPV/Unipampa no período entre 2011 e 2014.61
- Quadro 2.** Lesões macroscópicas observadas em necropsias e histopatológicos de bovinos intoxicados naturalmente por Senecio spp. avaliados no LPV-Unipampa entre 2011 e 2014. 62
- Quadro 3.** Achados microscópicos de necropsias e exames histopatológicos registradas no LPV-Unipampa no período entre 2011 e 2014.....63
- Quadro 4.** Avaliação morfométrica dos núcleos de células luteínicas grandes (CLG) de bovinos com seneciose crônica.....64

SUMÁRIO

RESUMO	V
ABSTRACT	VI
LISTA DE ILUSTRAÇÕES	VII
LISTA DE QUADROS	IX
1 INTRODUÇÃO.....	11
2 REVISÃO BIBLIOGRAFICA	12
2.1 Plantas hepatotóxicas.....	12
2.1.1 <i>Senecio</i> spp	13
2.1.2 Mecanismo de ação dos alcaloides pirrolizidínicos	14
2.1.3 Sinais clínicos	16
2.1.4 Achados de necropsia	16
2.1.5 Achados histopatológicos	17
2.1.6 Microscopia eletrônica	18
2.1.7 Diagnóstico	19
2.1.8 Controle	20
2.2 Intoxicação experimental por plantas que contêm alcaloides pirrolizidínicos	21
2.3 Doenças que causam distúrbios reprodutivos.....	22
2.4 Gônadas e Formação de corpo lúteo.....	23
3 OBJETIVOS.....	24
4 ARTIGOS CIENTÍFICOS	25
4.1 Artigo 1.....	26
4.1 Artigo 2.....	49
5 DISCUSSÃO	68
6 CONCLUSÕES	71
7 PERSPECTIVAS	72
8 REFERÊNCIAS	73
APÊNDICE A	78
APÊNDICE B.....	79
ANEXO A	80

1 INTRODUÇÃO

No Brasil, as plantas tóxicas de diversos gêneros são incriminadas como causadoras de prejuízos econômicos por elevada mortalidade de bovina (Gava & Barros, 1997; Riet-Correa et al., 2007; Tokarnia et al., 2012). No Rio Grande do Sul as plantas tóxicas são responsáveis por grandes perdas econômicas na pecuária, sendo que 50% das perdas na pecuária gaúcha são causadas pelas diversas espécies de *Senecio* encontradas no estado (Riet-Correa & Medeiros, 2001; Rissi et al., 2007). Na mesorregião Sudoeste do Rio Grande do Sul se tem o conhecimento que o *Senecio* spp., encontra-se intensamente disseminado em suas pastagens e que essas plantas, possuem alcaloide pirrolizidínicos (APs) como o princípio tóxico, atualmente traz sérios prejuízos para a pecuária da região.

As intoxicações por *Senecio* spp., são responsáveis por lesões irreversíveis em células que possuem alto potencial mitótico, como os hepatócitos. No fígado, os hepatócitos, após apresentarem megalocitose, morrem e dão lugar a tecido fibroso. Nesse momento as funções hepáticas são comprometidas, os animais podem desenvolver quadros de encefalopatia hepáticas e em alguns casos fotossensibilização hepatógena (Méndez et al., 1987; Ilha et al., 2001; Grecco et al., 2010; Wouters et al., 2013, Giaretta et al., 2014).

É sabido que diversas substâncias tóxicas são capazes de causar distúrbios reprodutivos diretos e indiretos em animais (James et al., 1992). No caso da intoxicação por APs, como as células que possuem maior índice de replicação são as mais acometidas, é possível que haja acometimento de órgãos do sistema reprodutivo, estes que possuem alta replicação, especialmente na formação do corpo lúteo (Banks, 1991; Rafez & Rafez, 2003).

Dessa forma é extremamente importante obter o conhecimento detalhado dos aspectos epidemiológicos e clinicopatológicos da seneciose bovina na região e averiguar a ocorrência de possíveis efeitos deletérios em gônadas de bovinos com os mais variados graus de lesões provocadas pelos alcaloides pirrolizidínicos contidos no *Senecio*.

2 REVISÃO BIBLIOGRAFICA

2.1 Plantas hepatotóxicas

No Brasil, plantas de diversos gêneros são incriminadas como causadoras de prejuízos econômicos por elevada mortalidade de bovinos (Riet-Correa et al., 2007; Anjos et al., 2010; Tokarnia et al., 2012). Estima-se que 10% a 14% das mortes de bovinos no estado do Rio Grande do Sul sejam causadas por plantas tóxicas, o que corresponde de 64 mil a 90 mil cabeças/ano e aproximadamente 50% dessas mortes são causadas pelas diversas espécies de *Senecio* que ocorrem no estado (Riet-Correa & Medeiros 2001). No Rio Grande do Sul se destacam os gêneros *Senecio* e *Echium*, que possuem como princípio tóxico os alcaloides pirrolizidínicos (APs). Sendo o *Senecio brasiliensis*, conhecido popularmente como maria-mole, a principal planta tóxica da região (Karam et al., 2004; Rissi et al., 2007). Casos de intoxicação por *Echium plantagineum* em bovinos em pastagens cultivadas no Rio Grande do Sul também são relatados embora com baixa frequência (Riet-Correa et al., 2007).

Atualmente no Brasil se tem o conhecimento de aproximadamente 35 espécies de plantas que promovem lesões hepáticas essas são divididas em 16 gêneros que por sua vez podem ser divididas em três categorias: plantas que causam necrose hepática, plantas que causam fibrose hepática, e plantas que causam fotossensibilização (Santos et al., 2008).

Das plantas que causam necrose hepática as que pertencem aos gêneros *Cestrum* e *Xanthium* possuem como princípio ativo Carboxiatractilosídeos. Outras plantas do gênero *Cestrum* como, *C. intermedium*, *C. laevigatum*, *C. corymbosum* var. *Hisurtum* e de outras espécies como *Vernonia* spp., *Sessea brasiliensis*, *Dodonaea viscosa* e *Trema micrantha* ainda não tem o seu princípio toxico conhecido (Santos et al., 2008; Tokarnia et al., 2012).

A fotossensibilização hepatógena por intoxicação por *Lantana* spp., ocorre muitas vezes em animais transportados de áreas livres para áreas com a planta. A intoxicação ocorre em bovinos porem ovinos também são suscetíveis (Riet-Correa et al., 2007). Já a fotossensibilização por *Brachiaria* spp. acomete bovinos, ovinos, caprinos, bubalinos e equinos, sendo os animais mais novos mais susceptíveis a intoxicação. A fase mais tóxica da planta é quando as sementes estão maduras, período em que as saponinas estão presentes em maior quantidade. *Panicum* spp. é toxica principalmente para ovinos e ocasionalmente para bovinos. A intoxicação por *Myoprum laetum*, ocorre em rebanhos de bovinos e ovinos quando

as folhas e galhos são derrubados pelo vento ou pelo consumo das folhas quando estas se encontram no alcance dos mesmos. Suínos e equinos também são suscetíveis. *Styphnodendron* sp., causa morte dos animais e os que sobrevivem podem desenvolver fotossensibilização. *Enterolobium* spp., também levam a sinais clínicos digestivos e aborto em bovinos quando estes ingerem a brotação da planta (Riet-Correa et al., 2007).

Entre as plantas que causam fibrose hepática estão as que possuem como princípio tóxico alcaloides pirrolizidínicos, sendo os gêneros presentes no Brasil: *Senecio*, *Crotalaria* e *Echium* (Riet-Correa et al., 2007). O princípio tóxico dessas plantas promove lesões irreversíveis e progressivas no fígado dos bovinos levando a prejuízos econômicos com a perda dos animais intoxicados (Méndez., 1993; Méndez & Riet-Correa., 2000). E não menos importante porém não se tem o conhecimento do princípio ativo a *Tephrosia cinerea* (Santos et al., 2008).

2.1.1 *Senecio* spp.

Senecio spp. pertence à família Asteraceae, que tem mais de 1200 espécies conhecidas, destas 25 são sabidamente tóxicas (Santos et al., 2008; Cruz et al., 2010; Tokarnia et al., 2012; Cortinovis & Caloni 2013). Na América Sul se tem o conhecimento da existência de mais de 500 espécies da planta (Karam et al., 2011), sendo que no Brasil existem 128 espécies porém muitas delas não são comuns (Tokarnia et al., 2012). Os principais gêneros de *Senecio* que se destacam por estar associados à intoxicação de animais domésticos e selvagens em ordem decrescente de importância são: *S. brasiliensis*, *S. oxyphyllus*, *S. heterotrichus*, *S. cisplatinus*, *S. leptolobus*, *S. selloi*, *S. tweediei*, (Karam et al., 2004; Riet-Correa et al., 2007; Karam et al., 2011) e *S. madagascariensis* (Cruz et al., 2010). Estas têm como habitat áreas altas e mais frias de campo nativo ou cultivado com exceção o *S. tweediei* que tem com habitat áreas alagadiças (Tokarnia et al., 2012). São plantas anuais, que nascem produzem flores e frutos e morrem, elas necessitam de condições especiais para a sua ocorrência como: ambiente favorável, especialmente, umidade, incidência de luz e temperatura, favorecendo a emergência e brotação (Karam et al., 2002; Karam et al., 2004). A propagação de suas sementes se dá através do vento, desta forma disseminando a planta pelos campos do Sul do Brasil (Karam et al., 2002).

As principais espécies encontradas nos estados de São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul são: *S. brasiliensis* e *S. oxyphyllus* (Karam et al., 2011; Tokarnia et al., 2012). Matzenbacher et al., (2008) identificou a presença do *S. madagascariensis* no Rio Grande do Sul a qual é originária da África do Sul e no ano de 2010 foi relatado por Cruz et al., (2010) o primeiro caso de intoxicação por *S. madagascariensis* no Brasil.

O *Senecio* spp. tem como princípio tóxico alcaloides pirrolizidínicos (APs) (Lucena et al., 2010; Tokarnia et al., 2012) que estão presentes em todas as partes da planta e em todas as suas fases de crescimento. Porém é na brotação que oferece maior risco de intoxicação para os animais pois é quando se encontra misturada com pastagens e coincide com épocas de pouca oferta de pastagens, (Cruz et al., 2010; Santos-Mello et al., 2002; Karam et al., 2004). Os APs frequentemente isolados no gênero *Senecio* spp. são integerrimina, retrosina e senecionina (Santos-Mello et al., 2002; Trigo et al., 2003; Riet-Correa et al., 2007) sendo que no *S. brasiliensis* 70% do princípio ativo encontrado na planta é a integerrimina N-óxido (Elias et al., 2011).

Os princípios tóxicos presentes nas plantas do gênero *Senecio* spp., assim como nas demais plantas que causam fibrose hepática como *Crotalaria* spp. e *Echium* (Riet-Correa et al., 2007), acometem ruminantes, equinos, (Gava& Barros 1997), asininos (Pessoa et al., 2013), suínos, aves e animais de laboratório e causam lesão crônica irreversível no fígado (Tokarnia et al., 2012), em alguns casos dependendo da quantidade de planta ingerida pode promover lesões aguda (Karan et al., 2011).

2.1.2 Mecanismo de ação dos alcaloides pirrolizidínicos

Estudos demonstraram que os Alcaloides Pirrolizidínicos são altamente estáveis permanecendo nas plantas por 23 anos em temperatura e umidade variável, causando morte aguda em ratos intoxicados em até 24 horas (Santos-Mello et al., 2002).

A megalocitose é um efeito comum e ocorre através de uma síntese continuada de nucleoproteínas associadas à inibição da mitose (Lucena et al., 2010), promovida principalmente pelos pirróis éster no retículo endoplasmático (Knight & Walter 2001). Segundo Prakash et al., (1999) os APs induzem megalocitose devido a danos no DNA, conduzindo uma mutação nos genes reguladores do ciclo celular. A subsequente regulação alterada do ciclo celular é resultante de uma superexpressão da proteína defeituosa (mitose de

replicação incompleta). Como os núcleos das células não se dividem e continuam a sintetizar DNA, aumentam de tamanho e morrem, desta forma as células são substituídos por tecido fibroso ou por nódulos regenerativos. Ao mesmo tempo em que se desenvolve a megalocitose, ocorre fibroplasia e proliferação de células dos ductos biliares na tríade portal (Kelly., 1993).

Os quadros de edema observado em alguns casos principalmente cavitários são atribuídas à hipertensão da veia porta que decorre da fibrose hepática, redução da síntese proteína, ou ambas. Que vem sendo associado com os quadros de diarreia intermitente, tenesmo e prolapso retal. E também diretamente associado aos quadros de ascite, edema mesentérico (Lucena et al., 2010).

As lesões pulmonares encontradas de intoxicação por AP decorrem devido a ação dos metabólitos pirrólicos primários de vida longa, que podem alcançar os pulmões, onde causam danos às macromoléculas destes órgãos (Nobre et al., 2004). Principalmente em células claras do pulmão que possuem grande atividade da encima P450 (Torres et al. 2008; Pessoa et al. 2013)

Nos casos de intoxicação por APs a encefalopatia hepática ou doença hepatocerebral não é decorrente diretamente da ação do princípio tóxico mais sim secundária pela não metabolização da amônia oriunda do intestino em forma de ureia. Em virtude da hiperamonemia ocorre um acúmulo de amônia no SNC levando a encefalopatia hepática (Radostits et al., 2002; Basile et al., 2005; Lucena et al., 2010). A amônia em excesso na corrente sanguínea leva ao acúmulo no encéfalo, onde reage com o α -cetoglutarato, formado glutamina, prejudicando a formação de ATP para conduzir o metabolismo cerebral (Nobre et al., 2004; Santos et al., 2008).

A fotossensibilização é um achado pouco frequente em casos de intoxicação por *Senecio* spp. porem tem sido relacionada a casos com presença de sinais clínicos prolongados (Riet-Correa et al., 2007; Tokarnia et al., 2012; Giaretta et al., 2014). Foram relatados casos de fotossensibilização em rebanhos bovinos (Giaretta et al., 2014), equinos e ovinos (Karam et al., 2004). Esta é ocasionada por uma não eliminação de filoteritina pelo sangue no espaço porta. Pigmento produzido no trato digestivo pela degradação da clorofila que é fotodinâmica e será excretada na bile. Em casos de fibrose ocorre a obstrução de ductos biliares, desta forma não ocorrendo a excreção da bile, conseqüentemente ocorre o acúmulo de filoteritina nos tecidos. Em animais que tem a pele despigmentada ou em regiões com despigmentação da

pele, quando expostas aos raios solares ocorre uma reação com os raios ultravioleta causando danos vasculares e na epiderme e dermatite (Santos et al., 2008).

Tendo como base os efeitos dos APs em múltiplos tecidos, acredita-se que essa ação deletéria possa também ocorrer em tecidos de órgãos reprodutivos como em ovários de bovinos. Após a absorção dos APs no trato alimentar, estes são metabolizados no fígado e convertidos em derivados pirrólicos altamente reativos, os quais provocam lesões nos hepatócitos (Mattocks et al., 1990) e da mesma forma possam a vir causar lesões em gônadas de vacas.

2.1.3 Sinais clínicos

Nos casos de surtos por intoxicação dos APs em rebanhos bovinos os sinais clínicos são variáveis. Os quadros clínicos que podem ser observados são: encefalopatia hepática, apatia, encontram-se afastados do rebanho ou hiperexcitabilidade, incoordenação, andar compulsivo, agressividade, tenesmo, diarreia, em alguns casos pode-se observar ainda prolapso retal, podendo permanecer em decúbito até a morte, pelo arrepiado (Ilha et al., 2001; Riet-Correa et al., 2007; Lucena et al., 2010). O curso clínico pode ser curto de 24 a 96 horas em outros casos a evolução pode chegar até 3 meses. Nestes casos os bovinos podem apresentar, pelos arrepiados, emagrecimento progressivo com diarreia ou não. Alguns bovinos podem apresentar ascite, icterícia, e edema de membro e barbela (Gava & Barros 1997; Karam et al., 2004; Ilha et al. 2001; Riet-Correa et al., 2007). A fotossensibilização e cegueira raramente ocorrem em bovinos (Lucena et al., 2010).

2.1.4 Achados de necropsia

Bovinos intoxicados naturalmente, podem apresentar grande quantidade de líquido na cavidade abdominal (ascite), hidrotórax, edema de mesentério, das dobras do abomaso e dos linfonodos mesentéricos, também pode ser observado hemorragia na camada serosa dos órgãos abdominais. A vesícula biliar pode-se apresentar distendida, com edema da parede em algumas vezes com hiperplasia polipoide (Lucena et al., 2010). O parênquima hepático pode conter nódulos de regeneração de diferentes tamanhos e coloração que variam de vermelho a

alaranjado (Riet-Correa et al., 2007). O fígado pode estar diminuído ou aumentado de tamanho com os bordos arredondados, ao corte pode-se apresentar, firme e com cápsula esbranquiçada ou de coloração amarelada (Karam et al., 2004; Riet-Correa et al., 2007; Lucena et al., 2010). Em alguns casos pode se observar áreas hemorrágicas e proliferação de tecido fibroso na superfície, ou com áreas esbranquiçadas entremeadas por áreas de coloração vermelha (Riet-Correa et al., 2007). Os rins podem apresentar fibrosos e com manchas claras no córtex (Tokarnia et al., 2012).

2.1.5 Achados histopatológicos

Os achados histopatológicos característicos promovidos pelos APs encontram-se no fígado, onde pode ser observado um aumento do tamanho do citoplasma e do núcleo (megalocitose), geralmente apresentando cromatina condensada nos bordos, ainda é possível observar aumento de tecido conjuntivo distribuído difusamente ou de forma dissecante no parênquima do órgão (fibrose difusa), e proliferação de células epiteliais dos ductos biliares. Em alguns casos apresenta deposição de pigmento biliar devido à obstrução dos ductos. Em menor frequência pode-se ter nódulos de regeneração, estes com aspecto de hepatócitos normais (Karam et al., 2004; Grecco et al., 2010). Nos casos subagudos observa-se degeneração, necrose e vacuolização de hepatócitos (Basile et al., 2005; Riet-Correa et al., 2007). Entretanto é possível observar em diferentes casos vários padrões de lesão, o qual está relacionada à distribuição e à quantidade da fibrose, megalocitose e proliferação de ductos (Grecco et al., 2010).

No sistema nervoso observa-se vacúolos distribuídos entre tratos mielinizados da substância branca encefálica e na interface entre substância branca e cinzenta do córtex telencefálico e na cápsula interna, tálamo e colículos, essas alterações são conhecidas como “status spongiosus” (Santos et al., 2008; Riet-Correa et al., 2009; Wuoters et al., 2013).

Em um surto por intoxicação aguda por APs presente em *Crotalaria retusa* os ovinos desenvolveram lesões hepáticas que se caracterizaram por necrose centro lobular difusa (Lucena et al., 2010). Já em um surto de intoxicação crônica relatado por Ilha et al., (2001) em ovinos as principais lesões relatadas foram: variados graus de fibrose, megalocitose e proliferação de ductos, assim como macrófagos contendo pigmento acastanhado levemente amarelado, e algumas vezes se apresentando esverdeado, que correspondia ceróide e cobre que

pela coloração de PAS e pela rodanina. Em menor quantidade foi observou megalocitose contendo pseudo-inclusões nucleares, infiltrado monuclear periportal, degeneração, necrose de hepatócitos, nódulos de regeneração e bile estase entre hepatócitos.

Em equinos observa-se a ocorrência de megalocitose, fibrose e proliferação de ductos biliares em diferentes graus (Gava & Barros1997). Nos rins observa-se nefrose tubular, vacuolização de células tubulares, descamação de células epiteliais, glomerulite proliferativa e megalocitose de células do epitélio dos túbulos proximais (Nobre et al., 2004). O pulmão pode apresentar edema e infiltrado inflamatório mononuclear, principalmente macrófagos espumosos, alvéolos com áreas cobertas por epitélio cuboidal, enfisema alveolar, alveolite fibrosante, com espessamento de septos interalveolares e hiperplasia do epitélio dos brônquios (Gardiner et al., 1965; Curran et al., 1996; Nobre et al., 2004). SNC pode apresentar vacúolos em córtex telencefálico, núcleos da base e hipocampo (Gava & Barros., 1997).

Nos rins de suínos as lesões decorrentes da intoxicação por alcaloides pirrolizidínicos consistem, principalmente, de nefrite intersticial, alargamento do tufo glomerular por aumento da matriz mesangial (Torres et al., 1997), hipertrofia e cariomegalia (megalocitose) de células dos túbulos proximais e presença de material protéico e cilindros hialinos na luz dos túbulos (Souza et al., 1997; Torres et al., 1997). Megalocitose das células dos túbulos renais foi observado em suínos intoxicados por *Senecio jacobaea* (Nobre et al., 2004). Alterações vasculares como hialinização de arteríolas, tumefação de células endoteliais e proliferação da adventícia, com espessamento de parede de vasos também foram descritas (Torres et al., 1997). Nas vias respiratórias são relatadas: pneumonia intersticial, alterações degenerativas e proliferativas em capilares e arteríolas (Torres et al., 1997). Também são descritas, broncopneumonia e bronquite crônica em intoxicados por *Crotalaria spectabilis* (Souza et al., 1997)

2.1.6 Microscopia eletrônica

Os bovinos intoxicados por APs podem apresentar irregularidade da membrana de núcleo, projeções digitiformes com mitocôndrias dilatadas e corpos mielínicos em hepatócitos. Também é relatado necrose e apoptose de hepatócitos e resto de matriz celular sendo fagocitado por células de Kupffer. É possível observar inclusões intracitoplasmáticas que se apresentam como material eletrodense em núcleos de hepatócitos (Torres et al., 2008).

Na microscopia eletrônica de fígado de ovinos intoxicados, são descritos diversos graus de degeneração, que se caracterizam por gotas lipídicas e lisossomos repletos de material eletrodense, algumas vezes contendo lipofucina ceróide, uma discreta dilatação do retículo endoplasmático rugoso, hiperplasia do retículo endoplasmático liso, que pode ser interpretado como glicogênio ou ribossomos livres (Ilha et al., 2001; Dimande et al., 2007). Também é possível observar núcleos aumentados e a ocorrência de pseudo-inclusões proveniente de invaginações da membrana nuclear. Nos túbulos renais foi relatado edema das células, tumefação das mitocôndrias com desorganização e ruptura das cristas e matriz finamente granular e a presença de gotículas no citoplasma (Ilha et al., 2001).

2.1.7 Diagnóstico

O diagnóstico de seneciose pode ser estabelecido por exames bioquímicos através da mensuração das enzimas hepáticas GGT e AST. Quando essas enzimas se apresentam elevadas associado a presença de plantas que contém alcaloides pirrolizidínicos nas propriedades, sendo sugestivo porém não definitivo (Nobre et al., 2004; Santos et al., 2008). Os testes bioquímicos detectam insuficiência hepática porém não determinam a causa, e não são observadas alterações em casos subclínicos (Barros et al., 2007). Sendo interessante a realização de uma biópsia hepática para avaliação da extensão da lesão e confirmação da lesão (Nobre et al., 2004; Santos et al., 2008).

A biópsia hepática tem sensibilidade suficiente para o diagnóstico definitivo de intoxicação subclínica por *Senecio* spp. permite o diagnóstico precoce de lesões crônicas no fígado (Barros et al., 2007). É realizada através de abordagem transtorácica, com agulha de Menghini após tricotomia e antissepsia do campo e anestesia local. O ponto de eleição para a biópsia é 11º espaço intercostal direito, aproximadamente 20 cm abaixo da linha do dorso, no cruzamento de uma linha imaginária entre a tuberosidade externa do íleo e a escápula ponto que corresponde à posição topográfica do lobo direito do fígado (Braga, et al., 1985; Barros et al., 2007).

Devido aos aspectos e sinais clínicos observados nos casos de intoxicação por APs. deve ser considerado como diferencial para doenças que cursam com, sinais neurológicos como raiva, tristeza por *B. bovis*. As enfermidades do sistema digestivo como parasitárias que causam edema de membros e barbela, e a fotossensibilização seja confundida com outras

intoxicações que provocam lesões de pele (Basile et al., 2005) em virtude da importância que tem a enfermidade para a pecuária é de extrema importância uma análise conjunta dos dados epidemiológicos da região das alterações clínico-patológicas assim como o exame histopatológico e de patologia clínica para estabelecer um correto diagnóstico.

2.1.8 Controle

O controle das intoxicações por plantas normalmente baseia-se no controle dos fatores que estabelecem a sua ocorrência, frequência e distribuição geográfica. Para o controle das plantas do gênero *Senecio* no Sul do Brasil, muitos agropecuaristas vêm utilizando o pastoreio de ovinos, pois embora a espécie seja suscetível aos APs a intoxicação só ocorre na forma aguda e em situações de consumo excessivo em campos altamente infestados com lotações inadequadas. (Ilha et al., 2001; Grecco et al., 2011; Karam et al., 2013). Este método já vem sendo empregado a muitos anos (Basile et al., 2005; Bandarra et al., 2012).

Para a espécie *S. madagascariensis* tem sido relatado o controle químico. O qual deve ser realizado antes da floração com aplicações localizadas, e quando a planta tenha cerca de cinco folhas para que a dose mínima seja suficiente. O herbicida não atua sobre as sementes de modo que a aplicação deverá ser repetida por alguns anos até que se tenha controlado a planta (Karam et al., 2011).

A utilização de inseto para o controle biológico do *S. brasiliensis* com o *Phaedo confinisemrode* tem sido testada no Brasil, no entanto este método que já vem sendo utilizado em outros países com bons resultados (Riet-Correa et al., 2001; Karam et al., 2011). Nos EUA está sendo utilizado o controle biológico que consiste na utilização de insetos e outros patógenos de plantas, para o controle de *S. jacobea* tem se usado a liberação de três insetos: *Tyria jacobeeae*, *Longitarsus jacobeeae*, *Pegohylemia seneciella* (Riet-Correa et al., 2001).

Outras medidas como o manejo correto do solo e cobertura adequada de pastagens podem ser excelentes formas de controle (Karam et al., 2011). Pelos dados obtidos em estudos já foi possível determinar que a melhor época para o controle da planta é no inverno, porém a redução do número de plantas na propriedade ocorrerá a médio e longo prazo (Karam et al., 2013).

2.2 Intoxicação experimental por plantas que contêm alcaloides pirrolizidínicos

Experimentalmente bovinos, ovinos e equinos são suscetíveis a intoxicação por *Senecio*, porém bovinos se demonstram mais sensíveis (Pilati & Barros., 2007). Ovinos submetidos a intoxicação em doses elevadas desenvolvem a forma aguda da intoxicação por *Senecio* spp. Os sinais clínicos são observados até 24 horas após o ovino ter ingerido a planta, podendo desenvolver apatia e morte até 6 horas após início dos sinais clínicos. No presente trabalho concluiu-se que a resistência dos ovinos pode estar associada a ingestão contínua de *Senecio* spp. (Grecco et al., 2012). Em experimento realizado com equinos Pilati & Barros (2007) concluíram que os equinos são igualmente suscetíveis a intoxicação assim como os bovinos.

Experimento realizado com ovinos em duas propriedades no Rio Grande do Sul demonstrou que estes promovem o controle da brotação de *Senecio* spp. (Karam et al., 2013) Já em experimento realizado por Anjos et al. (2010) demonstrou-se que ovinos são suscetíveis a intoxicação aguda por APs porém o consumo diário de pequenas quantidades de *C. retusa* fazem com que os ovinos desenvolvam resistência a intoxicação pelo princípio tóxico das plantas. Pessoa et al. (2013) demonstraram que asininos são susceptíveis a intoxicação por APs e podem desenvolver apatia, anorexia, taquipnéia, taquicardia e pulso venoso positivo.

Para suínos foi comprovado que nas doses de 0,2, a 1% de *C. spectabilis* são altamente tóxicas, e levaram a morte os animais até 137 dias. (Souza et al., 1997; Torres et al., 1997). Foram observados por Souza et al., (1997) e Torres et al., (1997) redução no consumo de alimento, perda de pelos pretos, distúrbios respiratórios. As lesões observadas por Torres et al., (1997) na maioria dos casos foram crônicas apenas em um caso desenvolveu-se a forma aguda, que foi atribuída a um maior consumo de alimento que os demais suínos. No caso agudo foi observado hemorragias que foram atribuídas a uma redução na síntese dos fatores de coagulação.

Em experimento realizado por Dimande et al., (2007) em ratos submetidos a intoxicação por extrato de *S. inaequidens* foi relatado inicialmente uma redução nos seus hábitos, andar instável, também apresentaram pelos arrepiados e desenvolvimento de icterícia. Em ratas gestantes, intoxicados com 0,9 mg de integerrimina N-óxido extraído de *S. brasiliensis*, obtiveram um menor ganho de peso e redução no consumo de alimento e desenvolveram canibalismo. As proles demonstraram alterações no desenvolvimento como atraso no desenvolvimento e de comportamento. Porém mais estudos se fazem necessário para

esclarecer o mecanismo de ação (Sandini et al., 2014). Sandini et al., (2014) sugere também um possível atraso na maturação do SNC.

2.3 Doenças que causam distúrbios reprodutivos

É sabido que diversas plantas são capazes de causar alterações reprodutivas diretas e indiretas em bovinos em diversos países incluindo o Brasil, e seus mecanismos ainda são pouco compreendidos (James et al., 1992, Riet-Correa et al., 2007, Tokarnia et al., 2012). No Rio Grande do Sul, as doenças que causam distúrbios reprodutivos compõem também um importante grupo de enfermidades que causam perdas econômicas na criação de bovinos, estas são ligadas especialmente a causas infecciosas, nutricionais e tóxicas (Riet-Correa et al., 2007). Dentre elas, destacam-se as doenças infecciosas como; Rinotraqueíte Viral Bovina, Diarreia Viral Bovina, Leptospirose e a fome (Riet-Correa et al., 2007).

Na região sul do país as plantas *Ateleia glazioviana* e *Enterolobium* spp., *Trifolium subterraneum* causam alterações reprodutivas diretas e indiretas em bovinos, porém seus mecanismos ainda são pouco compreendidos (James et al. 1992, Riet-Correa et al. 2007, Riet-Correa et al. 2012, Tokarnia et al. 2012). A intoxicação por *Ateleia glazioviana* e *Enterolobium* spp., são conhecidas por causarem abortos em bovino e *Trifolium subterraneum* por promove hiperestrogenismo e baixos percentuais de prenhez (Riet-Correa et al., 2007; Tokarnia et al., 2012). Porém ainda há grande possibilidade de que alterações passíveis de promoverem distúrbios na reprodução em bovinos, não estejam sendo adequadamente identificadas na região e que o consumo de *Senecio* spp. possa interferir de alguma forma no aspecto reprodutivo de vacas dessa região, já que o processo de mitose é fundamental no desenvolvimento dos oócitos em vacas, e na formação do corpo lúteo, bem como na espermatogênese em touros (Banks, 1991; Rafez & Rafez, 2003).

Estudos feitos por Sandini et al., (2014) comprovaram alterações em proles de ratos em intoxicação experimental por APs que promovia efeitos neurológicos e no desenvolvimento. Concluindo que existem muitos estudos sobre a toxicidade de PAs, para animais domésticos, porém dados sobre efeitos em fêmeas prenhes intoxicadas e suas proles são escassos (Sandini et al., 2014).

2.4 Gônadas e formação de corpo lúteo

Os ovários sofrem diversas modificações durante ciclos e estas são caracterizadas por padrões celulares repetitivos de proliferação, migração, diferenciação e morte célula, que acompanham o desenvolvimento de folículos, formação e a regressão do corpo lúteo (Schams & Berisha., 2004). Corpo lúteo é uma glândula endócrina transitória que sofre intensa remodelação tecidual (Schams & Berisha., 2004) é formada por células luteínicas pequenas (CLP), células luteínicas grandes (CLG) associadas a fibroblastos e capilares (Bertan et al., 2006)

O processo de mitose é fundamental no desenvolvimento das células CLG e CLP do corpo lúteo (Banks, 1991, Rafez & Rafez, 2003). As CLP medem menos que 20mm e liberam baixas concentrações de progesterona P4. As CLG medem de 20-30 mm e seus núcleos apresentam média de 7 μ m de diâmetro e são responsáveis por produzirem altas quantidades de P4 (Bertan et al., 2006; Neves & Marques 2006).

Na maioria dos mamíferos o corpo lúteo é responsável pela síntese de diversos hormônios, tendo como o mais importante a progesterona (P4), um dos principal hormônio do desenvolvimento gestacional (Rafez & Rafez., 2003, Bertan et al.,2006) e pela síntese de ocitocina (Fehr et al., 1987). A P4 desempenha funções primordiais do sistema reprodutor feminino, como a regulação e a duração do ciclo estral, promove o miorelaxamento uterino, além de estimular a proliferação de células no endométrio, mantendo assim as condições necessárias para o feto (Banks, 1991, Reynonls, 1994, Rafez & Rafez, 2003, Bertan et al.,2006).

Para que a P4 seja sintetizada em grande quantidade, além da diferenciação celular, deve ocorrer um aumento na expressão enzimática para converter colesterol em P4 e o transporte de colesterol para o interior mitocondrial. O colesterol transportado para membrana mitocondrial, interage com a enzima P450 o transforma em pregnenolona. Este precursor é transportado para o retículo endoplasmático liso e por ação da enzimática da b-idroxiesteróide desidrogenase, isomerase-3 β -HSD onde é convertido em P4. Assim, a produção de P4 no CL é caracterizada por um aumento na expressão das enzimas que convertem o colesterol em P4 (P-450 e 3 β -HSD) e por um decréscimo na expressão das enzimas que convertem P4 em estrógeno (P450 17 α -hidroxilase e P450 aromatase) (Bertan et al., 2006).

3 OBJETIVOS

Essa dissertação tem como objetivo descrever os principais aspectos epidemiológicos e clinicopatológicos da seneciose crônica em bovinos na Mesorregião Sudoeste Rio-grandense, enfatizando a importância da biópsia hepática para o diagnóstico conclusivo da intoxicação.

Tem como propósito ainda descrever pela primeira vez as lesões gonadais em vacas com seneciose crônica e discutir algumas de suas implicações no ciclo reprodutivo de animais intoxicados.

4 ARTIGOS CIENTÍFICOS

Os resultados que fazem parte desta dissertação estão apresentados sob a forma de dois artigos científicos. As seções referentes à Material e Métodos, Resultados, Discussão e Referências Bibliográficas encontram-se nos artigos. Os artigos estão apresentados sob as normas de redação do periódico Pesquisa Veterinária Brasileira. O Artigo 1 encontra-se aceito para publicação (Anexo A).

4.1 Artigo 1

Trabalho LD...

Seneciose bovina na microrregião da Campanha Ocidental do Rio Grande do Sul¹

Adriano A. Krabbe², Maiara A. Gonçalves³, Caroline S. Silveira², Raissa M. Morais³, Lucas S. Quevedo³, Paula V. R. Ribeiro⁴ e Bruno L. Anjos^{3*}

ABSTRACT.- Krabbe A.A., Gonçalves M.A., Silveira C.S., Morais R.M., Ribeiro P.V.R. & Anjos B.L. 2014. [**Bovine seneciosis in the microregion of Western Campaign of Rio Grande do Sul, Brazil.**] Seneciose bovina na microrregião da Campanha Ocidental do Rio Grande do Sul. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 34(0):000-000. Laboratório de Patologia Veterinária, Universidade Federal do Pampa, Uruguaiana, RS 97500-970, Brazil. E-mail: anjosbl@gmail.com

Poisoning by *Senecio* spp. (maria-mole) is the main cause of toxic death of cattle in central and southern Rio Grande do Sul. Considering the limited information concerning this condition in the micro region of Western Campaign, this paper aims to describe the main epidemiological aspects of seneciosis in cattle in the region and emphasize the importance of the issues involved with the poisoning and the importance of liver biopsy for the conclusive diagnosis. Assessments were made through questionnaires in 16 rural properties in the region who had suspected cases of poisoning between August 2011 and March 2014. These evaluations revealed that the disease is an important cause of mortality in adult cattle in the region and possibly the one that most causes economic losses to the raising cattle. During the visits were evaluated the main epidemiological aspects of the poisoning and were performed sample collection of plants of the genus *Senecio* for botanical identification, as well as samples of liver fragments using transthoracic biopsy for confirmation of poisoning by *Senecio*. The *Senecio* species most common in farms were *S. brasiliensis* e *S. heterothichius*.

¹ Recebido em 8 de setembro de 2014.

Aceito para publicação em

Parte da dissertação de mestrado do primeiro autor.

² Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, área de concentração em Sanidade Animal/Patologia Veterinária, Universidade Federal do Pampa (Unipampa), Uruguaiana, RS 97500970, Brasil.

³ Laboratório de Patologia Veterinária (LPV), Unipampa, Uruguaiana, RS 97500970.

⁴ Medica Veterinária da Inspeção Veterinária do Rio Grande do Sul, Maçambará, RS 97645000, Brasil.

*Autor para correspondência: anjosbl@gmail.com.br

From a total of 88 cattle that failed in the body development, from nine distinct properties, 69 animals (about 80%) were positive for chronic seneciosis after showing characteristic signs of the intoxication, as periportal fibrosis in 83% of cases, megalocytosis in 81% of cases and bile duct proliferation in 73% of cases, classified from mild to accentuated. This study confirmed the intoxication of clinically affected cattle in the herds, and demonstrated that many of clinically healthy animals have great potential to develop the most severe clinical form of the disease. The results of these assessments were fundamental to guide owners and technicians about the main characteristics of the disease and forms of control to be adopted. The use of hepatic biopsy was helpful in making the most careful disposal of cattle, still possible to establish the true situation of the disease in the herd, and it was really important to reduce the economic losses.

INDEX TERMS: Diseases of cattle, hepatopathy, pyrrolizidine alkaloids, poisoning plants, *Senecio*.

RESUMO.- A intoxicação por *Senecio* spp. (maria-mole) é a principal causa tóxica de morte de bovinos na região central e sul do Rio Grande do Sul, porém, considerando a limitação de informações acerca dessa condição na microrregião da Campanha Ocidental, esse trabalho tem como objetivo descrever os principais aspectos epidemiológicos da seneciose em bovinos na região e enfatizar a importância dos aspectos relativos à intoxicação e à biópsia hepática para o seu diagnóstico conclusivo. A avaliação foi realizada através da aplicação de questionários em 16 propriedades rurais de municípios da região que apresentaram casos suspeitos da intoxicação entre agosto de 2011 e março de 2014. Esses revelaram que a doença é uma importante causa de mortalidade de bovinos adultos e possivelmente a que mais causa prejuízos econômicos na bovinocultura. Foram avaliados os principais aspectos epidemiológicos da intoxicação e realizadas coletas de plantas do gênero *Senecio* para identificação botânica, bem como a coleta de fragmentos de fígado através de biópsia transtorácica para confirmação da intoxicação por *Senecio*. As espécies de *Senecio* mais frequentes nas propriedades foram *S. brasiliensis* e *S. heterotrichius*. De um total de 88 bovinos, que apresentaram falha no ganho de peso, de nove propriedades distintas, 69 animais (aproximadamente 80%) foram positivos para seneciose crônica após apresentarem lesões características da intoxicação como fibrose periportal em 83% dos casos, megalocitose em 81% dos casos e proliferação de ductos biliares em 73% dos casos, classificadas como

discreta, leve, moderada ou acentuada. Esse estudo confirmou a existência de mais bovinos intoxicados nos rebanhos, com potencial para desenvolver a forma clínica mais grave. Os resultados obtidos nessas avaliações foram fundamentais para orientar proprietários e técnicos quanto às principais características da doença e às formas de controle a serem adotadas. O emprego da biópsia hepática auxiliou os criadores a realizarem o descarte mais criterioso de bovinos e estabelecer a real situação do rebanho, o que possibilitou minimizar as perdas econômicas causadas pela seneciose.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Doenças de bovinos, hepatopatia, alcaloides pirrolizidínicos, plantas tóxicas, *Senecio*.

INTRODUÇÃO

No Brasil, diversos gêneros de plantas tóxicas são incriminados como causadores de prejuízos econômicos por induzirem elevada mortalidade de bovinos (Riet-Correa et al. 2007, Tokarnia et al. 2012, Pessoa et al. 2013) e entre elas destacam-se as plantas que causam alterações hepáticas e têm como princípio tóxico os alcaloides pirrolizidínicos (AP) (Anjos et al., 2010, Tokarnia et al. 2012), das quais se destacam as várias espécies de *Senecio*.

As plantas do gênero *Senecio* (família Asteraceae) são conhecidas popularmente como maria-mole ou flor-das-almas. Essas plantas são anuais e necessitam de condições especiais de umidade, luminosidade, solo e temperatura que são encontradas no Rio Grande do Sul (Karam et al. 2002). Existem mais de 1200 espécies de *Senecio*, das quais 25 são comprovadamente tóxicas para animais (Cruz et al. 2010, Tokarnia et al. 2012). No Rio Grande do Sul, as principais espécies de *Senecio* associadas a intoxicação em bovinos são *S. brasiliensis*, *S. oxyphyllus*, *S. heterotrichius*, *S. cisplatinus*, *S. leptolobus*, *S. selloi* e *S. tweediei* (Karam et al. 2004, Riet-Correa et al. 2007).

Os principais sinais clínicos causados pelos alcaloides pirrolizidínicos (AP) em bovinos são apatia, emagrecimento progressivo, tenesmo, prolapso retal, diarreia escura, tremores, incoordenação, agressividade e raramente podem ser observadas icterícia e fotodermatite (Rissi et al. 2007, Giaretta et al. 2014). Os animais manifestam os sinais clínicos após dias ou meses de ingestão da planta até morrerem por quadro de cirrose hepática. Por vezes, os sinais clínicos podem regredir e após meses os bovinos podem voltar a apresentar a forma clínica grave da doença (Prakash et al. 1999).

Atualmente, estima-se que mais de 10% das mortes de bovinos no Rio Grande do Sul sejam causadas por plantas tóxicas, o que corresponde a uma média de 70 mil bovinos mortos por ano (Riet-Correa & Medeiros 2001), e aproximadamente 50% destas mortes são ocasionadas por diversas espécies de *Senecio*, difundidas em todas as regiões do estado (Riet-Correa & Medeiros, 2001, Schild et al. 2004, Rissi et al. 2007). A intoxicação por *Senecio* é a principal causa de morte de bovinos na região central (Rissi et al. 2007, Lucena et al. 2010) e sul (Karam et al. 2004) do Rio Grande do Sul. Possivelmente, essa ocorrência seja ainda maior na mesorregião Sudoeste Rio-grandense, por esta apresentar características ambientais e métodos de manejo dos rebanhos que favorecem a intoxicação (Anjo, 2014 – comunicação pessoal). Embora o *Senecio*, especialmente o *S. brasiliensis*, seja conhecido na região, possivelmente ainda há falhas no reconhecimento de outras espécies no estabelecimento do diagnóstico da intoxicação.

Um dos métodos mais eficazes de diagnóstico da seneciose é a avaliação histológica do fígado coletado no momento da necropsia ou através de biópsia hepática (Barros et al. 2007, Tokarnia et al. 2012), porém essa técnica ainda é pouco difundida na região.

Considerando a importância da seneciose em bovinos no Rio Grande do Sul e a limitação de informações acerca dessa condição na microrregião da Campanha Ocidental, esse trabalho tem como objetivo descrever os principais aspectos epidemiológicos da seneciose bovina na região e enfatizar a importância da biópsia hepática para o diagnóstico conclusivo da intoxicação.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizadas visitas técnicas em propriedades rurais da microrregião da Campanha Ocidental do Rio Grande do Sul, sempre que havia a suspeita clínica de casos da intoxicação por *Senecio* spp. e o contato foi estabelecido com Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade Federal do Pampa (LPV-Unipampa) entre agosto de 2011 e março de 2014. Foi realizada aplicação de questionário padrão (ANEXO A) e realizada avaliação *in loco* das propriedades, os quais levantaram os principais aspectos epidemiológicos e clinicopatológicos (Quadro 1).

Em algumas propriedades, foram realizadas biópsias hepáticas em bovinos (Fig.1 e Fig.2). Para a técnica de biópsia foi utilizada agulha 155x2mm adaptada com êmbolo (Fig.3), e o procedimento realizado por abordagem transtorácica no 11º espaço intercostal direito, aproximadamente 20 cm abaixo da linha do dorso (Fig.4), após anestesia local com lidocaína

a 2% (Braga et al. 1985). Os fragmentos coletados foram fixados em formol 10% (Fig.5), identificados e processados rotineiramente para avaliação histopatológica através de cortes com 3µm, corados por Hematoxilina e Eosina (H&E) e Tricrômico de Masson.

RESULTADOS

Foram aplicados os questionários em 16 propriedades (Quadro 1) pertencentes aos municípios de Maçambará (5 propriedades), Uruguaiana (4), São Borja (4), Quaraí (1), Alegrete (1), e Manoel Viana (1), que apresentaram mortalidade de bovinos caracterizada por casos isolados ou em forma de surtos com suspeita de intoxicação por *Senecio* (Fig.6). Nas propriedades o sistema de produção era extensivo e a forragem caracterizada por campo nativo e grande quantidade de capim anonne, com suplementação irregular nas épocas de inverno, quando a região apresenta escassez de pastagens. Das 16 propriedades, 12 apresentam ciclo completo de produção (nascimento e terminação de bovinos), em três delas a exploração se caracterizava por terminação/engorda e uma destinava-se a cria de bezerros. Das propriedades avaliadas no estudo, 14 apresentaram a intoxicação sob a forma de surto, uma com um caso isolado (Propriedade 1) e em apenas uma delas nenhum bovino morreu (Propriedade 11). De um total de 12.328 bovinos sobre risco de desenvolver a intoxicação, 310 (2,51%) apresentaram sinais clínicos compatíveis com a doença e desses, 250 (2,02%) morreram após apresentarem sinais clínicos e lesões macroscópicas compatíveis com a intoxicação crônica por *Senecio* spp..

Durante as visitas técnicas que ocorreram entre os meses de maio e novembro dos anos de 2012 e de 2013 foram catalogadas plantas de diferentes espécies de *Senecio* spp. como: *Senecio brasiliensis*, *S. heterotrichius*, *S. oxyphyllus*, *S. selloi* (Fig.7) e *S. leptolobus*. Em todas as propriedades foram observadas pelo menos duas dessas espécies, com maior frequência do *Senecio brasiliensis*, presente em todas as propriedades. *S. leptolobus* foi encontrado apenas na Propriedade 7 no município de Quaraí-RS. Nenhuma das propriedades utilizava ovinos como forma de controle. Esses animais eram criados em pequeno número e apenas para o consumo.

Em dez das propriedades (3-5, 7-9, 12, 14-16) foi instituído algum tipo de tratamento aos bovinos doentes, que tinha como base medicamentos antitóxicos e antibióticos e, em apenas duas propriedades, os bovinos foram retirados das áreas invadidas por *Senecio* spp. Em cinco propriedades (3, 5, 7, 15, 16) houve recuperação de bovinos intoxicados e em quatro dessas (3, 5, 7 e 15) alguns dos animais foram vendidos para o abate após melhora do estado corporal. Os animais que permaneceram magros na propriedade tornaram a apresentar sinais

clínicos e morreram. Dessas cinco propriedades, todas apresentaram casos da intoxicação nas épocas que corresponderam ao final da primavera e ao verão, com exceção da Propriedade 7.

O curso clínico apresentado pelos bovinos variou entre quatro dias e seis meses e caracterizou-se por emagrecimento progressivo, diarreia escura (Fig.3), apatia, dificuldade de locomoção e agressividade. Necropsias a campo foram realizadas por médicos veterinários em bovinos de nove propriedades e os principais achados macroscópicos foram ascite, fígado mais firme com cápsula brancacenta e edema de abomaso e mesentério. Os achados epidemiológicos e clinicopatológicos avaliados nos questionários aplicado aos produtores e veterinários podem ser visualizados no Quadro 1.

Em nove propriedades (3, 5, 7, 8, 10, 11, 13, 15 e 16) foram realizadas coletas de fígado de bovinos através de biópsia. De um total de 3.859 bovinos, 88 foram submetidos ao procedimento (Fig.4) e desses, 69 (78,4%) foram positivos e 19 (21,59%) negativos para intoxicação crônica por *Senecio*. Microscopicamente, as lesões foram caracterizadas por fibrose periportal em 78,4% dos casos (Fig.8), megalocitose em 76,13% dos casos (Fig.9) e proliferação de ductos biliares em 68,13% dos casos (Fig. 10) e quando coradas com Tricrômio de Masson observou-se a proliferação da fibrose corada em azul (Fig.11). Essas lesões variaram entre discretas e acentuadas e o grau de fibrose que pode ser observado no Quadro 2. Nos casos acentuados observou-se estase biliar.

DISCUSSÃO

A região em estudo é caracterizada por possuir, na sua maioria, grandes propriedades com pastagem nativa e rebanhos criados de forma extensiva, além de apresentar períodos de estiagem com elevadas temperaturas (acima de 40°C) e invernos rigorosos com temperaturas negativas e com grande escassez de pastagens. Esses fatores favorecem a intoxicação de bovinos por *Senecio*, pois seu consumo é elevado devido à escassez das pastagens, embora apresente baixa palatabilidade (Driemeier et al. 1991, Barros et al. 1992, Karam et al. 2002, Grecco et al. 2011, Tokarnia et al. 2012).

Nos períodos do ano com grande oscilação da temperatura ocorre o aumento das exigências metabólicas dos bovinos (Peterson & Culvenor 1983, Karam et al. 2004) o que pode ser um fator agravante para a ocorrência da intoxicação nessa região. Na maioria dos casos desse estudo, os bovinos apresentaram sinais clínicos no final do inverno e durante o verão, aspecto semelhante ao descrito em estudos realizados nas regiões central e sul do Rio Grande do Sul (Barros et al. 1987, Méndez et al. 1993, Karam et al. 2004, Grecco et al. 2010,

Karam et al. 2011). Esses dois períodos exigem dos bovinos uma grande atividade metabólica, pois correspondem, respectivamente, a escassez de forragem com baixas temperaturas e ao terço final da gestão das vacas (inverno) e a temperaturas muito altas (verão), além de tradicionalmente este último corresponder a fase de cobertura das vacas (Cardoso et al. 2000).

Atualmente, é proposto que a menor ocorrência da doença em machos jovens esteja atribuída, em geral, a uma menor permanência desses bovinos na propriedade e conseqüentemente menor ingestão da planta, quando comparado com as vacas (Karam et al. 2004), no entanto, pelo que é proposto por Barros et al. (2007) e também observado nos casos aqui abordados, a evolução clínica da doença em poucos dias ou semanas seria suficiente para desencadear a intoxicação nos machos jovens após o desmame, uma vez que, a maioria dos rebanhos possuem grande número de animais nessa faixa etária, destinados a engorda e abate. Diferentemente das fêmeas, esses animais sofrem menor estresse, pois as melhores pastagens são destinadas a esse grupo. Possivelmente, a menor ocorrência da seneciose em terneiros esteja mais relacionada com as menores mudanças no manejo e menos estresse metabólico (Prakash et al. 1999).

Durante as visitas as propriedades as espécies de senecio mais frequentes observadas foram *S. brasiliensis* e *S. heterothichius*. Essa última, bem como as espécies *S. Selloi*, *S. oxyphyllus* e *S. leptolobus* apresentam morfologia bastante distinta do *S. brasiliensis*, especialmente nas fases de brotação (sem flores) e não foram reconhecidos pela maioria produtores e técnicos como Maria-mole. Esse aspecto leva a possibilidade de que muitos surtos não são diagnosticados. Deve ser ressaltado que na maioria das propriedades visitadas foram observados campos intensamente invadidos por *Senecio* em meio a grande quantidade de capim-annoni (*Eragrostis plana*), este, na sua grande maioria, sem qualquer tipo de manejo, o que o torna menos palatável e com baixo potencial nutricional (Reis & Coelho 2000, Carlotto et al. 2010) e favorece o consumo de *Senecio*, que é uma das poucas plantas que se mantêm verdes durante o inverno (Fig.12).

Os sinais clínicos descritos nos casos aqui relatados são compatíveis com seneciose crônica (Riet-Correa et al. 2007, Grecco et al. 2010), no entanto o desconhecimento das principais características da doença e a falta de diagnóstico conclusivo por parte dos técnicos nas propriedades ainda fazem com que muitos casos passem despercebidos. Esses aspectos confirmam a ideia de que, embora os prejuízos causados pelas mortes de bovinos sejam altos (Riet-Correa & Medeiros 2001), os índices de morbidade ainda são subestimados. Percebeu-

se ainda que a maioria dos produtores mantinham os bovinos mais magros na propriedade com o intuito de melhorar sua condição corporal e alguns ainda praticavam erroneamente a venda dos bovinos com seneciose para outros produtores, o que aumenta significativamente os prejuízos.

No presente estudo, foram realizadas necropsias de bovinos por médicos veterinários em nove propriedades e os achados macroscópicos predominantes foram ascite, fígado mais firme com cápsula brancacenta e edema de abomaso e mesentério. Esses achados caracterizam a forma crônica da intoxicação (Lucena et al. 2010), no entanto, nenhuma amostra de tecido de bovinos intoxicados foi submetida por médicos veterinários ou produtores à avaliação histopatológica por dificuldade logística de encaminhamento de amostras após a realização das necropsias.

Para a maioria dos médicos veterinários entrevistados a técnica de biópsia hepática era desconhecida. Nas nove propriedades onde o procedimento foi empregado, este se mostrou de fácil execução. A biópsia hepática é um excelente método de diagnóstico para a seneciose e permiti estabelecer a real situação dos rebanhos frente à doença (Barros et al. 2007, Tokarnia et al. 2012). O procedimento auxiliou sobremaneira o estabelecimento do diagnóstico e na seleção mais criteriosa dos bovinos a serem descartados dos rebanhos.

Mediante a confirmação da intoxicação nos bovinos os proprietários foram instruídos a realizar o controle da planta através inserção de ovinos nas áreas de pastoreio na proporção de um ovino para cada dois hectares, especialmente durante os meses de inverno, quando tem início a brotação do *Senecio* (Driemeier et al. 1991, Barros et al. 1992, Soares et al. 2000, Karam et al. 2004, 2013, Grecco et al. 2011). Segundo Karam et al. (2013) o pastoreio dos ovinos no inverno interfere drasticamente no desenvolvimento da planta e diminui sua difusão nas pastagens (Fig.13). Karam et al. (2004) observaram que, na região sul do Rio Grande do Sul, houve maior ocorrência de surtos com a diminuição da população de ovinos na região. Isso também pode ser visualizado nos levantamentos recentes da população de ovinos da microrregião da Campanha Ocidental (IBGE 2012), provavelmente associada à desvalorização da lã, as perdas por parasitoses, dificuldade com o manejo e o abigeato.

Foi observado ainda que, mesmo nas propriedades onde era realizado o controle da planta, ela ressurgiu no ano seguinte. Isso é explicado pelo fato dos produtores vizinhos não realizarem sua eliminação. A difusão da planta por meio de sementes e também por dispersão aérea associada a fortes ventos, característicos da região, dificultou seu combate.

Uma informação relevante que foi levantada nesse estudo foram os baixos índices reprodutivos de alguns dos rebanhos sem confirmação dos agentes causadores, mesmo em propriedades com acompanhamento técnico periódico. Embora diversas condições patológicas possam desencadear distúrbios reprodutivos em bovinos, em muitos casos a etiologia não é determinada (Grunert et al. 2005, Riet-Correa et al. 2007) e deve-se levar em consideração o efeito dos AP contidos no *Senecio* como uma possível causa para esses distúrbios. Possivelmente, sua constante presença nos campos em quantidades suficientes para causar a intoxicação e sua frequente ingestão por bovinos, especialmente fêmeas, bem como seu efeito sobre o metabolismo hepático e lesões em outros tecidos, possam causar distúrbios reprodutivos diretos e indiretos em bovinos.

Embora a principal lesão observada nos bovinos intoxicados por AP seja a fibrose hepática com hepatomegalocitose e proliferação de células de ductos biliares (Barros et al. 2007, Riet-Correa et al. 2007, Grecco et al. 2010), o que já poderia indiretamente interferir no metabolismo hepático e levar a perdas reprodutivas, o efeito direto dos AP no sistema reprodutivo dos bovinos é desconhecido, especialmente quando se trata das rotas metabólicas de diversos hormônios como progesterona e no funcionamento de enzimas como P450 em gônadas.

Agradecimentos.- À FAPERGS e ao CNPq pelo auxílio financeiro.

REFERÊNCIAS

- Anjos B.L., Nobre V.M.T., Dantas A.F.M., Medeiros R.M.T., Oliveira Neto T.S., Molyneux R.J. & Riet-Correa F. 2010. Poisoning of sheep by seeds of *Crotalaria retusa*: acquired resistance by continuous administration of low doses. *Toxicon* 55:28-32.
- Barros. C.S.L., Metzdorf L.L. & Peixoto P.V. 1987. Ocorrência de surtos da intoxicação por *Senecio brasiliensis* (Compositae) em bovinos no Rio Grande Sul. *Pes. Vet. Bras.* 7:101-107.
- Barros C.S.L., Driemeier D., Pilati C., Barros S.S. & Castilhos L.M.L. 1992. *Senecio* spp. poisoning in cattle in southern Brazil. *Vet. Hum. Toxicol.* 34(3):241-246.
- Barros C.S.L., Castilhos L.M.L., Rissi D.R., Krommers G.D. & Rech R.R. 2007. Biópsia hepática no diagnóstico da intoxicação por *Senecio brasiliensis* (Asteraceae) em bovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 27(1):53-60.

- Cardoso F.F., Cardellino R.A. & Campos L.T. 2000. Época de nascimento no crescimento de bezerros aberdeen angus criados no rio grande do sul e suas implicações no melhoramento genético. *Ciência Rural* 30(6):1047-1051.
- Carlotto S.B., Medeiros R.B., Pelegrini C.B, Garcia R.P.A., Lisboa C.A.V. & Saibro J.C. 2010. Comportamento ingestivo diurno de vacas primíparas em pastagem nativa dominada por capim-annoni-2 com suplementação proteica e mineral em diversas estações climáticas. *Revta Bras. Zootec.* 39(3):454-461.
- Clawson A.B. 1933. The American groundsells species of *Senecio* as stock poisoning plants. *Vet. Med.* 28:105-110.
- Cruz C.E.F., Karam F.C., Dalto A.C., Pavarini S.P., Bandarra P.M. & Driemeier D. 2010. Fireweed (*Senecio madagascariensis*) poisoning in cattle. *Pes. Vet. Bras.* 30(1):10-12.
- Dollahite J.W. 1972. The use of sheep and goats to control *Senecio* poisoning in catle. *South Vet.* 25(3):223-226.
- Driemeier D., Barros C.S.L. & Pilati C. 1991. Seneciose em bovinos. *Hora Vet.* 59:23-30.
- Gava A. & Barros C.S.L. 1997. *Senecio* spp. poisoning of horses in southern Brazil. *Pesq. Vet. Bras.* 17(1):36-40.
- Giaretta P.R., Panzieira W., Galiza G.J.A., Brum J.S., Bianchi R.M., Hammerschmitt M.E. Bazzi T. & Barros C.S.L. 2014. Seneciosis in cattle associated with photosensitization. *Pesq. Vet. Bras.* 34(5):427-432.
- Grecco F.B., Shild A.L., Estima-Silva P., Marcolongo-Pereira C., Soares M.P. & Salles E.S.V. 2010. Aspectos epidemiológicos e padrões das lesões hepáticas em 35 surtos de intoxicação por *Senecio* spp. em bovinos no sul do Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras.* 30(5):389-397.
- Grecco F.B., Estima-Silva P., Marcolongo-Pereira C., Soares M.P., Collares G. & Schild A.L. 2011. Seneciose crônica em ovinos no sul do Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras.* 31(4):326-330.
- Grunert E., Birgel L.M. & Vale W.G. 2005. Clínica da reprodução doa animais mamíferos domésticos. Varela, São Paulo. 502p.
- Harding J.D.J., Lewis G., Done J.T. & Allcroft R. 1964. Experimental poisoning by *Senecio jacobaea* in pigs. *Pathol. Vet.* 1:204-220.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pecuária Rebanho Bovino e Ovino. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/xtras/home.php> Acesso em 1 mai. 2014.

- Ilha M.R., Loretto A.P., Barros S.S. & Barros C.S.L. 2001. Intoxicação espon-tânea por *Senecio brasiliensis* (Asteraceae) em ovinos no Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras.* 21:123-138.
- Karam F.S.C., Méndez M.C., Jarenkow J.A. & Rieti-Correa F. 2002. Fenologia de quatro espécies tóxicas de *Senecio* (Asteraceae) na região Sul do Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras.* 22(1):33-39.
- Karam F.S.C., Soares M.P., Haraguchi M., Riet-Correa F., Méndez M.C. & Jarenkow J.A. 2004. Aspectos epidemiológicos da seneciose na região sul do Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras.* 24(4):191-198.
- Karam F.C., Moraes J.C.F & Schild A.L. 2013. Controle de *Senecio* spp. com pastoreio ovino de acordo com sua infestação e fenologia. *Pesq. Vet. Bras.* 33(9):1109-1115.
- Lucena R.B., Pierozam F., Kommers G.D., Irigoyen L.F. & Barros C.S.L. 2010. Doenças de Bovinos no Sul do Brasil: 6.706 casos. *Pesq. Vet. Bras.* 30(5):428-434.
- Lucena R.B., Rissi D.R., Maia L.A., Flores M.M., Dantas A.F.M., Nobre V.M.T., Riet-Correa F. & Barros C.S.L. 2010. Intoxicação por alcalóides pirrolizidínicos em ruminantes e equinos no Brasil. *Pesq. Vet. Bras.* 30(5):447-452.
- Méndez M.C., Riet-Correa F., Schild A.L. & Martz W. 1987. Intoxicação por *Senecio* spp. (Compositae) em bovinos no Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras.* 7(2):51-56.
- Méndez M.C. 1993. Intoxicação por *Senecio* spp., p.43-57. In: Riet-Correa F., Méndez M.C. & Schild A.L. (Eds), *Intoxicações por Plantas e Micotoxicoses em Animais Domésticos*. Agropecuaria Hemisferio Sur, Montevideo.
- Nobre V.M.T., Riet-Correa F., Dantas A.F.M., Tabosa I.M., Medeiros R.M.T. & Barbosa Filho J. M. 2004. Intoxication by *Crotalaria retusa* in ruminants and Equidae in the state of Paraíba, northeastern Brazil, p.275-278. In: Acamovich T., Stewart C.S. & Pennycott T.W. (Eds), *Plant Poisoning and Related Toxins*. CAB International, Glasgow, UK.
- Pearson E.G. 1993. Moléstias do sistema hepatobiliar, p.839-857. In: Smith B.P. (Ed.), *Tratado de Medicina Interna de Grandes Animais*. Vol.1. Manole, São Paulo.
- Pessoa C.R.M., Medeiros R.M.T & Rietti-Correira F. 2013. Importância econômica, epidemiologia e controle das intoxicações por plantas no Brasil. *Pesq. Vet. Bras.* 33(6):752-758.
- Peterson J.E. & Culvenor C.C.J. 1983. Hepatotoxic pyrrolizidine alkaloids, p.637-671. In: Keeler R.F., Tu A.T. (Eds), *Handbook of Natural Toxins*. Vol.1. Marcel Dekker, New York.

- Prakash A.S., Perera, T.N., Reilly P.E.B. & Seawright A.A. 1999. Pirrolizidine alkaloids in human diet. *Mutat. Res.* 443:53-67.
- Reis J.C.L. & Coelho R.W. 2000. Controle do capim-annoni-2 em campos naturais e pastagens. Circular Técnica 22, Embrapa Clima Temperado, Pelotas. 21p.
- Riet-Correa F. & Méndez M.C. 1993. Introdução ao estudo das plantas tóxicas, p.1-19. In: Riet-Correa F., Méndez M.C. & Shild A.L. (Eds), *Intoxicações por Plantas e Micotoxicoses em Animais Domésticos. Hemisfério Sul do Brasil*, Pelotas. 340p.
- Riet-Correa F. & Medeiros R.M.T. 2001. Intoxicações por plantas em ruminantes no Brasil e no Uruguai: importância econômica, controle e riscos para a saúde pública. *Pesq. Vet. Bras.* 21:38-42.
- Riet-Correa F., Schild A.L., Lemos R.A.A. & Borges J.R.J. 2007. *Doenças de Ruminantes e Equinos. Vol.1. 3ª ed.* Pallotti, Santa Maria. 722p.
- Rissi D.R., Rech R.R., Pierezan F., Gabriel A.L., Trost M.E., Brum J.S., Kommers G.D. & Barros C.S.L. 2007. Intoxicações por plantas e micotoxinas associadas a plantas em bovinos no Rio Grande do Sul: 461 casos. *Pesq. Vet. Bras.* 27(7):261-268.
- Schild A.L., Motta A.C., Riet-Correa F., Karam F.C. & Grecco F.B. 2004. Photosensitivity in cattle in southern Brazil, p.162-166. In: Acamovic T., Stewart C.S. & Pennycott T.W. (Eds), *Poisonings Plants and Related Toxins*. CAB International, London.
- Soares M.P., Riet-Correa F., Méndez M.C., Rosa F.G. & Carreira E.G. 2000. Controle biológico de *Senecio* spp. com pastoreio de ovinos. *Anais II Reunión Argentina de Patología Veterinária, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Nordeste, Corrientes, Argentina*, p.79. (Resumo)
- Souza A.C., Hatayde M.R. & Bechara G.H. 1997. Aspectos patológicos da intoxicação de suínos por sementes de *Crotalaria spectabilis* (Fabaceae). *Pesq. Vet. Bras.* 17:12-18.
- Tokarnia C.H., Brito M.F. & Barbosa J.D. 2012. *Plantas Tóxicas do Brasil. 2ª ed.* Helianthus, Rio de Janeiro. 566p.
- Torres M.B.A.M., Sales M.W.S., Headley S.A. & Barros C.S.L. 1997. Intoxicação experimental por sementes de *Crotalaria spectabilis* (Leguminosae) em suínos. *Ciência Rural* 27:307-312.
- Wouters A.T.B., Boabaid F.M., Fredo, G., Wouters F. & Driemeier D. 2013. Caracterização imuno-histoquímica das alterações encefálicas em bovinos com hepatopatia tóxica por *Senecio* sp. *Pesq. Vet. Bras.* 33(11):1325-1331.

Quadro 1. Aspectos epidemiológicos clínico patológicos dos casos de intoxicação por *Senecio* spp. relatados na microrregião da Campanha Ocidental do Rio Grande do Sul entre 2011 e 2014.

Prop. No	Município	Período/ Ano	Rebanho/ Tipo de exploração	No de Doentes	No de Mortos	Tratados ^a	Recuperado (No)	Mudança do manejo	Curso clínico	Sinais clínicos	Lesões macroscópicas	Solicitado Histopatológico
1	Uruguiana	ago./11	884 Ciclo completo	1	1	N	N	N	6 m	Aumento de volume abdominal e apatia, dificuldade de locomoção.	Ascite e edema de abomaso.	N
2	São Borja	out/11	405 Ciclo completo	5	5	N	N	N	1 s	Emagrecimento progressivo, apatia, dificuldade de locomoção, agressividade, fezes escuras.	Fígado firme e com a cápsula brancacenta.	N
3#	Alegrete	dez/11 - Jan/12	180 Ciclo completo	13	8	S	S* (5)	S	1 s	Emagrecimento progressivo, agressividade, dificuldade de locomoção, perda dos movimentos.	Edema de abomaso de mesentério, de alças intestinais e de vesícula biliar.	N
4	São Borja	ago/12 - Jan/13	1250 Ciclo completo	40	40	S	N	N	1 s - 2 m	Emagrecimento progressivo, diarreia escura, tenesmo, anorexia e febre.	Fígado firme e ascite.	N
5#	Uruguiana	nov/12 - Jan/13	380 Ciclo completo	40	35	S	S** (5)	N	2 s - 3 m	Emagrecimento, diarreia escura.	Fígado diminuído e coloração alaranjada e ascite.	N
6	Uruguiana	nov/12	2500 Ciclo completo	30	30	N	N	N	1 s - 1 m	Emagrecimento progressivo e diarreia.	NA	N
7#	Quaraí	jul - out/13	280 Ciclo completo	18	18	S	S***	N	1 - 6 m	Emagrecimento progressivo, diarreia, andar a esmo.	NA	N
8#	Maçambará	ago - set/13	515 Cria	15	15	S	N	N	4 d - 1 m	Emagrecimento progressivo, diarreia	Ascite	N
9	São Borja	ago - set/13	530 Ciclo completo	5	5	S	N	N	1 m	Emagrecimento progressivo, diarreia e decúbito.	NA	N
10#	Maçambará	set/13	32 Ciclo completo	6	6	N	N	N	2 s - 1 m	Aumento de volume abdominal e pelos arrepiados.	Ascite	N
11#	São Borja	set/13	22 Ciclo completo	0	0	N	N	N	-	Não foi observado	Sem perdas de bovinos	N

12	Maçambará	mai - dez/13	100 Ciclo completo	18	14	S	N	S	1 m	Apatia	NA	N
13#	Uruguaiana	nov/13 - mar/14	200 Terminação	12	12	N	N	N	1 - 6 m	Emagrecimento progressivo e diarreia.	NA	N
14	Manoel Viana	jan/14	2800 Ciclo completo	5	5	S	N	N	1 s - 1 m	Emagrecimento progressivo, apatia, diarreia e mucosas pálidas.	NA	N
15#	Maçambará	mai/13 - mar/14	1650 Terminação	50	35	S	S***	N	5 d - 3 m	Emagrecimento progressivo e diarreia.	Ascite e edema de mesentério	S
16#	Maçambará	mai/13 - mar/14	600 Terminação	52	21	S	S	N	5 d - 3 m	Emagrecimento progressivo e diarreia.	Ascite e edema de mesentério	S

^a Bovinos tratados com antitóxico e antibióticos, [#] Propriedades em que os animais foram submetidos à biópsia hepática, * Apresentaram melhora, ganho de peso e foram vendidos para o abate ** Permanece magros no rebanho *** Houve melhora, porém meses depois apresentou emagrecimento e diarreia e morreu, (N) não, (S) sim, (d) dia, (s) semana, (m) mês

Quadro 2. Achados microscópicos em fígados de bovinos com suspeita de intoxicação por *Senecio* spp. submetidos a biópsia hepática em propriedades da microrregião da Campanha Ocidental do Rio Grande do Sul entre 2011 e 2014.

Propriedade (Nº de biópsias)	Município	Achados microscópicos no fígado				Conclusão
		Fibrose periportal	Megalocitose	Hiperplasia de ductos biliares	Bilestase	
3 (4)	Alegrete	-	-	-	-	Negativa
		+	-	-	-	Negativa
		+++	-	-	-	P ^a
5 (7)	Uruguaiana	-	-	-	-	Negativa
		++	++	++	-	P
		++	++	++	-	P
		-	-	-	-	Negativa
		+	+	+	-	P
		++	++	-	-	P
7 (28)	Quaraí	+++	+++	+++	-	P
		+++	++	++	-	P
		++	++	++	-	P
		-	-	-	-	Negativa
		++	+	++	-	P
		++	++	++	-	P
		-	-	-	-	Negativa
		-	-	-	-	Negativa
		++	++	-	-	P
		++	++	++	-	P
		++	++	++	-	P
		-	-	-	-	Negativa
		++	++	++	-	P
		+++	+++	+++	-	P
		+++	+++	++	-	P
		-	-	-	-	Negativa
		-	++	++	-	P
		++	++	++	-	P
		+++	++	++	-	P
		++	++	-	-	P
+	+	-	-	P		
-	-	-	-	Negativa		
++	++	++	++	P		
++	++	++	++	P		
++	++	++	-	P		
-	-	-	-	Negativa		
+++	+++	+++	-	P		
++	++	++	-	P		
++	++	++	-	P		
8 (19)	Maçambará	-	-	-	-	Negativa
		-	-	-	-	Negativa
		-	-	-	-	Negativa
		++	++	-	-	P

		++	+	+	-	P
		++	++	-	-	P
		+++	+++	+++	-	P
		+++	++	++	-	P
		++	++	+	-	P
		-	++	-	-	Negativa
		++	++	++	-	P
		++	++	++	-	P
		++	+	++	-	P
		+++	+++	+++	-	P
		++	-	++	-	P
		++	-	++	+	P
		+	+	+		P
		-	-	-	-	Negativa
		+	+	+	-	P
		+	+	+	-	P
10 (2)	Maçambará	+	+	+	-	P
		++	+	+	-	P
11(5)	São Borja	++	++	-	-	P
		+	+	-	-	P
		+	-	-	-	Negativa
		-	-	-	-	Negativa
		-	++	-	-	Negativa
13(1)	Uruguaiana	+++	+++	+++	-	P
15(9)	Maçambará	++++	++++	+++	-	P
		+++	+++	+++	-	P
		+++	++++	++++	-	P
		+++	++++	++++	-	P
		+++	+++	++++	-	P
		+++	++++	++++	-	P
		+	-	-	-	Negativa
		++	++	++	-	P
		++	++++	++++	-	P
16(13)	Maçambará	++	+++	+++	-	P
		+	++	++	-	P
		++	+++	+++	-	P
		-	-	-	-	Negativa
		+++	++++	++++	-	P
		+++	+++	+++	-	P
		+++	++++	++++	-	P
		+++	++++	+++	-	P
		+++	++++	++++	-	P
		+++	++++	++++	-	P
		++++	++++	++++	-	P
		+++	+	+	-	P
		+++	++++	++++	-	P

^a Bovinos positivos para seneciose, (+) discreta, (++) leve, (+++) moderado, (++++) acentuado e (-) sem alteração.



Fig.1. Bovino submetido à biópsia hepática, apresentando escore de condição corporal inferior. Nota-se certa proeminência dos processos dorsais, dos íleos e dos ísquios e a cauda está menos incluída nos coxais.

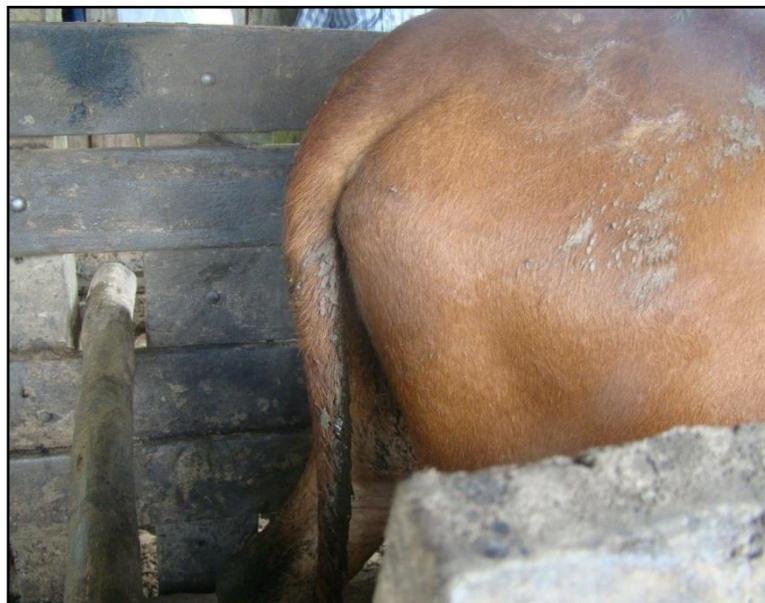


Fig.2. Bovino submetido à biópsia hepática, com bom escore corporal, demonstrando suave cobertura muscular e apresentando diarreia com fezes líquidas verde-escuras, sinal clínico característico de intoxicação por *Senecio* spp.



Fig.3. Agulha utilizada na biópsia hepática com 155 x 2 mm adaptado com êmbolo.



Fig.4. Realização de biópsia hepática num bovino por acesso percutâneo e transtorácico, após antissepsia do campo com Iodo povidona e anestesia local com lidocaína 2%.



Fig.5. Fragmento de fígado obtido por biópsia com aproximadamente 0,5-1,0 cm de comprimento por 0,1 cm de espessura.

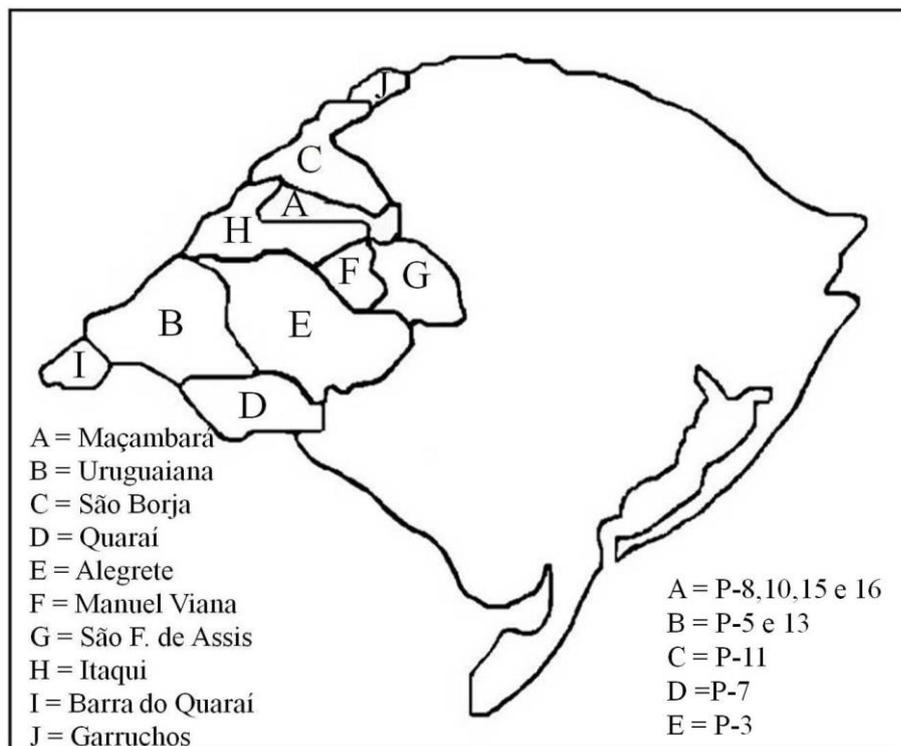


Fig.6. Mapa da Microrregião da Campanha Ocidental. Estão representados por letras os 10 municípios que a compõem a região do estudo. O canto inferior direito podem ser observados os números das propriedades que apresentaram casos de seneciose e que bovinos foram submetidos à biópsia hepática. (A) Maçambará (8, 10, 15, 16), (B) Uruguaiana (5 e 13), (C) São Borja (11), (D) Quaraí (7), (E) Alegrete (3).



Fig.7. Exemplos das espécies de plantas do gênero *Senecio* de maior ocorrência nas propriedades rurais avaliadas durante visitas técnicas. (A) *Senecio brasiliensis*. (B) *Senecio heterotrichus*. (C) *Senecio oxyphyllus*. (D) *Senecio selloi*.

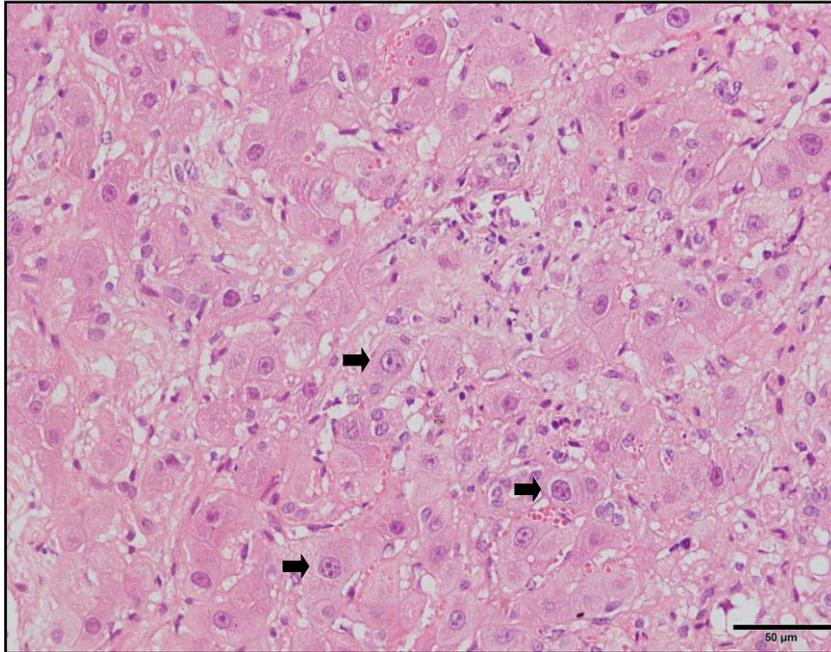


Fig.8. Fígado. Megalocitose acentuada, caracterizada por aumento no tamanho e na proporção núcleo/citoplasma dos hepatócitos (seta). HE. Obj. 40x.

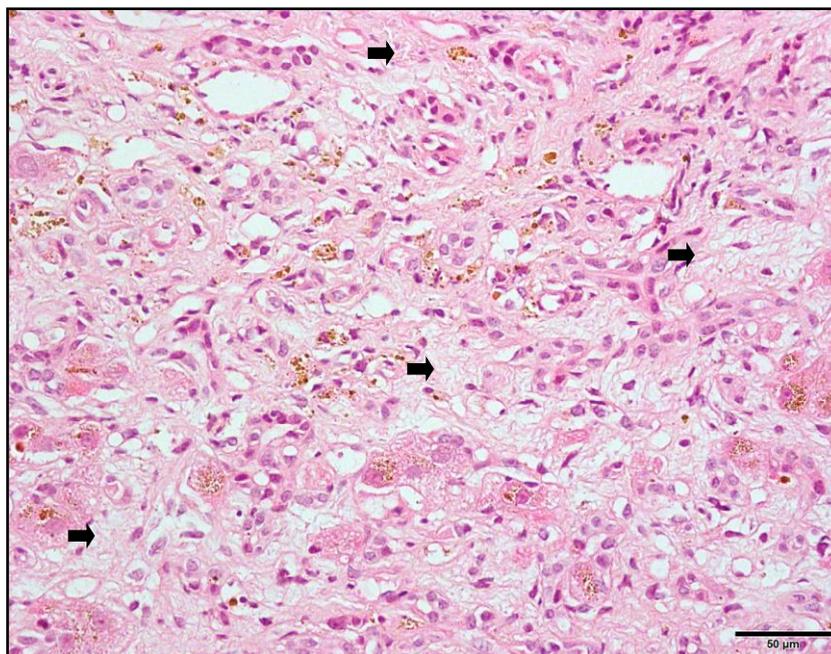


Fig. 9. Fígado. Fibrose periportal difusa acentuada (seta) HE. Obj. 40x.

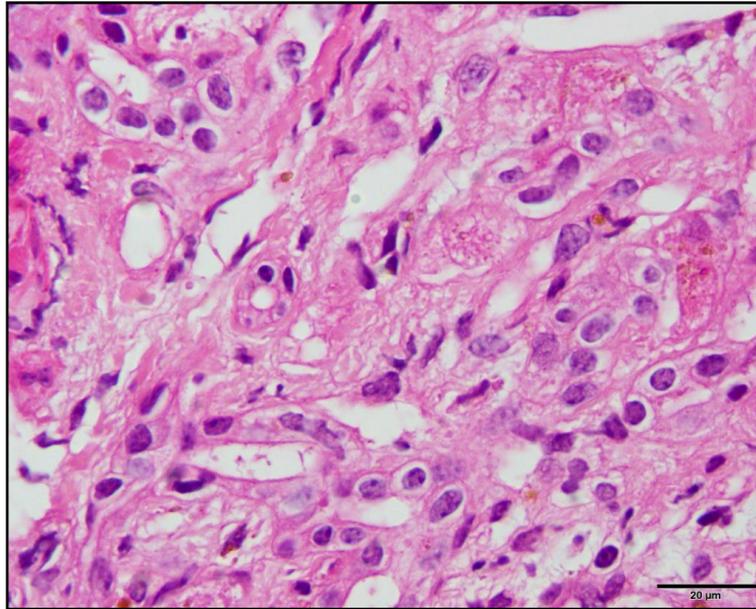


Fig.10. Fígado. Acentuada proliferação de células epiteliais dos ductos biliares (seta). HE. Obj. 100x

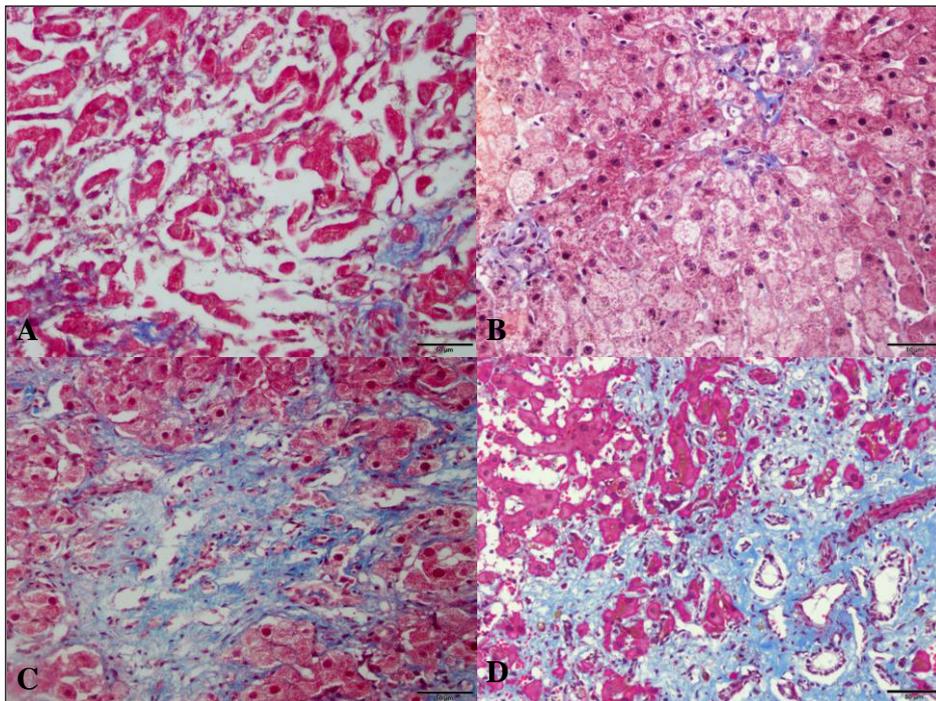


Fig.11. Cortes histológicos da quantificação de graus de fibrose em fragmentos obtidos de biópsia hepática, coradas pela técnica histoquímica . (A) Fibrose discreta., (B) Fibrose leve.,(C) Fibrose moderada . (D) Fibrose acentuada. Tricrômico de Masson. Obj. 40x

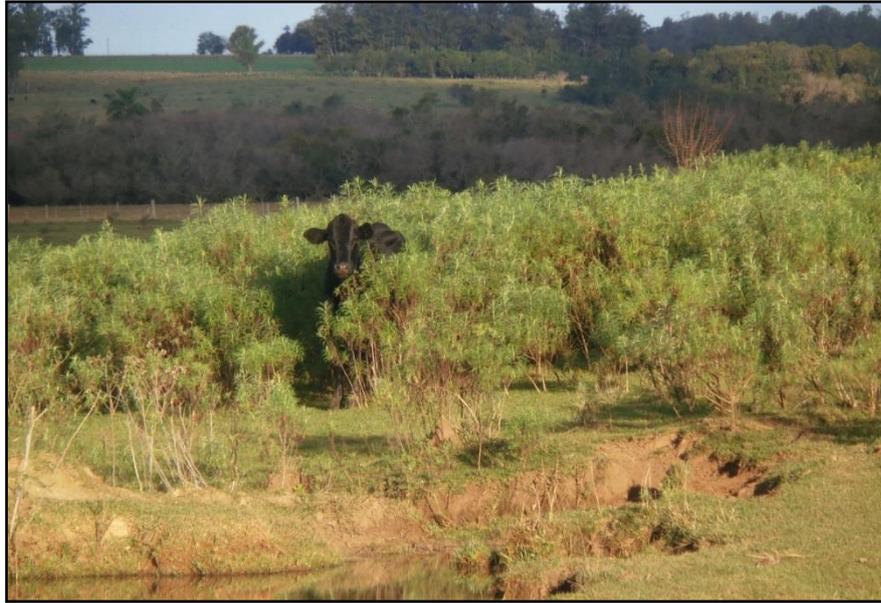


Fig.12. Área invadida por *Senecio brasiliensis*. Apesar da baixa palatabilidade, atrai o bovino pela oferta de plantas verdes.



Fig.13. Campo acima invadido por *Senecio* spp. em época de floração. Nota-se que na outra área, há pastoreio com ovinos, os mesmos citados como controle da planta, por apresentarem resistência à intoxicação.

4.1 Artigo 2

Trabalho LD...

Megalocitose de células luteínicas grandes de vacas prenhes com seneciose crônica¹

Adriano A. Krabbe², Maiara A. Gonçalves³, Ricardo Pozzobon⁴, Clarice R. M. Pessoa³,
Mauro P. Soares⁵, Ricardo A. Costa³ e Bruno L. Anjos^{3*}

ABSTRACT.- Krabbe A.A., Gonçalves M.A., Pozzobon R., Pessoa C.R.M., Soares M.P., Costa R.A. & Anjos B.L. 2014. [**Large luteal cell megalocytosis in pregnant cows with chronic seneciosis.**]. Megalocitose de células luteínicas grandes em vacas prenhes com seneciose crônica. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 34(0): 000-000. Laboratório de Patologia Veterinária, Universidade Federal do Pampa, 97500-970, Uruguaiana, RS, Brasil. E-mail: anjosbl@gmail.com

Several species of *Senecio* are widely distributed on farms in South Brazil. Often, farmers have been reporting declines in reproductive rates of cattle in this region and frequently the cause is unknown. Many poisonous plants are capable of causing direct and indirect reproductive disorders in cattle in several countries, including Brazil. However, their pathogenic mechanisms are still poorly understood. Therefore, the aim of this study was to describe gonadal lesions in cows with chronic seneciosis, comes from farms located in the Southwest Mesoregion of Rio Grande do Sul, state of South Brazil. Twenty-one positive cases of chronic seneciosis diagnosed between 2011 and 2014 were analyzed. The study showed that chronic seneciosis is the major cause of death in adult cattle in the region. Four pregnant cows were subjected to necropsy showed classical lesions of chronic seneciosis in

¹ Recebido em xx de outubro de 2014.

Aceito para publicação em xx de xxxxxxxx de 2014. Parte da dissertação de mestrado do primeiro autor.

² Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, área de concentração em Sanidade Animal/Patologia Veterinária, Universidade Federal do Pampa (Unipampa), Uruguaiana, RS, 97500-970, Brasil.

³ Laboratório de Patologia Veterinária (LPV), Universidade Federal do Pampa (Unipampa), Uruguaiana, RS, 97500-970, Brasil.

⁴ Clínica Médica de Grandes Animais, Universidade Federal do Pampa (Unipampa), Uruguaiana, RS, 97500-970, Brasil.

⁵ Laboratório Regional de Diagnóstico (LRD), Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), Pelotas, RS, 96010-900, Brasil.

*Autor para correspondência: anjosbl@gmail.com

the liver and the ovaries showed large luteal cells (LLG) with marked megalocytosis and nuclear pseudo-inclusions. Some LLG showed nuclei with up to 23µm in diameter and the increase in size of these nuclei was significantly greater than measured in the control cows. Therefore, the study concluded that the pyrrolizidine alkaloids poisoning, contained in plants of the genus *Senecio*, induces ovarian changes in cows and the intoxication should be considered as a cause of reproductive failure in cattle flocks in the region.

INDEX TERMS: diseases of cattle, seneciosis, pyrrolizidine alkaloid, corpus luteum, megalocytosis.

RESUMO.- Diversas espécies de *Senecio* estão amplamente difundidas em propriedades rurais do Rio Grande Sul. Frequentemente, criadores relatam quedas dos índices reprodutivos dos rebanhos bovinos dessa região e muitas vezes as causas são desconhecidas. Inúmeras plantas tóxicas são capazes de causar alterações reprodutivas diretas e indiretas em bovinos em diversos países, incluindo o Brasil, no entanto seus mecanismos patogênicos ainda são pouco compreendidos. Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi descrever lesões gonadais em vacas com seneciose crônica proveniente de propriedades rurais da mesorregião Sudoeste Rio-grandense. Foram estudados 21 casos positivos de seneciose crônica diagnosticados entre 2011 e 2014. O estudo revelou que a seneciose crônica é a principal causa de morte de bovinos adultos na região. Quatro vacas prenhes que foram submetidas à necropsia apresentaram lesões hepáticas clássicas da intoxicação por *Senecio* e ao serem avaliadas microscopicamente, apresentaram células luteínicas grandes (CLG) com acentuada megalocitose e pseudoinclusões nucleares. Algumas CLG apresentaram núcleos com até 23µm de diâmetro e o aumento no tamanho desses núcleos foi significativamente maior que dos avaliadas nas vacas controle. Dessa forma, foi possível concluir que a intoxicação por alcaloides pirrolizidínicos, contidos em plantas do gênero *Senecio*, causam alterações ovarianas em vacas e é possível que a intoxicação cause perdas reprodutivas nos rebanhos da região.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: doenças de bovinos, seneciose, alcaloides pirrolizidínicos, corpo lúteo, megalocitose.

INTRODUÇÃO

As plantas tóxicas são consideradas em todo o mundo como causadoras de sérios prejuízos econômicos para a bovinocultura por causar processos deletérios em diversos sistemas (James et al. 1992, Gava & Barros 1997, Botha & Penrith 2008, Cortinovis & Caloni 2013, Pessoa et al. 2013). No Brasil, plantas de diversos gêneros são incriminadas como causadoras de elevada mortalidade de bovinos (Barros & Marques 2003, Pedroso et al. 2007, Riet-Correa et al. 2007, Assis et al. 2010, Tokarnia et al. 2012). Um dos grupos mais importantes nesse cenário é o das plantas que contêm alcaloides pirrolizidínicos (AP) (Peterson & Culvenor 1983, Karam 2001, Anjos et al. 2010, Lucena et al. 2010), do qual se destacam as várias espécies do gênero *Senecio* spp. (Riet-Correa et al. 1993, Tokarnia et al. 2012).

Espécies como o *S. brasiliensis*, *S. oxyphyllus*, *S. heterotrichius*, *S. cisplatinus*, *S. leptolobus*, *S. selloi* e *S. tweediei* estão difusamente distribuídas no Rio Grande do Sul e são responsáveis por altos índices de mortalidade de bovinos (Riet-Correa et al. 1993, Tokarnia et al. 2012, Karam et al. 2004, Riet-Correa et al. 2007, Cruz et al. 2010, Krabbe et al. 2014 – no prelo). Embora as principais lesões observadas nos bovinos intoxicados por AP seja a fibrose hepática com hepatomegalocitose e proliferação de células de ductos biliares (Barros et al. 1992, Méndez 1993, Pearson 1993, Méndez & Riet-Correa 2000) outras alterações extra-hepáticas são descritas em casos espontâneos e experimentais (Harding et al. 1964, Curran et al. 1996, Souza et al. 1997, Torres et al. 1997, Ito et al. 2000, Nobre et al. 2004, Torres et al. 2008, Pessoa et al. 2013). Os metabólitos pirrólicos primários de vida longa, formados a partir da ação enzimática do citocromo P450 nos hepatócitos (Kelly 1993, Knight & Walter 2001) podem alcançar outros órgãos onde causam danos caracterizados por megalocitose em túbulos renais e fibrose megalocitose de células Clara em pulmões (Curran et al. 1996, Prakash et al. 1999, Nobre et al. 2004, Pessoa et al. 2013).

Segundo profissionais da área de reprodução animal e criadores de bovinos da mesorregião Sudoeste Rio-Grandense do Rio Grande do Sul, casos de baixa fertilidade em touros e em vacas são observados, porém, em muitos desses casos a etiologia não é definida (Antoniacci et al. 2013, Krabbe et al. 2014 – no prelo). Grande parte das propriedades, especialmente da metade sul do estado, apresenta deficiência no diagnóstico das enfermidades, o que aumenta consideravelmente os casos inconclusivos de problemas reprodutivos. Muitas vezes, esses distúrbios reprodutivos são associados a agentes infecciosos de forma empírica, ou esses diagnósticos são sugeridos apenas após avaliações sorológicas,

sem a confirmação da doença (Lucena et al. 2010, Antoniacci et al. 2013, Krabbe et al. 2014 – no prelo).

Diversas plantas são capazes de causar alterações reprodutivas diretas e indiretas em bovinos e seus mecanismos ainda são pouco compreendidos (James et al. 1992, Riet-Correa et al. 2007, Riet-Correa et al. 2012, Tokarnia et al. 2012). Como base nos efeitos dos AP em múltiplos tecidos, foi sugerido que essa ação deletéria também seja capaz de causar danos ao sistema reprodutivo de bovinos (Krabbe et al. 2014 – no prelo). Dessa forma, o presente trabalho tem como propósito relatar pela primeira vez as lesões observadas em gônadas de vacas prenhes com intoxicação crônica por *Senecio* spp..

MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisados os tecidos de bovinos necropsiados entre janeiro de 2011 e março de 2014 no Laboratório de Patologia Veterinária - Unipampa (LPV) (APÊNDICE B), provenientes de diversos municípios da mesorregião do Sudoeste Rio-Grandense. Nos casos em que os bovinos ainda estavam vivos nas propriedades, foi realizada a avaliação clínica e em seguida submetidos à eutanásia *in extremis* e a necropsia. Durante a necropsia, foram realizadas coletas de fragmentos de diversos órgãos, os quais foram acondicionados em formol a 10% e submetidos à avaliação histológica.

Os fragmentos coletados foram clivados e processados rotineiramente para histologia e após inclusão em parafina foram submetidos a cortes histológicos com cerca de 3µm e corados com hematoxilina e eosina e se necessário pelo Tricrômico e Masson.

Dentre os bovinos avaliados quatro vacas estavam prenhes no terço médio da gestação e tiveram seus ovários submetidos à avaliação histológica e à morfometria, realizada a partir de imagens obtidas em tempo real através de câmera digital Olympus associada a software cellSens 1.7. Na avaliação morfométrica foram avaliados 200 núcleos de células luteínicas grandes (CLG) do corpo lúteo gravídico de cada vaca. A avaliação foi realizada em cinco áreas na seção histológica do corpo lúteo (quatro nas extremidades e uma central) e em cada área dois pontos. Foram mensurados aleatoriamente 20 núcleos de CLG em cada ponto. O mesmo foi realizado em ovários de vacas híginas (n=4) na mesma fase gestacional, obtidos em abatedouro. A diferença entre os núcleos dos ovários de vacas intoxicadas e de vacas saudáveis foi analisada pelo Teste t e o $P \leq 0,05$ foi considerado significativo.

RESULTADOS

No período em estudo, foram avaliados 169 bovinos dos quais 21 (12,42%) corresponderam a bovinos com quadro epidemiológico e clinicopatológico característicos de seneciose crônica (Quadro 1). Os casos da intoxicação ocorreram em 19 propriedades distintas, em sete municípios da região, com exceção de um bovino, proveniente do município de Santiago (região Central do Rio Grande do Sul). Os casos ocorreram especialmente entre os meses de agosto e janeiro e corresponderam predominantemente a vacas com idade superior a 1,5 ano (95,2 %) e todas de raças destinadas a produção de carne.

Os principais sinais clínicos apresentados pelos bovinos incluíram, em ordem decrescente de ocorrência, emagrecimento progressivo, diarreia escura, dificuldade locomotora e agressividade. Em 14 casos (Bovinos 1-13 e 20) avaliados foram descritos os principais achados macroscópicos observados durante a necropsia e desses, todos apresentaram edema em cavidades, com predomínio de hidroperitônio e edema de alças intestinais, bem como alterações hepáticas caracterizadas por consistência firme e estrias brancacentas (100% dos bovinos)(Fig.1 e Fig.2), seguido por retração da capsula hepática e órgãos mais pálidos (Quadro 2). Apenas o Bovino 2 apresentou nódulos na superfície capsular e de corte que variaram entre 0,4 a 3 cm. Os achados microscópicos mais frequentes foram observados no fígado e no encéfalo (córtex telencefálico) (Quadro 3). Dos 21 casos, todos apresentaram lesões hepáticas que variaram de discreta a acentuada. As lesões mais observadas foram a megalocitose (Fig. 3), presente em todos os bovinos, fibrose periportal (95% dos casos) Fig.4) e proliferação de ductos biliares (aproximadamente 90% dos casos) (Fig. 4).

As quatro vacas prenhes (2, 9, 16 e 17), aproximadamente no terço final médio da gestação, apresentaram grau de fibrose hepática e megalocitose entre moderado e acentuado e duas (2 e 9) tiveram seus fetos avaliados e estes apresentaram fibrose periportal discreta. Os ovários dessas quatro vacas apresentaram alterações significativas no corpo lúteo. As lesões corresponderam a megalocitose de células luteínicas grandes (CLG) com núcleos acentuadamente aumentados e marcada diminuição da proporção núcleo:citoplasma (Fig.5). A cromatina desses núcleos encontrava-se hipercromática com distribuição irregular, na maioria dos casos marginada e, em alguns núcleos maiores, foram observadas ondulações da membrana nuclear e perda do padrão oval. No interior de alguns desses núcleos foram observadas estruturas circulares, levemente eosinofílicas com margens bem definidas e envoltas por fina membrana características de pseudoinclusões (Fig.6). Na avaliação

morfométrica os núcleos das CLG apresentaram até 23,69 μ m (Bovino 2). O maior diâmetro dos núcleos das CLG dos bovinos controles foi 11,15 μ m. Os núcleos (médias \pm DP) das CLG das vacas intoxicadas apresentaram-se significativamente maior quando comparados com os de vacas controle (Quadro 4).

DISCUSSÃO

O estudo revelou que a intoxicação crônica por *Senecio* spp. foi a principal causa de morte de bovinos (aproximadamente 12,5%) diagnosticada no LPV-Unipampa no período estudado e na área de abrangência do setor. Em levantamentos realizados na região central a seneciose foi a principal causa de morte de bovinos (23% das causas de morte diagnosticadas no LPV-UFSM) (Rissi et al., 2007, Lucena et al. 2010) e a segunda maior causa de morte de bovinos na região Sul do estado (7% das causas de morte de bovinos diagnosticadas no LRD-UFPel) (Karam et al. 2004). Os sinais clínicos e os achados macroscópicos e microscópicos no fígado e no sistema nervoso central observados nos casos descritos no presente trabalho são característicos da intoxicação por *Senecio* spp. (Barros et al. 1992, Méndez 1987, Grecco et al. 2010, Krabbe et al. 2014 - no prelo).

Foi observada nos bovinos desse estudo, bem como descrito em outros relatos (Rissi et al. 2007, Cruz et al. 2010), a alta ocorrência de megalocitose no fígado de bovinos intoxicados por várias espécies de *Senecio* spp. Os bovinos que apresentaram maior intensidade dessas alterações (2, 9, 16 e 17) foram alguns dos casos com lesões hepáticas macroscópicas mais acentuadas. Sabe-se que a megalocitose está relacionada ao efeito antimetabólico causado pelos AP e não por inibição da síntese de DNA, o que induz a síntese continuada de nucleoproteínas associadas à inibição da mitose (Kelly 1993). Esses eventos são provocados principalmente pela ação dos pirrois ésteres no retículo endoplasmático, gerados a partir ação enzimática do citocromo P450 (Mattocks & Jukes 1990, Knight & Walter 2001). Esse grupo de enzimas é responsável por metabolizar diversos componentes, especialmente xenobióticos, os quais muitas vezes podem gerar agentes com maior toxicidade a partir dessa metabolização (Zhou et al. 2003, Xu et al. 2005). Segundo Prakash et al. (1999) os pirrois formados a partir dos AP induzem megalocitose devido a danos no DNA, conduzindo a mutação nos genes reguladores do ciclo celular. Como as células não se dividem e continuam a sintetizar DNA, aumentam de tamanho, morrem e são substituídos por tecido fibroso especialmente nos quadros mais crônicos da intoxicação (Kelly 1993).

Os ovários das quatro vacas prenhes intoxicadas também apresentaram megalocitose de núcleos de células luteínicas grandes (CLG), da mesma forma que no fígado. Alguns estudos demonstram que células de outros tecidos podem apresentar megalocitose, como por exemplo, células dos túbulos renais de suínos intoxicados por *Senecio jacobaea* (Harding et al. 1964), em equinos (Curran et al. 1996; Nobre et al. 2004) e nas células clara dos pulmões de asininos (Pessoa et al. 2013). Nos bovinos controle os núcleos apresentaram média de aproximadamente 7 μ m de diâmetro, com uma proporção citoplasma:núcleo equivalente a 4:1. Essa proporcionalidade foi alterada significativamente nos bovinos intoxicados, especialmente no Bovino 2, com núcleos que mediam aproximadamente 24 μ m. Muitas dessas células apresentaram pseudoinclusões com características morfológicas semelhantes às descritos em hepatócitos com megalocitose em animais intoxicados por AP (Ilha et al. 2001, Pilati & Barros 2007, Corrêa et al. 2008, Grecco et al. 2011). O processo de mitose é fundamental no desenvolvimento dos oócitos em vacas, bem como na formação e desenvolvimento das CLG do corpo lúteo (Banks 1991, Rafez & Rafez 2003).

Possivelmente, o fato das CLG sofrerem mitose e apresentarem grande atividade de enzimas citocromo P450 tornam essas células susceptíveis à ação dos pirrois e a desenvolverem megalocitose. Essa lesão desencadeada por *Senecio* spp. pode ser uma explicação para os problemas reprodutivos sem causa definida frequentemente mencionados por produtores e técnicos da região. As CLG medem entre 20 e 30 μ m, e são responsáveis por produzirem altas quantidades de P4 (Bertan et al. 2006).

Na maioria dos mamíferos as CLG são responsáveis pela síntese de diversos hormônios, dentre eles a progesterona (P₄), um dos principais hormônios do desenvolvimento gestacional. A P₄ desempenha funções primordiais no sistema reprodutor das fêmeas, como a regulação e manutenção do ciclo estral e o miorelaxamento uterino, além de estimular a proliferação de células no endométrio, fundamentais para propiciar as condições necessárias para o desenvolvimento do embrião e do feto (Banks 1991, Reynolds et al. 1994, Rafez & Rafez 2003, Bertan et al. 2006). As CLG também são responsáveis pela síntese de ocitocina em vacas (Fehr et al. 1987). A partir desses aspectos é possível que as alterações gonadais decorrentes dos AP presentes no *Senecio* possam causar interferências nesses mecanismos e promover déficits reprodutivos em vacas. Oliveira et al. (2003) descrevem casos de hipogonadismo por cirrose hepática em humanos, o que fortalece a hipótese de que os casos de seneciose crônica com cirrose periportal podem causar distúrbios reprodutivos em bovinos.

Diversas doenças, especialmente as de origem infecciosa, são incriminadas por causarem distúrbios reprodutivos em bovinos (Schlafer & Miller, 2007). Estas são amplamente estudadas, porém dentre esses distúrbios também são descritas afecções causados por plantas e outras toxinas. O desconhecimento da maioria dos seus mecanismos patogênicos, faz com que sua importância seja diminuída (James et al. 1992, Lucena et al. 2010, Riet-Correa et al. 2012, Caldas et al. 2012, Antoniasi et al. 2013). Dessa forma, ainda se faz necessário o estudo detalhado das possíveis alterações reprodutivas causadas por princípios tóxicos de plantas e esse trabalho vem contribuir para o entendimento dessas interações.

CONCLUSÃO

A intoxicação crônica por alcaloides pirrolizidínicos contidos em plantas do gênero *Senecio* causa alterações em corpo lúteo de vacas prenhes caracterizadas microscopicamente por megalocitose e pseudoinclusão em células luteínicas grandes.

AGRADECIMENTOS

À FAPERGS e ao CNPq pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

- Anjos B.L., Nobre V.M.T., Dantas A.F.M., Medeiros R.M.T., Oliveira Neto T.S., Molyneux R.J. & Riet-Correa F. 2010. Poisoning of sheep by seeds of *Crotalaria retusa*: Acquired resistance by continuous administration of low doses. *Toxicon*. 55:28-32.
- Antoniaci N.A.D., Juffo G.D., Santos A.S., Pescador C.A., Corbellini L.G. & Driemeier D. 2013. Causas de aborto bovino diagnosticados no Setor de Patologia Veterinária da UFRGS de 2003 a 2011. *Pesq. Vet. Bras.* 33(2):155-160.
- Assis T.S., Medeiros R.M.T., Riet-Correa F., Galiza G.J.N., Dantas A.F.M. & Oliveira D.M. 2010. Intoxicações por plantas diagnosticadas em ruminantes e equinos e estimativas das perdas econômicas na Paraíba. *Pesq. Vet. Bras.* 30(1):13-20.
- Banks, W. J. *Histologia veterinária aplicada*. 2. ed. São Paulo: Manole, 1991. 629p.
- Barros C.S.L., Driemeier D., Pilati C., Barros S.S. & Castilhos L.M.L. 1992. *Senecio* spp. poisoning in cattle in southern Brazil. *Vet. Hum. Toxicol.* 34(3):241-246.

- Barros C.S.L. & Marques G.H.F. 2003. Procedimentos para o diagnóstico das doenças do sistema nervoso central de bovinos. Depto Defesa Animal, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), Brasília. 50p. Disponível na internet: <http://www.agricultura.gov.br>
- Bertan C.M., Binelli M., Madureira E.H. & Traldi A.S. 2006. Mecanismos endócrinos e moleculares envolvidos na formação do corpo lúteo e na luteólise - revisão de literatura. Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci. 43:824-840.
- Botha C.J. & Penrith M.L. 2008. Poisonous plants of veterinary and human importance in southern Africa. Jour. of Ethnopharma. 119:549-558.
- Caldas S.A., Peixoto P.C., Nogueira V.A., França T.N., Tokarnia C.H. & Peixoto P.V. 2011. Aborto em bovinos devido a intoxicação por *Tetrapteryx acutifolia* (Malpighiaceae). Pes. Vet. Bras. 31(9):737-746.
- Corrêa A.M.R., Bezerra Junior P.S., Pavarini S.P., Santos A.S., Sonne L., Zlotowski P. Gomes G. & Driemeier D. 2008. *Senecio brasiliensis* (Asteraceae) poisoning in Murrah buffaloes in Rio Grande do Sul. Pesq. Vet. Bras. 28(3):187-189.
- Cortinovis C. & Caloni F. 2013. Epidemiology of intoxication of domestic animals by plants in Europe. The Vet. Jour. 197:163-168.
- Cruz C.E.F., Karam F.C., Dalto A.C., Pavarini S.P., Bandarra P.M. & Driemeier D. 2010. Fireweed (*Senecio madagascariensis*) poisoning in cattle. Pes. Vet. Bras. 30(1):10-12.
- Curran J.M., Sutherland R.J. & Peet R.L. 1996. A screening test for subclinical liver disease in horses affected by pyrrolizidine alkaloid toxicosis. Aust. Vet. J.. 74: 236-240.
- Fehr S., Ivell R., Koll R., Schams D., Fieldas M. & Richter D. 1987. Expression of oxytocin gene in the large cells of bovine corpus luteum. FEBS Lett. 10(1):45-50.
- Gava A. & Barros C.S.L. 1997. *Senecio* spp. poisoning of horses in southern Brazil. Pesq. Vet. Bras. 17(1):36-40.
- Grecco F.B., Shild A.L., Estima-Silva P., Marcolongo-Pereira C., Soares M.P. & Salles E.S.V. 2010. Aspectos epidemiológicos e padrões das lesões hepáticas em 35 surtos de intoxicação por *Senecio* spp. em bovinos no sul do Rio Grande do Sul. Pes. Vet. Bras. 30(5):389-397.
- Grecco F.B., Silva P.E., Pereira C.M., Soares M.P., Collares G. & Shild A.L. 2011. Seneciose crônica em ovinos no sul do Rio Grande do Sul. Pesq. Vet. Bras. 31(4):326-330.
- Harding J.D.J., Lewis G., Done J.T. & Allcroft R. 1964. Experimental poisoning by *Senecio jacobaea* in pigs. Path. Vet. 1:204-220.

- Ilha M.R.S., Loretto A.P., Barros S.S. & Barros C.S.L. 2011. Intoxicação espontânea por *Senecio brasiliensis* (Asteraceae) em ovinos no Rio Grande do Sul.
- Ito K.M., Sato M., Ushijima K., Nakai M. & Ito K. 2000. Alterations of endothelium and smooth muscle function in monocrotaline-induced pulmonary hypertensive arteries. *Am. J. Heart Circ. Physiol.* 279: H1786-H1795.
- James L.F., Nielsen D.B. & Panter K.E. 1992. Impact of poisonous plants on the livestock industry. *J. Range Manag.* 45:3-8.
- Karam F.S.C. 2001. Fenologia de quatro espécies tóxicas de *Senecio* (Asteraceae) e aspectos epidemiológicos da seneciose na região sul do Rio Grande do Sul. Dissertação (Mestrado em Patologia), Faculdade de Veterinária, UFPel, Pelotas. 107p.
- Karam F.S.C., Soares M.P., Haraguchi M., Riet-Correa F., Méndez M.C. & Jarenkow J.A. 2004. Aspectos epidemiológicos da seneciose na região sul do Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras.* 24(4):191-198.
- Kelly W. R. 1993. The liver and biliary system, p.319-404. In: Jubb K.V.F., Kennedy P.C. & Palmer N. (Ed.) *Pathology of Domestic Animals*. Vol. 2. 4th ed. Academic Press, San Diego.
- Knight A.P. & Walter R.G. 2001. A guide to plant poisoning of animals in North America. New Media, Teton. 578 p.
- Krabbe A.A., Gonçalves M.A., Silveira C.S., Morais R.M., Quevedo L.S., Ribeiro & Anjos B.L. 2014. Seneciose bovina na microrregião da Campanha ocidental do Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras.* 34 (): 000-000 - No prelo
- Lucena R.B., Rissi D.R., Maia L.A., Flores M.M., Dantas A.F.M., Nobre V.M.T., Riet-Correa F. & Barros C.S.L. 2010. Intoxicação por alcalóides pirro-lizidínicos em ruminantes e equinos no Brasil. *Pesq. Vet. Bras.* 30(5): 447-452.
- Mattocks A.R. & Jukes R. 1990. Trapping and measurement of short-lived alkylating agents in a recirculating flow system. *Chem. Biol. Interact.* 76:19-30.
- Méndez M.C., Riet-Correa F., Schild A.L. & Martz W. 1987. Intoxicação por *Senecio* spp. (Compositae) em bovinos no Rio Grande do Sul. *Pes. Vet. Bras.* 7(2):51-56.
- Méndez M.C. 1993. Intoxicação por *Senecio* spp., p.43-57. In: Riet-Correa F., Méndez M.C. & Schild A.L. (Ed.), *Intoxicações por Plantas e Micotoxicoses em Animais Domésticos*. ed. Agropecuaria Hemisferio Sur, Montevideo.
- Méndez M.C. & Riet-Correa F. 2000. Plantas hepatotóxicas, p.9-29. In: Méndez M.C. & Riet-Correa F. (ed.) *Plantas Tóxicas e Micotoxicoses*. Editora Universitária, Pelotas.

- Nobre V.M.T., Riet-Correa F., Dantas A.F.M., Tabosa I.M., Medeiros R.M.T. & Barbosa Filho J. M. 2004. Intoxication by *Crotalaria retusa* in ruminants and equidae in the state of Paraíba, northeastern Brazil, p. 275-278. In: Plant Poisoning and related Toxins. CAB International, Glasgow, UK.
- Oliveira M.C., Cassal A. & Pizarro C.B. 2003. Avaliação do eixo hipotálamo hipófise-gônada e prevalência de hipogonadismo central em homens e mulheres com cirrose hepática. Arq. Bras. Endocrinol. Metabol. 47: 593-600.
- Pedroso P.M.O, Pescador C.A., Oliveira E.C., Sonne L., Bandarra P.M., Raymundo D.L. & Driemeier D. 2007. Intoxicações naturais por plantas em ruminantes diagnosticadas no setor de patologia veterinária da UFRGS no período de 1996-2005. Acta Scien. Vet. 35(2):213-218.
- Pearson E.G. 1993. Moléstias do sistema hepatobiliar, p.839-857. In: Smith B.P. (Ed.) Tratado de Medicina Interna de Grandes Animais. Vol. 1. Manole, São Paulo.
- Pessoa C.R.M., Medeiros R.M.T & Rietti-correia F. 2013. Importância econômica, epidemiologia e controle das intoxicações por plantas no Brasil. Pes. Vet. Bras. 33(6):752-758.
- Peterson J.E. & Culvenor C.C.J. 1983. Hepatotoxic pyrrolizidine alkaloids, p. 637-671. In: Keeler R.F., Tu A.T. (Ed.), Handbook of Natural Toxins. Vol. 1. ed. Marcel Dekker, New York.
- Pilati C.E. & Barros C.S.L. 2007. Intoxicação experimental por *Senecio brasiliensis* (Asteraceae) em equinos. Pes. Vet. Bras. 27(7):287-296.
- Prakash A.S., Perera, T.N., Reilly P.E.B. & Seawright A.A. 1999. Pirrolizidine alkaloids in human diet. Mutat. Res. 443:53-67.
- Rafez, B. & Rafez E.S.E. 2003. Reprodução animal. 7º edição. Editota Manole, Barueri – SP.
- Reynolds L.P., Killilea, S.D., Grazul-Bilska, A.T. & Redmer, D.A. 1994. Mitogenic factors of corpora lutea. Prog. Growth Factor Res. 5:159–175.
- Riet-Correa F. & Méndez M.C. 1993. Introdução ao estudo das plantas tóxicas, p.1-19. In: Riet-Correa F., Méndez M.C. & Schild A.L. (Ed.), Intoxicações por plantas e micotoxicoses em animais domésticos. Hemisfério Sul do Brasil, Pelotas. 340p.
- Riet-Correa F., Schild A.L., Lemos R.A.A. & Borges J.R.J. 2007. Doenças de ruminantes e equinos. 3. ed. Santa Maria: Pallotti, Vol.1., p.722.

- Riet-Correa F., Medeiros R.M.T. & Shild A.L. 2012. A review of poison plants that cause reproductive failure and malformations in the ruminants of Brazil. *Jour. Of Appl. Toxicol.* 32:245-254.
- Rissi D.R., Rech R.R., Pierezan F., Gabriel A.L., Trost M.E., Brum J.S., Kommers G.D. & Barros C.S.L. 2007. Intoxicações por plantas e micotoxinas associadas a plantas em bovinos no Rio Grande do Sul: 461 casos. *Pesq. Vet. Bras.* 27(7):261-268.
- Schlafer D.H., Miller R.B. 2007. Female genital system, p.429-564. In: Maxie M.G. (Ed.), Jubb, Kennedy and Palmer's Pathology of Domestic Animals. Vol. 3. 5th ed. Elsevier Saunders, Philadelphia.
- Souza A.C., Hatayde M.R. & Bechara G.H. 1997. Aspectos patológicos da intoxicação de suínos por sementes de *Crotalaria spectabilis* (Fabaceae). *Pesq. Vet. Bras.* 17:12 - 18.
- Tokarnia C.H., Brito M.F., Barbosa J.D. 2012. Plantas Tóxicas do Brasil. 2. ed. Rio de Janeiro: Helianthus, p.566, 2012.
- Torres M.B.A.M., Sales M.W.S., Headley S.A. & Barros C.S.L. 1997. Intoxicação experimental por sementes de *Crotalaria spectabilis* (Leguminosae) em suínos. *Ciência Rural, Santa Maria*, 27:307-312.
- Torres M.B.A. & Coelho K.I.R. 2008. Experimental poisoning by *Senecio brasiliensis* in calves: Quantitative and semi-quantitative study on changes in the hepatic extracellular matrix and sinusoidal cells. *Pesq. Vet. Bras.* 28(1):43-50.
- Xu C., Li C.Y. & Kong A.N. 2005. Induction of phase I, II and III drug metabolism/transport by xenobiotics. *Arch. Pharm. Res.* 28(3):249-268.
- Zhou S., Gao Y., Jiang W., Huang M., Xu A. & Paxton J.W. 2003. Interactions of herbs with cytochrome P450. *Drug Metab Rev.* 35:35-98.

Quadro 1. Levantamento epidemiológico de necropsias e histopatológicas de bovino intoxicados naturalmente por *Senecio* spp. registrados no LPV/Unipampa no período entre 2011 e 2014.

Bovino No	Sexo	Idade	Local	Período de recebimento do material	Sinais clínicos														
					Emagrecimento progressivo	Diarreia escura	Ascite	Agressividade	Fraqueza muscular	Decúbito lateral	Apatia	Dificuldade de rocomção	Dificuldade respiratória	Sialorreia	Ausência de reflexos	Tenesmo	Anorexia	Cabeça baixa	Mucosas pálidas
Casos de Necropsia																			
1	M ^b	10 m ^c	Uruguaiana	ago/11	s ^h	s	s	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2 ^a	F ^c	4 a ^e	Alegrete	set/11	s	s	-	s	s	-	-	s	-	-	-	-	-	-	-
3	F	6 a	Uruguaiana	out/11	s	-	s	-	-	s	s	-	s	-	-	-	-	-	-
4	M	1,5 a	Uruguaiana	jan/12	s	-	s	-	-	s	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	F	Adulto ^f	Uruguaiana	nov/12	s	s	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	F	5 a	Uruguaiana	nov/12	s	s	-	-	s	-	-	s	-	-	-	-	-	-	-
7	F	3 a	Uruguaiana	jan/13	s	s	-	-	s	-	-	s	-	-	-	-	-	-	-
8	F	7 a	Quaraí	out/13	-	-	-	s	-	s	-	s	-	s	s	-	-	-	-
9 ^a	F	7 a	Maçambará	out/13	s	s	-	-	s	s	-	s	-	-	-	-	-	-	-
10	F	3 a	Uruguaiana	mar/14	s	s	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	M	3 a	Maçambará	mar/14	s	s	-	s	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	M	3 a	Maçambará	mar/14	s	s	-	-	s	-	-	s	-	-	-	-	-	-	-
13	M	3 a	Maçambará	mar/14	-	s	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Exames Histopatológicos																			
14	F	5 a	São Borja	nov/11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15	M	1,5 a	Alegrete	nov/11	-	s	s	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16 ^a	F	Adulto	Uruguaiana	jan/12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17 ^a	F	Adulto	Alegrete	mar/12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18	F	2 a	São Borja	abr/12	-	s	-	-	-	-	-	-	-	-	-	s	s	-	-
19	F	12 a	Santiago ^g	out/12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	F	Adulto	Maçambará	dez/13	-	-	-	-	-	s	s	-	-	-	-	-	-	-	-
21	F	Adulto	Manoel Viana	fev/14	-	-	-	-	-	-	s	-	-	s	-	-	-	s	s

^aVacas com corpo lúteo, ^b Macho, ^c Fêmeas, ^d Meses, ^e Anos, ^f Bovino com idade superior a dois anos, ^g Propriedade pertencente a região central do estado, ^h sim, (-) sem alteração.

Quadro 2. Lesões macroscópicas observadas em necropsias e histopatológicas de bovinos intoxicados naturalmente por *Senecio* spp. avaliados no LPV-Unipampa entre 2011 e 2014.

Bovino No	Orgãos										
	Pericárdio	Cav. abdominal	Abomaso	Mesentério/o mento	Vesícula biliar	Fígado					
	Hidropericárdio	Hidrop- eritôneo		Edema	Retração da cápsula	Coloração pálida	Consistência Firme	Estrias brancacentas	Evidenciação do padrão lobular		
Necropsia											
1	-	++++	-	-	-	+++	++	+++	+++	++	
2 ^a	-	-	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	
3	-	-	-	-	-	-	-	+++	++	-	
4	+++	-	++	++	-	++	-	++	++	-	
5	-	-	+++	+++	-	++	++	+++	++	-	
6	-	-	+	-	+	-	-	++	++	++	
7	-	++++	++++	+++	+	-	-	+++	++++	++	
8	-	+++	++++	-	-	+++	++	++++	++	-	
9 ^a	++	++	+++	+++	++	+++	++	++	+++	-	
10	-	+	++	++	++	-	-	+++	++	-	
11	-	++++	++++	++++	++++	+++	-	++++	++++	-	
12	-	+++	++++	++++	++++	+++	++++	++++	++++	-	
13	-	+++	++++	++++	+++	+++	-	++++	++++	-	
Histopatológico											
20	-	-	++++	-	-	++	-	-	++	-	+

^a vacas prenhes, (+) discreta, (++) leve, (+++) moderada, (++++) acentuada, (-) sem alteração.

Quadro 3. Achados microscópicos de necropsias e exames histopatológicos registradas no LPV-Unipampa no período entre 2011 e 2014.

Bovino No	Órgãos															
	Fígado						Encéfalo				Pulmão			Rim		
	Fibrose periportal	Megalocitose	Hiperplasia de ductos biliares	Espessamento da cápsula	Necrose individual de hepatócitos	Bilestase	Vacuolização de hepatócitos	Nód. de regeneração	Congestão	Infiltração do inflamatório	Deg. Esponjosa	Congestão	Espessamento de septo	Edema	Cilindros hialinos	Megalocitose de células tubulares
Necropsia																
1	++	++	++	++	-	+	++	-	-	-	-	-	++	+	+	++
2 ^a	++++	+++	++++	+++	++	++	+++	+++	-	-	++++	-	-	-	-	+++
3	++	+	-	+	-	++	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	++	++	-	-	-	+	-	-	++++	-	-	++++	-	-	-	-
5	+++	+++	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	++	++	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
8	++++	+++	++++	-	-	-	-	-	-	-	+++	-	-	-	-	-
9 ^a	++++	++++	-	-	-	-	-	+	+	-	-	++	+	-	-	-
10	++	+++	+++	-	-	-	+	-	-	-	++	++	-	-	-	-
11	++++	++++	++++	+++	-	++	-	-	-	++	+	+	-	-	-	-
12	++++	++++	++++	++	-	++	-	-	+	++	+++	+	-	-	-	-
13	++++	++++	++++	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Histopatológico																
14	-	++++	++++	++++	++	++	++++	-	++	-	+	-	-	-	-	-
15	++++	++++	++++	++++	-	-	++++	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16 ^a	+++	+++	++++	-	-	-	+++	++	-	-	-	-	-	-	-	-
17 ^a	++++	++++	+++	-	-	-	+	+++	-	-	++++	-	-	-	-	-
18	++	+++	++++	+	-	-	++++	-	-	-	-	-	-	-	-	-
19	++++	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
20	++++	++++	++++	-	-	++	-	++	-	-	+++	++	-	+	-	-
21	++++	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	+++	++	-	+++	-	-

^aVacas prenhes com corpo lúteo, , (+) Discreta, (++) Leve, (+++) Moderada, (++++) Acentuada, (-) Sem alteração.

Quadro 4 – Diâmetro dos núcleos de células luteínicas grandes de ovários de vacas prenhes com seneciose crônica e de vacas controle.

	Intoxicadas (μm)	Controle (μm)
Núcleos avaliados (n)	800	800
Menor diâmetro	6,62	3,47
Maior diâmetro	23,69	11,15
Média dos diâmetros (Médias \pm DP)*	10,70 \pm 0,77	7,16 \pm 0,62

* Diferença significativa, $P < 0.0001$ (teste t)



Fig.1. Bovino – Fígado com Retração da capsula hepática com estrições brancacentas, com áreas de hemorragia. Nota-se vesícula biliar distendida.



Fig.2. Bovino – Fígado com superfície de corte apresenta coloração castanha, e mais pálido. Observam-se ainda inúmeras estrições brancacentas, entremeadas por áreas mais escuras.

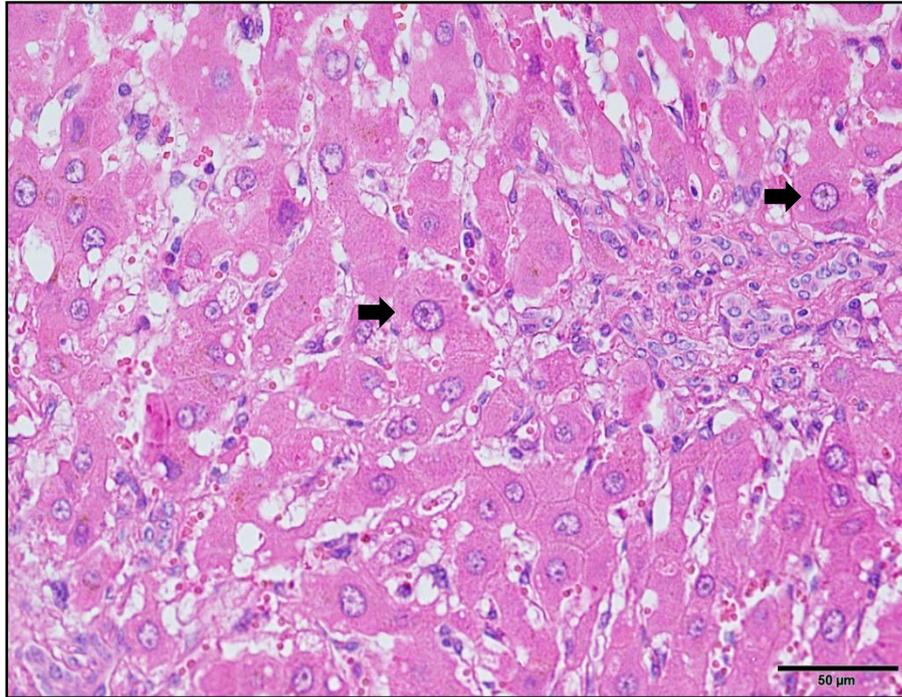


Fig.3. Bovino – Fígado apresentando megalocitose de hepatócito (seta). HE, 40x.

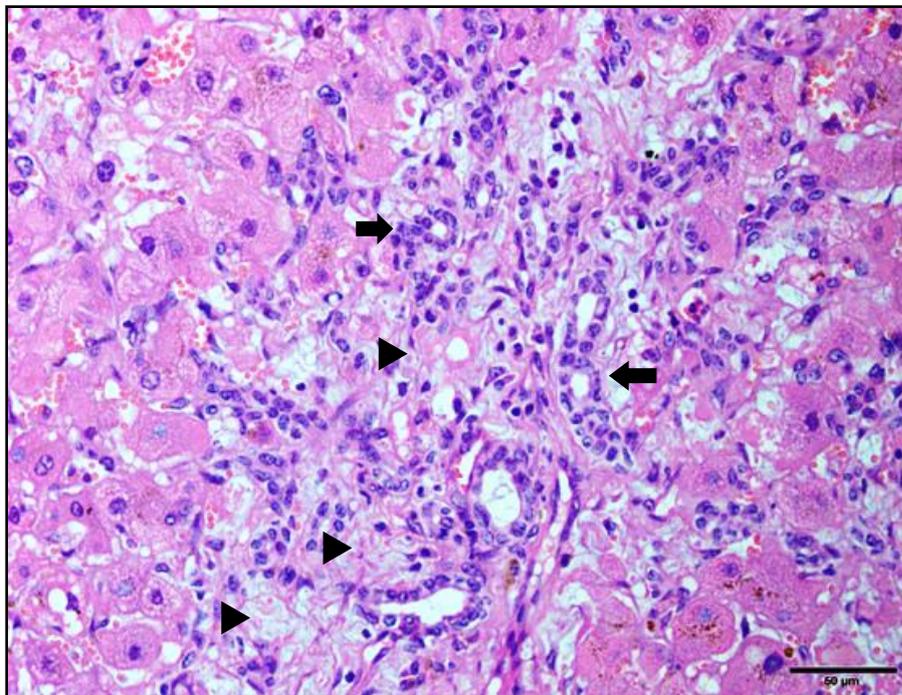


Fig.4. Bovino – Fígado apresenta hiperplasia difusa acentuada de células epiteliais de ductos biliares (seta) e fibrose periportal difusa acentuada (cabeça de seta). HE. 40x.

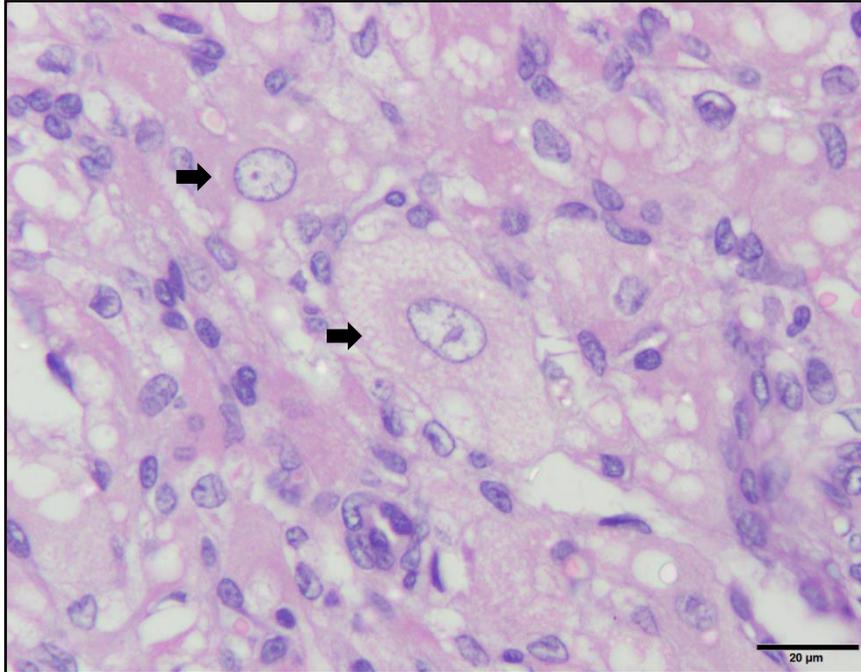


Fig.5. Bovino – Ovário com megalocitose de células luteínicas grandes (seta) (CLG) HE. Obj. 40x.

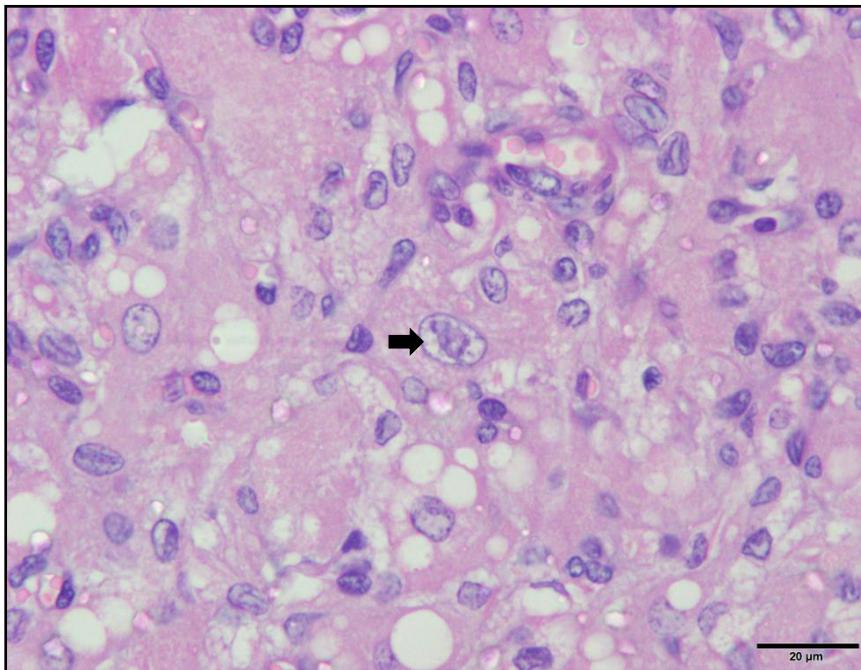


Fig.6. Ovário – Bovino. Núcleos de células luteínicas grandes de tamanho aumentado observada-se estrutura circulares, levemente eosinofílicas com margens bem definidas e envoltas por fina membrana, características semelhantes a pseudoinclusões (seta) HE. Obj. 40x.

5 DISCUSSÃO

A microrregião da Campanha Ocidental tem como uma das suas principais atividades econômicas a pecuária extensiva. Possui uma grande área com grandes extensões de terra destinadas à atividade. Entretendo nas propriedades visitadas durante o trabalho observou-se campos com pastagens onde predominava capim-annoni (*Eragrostis plana*), capim de baixa qualidade e com grandes quantidades de plantas do gênero *Senecio* spp. Muitas vezes foi possível observar algumas plantas pastejadas por bovinos. Apesar da planta não ser palatável para bovinos a baixa oferta de alimento de boa qualidade de um aumento de demanda nutricional levam ao consumo da mesma (Karam et al., 2004; Grecco et al., 2011 Tokarnia et al., 2012).

O estudo revelou que a intoxicação crônica por *Senecio* spp. foi a principal causa de morte de bovinos (aproximadamente 12%) diagnosticada no LPV-Unipampa no período estudado. Notou-se também no mesmo período um aumento na procura por diagnóstico histopatológico e por necropsias. Em levantamentos realizados na região central do Rio Grande do Sul a seneciose foi a principal causa de morte de bovinos (23% das causas de morte diagnosticadas no LPV-UFSM) (Lucena et al., 2010) e a segunda maior causa de morte de bovinos na região Sul do estado (7% das causas de morte de bovinos diagnosticadas no LRD-UFPel) (Karam et al., 2004). As principais espécies do gênero encontradas nas visitas foram *S. brasiliensis* e *S. heterothichius.*, já as outras espécies como *S. selloi* e *S. oxyphyllus* e *S. leptolobus* foram encontradas com menor frequência, semelhante ao observado por outros pesquisadores (Karam et al., 2011; Tokarnia et al., 2012).

O trabalho possibilitou avaliar dados epidemiológicos importantes para a região a cerca da seneciose em bovinos. A maior parte dos surtos ocorreu entre os meses de inverno e verão e coincide com momento de maior exigência metabólica dos rebanhos (Peterson & Culvenor, 1983; Karam et al., 2004; Tokarnia et al., 2012).

A técnica de biópsia demonstrou ser precisa e ser um excelente método de diagnóstico, promovendo apenas uma pequena lesão e um diagnóstico preciso, o que permitiu estabelecer um diagnóstico precoce de bovinos que estavam intoxicados porem sem apresentar sinais clínicos (Braga et al., 1985; Barros et al., 2007; Tokarnia et al., 2012). Uma vez que animais intoxicados podem permanecer por longos períodos no rebanho sem manifestar sinais clínicos (Rissi et al., 2007; Tokarnia et al., 2012) a realização da biópsia hepática pode auxilia os proprietários na seleção de animais a serem descartados do rebanho.

O segundo artigo ressalta a importância da seneciose crônica para a pecuária da região, por ser a principal causa de mortalidade de bovinos. Além disso, ressaltou o estudo dos mecanismos patogênicos dos distúrbios reprodutivos causados por plantas. Diversas doenças, especialmente as de origem infecciosa, são incriminadas por causarem distúrbios reprodutivos em bovino e estas são amplamente estudadas, entre estas condições, são descritas afecções causados por plantas e outras toxinas, porém o desconhecimento da maioria dos seus mecanismos patogênicos, faz com que sua importância seja diminuída (James et al., 1992).

Neste estudo foram avaliados fragmentos de diferentes os órgãos coletados de bovinos, sendo que no fígado as principais lesões observadas foram fibrose, megalocitose e proliferação de ductos biliares, lesões características de seneciose crônica (Méndez, 1993; Pearson, 1993; Riet-Correa, 2000; Grecco et al., 2010), também foram encontradas lesões em SNC caracterizada por degeneração esponjosa (*status spongiosus*) (Méndez et al., 1987; Wouters et al., 2013). Também foram avaliadas células de corpo lúteo onde foi observado megalocitose de núcleos de células luteínicas grandes. Acreditasse que essa alteração possa ocorrer da mesma forma que no fígado, pois células de outros tecidos podem apresentar megalocitose como por exemplo células dos túbulos renais de suínos intoxicados por *Senecio jacobaea* (Harding et al., 1964), em equinos (Curran et al., 1996; Nobre et al., 2004) e nas células clara dos pulmões de asininos (Pessoa et al., 2013) bem como, em dois dos bovinos desse levantamento (Bovino 1 e 2).

Isso se torna possível, pois o processo de mitose é fundamental no desenvolvimento dos oócitos em vacas, bem como na formação e desenvolvimento das células luteínicas grandes (CLG) do corpo lúteo (Banks, 1991, Rafez & Rafez, 2003). O fato das CLG sofrerem mitose e apresentarem grande atividade de enzimas citocromo P450 tornam essas células ainda mais susceptíveis a ação dos pirrois e a desenvolverem megalocitose, o que pode ser uma das explicações para os problemas reprodutivos frequentemente mencionados por produtores da região e sem uma causa definida. As CLG também são responsáveis pela síntese de ocitocina no CL de vacas (Fehr, 1987), o que sugere que as alterações gonadais decorrentes dos APs presentes no *Senecio* também podem estar relacionadas ao déficit de ocitocina em bovinos interferindo na gestação.

Os artigos aqui apresentados, além de apresentarem aspectos importantes a cerca da intoxicação por *Senecio* em bovinos, permitem lançar novas hipóteses sobre a ação dos APs em

gônadas e seus efeitos nocivos para bovinos em fase reprodutiva e apontam para a necessidade de novos estudos.

6 CONCLUSÕES

As plantas do gênero *Senecio* spp. são as principais causas de morte de bovinos na Mesorregião Sudoeste Rio-Grandense.

Os alcaloides pirrolizidínicos, contidos em plantas do gênero *Senecio* causam alterações em ovários que se caracterizam microscopicamente por megalocitose e pseudoinclusão em células luteínicas grandes podendo ser uma das causas de perdas reprodutivas nos rebanhos da região.

A biópsia hepática é um excelente método de diagnóstico de seneciose crônica e auxilia na seleção dos bovinos a serem descartados dos rebanhos, diminuindo significativamente as perdas econômicas.

Conclui-se ainda que muitos surtos não são diagnosticados por falta de conhecimento de espécies por falta de conhecimento, das espécies dos gêneros *Senecio* na região pelos produtores.

7 PERSPECTIVAS

- Esclarecer as vias metabólicas e mecanismos patogénéticos das lesões em gônadas de vacas prenhes;
- Determinar se há efeito deletério dos APs em corpo lúteo de vacas intoxicadas não prenhes.
- Determinar se há efeito toxico dos APs em bovinos machos pré-púberes e púberes.
- O diagnóstico histopatológico deve ser mais difundido na região, e dessa forma auxiliando produtores a acharem alternativas para evitar prejuízos econômicos;

8 REFERÊNCIAS

- ANJOS B.L.; NOBRE V.M.T.; DANTAS A. F.M.; MEDEIROS R. M.T.; NETO T.S.O.; MOLYNEUX R.J.; CORREA F.R. Poisoning of sheep by seeds of *Crotalaria retusa*: Acquired resistance by continuous administration of low doses. **Toxicon**. v.55:28–32, 2010.
- BANDARRA P.M.; OLIVEIRA L.G.; DALTO A.C.; BOABAID F.M.; JUFFO G.; RIET-CORREA F.; DRIEMEIER D.; CRUZ C.E.F. Sheep production as a *Senecio* spp. control tool. **Pesq. Vet. Bras**. v. 32(10):1017-1022, 2012.
- BANKS, W. J. **Histologia veterinária aplicada**. 2. ed. São Paulo: Manole, p.629, 1991.
- BARROS C.S.L.; CASTILHOS L.M.L.; RISSI D.R.; KOMMERS G.D.; RECH R. Biópsia hepática no diagnóstico da intoxicação por *Senecio brasiliensis* (Asteraceae) em bovinos. **Pesq. Vet. Bras**. v.27:53-60, 2007.
- BRAGA M.M.; CASTILHOS L.M.L.; SANTOS M.N. Biópsia Hepática em Bovinos: Proposta de Nova Técnica Ver. **Centro de Ciência Rurais**, Santa Maria. v.15:79-88, 1985.
- BASILE J.R.; DINIZ J.M.F.; OKANO W.; CIRIO S.M.; LEITE L.C. Intoxicação por *Senecio* spp. (Compositae) em bovinos no sul do Brasil. **Acta Scientiae Veterinariae**. v.33(1):63- 68, 2005.
- BERTAN C.M., BINELLI M., MADUREIRA E.H. & TRALDI A.S. Mecanismos endócrinos e moleculares envolvidos na formação do corpo lúteo e na luteólise - revisão de literatura. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci**. 43:824-840, 2006.
- COOPER R.G. Poisoning in ostriches following ingestion of toxic plants - field observations. **Trop Anim Health Prod**. v.39: 439–442, 2007.
- CORRÊA A.M.R.; JUNIOR P.S.B.; PAVARINI S.P.; SANTOS A.S.; SONNE L.; ZLOTOWSKI P.; GOMES G.; DRIEMEIER D. *Senecio brasiliensis* (Asteraceae) poisoning in Murrah buffaloes in Rio Grande do Sul. **Pesq. Vet. Bras**. v.28, n.3, p.187-189, 2008.
- CORTINOVIS C.; CALONI F. Epidemiology of intoxication of domestic animals by plants in Europe. **The Veterinary Journal**. v.197:163–168, 2013.
- CURRAN J.M.; SUTHERLAND R.J.; PEET R.L. A screening test for subclinical liver disease in horses affected by pyrrolizidine alkaloid toxicosis. **Aust. Vet. J**. v.74: 236-240, 1996.
- CRUZ C.E.F.; KARAM F.C.; DALTO A.C.; PAVARINI S.P.; BANDARRA P.M.; DRIEMEIER D. Fireweed (*Senecio madagascariensis*) poisoning in cattle. **Pesq. Vet. Bras**. v.30(1):10-12, 2010.
- DIMANDE A.F.P.; BOTHA C.J.; PROZESKY L.; BEKKER L.; RÖSEMANN G.M.; LABUSCHAGNE L.; RETIEF E. The toxicity of *Senecio inaequidens* DC. **J. S. Afr.Vet. Ass**. v.78(3):121–129, 2007.

ELIAS F.; LATORRE A.O.; PÍPOLE F.; HARAGUCHI M.; GÓRNIAC S.L.; HUEZA I.M. Haematological and immunological effects of repeated dose exposure of rats to integerrimine N-oxide from *Senecio brasiliensis*. **Food and Chem. Tox.** v.49: 2313–2319, 2011.

FEHR S., IVELL R., KOLL R., SCHAMS D., FIELDAS M. & RICHTER D. Expression of oxytocin gene in the large cells of bovine corpus luteum. **FEBS Lett.** 10(1):45-50, 1987.

GARDINER M. R., ROYCE R. & BOKOR A. Studies on *Crotalaria crispata*, a newly recognised cause of Kimberley horse disease. **J. Comp. Path. Bact.** v.89:43-53, 1965.

GAVA A.; BARROS C.S.L. *Senecio* spp. poisoning of horses in southern Brazil. **Pesq. Vet. Bras.** v.17, (1):36-40, 1997.

GIARETTA P.R.; PANZIERA W.; GALIZA G.J.A.; BRUM J.S.; BIANCHI R.M.; HAMMERSCHMITT M.E.; BAZZI T.; BARROS C.S.L. Seneciosis in cattle associated with photosensitization. **Pesq. Vet. Bras.** v.34(5): 427-432, 2014.

GORDER V.L. Tansy ragwort poisoning in a horse in southern Ontario. **Can Vet J.** v.41: 409-410, 2000.

GRECCO F.B.; SILVA P.E.; PEREIRA C.M.; SOARES M.P.; RAFFI M.B.; SALLIS E.S.V. SCHILD A.L. Intoxicação experimental aguda por *Senecio brasiliensis* em ovinos e indução de resistência à intoxicação. **Pesq. Vet. Bras.** v.32(9): 912-916, 2012.

GRECCO F.B.; SILVA P.E.; PEREIRA C.M.; SOARES M.P.; COLLARES G.; SCHILD A.L. Seneciose crônica em ovinos no sul do Rio Grande do Sul. **Pesq. Vet. Bras.** v.31(4): 326-330, 2011.

GRECCO F.B.; SCLHID A.L.; SOARES M.P.; SILVA P.E.; SALLIS E.S.V. Aspectos epidemiológicos de lesões hepáticas em 35 surtos de intoxicação por *Senecio* spp. em bovinos no sul do Rio Grande do Sul. **Pesq. Vet. Bras.** v.30(5): 389-397, 2010.

HARDING J.D.J., LEWIS G., DONE J.T. & ALLCROFT R. Experimental poisoning by *Senecio jacobaea* in pigs. **Path. Vet.** 1:204-220, 1964.

ILHA M.R.S.; LORETTI A.P.; BARROS S.S.; BARROS C.S.L. Intoxicação espontânea por *Senecio brasiliensis* (Asteraceae) em ovinos no Rio Grande do Sul. **Pesq. Vet. Bras.** v.21, (3): 123-138, 2001.

ITO K.M.; SATO M.; USHIJIMA K.; NAKAI M.; ITO K. Alterations of endothelium and smooth muscle function in monocrotaline-induced pulmonary hypertensive arteries. **Am. J. Heart Circ. Physiol.** 279: 1786-1795, 2000.

JAMES L.F., NIELSEN D.B. & PANTER K.E. Impact of poisonous plants on the livestock industry. **J. Range Manag.** v.45:3-8. 1992

KARAM, F.S. C.; MÉNDEZ M.C.; JARENKOW J.A.; RIET-CORREA F. Fenologia de quatro espécies tóxicas de *Senecio* (Asteraceae) na região Sul do Rio Grande do Sul. **Pesq. Vet. Bras.**, v.22(1):33-39, 2002.

KARAM F.S.C.; SOARES M.P.; HARAGUCHI M.; RIET-CORREA F.; MÉNDEZ M.C.; JARENKOW J.A. Aspectos epidemiológicos da seneciose na região sul do Rio Grande do Sul. **Pesq. Vet. Bras.** v. 24(4):191-198, 2004.

KARAM F.C.; SCHILD A.L.; MELLO J.R.B. Intoxicação por *Senecio* spp. em bovinos no Rio Grande do Sul: condições ambientais favoráveis e medidas de controle. **Pesq. Vet. Bras.** v.31(7): 603-609, 2011.

KARAM F.C.; MORAES J.C.F.; SCHILD A.L. Controle de *Senecio* spp. com pastoreio ovino de acordo com sua infestação e fenologia. **Pesq. Vet. Bras.** v.33(9): 1109-1115, 2013.

KELLY W. R. The liver and biliary system, 319-404. In: **Jubb K.V.F., Kennedy P.C. & Palmer N. (ed.) Pathology of Domestic Animals.** Vol. 2. 4th ed. Academic Press, San Diego. 1993.

KNIGHT A.P.; WALTER R.G. **A Guide to Plant Poisoning of Animals in North America.** New Media, Teton. p.578, 2001.

LUCENA R.B.; PIEREZAM F.; KOMMERS G.D.; IRIGOYEN L.F.; BARROS C.S.L. Doenças de Bovinos no Sul do Brasil: 6.706 casos, **Pesq. Vet. Bras.** v.30(5): 428-434, 2010.

LUCENA R.B.; RISSI D.R.; MAIA L.A.; FLORES M.M.; DANTAS A.F.M.; NOBRE V.M.T.; RIET-CORREA F.; BARROS C.S.L. Intoxicação por alcalóides pirro- lizidínicos em ruminantes e equinos no Brasil. **Pesq. Vet. Bras.** v.30(5): 447-452 2010.

MATTOCKS A.R.; JUKES R. **Trapping and measurement of short-lived alkylating agents in a recirculating flow system.** Chem. Biol. Interact. 7619-30, 1990.

MATZENBACHER N.I.; SCHNEIDER A.A. Nota sobre a presença de uma espécie adventícia de *Senecio* (Asteraceae) no Rio Grande do Sul, Brasil. **Ver. Bras. de Bio.** v. 6(1): 111-115, 2008.

MÉNDEZ M.C., RIET-CORREA F., SHILD A.L. & MARTZ W. Intoxicação por *Senecio* spp. (Compositae) em bovinos no Rio Grande do Sul. **Pes. Vet. Bras.** 7(2):51-56, 1987.

MÉNDEZ M.C. Intoxicação por *Senecio* spp., p.43-57. In: RIET-CORREA F., MÉNDEZ M.C. & SCHILD A.L. (ed.) **Intoxicações por Plantas e Micotoxicoses em Animais Domésticos.** Editorial Agropecuaria Hemisferio Sur, Montevideo, 1993.

MÉNDEZ M.C.; RIET-CORREA F. Plantas hepatotóxicas, p.9-29. In: MÉNDEZ M.C. & RIET-CORREA F. (ed.) **Plantas Tóxicas e Micotoxicoses.** Editora Universitária, Pelotas, 2000.

NEVES M.M.; MARQUES JR, A.P. Proporção volumétrica dos constituintes do corpo lúteo de Nelore. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** v.58: 944-946, 2006.

NOBRE V.M.T.; RIET-CORREA F.; DANTAS A.F.M.; TABOSA I.M.; MEDEIROS R.M.T.; BARBOSA FILHO J. M. Intoxication by *Crotalaria retusa* in ruminants and equidae in the state of Paraíba, northeastern Brazil, p. 275-278. In: **Plant Poisoning and related Toxins**. CAB International, Glasgow, UK. 2004.

PESSOA C.R.M.; PESSOA A.F.A.; MAIA L.A.; MEDEIROS R.M.T.; COLEGATE S.M.; BARROS S.S.; SOARES M.P.; BORGES A.S.; RIET-CORREA F. Pulmonary and hepatic lesions caused by the dehydropyrrolizidine alkaloid-producing plants *Crotalaria juncea* and *Crotalaria retusa* in donkeys. **Toxicon**. v.71: 113–120, 2013.

PILATI C.; BARROS C.S.L. Intoxicação experimental por *Senecio brasiliensis* (Asteraceae) em eqüinos. **Pesq. Vet. Bras.** v.27(7):287-296, 2007.

PRAKASH A.S.; PEREIRE T.N.; REILLY P.E.B.; SEAWRIGHT A.A.. Pyrrolizidine Alkaloids in Human diet Mutation Research. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**. v. 443: 53-67, 1999.

RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; BLOOD, D.C.; HINCHCLIFF, K.W. (Eds). **Clínica Veterinária – Um Tratado de Doenças dos Bovinos, Ovinos, Suínos, Caprinos e Equinos**, 9th ed, Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 2010.

RAFEZ, B.; RAFEZ E. S. E. **Reprodução animal**. 7º edição. Editota Manole. Barueri - SP; 2003.

REYNOLDS L.P., KILLILEA, S.D., GRAZUL-BILSKA, A.T. & REDMER, D.A.. Mitogenic factors of corpora lutea. **Prog. Growth Factor Res.** 5:159–175, 1994.

RIET-CORREA F.; MEDEIROS R.M.T. Intoxicações por plantas em ruminantes no Brasil e no Uruguai: importância econômica, controle e riscos para a saúde pública. **Pesq. Vet. Bras.** v. 21(1):38-42, 2001.

RIET-CORREA F.; SCHILD A.L.; LEMOS R.A.A.; BORGES J.R.J. **Doenças de ruminantes e eqüinos**, 3. ed. Santa Maria: Pallotti, vol.1., Campo Grande, 722p, 2007.

RISSI D.R.; RECH R.R.; PIEREZAN F.; GABRIEL A.L.; TROST M.E.; BRUM J.S.; KOMMERS G.D.; BARROS C.S.L. Intoxicações por plantas e micotoxinas associadas a plantas em bovinos no Rio Grande do Sul: 461 casos. **Pesq. Vet. Bras.** v.27(7):261-268, 2007.

SANDINI T.M.; UDO M.S.B.; REIS-SILVA T.M.; BERNARDI M.M.; SPINOSA H.S. Prenatal exposure to integerrimine N-oxide impaired the maternal care and the physical and behavioral development of offspring rats. **Int. J. Devl Neurosci.** v.36:53–63, 2014.

SANTOS J.C. A.; RIET-CORREA F.; SIMÕES S.V.D.; BARROS C.S.L. Patogênese, sinais clínicos e patologia das doenças causadas por plantas hepatotóxicas em ruminantes e eqüinos no Brasil. **Pesq. Vet. Bras.** v.28(1):1-14, 2008.

SANTOS-MELLO R.; DEIMLING L.I.; JÚNIOR L.C.M.; ALMEIDA A. Induction of micronuclei by alkaloids extracted from *Senecio brasiliensis* and stored for 23 years. **Mutation Research** v.516: 23–28, 2002.

SCHAMS D. & BERISHA B. Regulation of Corpus Luteum Function in Cattle – an Overview **Reprod Dom Anim** v.39: 241–251, 2004.

SCHILD A.L.; MOTTA A.C.; RIET-CORREA F.; KARAM F.C.; GRECCO F.B. Photosensitivity in cattle in southern Brazil, p. 162-166. In: **ACAMOVIC T., STEWART C.S., PENNYCOTT T.W. (ed.) Poisonings Plants and Related Toxins**, CAB International, London. 2004.

SOUZA A.C.; HATAYDE M.R.; BECHARA G.H. Aspectos patológicos da intoxicação de suínos por sementes de *Crotalaria spectabilis* (Fabaceae). **Pesq. Vet. Bras.** v.17 p.12 -18, 1997.

TRIGO J.R.; LEAL I.R.; MATZENBACHER N.I, LEWINSOHN T.M. Chemotaxonomic value of pyrrolizidine alkaloids in southern Brazil *Senecio* (Senecioneae: Asteraceae). **Biochem System and Ecol** v.31: 1011–1022, 2003.

TOKARNIA C.H.; BRITO M.F.; BARBOSA J.D. **Plantas Tóxicas do Brasil**, editora: Helianthus, Rio de Janeiro, p.566, 2012.

TORRES M.B.A.; COELHO K.I.R. Experimental poisoning by *Senecio brasiliensis* in calves: Quantitative and semi-quantitative study on changes in the hepatic extracellular matrix and sinusoidal cells. **Pesq. Vet. Bras.** v.28(1): 43-50, 2008.

WOUTERS A.T.B.; BOABAID F.M.; FREDO G.; WOUTERS F.; DRIEMEIER D. Caracterização imuno-histoquímica das alterações encefálicas em bovinos com hepatopatia tóxica por *Senecio* sp. **Pesq. Vet. Bras.** v.33 (11):1325-1331, 2013.

APÊNDICE A



Pesquisa Veterinária Brasileira
Brazilian Journal of Veterinary Research

<www.pvb.com.br> <pvb@pvb.com.br>

DECLARAÇÃO

Declaramos para os devidos fins que o Trabalho 3903 LD, intitulado de “**Seneciose bovina na microrregião da Campanha Ocidental do Rio Grande do Sul**”, de autoria de Adriano A. Krabbe¹, Maiara A. Gonçalves, Caroline S. Silveira, Raissa M. Moraes, Lucas S. Quevedo, Paula V.R. Ribeiro² e Bruno L. Anjos, foi aceito para publicação na revista Pesquisa Veterinária Brasileira em 15 de setembro de 2014.

Seropédica/RJ, em 15 de setembro de 2014

Jürgen Döbereiner
Editor-Geral Pesq. Vet. Bras.

APÊNDICE B

Quadro 1. Registro de laudos de necropsias e histopatológicas de bovino intoxicados naturalmente por *Senecio* spp. no LPV/Unipampa no período entre 2011 e 2014.

Bovino No	Registro	Sexo	Idade	Local	Período de recebimento do material
Casos de Necropsia					
1	Un097-11	M ^c	10 m ^e	Uruguaiana	ago/11
2^a	Un129-11 ^{a,b}	F ^d	4 a ^f	Alegrete	set/11
3	Un154-11	F	6 a	Uruguaiana	out/11
4	Un171-11	M	1,5 a	Uruguaiana	jan/12
5	Un284-12	F	Adulto ^g	Uruguaiana	nov/12
6	Un285-12	F	5 a	Uruguaiana	nov/12
7	Un003-13	F	3 a	Uruguaiana	jan/13
8	Un095-13	F	7 a	Quaraí	out/13
9^a	Un153-13 ^{a,b}	F	7 a	Maçambará	out/13
10	Un035-14	F	3 a	Uruguaiana	mar/14
11	Un036-14	M	3 a	Maçambará	mar/14
12	Un037-14	M	3 a	Maçambará	mar/14
13	Un038-14	M	3 a	Maçambará	mar/14
Exames Histopatológicos					
14	U055-11	F	5 a	São Borja	nov/11
15	U062-11	M	1,5 a	Alegrete	nov/11
16^a	U004-12 ^a	F	Adulto	Uruguaiana	jan/12
17^a	U020-12 ^a	F	Adulto	Alegrete	mar/12
18	U030-12	F	2 a	São Borja	abr/12
19	U082-12	F	12 a	Santiago ^h	out/12
20	U184-13	F	Adulto	Maçambará	dez/13
21	U011-14	F	Adulto	Manoel Viana	fev/14

^aVacas com corpo lúteo, ^bVacas que foram avaliados os fetos, ^c Macho, ^d Fêmeas, ^e Meses, ^f Anos, ^g Bovino com idade superior a dois anos e ^h Propriedade pertencente a região central do estado.

ANEXO A

Surtos de intoxicações por *senecio* spp

Produtor/Veterinário/Zootecnista/Agrônomo:

Propriedade:.....

Município:

Contato/Fone:

Localização:

Perguntas:

- Quando ocorreu?

- Qual rebanho existente (espécies)?

- Quantos adoeceram (espécie e idade)?

- Quantos morreram?

- Quantos se recuperaram?

- Foi feito algum tratamento? Qual?

- Qual a duração da doença?

- Houve modificação no manejo?

- Que tipo de exploração (produção)?

- Em que época do ano ocorreu?

- Em que área se encontrava o animal?

- Quais os sinais clínicos?

- Foram observadas lesões nos animais mortos? Quais?

- Foram levantadas suspeitas sobre a etiologia da doença em questão?

- Observações:

Data__ / __ / __

Adaptado de Silva et al. 2006. Plantas tóxicas para ruminantes e equinos no Seridó Ocidental e Oriental do Rio Grande do Norte. Pesq. Vet. Bras. 26(4)223-236.