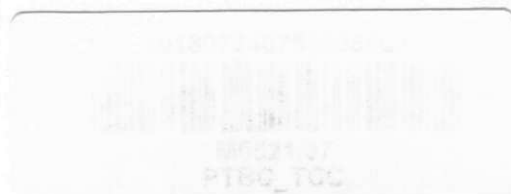


UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL  
CAMPUS DE PATOS - PB  
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

MONOGRAFIA

Avaliação de biopsia hepática guiada por ultra-som e bioquímica sérica de asininos (*Equus asinus*) intoxicados experimentalmente por *Crotalaria retusa*

Ricardo Franklin Dutra Linhares



2007



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL  
UNIDADE ACADÊMICA DE MEDICINA VETERINÁRIA  
CAMPUS DE PATOS  
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

MONOGRAFIA

Avaliação de biopsia hepática guiada por ultra-som e bioquímica sérica de asininos (*Equus asinus*) intoxicados experimentalmente por *Crotalaria retusa*

Ricardo Franklin Dutra Linhares  
Graduando

Profª. Dra. Verônica Medeiros da Trindade Nobre  
Orientadora

Patos  
Julho/2007



Biblioteca Setorial do CDSA. Maio de 2022.

Sumé - PB

FICHA CATALOGADA NA BIBLIOTECA SETORIAL DO  
CAMPUS DE PATOS - UFCG

L755a  
2007

Linhares, Ricardo Franklin Dutra.

Avaliação de biopsia hepática guiada por ultra-som e bioquímica sérica de asininos (*Equus asinus*) intoxicados experimentalmente por *Crotalaria retusa*. / Ricardo Franklin Dutra Linhares. – Patos: CSTR/UFCG, 2007.

36 p.: il.

Inclui bibliografia.

Orientador: Verônica Medeiros da Trindade Nobre.

Monografia (Graduação em Medicina Veterinária) – Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande.

1 – Intoxicação por *Crotalaria retusa* - Monografia. 2 – Biopsia hepática por ultra-som. I – Título.

CDU: 615.9: 619

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL  
UNIDADE ACADÊMICA DE MEDICINA VETERINÁRIA  
CAMPUS DE PATOS  
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

RICARDO FRANKLIN DUTRA LINHARES  
Graduando

Monografia submetida ao Curso de Medicina Veterinária como requisito para obtenção do grau de Médico Veterinário.

ENTREGUE EM ...../...../.....

MÉDIA: \_\_\_\_\_

BANCA EXAMINADORA

Nome do(a) Examinador(a)

Instituição de origem

Assinatura



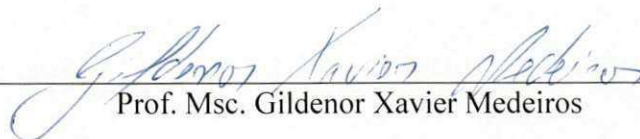
Prof.ª. Dra. Verônica Medeiros da Trindade Nobre

Nota



Prof. Dr. Sérgio Ricardo Araújo de Melo e Silva

Nota



Prof. Msc. Gildenor Xavier Medeiros

Nota

*“Um raciocínio lógico leva você de A a B. A imaginação leva  
você a qualquer lugar que você quiser.  
A imaginação é muito mais importante que o conhecimento.”*

**Albert Einstein**

## **DEDICATÓRIA**

### **Ao Meu Senhor Deus**

O primeiro gesto é de consagração deste trabalho, pertence a Deus – Àquele a quem todas as coisas dependem – e que, com a sua infinita bondade, concedeu-me a oportunidade de, na árdua caminhada, experimentar a inefável sensação de atingir um patamar a mais.

### **Aos meus pais**

Obrigado pai e mãe, pois aqui lembrando palavras de Bertrand Russell, o qual disse: “Os nossos pais amam-nos porque somos seus filhos, é um fato inalterável. Nos momentos de sucesso, isso pode parecer irrelevante, mas nas ocasiões de fracasso, oferecem um consolo e uma segurança que não se encontram em qualquer outro lugar.” Retratando todos os momentos de dúvidas e certezas errôneas que tive, onde só vocês dois foram possuidores de sabedoria em mostrar-me onde estive a falhar. Hoje sou reconhecedor de seus atos e da luta de ambos para que hoje chegasse a tal patamar. Nada acontece sem uma razão. Há um padrão e um plano perfeitos orientando a unidade desta vida e vocês dois, sendo parte desta unidade, é também parte do padrão e do plano perfeitos para minha vida.

## AGRADECIMENTO

A Ele, Pai incondicional, por ter iluminado com fervor os meus passos de andarilho, orientando a minha marcha, fazendo o máximo para que eu não me perdesse nos descaminhos da existência, concedendo-me a graça de poder dizer, no dia em que tiver que estancar: tudo correu bem, obrigado, Senhor, a missão está cumprida!

Depois, o agradecimento aos meus pais que, na segurança de um lar bem estruturado, cunharam em mim a personalidade forte e decidida de ambos, fincaram o engrandecer do meu caráter, fazendo com que houvesse o nascimento de uma convicção única.

Àqueles quem amo, minha família; sempre presentes com um sorriso amigo e apoio nas horas difíceis. Meus queridos irmãos, primos, tios e meus adorados avós, agradeço-os, pois o amor, carinho e estímulo, a mim ofertados foram armas desta vitória.

Aos admirados docentes, dizem que os senhores não apenas lecionam, que ensinar não é apenas transmitir conteúdo programático. Interpretei que ser mestre é atuar como orientador e amigo, guia e companheiro. Obrigado por terem caminhado ao meu lado passo a passo. Especialmente Prof. Dr. Sérgio Ricardo e Prof<sup>a</sup>. Dra. Verônica Nobre por terem me ajudado na realização e finalização desse trabalho de conclusão de curso. Aos demais, por terem sido exemplo de dedicação, de doação, de dignidade pessoal e de amor.

Agora, porém, antes de agradecer àqueles que me apoiaram, em todos os aspectos, vem-me um pensamento sobre os que contra mim ergueram barreiras, tentando desafiar a fé inabalável que sempre tive em meu ser, a confiança inatingível em meus ideais, aguçando o meu espírito à luta e nutrindo minha alma como vencedor.

Amigos, companheiros e colegas, aqui minha homenagem, Damião Pirex, Vasconcelo, Silvano, João Marcos, Salomão, Gilmar, Heitor, Bruno, Hugo. Toda 'mininada' do Edifício Rita Guimarães, Flávio, Fabiano, Kézia e Cydia. Funcionários do R.U. Todos sempre presentes na minha história. E demais companheiros.

Em especial a toda a turma que conclui em 2007.1, pelos anos divididos.



## SUMÁRIO

<b>RESUMO .....</b>	<b>9</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>10</b>
<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>11</b>
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>14</b>
2.1 CONHECIMENTOS SOBRE A <i>Crotalaria</i> spp. ....	14
2.1.1 Presença e importância dos alcalóides pirrolizidínicos .....	15
2.1.2 Metabolismo dos alcalóides pirrolizidínicos.....	15
2.2 ANATOMIA E HISTOLOGIA DO FÍGADO.....	16
2.2.1 Funções do fígado.....	18
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>20</b>
3.1 ANIMAIS .....	20
3.2 COLETA DAS SEMENTES .....	20
3.3 REALIZAÇÃO DAS BIOPSIAS .....	20
3.4 EXAME HISTOPATOLÓGICO .....	22
3.5 AVALIAÇÃO BIOQUÍMICA .....	22
<b>4 RESULTADOS .....</b>	<b>23</b>
<b>5 DISCUSSÃO .....</b>	<b>27</b>
<b>6 CONCLUSÃO .....</b>	<b>31</b>
<b>7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>32</b>

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Anatomia topográfica eqüídeos.....	16
Figura 2: Esquemática do espaço porta do fígado.....	17
Figura 3: Demonstração esquemática das áreas portais do fígado. Enfatizando sua lobulação.....	17
Figura 4: Aparelho de ultra-som usado na visualização do fígado nas biopsias.....	21
Figura 5: Avaliação de biopsia hepática guiada por ultra-som em asininos. Aplicação do anestésico local.....	21
Figura 6: Avaliação de biopsia hepática guiada por ultra-som em asininos. Fígado. Fotomicrografia mostrando fragmento de biopsia sem alteração. Obj. 3,2x.....	23
Figura 7: Avaliação de biopsia hepática guiada por ultra-som em asininos. Fígado. Fotomicrografia mostrando hepatócitos normais. Obj. 20 x.....	23
Figura 8: Dados comparativos entre enzima AST entre dois asininos intoxicados experimentalmente com <i>C. retusa</i> . Sendo os valores normais para tal enzima de 226-366 UI/L, observando a curva de elevação e retorno ao patamar normal de valores.....	28
Figura 9: Dados comparativos entre enzima GGT entre dois asininos intoxicados experimentalmente com <i>C. retusa</i> . Sendo os valores normais para tal enzima de 4,3-13,4 UI/L, observando a curva de elevação de valores.....	29
Figura 10: Dados comparativos entre enzima FA entre dois asininos intoxicados experimentalmente com <i>C. retusa</i> . Sendo os valores normais para tal enzima de 143-395 UI/L, observando a curva de elevação de valores.....	30

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Valores referentes ao resultados de bioquímica séria da enzima aspartato aminotransferase (AST) em UI/L de asininos intoxicados experimentalmente com sementes de *Crotalaria retusa*..... 24
- Tabela 2 - Valores referentes ao resultados de bioquímica séria da enzima gama-glutamil transferase (GGT) em UI/L de asininos intoxicados experimentalmente com sementes de *Crotalaria retusa*..... 25
- Tabela 3 - Valores referentes ao resultados de bioquímica séria da enzima fosfatase alcanina (FA) em UI/L de asininos intoxicados experimentalmente com sementes de *Crotalaria retusa*..... 26

## RESUMO

**LINHARES, RICARDO FRANKLIN DUTRA. Avaliação de biopsia hepática guiada por ultra-som e bioquímica sérica de asininos (*Equus asinus*) intoxicados experimentalmente por *Crotalaria retusa*. Trabalho de Conclusão de Curso – Monografia (Curso de Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Campina Grande, Patos/Brasil, 2006. p.36.**

Na região semi-árida do Brasil há problemas com a intoxicação de eqüinos por ingestão de plantas tóxicas, como a *Crotalaria retusa* causadoras de lesões hepáticas agudas, crônicas desencadeando sinais clínicos de encefalopatia hepática e morte. Utilizando quatro asininos adultos, um como controle e administrando três concentrações diferentes de sementes da *C. retusa*, sendo de 1g, 3g e 5g/kg de peso vivo dos animais. Realizou-se biopsia hepática guiada por ultra-som a cada 30 dias e avaliação de enzimas do soro a cada sete dias. Um asinino que teve administração da dose de maior concentração veio a óbito 10 dias após a ingestão das sementes. Nos exames histopatológicos das biopsias não foi encontrada alteração sugestiva de lesão hepática, mas as enzimas séricas apresentaram alterações consideráveis. Provavelmente asininos só apresentam manifestações histológicas de hepatopatias provocadas por alcalóides pirrolizidínicos da *C. retusa* quando há uma ingestão superior às doses administradas, mesmo assim, houve aumento considerado nas enzimas AST, GGT e FA pesquisadas, evidenciando a ocorrência de distúrbio hepático.

**Palavras-chave:** Intoxicação, asininos, *Crotalaria retusa*.

**ABSTRACT**

**LINHARES, RICARDO FRANKLIN DUTRA.** Evaluation of hepatic biopsy guided for ultrasound and seric biochemistry of donkeys (*Equus asinus*) poisoned experimentally by *Crotalaria retusa*. Work of Course Conclusion – Monograph (Course of Veterinary Medicine) – Universidade Federal de Campina Grande, Patos/Brazil, 2006. p.36.

In the semiarid region of Brazil it has problems with the poisoning of equines for ingestion of poisonous plants, as the *Crotalaria retusa* causing of acute, chronic hepatics injuries unchaining clinical signs of hepatic encephalopathy and death. Using four adult donkeys a one as control and managing, three concentrations different of seeds of the *C. retusa*, being of 1g, 3g and 5g/kg of alive weight of the animals. One became fulfilled biopsy hepatic guided for ultrasound to each 30 days and evaluation of serum enzymes to each seven days. A donkey that had administration of the dose of bigger concentration came the death 10 days after the ingestion of the seeds. In the histopatológicos examinations of the biopsy alteration suggestive of hepatica injury was not found, but the séricas enzymes had presented considerable alterations. Probably donkeys they only present histological manifestations of disease hepatic provoked for pirrolizidínicos alkalis of the *C. retusa* when it has a superior ingestion to the managed doses, exactly thus, it had increase considered in enzymes AST, GGT and FA searched, evidencing the occurrence of hepatic riot.

**Key-words:** Poisoning, donkeys, *Crotalaria retusa*

## 1 INTRODUÇÃO

Em todo o mundo são encontradas mais de 600 espécies de plantas do gênero *Crotalaria*, onde a maioria é tóxica para animais (WILLIAMS & MOLYNEUX, 1987). Sendo a *Crotalaria retusa*, uma variedade tóxica das mais conhecidas (BARRI & ADAM, 1981). Em diversos países foram documentados casos de intoxicação por *Crotalaria spp*, a qual tem como princípio ativo alcalóides pirrolizidínicos (APs), nas mais variadas espécies animais como eqüinos (GIBBONS *et al.*, 1953; GARDINER *et al.*, 1965; ARZT & MOUNT, 1999; PITT & McKENZIE, 2002), em bovinos (BARRI & ADAM, 1981), nos suínos (McGRATH & DUNCAN, 1975), aves (NORTON & O'ROURKE, 1979), caprinos (BARRI & ADAM, 1984) e ovinos (DANTAS *et al.*, 1999). *Crotalaria retusa* e *Crotalaria crispata* são duas espécies causadoras da doença conhecida por Kimberley horse disease ou Walkabout disease na Austrália em eqüinos (ROSE *et al.*, 1957 a,b; GARDINER *et al.*, 1965).

Foram relatados casos de intoxicação espontânea por *Crotalaria spp* em vários estados brasileiros, como em Minas Gerais (NOBRE *et al.*, 1994), Mato Grosso (LEMON & BARROS, 1998) e Paraíba (DANTAS *et al.*, 1999; NOBRE *et al.*, 2004a). As espécies afetadas eram eqüinos, bovinos e ovinos respectivamente.

A intoxicação por *Crotalaria spp* em mulas e jumentos é muito pouco descrita na literatura. Segundo Rose *et al* (1957a) a doença em asininos e mulas ocorre quando os animais pastam em áreas severamente afetadas pela planta.

Os sinais clínicos da intoxicação por *Crotalaria retusa* em eqüídeos caracterizam-se por anorexia, incoordenação, atordoamento, irritabilidade, bocejos, agressividade, torneio, galope sem rumo, espasmos musculares, cabeça baixo e mal estado geral (GARDINER *et al.*, 1965; NOBRE *et al.*, 2004b). Sinais clínicos semelhantes foram descritos na intoxicação dessa mesma espécie por outras variedades de *Crotalaria* (ARZT & MOUNT, 1999; PITT & McKENZIE, 2002). Os achados de necropsia são característicos de uma doença hepática crônica, sendo observado fígado firme, aumentado de volume (GIBBONS, 1953; GARDINER *et al.*, 1965; NOBRE *et al.*, 1994; ARZT & MOUNT, 1999; NOBRE *et al.*, 2004a) e com aspecto mosqueado (ARZT & MOUNT, 1999). Histologicamente observa-se principalmente lesões hepáticas incluindo fibrose, hepatomegalocitose (GIBBONS *et al.*, 1953; GARDINER *et al.*, 1965; ARZT & MOUNT, 1999; NOBRE *et al.*, 2004a), necrose (GARDINER *et al.*, 1965; NOBRE *et al.*, 2004b), vacuolização de

hepatócitos (NOBRE *et al.*, 1994; NOBRE *et al.*, 2004b), hemorragia (ARZT & MOUNT, 1999; NOBRE *et al.*, 2004a). Após a ingestão de plantas contendo APs, os danos hepáticos são progressivos e a morte poderá ocorrer em meses ou até anos (CHEEKE, 1998).

Afecções hepáticas são comuns nos animais e o exame acurado deve contar com provas de função hepática. Porém, nos casos onde estas provas denotam alteração na função do órgão, o tipo exato de lesão e sua extensão poderão ser determinados apenas através de biopsia hepática (MOORE, 1980; SIMPSON & ELSE, 1987). As enzimas mensuradas para a avaliação da função hepática são a gamaglutamiltransferase (GGT) e a fosfatase alcalina (FA). Nos casos de alteração hepatocelular e comprometimento dos canais biliares, os valores séricos dessas enzimas estarão aumentados (THOMASSIAN, 2004). Em um estudo para avaliar testes bioquímicos como indicadores de doença hepática em eqüinos expostos a toxicose por AP, verificou-se que a atividade da GGT no soro é um teste eficiente para caracterizar a doença subclínica nos eqüinos. A elevação dos níveis de GGT no soro sangüíneo tem um alto grau de especificidade para danos hepáticos (NOBRE *et al.*, 2004b).

FELDMAN & ETTINGER (1976) afirmaram que sem o exame histopatológico do tecido hepático, o tratamento das afecções fica inespecífico, ao passo que o diagnóstico preciso permite medidas terapêuticas específicas e estabelecimento de um prognóstico para o paciente.

PEARSON & GRAIG (1980) descreveram a técnica de biopsia percutânea em eqüinos e ruminantes, enfatizando a segurança, a eficácia e a importância da técnica como método diagnóstico. Silva (2002) citou a laparotomia, laparoscopia e punção percutânea como possibilidade de acesso. Sendo realizada em eqüinos na região abdominal lateral direita, no 13° ou 14° espaço intercostal, imediatamente acima de uma linha imaginária entre a tuberosidade coxal do íleo e a tuberosidade do olecrano. A punção também pode ser feita do lado esquerdo, porém é bastante difícil devido a pequena área de abrangência do fígado nesta antimeria. Nesse caso se faz no 8° espaço intercostal no ponto de intersecção entre uma linha perpendicular traçada sobre uma linha que passa pela tuberosidade deltóidea do úmero (BERG, 1978).

A biopsia guiada por ultra-sonografia vem se tornando uma prática cada vez mais comum na rotina hospitalar, pois um posicionamento preciso da agulha é possível por meio

do monitoramento contínuo em tempo real, mesmo em casos de lesões mais profundas, viabilizando tanto biopsia aspirativa como a obtenção de material destinado a histopatologia (NYLAND *et al.*, 2004).

Este trabalho teve como objetivo comparar e avaliar os resultados obtidos pela biopsia hepática guiados por ultra-sonografia e bioquímica sérica, usando as provas de função hepática em asininos intoxicados experimentalmente com sementes de *Crotalaria retusa* no semi-árido nordestino.



## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 CONHECIMENTOS SOBRE A *Crotalaria* spp.

As plantas arbustivas do gênero *Crotalaria* são adaptadas a todas as regiões do mundo, sendo que a maior parte delas é tóxica a animais que delas se alimentem (ALLEN & ALLEN, 1981). Recebendo esse nome devido ao som de chocalho produzido por suas vagens maduras, assemelhando-se ao da cascavel (*Crotalus* spp.), muitas são herbáceas, anuais ou perenes, havendo também espécies arbustivas, com flores geralmente amarelas, às vezes estriadas com vermelho ou tons de marrom, pediceladas, dispostas em racemos vistosos (SOUTO *et al.*, 1992). São conhecidas até hoje mais de 600 espécies do gênero *Crotalaria* encontradas nas mais diversas regiões do mundo por serem rústicas, crescendo bem em solos secos, arenosos, cascalhentos e mesmo em áreas da região costeira, onde dessas 400 são endêmicas do continente Africano. Já no Brasil ocorrem naturalmente desde beiras de estradas a terrenos cultiváveis (WILLIAMS & MOLYNEUX, 1987; DUKE, 1981).

Abboud & Duque (1986) afirmam que o principal uso das leguminosas do gênero *Crotalaria* é na adubação verde e cobertura do solo por serem plantas pouco exigentes e com grande potencial de fixação biológica de nitrogênio. Já Duke (1981) afirma que a incorporação das plantas ao solo pode ser feita após 8 a 10 semanas. O aporte de Nitrogênio ao sistema solo/planta é estimado entre 100 e 300 kg N/ha/ano. Sendo que as plantas desse gênero nodulam fácil e abundantemente com espécies de rizóbio de crescimento lento, agrupadas no grupo caupi de inoculação cruzada, são cilíndricos com bifurcações (CALEGARI *et al.*, 1992). Muitas espécies de *Crotalaria* são melíferas, atraindo abelhas (*Apis* spp. e *Trigroma* spp.) e mangangás (*Xylocopa* spp.). O plantio junto com maracujá potencializa a polinização dessa cultura, aumentando a produção (DUQUE *et al.*, 1986). No entanto há envolvimento do gênero *Crotalaria* com altos graus de intoxicação em várias espécies animais inclusive humanos, dados documentados em todo o mundo devido à presença de produtos de origem química, chamado de Alcalóides Pirrolizidínicos (CHEEKE, 1998).

### 2.1.1 Presença e importância dos alcalóides pirrolizidínicos

Diferentes APs têm sido descritos e esta lista continua aumentando, porém nem todos os APs são hepatotóxicos (BULL, *et al.*, 1968; MATTOCKS, 1986).

Os Alcalóides Pirrolizidínicos podem ser encontrados em qualquer tipo de alimentação animal. Em torno de 13 famílias de vegetais contém APs (FURUYA *et al.*, 1987). Destas seis das famílias estudadas contém pirróis derivados dos APs que são particularmente hepatotóxicos (ANON, 1988). As principais famílias de plantas envolvidas são *Asteraceae* (*Compositae*), *Boraginaceae* e *Leguminaceae* (*Fabaceae*), enquanto os principais gêneros são *Senecio* (*Asteraceae*), *Crotalaria* (*Leguminaceae*), *Heliotropium*, *Trichodesma*, *Echium* e *Symphytum* (*Boraginaceae*) (CULVENOR, 1980).

As moléculas de APs são formadas por dois anéis pentagonais, inclinados em direções opostas com uma parte de ligação de carbono em comum, a qual tem um átomo de nitrogênio na posição 4. Maior parte naturalmente dos APs são derivados do 1-metil-pirrolizidina. Os APs ligados a fatores hepatotóxicos são moléculas de éster de 1-hidroxi-metil 1,2-dihidropirrolizidina (BULL *et al.*, 1968). Os requisitos estruturais mínimos para tal intoxicação são: um anel 3-pirrol insaturado; um ou preferencialmente dois grupos hidroxilas, ligados ao anel pirrol por um carbono; pelo menos uma hidroxila deve estar esterificada e que metade do ácido tenha uma cadeia não linear ramificada (MATTOCKS, 1986).

### 2.1.2 Metabolismo dos alcalóides pirrolizidínicos

Após a ingestão dos APs, eles são absorvidos principalmente desde o intestino delgado continuam até o fígado. Os alcalóides pirrolizidínicos altamente hidrofílicos e os N-oxidantes são substancialmente excretados de modo inalterado através da urina dentro de 24 horas (WOO, *et al.*, 1993). Diz-se ainda que a capacidade através da atividade dos alcalóides primário e secundário resultantes do metabolismo, induzirem uma anti-mitose celular, produzindo efeitos também considerados de estarem associados com a mutação em uma ou mais células atingidas. Além do mais se comenta sua indução a efeitos maiores em ingestões subseqüentes (ROEDER, 1994).

## 2.2 ANATOMIA E HISTOLOGIA DO FÍGADO

É uma das maiores glândulas do corpo, porém de tamanho e peso variáveis, representando cerca de 1,5% do peso corpóreo, de coloração marrom-avermelhada e consistência um tanto friável (SCHEBITZ & WILKENS).

Situado obliquamente na parte mais cranial do abdome, precisamente na face abdominal do diafragma (Figura 1). Apresenta duas faces e quatro bordas, onde a face parietal é fortemente convexa contra o diafragma e a face visceral geralmente está dirigida caudalmente, sendo côncava e irregular, moldando-se nos órgãos que se situam contra ela (SISSON, 1986).

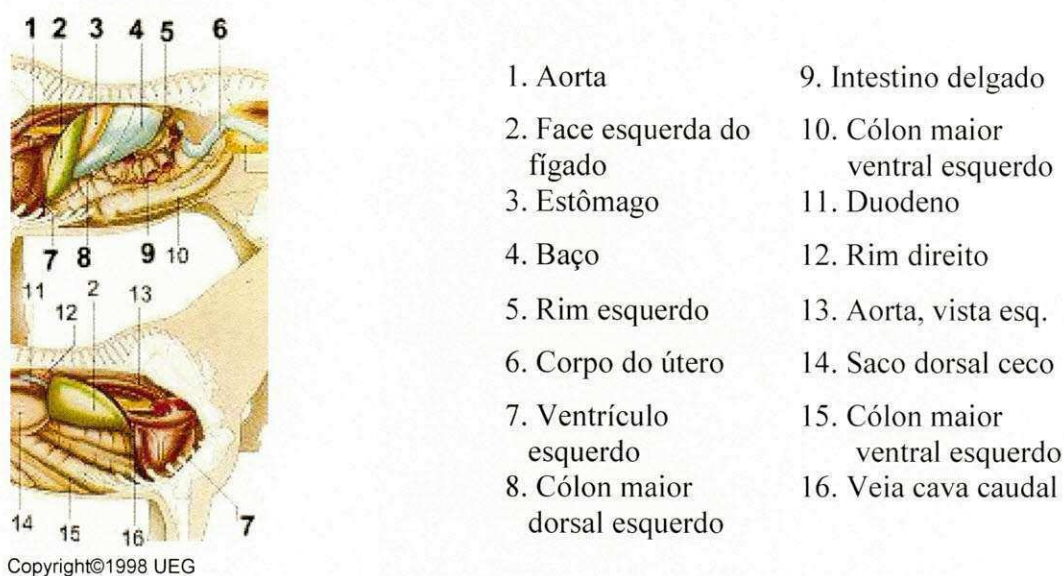


Figura 1: Anatomia topográfica eqüídeos.

O fígado é detentor de um duplo suprimento sanguíneo, a veia porta que conduz sangue carregado de nutrientes advindos do intestino e órgãos associados, e a artéria hepática que abastece as células do órgão com sangue oxigenado. A fissura portal do fígado está localizada centralmente na face parietal por onde penetram através dela a veia portal, a artéria hepática e o plexo hepático de nervos. O sistema de ductos é notável pela ausência de vesícula biliar, porém esse calibre mais amplo compensa essa falta. Já o ducto biliar ou colédoco abre-se no intestino delgado, precisamente no duodeno compartilhando a papila

com o ducto pancreático, passando obliquamente servindo assim como um esfíncter, impedindo a entrada de alimento nesse ducto (DYCE *et al.*, 1997).

A face parietal ainda está dividida por fissuras em lobos, sendo estes: o lobo esquerdo, lobo quadrado, lobo direito e lobo caudado, com as impressões de órgãos e estruturas que entram em contato com o fígado. Onde essa compressão e a atividade de ligamentos são responsáveis por manterem o fígado em seu íntimo posicionamento (SISSON, 1986; DYCE *et al.*, 1997).

Histologicamente observa-se como principais células os hepatócitos, com formato poliédrico tendo um núcleo esférico com aglomerados espalhados de cromatina localizada centralmente e um ou mais nucléolos proeminentes, além de conter no citoplasma mitocôndrias, aparelho de Golgi adjacente ao canaliculo biliar ou mesmo próximo ao núcleo, partículas de gordura, lisossomas, glicogênio, enzimas e grânulos de pigmento.

Esses hepatócitos se organizam em trabéculas que em conjunto com os capilares sinusóide, canaliculos biliares, espaço de Disse e veia central formam os lóbulos hepáticos. Estes são circundados por uma tríade portal (Figura 3.), já o tecido conjuntivo que sustenta os ramos da artéria hepática, a veia porta, os ductos biliares e um vaso linfático aparecendo por todas partes do fígado (Figura 2.) sendo assim denominadas áreas portais (DI DIO, 1998).

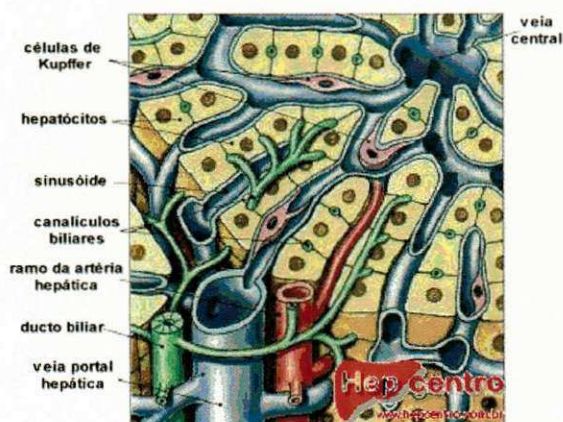


Figura 2: Esquematização do espaço porta do fígado. (Fonte: [www.hepcentro.com.br](http://www.hepcentro.com.br))

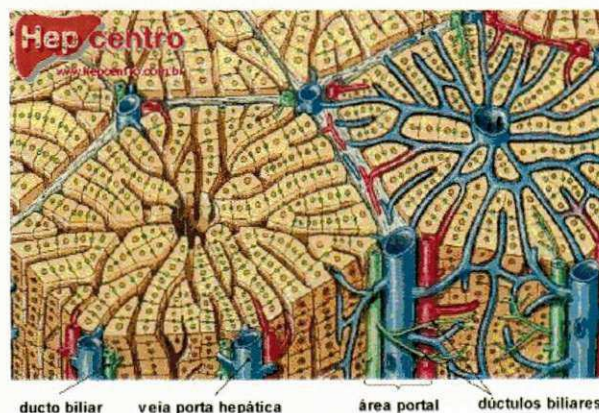


Figura 3: Demonstração esquemática das áreas portais do fígado. Enfatizando sua lobulação.

(Fonte: [www.hepcentro.com.br](http://www.hepcentro.com.br))

### 2.2.1 Funções do fígado

O fígado é caracterizado por uma alta capacidade de realização de funções complexas: excreção (produtos de degradação), secreção (biliar), armazenamento (lipídios, vitaminas A e B, glicogênio), síntese (fibrinogênio, globulina, protrombina), fagocitose (matéria estranha particulada), desintoxicação (medicamentos lipossolúveis), conjugação (substâncias tóxicas, hormônios esteróides), esterificação (ácidos graxos livres para triglicerídios), metabolismo (proteína, carboidratos, gorduras, hemoglobina, medicamentos), e hemopoese (no embrião e potencialmente no adulto) (DI DIO, 1998).

Produtos finais hidrossolúveis resultantes da digestão lipídica estão sujeitos a ações hepáticas. Além disso, o fígado promove uma melhor absorção de lipídeos no intestino, por produzirem ácidos biliares a partir do colesterol, esses ácidos são carreados para o trato alimentar através do ducto biliar. Desempenhando assim, um grande papel no metabolismo lipídico, pois converte parte dos ácidos graxos livres em triglicerídios, formação de corpos cetônicos (McGARRY & FOSTER, 1981).

Os compostos orgânicos hidrossolúveis são carreados pelo plasma parcialmente ligados às proteínas plasmáticas. Apenas a fração não-ligada pode ser filtrada pelos glomérulos e excretada na urina. Por outro lado, as substâncias totalmente ligadas às proteínas, incluindo a maioria das substâncias lipossolúveis, não podem atravessar o filtro glomerular. Tais substâncias, não obstante, são prontamente removidas das proteínas na membrana sinusoidal da célula hepática e assim podem ser excretadas para a bile.

Um dos tais compostos endógenos que o fígado excreta é a bilirrubina. Este pigmento é um dos principais produtos finais da decomposição da hemoglobina que são gradualmente liberados do sistema monocítico-fagocitário para o plasma. Esta bilirubina está ligada a albumina plasmática e liberadas para células hepáticas. A captura de bilirrubina pelo hepatócito deve-se à presença um mecanismo de difusão facilitada na membrana sinusoidal do hepatócito. Tal mecanismo é compartilhado por muitos outros compostos orgânicos. No hepatócito, a bilirrubina é armazenada por ligação com a proteína Y no citossol e então conjugada, principalmente com ácido glicurônico. A bilirrubina conjugada resultante é secretada ativamente para os canalículos biliares por um processo de

transporte compartilhado por alguns ácidos orgânicos, mas separados do sistema de transporte de ácidos biliares (BARTON, 1967).

Após entrar no intestino com a bile, a bilirrubina é convertida por ação microbiana em urobilinogênio, parte do qual é reabsorvida para o sangue pelo intestino. Cerca de 95% desse urobilinogênio é novamente secretado para a bile pelo fígado e os 5% restantes são excretados pela urina. O urobilinogênio restante que é reabsorvido pelo intestino torna-se oxidado nas fezes para formar a estercobilina, a qual confere a cor característica das fezes.

Nos eqüídeos, que não possui vesícula biliar, o ducto hepático, conduzindo bile, não-concentrada, e o ducto pancreático maior, se abrem no divertículo duodenal aproximadamente 15 a 17 cm do piloro. Não há esfíncter presente, permitindo assim uma secreção contínua para o intestino (DYCE *et al.*, 1997).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 ANIMAIS

Foram utilizados quatro asininos adultos, doados pelo CSTR-UFCG, antes mantidos na Fazenda Experimental do Lameirão localizada no Município de Santa Terezinha-PB, postos em baias individuais, os quais passaram por um período de adaptação de sete dias, onde foram submetidos à avaliação clínica detalhada, vermifugados, vacinados com vacina anti-rábica e aplicado soro anti-tetânico. Foram alimentados com concentrado de farelo de milho na proporção de 1,0% do biopeso e feno de capim Tifton na quantidade de 0,75 a 1kg por 100 kg de biopeso (WOLTER, 1975; LEWIS, 1985, 2000). Para determinação do peso do animal foi utilizada balança hidráulica. Atribuído a eles identificação de EXP-00, EXP-01 e EXP-02, pesando respectivamente, 115, 90 e 85 kg. Sorteados aleatoriamente para tal identificação e um utilizado como controle.

#### 3.2 COLETA DAS SEMENTES

A *Crotalaria retusa* foi coletada em sua fase de frutificação em vários municípios do sertão paraibano. Sendo posta para secar a sombra, retirada as vagens e coletadas as sementes, que depois de moídas em máquina forrageira e foram administradas por meio de sonda naso-gástrica aos animais em três diferentes concentrações, na proporção de 1g/kg, 3g/kg de peso vivo e 5g/kg de peso vivo, respectivamente, em dose única.

A concentração de monocrotalina nas sementes secas de *C. retusa* foi baseada em dados analisados anteriormente por NOBRE *et al.* (2004b).

#### 3.3 REALIZAÇÃO DAS BIOPSIAS

As biopsias eram realizadas mensalmente a contar do dia zero de administração das sementes. Com monitoração realizada por meio do aparelho de ultra-sonografia (marca Pie Medical, modelo 485 Anser Vet) como na Figura 4 e transdutor linear na frequência de 8 MHz. As imagens sonográficas das biopsias hepáticas eram registradas em impressora conectada ao ultra-som (marca Sony, modelo UP – 895MD).



Figura 4: Aparelho de ultra-som usado na visualização do fígado nas biopsias.

Inicialmente determinou-se a área hepática, que compreendia os espaços intercostais 13° e 14° do abdome lateral direito, tomando-se como base uma linha imaginária unindo a tuberosidade ílio à tuberosidade do olecrano. Essa área era tricotomizada com altura de 20 cm por 20 cm de largura (Figura 4) e preparada assepticamente com solução iodada a 2%. Para coleta de fragmento hepático realizou-se anestesia infiltrativa subcutânea e muscular no ponto de penetração da agulha de biopsia com Cloridrato de lidocaína a 2% (5 ml) após a sedação dos animais administrando Acepromazina 1%, na dose de 0,1 mg/kg, intravenoso (IV).



Figura 5: Avaliação de biopsia hepática guiada por ultra-som em asininos. Aplicação do anestésico local.

O método para orientação de biopsia guiada por ultra-sonografia foi o sistema à mão livre, onde o operador segurava o transdutor em uma mão e inseria a agulha de biopsia com a outra. Uma varredura da área hepática era realizada inicialmente para determinar o local



preciso da punção. A agulha de calibre 14 com cânula de 3 mm de diâmetro (Baxter Healthcare Corporation, Deerfield, IL, USA) era introduzida imediatamente adjacente ao transdutor. Visualizada através do monitor do aparelho de ultra-som, a qual sempre permanecia dentro do plano do feixe para uma precisa monitoração, guiando a agulha até o parênquima do lobo hepático, evitando-se puncionar vasos hepáticos de maior calibre. Duas ou três amostras de fragmentos eram sempre coletadas em locais diferentes do fígado, controlando e guiando a agulha por sua visualização por meio de ultra-sonografia, assegurando uma amostragem adequada e representativa. Os fragmentos coletados na biopsia mediam de 1-1,5cm de comprimento e 2-3 mm de diâmetro, dimensões ideais a determinação de alterações presentes no parênquima hepático (CHAPMAN *et al.*, 1963).

### 3.4 EXAME HISTOPATOLÓGICO

Os fragmentos das biopsias hepáticas, assim como amostras de todos os órgãos do asinino que veio a óbito, foram coletados, fixados em solução de formalina 10%, clivadas, desidratadas, diafanizadas, impregnadas com parafina, blocados e cortados em micrótomo na espessura de 5 $\mu$  e coradas em hematoxilina e eosina para posterior estudo histológico. O referido material foi processado no Laboratório de Histopatologia do Hospital Veterinário do Centro de Saúde e Tecnologia Rural da Universidade Federal de Campina Grande.

### 3.5 AVALIAÇÃO BIOQUÍMICA

Foi realizada coleta sanguínea dos animais semanalmente, onde este era coletado e logo em seguida centrifugado para obtenção do soro sanguíneo na obtenção das enzimas aspartato aminotransferase (AST), gama-glutamil transferase (GGT) e fosfatase alcalina (FA), a começar do dia inicial da administração das sementes.

#### 4 RESULTADOS

Após nove dias da primeira biopsia o asinino que recebeu a dosagem de 5mg por kg (EXP-02) apresentou comportamento de isolamento, andar sem parada dentro do curral, relutante em deglutir a comida, permanecendo com esta em sua cavidade bucal, dia seguinte veio a decúbito esternal pelo período da manhã, em torno de meio dia permaneceu em decúbito lateral, debatendo-se; ao fim da tarde o animal veio a óbito. Foi então necropsiado, encontrando-se líquidos na cavidade abdominal (ascite), na cavidade torácica (hidrotórax) e no saco paricárdico (hidropericárdio). O fígado apresentava-se enegrecido, com superfície lisa e brilhosa com a marca de cicatrização da primeira biopsia realizada.

A avaliação histopatológica das amostras coletadas do asinino morto não apresentou alterações significativas compatíveis com lesões sugestivas de intoxicação aguda por *Crotalaria retusa*. Apresentando apenas um leve indicativo de degeneração gordurosa do parênquima hepático.

Nas amostras das biopsias, as quais foram oito também não foram encontrados dados significativos que indicasse possíveis lesões presentes em intoxicação por alcalóides pirrolizidínicos da *Crotalaria retusa* como observados nas Figuras 6 e 7.

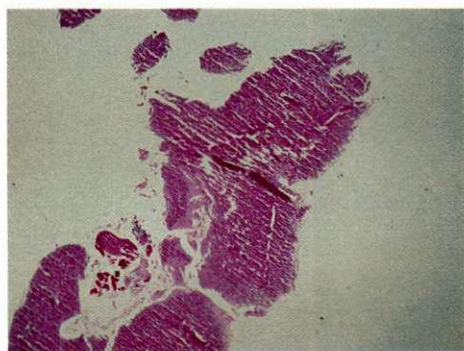


Figura 6: Avaliação de biopsia hepática guiada por ultra-som em asininos. Fígado. Fotomicrografia mostrando fragmento de biopsia sem alteração. Obj 3,2 x

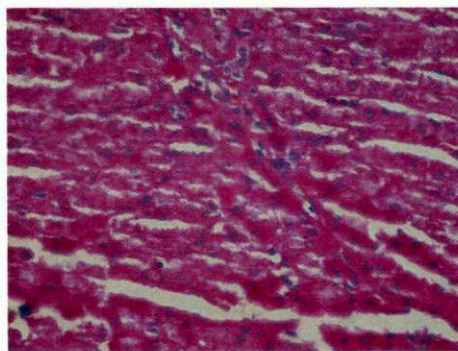


Figura 7: Avaliação de biopsia hepática guiada por ultra-som em asininos. Fígado. Fotomicrografia mostrando hepatócitos normais. Obj. 20 x

Para pesquisa bioquímica foram coletadas amostras sanguíneas de 10 ml dos animais, centrifugadas e retirado o soro para análise das enzimas aspartato aminotransferase

(AST), gama-glutamil transferase (GGT) e fosfatase alcalina (FA), para determinação da função hepática e variação de seus valores relacionados com o grau de ingestão de sementes.

A enzima AST mostrou um aumento certamente brusco nos início após a ingestão, porém retornando após alguns meses a valores padrões normais que estão compreendidos entre 226-366UI/L (JAIN, 1993). Os resultados são observados na Tabela 1, que segue demonstrando os valores com suas respectivas médias e desvio padrões. Observando uma diferença significativa entre o animal que se administrou 1g/kg de biopeso das sementes comparado ao animal ao qual foi administrado 3g/kg do seu peso vivo.

Tabela 1 - Avaliação de biopsia hepática guiada por ultra-som em asininos. Valores referentes ao resultados de bioquímica sérica da enzima aspartato aminotransferase (AST) em UI/L de asininos intoxicados experimentalmente com sementes de *Crotalaria retusa*.

DIA	EXP-00(1g/kg)	EXP-01(3g/kg)	EXP-02*(5g/kg)
0	261	220	220
15	301	359	378**
30	347	364	
45	369	373	
60	385	387	
75	381	385	
90	382	386	
105	381	372	
120	374	378	
135	371	369	
150	368	370	
165	363	367	
180	359	364	
195	355	358	
210	347	359	
225	321	347	
240	315	342	
MÉDIA	351,7647	358,8235	299
DESVIO PADRÃO	34,00465±2,2 <sup>A</sup>	40,11317±2,4 <sup>B</sup>	111,7229

Valores normais de AST para eqüinos 226-366 UI/L (JAIN, 1993).

Medidas com letras iguais não diferem significativamente ( $p > 0,05$ ).

\*EXP-02 veio a óbito 10 dias após ingestão das sementes.

\*\*Resultado de coleta realizada antes de o animal vir a óbito, 10º dia.

A enzima GGT mostrou um aumento inicialmente elevado no início após a ingestão, permanecendo assim por algumas semanas, porém retornando após alguns meses a valores padrões normais compreendidos entre 4,3-13,4UI/L (JAIN, 1993). Os resultados são

observados na Tabela 2, que segue demonstrando os valores com suas respectivas médias e desvio padrões. Observando uma diferença de extrema significância entre o animal que se administrou 1g de sementes por quilograma de peso vivo das sementes se comparado ao animal que foi administrado 3g/kg do seu biopeso. Observe também a Figura 9.

Tabela 2 - Avaliação de biopsia hepática guiada por ultra-som em asininos. Valores referentes ao resultados de bioquímica séria da enzima gama-glutamil transferase (GGT) em UI/L de asininos intoxicados experimentalmente com sementes de *Crotalaria retusa*.

DIA	EXP-00(1g/kg)	EXP-01(3g/kg)	EXP-02*(5g/kg)
0	5,8	4,2	4,2
15	15,8	19,4	31,6**
30	18,3	25,3	
45	24,7	28,1	
60	30,1	32,5	
75	31,3	35,7	
90	31,1	39,8	
105	30,7	40,2	
120	28,5	40	
135	27,4	39,6	
150	25,1	34,7	
165	22,9	33,4	
180	19,2	29,5	
195	17,6	31,3	
210	14,8	28,6	
225	14,6	26,3	
240	13,7	25,1	
<b>MÉDIA</b>	<b>21,85882</b>	<b>30,21765</b>	<b>17,9</b>
<b>DESVIO PADRÃO</b>	<b>7,569021±1,1<sup>A</sup></b>	<b>9,494901±1,3<sup>B</sup></b>	<b>19,37473</b>

Valores normais de GGT para eqüinos 4,3-13,4 UI/L (JAIN, 1993)

Medidas com letras iguais não diferem significativamente ( $p>0,05$ ).

\*EXP-02 veio a óbito 10 dias após ingestão das sementes.

\*\*Resultado de coleta realizada antes de o animal vir a óbito, 10º dia.

A enzima FA mostrou-se inicialmente dentro do limite normal proposto por Jain (1993), que são de 226-366 UI/L, onde esta enzima passou a ter uma elevação lenta com o prosseguir do período pós-administração de sementes. Os resultados são observados na Tabela 3, que segue demonstrando os valores com suas respectivas médias e desvio padrões. Observando uma diferença de entre os valores iniciais e finais de ambos os indivíduos, pois mesmo não ultrapassando os valores normais eles obtiveram um índice de variação muito significativo. Nota-se facilmente na Figura 10 tal nível de elevação.

Tabela 3 - Avaliação de biopsia hepática guiada por ultra-son em asininos. Valores referentes aos resultados de bioquímica séria da enzima fosfatase alcalina (FA) em UI/L de asininos intoxicados experimentalmente com sementes de *Crotalaria retusa*.

DIA	EXP-00(1g/kg)	EXP-01(3g/kg)	EXP-02*(5g/kg)
0	132	124	138
15	134	128	167**
30	137	133	
45	134	135	
60	135	138	
75	131	144	
90	136	149	
105	139	148	
120	141	151	
135	146	157	
150	152	162	
165	158	169	
180	167	177	
195	172	183	
210	184	196	
225	191	218	
240	202	221	
<b>MÉDIA</b>	<b>152,4118</b>	<b>160,7647</b>	<b>152,5</b>
<b>DESVIO PADRÃO</b>	<b>16,52214±4,5<sup>A</sup></b>	<b>29,62585±7,8<sup>A</sup></b>	<b>20,5061</b>

Valores normais de FA para eqüinos 143-395 UI/L (JAIN, 1993).

Medidas com letras iguais não diferem significativamente ( $p > 0,05$ ).

\*EXP-02 veio a óbito 10 dias após ingestão das sementes.

\*\*Resultado de coleta realizada antes de o animal vir a óbito, 10º dia.

## 5 DISCUSSÃO

A técnica empregada demonstrou-se segura e eficiente, corroborando com estudos realizados anteriormente (PEARSON & CRAIG, 1980; SMART & NORTHCOTE, 1985). Até mesmo o novo modo de coleta realizada com o animal em decúbito lateral esquerdo, proporcionando tanto um campo visão amplo, como o sistema de contenção facilitado, claro que por se tratar de asininos, eqüídeos de porte pequeno a médio conter esses animais dessa forma fica bem mais fácil que em bretes.

O quadro clínico e as dosagens bioquímicas iniciais apresentadas pela maioria dos animais intoxicados experimentalmente é consistente com o de uma insuficiência hepática, porém não ficaram evidenciado lesões hepáticas no exame histopatológico do animal. A insuficiência hepática ocorre quando 70% ou mais da capacidade funcional do fígado é perdida (TENNANT, 1997), o que ocorre quando há perda de 80% a 90% do parênquima, podendo ser visto, tanto em hepatopatias tóxicas agudas quanto crônicas (KELLY, 1993). Fato não evidenciado nos animais desse experimento. Talvez o que tenha ocorrido com os asininos foi que logo após a administração da dosagem de sementes de *C. retusa* ocorreu lesão hepática demonstrada pela elevação das enzimas hepáticas, no entanto estas lesões foram discretas não sendo suficientes para progredirem a lesões consistentes com um quadro de intoxicação aguda ou crônica. Há que se considerar que um animal morreu com sintomatologia compatível com um quadro de intoxicação por AP, no entanto não se observou lesões hepáticas consistentes. Não sendo possível afirmar que tenha ocorrido intoxicação provocada por ingestão das sementes.

Observado a Tabela 1, constata-se que houve um aumento considerável no início dos dias após a ingestão de sementes, porém a AST se tratando de uma que não é hepato-específica, esses resultados isoladamente não trazem tanta confiança em admitir que houvesse uma breve alteração. Essa enzima também é encontrada em grandes quantidades no músculo cardíaco, no fígado, musculatura esquelética e em menor concentração nos rins e pâncreas. Nas células hepáticas, a AST localiza-se no citoplasma (40%) e na mitocôndria (60%). Qualquer lesão tissular ou doença afetando o parênquima hepático liberará uma maior quantidade da enzima para a corrente sanguínea, elevando os níveis séricos da AST. Porém devido estar presente em outras regiões não se pode definir exclusivamente por ela se houve lesão hepática ou não, mesmo os valores sendo sugestivamente compatíveis. Na

Figura 8 são mostrados os resultados da análise dos resultados de bioquímica sérica da enzima aspartato aminotransferase (AST) em UI/L de asininos intoxicados experimentalmente com sementes de *C. retusa*.

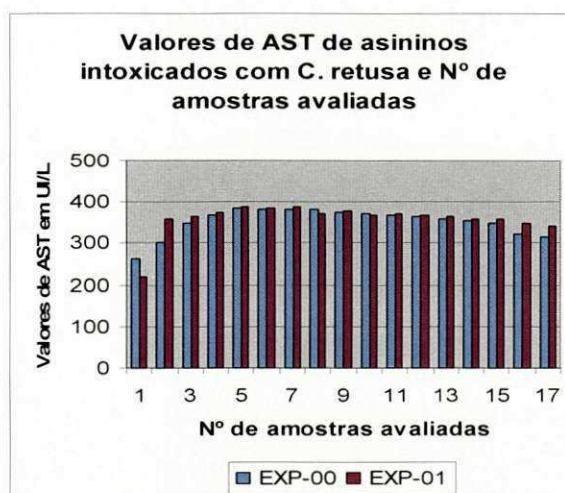


Figura 8. Dados comparativos entre enzima AST entre dois asininos intoxicados experimentalmente com *C. retusa*. Sendo os valores normais para tal enzima de 226-366 UI/L, observando a curva de elevação e retorno ao patamar normal de valores.

Houve aumento considerado da enzima GGT nos animais que tomaram as maiores doses inclusive no que veio a óbito com um aumento exacerbado se comparado com os demais. A alteração na GGT provavelmente seja decorrente da lesão hepática induzida pelos alcalóides pirrolizidínicos, uma vez que estes são de fácil absorção, sendo os APs altamente hidrofílicos e o metabolismo hepático tendo que transformar essas toxinas em lipídeos e destes em produtos excretáveis que sejam solúveis em água. O fígado passa por uma sobrecarga utilizando várias enzimas produzidas pelos hepatócitos como a GGT (LACONI *et al.*, 1995). A elevação dos níveis de GGT no soro sanguíneo tem um alto grau de especificidade para danos hepáticos, podendo ser observada tal elevação na Figura 9. A GGT normalmente está limitada ao retículo endoplasmático liso, onde o sistema de oxidase mista é ativo. Os APs são ativados por este sistema, onde causam danos e ocorre a liberação da GGT no soro, dados obtidos em estudo para avaliar testes bioquímicos como indicadores de doença hepática subclínica em eqüinos expostos a toxicose por AP, verificou-se que a atividade da GGT no soro é um teste eficiente para caracterizar a doença subclínica nestes animais (CURRAN *et al.*, 1996). Em pôneis intoxicados experimentalmente com *Senecio*

*jacobaea* a GGT foi o teste enzimático mais seguro para indicar o começo e a continuidade das alterações hepáticas (CRAIG *et al.*, 1991). A elevação desta enzima foi documentada também em eqüinos com intoxicação natural e experimental por *Senecio jacobaea* (GILES, 1983, GARRET *et al.*, 1984, GORDER, 2000), *Senecio vulgaris* (GULICK *et al.*, 1980, LESSARD *et al.*, 1986, MENDEL *et al.*, 1988) e *Cynoglossum officinale* (KNIGHT *et al.*, 1984) e em ovinos intoxicados por *Crotalaria retusa* (NOBRE *et al.*, 2005; DANTAS *et al.*, 2004).

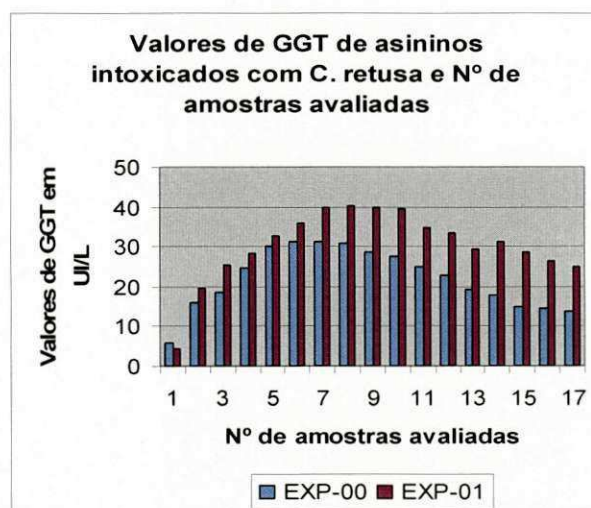


Figura 9. Dados comparativos entre enzima GGT entre dois asininos intoxicados experimentalmente com *C. retusa*. Sendo os valores normais para tal enzima de 4,3-13,4 UI/L, observando a curva de elevação de valores.

É importante citar que apesar de ser considerado um bom teste para avaliar a lesão hepática induzida por AP, nem todos os animais que apresentam aumento de GGT desenvolvem sinais clínicos da doença (GILES, 1983). Este fato pode ser constatado nos asininos deste experimento, uma vez que embora tenham de certa forma apresentado alguma sintomatologia clínica não apresentaram hepatopatia compatível com a intoxicação por APs. Vale salientar que em alguns casos a GGT pode apresentar queda e retornar aos valores de antes da exposição do animal aos AP (CRAIG *et al.*, 1991). Segundo Craig *et al.* (1991) é interessante monitorar os animais sobreviventes a intoxicação por AP com testes enzimáticos. Quando for observado aumento nas enzimas, principalmente GGT deve-se fazer uma biopsia no fígado para verificar o grau das lesões hepáticas.



A fosfatase alcalina (FA) também deve ser analisada nos eqüídeos com intoxicação por *C. retusa* no semi-árido. Nos animais dosados neste experimento houve aumento, embora não tenha ultrapassado os valores normais. Esta alteração foi mais evidente no asinino que ingeriu 3 g/kg/p de sementes. Esta enzima apesar de não ser hepato-específica, aumenta nos casos de danos hepáticos em decorrência de sua liberação na superfície sinusoidal dos hepatócitos, bem como na regurgitação das iso-enzimas biliares nos casos de colestase. Nas toxicoses por AP ocorrem ambas as situações (CRAIG *et al.*, 1991). Mais uma vez é de se estranhar que os animais não tenham apresentado lesões hepáticas. Em experimento utilizando-se 2,5, 5 e 10 g/kg/p de folhas, galhos e sementes, administradas por 120, 60 e 30 dias respectivamente, reproduziu-se a intoxicação crônica por *Crotalaria retusa*, sendo observado lesões hepáticas nos três animais intoxicados (Nobre *et al.*, 2004). Experimentos realizados também em ovinos reproduziram a intoxicação aguda com dosagens de 5 e 10 g/kg/p (Nobre *et al.*, 2005). Observando-se a evidente elevação gradativa da enzima FA, como demonstrada na Figura 10.

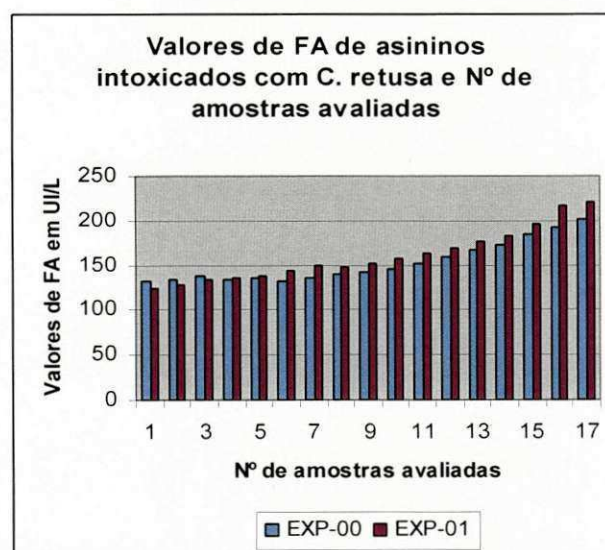


Figura 10. Dados comparativos entre enzima FA entre dois asininos intoxicados experimentalmente com *C. retusa*. Sendo os valores normais para tal enzima de 143-395 UI/L, observando a curva de elevação de valores.

## 6 CONCLUSÃO

A administração de sementes de *C. retusa* em doses únicas de 1, 3 e 5g/kg/p não reproduziram a intoxicação em asininos.

Embora tenha havido alteração enzimática compatível com distúrbio hepático no início do experimento, posteriormente ocorreu normalização dos valores enzimáticos, comprovando que se houve lesão hepática inicial, esta não progrediu para uma hepatopatia quer seja aguda ou crônica.

Portanto fica evidenciado que para ocorrer hepatopatias provocadas por alcalóides pirrolizidínicos principalmente os presentes na *Crotalaria retusa* em asininos há de se ter uma ingestão maior que as dosagens utilizadas nos experimento.

A biopsia hepática guiada por ultra-som em asininos permitiu segurança na colheita de fragmentos, sendo possível escolherem áreas com maior probabilidade de lesões e evitar perfurar vasos de grande calibre, evitando assim hemorragias ou até mesmo outras vísceras.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBOUD, A. C. de S.; DUQUE, F. F. Efeitos de materiais orgânicos e vermiculita sobre a seqüência feijão-milho. **Pesq. Agropecu. Bras.**, Brasília, v. 21, p. 227-326, 1986.

ALLEN, O. N.; ALLEN, E. K. **The Leguminosae: A source book of characteristics, uses, and nodulation.** University of Wisconsin Press, Madison. 1981. 812 pp.

ARZT, J.; MOUNT, M. Hepatotoxicity associated with pyrrolizidine alkaloid (*Crotalaria* spp.) ingestion in a horse on Easter Island. **Vet. Human. Toxicol.** n. 41, p. 96-99, 1999.

BARRI, M. E. S.; ADAM, S. E. I. The toxicity of *Crotalaria saltiana* to calves. **J. Comp. Path.** n. 91, p.621-627, 1981.

BARRI, M. E. S.; ADAM, S. E. I. Effects of *Crotalaria saltiana* on Nubian Goats. **Vet. Human. Toxicol.** n. 26, p.476-480, 1984.

BARTON, T. L. **Fatty liver studies in laying hens.** Dissertation, Michigan State University. 1967.

BERG, R. **Anatomia topográfica y aplicada de los animales domésticos.** Madrid: Editora AC, 1978.

CALEGARI, A. et al. Aspectos gerais da adubação verde. In: COSTA, M.B.B. da. (Coord.). **Adubação verde no sul do Brasil.** 2.ed. Rio de Janeiro: AS-PTA, 1993. 346p.

CHAPMAN, H. L.; et al. Evaluation of the liver biopsy technique for mineral nutrition studies with beef cattle. **J. Anim. Sci.** n. 22, 1963, p. 733-737.

CHEEKE, P. R. **Natural Toxicants in Feeds, Forages, and Poisonous Plants.** 2nd ed. Interstate, Danville, Illinois. p. 479, 1998.

CRAIG, A. M.; PEARSON, E. G.; MEYER, C.; SCHMITZ, A. Clinicopathologic studies of tansy ragwort toxicosis in ponies: sequential serum and histopathological changes. **Equi. Vet. Sci.** n.1, p.261-281, 1991.

CURRAN, J. M.; SUTHERLAND, R. J.; PEET, R. L. A screening test for subclinical liver disease in horses affected by pyrrolizidine alkaloid toxicosis. **Aust. Vet. J.** Austrália, n.74, p. 236-240, 1996.

DANTAS, A. F. M.; NOBRE, V. M. T.; TABOSA I. M. **Intoxicação aguda por *Crotalaria* sp. (Leguminosae) em ovinos na Paraíba, Brasil - relato de caso.** (Resumo) 9º Enapave, Belo Horizonte, p. 89, 1999.

- DI DIO, L. J. A. **Tratado de anatomia aplicada**. São Paulo: Pólus Editorial, 1998.
- DUKE, A. J. **Handbook of legumes of world economic importance**. New York: Plenum Press, 1981.
- DYCE, K. M.; SACK, W. O.; WENSING, C. J. G. **Tratado de anatomia veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997.
- ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. **Tratado de Medicina Interna Veterinária – Moléstia do cão e do gato**, 4.ed. São Paulo: Manole, 1997, v.1, p. 534-535.
- GARDINER, M. R.; ROYCE R.; BOKER, A. Studies on *Crotalaria crispata*, a newly recognised cause of Kimberley horse disease. **J. Comp. Path. Bact.** n.89, p. 43-53, 1965.
- GARRET, B. J.; HOLTAN, W.; CHEEKE, P.R.; SCHMITZ, J.A.; ROGERS, Q.R. Effects of dietary supplementation with butylated, cysteine, and vitamins B on tansy ragwort (*Senecio jacobaea*) toxicosis in ponies. **Am. J. Vet. Res.** n.45, p. 459-464, 1984.
- GIBBONS, W.J.; DURR, E. H.; COX S. A. An outbreak of cirrosis of the liver in horses. **North. Am. Vet.** n.34, p.556-558, 1953.
- GILES, C.J. Outbreak of ragwort (*Senecio jacobea*) poisoning in horse. **Equine Vet. J.** n. 15, p. 248-250, 1983.
- GORDER, V.L. Tansy ragwort poisoning in a horse in southern Ontario. **Can. Vet. J.** n. 41, p.409-410, 2000.
- GULICK, B.A.; IRWIN, K.M.; CHARLES, W.; QUALLS J. R. Effect of pyrrolizidine alkaloid-induced hepatic disease on plasma amino acid patterns in the horse. **Am. J. Vet. Res.** n.41, p.1894-1898, 1980.
- HUGHES, J. P. A simplified instruments for obtain liver biopsies. **Am. J. Vet Res**, v.23, n.96, p.1111-1112, 1962.
- JAIN, N. C. **Essentials of veterinary hematology**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. 417p.
- JONES, B.D.; HITT, M.; HURST, T. Hepatic biopsy. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v.15, n.1, p.39-65, 1985.
- KELLY, W. R. The liver and biliary system, In: JUBB, K.V.F.; KENNEDY, P.C.; PALMER, N. (Ed.) **Pathology of Domestic Animals**. 4.ed. San Diego: Academic Press, p. 319-404, 1993.

KNIGHT, A. P.; KIMBERLING, C. V.; STERMITZ, F. R. *Cynoglossum officinale* (hound's-tongue), a cause of pyrrolizidine alkaloid poisoning in horses. **J. Am. Vet. Med. Assoc.** 185, p.647-650, 1984.

LEMOS, R. A. A.; BARROS, C. S. L. Intoxicação por *Crotalaria* sp. In: LEMOS R.A. A. (ed.) **Principais Enfermidades de Bovinos de Corte do Mato Grosso do Sul**. Universidade Federal do Mato Grosso do Sul. Campo Grande, p.322-325, 1998.

LESSARD, P.; WILSON, W. D.; OLANDER, H. J., ROGERS, Q. R.; MENDEL, V. E. Clinicopathologic study of horses surviving pyrrolizidine alkaloid (*Senecio vulgaris*) toxicosis. **Am. J. Vet. Res.** n.47, p.1776-1780, 1986.

LEWIS, L. D. **Nutrição clínica eqüina: alimentação e cuidados**. São Paulo: Roca, 2000. p. 282-291. ISBN 85-7241-271-9.

LEWIS, L. D. **Alimentação e cuidados do cavalo**. São Paulo: Roca, 1985. p. 166-167. ISBN 0-8121-0803-5.

McGARRY, J. D.; FOSTER, D. W. Regulation of hepatic fatty acid oxidation and body production. **Annu. Rev. Biochem.** Boston: Lea & Febiger, p. 667-694, 1980.

McGRATH, J.P.M.; DUNCAN, J.R. *Crotalaria spectabilis* toxicity in swine: characterization of the renal glomerular lesion. **J. Comp. Path.** n. 85, p.185-194, 1975.

MENDEL, V.E.; WITT, M.R.; GITCHELL, B.S.; GRIBBLE, D.N.; ROGERS, Q.R.; SEGALL H.J.; KNIGHT, H.D. Pyrrolizidine alkaloid-induced liver disease in horse: An early diagnosis. **Am. J. Vet. Res.** n. 49, p. 572-578, 1988.

MOORE, W. E. Laboratory examinations. In: ANDERSON, N.V. **Veterinary gastroenterology**. Philadelphia : Lea & Febiger, p.44, 1980.

NOBRE, D.; DAGLI, M.L.Z.; HARAGUCHI, M. *Crotalaria juncea* intoxication in horses. **Vet. Human. Toxicol.** n. 36, p.445-448, 1994.

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

\_\_\_\_\_. Intoxicação por *Crotalaria retusa* (Fabaceae) em Eqüídeos no semi-árido da Paraíba. **Pesq. Vet.** , Rio de Janeiro, v. 24, n. 3, Jul/Set. 2004b.

NORTON, J.H.; O'ROURKE, P.K. Toxicity of *Crotalaria goreensis* for chickens. **Aust. Vet. J.** n.55, p.173-174, 1979.

NYLAND, T. G.; MATTOON, J. S.; HERRGESELL, E. J.; WISNER, E. R. Biopsia guiada por ultra-som. In: NYLAND, T. G.; MATTOON, J. S. **Ultra-som diagnóstico em pequenos animais**. São Paulo. Roca. 2004. p.33-52.

PEARSON, E.G.; GRAIG, A.M. The diagnosis of liver disease in equine and food animals. **Modern Veterinary Practice**, New York, v.61, n.3, p.233-237, 1980.

PITT, D.; McKENZIE, R. 2002. Jaagsiekte in Horses. Queensland Government. Disponível em: [www.qld.gov.au/news/371.html](http://www.qld.gov.au/news/371.html). Acessado em 20 mar. 2006.

ROSE, A.L.; GARDNER, C.A.; McCONNELL, J.D.; BULL, L.B. Field and experimental investigation of "walk about" disease of horses (Kimberley horse disease) in Northern Australia: Crotalaria poisoning in horses. Part 1. **Aust. Vet. J.** Australia, n.33, p.25-33, 1957a.

ROSE, A.L.; GARDNER, C.A.; McCONNELL, J.D.; BULL, L.B. Field and experimental investigation of "walk about" disease of horses (Kimberley horse disease) in Northern Australia: Crotalaria poisoning in horses. Part II. **Aust. Vet. J.** Australia, n.34, p.49-62, 1957b.

SCHEBITZ, H.; WILKENS, H. **Atlas of radiographic anatomy of the horse**. 4. ed. Berlin: Saunders Company, 1986. 455p.

SILVA, L. C. L. C.; STOPIGLIA, A. J.; FANTONI, D. T. Hepatic biopsy in horses by laparoscopy. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 3, p. 459-465, 2002.

SIMPSON, J.W.; ELSE, R.W. Diagnostic value of tissue biopsy in gastrointestinal and liver disease. **Veterinary Record**, New York, v.120, n.10, p.230-233, 1987.

SISSON, S. Sistema digestivo do eqüino. In: SISSON, S.; GROSSMAN, J. D. **Anatomia dos animais domésticos**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1986. Cap. 21. p. 424 - 465.

SMART, E.; NORTHCOTE, M. J. Liver biopsies in cattle. **Comp. Cont. Educ**, v.7, n. 5, p. 327-332, 1985.

SOUTO, P. A. et al. **Outros usos de leguminosas convencionalmente utilizadas para adubação verde**. Itaguaí: EMBRAPA-CNPBS, Série Documentos 11, 1992.

THOMASSIAN, A. **Medicina esportiva eqüina da inspeção ao computador: Parte II** Disponível em: <http://www.spmv.org.br/conpavet2004/palestras%20-%20resumos/Armen%20Tomassian-II.doc>. Acessado em 20 mar. 2006.

TENNANT, B.C.; EVANS, C.D.; KANEKO, J.J.; SCHALM, O.W. Hepatic failure in the horse. **Med. Veter. Prat.**, n.11, p.40-42, 1972.

WILLIAMS M.C.; MOLYNEUX R.J. Occurrence, concentration and toxicity of pyrrolizidine alkaloids in *Crotalaria* seeds. **Weed Science**. New Zeland, n.35, p.476-481, 1987.

WOLTER, R. **Alimentacion del caballo**. Zaragoza: Editorial Acriba, 1975. p. 121-132. ISBN 84-200-0290-9

ZAR, J. H. **Biostatistical analysis**. Englewood Clifs: Prentice-Hall, 1984. 718p.