



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

**INVESTIGAÇÃO CLÍNICO-PATOLÓGICA DA INTOXICAÇÃO CRÔNICA
EXPERIMENTAL DE CAPRINOS PELA *Palicourea marcgravii*.**

EDSON DE FIGUEIREDO GAUDENCIO BARBOSA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO
EM SAÚDE ANIMAL

BRASÍLIA/DF
JANEIRO/2014



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

**INVESTIGAÇÃO CLÍNICO-PATOLÓGICA DA INTOXICAÇÃO CRÔNICA
EXPERIMENTAL DE CAPRINOS PELA *Palicourea marcgravii*.**

EDSON DE FIGUEIREDO GAUDENCIO BARBOSA

ORIENTADOR: PROF. DR. MÁRCIO BOTELHO DE CASTRO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

EM SAÚDE ANIMAL

PUBLICAÇÃO: 093/2014

BRASÍLIA/DF

JANEIRO/2014

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA E CATALOGAÇÃO

BARBOSA, E. F. G. **INVESTIGAÇÃO CLÍNICO-PATOLÓGICA DA INTOXICAÇÃO CRONICA EXPERINTAL DE CAPRINOS PELA *Palicourea marcgravii***. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2014, 43 p. Dissertação de Mestrado.

Documento formal, autorizando reprodução desta dissertação de mestrado empréstimo ou comercialização, exclusivamente para fins acadêmicos, foi passado pelo autor a Universidade de Brasília e acha-se arquivado na secretaria do programa. O autor reserva para si os outros direitos autorais, de publicação. Nenhuma parte desta dissertação pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor. Citações são estimuladas, desde que citada à fonte.

FICHA CATALOGRÁFICA

Barbosa, Edson de Figueiredo Gaudêncio.

INVESTIGAÇÃO CLÍNICO-PATOLÓGICA DA INTOXICAÇÃO CRONICA EXPERIMENTAL DE CAPRINOS PELA *Palicourea marcgravii*. NO DISTRITO FEDERAL orientação de Márcio Botelho de Castro – Brasília, 2014. 43 p.: il.

Dissertação de Mestrado (M) – Universidade de Brasília/Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2014.

1. *Palicourea marcgravii*. 2. Investigação clinico patológica. 3. Caprinos. Intoxicação crônica experimental. BARBOSA, E. F. G. II. Título.



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

**INVESTIGAÇÃO CLÍNICO-PATOLÓGICA DA INTOXICAÇÃO CRÔNICA
EXPERIMENTAL DE CAPRINOS PELA *Palicourea marcgravii*.**

EDSON DE FIGUEIREDO GAUDENCIO BARBOSA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO SUBMETIDA AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE
ANIMAL COM PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM
SAÚDE ANIMAL.

Aprovado por:

Prof. Dr. Marcio Botelho de Castro (Universidade de Brasília).

Prof. Dra. Giane Regina Paludo (Universidade de Brasília).

Prof. Dr. Sergio Lucio Salomon Cabral Filho (Universidade de Brasília).

27/02/2014

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus, por acreditar em mim em momentos que eu mesmo cheguei a duvidar se conseguiria concluir o projeto. Obrigado, Pai eterno, por ter me proporcionado a saúde, a paz necessária e todos os recursos para chegar até aqui.

A minha amada mãe, Verônica de Figueiredo, pelo exemplo de esforço, dedicação, comprometimento. Sem esquecer de todo o suporte proporcionado durante os momentos mais difíceis por toda a minha caminhada.

As minhas irmãs, sobrinhos, por terem me suportado nos momentos em que andei estressado e ansioso. Muito obrigado pelos momentos agradáveis proporcionados durante a batalha.

Agradeço a minha avó Teca, que faleceu durante essa etapa da minha vida, em um dia de necropsia a campo. Infelizmente não pode acompanhar fisicamente a nossa vitória, porém, onde ela estiver, tenho certeza que está torcendo. Muito obrigado por tudo.

Um agradecimento especial para aos meus animais, que sempre fazem a festa quando volto para casa, exausto, me ensinando que a vida é feita de bons momentos.

Agradeço a Deus por ter colocado em minha vida uma pessoa tão especial, a Fefa.

Ao professor Márcio Botelho, pela oportunidade e orientação durante toda a realização do trabalho. Muito obrigado.

A professora Luciana Sonne, pelo exemplo de pessoa e, principalmente, como educadora. A todos do LPV-UnB, pelas ajudas, conselhos, formação pessoal e profissional. Valeu.

Agradeço ao grande Augusto Moscardini, ao casal Seu Nitin (o maior catador da "erva") e Dona Ana. Aos amigos Rafael Gontijo, Saulo Pereira, Breno dos Santos, pelos dias de coleta no meio da mata fechada, pegando carrapatos de brinde enquanto colhíamos as Palicoureas.

Aos meus companheiros diários de trabalho durante os 10 meses no CMO, Antonio, Zé, Gilson, Claudio, e a todos os estagiários, em especial, Eduardo e Jânio. Valeu.

Gostaria de agradecer a Denise Salgado, pela paciência e ajuda. Muito obrigado por tudo, minha querida.

Agradeço a todos, pois, de uma maneira ou de outra, vocês fazem parte de quem sou hoje na vida. De alguma forma me ajudaram a melhorar como pessoa. Obrigado.

À CAPES pela bolsa concedida e a todo pessoal do Centro de Manejo de Ovinos da Fazenda Água Limpa da Unb, por todo apoio para a realização do projeto.

Obrigado!

Revisão Bibliográfica

A *Palicourea marcgravii* é a planta causadora de morte súbita mais importante para a bovinocultura no Brasil. Conhecida, popularmente, como “cafezinho”, “erva-café”, “vick”, “erva de rato”, é um arbusto da família Rubiaceae, encontrada em quase todo território nacional, com exceção do Mato Grosso do Sul e da Região Sul. É considerada por muitos autores uma das principais plantas tóxicas de interesse pecuário no Brasil, devido a sua extensa distribuição, elevada toxicidade, efeito acumulativo e boa palatabilidade. A presença de pouca quantidade da planta na região já é suficiente para que ocorram casos de intoxicação. Mesmo depois de dessecadas, as folhas preservam sua toxicidade (Tokarnia & Dobereiner, 1986). Deste modo, os bovinos se intoxicam naturalmente, sem a necessidade de passar fome, sendo suficiente apenas o acesso às matas e capoeiras (Tokarnia et al. 2012). A ingestão de pouca quantidade de folhas pode causar morte súbita, principalmente, quando o animal é estimulado. Apesar de ser a planta mais perigosa do Brasil, o instinto animal não protege os bovinos e bubalinos contra a ingestão espontânea naturalmente da planta (Tokarnia et al. 2012).

Em função dessas características, causa severas perdas econômicas em todo o país, exceto na região Sul, provavelmente por causa do clima subtropical. Estima-se que seja responsável pela morte de mais de 600 mil cabeças/ano do rebanho bovino nacional (Nogueira et al. 2010). Já outros estimam que esse número possa ultrapassar um milhão de animais/ano. A ocorrência de morte súbita de bovinos está ligada diretamente com a presença da planta na propriedade. Na região amazônica, onde há o maior número de

animais mortos intoxicados por ingerir plantas tóxicas, estima-se que 80% das perdas são causadas pela ingestão da *P. marcgravii* (Tokarnia et al. 2012).

Estas perdas podem ser divididas em diretas - quando causadas pelas mortes de animais intoxicados, quedas na produção e ou reprodução, ou indiretas - quando são necessárias pra prevenir, com utilização de herbicidas, cercas ou outras medidas de manejo adotadas para impedir novos surtos. No Brasil, a falta de dados confiáveis sobre a frequência e a morte de animais causadas pela ingestão de plantas tóxicas, dificulta uma estimativa sobre as reais perdas (Riet-Correa & Medeiros 2001).

Devido à elevada toxicidade da *Palicourea marcgravii* para animais de interesse pecuário, ainda não são totalmente conhecidas as doses mínimas necessárias para que ocorra a intoxicação de animais a campo. Os efeitos da ingestão crônica de pequenas quantidades da planta podem causar marcada cardiotoxicidade, caracterizada por acentuada insuficiência cardíaca (Tokarnia, Peixoto & Döbereiner, 1990; Tokarnia et al. 1986; Tokarnia et al. 1991).

As lesões macro e microscópicas ainda são pouco descritas em caprinos intoxicados pela planta, porém, há suspeita que também ocorram (Tokarnia et al. 1991). A *P. marcgravii* necessita de mais estudos para melhor compreensão de seus efeitos no animal e possíveis variações nas formas clínico-patológicas, visando prevenir a intoxicação por meio do diagnóstico precoce e acurado.

Seu princípio ativo é o ácido monofluoroacético ou monofluoracetato - MFA. Essa substância é altamente tóxica, solúvel em água, insípida, inodora e incolor. Estável a mais de 110°C, começa a se decompor a partir de 200°C, extremamente tóxica para uma grande quantidade de espécies animais. Foi produzido inicialmente em 1896 na Bélgica (Chenoweth, 1949), mas foi somente na Alemanha, nos anos 30, que se observou, pela primeira vez, sua toxicidade (Alzert, 1971). Na Polônia, durante mais de 10 anos, os

efeitos tóxicos dos compostos de fluoracetato, especificamente o ácido fluoracético, foram estudados pelos cientistas (Chenoweth, 1949).

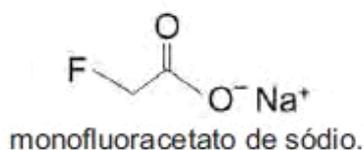


Figura 01. Fórmula química do monofluoracetato de sódio.

Anos depois foi detectada em plantas, *Dichapetalum spp.* no continente africano (Vickery e Vickery, 1972), *Gastrolobium*, *Oxylobium*, *Acacia*, australiano e *Palicourea* sulamericano. Nas plantas australianas contém até 5 gramas da substância por quilograma de plantas secas. No Brasil, foi identificado por técnica cromatográfica (Oliveira, 1963, Lee et al. 2012) posteriormente, pela cromatografia líquida de alta performance- HPLC, (0,20 a 0,24%) . Foi identificado também por meio da espectroscopia, na concentração 5,4µg/g de folhas dessecadas da *Palicourea marcgravii*, e 3,0µg/g em *Arrabidea bilabiata* (Krebs et al., 1994). Em *Mascgnania rígida* foi identificado pico cromatográfico semelhante ao monofluoracetato (Cunha et al. 2006). Nas plantas da espécie *Dichapetalum*, a concentração varia de acordo com a parte do vegetal, as folhas mais novas contêm maior concentração de MFA que as maduras. (Vickery e Vickery, 1972). Contudo, já foram isoladas da *P. marcgravii*, além do monofluoracetato, outras substâncias como alcaloides, salicilato de metila, cristais de oxalato de cálcio, tanoides, ácido salicíico e o 0-metoxibenzóico, cafeína, N-meteltiramina e 2-metiltetrahydro-β-carbolina (Peixoto et al. 2011).

O modo de ação do MFA é baseado na composição do fluorocitrato, seu metabólito na forma ativa. Ao se ligar a acetil-coenzima A para a formação do fluoroacetil CoA, substituirá a acetil-coenzima A no ciclo de Krebs, reagindo com a citrato sintase, resultando na síntese do fluorocitrato, denominada de “síntese letal”. (Colicho-Zuanaze &

Satake, 2005). Este composto bloqueia por competição a aconitase, não permitindo a conversão do citrato em isocitrato, o que resulta no acúmulo deste nos tecidos, principalmente miocárdio, fígado e rim. O alto nível de citrato se liga a grande quantidade de cálcio, causando uma hipocalcemia acentuada, agravando o quadro de arritmias, e tremores musculares. Como resultado do bloqueio do ciclo, há uma marcada diminuição na produção de adenosina trifosfato (ATP) e, conseqüentemente, queda nos processos dependentes de energia (Goncharov et al. 2006). Essa redução na produção de ATP pode chegar a 50%, causada pelo bloqueio do metabolismo oxidativo, com queda na metabolização do acetato, e produção hepática do acetoacetato.

O monofluoracetato, além de impedir o ciclo do ácido tricarboxílico, bloqueia a produção do neurotransmissor glutamato, fato que está diretamente ligado à ocorrência de convulsões, já que depleção deste neurotransmissor é uma das principais causas (Colicho-Zuanaze & Satake, 2005).

Os compostos fluorados ao serem metabolizados pelo fígado podem produzir substâncias já conhecidas com efeitos, analgésicos narcóticos- derivados da normeperidina, pesticidas, antineoplásicos, 5-fluoroacil (Goncharov et al. 2006).

De acordo com Kemmerling, 1996, os sintomas típicos de "morte súbita", no entanto, são observadas apenas em ruminantes. Esta diferença ainda não pôde ser explicada. Foram isoladas, pela primeira vez, a partir de *P. marcgravii*, duas novas moléculas que podem agir mutuamente inibindo a ação da enzima do tipo monoamina oxidase A (MAO-A). Conseqüentemente, tal inibição contribuiria para estimulação dos receptores simpáticos, o que acentuaria ainda mais os efeitos tóxicos do MFA. Desta maneira, o autor considera que uma pequena quantidade de MFA seriam suficientes para causar morte súbita em ruminantes. Em contrapartida, acredita-se que o MFA seja o

principal princípio tóxico responsável pela maior parte das lesões causadas pela ingestão da *P. marcgravii*, pois, recentemente, foi evidenciado que o quadro clínico, tanto de bovinos (Nogueira et al. 2010) quanto em ovinos (Peixoto et al. 2011) intoxicados experimentalmente é semelhante em diversos órgãos aos visualizados em casos de intoxicação por plantas brasileiras que contenham o MFA em sua composição, portanto, que causam morte súbita.

A metabolização do MFA, ou seja, desfluoracão é realizada por proteínas aniônicas com ação da glutathione-transferase, mas também existem enzimas catiônicas que são responsáveis por cerca de 20% da desfluoracão citosólica do fluoracetato. A principal via de desintoxicação é dependente da glutathione e ocorre por ataque nucleofílico ao átomo de carbono-beta, que resulta na formação de um íon de fluoreto e S-carboximetilglutathione, posteriormente conjugados a proteínas e excretados na urina. Deste modo, o aumento de íons fluoreto na corrente sanguínea pode ser mensurado, tornando-se útil no diagnóstico de intoxicação por MFA. Os órgãos com maior atividade de desfluoracão, são, em ordem decrescente: fígado, rim, pulmão, coração e testículos. Sua meia vida e eliminação do organismo, no geral, não ocorrem em menos de dois dias, fato considerado um risco em potencial de intoxicações secundárias (Goncharov et al. 2006). Até hoje não foi encontrada atividade de desfluoracão no cérebro (Soifer e Kostyniak, 1983).

Em casos de intoxicação experimental, após administração oral do MFA de sódio para ovinos e caprinos na dose de 0,1mg/kg de peso vivo, a meia vida verificada da substância foi de 10,8 horas e de 5,4 horas, respectivamente. As concentrações mais elevadas da toxina foram verificadas após 2,5 horas da administração oral, equivalendo a 0,098µg/ml no plasma sanguíneo, seguido de rim (0,057µg/ml), (0,042µg/ml) e fígado 0,021µg/ml. Após 96 horas, ainda foram detectados traços da substância (0,008µg/ml) em

todos os tecidos (Eason et al. 1994). Já em coelhos, a concentração do fluoracetato nos músculos, rins e fígado, foi bem maior que no plasma sanguíneo (Goonerante et al. 1995).

Os sinais clínicos padrões da intoxicação por MFA são variáveis porque dependem do modo de administração característico (oral), do período de latência, que varia de 0,5 a 6,0 horas e das variações nos sinais clínicos espécies-específicos. A duração do período de latência depende do tempo necessário para que ocorra a hidrólise do fluoracetato em ácido monofluoracético, bem como da produção de quantidade suficiente de fluorocitrato, o que desencadeará os processos intracelulares de queda na produção de energia e, assim, manifestar os sinais clínicos da intoxicação. Na forma aguda predominam sinais cardíacos e nervosos que podem variar de acordo com a espécie acometida (Chenoweth, 1949).

Esses sinais clínicos visíveis se manifestam, aparentemente, em três ciclos. O primeiro ciclo é o de depressão e apatia, que duram de 30 a 120 minutos. Já o segundo, é o de excitação, com duração de até 30 minutos. Por último, o terceiro, com sinais de convulsões, que duram em torno de 2 a 4 minutos. A morte resultaria, primeiramente, pela asfixia ocorrida durante as convulsões, bem como pela parada cardíaca ou fibrilação ventricular e depressão do sistema nervoso central, associado a distúrbios cardiovasculares e respiratórios (Chenoweth, 1949).

A susceptibilidade às plantas tóxicas entre dos animais possui ampla variação por ser dependente de diversas variáveis tais como: espécie, idade, sexo, resistência individual, resistência adquirida, seja esta realizada por seleção ou induzida por diferentes técnicas que são utilizadas no tratamento e/ou na profilaxia de certos tipos de intoxicações (Pessoa, Medeiros & Riet-Correa, 2013). A sensibilidade ao MFA pode variar bastante, podendo ser atribuída às diferenças no grau de permeabilidade das membranas

celulares e das diferenças morfológicas. As diferenças funcionais entre as espécies podem contribuir na sensibilidade à substância (Buffa et al. 1977).

Para serem adotadas medidas preventivas é necessária a realização correta do diagnóstico específico da intoxicação por plantas que causam morte súbita (Barbosa et al. 2007).

Tal diagnóstico é baseado na obtenção da maior quantidade de informações sobre histórico das mortes ocorridas na propriedade, além dos sinais clínicos de falha cardíaca associada ou não ao exercício, verificação das pastagens na busca da planta suspeita, a correta identificação da espécie da planta tóxica e posterior análise para detecção e quantificação da substância tóxica causadora do surto (Riet-Correa, & Medeiros, 2001).

O diagnóstico definitivo da intoxicação por monofluoracetato de sódio nos animais necessita da detecção da substância por meio de cromatografia líquida de alta performance- HPLC. Essa técnica se mostrou adequada na quantificação do MFA em amostras de plantas, conteúdo ruminal, e amostras de fígado. No entanto, nas amostras biológicas mantidas em temperatura ambiente, a capacidade de identificação pela técnica caiu cerca de 50%. No estudo, foi sugerido que as amostras biológicas devem ser analisadas com, no máximo, uma semana, caso não sejam refrigeradas (Minnaar et al. 2000).

Avaliando, com a mesma técnica, amostras das folhas das plantas, tecidos e sangue colhidos durante a necropsia, ou seja, post-mortem, se mostrou eficaz na determinação quantitativa da substância em amostras de plantas, fígado e conteúdo ruminal de bovinos intoxicados (Cunha et al. 2006).

O prognóstico da intoxicação por *P. marcgravii* é desfavorável, pois dependendo da quantidade de folhas ingeridas pode causar morte súbita em bovinos (Tokarnia et al. 2012).

Em um estudo realizado em caprinos, com doses de folhas frescas de *P. marcgravii*, variando de 0,6g/kg a 1,0g/kg, observou-se como resultado a morte de mais de 2/3 dos animais. O intervalo de tempo entre o início dos sinais clínicos, estimulado por exercício, e a morte dos animais, variou de um minuto a dois dias, um intervalo maior do que o observado em bovinos e ovinos. Os principais sinais clínicos visualizados são relutância em movimentar-se, caminhar com membros enrijecidos, decúbito esternal com progressão para abdominal e, posteriormente, lateral, tremores musculares, marcada dispneia e morte. Na histopatologia foram encontrados discretos focos de necrose de coagulação de cardiomiócitos, necrose e vacuolização de hepatócitos, enquanto que no rim, apenas um animal apresentou necrose de coagulação de células epiteliais dos túbulos uriníferos corticais (Tokarnia et al. 1991).

Na África do Sul, há relatos de perdas de ruminantes com alterações fibróticas no miocárdico, em animais que eram mantidos em pastagens onde se encontrava a planta *D. cymosum* (Gifblaar). Na composição deste vegetal foi detectado o MFA, por isso, quando ingerida em grande quantidade pode causar morte súbita. Mas, se consumida em pequenas quantidades, por determinado período de tempo, pode causar marcadas alterações cardíacas. Por essa razão, realizou-se estudo de intoxicação com MFA em ovinos, com o intuito de reproduzir experimentalmente as lesões típicas observadas na morte súbita e crônica, causada, naturalmente, pela planta *D. cymosum* no continente (Shultz et al. 1982).

A toxina foi administrada em 17 ovinos da raça Merino, com doses entre 0,05 – 1,0 mg/kg/dia. Observou-se na microscopia em todos os animais que morreram agudamente

com dose elevada ou a exposição prolongada com uma dosagem mais baixa. Lesões histopatológicas no músculo cardíaco. As lesões foram distribuídas ao longo das paredes atriais e ventriculares, acometendo mais comumente o endocárdio. Na forma subaguda crônica da intoxicação, variando de uma degeneração precoce a necrose com ausência de resposta celular. Geralmente as lesões no miocárdio eram mais comuns nos casos agudos. As alterações proeminentes foram encontradas principalmente no endocárdio, como a presença de numerosas fibras que encontravam tumefeitas, inchadas, coradas menos intensamente com HE. Em algumas observou-se a perda de estriações, e citoplasma de aspecto rarefeito, particularmente na região perinuclear.

Muitas das áreas de necrose encontradas estavam infiltradas principalmente por linfócitos e macrófagos e alguns neutrófilos. A fibroplasia e ou a proliferação de núcleo sarcolemal, por vezes acompanhada de hipertrofia das fibras miocárdicas estavam em evidência em alguns dos focos que estavam em fase de resolução. Um infiltrado discreto de linfócitos foi observado nos tecidos conjuntivos intersticiais, espalhados ao redor dos vasos sanguíneos no miocárdio. Embora as fibras de Purkinje não estivessem primariamente envolvidas, algumas fibras estavam cercadas por linfócitos, fibroplasia, delimitadas por uma lesão focal miocárdica. Os outros órgãos, além da congestão dos de mais tecidos, observou-se edema pulmonar, e uma leve nefrose em alguns animais, não foram observadas lesões dignas de nota no cérebro, fígado, baço, linfonodos, glândulas supra-renais ou músculos esqueléticos. A maior parte das ovelhas, subagudamente e cronicamente intoxicados com MFA não morreu de insuficiência cardíaca aguda, foram eutanasiadas. Além do miocárdio de aspecto pálido, cozido, nenhuma outra lesão macroscópica digna de nota foi visualizada no coração dos ovinos. Embora a fibrose miocárdica em gousiekte (nome africano dado à intoxicação de ovinos e bovinos por ingestão de rubiáceas), pareça ser focal, pode ser mais difusa e extensa, está principalmente restrita ao do ápice endocárdio, do septo interventricular e ventrículo

esquerdo. A lesão da intoxicação por MFA tendem a ser de natureza multifocal, menos generalizada uniformemente distribuída no miocárdio (Shultz et al. 1982).

Os autores concluem que existe uma pequena probabilidade se reproduzir as lesões típicas de gousiekte (morte súbita de ruminantes por ingestão de rubiácea- *Pachystigma pygmaeum*) somente pela administração do MFA. Futuras tentativas da reprodução experimental destas lesões devem, portanto, estar relacionados à dosagem da toxina na planta (Shultz et al. 1982) .

Na região nordeste, há um arbusto da família rubiaceae, a *P. aeneofusca*, causadora de grandes perdas por morte súbita, em ruminantes, em condições naturais, principalmente quando os animais são estimulados ao exercício. Assim como *P. marcgravii*, esta também tem como principal principio ativo o ácido monofluoracético. Esta planta possui toxidade letal para caprinos na dose de 0,65g/kg de folhas frescas, alem de demonstrar efeito cumulativo em administrações consecutivas diárias com 1/5 1/10 da dose letal. Os principais sinais clínicos observados na intoxicação desta planta da região nordestina foram taquicardia, taquipnéia, quedas, com evolução para morte em torno de 12 a 15 horas após a administração oral. Não foram observadas alterações dignas de nota durante a inspeção post-mortem. Já na histopatologia observou-se somente degeneração de hepatócitos (Passos, 1983). Porem na intoxicação experimental de bovinos pela *P. aeneofusca*, os achados de necropsia foram negativos. Na histopatologia foi observado em três bovinos, marcada degeneração hidrópico-vacuolar associada à picnose nuclear das células epiteliais dos túbulos uriníferos contornados distais, e vacuolização dos hepatócitos em dois dos três animais intoxicados que ingeriram doses únicas folhas frescas (Tokarnia et al. 1983).

Em estudos com a espécie bovina foi dividido em duas partes, a primeira utilizando 30 animais, dos quais 28 morreram, a menor dose letal foi de 0,4g/kg de folhas frescas da

P. marcgravii, e a mais baixa que não causou morte foi de 0,5 g/kg. No entanto doses a partir de 0,6 g/kg já produziu sinais clínicos graves e morte dos animais. A segunda parte foram utilizados 11 bovinos, 4 morreram, foram administradas folhas dessecadas, a dose mais baixa que levou a morte foi de 0,29g/kg, e a mais elevadas que não foi letal foi de 2,0g/kg. No experimento com doses repetidas 3 dos 5 bovinos morreram, sendo realizadas sempre com folhas dessecadas, os 3 animais receberam doses correspondentes 1/5 1/10/ 1/20 da dose letal, com intervalos de 7 dias, durante 25, 30 e 30 semanas respectivamente. Como não manifestaram sinais clínicos, dois bovinos que recebiam semanalmente 1/5 1/10, passaram a receber as doses diariamente. Um deles veio a óbito na décima quarta administração diária de 1/5 da dose letal. Outro bovino do experimento, que recebeu no total 54 doses diárias com 1/10 da dose letal, somente demonstrou sinais leves, durante 48 horas, quando submetido a exercícios. A maior parte dos animais do estudo morreu sem ser exercitados, no entanto o estímulo ao mesmo parece que precipitou o aparecimento dos sinais clínicos da intoxicação (Tokarnia & Döbereiner, 1986).

No experimento com folhas frescas todos os 28 animais adoeceram, dentre os 30 avaliados no estudo. 14 animais foram encontrados mortos e nos outros 14, a evolução clínica variou 1 a 10 minutos em 10 animais e de 19 a 85 minutos nos quatro restantes. O autor considerou apenas sinais nítidos da intoxicação. Os sinais clínicos observados no estudo com doses únicas tanto pelas folhas frescas quanto a dessecadas, tanto nos que morreram quanto nos que se recuperaram, na ordem na qual surgiram foram, relutância em se locomover, urinar com maior frequência, pulso venoso positivo, perda de equilíbrio, quedas no chão, tremores musculares, decúbito lateral, taquipneia, movimentos de pedalagem, opstótono, vocalização, convulsão tônico e morte. No experimento com doses repetidas que resultou em morte, e um dos animais pode-se visualizar dispneia, anorexia, apatia, decúbito esterno-abdominal, taquipnéia, pulso venoso jugular positivo,

sopro cardíaco, perda de equilíbrio, com posterior queda e morte. Em outros bovinos também pode se observar anorexia, apatia, decúbito esterno-abdominal, dificuldade de locomoção pulso venoso jugular positivo, discretos tremores musculares, depois foi encontrado morto. Em 13 animais dos 28 intoxicados com doses únicas os não foram constatados achados de necropsia dignos de nota. E no restante dos animais, as lesões encontradas foram discretas e consistiam em edema pulmonar e da inserção da vesícula biliar, congestão pulmonar, hepática, esplênica, renal, das mucosas do intestino delgado, linfonodos mesentéricos, hemorragias epicárdicas e na mucosa da traqueia (Tokarnia & Döbereiner, 1986).

Na histopatologia foram observadas no experimento com administração de doses únicas de folhas frescas, foram observadas no coração, o edema intracelular, caracterizado sob forma de focos, em que havia vacuolização das fibras cardíacas em 5 dos 28 bovinos. Necrose de cardiomiócitos caracterizada por acentuada eosinofilia do citoplasma, com perda de estriações, picnose nuclear, foram observadas em 3 animais. Segundo o autor, além dessas alterações já descritas, foram verificadas áreas de afastamento entre as miofibras cardíacas, em 9 casos, nestes também havia áreas com infiltrados de células redondas pequenas .No fígado, foi verificada tumefação de hepatócitos em 5 casos, e a vacuolização dos citoplasmas dos mesmo em 13 animais. Com necrose sob a forma de eosinofilia citoplasmática dos hepatócitos, com a cromatina condensada em apenas 1 caso, e congestão hepática em 4 casos. No rim pode-se constatar em 17 casos a degeneração hidrópico-vacuolar em 17 casos, e em 3 casos a degeneração albuminosa-granular-vesicular na cortical do rim. (Tokarnia & Döbereiner, 1986).

Os achados de necropsia em bovinos, ovinos e caprinos, com intoxicação aguda pela *P. marcgravii*, são geralmente escassos ou ausentes e consistem em alterações inespecíficas como hiperemia cardíaca, alterações circulatórias pulmonares e intestinais.

As alterações histopatológicas, em casos agudos, também são inconsistentes, caracterizando-se por degeneração hidrópica das células epiteliais dos túbulos contorcidos distais renais. Já em protocolos de intoxicação aguda, a cardiotoxicidade da *P. marcgravii* foi caracterizada, e pode ser precipitada pelo estímulo ao exercício por degeneração hidrópica de túbulos renais e necrose, inflamação e fibrose miocárdica (Tokarnia & Döbereiner, 1986; Tokarnia et al. 1990; Tokarnia et al. 1991).

Na região norte, há relatos de que os bubalinos morriam menos por intoxicação por *P. marcgravii*, por isso estes animais, seriam considerados mais resistentes que os bovinos. Contudo, além da resistência realmente maior que a de bovinos, tal fato pode ser explicado pelo habitat preferencial das respectivas espécies. Os bubalinos habitam tanto o solo firme quanto as áreas alagadas como as várzeas, onde cresce a *A. bilabiata* que, além de ser menos tóxica que a *P. marcgravii*, somente é consumida pelos bubalinos quando passam fome. Já a *Palicourea* é consumida pelos bovinos em terra firme mesmo sem passar fome devido à palatabilidade da planta. Neste estudo, foram coletados dados epidemiológicos que apresentavam menor número de morte de bubalinos em relação a bovinos, mesmo quando ambos eram inseridos em terra firme. Comprovou-se que os bubalinos seriam pelo menos seis vezes mais resistentes que bovinos a intoxicação por *P. marcgravii*. O autor concluiu que o número menor de mortes de búfalos na Amazônia ocorria não somente por essa resistência a ação tóxica da *P. marcgravii*, e sim por outro motivo, que seria pelo habitat preferência da espécie a várzea, que coincidentemente é o local onde se encontra a *A. bilabiata*, que é menos tóxica que primeira (Barbosa et al. 2003).

Em um estudo comparativo de toxidez realizado na região norte, avaliando a sensibilidade a *P. juruana* em bubalinos e bovinos, foi sugerido que sugere que estes primeiros seriam cerca de vezes mais resistentes que os bovinos. Nesse experimento, a

planta pareceu ser mais tóxica que a *P. marcgravii*, porém o autor não soube a que atribuir à diferença. (Oliveira et al. 2004).

Foi sugerido por Nogueira et al. 2010, a necessidade da realização de novos estudos com enfoque nos microorganismos ruminais associados com a inativação do monofluoracetato de sódio.

Estudos experimentais sobre a utilização de técnicas de detoxificação ruminal, na prevenção de perdas de ruminantes intoxicados por ingerirem plantas causadoras de morte súbita não é vista como importantes que causam morte súbita deveria ser um dos principais objetivos dos estudos realizados no Brasil. As técnicas de controle de intoxicação ainda carecem do desenvolvimento de programas de pesquisa interdisciplinares que abordem os diversos aspectos relacionados às plantas, principalmente identificação correta da substância tóxica responsável pelas mortes e perdas econômicas (Riet-Correa, & Medeiros, 2001).

Greig et al. (1998) produziu bactérias geneticamente modificadas incluindo um gene no qual codifica a produção de enzimas com atividade de dehalogenase, oriunda de uma espécie de *Moraxella sp*, em outra conhecida como *Butirivibrio fibrisolvens*. Após ser inoculado no interior do rúmen de um ovino, se mostrou promissora na proteção contra a intoxicação por MFA. Esta enzima é capaz de hidrolisar o veneno antes de ser absorvido. Recentemente no Brasil, foi isolado e identificado um microorganismo, produtor de dehalogenase, do rúmen de um caprino, fato que confirma que há possibilidade de adaptar os animais ao consumo de plantas que contêm MFA pois a bactéria estaria presente no conteúdo ruminal mesmo em animais que nunca ingeriram estas plantas tóxicas (Camboim et al. 2012). Desta forma, sugere-se que com a administração de subdoses sucessivas e crescentes da planta, promovendo adaptação da microbiota, poderia multiplicar a população desses microorganismos capazes de hidrolisar o veneno e,

consequentemente, protegendo os animais. Tal alternativa foi comprovada, pois a enzima capaz de hidrolisar o veneno é mais comum entre as bactérias ruminais do que se acreditava anteriormente (Oliveira et al. 2013, Duarte et al. 2014).

Com objetivo de prevenir surtos de intoxicação por *Palicourea aeneosfusca* foi desenvolvida em caprinos a aversão alimentar condicionada realizada através de pequenas doses de *P. aeneosfusca* dessecadas. Após a administração da dose diária da planta, os animais ingeriam 175mg/kg de peso vivo de cloreto de lítio, através de sonda ruminal. Nesse estudo, verificou-se que foi possível induzir aversão condicionada a *P. aeneosfusca* por cerca 90 dias, com ingestão de sucessivas dose não tóxicas da planta (Oliveira et al. 2013).

Em ratos foi feito estudo experimental de intoxicação por MFA e por outras plantas brasileiras causadoras de morte súbita para avaliar o efeito protetor da acetamida. Neste experimento, 9 dos 33 ratos que foram avaliados, ingeriram *P. marcgravii*, um na dose de 2,0g/kg e o outro 4,0/kg, estes receberam doses da acetamida oral um minuto antes da administração da planta. O que recebeu 2,0g/kg de folhas recebeu 2,0g/kg de acetamida e o segundo 4,0g/kg respectivamente. O resultado sugere que a acetamida possui satisfatório efeito protetor, sendo capaz de impedir o aparecimento dos sinais clínicos e evitando a morte dos ratos (Peixoto et al. 2011).

Posteriormente, o autor realizou experimentalmente a intoxicação de bovinos por monofluoracetato de sódio, e *P. marcgravii*, com intuito de avaliar o efeito protetor da acetamida, administrada logo antes da ingestão de ambos. Após uma semana, os bovinos foram reintoxicados pelos mesmos compostos, porém sem a administração de acetamida previamente e todos os animais vieram a óbito, sendo comprovado o efeito protetor do componente (Peixoto et al. 2012).

Apesar do efeito protetor contra o MFA, a acetamida possui efeitos negativos sobre o organismo similares aos verificados pelo monoacetato de glicerol. Entre os efeitos adversos são citadas hiperglicemia, acidose metabólica, além de danos endoteliais nos capilares e a lise de eritrócitos (Egyed & Schultz et al. 1986).

No quadro 00, estão algumas das principais plantas tóxicas causadoras de morte súbita em bovinos, suas respectivas doses letais, e sua incidência no território brasileiro.

Quadro 00. Principais plantas causadoras de morte súbita em bovinos no Brasil.

Família	Nome científico	Nome popular	Dose letal	Incidência	Princípio ativo
Rubiaceae	<i>Palicourea marcgravii</i>	Erva de rato, cafezinho.	0,6g/kg	Norte, Nordeste, Centro-oeste, Sudeste	Ácido monofluoacético
Bignoniaceae	<i>Arrabidaea bilabiata</i>	Chibata, gibata	2,5g/kg	Norte	Esteróides Cardio-ativos
Malpighiaceae	<i>Mascagnia pubflora</i>	Corona	5g/kg	Centro-oeste, Sudeste	Cromonas

Fonte: Riet-Correa (2001).

Como a evolução clínica da intoxicação normalmente é superaguda fica inviável a indicação de qualquer terapêutica de suporte, pois segundo a literatura o estímulo ao exercício pode causar morte. Por isso o recomendado é evitar movimentar os animais ou rebanhos, o mínimo possível no período em que os mesmos estiverem em pastagens onde se encontram a *P.marcgravii*. Pois a planta possui efeito cumulativo, e sua eliminação normalmente é lenta, segundo observações realizadas a campo, por criadores e vaqueiros, cerca de cinco dias seriam necessários para a metabolização e excreção da

toxina. Porém nos experimentos realizados com doses únicas, o período de 48 horas seria suficiente (Tokarnia et al. 2012).

Recomenda-se cercar às áreas onde existam a planta, ou arrancá-las pela raiz, logo em seguida a aplicação de herbicida no local, na tentativa de impedir nova rebrota. Tal procedimento vem sendo empregado pelos fazendeiros com resultados satisfatórios (Tokarnia et al. 2012).

Na região norte, onde cerca de 80% das mortes súbitas de bovinos são atribuídas a *P.marcgravi*, é mais indicado, com intuito de evitar prejuízos, a criação de bubalinos, no lugar dos bovinos, pois os primeiros são mais resistentes (Barbosa et al. 2003).

Investigação clínico-patológica da intoxicação crônica experimental de caprinos pela *Palicourea marcgravii*.

Edson de F. G. Barbosa¹, Saulo P. Cardoso¹, Sérgio Lucio Salomon Cabral Filho², José Renato Junqueira Borges¹, Eduardo Maurício Mendes de Lima¹ e Franklin Riet-Correa³ e Márcio B. Castro^{1*}.

Abstract.- Barbosa E.F.G., Cardoso S.P., Cabral Filho S.L.S., Borges, J.R.J., Lima, E.M.M., Riet-Correa F. & Castro M.B. 2014. [Clinicopathological investigation of chronic experimental *Palicourea marcgravii* poisoning in goats.] *Pesquisa Veterinária Brasileira* 00(0):00. Laboratório de Patologia Veterinária, Hospital Veterinário, Universidade de Brasília, Via L4 Norte, Cx. Postal 4508, Brasília, DF 70910-970, Brazil. E-mail: mbcastro@unb.br

Palicourea marcgravii is considered the main toxic plant for livestock in Brazil, however, only the acute intoxication has been reported. This study reports the clinical and pathological changes of 10 goats chronically intoxicated by *P. marcgravii*. The animals received, daily, 0.2 g/kg body weight of the fresh plant during 6-38 days. The main clinical signs were anorexia, lethargy, tachycardia, arrhythmia, positive jugular venous pulse and recumbency. At necropsies, the lesions were pale kidneys and myocardium, serous atrophy of cardiac fat, evident hepatic lobular pattern and pulmonary edema. The main microscopic findings were swelling and vacuolization of cardiomyocytes, cardiac necrosis and inflammatory mononuclear infiltrate of the myocardium. The kidneys showed diffuse vacuolar hydropic degeneration of the epithelium. These findings demonstrated that chronically intoxicated goats by *P. marcgravii* show a distinct clinicopathologic features than that observed in the acute form of the poisoning. These observations demonstrate that goats may become intoxicated by eating small doses of the plant resulting in severe clinical signs and lesion that can be confused with those caused by other diseases.

INDEX TERMS: Caprine, *Palicourea marcgravii*, chronic intoxication, cardiotoxicity.

RESUMO.- A *Palicourea marcgravii* é considerada a principal planta tóxica de interesse pecuário no Brasil, porém, até o momento, é bem conhecido apenas o quadro agudo da intoxicação. Esse estudo avaliou as alterações clínico-patológicas de 10 caprinos cronicamente intoxicados por *P. marcgravii*. Os animais receberam, diariamente, 0,2 g/kg de peso corporal da planta fresca por 6 a 38 dias. Os caprinos apresentaram como principais sinais clínicos anorexia, apatia, taquicardia, arritmia, pulso venoso jugular positivo e decúbito. Nas necropsias, os achados macroscópicos foram hidropericárdio, palidez dos rins e do miocárdio, atrofia gelatinosa da gordura cardíaca, evidenciação do padrão lobular hepático e edema pulmonar. Os principais achados microscópicos foram tumefação e vacuolização de cardiomiócitos, necrose de fibras cardíacas e infiltrado inflamatório mononuclear no miocárdio. Nos rins foi encontrada marcante degeneração hidrópico-vacuolar difusa. Os achados demonstraram nos caprinos cronicamente intoxicados, quadro clínico-patológico com características distintas do observado na forma aguda da intoxicação por *P. marcgravii*. Essas observações comprovam o risco para caprinos da ingestão da planta, mesmo que em pequenas doses, resultando no surgimento de quadro clínico e graves lesões ainda pouco conhecidas, e que poderiam ser confundidas com outras enfermidades.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Caprino, *Palicourea marcgravii*, intoxicação crônica, cardiotoxicidade.

¹ Hospital Veterinário, Universidade de Brasília (UnB), Via L4 Norte, Cx. Postal 4508, Brasília, DF 70910-970, Brasil. *Autor para correspondência: mbcastro@unb.br

² Centro de Manejo de Ovinos - Fazenda Água Limpa - Universidade de Brasília (UnB), Brasília, DF 71750-000, Brasil.

³ Hospital Veterinário, Universidade Federal de Campina Grande, Patos, PB 58700-000, Brasil.

INTRODUÇÃO

A *Palicourea marcgravii* é considerada a principal planta tóxica de interesse pecuário no Brasil, encontrando-se distribuída por quase todo o País, com exceção do Mato Grosso do Sul e da Região Sul. Na região Nordeste, somente foi descrita em áreas com boa pluviosidade, não ocorrendo no semi-árido, nem em várzeas (Tokarnia et al. 2012). Sua importância é reforçada pela extensa distribuição, boa palatabilidade, elevada toxidez e efeito acumulativo, sendo responsável pela morte de 80% dos bovinos intoxicados por plantas na região amazônica (Tokarnia et al 1986, Tokarnia et al. 1991, Tokarnia et al. 2012).

As folhas frescas da *P. marcgravii* contem ácido monofluoroacético (MFA), que causa morte súbita de animais, mesmo após a ingestão de uma única dose de 0,6 a 1,0 g/kg para bovinos e caprinos respectivamente (Tokarnia & Döbereiner, 1986, Tokarnia et al. 1991).

No território brasileiro, grande parte dos animais de produção é criada extensivamente em pastagens nativas ou cultivadas, como base principal da alimentação destes. Por essa razão, com frequência, há um maior acesso e exposição dos animais às plantas tóxicas, justificando em parte, o grande número de perdas em surtos de intoxicação por plantas, registrados no Brasil (Pessoa, Medeiros & Riet-Correa, 2013).

No Distrito Federal (DF) foi observada a morte de caprinos com sinais neurológicos, mantidos em áreas com acesso à matas ciliares, que continham pequenas quantidades de *P. marcgravii* e com sinais de ingestão da planta pelos animais. Na época, foi feito o diagnóstico histológico de polioencefalomalácia. Essa lesão havia sido encontrada anteriormente em bovinos com suspeita de intoxicação pela planta (Ecco et al. 2004). Esses achados motivaram estudo piloto prévio em caprinos com doses baixas e repetidas (0,2g/kg de peso vivo de folhas frescas da planta tóxica), onde não foi detectada nenhuma alteração no SNC, no entanto, surgiram severas lesões degenerativo-necróticas no miocárdio com a morte dos animais.

Até o momento, a maior parte dos estudos com animais de produção visaram determinar o efeito e a determinação da dose tóxica da *P. marcgravii* na reprodução do quadro agudo da intoxicação, observado com frequência na maioria dos surtos (Tokarnia, Peixoto & Döbereiner, 1986, Tokarnia, Peixoto & Döbereiner, 1990, Tokarnia et al. 1991, Barbosa et al. 2003).

A ingestão de pequenas doses de *P. marcgravii* por períodos prolongados, em áreas com pouca disponibilidade da planta, também poderia estar envolvida na morte de animais, principalmente por lesões

cardíacas severas, diferentemente da forma aguda da intoxicação. É importante também considerar, que pequenas doses de plantas que contém MFA vem sendo usadas para induzir a resistência de ruminantes, na tentativa de prevenir intoxicações (Oliveira et al. 2013, Duarte et al. 2014) mas poderiam causar de alguma forma lesão cardíaca aos animais.

Este trabalho teve como objetivo investigar a evolução e o efeito clínico-patológico da administração crônica de folhas frescas de *P. marcgravii* para caprinos.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado na Fazenda Água Limpa da Universidade de Brasília, no Centro de Manejo de Ovinos, no período de agosto a outubro de 2013. Foram utilizados 13 caprinos, clinicamente saudáveis, sete destes da raça Parda Alpina, 4 fêmeas e 3 machos. O restante dos animais eram todos machos da raça Saanem e idade variando entre 6 a 8 meses. Os caprinos eram mantidos em baias coletivas cobertas, com piso de cimento e estrados de madeira, alimentados com silagem de milho, concentrado comercial para caprinos, capim elefante (*Pennisetum purpureum*) picado fresco, sal mineral comercial para caprinos e água fresca *ad libitum*. Previamente ao experimento, receberam doses mensais de anti-parasitário (Closantel e Albendazol) durante o período de adaptação alimentar e ambiental.

Dez caprinos (C1 a C10) receberam doses orais individuais diárias de 0,2 g/kg/animal de folhas frescas de *P. marcgravii*. As plantas foram colhidas semanalmente nas matas do Distrito Federal e Entorno, em propriedades onde anteriormente ocorreram casos de intoxicação em bovinos. Posteriormente, as plantas foram armazenadas em sacos plásticos refrigeradas entre 5 a 8 °C até o momento da administração para os animais. Os animais controle (C11 a C13) foram mantidos nas mesmas condições de ambiente e alimentação, porém sem a ingestão da planta tóxica.

No intuito de avaliar, de forma mais completa possível a evolução da intoxicação crônica por *P. marcgravii*, foi realizada avaliação clínica diária matinal, determinada a duração e o início dos sinais clínicos nos animais, com ênfase na avaliação da atitude (anorexia e apatia), frequência e alterações cardíacas, frequência respiratória, vasos episclerais e mucosas, estase jugular e decúbito. O exame clínico foi feito até o dia anterior à eutanásia ou da morte do animal.

Os animais que não morreram espontaneamente intoxicados foram eutanasiados com 24 dias e aos 39 dias após o início da ingestão da planta. Dois animais que resistiram à intoxicação crônica por 38 dias (C3 e C7) receberam na sequência dose única de 2g/kg de folhas frescas da planta, com o objetivo de determinar se os mesmos haviam desenvolvido resistência ao princípio tóxico (Oliveira et al. 2013). O caprino C3 foi desafiado no dia seguinte ao término do protocolo experimental inicial e o animal C7, após intervalo de 5 dias. Os caprinos controle foram submetidos a eutanásia com 39 dias.

Todos caprinos ao término do protocolo ou que se apresentavam intoxicados, agonizando ou na eminência de morrer, foram eutanasiados por overdose de barbitúrico (Concea, 2013). Os animais foram necropsiados e colhidos fragmentos de órgãos (coração, pulmões, fígado, rins, adrenal, baço, sistema nervoso central, intestinos, pâncreas, linfonodos e músculo estriado esquelético) e fixados em solução de

formol tamponado a 10%. As amostras histológicas foram processadas rotineiramente e confeccionados cortes histológicos corados pela técnica hematoxilina-eosina (HE) para avaliação em microscopia de luz.

RESULTADOS

As principais alterações clínicas observadas nos caprinos cronicamente intoxicados por *P. marcgravii* estão representadas no **Quadro 1**. O início dos sinais clínicos ocorreu entre 5 a 6 dias após início do experimento, entretanto, a maior parte dos animais apresentou alterações entre 13 e 20 dias. A maioria dos animais recebeu a planta por no mínimo 23 à 38 dias, com exceção de dois caprinos, que tiveram morte precoce com 6 e 16 dias de experimento. A dose mínima total de planta ingerida/kg (DTI) que causou a morte de um caprino (C9) em apenas 6 dias foi de 1,2g/kg. Porém, a maioria dos animais recebeu doses totais de 4,6 a 7,6 g/kg até o desfecho do experimento.

Taquicardia (TAC), arritmia (ART), taquipnéia (TAP), vasos episclerais ingurgitados (VEP) e decúbito esternal (DEC) foram os principais sinais clínicos observados em 100% dos caprinos cronicamente intoxicados. A apatia (APT), o pulso jugular positivo (PJP) esteve presente em 90% de todos os caprinos e a anorexia (ANX) em 80%.

O caprino C3 que recebeu desafio de 2g/kg de folhas frescas da planta após 24 horas ao término do experimento, apresentou sinais clínicos semelhantes aos outros animais, porém, 3 horas após a dose, entrou em decúbito e permaneceu apático até a morte. O animal C7, ao ser desafiado com 2g/kg de folhas

frescas da planta, 5 dias após a última administração, não apresentou sinais clínicos por mais de 12 horas, entretanto, foi encontrado morto 12 horas após.

As principais alterações necroscópicas nos animais do experimento foram observadas no coração, rim, fígado, pulmões e mucosas (**Quadro 2**). As alterações cardíacas mais significativas foram palidez do miocárdio (**Figura 1A**), hidropericárdio (**Figura 1B**), atrofia gelatinosa da gordura. Os rins de todos animais apresentavam-se pálidos (**Figura 1C**) e no fígado havia padrão lobular evidenciado (**Figura 1D**) e congestão difusa. Os pulmões de alguns animais apresentavam edema e congestão leve a moderado. Os animais desafiados (C3 e C7) apresentaram lesões macroscópicas similares aos outros caprinos. O animal controle não apresentou alterações macroscópicas dignas de nota.

O exame histopatológico dos caprinos intoxicados demonstrou alterações principalmente no coração. O resumo dos achados histopatológicos cardíacos mais significativos são encontrados no **Quadro 3**. Os caprinos desafiados (C3 e C7) com 2g/kg de folhas frescas de apresentaram lesões histológicas similares aos outros caprinos.

Dentre as lesões cardíacas mais significativas nos animais intoxicados, a tumefação e vacuolização de cardiomiócitos (**Figura 2A**) se destacam devido à severidade e distribuição multifocal à difusa. As fibras cardíacas apresentavam expansão e vacuolização do citoplasma, essa última, caracterizada por marcada área perinuclear não corada.

Os animais C3 e C7, após desafiados com a planta, apresentaram apenas tumefação e vacuolização discreta e focal de cardiomiócitos. Os demais tecidos analisados apresentaram lesões histológicas similares aos outros caprinos.

Outro achado importante foi a necrose individual de cardiomiócitos, com distribuição esparsa e geralmente de intensidade discreta, caracterizada por hipereosinofilia citoplasmática, perda das estriações, e por vezes, cariopicnose. Ao redor dos focos de necrose, perivascular e no interstício do miocárdio, observou-se infiltrado inflamatório mononuclear geralmente discreto, constituído predominantemente por linfócitos e macrófagos. (**Figura 2B**). No ventrículo esquerdo de apenas um dos caprinos (C5) foi observada fibrose discreta multifocal por entre os cardiomiócitos.

O septo interventricular, os ventrículos direito e esquerdo foram às regiões mais frequentemente acometidas e com as principais lesões apresentando maior intensidade. Os átrios direito e esquerdo também apresentaram as mesmas alterações, porém com menor frequência e intensidade.

A degeneração hidrópico vacuolar do epitélio tubular renal (**Figura 2D**) estava presente em todos os animais intoxicados, variando de discreta à acentuada, com distribuição multifocal à difusa. No exame histopatológico as células epiteliais tubulares apresentavam vacúolos translúcidos citoplasmáticos, núcleos em cariopícnose, cariorexia ou ausentes.

No fígado de apenas um dos caprinos (C9) foi constatada moderada vacuolização de hepatócitos na região centro-lobular (**Figura 2C**). Os hepatócitos evidenciavam citoplasma levemente eosinofílico, de aspecto granular, contendo vacúolos bem delimitados não corados. Congestão e edema pulmonar discreto foram encontrados no pulmão de alguns caprinos do experimento.

O único animal controle (C11) eutanasiado não apresentou alterações microscópicas dignas de nota em todos os tecidos analisados.

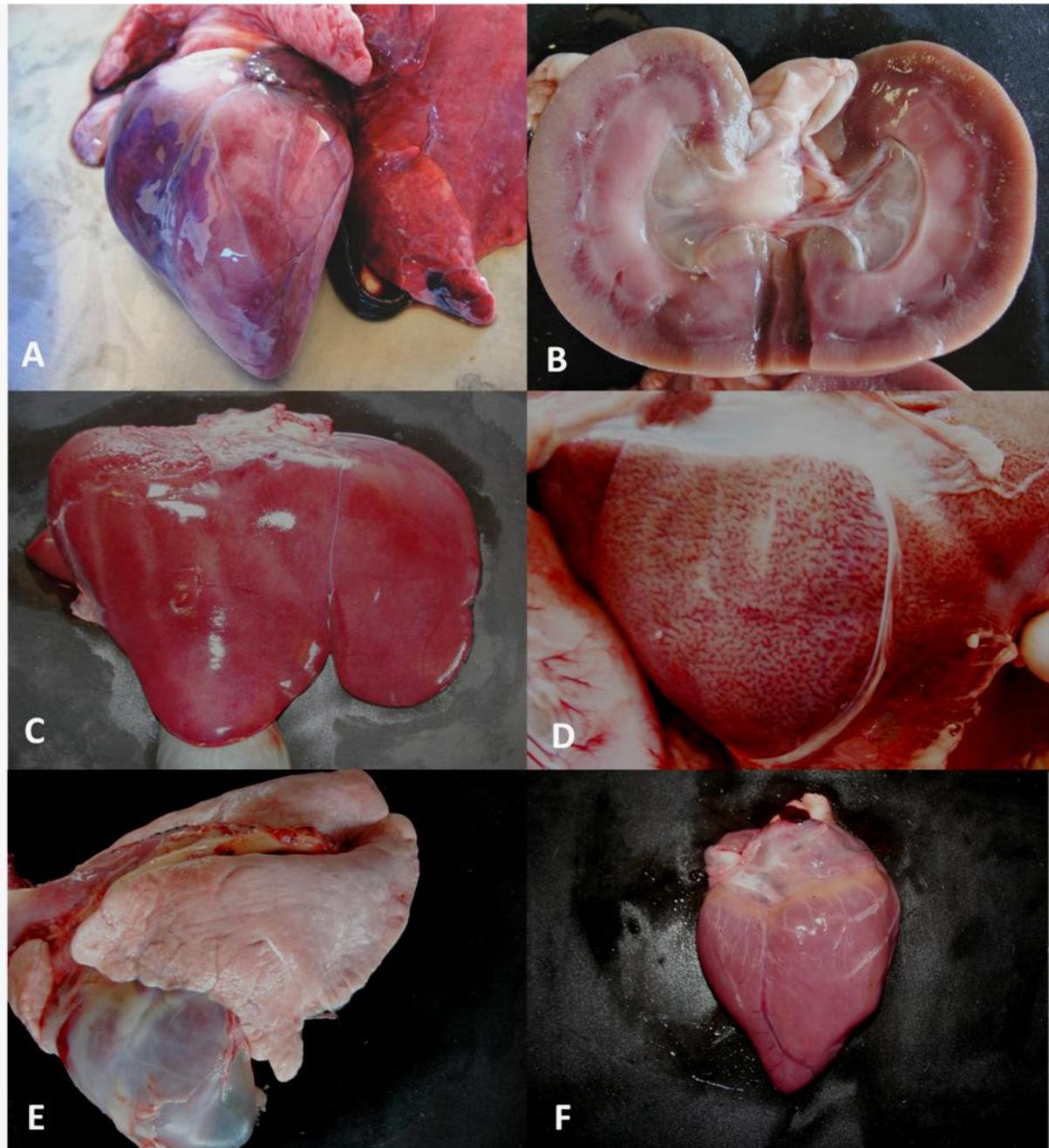


Figura 1 - Lesões macroscópicas em caprinos intoxicados cronicamente por *Palicourea marcgravii*. A) palidez do miocárdio multifocal a coalescente acentuada. B) palidez renal difusa acentuada. C) congestão difusa hepática. D) padrão lobular hepático acentuado, E) hidropericárdio. F) atrofia serosa da gordura.

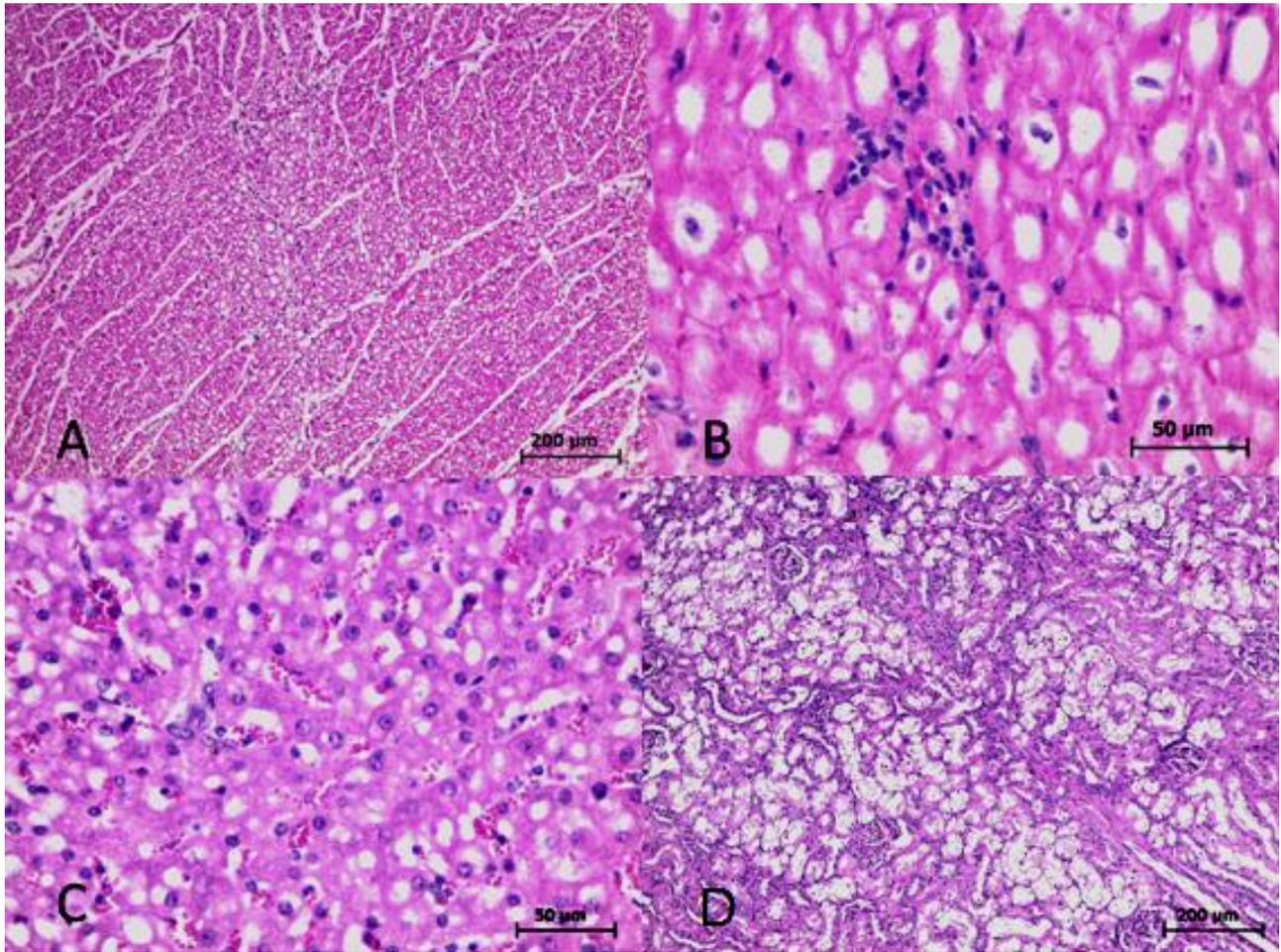


Figura 2. Principais lesões histopatológicas. (A) coração: marcada vacuolização multifocal a coalescente de cardiomiócitos, (B) coração: marcada vacuolização de cardiomiócitos e infiltrado mononuclear discreto, (C) fígado: degeneração vacuolar moderada, (D) rim: degeneração hidrópico-vacuolar multifocal moderada dos túbulos contorcidos distais com cariopícnose.

Quadro 1. Características da intoxicação e sinais clínicos em caprinos cronicamente intoxicados com *P. marcgravii* (Brasília, 2013).

Animal	Sexo	TDIP	Dose	ISC	CCL	Sinais clínicos								Desfecho
						ANX	APT	TAC	ART	TAP	VEP	PJP	DEC	
C1	M	23	4,6g/kg	19°dia	5 dias	+	+	+	+	+	+	+	+	E
C2	F	23	4,6g/kg	13°dia	11 dias	+	+	+	+	+	+	+	+	E
C3	M	38	7,6g/kg	19°dia	20 dias	-	-	+	+	+	+	+	+	M*
C4	M	38	7,6g/kg	23°dia	16 dias	+	+	+	+	+	+	+	+	E
C5	M	38	7,6g/kg	6°dia	33 dias	-	+	+	+	+	+	+	+	E
C6	M	16	3,2g/kg	16°dia	1 dia	+	+	+	+	+	+	+	+	M
C7	M	38	7,6g/kg	26°dia	13 dias	+	+	+	+	+	+	+	+	M*
C8	M	30	6,0g/kg	17°dia	14 dias	+	+	+	+	+	+	+	+	E
C9	M	6	1,2g/kg	5°dia	2 dias	-	+	+	+	+	+	-	+	M
C10	M	27	5,4g/kg	20°dia	8 dias	+	+	+	+	+	+	+	+	M
C11	F	-	Controle	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E
C12	F	-	Controle	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E
C13	F	-	Controle	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E

TDIP - total de dias de ingestão da planta. **DTI** - dose total ingerida/kg durante todo experimento. **ISC** - início dos sinais clínicos. **CCL** - duração do curso clínico. * - desafio com 2g/kg. Sinais clínicos: **ANX** - anorexia, **APT** - apatia, **TAC** - taquicardia, **ART** - arritmia, **TAP** - taquipnéia, **VEP** - vasos episclerais ingurgitados, **PJP** - Pulso jugular positivo, **DEC** - decúbito esternal. Interpretação: + presente, - ausente. Desfecho: **M** - Morreu, **E** - Eutanasiado, **M***- Morreu após desafio com 2 g/kg.

Quadro 2. Alterações necrscópicas em caprinos cronicamente intoxicados com *P. marcgravii* (Brasília, 2013).

Animal	Coração			Rim	Fígado		Pulmão	
	HIP	AGG	PAM	PAL	EPL	CNG	EDM	CNG
C1	+	+	+	+	+	+	+	+
C2	+	-	+	+	+	+	+	+
C3	+	-	+	+	+	+	+	+
C4	+	-	+	+	+	+	+	-
C5	+	-	+	+	+	+	+	-
C6	+	+	+	+	+	+	+	+
C7	+	-	+	+	+	+	+	+
C8	+	-	+	+	+	+	+	-
C9	-	-	+	+	+	+	+	-
C10	+	+	+	+	+	+	-	-
C11	-	-	-	-	-	-	+	-

Sinais clínicos: **HIP** - hidropericárdio, **AGG** - atrofia gelatinoso da gordura, **PAM** - palidez do miocárdio, **PAL** - palidez renal, **EPL** - evidenciação do padrão lobular, **CNG** - congestão, **EDM** - edema. Interpretação + presente, - ausente.

Quadro 3. Alterações histopatológicas cardíacas em caprinos cronicamente intoxicados com *P. marcgravii* (Brasília, 2013).

Animal	ATDR			ATEQ			SEPINT			VTDR			VTEQ		
	NIC	TVAC	INFM	NIC	TVAC	INFM	NIC	TVAC	INFM	NIC	TVAC	INFM	NIC	TVAC	INFM
C1	+	+	-	-	++	+	++	++	+	+	+	+	+	+++	+
C2	+	+	+	+	++	+	+	+++	+	+	+++	+	+	+++	+
C3	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+
C4	-	+	++	-	+	+	+	+++	+	+	+++	+	+	+++	+
C5-	-	+	+	+	+	+	+	++	+	+	+++	+	+	++	+
C6	+	+	+	+	+	+	++	+++	+	++	+++	+	+	+++	+
C7	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-
C8	-	-	+	-	+	+	+	+++	+	+	+	+	+	+++	+
C9	+	-	+	+	+	+	+++	++	+	++	+	+	++	++	++
C10	+	+	-	+	+	-	++	+++	+	+	+	+	+	+++	+
C11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Região anatômica: **ATDR** - átrio direito, **ATEQ** - átrio esquerdo, **SEPINT** - septo interventricular, **VTDR** - ventrículo direito, **VTEQ** - ventrículo esquerdo. Alterações histopatológicas: **NIC** - necrose individual de cardiomiócitos, **TVAC** - tumefação e vacuolização de cardiomiócitos, **INFM** - Infiltrado inflamatório mononuclear. Intensidade: - Sem Alterações, + discreta, ++ moderada, +++ acentuada.

DISCUSSÃO

O presente modelo experimental, com a ingestão de doses baixas e repetidas de *P.marcgravii*, provocou sinais clínicos, alterações patológicas severas e a morte de caprinos. Observou-se que os caprinos também são sensíveis à intoxicação crônica pela *P. marcgravii*, assim como ao efeito cumulativo da mesma para a espécie, com sinais clínicos semelhantes aos observados em bovinos na intoxicação aguda (Tokarnia & Döbereiner, 1986) e ovinos (Tokarnia et al. 1986). Em experimento realizado com ovinos intoxicados com MFA, o mesmo não apresentou ação cumulativa, porém os sinais clínicos e histopatológicos foram semelhantes (Shultz et al. 1982).

A dose diária de 0,2 g/kg de folhas frescas da planta provocou a intoxicação e sinais clínicos em todos os animais. Essa dose foi eficiente para produzir a forma crônica da intoxicação na maioria dos animais que foram eutanasiados ou morreram entre 23 a 38 dias de experimento. Apenas os caprinos C6 e C9 morreram mais rapidamente, com quantidades totais de planta ingeridas próximas às consideradas tóxicas para a espécie e que geralmente leva à morte entre minutos até 2 dias (Tokarnia et al. 1991). De acordo com esses achados, ficou determinado que 1,2 g/kg de folhas frescas foi a dose mínima para produzir a morte de animais com 6 dias de administração. Portanto, considerando que foi administrada a dose diária de 0,2 g/kg de peso vivo de folhas frescas, isso correspondeu aproximadamente a 1/6 da dose tóxica mínima.

Para a maioria das espécies, a forma clássica da intoxicação ocorre em minutos até algumas horas após a administração da planta, nos bovinos na dose a partir de 0,6g/kg (Tokarnia & Döbereiner, 1986), nos ovinos 0,5 a 1.0g/kg (Tokarnia et al. 1986), nos bubalinos 3,0g/kg (Barbosa et al. 2003) e equinos 0,6g/kg (Tokarnia et al. 1993). Os caprinos do experimento certamente desenvolveram uma forma crônica de toxicose pela *P. marcgravii*, uma vez que os sinais clínicos surgiram entre 5 e 26 dias de administração da planta.

Dentre os sinais clínicos observados nos caprinos cronicamente intoxicados, anorexia, apatia, taquicardia, arritmia, taquipnéia, estase venosa jugular positiva e decúbito são alterações frequentemente descritas em ruminantes intoxicados natural e experimentalmente pela planta (Pacheco & Carneiro 1932, Tokarnia & Döbereiner 1986, Tokarnia et al. 1991, Barbosa et al. 2003). No entanto, os caprinos apresentaram os sinais clínicos de forma gradativa e diária durante o experimento, e não sinais súbitos e alterações nervosas e como na forma aguda (Tokarnia et al. 1991). A presença de vasos episclerais

ingurgitados não é um achado relatado na intoxicação aguda de caprinos pela planta (Tokarnia et al. 1991, Oliveira et al. 2013).

Apesar das diferenças entre as formas clínicas aguda e crônica da intoxicação, os efeitos no sistema cardiovascular foram particularmente marcantes e severos na forma crônica da toxicose por *P. marcgravii*. Diferentemente da forma aguda observada em geral nos ruminantes, os caprinos cronicamente intoxicados não apresentaram alterações neuromusculares como movimentos de pedalagem, opistótono e tremores musculares (Tokarnia et al. 1991, Soto-Blanco et al. 2004, Vasconcelos et al. 2008, Peixoto et al. 2012, Becker et al. 2013).

Os animais cronicamente intoxicados por *P. marcgravii*, que morreram ou foram eutanasiados, apresentaram lesões macroscópicas principalmente no coração, fígado, pulmões e rins. Em destaque estão as alterações cardíacas, caracterizadas por moderada a acentuada palidez sob a forma de estriações ou focos extensos, que foram descritas de forma esporádica em caprinos experimentalmente intoxicados (Pacheco & Carneiro 1932, Tokarnia et al. 1991).

A reprodução da intoxicação experimental aguda em ovinos, utilizando somente o MFA ao invés da planta, produziu congestão venosa, cianose, edema pulmonar, hidropericárdio, hidrotórax, ascite e discretas áreas de hemorragia no coração. Na forma subaguda e crônica da intoxicação por MFA o miocárdio pode apresentar manchas de aspecto pálido por todo o órgão (Shultz et. al. 1982). Algumas das alterações encontradas nos caprinos foram semelhantes às dos ovinos intoxicados por MFA, principalmente. É de grande relevância ressaltar, que a palidez cardíaca observada na forma crônica da intoxicação por *P. marcgravii*, foi semelhante à descrita em ovinos com a toxicose crônica experimental por MFA (Shultz et. al. 1982).

As alterações observadas no fígado e pulmões dos caprinos cronicamente intoxicados, possivelmente são secundárias às lesões em diferentes graus encontradas no miocárdio. Isso pôde ser demonstrado pela congestão venosa (cl clinicamente evidenciada como estase e pulso jugular), edema e degeneração na região centro-lobular hepática (com evidenciação no padrão lobular), essa última, possivelmente em razão da hipóxia. Essas alterações podem ser observadas eventualmente em caprinos e ovinos intoxicados por plantas que possuem MFA em sua composição (Tokarnia et al. 1991, Becker et al. 2013, Oliveira et al. 2013). Entretanto, estas alterações não são relatadas na maioria dos casos descritos de toxicose em ruminantes por plantas que contém MFA no Brasil, possivelmente por predominar a forma

aguda ou hiperaguda da intoxicação (Soto-Blanco et al. 2004, Peixoto et al. 2012, Becker et al. 2013, Oliveira et al. 2013).

A palidez renal acentuada encontrada nos animais do experimento é uma alteração não descrita em ruminantes intoxicados por plantas que contem MFA no Brasil e em outras partes do mundo (Schultz et al. 1982, Vasconcelos et al. 2008, Peixoto et al. 2012, Oliveira et al, 2013, Duarte et al. 2014).O exame histopatológico dos tecidos dos caprinos cronicamente intoxicados pela *P. marcgravii* evidenciaram lesões cardíacas severas, alterações renais, hepáticas e pulmonares.

Na intoxicação experimental crônica dos caprinos pelas folhas da *P. marcgravii* verificou-se que a região cardíaca mais comumente afetada foi o septo interventricular, com lesões de maior intensidade, seguida pelos ventrículos esquerdo e direito. Os átrios direito e esquerdo também apresentaram as mesmas alterações, porém com menor frequência e intensidade. Até o presente momento, não foram descritas lesões tão severas e sua distribuição no coração de ruminantes intoxicados por plantas que contém MFA no Brasil, apesar da maioria dos estudos terem sido com a forma aguda da intoxicação (Vasconcelos et al. 2008, Peixoto et al. 2012, Becker et al. 2012, Oliveira et al. 2013). Não se conhece até agora, a razão de haver diferenças na distribuição e intensidade das lesões nas áreas cardíacas avaliadas dos caprinos cronicamente intoxicados. Uma possível explicação seria a existência de diferenças na taxa metabólica dos cardiomiócitos ou na permeabilidade das membranas à toxina nas regiões avaliadas, o que poderia interferir na velocidade de ação e distribuição do MFA (Buffa et al. 1977).

Dentre as alterações histopatológicas encontradas, a tumefação e vacuolização dos cardiomiócitos, com distribuição multifocal à difusa e em graus variáveis, foram as lesões preponderante em 100% dos caprinos intoxicados. Essas alterações, da forma como foram encontradas, só foram descritas anteriormente em estudo similar com caprinos no Distrito Federal (Reis jr et al. 2009). Na intoxicação aguda experimental de caprinos pela planta, a vacuolização dos cardiomiócitos em grau discreto, foi relatada em menos de 30% dos animais (Tokarnia et al. 1991).

Na intoxicação experimental de ovinos da raça Merino com fluoracetato de sódio na África do Sul, foram encontradas lesões histopatológicas proeminentes principalmente no endocárdio, caracterizada pelo inchaço de fibras cardíacas, particularmente na região perinuclear, e perda das estriações transversais (Schultz et al. 1982). A intoxicação por MFA provoca marcado acúmulo de citrato nos tecidos, causado pelo bloqueio do ciclo de Krebs, ligado a atividade respiratória e metabólica do órgão, principalmente no miocárdio, no sistema nervoso, e em menor quantidade no fígado (Goncharov et al. 2006). Possivelmente a

vacuolização dos cardiomiócitos possa ter ocorrido pela elevação do citrato tecidual, bem como pela interrupção do ciclo de Krebs, que causa uma depleção nos níveis de ATP teciduais e acúmulo de líquido intracelular.

Aparentemente, ao exame na microscopia de luz, a vacuolização evidenciada nos cardiomiócitos dos caprinos sugere edema celular. Entretanto, em estudo ultraestrutural do miocárdio de caprinos cronicamente intoxicados por *P. marcgravii*, foi demonstrada a dilatação do retículo endoplasmático liso, diferentemente da lesão mitocondrial geralmente esperada (Reis jr et al. 2009).

A necrose individual de cardiomiócitos nos caprinos cronicamente intoxicados pela *P. marcgravii* foi outra lesão importante e com distribuição semelhante à tumefação e vacuolização de cardiomiócitos. A necrose de fibras cardíacas havia sido descrita anteriormente em 50% dos caprinos intoxicados de forma aguda pela planta (Tokarnia et al. 1991). Essa lesão é observada em outros ruminantes intoxicados por plantas que contém MFA (Tokarnia et al. 1986, Oliveira et al. 2012), entretanto, não necessariamente é sempre encontrada (Barbosa et al. 2003, Ecco et al. 2004, Vasconcelos et al. 2008, Becker et al. 2013). A intoxicação experimental de ovinos com MFA também provocou necrose de fibras cardíacas ao longo das paredes atriais e ventriculares, acometendo mais comumente o endocárdio. Os mecanismos responsáveis pela morte celular em animais intoxicados por MFA e plantas que o contém, ocorre devido ao comprometimento de etapas da respiração celular (Colicho-Zuanaze & Satake 2005). Nessa situação, a morte de cardiomiócitos é um fenômeno esperado, devido à intensa resposta e susceptibilidade do coração frente à ação do MFA (Schultz et al. 1982, Goncharov et al. 2006).

O processo inflamatório encontrado no coração dos caprinos cronicamente intoxicados pela planta também é relatado na intoxicação aguda desses animais por *P. marcgravii* (Tokarnia et al. 1991), em ovinos (Tokarnia et al. 1986) e em bovinos (Tokarnia & Dobereiner 1986). Ovinos experimentalmente intoxicados por MFA também apresentaram infiltrado inflamatório mononuclear no miocárdio (Schultz et al. 1982). A migração de células inflamatórias possivelmente esteja relacionada com a necrose de fibras cardíacas por ação do MFA.

A fibrose intersticial no miocárdio dos animais do experimento foi um achado raro, e pode ser esporadicamente encontrada em ovinos e caprinos intoxicados de forma aguda pela planta (Tokarnia et al. 1986, Tokarnia et al. 1991). A fibroplasia/fibrose nesses casos, provavelmente ocorre em virtude do desaparecimento de fibras cardíacas devido à necrose e substituição por tecido fibroso (Tokarnia et al. 1991).

Bovinos e ovinos intoxicados naturalmente por outras plantas que contém MFA como *Amorimia exotropica* e *Amorimia sepium*, apresentam necrose de cardiomiócitos, inflamação mononuclear intersticial e severa fibrose cardíaca (Soares et al. 2011, Schons et al. 2012). Essa última lesão, pode ser reproduzida e exacerbada experimentalmente em coelhos pela administração da planta por 40 dias (Soares et al. 2011). A fibrose surge nas áreas de necrose e inflamação do miocárdio, em ovinos intoxicados de forma crônica ou subaguda pelo MFA, e aparece esporadicamente na intoxicação aguda (Schultz et al. 1982).

É impossível não notar as marcantes diferenças nas lesões histológicas cardíacas predominantes nos caprinos intoxicados cronicamente por *P. marcgravii* e ruminantes intoxicados por *Amorimia* spp.. Uma possível explicação para isso poderia ser a diferença nas concentrações de MFA presente nas duas espécies de planta. A *P. marcgravii* apresenta de 0,21% a 0,24% de MFA em sua composição, níveis muito maiores que os observados em várias espécies de *Amorimia* spp. que variam de 0,0007% a 0,02% (Lee et al. 2012). Mesmo nas intoxicações crônicas, as altas concentrações de MFA na *P. marcgravii*, que chegam a ser 10 vezes ou mais, maior que aquela presente na *Amorimia* spp., provavelmente causa a marcante tumefação e vacuolização de cardiomiócitos. É provável que doses menores de MFA induzam por mecanismos ainda não conhecidos, fibrose cardíaca em graus acentuados. Se considerados os níveis médios de MFA na *P. marcgravii* (Lee et al. 2012) a dose ingerida pelos caprinos cronicamente intoxicados ainda foi bem maior que aquela fornecida à ovinos e que também causou fibrose cardíaca como principal lesão (Schultz et al. 1982).

A degeneração hidrópico-vacuolar (DHV) difusa das células epiteliais dos túbulos renais foi observada de forma acentuada e constante em todos os caprinos cronicamente intoxicados. Essa alteração é frequentemente descrita em ruminantes intoxicados pela planta (Tokarnia et al. 1983, 1986, 1981, Tokarnia & Döbereiner, 1986, Barbosa et al. 2003, Ecco et al. 2004, Oliveira et al. 2013), em animais que se intoxicaram com outras plantas que contém MFA (Vasconcelos et al. 2008, Becker et al. 2013) e experimentalmente com o uso isolado de MFA (Nogueira et al. 2010, Peixoto et al. 2012).

É importante ressaltar, que geralmente essa lesão é descrita de forma focal ou multifocal, acometendo exclusivamente túbulos contorcidos distais, diferentemente do observado nos caprinos do experimento, que envolveu difusamente os túbulos do córtex renal, até a transição cortico-medular. O padrão encontrado de distribuição da degeneração hidrópico-vacuolar, possivelmente ocorreu devido a administração prolongada de *P. marcgravii* aos caprinos. É provável que a intoxicação crônica dos animais leve ao desenvolvimento de lesão renal mais ampla e menos seletiva que aquela encontrada na forma aguda geralmente descrita nos ruminantes (Tokarnia et al. 1986, 1991, Tokarnia & Döbereiner 1986).

A degeneração hidrópico-vacuolar foi observada em todos caprinos cronicamente intoxicados, entretanto na forma aguda é encontrada em apenas 36% dos animais (Tokarnia et al. 1986). Ruminantes intoxicados por outras plantas tóxicas que possuem MFA no Brasil apresentaram DHV variando de 25 a 100% dos animais (Tokarnia et al. 1983, 1986, 1991, Tokarnia & Döbereiner, 1986, Barbosa et al. 2003, Ecco et al. 2004, , Oliveira et al. 2013). Todos bovinos intoxicados experimentalmente por MFA demonstraram degeneração hidrópico-vacuolar nos túbulos renais contorcidos distais (Nogueira et al. 2010, Peixoto et al. 2012). As diferenças na susceptibilidade, na dose tóxica, na forma da intoxicação (aguda ou crônica) e até mesmo na planta utilizada, poderiam explicar as grandes variações encontradas nos animais intoxicados.

A vacuolização centrolobular de hepatócitos foi um achado raro nos caprinos cronicamente intoxicados e pode ser encontrada com maior frequência na intoxicação aguda por *P. marcgravii* nessa espécie (Tokarnia et al. 1991). No entanto, essa lesão não foi observada em ovinos intoxicados experimentalmente por MFA (Shultz et. al. 1982). A vacuolização de hepatócitos em animais intoxicados por MFA pode ou não ser relacionada ao efeito da toxina, uma vez que não se pode descartar como causa, a hipóxia associada à insuficiência cardíaca congestiva (Nogueira et al. 2010).

O edema pulmonar foi um achado frequente nos caprinos cronicamente intoxicados pela *P. marcgravii*, e possivelmente, seja consequência de lesão e alteração funcional cardíaca produzida pela intoxicação crônica da planta.

A administração repetida de baixas doses de plantas que contém MFA, no intuito de aumentar a concentração de bactéria rumenais produtoras de dehalogenase, vem sendo usada com sucesso na prevenção da intoxicação em ruminantes (Oliveira et al. 2013, Duarte et al. 2014). No entanto, os caprinos cronicamente intoxicados (C3 e C7) não resistiram ao desafio, independente ou não de terem passado por período de detoxificação. Uma justificativa para isso seria o fato dos animais desafiados receberem dose única elevada, diferentemente dos protocolos de indução de resistência, onde a dose total era fracionada (Oliveira et al. 2013, Duarte et al. 2014). De qualquer forma, é importante que seja feita a administração criteriosa de plantas que contém MFA, mesmo quando usadas de forma preventiva, para que não ocorra a intoxicação crônica dos animais.

O conjunto de alterações observadas nos caprinos cronicamente intoxicados por *P. marcgravii* reflete, de forma muitas vezes exacerbada, manifestações clínicas e lesões conhecidas da ingestão de plantas que contém MFA ou da própria toxina. Baixas doses da planta, por um período prolongado, são tóxicas e

causam lesões cardíacas severas e morte dos caprinos. Apesar da intoxicação aguda por *P. marcgravii* ser bastante documentada e conhecida, acredita-se que a forma crônica da intoxicação possa ocorrer em condições de campo, especialmente quando há baixa disponibilidade da planta ou tenha sua oferta esporádica. Mesmo a planta apresentando alta palatabilidade para ruminantes, a ingestão repetida de baixas doses, com manifestações clínicas mais discretas que na forma aguda da intoxicação, deve ser considerada no diagnóstico diferencial na morte de animais com acesso à matas com *P. marcgravii*.

Frente aos relevantes achados encontrados nos caprinos cronicamente intoxicados, torna-se premente investigar a importância dessa forma de intoxicação em outras espécies de ruminantes de maior relevância econômica na pecuária Brasileira e que sofrem com perdas pela planta. Isso poderia ser estendido à outras plantas com MFA que causam prejuízo à várias regiões pecuárias do País.

Agradecimentos.- Ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) pelo suporte financeiro. Projeto financiado pelo Instituto de Ciência e Tecnologia para o Controle das Intoxicações por Plantas (Proc. CNPq 573534/2008-0).

REFERÊNCIAS

- Alzert, S.P., A review of sodium monoflouracetate its properties, toxicology and use on predator and control. Special scientific Report on Wildlife 146. U.S. Department of the interior, 1971
- Barbosa, R. R.; Ribeiro Filho, M. R.; Da Silva, I. P.; Soto-Blanco, B. Plantas tóxicas de interesse pecuário: Importância e formas de estudo. Acta Veterinária Brasileira, v.1, n.1, p.1-7, 2007.
- Barbosa, J. D., Oliveira, C.M.C., Tokarnia H. C., 2003. Comparação da sensibilidade de bovinos e búfalos à intoxicação por *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae) Pesquisa Veterinária Brasileira, Seropédica1, v.23, n.4, 167–172.
- Becker, M., Caldeira F.H.B., Carneiro, F.M., Oliveira, L.P., Tokarnia C.H., Riet-Correa F., Lee, S.T & Colodel, E.M. 2013. Importância da intoxicação por *Amorimia publfora* (Malpighiaceae) em bovino no Mato GrossoSul: reprodução experimental da intoxicação em ovinos e bovinos. Pesquisa Veterinária Brasileira, v.33, n9, p.1049-1056.
- Buffa, P. Pasquali-Ronchetti I. Biochemical Lesions of Respiratory Enzymes and Configurational Changes of Mitochondrial in vivo. Cell Tissue Res., v.183, p. 1-23, 1977.
- Collichio-Zuanaze R.C. Satake M. Aspectos clínicos e terapêuticos da intoxicação por Fluoroacetato de sódio em animais domésticos: Revisão. Vet. Not. v. 11, n.2 p.81-89, 2005

- Camboim, E. K. a, Almeida, A. P., Tadra-Sfeir, M. Z., Junior, F. G., Andrade, P. P., McSweeney, C. S., ... Riet-Correa, F. (2012). Isolation and identification of sodium fluoroacetate degrading bacteria from caprine rumen in Brazil. *TheScientificWorldJournal*, 2012, 178254. doi:10.1100/2012/178254
- Camboim E.K.A., Tadra-Sfeir M.Z., Souza E.M., Pedrosa F.O., Andrade P. P., McSweeney C.S., Riet-Corea F. & Melo M.A. 2012a. Defluorination of sodium fluoroacetate by bacteria from soil and plants in Brazil. *Scientific World Journal*. Article ID 149893, 5 pages, Disponível em <<http://www.tswj.com/2012/149893/>> Acesso em 20 ago. 2012. doi:10.1100/2012/149893
- Chenoweth M.B.; Monofluoroacetic acid and related compounds . *Pharmacological Reviews*, v.1 p383-424, 1949.
- Conselho Nacional de Controle De Experimentação Animal- CONCEA. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação. Diretrizes da Prática de Eutanásia do CONCEA. Brasília, 2013.
- Duarte A.L. L., Medeiros R.M.T., Carvalho F.K.L., Lee S. T., Cook D., Pfister J.A., Costa V.M.M., Riet-Corrêa F. Induction and transfer of resistance to poisoning by *Amorimia (Mascagnia) septentrionalis* in goats. *Journal Applied Toxicology*. 2014 Feb;34(2):220-3. doi: 10.1002/jat.2860. Epub 2013 Feb 12.
- Ecco R., Túry E., Santos M.M. & Barros R.M. 2004. Intoxicação por *Palicourea marcgravii* em bovinos associado a malácia cerebral. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. v.24 p.20-21.
- Eason C.T., Gooneratne R., Fitzgerald H., Wright G., Frampton C. 1994. Persistence of sodium monofluoroacetate in livestock animals and risk to humans. *Human & Experimental Toxicology* . 13:119-122.
- Egyed M.N. & Schutlz R.A. 1986. The efficacy of acetamide for treatment of experimental *Dichapetalum cymosum* (Giblaar) poisoning in sheep. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*. 53:231-234.
- Goncharov, N. V., Jenkins, R.O., Radilov, A. S. Toxicology of fluoroacetate: review, with possible directios for terapy research.*JornalOf Applied Toxocology*, v 26: 148-161, 2006.
- Gooneratne S.R., Eason C.T., Dickson C.J., Fitzgerald H., Wright G. 1995. Persistence os sodium monoflouracetate in rabbits and risk to non-target species. *Human & Experimental Toxicology*. 14: 212-216.
- Kemmerling, W. Toxicity of *Palicourea marcgravii*: combined effects of fluoroacetate, N-methyltyramine and 2-methyltetrahydro-beta-carboline. *Zeitschrift für Naturforschung*, v. 51, p. 59-64, 1996.
- Kellerman,T.S.; Coetzer, J.A.W.; Naude,T.W.; Botha, C.J. Plant Poisonings and mycotoxicoses of livestock in Southern Africa. 2nd ed. Oxford University Press, Cape Town. 2005.
- Krebs H.C., Kemmerling W. & Habermehl G. 1994. Qualitative and quantitative determination of fluoroacetic acid in *Arrabideea bilabiata* and *Palicourea marcgravii* by F-NMR spectroscopy. *Toxicon* 32: 909-913.

- Lee S.T., Cook D., Riet-Correa F., Pfister J.A., Anderson W.R., Lima F.G. & Gardner D. 2012. Detection of monofluoroacetate in *Palicourea* and *Amorimia* species. *Toxicol* 60:791-796.
- Minnaar P.P. Swan G.E., McCrindle R.I., de Beer W.H.J., Naudé T.W., A High-Performance Liquid Chromatographic Method for the Determination of Monofluoroacetate. *Journal of Chromatographic Science*, Vol. 38, January 2000.
- Nogueira V.A., França T.N., Peixoto T. C., Caldas S.A., Armien A.G. & Peixoto P.V. 2010. Intoxicação experimental por monofluoroacetato de sódio em bovinos: aspectos clínicos e patológicos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. v.30(7)p.533-540.
- Oliveira M.M. 1963. Chromatographic isolation of monofluoroacetic acid from *Palicourea marcgravii*, St. Hill. *Experientia* 19(11):586-587.
- Oliveira C. M. C. De Barbosa, J. D., Macedo R. S. C., Brito M. F.B., Peixoto P.V., & Tokarnia C.H. (2004). Estudo comparativo da toxidez de *Palicourea juruana* (Rubiaceae) para búfalos e bovinos, *Pesquisa Veterinária Brasileira*. v. 24(1)p. 27–30.
- Oliveira M.D., Riet-Correa, F. Carvalho, F.K., Silva G.B., Pereira W.S., Medeiros R.M.T. 2013. Indução de resistência a intoxicação por *Palicourea aeneofusca* (Rubiaceae) mediante administração de doses sucessivas não tóxicas. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. v.33(6)p.731-734.
- Pacheco G. & Carneiro V.1932. Estudos experimentais sobre tóxicas. I Intoxicação dos animais pela "erva de rato da mata" *Revista Soc. Paulista de Medicina Veterinária*. 2(2/3):23-46.
- Pattison F.L.M. 1959 *Toxic Aliphatic fluoride compounds*. Elsevier: Londres.
- Peixoto, T. C., Oliveira, L. I., Caldas, S. A., Catunda, F. E. A., Carvalho, M. G., & França, T. N. 2011. Efeito protetor da acetamida sobre as intoxicações experimentais em ratos por monofluoroacetato de sódio e por algumas plantas brasileiras que causam morte súbita. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 31(11), 938–952.
- Peixoto, T.C.; Nogueira, V.A.; Caldas, S.A.; França, T.N.; Anjos, B.L.; Aragão, A.P.; Peixoto, P.V. 2012. Efeito protetor da acetamida em bovinos indica monofluoroacetato como princípio tóxico de *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae). *Pesquisa Veterinária Brasileira*. Abril 2012 V.32(4), p.319-328.
- Peixoto, T. C.; Oliveira M. L. I.; Caldas, S. A.; Catunda Jr, F. E. A.; Mario G. Carvalho, T. N. F. E. P. V.P.; Carvalho, J. M. G.; França, T. N.; Peixoto, P. V. Efeito protetor da acetamida sobre as intoxicações experimentais em ratos por monofluoroacetato de sódio e por algumas plantas brasileiras que causam morte súbita. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. Rio de Janeiro, v. 31, n. 11, p. 15, 2011.
- Passos D.A. 1983. Intoxicação experimental em caprinos (*Capra hircus*) por *Palicourea aeneofusca* (M.Arg.) Standl. (Rubiaceae). *Dissertação de Mestrado, Univ. Fed. Rural de Pernambuco, Recife, PE*. 40p.

- 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. Pesquisa Veterinária Brasileira. v.21,p.38-42.
- Pessoa C.R.M., Medeiros R.M.T., Riet-Correa F. Importancia econômica, epidemiologia e controle das intoxicações por plantas no Brasil. Pesquisa Veterinária Brasileira. 33(6):752-758, junho 2013, v. 33, p. 752-758.
- Reis Jr.J.L., Castro M.B., Moscardini A.C., Novais E.P.F., Borges J.R.J., Riet-Correa F., Howerth E. W. Histopatologic and Ultrastructural Findings of chronic experimental Cardiotoxicity Induced By Monofluoracetate Producing-Plant *Palicourea marcgravii*. AAVLD Annual Conference Proceedings 52 ed. 2009. p.169.
- Schons S.V., Lopes T.V., Melo T.L., Lima J.P., Riet-Correa F., Barros M.A.B., Schild A.L.P. Intoxicações por plantas em ruminantes e eqüídeos na região central de Rondônia. Ciencia Rural. V.42, n.7, p.1257-1263, jul, 2012
- Soares M.P., Pavarini S.P.,Adrien M.L., Quevedo P.S., Schild A.L., Peixoto P.V., Cruz C.E.F., Driemeier D. *Amorimia exotropica* poisoning as a presumptive cause of myocardial fibrosis in cattle. J.VET.Diagn. Invest. 2011 23: 1226. DOI:10.1177 1040638711425586.
- Soifer A.I., Kostyniak P.J. 1983. The enzymatic desfluorination of fluoracetate in mouse liver cytosol: the separation of defluorination activity from several glutathione S-transferase of mouse liver. Archives of Biochemistry and Biophysics.v. 225, p.928-953.
- Soto-Blanco B., Haraguchi M., Silva J.A., Gorniak L. S. Intoxicação natural de caprinos e ovinos por *P.marcgravii* (Rubiaceae). Revista Caatinga. 2004; 17(1):52-56.
- Shultz, R. A., Coetzer, W. Kellerman, Y.S., Naudé, T.W. Observations on the clinical, cardiac and histopatological effects in sheep. Onderstepoort Journal of Veterinay Research, 49, 237-245, 1982.
- Tokarnia, C. H.; Döbereiner, J.; Couceiro J.E.M. & Silva A.C.C. 1983. Intoxicação por *Palicourea aeneofusca* (Rubiaceae) a causa de " mortes súbitas em bovinos na Zona da Mata de Pernambuco. Pesquisa Veterinária Brasileira. 3(3): 75-79.
- Tokarnia, C.H., Peixoto, P.V., Döbereiner, J. Intoxicação experimental por *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae) em ovinos. Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 6, p. 121-131, 1986.
- Tokarnia, C.H., Peixoto, P.V. & Döbereiner, J. Plantas que afetam o funcionamento do coração de bovinos no Brasil. Pesquisa Veterinária Brasileira. v.10, p. 1-10, 1990.
- Tokarnia, C.H., Peixoto, P.V., Döbereiner, J. Intoxicação experimental por *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae) em caprinos. Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 11, p. 65-70, 1991.

- Tokarnia C.H., Costa E.R., Barbosa J.D., Armien A.G., & Peixoto P.V. 1993. Intoxicação experimental por *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae) em equinos. *Pesq. Vet. Bras.* 13: 67-72.
- Tokarnia C.H., Brito, M.F. , Barbosa, J.D. Peixoto P.V. Döbereiner J., Plantas que afetam o funcionamento do coração. In. *Plantas Tóxicas do Brasil*. 1. ed. Rio de Janeiro: Helianthus, 2012. p.27-37.
- Vasconcelos J.S., Riet-Correa F., Dantas A.F., Medeiros R.M.T. & Dantas A.J.A. 2008. 34 Mortes súbitas em bovinos causadas por *Palicourea aeneofusca* (Rubiaceae) e *Mascagnia rigida* (Malpighiaceae) na Zona da Mata Paraibana. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 28, 457-460.
- Vickery B, Vickery M.L. Fluoride metabolism in *Dichapetalum toxicarium*. *Phytochemistry*. 1972, v.11, p.1905-1909.