

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL POR *Dodonea viscosa* (SAPINDACEAE) EM
BOVINOS

CRISTHIANE STECANELLA DE OLIVEIRA CATTANI

PORTO ALEGRE

2003

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL POR *Dodonea viscosa* (SAPINDACEAE) EM
BOVINOS

CRISTHIANE STECANELLA DE OLIVEIRA CATTANI

Dissertação apresentada como requisito para obtenção do grau de Mestre em Ciências Veterinárias na área de concentração em Patologia Veterinária, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (RS).

Orientador: Prof. Dr. David Driemeier

Porto Alegre, 18 de novembro de 2003.

CRISTHIANE STECANELLA DE OLIVEIRA CATTANI

TÍTULO DO TRABALHO: INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL POR *Dodonea viscosa* (SAPINDACEAE) EM BOVINOS

Aprovada em:

APROVADO POR:

Prof. Dr. David Driemeier
Orientador e Presidente da Comissão

Prof. Dr. . Aldo Gava
Membro da Comissão

Prof. Dr Cláudio Severo Lombardo de Barros
Membro da Comissão

Prof. Dr. André Silva Caríssimi
Membro da Comissão

AGRADECIMENTOS

Especialmente ao Ari e Guilherme.

A David Driemeier: obrigado pela oportunidade.

Aos colegas do Laboratório de Patologia Veterinária da UFRGS, obrigado pela ajuda e ensinamentos.

A Deus.

RESUMO

Intoxicação experimental por *Dodonea viscosa* (Sapindaceae) em bovinos

Autor: Cristhiane Stecanella de Oliveira Cattani

Orientador: David Driemeier

Para verificar a toxidez e o quadro clínico e patológico da intoxicação por *Dodonea viscosa* em bovinos, a planta foi administrada para cinco bovinos onde quatro receberam folhas verdes e um recebeu folhas secas. Quatro dos bovinos que receberam as folhas verdes e seca apresentaram sinais clínicos e morreram. Um bovino não adoeceu e nem morreu. A planta mostrou-se tóxica a partir de 25g/kg de peso vivo. As folhas secas fornecidas na dose de 30g/kg mantiveram a toxidez. O menor período de evolução clínica nos que morreram foi de 3 horas e o maior foi de 19 horas. A evolução clínica foi cerca de 8,5h até a morte. O início dos sinais clínicos variou de 13 horas e 30 minutos a 45 horas. Os animais manifestaram apatia, anorexia, leve tenesmo, dificuldade para se manter em estação apoiando-se contra obstáculos, tremores musculares, decúbito esternal, movimentos de pedalagem, coma e morte. A alteração macroscópica mais significativa foi observada no fígado, que apresentava padrão lobular acentuado caracterizada por alternância de áreas vermelho-escuras, com o centro mais deprimido, intercaladas com áreas amarelo-claras conferindo ao órgão o aspecto de noz-moscada. Hemorragias petequiais foram encontradas em serosas de órgãos da cavidade abdominal e torácica e no intestino. A principal alteração microscópica foi observada no fígado que apresentou necrose coagulativa centrolobular ou massiva, associada à congestão e hemorragia.

ABSTRACT

Experimental poisoning by *Dodonea viscosa* (Sapindaceae) in cattle

Author: Cristhiane Stecanella de Oliveira Cattani

Adviser: David Driemeier

Five bovines were fed with *Dodonea viscosa* leaves of the which, four were fed with green leaves and one with dried leaves. Clinical signs were observed in four bovines that died, one of the bovines did not present any clinical signs. The plant was proved toxic at dosages of 25 g per kg or higher. Dried leaves fed in the dose of 30 g per body weight remained toxic. All the animals that died presented clinical signs from 13 hours and 30 minutes to 45 hours after the ingestion of the plant and died around 48 hours. The clinical course from apperance of clinical signs to dead was about 8 hours and 30 minutes. The main clinical signs were apathy, anorexia, tenesmus, temporary unconsciousness, leaning the head against obstacles, muscle trembling, paddling movements, coma and dead. The most significant macroscopic lesion was observed in the liver, with accentuation on the lobular pattern, with alternad dark-red and light-yellow areas. Petechial were found in serosal membranes of the abdominal and thoracic organs. The main microscopic change observed was the hepatic centrolobular coagulative necrosis, associated with congestion and hemorrhagia.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Brotação de <i>Dodonea viscosa</i> . Osório ,RS, Maio de 2002.....	13
Figura 2. Folhas e frutos de <i>Dodonea viscosa</i> . Porto Alegre, RS, Outubro de 2002.....	14
Figura 3. Frutos de <i>Dodonea viscosa</i> . Frutos alados, asas membranosas de coloração vermelha. Porto Alegre , RS, Outubro de 2002.....	14
Figura 4. Intoxicação experimental por <i>Dodonea viscosa</i> em bovinos. Bovino 1: dificuldade para permanecer em estação, apoiando a cabeça no cocho.....	20
Figura 5. Intoxicação experimental por <i>Dodonea viscosa</i> em bovino. Bovino 1: decúbito esternal e apatia.	21
Figura 6. Intoxicação experimental por <i>Dodonea viscosa</i> em bovino. Bovino 4: decúbito lateral com sinais de movimentos de pedalagem, marcados na serragem do piso.21	
Figura 7. Intoxicação experimental por <i>Dodonea viscosa</i> em bovinos. Bovino 4: superfície de corte de fígado com acentuação do padrão lobular caracterizada por áreas claras intercaladas com áreas mais escuras.	23
Figura 8. Intoxicação experimental por <i>Dodonea viscosa</i> em bovinos. Bovino 2: edema de vesícula biliar, superfície capsular do fígado com padrão lobular e hemorragias sub capsulares.....	24
Figura 9. Intoxicação experimental por <i>Dodonea viscosa</i> em bovinos. Bovino 4: ceco e cólon com conteúdo hemorrágico.	24
Figura 10. Intoxicação experimental por <i>Dodonea viscosa</i> em bovino. Bovino 4: necrose hepática centrolobular com congestão e hemorragia. HE. Obj. 40.	26
Figura 11. Intoxicação experimental por <i>Dodonea viscosa</i> em bovino. Bovino 4: glóbulos eosinofílicos em alguns hepatócitos. HE. Obj. 40.....	26
Figura 12. Intoxicação experimental por <i>Dodonea viscosa</i> em bovino. Bovino 4: glóbulos eosinofílicos em alguns hepatócitos, evidenciados pela técnica de PTAH. Obj. 40.	27

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Intoxicação experimental por *Dodonea viscosa* em bovinos. Quantidade da planta fornecida em relação ao peso dos animais. 18
- Tabela 2 - Intoxicação experimental por *Dodonea viscosa* em bovinos. Início dos sinais clínicos e evolução. 19
- Tabela 3 - Dosagens enzimáticas e de glicose realizadas no bovino 4 que recebeu 25g/kg de *Dodonea viscosa*. 22
- Tabela 4 - Classificação da intensidade das lesões microscópicas encontradas nos bovinos que foram intoxicados experimentalmente por *Dodonea viscosa*. .25

SUMÁRIO

RESUMO	4
ABSTRACT	5
LISTA DE FIGURAS	6
LISTA DE TABELAS	7
SUMÁRIO	8
1 INTRODUÇÃO	9
2 REVISÃO DA LITERATURA	11
3 MATERIAL E MÉTODOS	16
3.1 Classificação Botânica.....	16
3.2 Colheita da Planta para Estudo Experimental	16
3.3 Animais Experimentais.....	17
4 RESULTADOS.....	19
4.1 Dose Tóxica e Evolução Clínica.....	19
4.2 Sinais Clínicos	20
4.3 Achados Laboratoriais	22
4.4 Achados Macroscópicos	23
4.5 Achados Microscópicos.....	25
5 DISCUSSÃO	28
6 CONCLUSÕES	33
REFERÊNCIAS.....	34

1 INTRODUÇÃO

As intoxicações por plantas em animais de produção na América do Sul são conhecidas desde que os pioneiros espanhóis e portugueses introduziram os primeiros bovinos em pastagens naturais da região (RIET-CORREA e MEDEIROS, 2001). No Rio Grande do Sul, calcula-se que 10% a 14% das mortes de bovinos são causadas pela ingestão de plantas tóxicas, estimando-se que morrem anualmente entre 64.000 a 90.000 bovinos (RIET-CORREA, *et al.*, 2001).

A família Sapindaceae compreende 140 gêneros distribuídos nos trópicos e subtropicais de todo o mundo, *Dodonea viscosa* inclui-se nesta família (JOLY, 1988), popularmente conhecida como vassoura-vermelha, faxina-vermelha, vassoura-do-campo, erva-de-veado (REITZ, 1980). No Brasil ocorre ao longo de todo o litoral da região sul do Estado do Paraná até o Rio Grande do Sul (REITZ, 1980).

Popularmente as folhas são referidas como anti-reumáticas purgativas, e as cascas citadas como antipiréticas e sudoríferas (ALICE *et al.*, 1995). As folhas também são usadas como cataplasmas no tratamento da gota e doenças venéreas e a seiva possui propriedades antitumorais (MORS *et al.*, 2000, LORENZI e MATOS, 2002).

Na busca da etiologia para a doença conhecida como “doença do Peito inchado” no Planalto de Santa Catarina (TOKARNIA *et al.*, 1989), a *D. viscosa* foi testada experimentalmente em bovinos e se observou que a planta causava necrose hepática¹.

¹ Prof. Dr. Aldo Gava – Universidade do Estado de Santa Catarina – Centro de Ciências Agroveterinárias – Rua Luiz de Camões 9090-Lages - SC

Dodonea viscosa foi descrita como naturalmente tóxica afetando bovinos, em condições de fome, causando sinais clínicos e morte associados a insuficiência hepática aguda (COLODEL *et al.*, 2003).

Várias espécies de plantas já foram caracterizadas como hepatotóxicas para bovinos. As lesões observadas na intoxicação por *Dodonea viscosa* são similares às causadas por outras plantas hepatotóxicas e caracterizam-se por necrose hepática centrolobular. O estudo desta planta tornou-se necessário para caracterização do quadro clínico-patológico e diferenciação do quadro causado por outras plantas hepatotóxicas principalmente após a ocorrência de intoxicação espontânea em bovinos.

O objetivo deste trabalho é determinar as doses tóxicas de *Dodonea viscosa* em bovinos e caracterizar o quadro clínico, as alterações bioquímicas e as lesões da intoxicação experimental para facilitar o diagnóstico da intoxicação natural e a adoção de medidas profiláticas que minimizem as perdas econômicas.

2 REVISÃO DA LITERATURA

Denomina-se planta tóxica todo vegetal que, introduzido no organismo do homem ou de animais, seja capaz de ocasionar danos que se refletem na saúde e vitalidade desses seres (OLIVEIRA e AKISUE, 2000).

As perdas econômicas ocasionadas pelas intoxicações por plantas tóxicas podem ser diretas, causadas pela morte de animais ou indiretas, que incluem custos com o controle das plantas tóxicas nas pastagens e medidas de manejo para evitar a intoxicação. Desta forma, as perdas econômicas causadas pelas intoxicações por plantas são difíceis de se estimar por não existirem dados confiáveis sobre todos esses componentes. No entanto, as perdas causadas por mortes são fáceis de determinar se dispusermos de dados elaborados por laboratórios de diagnóstico, sobre a frequência das causas de mortes dos animais numa determinada região (RIET-CORREA e MEDEIROS, 2001).

No Brasil, o número de plantas conhecidas como tóxicas para ruminantes e eqüinos aumenta constantemente. Atualmente são descritas pelo menos 88 espécies tóxicas, pertencentes a 50 gêneros (RIET-CORREA e MEDEIROS, 2001).

Especificamente na região sul do Brasil, as plantas hepatotóxicas de maior importância pertencem a três famílias: *Solanaceae*, que inclui os gêneros *Cestrum sp.*; *Compositae*, que inclui os gêneros *Vernonia spp.*, *Xanthium spp.*, e *Senecio spp.* e *Boraginacea*, que inclui o gênero *Echium spp.* (TOKARNIA *et al.*, 2000).

Dentre as plantas que causam lesões hepatotóxicas agudas em bovinos, no Brasil, foram descritos casos de intoxicação natural em bovinos por *Cestrum laevigatum*

(DÖBEREINER *et al.*, 1969); *Cestrum parqui*, (RIET-CORREA *et al.*, 1986); *Cestrum corymbosum var. hirsutum* (GAVA *et al.*, 1991); *Cestrum intermedium* (GAVA *et al.*, 1996); *Sessea brasilienses*, (CANELLA *et al.*, 1968); *Vernonia mollissima*,(TOKARNIA & DÖBEREINER, 1982); *Xanthium spp* (MENDEZ *et al.*, 1998, DRIEMEIER *et al.*, 1999) e *Dodonea viscosa* (COLODEL *et al.*, 2003).

Dodonea viscosa (Figura 1) é um arbusto que pode atingir até 8 metros de altura. Suas folhas (Figura 2) são alternadas, simples, inteiras, glabras, curto pecioladas, lanceoladas, com nervura mediana bem visível, membranosas, verdes, de até 15 cm de comprimento e 04 cm de largura (ALICE *et al.*, 1995). As flores são hermafroditas, raramente unissexuadas, zigomorfas, de até 0,3 cm de diâmetro, amarelo-esverdeadas, reunidas em inflorescências paniculadas (SIMÕES *et al.*, 1989). Os frutos são do tipo cápsula, com três partes iguais, aladas, asas membranosas, glabras, castanho-alaranjadas a vermelhas, contendo normalmente de uma até três sementes (Figura 3). As sementes são lenticulares, pretas, opacas de 2,5 mm de diâmetro (REITZ, 1980). Na região sul, a *Dodonea viscosa* floresce de maio a agosto e frutifica de setembro a outubro (REITZ, 1980).

Das folhas de *Dodonea viscosa* já foram isolados ácidos diterpênicos, taninos, flavonóides e ácido clorogênico (SIMÕES *et al.*, 1989). Das sementes foram isoladas Saponinas (MORS *et al.*, 2000, PESMAN & ERVIN, 2002). Não é descrito princípio tóxico que causa necrose hepatocelular.



Figura 1. Brotação de *Dodonea viscosa*. Osório ,RS, Maio de 2002.



Figura 2. Folhas e frutos de *Dodonea viscosa*. Porto Alegre, RS, Outubro de 2002.



Figura 3. Frutos de *Dodonea viscosa*. Frutos alados, asas membranas de coloração vermelha. Porto Alegre, RS, Outubro de 2002.

A intoxicação natural por *Dodonea viscosa* foi descrita em um surto em bovinos, ocorrido no Estado do Rio Grande do Sul, no qual morreram 14 de 48 bovinos, após quadro clínico de fraqueza, andar a esmo ou em círculo, agressividade, alteração na consistência das fezes, decúbito lateral com pedalagem e morte. O curso clínico variou entre 2 a 6 horas. Na necropsia observou-se acentuação do padrão lobular, na superfície capsular e de corte, repleção e edema de vesícula biliar, edema de colédoco e alças intestinais adjacentes, hemorragias na superfície capsular hepática e superfície serosa do rúmen, abomaso, intestino e coração, ressecamento do conteúdo do omaso e por vezes cólon e reto. Microscopicamente a principal lesão afetava o fígado e consistia de necrose hepatocelular centrolobular ou massiva, acompanhada de congestão e hemorragia (COLODEL *et al.*, 2003).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Classificação Botânica

Amostras de *Dodonea viscosa*, usadas no experimento, coletadas nos municípios de Osório e Porto Alegre foram encaminhadas para a Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul para análise morfológica.

3.2 Colheita da Planta para Estudo Experimental

Foram utilizadas no experimento folhas de *D. viscosa* em brotação colhidas no município de Osório no mês de junho de 2001 e folhas de *D. viscosa* durante a inflorescência, coletadas no Campus do Vale da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) durante os meses de setembro e outubro de 2002. As folhas verdes foram separadas dos galhos manualmente e fornecidas aos bovinos para ingestão forçada por via oral em dose única.

Um dos bovinos recebeu folhas secas. As folhas foram secadas à sombra e em temperatura ambiente por um período de 12 dias sendo revolvidas diariamente. Ocorreu perda de peso da planta verde após a secagem.

Foram feitas dosagens de enzimas séricas e de glicose no Bovino 4, que recebeu 30g/kg de folhas verdes de *Dodonea viscosa*. As coletas foram realizadas 12, 24 e 48

horas após a ingestão da planta. A coleta foi realizada em tubos com fluoreto de sódio como anticoagulante, e enviadas ao Laboratório de análises clínicas veterinárias da Faculdade de Veterinária da UFRGS, para análise. Foram utilizados valores de referência segundo GONZÁLEZ e SILVA, 2003.

3.3 Animais Experimentais

Foram utilizados cinco bovinos clinicamente saudáveis, de diferentes raças, sendo dois machos e três fêmeas, com idade entre 24 e 48 meses (Tabela 1).

Durante o experimento os bovinos foram mantidos em baias, com água a vontade e feno de alfafa. Exames clínicos foram realizados periodicamente durante o experimento, com intervalos regulares. Foram avaliados apetite, sede, temperatura retal, frequência cardíaca e respiratória, modificações de comportamento, de postura e de locomoção. Em um dos bovinos realizou-se coleta de sangue para verificação dos níveis de enzimas de função hepática e glicose sérica.

Os bovinos foram necropsiados imediatamente após a morte e fragmentos de todos os órgãos foram coletados e fixados em formalina tamponada a 10%. As amostras foram processadas rotineiramente para estudo histológico e corados pela técnica de hematoxilina e eosina (HE). Fragmentos de fígado foram corados pela técnica de hematoxilina fosfotúngstica de Mallory (PTAH) (PROPHET *et al.*, 1992).

As classificações das lesões foram realizadas observando-se no mínimo 5 campos por lâmina.

Tabela 1 - Intoxicação experimental por *Dodonea viscosa* em bovinos. Quantidade da planta fornecida em relação ao peso dos animais.

Bovino	Peso (kg)	Dose (g/kg)	Dose total (g)
1	240	30	7.200
2	200	30	6.000
3	205	15	3.075
4	480	25	12.000
5	236	30	7.080*

- Dose total de planta verde, após secagem o peso final foi de 4.500 g .

4 RESULTADOS

4.1 Dose Tóxica e Evolução Clínica

Foram observados sinais clínicos de intoxicação em quatro dos cinco bovinos testados. Morreram os bovinos 1, 2, 4 e 5 que receberam as doses de 25g/kg e 30g/kg de planta verde e 30g/kg de planta seca (a dose total do bovino 5 foi 7.080g de planta verde que correspondeu a 4.500 g de planta seca). A dose de 15g/kg utilizada no bovino 3 não causou alterações clínicas.

A evolução do quadro clínico variou de 3 a 19 horas. O maior tempo entre a administração da planta e o início dos sinais clínicos foi de 45 horas, observado no bovino 1. O menor período entre a administração da planta e morte foi de 18 horas no bovino 5 que recebeu a planta seca correspondente a 30g/kg de planta verde. A evolução clínica neste bovino foi de 4 horas e trinta minutos (Tabela 2).

Tabela 2 - Intoxicação experimental por *Dodonea viscosa* em bovinos. Início dos sinais clínicos e evolução.

Bovino	Dose	Início dos sinais clínicos/horas	Evolução / horas
01	30g/kg	45 horas	3 hora
02	30g/kg	36 horas	7 horas
04	30g/kg	36 horas	19 horas
05	30g/kg	13,5 horas	4,5 horas

Obs: o início dos sinais clínicos ocorreu após a ingestão total da planta.

4.2 Sinais Clínicos

O quadro clínico foi semelhante em todos os bovinos. Os principais sinais clínicos foram anorexia, redução dos movimentos ruminais, leve tenesmo, dores abdominais caracterizadas por gemidos e cabeça virada para o flanco. Tremores musculares foram observados em todo o corpo do animal principalmente nos membros anteriores e posteriores que se evidenciavam após movimentação, sudorese moderada principalmente na cabeça e pescoço, dificuldade em permanecer em estação (apoiando a cabeça na parede ou no cocho) (Figura 4), apatia (Figura 5) relutância em caminhar, progredindo para o decúbito esternal, decúbito lateral com movimentos de pedalagem (Figura 6), coma e morte. O bovino 2 apresentou agressividade 6 horas antes da morte.



Figura 4. Intoxicação experimental por *Dodonea viscosa* em bovinos. Bovino 1: dificuldade para permanecer em estação, apoiando a cabeça no cocho.



Figura 5. Intoxicação experimental por *Dodonea viscosa* em bovino. Bovino 1: decúbito esternal e apatia.



Figura 6. Intoxicação experimental por *Dodonea viscosa* em bovino. Bovino 4: decúbito lateral com sinais de movimentos de pedalagem, marcados na serragem do piso.

4.3 Achados Laboratoriais

Os resultados da mensuração dos níveis de glicose sérica e dos marcadores enzimáticos de lesão hepática, aspartato aminotransferase (AST), fosfatase alcalina (SAP) e γ -glutamil transferase (GGT) são apresentados na Tabela 3, e os valores de referência são os utilizados pelo laboratório que realizou as análises.

O nível de fosfatase alcalina elevou-se 22% e 131% às 24 horas e 48 horas, respectivamente, após ingestão da planta, mantendo-se dentro dos valores de referência. A aspartato amino transferase (AST) elevou-se 26,28% às 24 horas e 67% às 48 horas, sendo um aumento final de 337,1 % em relação aos valores de referência. A enzima γ -glutamil transferase (GGT) elevou-se em 27% às 24 horas e 15,79% às 48 horas, e encontrou-se aumentada em 102,2% em relação aos valores de referência. Os níveis de glicose reduziram em 16,26% às 24 horas e 85,32% às 48 horas, sendo um decréscimo em relação aos valores de referência de 87,7%.

Tabela 3 - Dosagens enzimáticas e de glicose realizadas no bovino 4 que recebeu 25g/kg de *Dodonea viscosa*.

Amostra*	AST (U/L)	GGT(U/L)	SAP(U/L)	Glicose(mg/dl)
Valor ref.	78-132	6.1-17,4	< 488	45-75
12 horas	345,5	41,8	77,1	62,7
24 horas	436,3	30,5	94,0	52,5
48 horas	577,0	35,2	178,1	9,2

*As amostras têm como referência o horário de término da ingestão da planta. AST= aspartato amino transferase ;GGT= γ -glutamil-transferase; SAP= fosfatase alcalina.

4.4 Achados Macroscópicos

Todos os animais que morreram no experimento apresentaram lesões macroscópicas semelhantes. A lesão principal encontrava-se no fígado e consistia de acentuação do padrão lobular na superfície capsular e de corte, com áreas vermelho-escuras intercaladas com áreas amarelo-claras (Figura 7) e hemorragias subcapsulares na superfície hepática; intensa repleção da vesícula biliar, com consistência líquida e homogênea, e um leve edema de parede da vesícula (Figura 8), colédoco e duodeno. No rúmen havia grande quantidade de folhas de *Dodonea viscosa* parcialmente digeridas. O abomaso estava com mucosa intensamente avermelhada. Hemorragias petequiais foram vistas no endocárdio e pericárdio, próximo ao sulco coronário e nas serosas do omaso e intestino. O bovino 4 apresentou icterícia moderada, ceco e cólon com conteúdo hemorrágico (Figura 9) e no fígado quatro (04) abscessos, localizados aleatoriamente, medindo em torno de 5 cm de diâmetro.

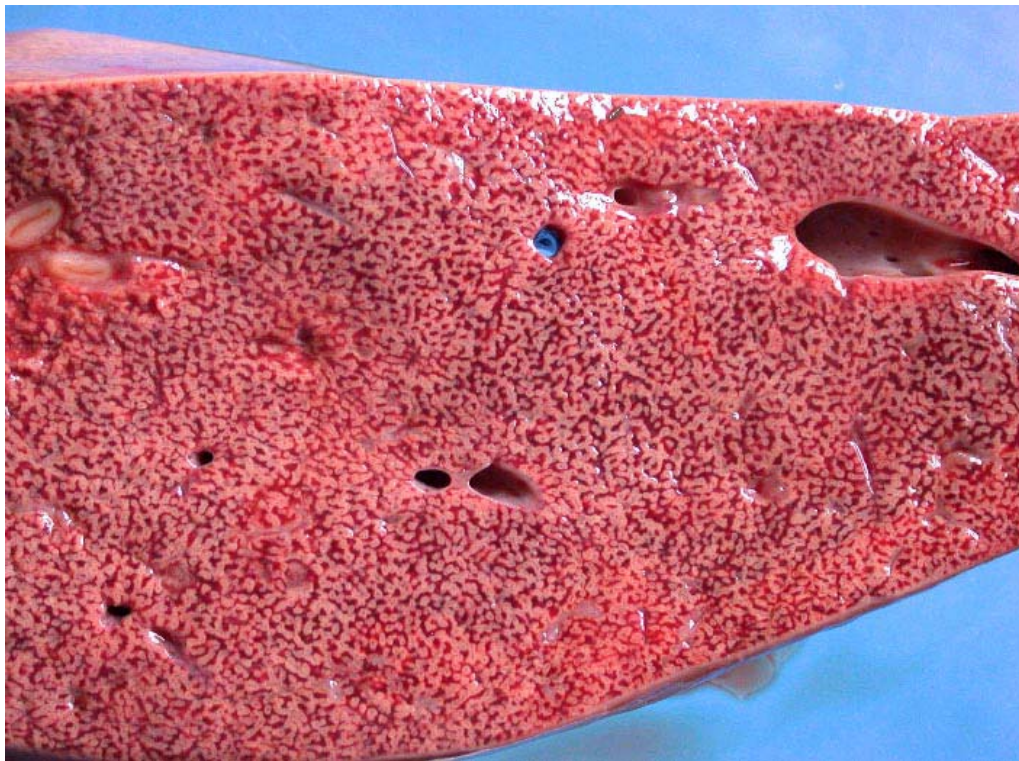


Figura 7. Intoxicação experimental por *Dodonea viscosa* em bovinos. Bovino 4: superfície de corte de fígado com acentuação do padrão lobular caracterizada por áreas claras intercaladas com áreas mais escuras.

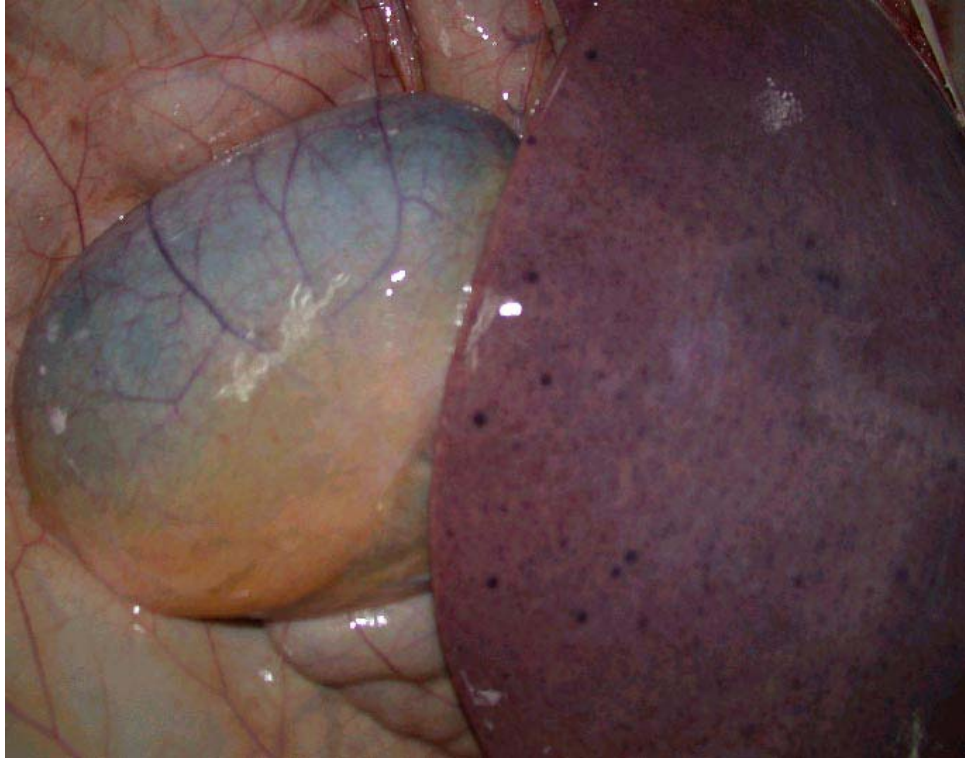


Figura 8. Intoxicação experimental por *Dodonea viscosa* em bovinos. Bovino 2: edema de vesícula biliar, superfície capsular do fígado com padrão lobular e hemorragias sub capsulares.

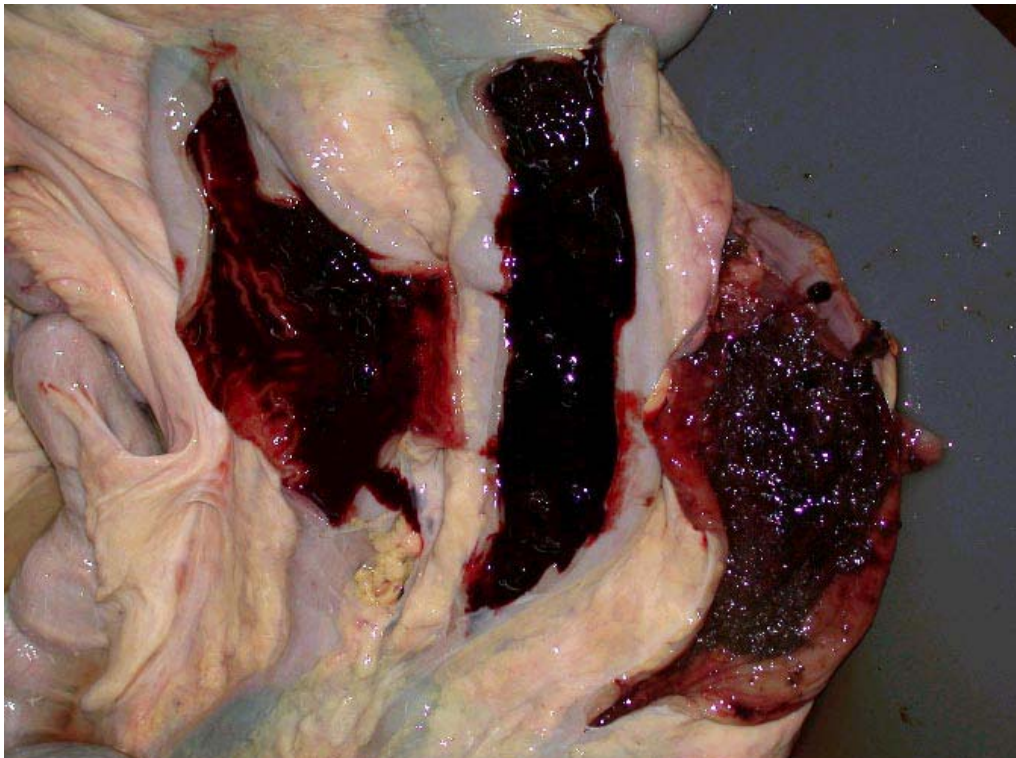


Figura 9. Intoxicação experimental por *Dodonea viscosa* em bovinos. Bovino 4: ceco e cólon com conteúdo hemorrágico.

4.5 Achados Microscópicos

Microscopicamente a principal lesão, em todos os animais necropsiados afetava o fígado. Consistia em necrose hepatocelular centrolobular em dois animais e massiva em outros dois, acompanhada de congestão e hemorragia (Tabela 4, Figura 10). Na região centrolobular de todos os bovinos os hepatócitos estavam dissociados, encarquilhados, com maior eosinofilia citoplasmática, e núcleos picnóticos ou em cariorrexia. Por vezes, havia desaparecimento de hepatócitos próximos a veia centrolobular. Nos casos com necrose massiva a lesão estendia-se aos hepatócitos periacinares restando uma a duas linhas de hepatócitos morfológicamente não afetados. Alterações degenerativas como vacuolização de hepatócitos e glóbulos eosinofílicos (Figura 11) foram observadas principalmente próximos ao limite da área caracterizada com hepatócitos em necrose e aqueles morfológicamente normais. Os glóbulos eosinofílicos foram evidenciados pela técnica de PTAH (Figura 12). Nos bovinos 2 e 4 encontrou-se moderada proliferação de ductos biliares.

Tabela 4 - Classificação da intensidade das lesões microscópicas encontradas nos bovinos que foram intoxicados experimentalmente por *Dodonea viscosa*.

Lesões	Bovinos			
	1	2	4	5
Intensidade da necrose	+++	+++	++	++
Esferóides eosinofílicos	+	+	+++	++
Tumefação de hepatócitos	+++	+++	+++	++
Hemorragia	++	++	+++	+++

Legenda: +++ Lesão acentuada, ++ Lesão moderada, + Lesão leve.

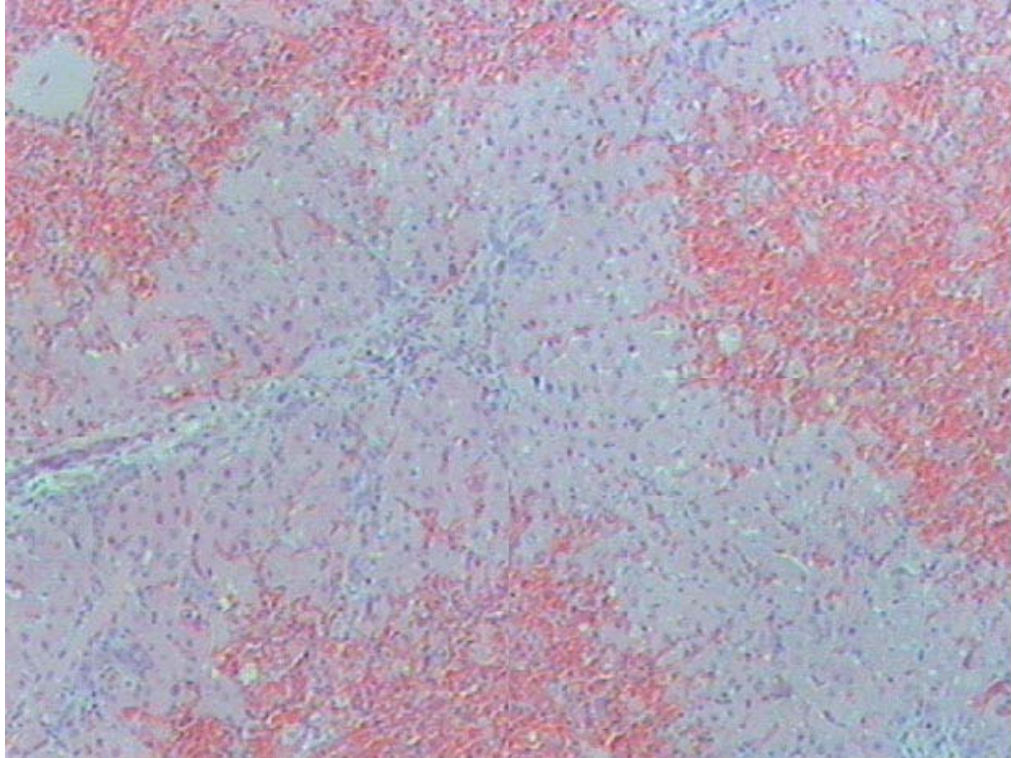


Figura 10. Intoxicação experimental por *Dodonea viscosa* em bovino. Bovino 4: necrose hepática centrolobular com congestão e hemorragia. HE. Obj. 40.

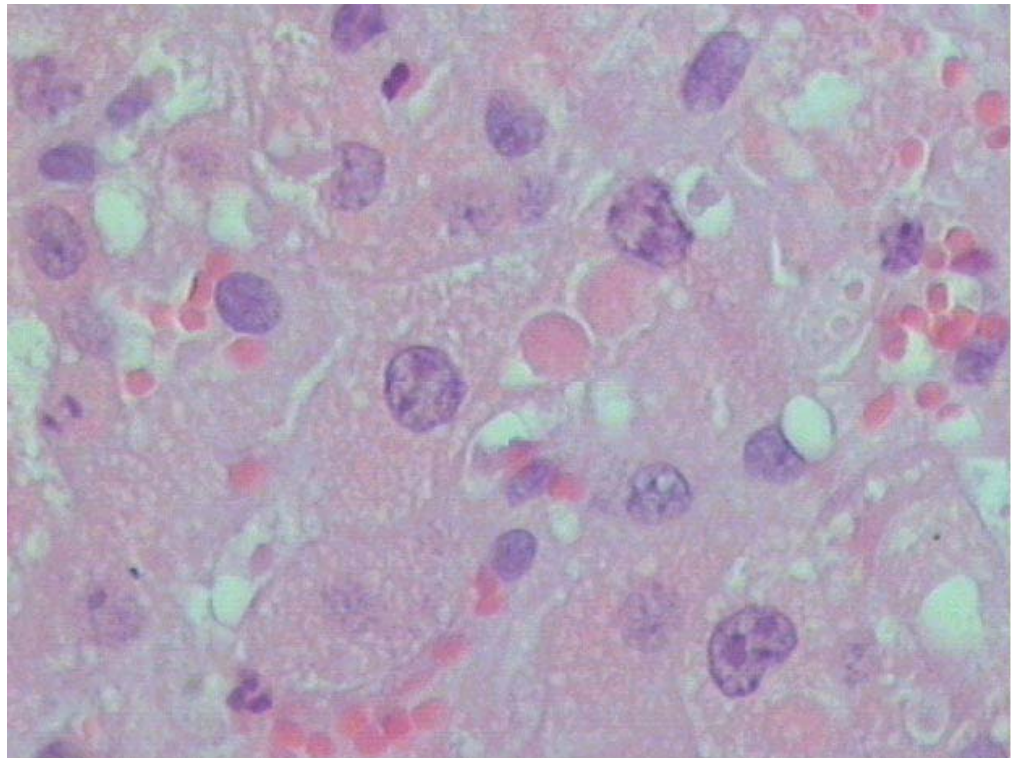


Figura 11. Intoxicação experimental por *Dodonea viscosa* em bovino. Bovino 4: glóbulos eosinofílicos em alguns hepatócitos. HE. Obj. 40.

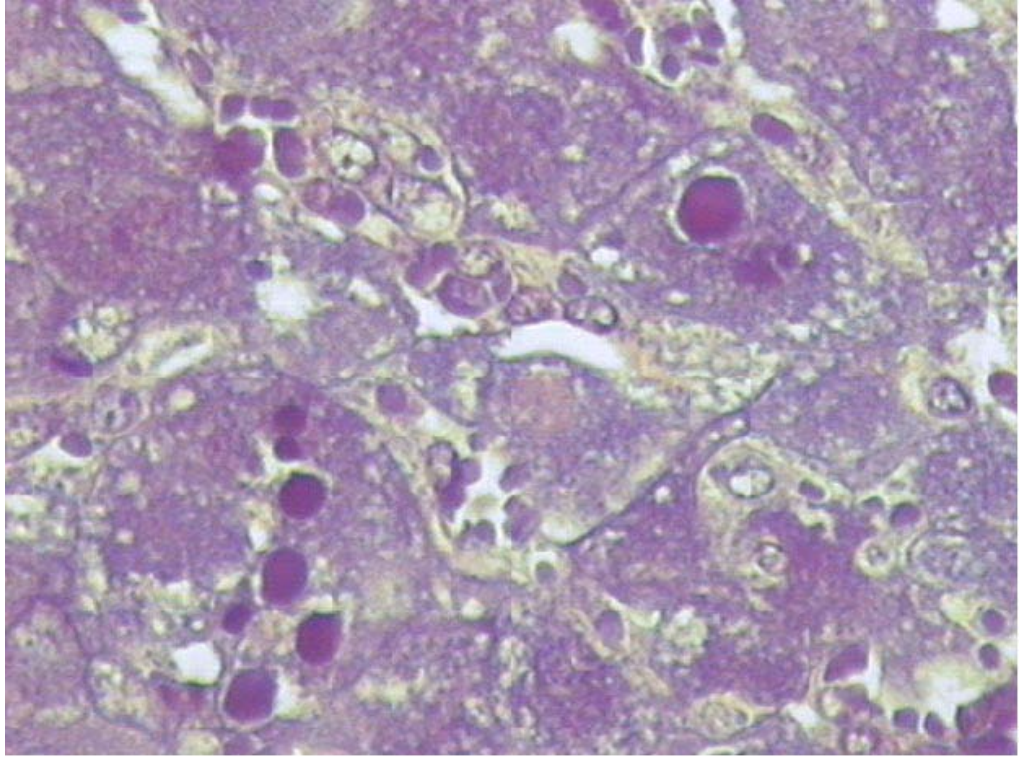


Figura 12. Intoxicação experimental por *Dodonea viscosa* em bovino. Bovino 4: glóbulos eosinofílicos em alguns hepatócitos, evidenciados pela técnica de PTAH. Obj. 40.

5 DISCUSSÃO

Neste estudo experimental foi obtido, pela administração de doses únicas de *Dodonea viscosa* para bovinos, um quadro clínico de insuficiência hepática aguda associado com necrose hepatocelular. As folhas mostraram-se tóxicas na fase de brotação, inflorescência e quando secadas a sombra. O quadro clínico e as lesões foram semelhantes àquelas encontradas na intoxicação natural por *Dodonea viscosa* em bovinos (COLODEL *et al.*, 2003). Dos cinco animais que ingeriram a planta, quatro morreram. A dose de 15 g/kg não foi tóxica para um bovino deste estudo. A planta verde se mostrou tóxica a partir de 25g/kg. A planta dessecada também demonstrou toxidez e foi fatal na dose correspondente a 30g/kg de planta verde. Conclui-se que a dose tóxica está entre 15 e 25 g/kg.

O quadro clínico e patológico observado nas intoxicações por *Dodonea viscosa* é comum a várias hepatotoxicoses agudas. Os sinais clínicos, achados macroscópicos e histológicos devem ser associados a dados epidemiológicos para a definição da etiologia, bem como a presença da planta no local onde ocorreu a morte do animal. A presença da planta no rúmen do animal auxilia no diagnóstico. Os achados microscópicos não são específicos da intoxicação por *Dodonea viscosa*.

De folhas e frutos de *Dodonea viscosa*, foram isoladas saponinas (MORS *et al.*, 2000, PESMAN & ERVIN, 2002), taninos, flavonóides e ácido clorogênico (SIMÕES *et al.*, 1989). A necrose hepatocelular não foi até o momento associada com estas substâncias tóxicas. Saponinas triterpênicas encontradas em espécies da família Sapindáceas (WAGNER & BLADT, 1996, ATHAYDE *et al.*, 2001) possuem atividade hemolítica (WAGNER & BLADT, 1996). Distúrbios de coagulação, como petéquias e equimoses nas serosas e sangue no intestino, observados neste experimento são

descritos com freqüência no curso das hepatopatias tóxicas agudas (RIET-CORREA *et al.*, 1996, LORETTI, 1997, DRIEMEIER *et al.*, 1999, COLODEL *et al.*, 2000). O fígado é o local de síntese de fatores importantes para a hemostasia (BACILA, 1980). Nos casos de necrose hepática há transtornos de todas as funções hepáticas, e ocorre hipoprotrombinemia com diátese hemorrágica após o esgotamento das proteínas séricas. As células hepáticas destruídas liberam abundantes enzimas intracelulares porém não é sempre que há correlação do aumento enzimático com a extensão da lesão hepática (ROBBINS e ANGEL, 1973).

Os principais achados clínicos de insuficiência hepática aguda, associados com necrose hepatocelular são comuns para as plantas que causam necrose hepatocelular (DÖBEREINER *et al.*, 1969, STOLF *et al.*, 1987, GAVA *et al.*, 1987, 1991, 1996, TOKARNIA *et al.*, 2000). A insuficiência hepática ocorre quando mais de 70% da capacidade funcional do fígado estiver comprometida (CRAWFORD, 1994, MACLACHLAN & CULLEN, 1998). Os primeiros sinais clínicos observados neste experimento iniciaram-se 13 horas e trinta minutos após a ingestão da planta. Em casos de insuficiência hepática aguda, o início dos sinais clínicos é rápido e o coma pode ocorrer em até 24 horas (MACSWEEN *et al.*, 1994).

O aparecimento dos sinais clínicos de 13 horas e 30 minutos a 45 horas após a ingestão da planta, com evolução clínica em torno de 4 horas a 18 horas, seguido de morte, se assemelha ao descrito na intoxicação por *Xanthium cavanillesii* em bovinos nos quais os primeiros sinais clínicos observados nos casos fatais variaram de 6 horas a 12 horas e a evolução clínica e morte de maior período relatada foi de 36 horas após a administração dos frutos de *X. cavanillesii* (DRIEMEIER, *et al.*, 1999 e COLODEL *et al.*, 2000).

Sinais clínicos similares aos observados neste estudo foram descritos em casos de bovinos intoxicados com outras plantas tóxicas como *Sessea brasiliensis* (CANELLA *et al.*, 1968), *Cestrum laevigatum* (DÖBEREINER *et al.*, 1969), *Cestrum parqui* (RIET-CORREA *et al.*, 1986), *Vernonia molissima* (DÖBEREINER *et al.*, 1976, GAVA *et al.*, 1987), *Vernonia rubricaulis* (TOKARNIA & DÖBEREINER, 1982), *Cestrum corymbosum* var. *hirsutum* (GAVA *et al.*, 1991), *Cestrum intermedium* (GAVA *et al.*, 1996), *Xanthium cavanillesii* (DRIEMEIER *et al.*, 1999).

Os principais sinais digestivos foram anorexia, redução dos movimentos ruminais, leve tenesmo e dores abdominais. A dor abdominal causada nas afecções hepáticas se deve a distensão do fígado com aumento da tensão na cápsula de Glisson que podem estimular os receptores sensitivos subcapsulares (RADOSTITS *et al.*, 1994). O tenesmo retal e constipação são provavelmente secundários a lesão hepática. Acredita-se que a ausência parcial ou completa dos sais biliares que tem ação laxativa na luz do tubo digestivo e os efeitos reflexos do fígado aumentado de tamanho, com maior tensão sobre sua cápsula, alteram a motilidade do trato gastrointestinal (RADOSTITS *et al.*, 1994).

Os distúrbios neuromusculares observados nos bovinos neste experimento, como tremores musculares, relutância em caminhar, apoio da cabeça contra obstáculos, movimentos de pedalar e coma são relacionados à insuficiência hepática aguda e podem estar associados com a hipoglicemia. A hipoglicemia é um dos efeitos primários de lesão hepática aguda, e uma redução nos níveis sanguíneos de glicose pode ser responsável por sinais nervosos, como hiperexcitabilidade, convulsões e coma (MACSWEEN *et al.*, 1994, RADOSTITS *et al.*, 1994). Neste estudo foi verificada acentuada hipoglicemia no bovino 04, constatado por dosagem sérica de glicose. Em bovinos foram descritos casos de hipoglicemia com necrose hepatocelular em consequência do consumo de *Xanthium cavanillesii* (COLODEL *et al.*, 2000). Os níveis de amônia e outros metabólitos de excreção hepática, no sangue arterial são freqüentemente elevados na encefalopatia hepática e há uma relação entre os níveis sanguíneos e a ocorrência de lesão no sistema nervoso central descrita como *status spongiosus* (MACSWEEN *et al.*, 1994, JONES *et al.*, 2000). O aumento do nível sérico de amônia, em necrose hepatocelular, foi descrito em bovinos intoxicados por larvas de inseto *Lophyrotoma interrupta* (McKENZIE *et al.*, 1985) e em ovinos intoxicados por alga *Mycrocystis aeruginosa* (JACKSON *et al.*, 1984). Nos bovinos deste experimento, não foram mensurados os níveis séricos de amônia e não foram observadas lesões microscópicas no encéfalo.

A dosagem de enzimas hepáticas é usada rotineiramente para diagnóstico clínico em injúrias hepáticas, e incluem a dosagem de alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), fosfatase alcalina (FA), γ -glutamil transferase (GGT), albumina sérica e bilirrubina. A AST, GGT e FA, foram testadas no Bovino 4.

O aumento da AST foi de 3,371 vezes em relação ao maior valor de referência. Em seguida a perda da integridade da membrana de hepatócitos a atividade da AST aumenta abruptamente (CENTER, 1992) sendo um importante marcador de necrose hepatocelular (MACSWEEN *et al.*, 1994). Aumento da AST foi descrita na intoxicação por *Vernonia mollissima* em caprinos (STOLF *et al.*, 1987) e *Xanthium cavanillesii* (COLODEL *et al.*, 2000). Os níveis séricos de GGT e a FA aumentam nas colestases ou lesões de ductos biliares (MACSWEEN *et al.*, 1994). Neste experimento não foram notada alterações significativas nos valores da GGT e FA.

O principal achado de necropsia foi encontrado no fígado e consistia em aumento do padrão lobular na superfície capsular e de corte, conferindo ao órgão aspecto de noz-moscada. Este aspecto não é uma lesão específica, podendo estar associada à degeneração e/ou necrose hepatocelular zonal ou congestão passiva crônica. Na congestão passiva crônica a superfície do fígado está ligeiramente nodular e áspera, e habitualmente ocorre ascite (JONES *et al.*, 2000) o que não ocorreu em nosso experimento.

Lesões de necrose hepatocelular, com áreas vermelho-escuras intercaladas com áreas claras, em bovinos, foram encontradas em intoxicações por *Cestrum laevigatum* (DOBEREINER & TOKARNIA, 1966), *Vernonia mollissima* (DOBEREINER *et al.*, 1976), *Cestrum parqui* (RIET-CORREA *et al.*, 1986), *Sessea brasilienses* (CANELLA *et al.*, 1968), *Cestrum intermedium* (GAVA *et al.*, 1996), *Xanthium cavanillesii* (DRIEMEIER *et al.*, 1999), e *Microcystis aeruginosa* (JACKSON *et al.*, 1984).

Edema de parede de vesícula biliar foi observado. O edema normalmente é atribuído ao aumento da permeabilidade vascular ou por alterações nas forças hemodinâmicas vasculares (JONES *et al.*, 2000).

Abscessos hepáticos distribuídos aleatoriamente, foram observados no Bovino 4. A formação de abscessos no fígado de todas as espécies tem como decorrência o ingresso de microorganismos, podendo ser através da veia umbilical em animais neonatos ou jovens, ou em vacas leiteiras idosas e animais estabulados, resultantes da extensão das feridas causadas por corpos estranhos penetrantes no retículo.

(RADOSTITS, 1994). Em nosso experimento não concluímos a origem dos abscessos encontrados.

A leve icterícia, presente no bovino 04, pode ser atribuída a lesão direta as células hepáticas e conseqüente liberação de bilirrubina conjugada e não conjugada para a circulação sanguínea (THOMSON, 1983).

Microscopicamente, a lesão hepática se caracterizou por necrose de coagulação centrolobular a massiva. Os hepatócitos da região centrolobular seriam particularmente mais vulneráveis a uma agressão tóxica, por estarem mais distantes da origem do sangue oxigenado do espaço porta (MACLACHLAN e CULLEN, 1998).

Esférulas eosinofílicas conhecidas como corpúsculos de Councilman e corpúsculos acidofílicos, homogêneas, arredondadas e refringentes, foram encontradas no citoplasma de células lesadas, sendo atribuídas a restos de citoplasma do hepatócito (JONES *et al.*, 2000, LORETTI, 1997). Essas esférulas eosinofílicas são encontradas nas células hepáticas que passam por agressões subletais inespecíficas tais como: hipóxia, intoxicação, desnutrição e infecções virais. Elas são formadas quando massas de organelas citoplasmáticas são condensadas e seqüestradas do citoplasma restante, ficando separadas por membranas que se fusionam com lisossomos (KELLY, 1993).

A proliferação de ductos biliares é uma reação inespecífica induzida por toxina ou outros químicos, como os alcalóides pirrolizidínicos, ocorrendo em poucos dias ou em poucas semanas após a exposição (POPP & CATTLEY, 1991). A ocorrência em nosso trabalho não pode ser especificada e não pode ser atribuída ao experimento devido ao pouco tempo decorrido entre a administração da planta, o início dos sinais clínicos e morte.

6 CONCLUSÕES

Dodonea viscosa foi tóxica para bovinos produzindo quadro clínico de insuficiência hepática aguda associada com a necrose hepatocelular.

Não se observou nenhum sinal clínico diferente dos sinais clínicos produzidos nos quadros de insuficiência hepática aguda.

As folhas verdes de *Dodonea viscosa* na fase de brotação e inflorescência foram tóxicas na dose de 25 g/kg e 30g/kg, e manteve a toxicidade após secada à sombra.

O início dos sinais clínicos variou entre 13 horas e 30 minutos a 45 horas após a ingestão da planta com evolução clínica de 03 a 19 horas.

REFERÊNCIAS

ALICE, C. B.; SIQUEIRA, N. C. S.; MENTZ, L. A. **Plantas medicinais de uso popular: Atlas farmacognóstico**. Canoas: ULBRA, 1995. 61 p.

ATHAYDE, M. L. **Saponinas e triterpenos de algumas espécies do gênero Ilex**. Dissertação (Mestrado). Pós-graduação em Farmácia. Faculdade de Farmácia. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre. 2001.

BACILA, M. **Bioquímica Veterinária**. São Paulo: Varela, 1980. 534 p.

CANELLA, C. F. C.; TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J. Intoxicação por *Sessea brasiliensis* em bovinos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 3, p. 333-340. 1968.

CENTER, S. A. Fisiopatologia e diagnóstico laboratorial das moléstias hepáticas. In: ETTINGER, S. J. **Tratado de medicina Interna veterinária: moléstias do cão e gato**. 3 ed. São Paulo: Manole, 1992. cap. 88, p. 1487-1546.

COLODEL, E. M.; DRIEMEIER, D.; PILATI, C. Intoxicação experimental pelos frutos de *Xanthium cavanillesii* (Asteraceae) em bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 20, n.1, p.31-38, 2000.

COLODEL, E. M.; TRAVERSO, S. D.; SEITZ, A. L.; CORREA, A; OLIVEIRA, F. N.; DRIEMEIER, D.; GAVA, A. Spontaneous poisoning by *Dodonea viscosa* (Sapindaceae) in cattle. **Veterinary and Human Toxicology**. v. 45, n. 3, p.147-8, 2003.

CRAWFORD, J. M. The liver and biliary tract. In: COTRAN R. S.; KUMAR, V.; ROBBINS, S. L. **Robbins pathologic basis of disease**. 5 ed. W.B. Philadelphia: Saunders Company, 1994, p. 831-896.

DÖBEREINER, J.; TOKARNIA, C. H.; CANELLA, C. F. C. Intoxicação por *Cestrum laevigatum*: a causa de mortandades em bovinos no estado do Rio de Janeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 4, p.165-193, 1969.

DÖBEREINER, J.; TOKARNIA, C. H.; PURISCO, E. *Vernonia molissima*, planta tóxica responsável por mortandades de bovinos no sul do Mato Grosso. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 11, p. 49-58, 1976.

DRIEMEIER, D.; IRIGOYEN, L. F.; LORETTI, A. P.; COLODEL, E.M.; BARROS, C. S. L. Intoxicação espontânea pelos frutos de *Xanthium cavanillesii* (Asteraceae) em bovinos no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 19, p. 1-13, 1999.

GAVA, A.; PEIXOTO, P. V.; TOKARNIA, C. H. Intoxicação experimental por *Vernonia molissima* em ovinos e bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 7, n. 2, p. 33-41, 1987.

GAVA, A.; STOLF, L.; PILATI, C.; NEVES, D. S.; VIGANÓ, L. Intoxicação por *Cestrum corymbosum* var. *hirsutum* (Solanaceae) em bovinos no estado de Santa Catarina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 11, n. 3/4, p. 71-74, 1991.

GAVA, A.; STOLF, L.; VARASCHIN, M. S.; NEVES, D. S.; TIGRE, A. P., LESSMANN, F. Intoxicação por *Cestrum intermedium* (Solanaceae) em bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 16, n. 4, p. 117-120, 1996.

GONZÁLES, F.H.D.; SILVA, S.C. **Introdução á bioquímica clínica veterinária**. 1ª ed. Porto Alegre: UFRGS, 198 p., 2003.

JACKSON, A. R. B.; McINNES, A.; FALCONER, I. R.; RUNNEGAR, M. T. C. Clinical and pathological changes in sheep experimentally poisoned by the blue-green alga *Microcystis aeruginosa*. **Veterinary Pathology**, v.21, p.102-113, 1984.

JONES, T. C., HUNT, D. R., KING, N. W. **Veterinary pathology**. 5 ed. Philadelphia: Williams & Wilkins, 2000. 1392 p.

JOLY, A. B. **Botânica: introdução à taxonomia vegetal**. 12 ed. São Paulo: Editora Nacional. 1988. 777 p.

KELLY, W. R. The liver and biliary system. In: JUBB, K. V. F.; KENNEDY, P. C.; PALMER, N. **Pathology of domestic animals**. 4 ed. San Diego: Academic press. 1993. p. 319-306.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas**. Nova Odessa: Instituto plantarum. 2002 .

LORETTI, A. P. **Intoxicação experimental pelos frutos de *Xanthium cavanillesii* (Asteraceae) em ovinos**. Dissertação (Mestrado) – Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária. Centro de Ciências Rurais. Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria. 1997.

- MACLACHLAN, N. J.; CULLEN, J. M. Fígado, sistema biliar e pâncreas exócrino. In: CARLTON, W. W.; MCGAVIN, M. D. **Patologia veterinária especial de Thompson**. 2 ed. Porto Alegre: ArtMed, 1998. p. 95-125.
- MACSWEEN, R. N. M.; ANTHONY, P. P.; SCHEUEN, P. J.; BURT, A. D.; PORTMANN, B. C. **Pathology of the liver**. 3 ed. Churchill Livingstone: New York, 1994. 816 p.
- McKENZIE, R. A.; DUNSTER, P. J.; TWIST, J. O.; DIMMLOCK, C. K.; OELRICHS, P. B.; ROGERS, R. J.; REICHMANN, K. G. The toxicity of sawfly larvae (*Lophyrotoma interrupta*) to cattle. 1985.
- MORS, B. W.; RIZZINI, C. T.; PEREIRA, N. A. **Medicinal plants of Brazil**. Algonac USA 2000. 501 p.
- OLIVEIRA, F.; AKISUE, G. **Fundamentos de farmacobotânica**. 2 ed. São Paulo: Atheneu, 2000. 178 p.
- PESMAN, M. W.; ERVIN, E. A. Meet the natives: A beginner's field guide to Rocky Mountain wildflower, trees, and scrubs. Manhattan: Roberts Rinehart Publishers: 248 p., 2002.
- PROPHET, E. B.; MILLS, B.; ARRINGTON, J. B.; SOBIN, L. H. **Laboratory methods in histotechnology**. Washington: Armed Forces Institute of Pathology, 1992. 279 p.
- POPP, J. A.; CATTLEY, R. C. Hepatobiliary system. In: HASCHEL, W. M.; ROUSSEAU, C. G. **Handbook of toxicology pathology**. San Diego: Academic press. 1991, p. 279-314
- RADOSTITS, O. M.; BLOOD, D. C.; GAY, C. C. **Veterinary medicine: A textbook of diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses**. 8 ed. London: Baillière Tindall, 1994. 1763 p.
- RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L.; MÉNDEZ, M. C. Intoxicação por *Cestrum parqui* (Solanaceae) em bovinos no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 6, n. 4, p. 111-115, 1986.
- RIET-CORREA, F.; MÉNDEZ, M. C. Introdução ao estudo das plantas tóxicas. In: RIET-CORREA, F.; MÉNDEZ, M. C.; SCHILD, A. L. **Intoxicação por plantas e micotóxicos em animais domésticos**. Pelotas: Hemisfério Sul do Brasil. 1993. 340 p.
- 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. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 21, n.1, p.38-41, 2001.

REITZ, R. **Flora ilustrada catarinense: Sapindáceas - Herbário Barbosa Rodrigues**. Itajaí.1980. p. 91-97.

ROBBINS, L.S.,ANGELL,M. **Patologia basica**. 1ª ed. México:Saunders Company.1973.p.467 –499.

SIMÕES, C. M. O.; MENTZ, L. A.; SCHENKEL, E. P.; IRGANG, B. E.; STEHMANN, J. R. **Plantas da medicina popular no Rio Grande do Sul**. 3 ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS. 1989. 174 p.

STOLF, L.; GAVA, A.; TOKARNIA, C. H. Intoxicação experimental por *Vernonia molissima* (Compositae) em caprinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 7, n. 3, p. 67-77, 1987.

THOMSON, R. G. **Patologia geral veterinária**. Rio de janeiro: Guanabara Koogan, 1983. 412 p.

TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J. Intoxicação de bovinos por *Vernonia rubricaulis* (Compositae) em Mato Grosso. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 2, n. 4, p.143-147, 1982.

TOKARNIA, C. H.; GAVA, A.; PEIXOTO, P. V.; STOLF, L.; MORAES, S. S. A. “Doença do Peito Inchado” (Edema da região esternal) em Bovinos no estado de Santa Catarina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 9., n 3/4, p. 73-83, 1989.

TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J.; PEIXOTO, P. V. **Plantas tóxicas do Brasil**. Rio de Janeiro: Helianthus, 2000. 320 p.

WAGNER, H.; BLADT, S. **Plant drug Analysis: A thin Layer Chromatography atlas**. 2 ed. Germany: Springer, 1996. 384 p.