

RAFAEL OTAVIANO DO REGO

**ESTUDO CLÍNICO-PATOLÓGICO DE BOVINOS INTOXICADOS
EXPERIMENTALMENTE POR *SOLANUM PANICULATUM***

**Garanhuns – PE
2012**

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
UNIDADE ACADÊMICA DE GARANHUNS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SANIDADE E REPRODUÇÃO DE
RUMINANTES**

RAFAEL OTAVIANO DO REGO

**ESTUDO CLÍNICO-PATOLÓGICO DE BOVINOS INTOXICADOS
EXPERIMENTALMENTE POR *SOLANUM PANICULATUM***

Dissertação apresentada a Pós-Graduação em Sanidade e Reprodução de Ruminantes na Unidade Acadêmica de Garanhuns da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte da exigência para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária.

Orientadora: Profa. Dra. Márcia Bersane Araújo de Medeiros Torres

**Garanhuns – PE
2012**

Ficha catalográfica
Setor de Processos Técnicos da Biblioteca Setorial UFRPE/UAG

R342 Rego, Rafael Otaviano do
Estudo clínico-patológico de bovinos intoxicados
experimentalmente por *Solanum paniculatum* / Rafael
Otaviano do Rego. – Garanhuns, 2012.
58 p.

Orientador: Márcia Bersane Araújo de Medeiros Torres
Dissertação (Mestrado em Sanidade e Reprodução de
Ruminantes) - Universidade Federal Rural de Pernambuco
– Unidade Acadêmica de Garanhuns, 2012.
Inclui anexo e bibliografia

CDD: 636.2089607

1. Medicina Veterinária – Patologia
 2. Patologia – Bovinos
 3. *Solanum paniculatum* – Bovinos
- I. Torres, Márcia Bersane Araújo de Medeiros
 - II. Título

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
UNIDADE ACADÊMICA DE GARANHUNS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SANIDADE E REPRODUÇÃO DE
RUMINANTES**

**ESTUDO CLÍNICO-PATOLÓGICO DE BOVINOS INTOXICADOS
EXPERIMENTALMENTE POR *SOLANUM PANICULATUM***

**Dissertação elaborada por
RAFAEL OTAVIANO DO REGO**

Aprovado em: 29 / 02 2022

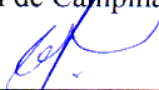
BANCA EXAMINADORA



Profa. Dra. Márcia Bersane Araújo de Medeiros Torres
Presidente da Banca – Unidade Acadêmica de Garanhuns/UFRPE



Prof. Dr. Eldinê Gomes de Miranda Neto
Universidade Federal de Campina Grande/ UFCG



Prof. Dr. Antônio Flávio Medeiros Dantas
Universidade Federal de Campina Grande/UFCG



Profa. Dra. Daniela Oliveira
Unidade Acadêmica de Garanhuns/UFRPE

DEDICATÓRIA

*Dedico este trabalho aos
bezerros e a todos os animais que
são utilizados em experimentos na
pesquisa.*

SUMÁRIO

Página

AGRADECIMENTOS

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE QUADROS

RESUMO

ABSTRACT

1. INTRODUÇÃO	15
2. OBJETIVOS	18
2.1. Geral.....	18
2.2. Específicos.....	18
3. REVISÃO DE LITERATURA	19
3.1. Doença do depósito lisossomal.....	19
3.2. Gênero <i>Solanum</i>	21
3.3. Epidemiologia.....	22
3.4. Sinais clínicos.....	24
3.5. Diagnóstico.....	25
3.6. Achados de necropsias.....	26
3.7. Achados microscópicos.....	26
3.8. Tratamento e profilaxia.....	27
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	28
5. ARTIGO CIENTÍFICO	35
Alterações no SNC e morfometria cerebelar de bovinos intoxicados experimentalmente por <i>Solanum paniculatum</i>	36
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	48
7. ANEXOS	49
7.1. Instrução aos autores da revista Pesquisa Veterinária Brasileira.....	50
7.2. Parecer do comitê de ética no uso de animais.....	51

AGRADECIMENTOS

A Deus, meu refúgio e minha fortaleza, por todas estas maravilhas que me concedeu, pelas graças alcançadas e as que haverão de alcançar ainda, pelas pessoas maravilhosas que cruzam meu caminho, pela sabedoria e pela força para superar os obstáculos.

Aos meus pais, Mainha (*Austreleoclesia Otaviano do Rego*) e Pain (*José Edgar do Rego*), pois a certeza que vocês velam por mim, me faz um homem feliz. Obrigado por depositarem em mim a confiança para todas as horas. Sei que vocês se orgulham por eu ter atingido mais uma etapa. Mas este orgulho que sentem por mim, converto numa obrigação de cada dia ser mais digno de representá-los. Aos meus Irmãos *Rodolfo Otaviano do Rego* e o “Menino” *Renato Otaviano do Rego* que assim como eu estão fora de casa, sentindo saudades uns do outros, em busca de um sucesso pessoal e profissional. Ao meu irmão, amigo e confidente *Eduardo Levi de Sousa Guaraná*. Estaremos sempre juntos, que mesmo distante sempre se fez presente através de suas palavras de otimismo e coragem, me apoiando em tudo.

A imensa compreensão da minha orientadora *Márcia Bersane Araújo de Medeiros Torres*, em princípio pela oportunidade, confiança depositada em mim e principalmente paciência. Agradeço por ter confiado em minha capacidade e sempre me ajudar na minha formação profissional.

A Clínica de Bovinos de Garanhuns, seus funcionários e residentes por disponibilizar a infra-estrutura para realização do desenvolvimento da pesquisa: *Janaina Guimarães, Alexandre e Luiz Teles*. Gostaria de agradecer uma pessoa de forma especial que foi grande responsável por tudo que aprendi: Dr. *José Augusto Bastos Afonso*. Co-orientador desta dissertação, que com sua reconhecida capacidade como pesquisador muito contribuiu com sugestões na elaboração deste trabalho. A Doutora *Carla Lopes*, meus agradecimentos pela disposição para discutir o projeto, bem como por seus questionamentos e contribuições na etapa da preparação e principalmente pelos conselhos e por nossas conversas espontâneas. Ao Dr. *Nivaldo Azevedo Costa*, por suas palavras em sua sala no momento mais difícil do mestrado. A minha orientadora da Residência, Dr. *Maria Isabel de Sousa*, por nosso convívio e aprendizado durante os dois anos de luta.

Aos meus companheiros: *Emanuel Barbosa, Selma Brito, Ciana e Jeanne Dias, Everaldo e Maria Luiza*, pela amizade, pelo maravilhoso convívio e as horas de conversas regadas a muitas gargalhadas e apóio nas horas difíceis. *Sebastião Bastos, Jameson Jacó, Sr Japira e Reginaldo* que sem eles não teria dado conta do experimento. *A Saulo de Tarso Gusmão* durante esses dois anos foi um grande amigo e parceiro de trabalho e principalmente de bagunça, que mesmo nas diferenças, aprendi a respeitar.

Aos professores e funcionários da UAG/UFRPE por total dedicação. Em especial à professora *Daniela Oliveira*, um anjo da guarda que me acompanhou desde o início do mestrado, e sempre me incentivando na vida acadêmica. *Flávia Menezes, Taciana Ramalho e Rute Chamié, César Auguste Badje, Mairon Moura, Elisabete Rodrigues, Keila Moreira, Wallace Rodrigues e Raquel*. Principalmente as funcionárias da Biblioteca: *Gracineide Santos e Welita Bastos*, Ao pessoal da Xerox: *Sandra e Adriano* pelo grande apoio. Aos amigos *Daniel Brandespim, José Wilton e Gustavo Ferrer*, além das contribuições importantes para a minha pesquisa e por terem sido grandes amigos e incentivadores.

A *Gilmara Mabel e Gislaine Raquel* pessoas agraciadas por Deus em generosidade e humildade, que só me fizeram bem e não deixaram que a saudade da minha família se tornasse maior.

Agradeço a todos os meus colegas de pós-graduação: *Nivan Antônio, Daniel Burgos, Andréa Vidal, Isildo Neto, Vânia F. Lemos, Leopoldino, Antônio Matos, Temístocles, Francisco David, Elizabeth, Elane Rafaela e Acidália Machado* pela ajuda prestada e preciosa colaboração na realização deste trabalho

A todos os meus amigos e alunos da graduação da UAG que conviveram comigo nesses dois anos: em especial *Junior Mário, Rafaela Melquiades, Tâmara Pessoa, Natalia Simões, Áurea Galvão, Luciana Pereira, Lucas Araújo, Glaucia Luna, Erica Chaves, Brenno Santana, Juliana Pimentel, Moises Tenório, Naedja Pereira, Renata, Joab Carvalho, Ravenna Albuquerque, Camila Pedrosa e Matheus Franco, Erica Karla, Helton Gregory, Kelly Cristina, Liberato Lins, Nathalia Cavalcanti, Tatiana Silva, Amanda Lima, Felix Neto e Catinha Almeida, Edgar, Tiago, Natália e Felipe Alapenha*, incluindo *Anne Caroline, Bruna Soares, Naiara Nascimento e Syntia Vilela*.

A minha amiga *Gliere Silmara* pela ajuda, paciência e momentos alegres na realização do experimento. Ao meu amigo e irmão *Everton Diogo*, por estar ao meu lado durante toda fase mais difícil da dissertação, dando apoio nos momentos de

desespero que não forma poucos. *Bruna Freitas, Amanda Carvalho, Renata Gomes, Fernanda Barbosa, Edivania Freitas e Valesca Lima* pelos momentos inesquecíveis.

À UFCG pelo meu início na formação profissional, aperfeiçoamento e direcionamento em relação à área a ser seguida. Principalmente ao Prof. Dr. *Eldinê Gomes de Miranda Neto*, em reconhecimento e imensa gratidão a tudo que fizestes por mim, especialmente, pelas oportunidades, apoio, orientação, paciência, amizade sincera, confiança e exemplo profissional. Aos funcionários do Hospital veterinário de Patos, principalmente *Nevinha* por me tirar de “sufocos laboratoriais” pelo telefone. Às estimados amigos, irmãs e colegas de Residência de Patos: *Tatiane Rodrigues, Patrícia Bueno, Adriana Cunha, João Marcos e Luedja Carla*, sempre ao meu lado, mesmo que por telefone, e por terem me lembrado da importância do “ser feliz” sempre.

Aos professores e alunos da UNESP-SP: *Rosemeri de O. Vasconcelos, Francisca, Luciana Curtio, Thais Pelisari* pela hospitalidade e todo carinho. A *Kalina Simplicio* por me acolher como seu amigo e irmão, pelos inúmeros e inesquecíveis momentos juntos, pelos diversos conselhos e centenas de lições de vida.

Last but not least, A FACEP, pelo apoio financeiro na concessão da bolsa que ajudou muito no desenvolvimento do projeto, principalmente meu experimento, e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, pela concessão da bolsa do aluno de Pibic. Agradecer ao PROCAD que proporcionou conhecer novos costumes, culturas e adquirir conhecimentos profissionais na UNESP-SP.

“Eu vou prosseguir, cheguei até aqui e não vou desistir. Eu viverei e cumprirei os propósitos de Deus pra mim”. (Diante do Trono).

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 01 - A: Bovino intoxicado com *S. paniculatum* com extensão do pescoço e membros torácicos (opistótono) após a crise epileptiforme. B: Bovino intoxicado com *S. paniculatum* com desequilíbrio, mantendo a base ampla após crise epileptiforme.....47

FIGURA 02 - A: Células de Purkinje com vacuolização fina do pericário do cerebelo de bovino intoxicado por *S. paniculatum* (setas). B: Neurônio com vacuolização fina do pericário na região de pedúnculo cerebelar de bovino intoxicado por *S. paniculatum* (seta). C: Vacuolização neuronal na região do óbex de bovino intoxicado por *S. paniculatum* (seta). D: Esferoides axonais na camada granular do cerebelo (setas). 40x, HE.....47

LISTA DE QUADROS

QUADRO 01 - Delineamento experimental e desfecho na intoxicação experimental pela *S. paniculatum* em bovinos: períodos de alimentação, peso do animal inicial e final e da quantidade de planta consumida até a observação do *HR test* positivo e sacrifício.....45

QUADRO 02 - Distribuição das principais lesões nas diferentes secções do Sistema Nervoso Central (SNC) de bovinos intoxicados experimentalmente por *S. paniculatum*.....46

QUADRO 03 - Valores de média, desvios padrão do número de células de Purkinje e mediana da espessura da camada molecular no cerebelo dos bovinos intoxicados por *S. paniculatum* do grupo experimental (GE) e o animal do grupo controle (GC).....47

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AST	Aspartato aminotransferase
BC	Bezerro controle
BPM	Batimentos por minuto
BVD	Diarreia Viral Bovina
CBG	Clínica de Bovinos de Garanhuns
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
CK	Creatina quinase
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
DDL	Doença do depósito lisossomal
EDTA	Ácido dietileno diamino tetracético
FACEPE	Fundação de Apoio e Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco
FP	Fibrinogênio plasmático
GC	Grupo controle
GE	Grupo experimental
HE	Hematoxilina e eosina
HR	Head Raising
LCR	Líquido céfalo-raquidiano
LDH	Lactato desidrogenase
LSD	Lysosomal storage diseases
MRPM	Movimentos respiratórios por minuto
PAS	Ácido periódico de Schiff
PPGSRR	Programa de Pós-graduação em Sanidade e Reprodução de Ruminantes
PPT	Proteína plasmática total
PROCAD	Programa Nacional de Cooperação acadêmica
PV	Peso vivo
SNC	Sistema nervoso central
SRD	Sem raça definida
UAG	Unidade Acadêmica de Garanhuns
UFMG	Universidade Federal de Campina Grande
UFRPE	Universidade Federal Rural de Pernambuco
UNESP	Universidade estadual Paulista

ESTUDO CLÍNICO-PATOLÓGICO DE BOVINOS INTOXICADOS EXPERIMENTALMENTE POR *SOLANUM PANICULATUM*

RESUMO: Doenças do depósito lisossomal (DDL) causam distúrbios neurológicos em humanos e animais, sendo classificadas como genéticas ou adquiridas. As adquiridas resultam da ingestão de plantas que contêm inibidores específicos de enzimas catabólicas lisossômicas que causam acúmulo neuronal de substratos metabólicos. Dentre essas plantas, no Brasil a neurolipidose mais conhecida são as causadas por algumas espécies de *Solanum*, responsáveis por intoxicações em ruminantes caracterizadas clinicamente por distúrbios cerebelares. Elas são conhecidas comumente por “Jurubebas” e são muito usadas na culinária e medicina popular, sendo a espécie *Solanum paniculatum* a predominante no Nordeste e a considerada a verdadeira jurubeba. De 2005 a 2008 surtos de intoxicação em bovinos ocorreram em propriedades localizadas no Agreste do estado de Pernambuco, onde os animais permaneciam em pastos invadidos por esta espécie. No Sul do Brasil, a espécie mais conhecida causando intoxicação em bovinos com quadros neurológicos é a *S. fastigiatum* var. *fastigiatum*. Diversas espécies de *Solanum* causam doenças semelhantes em outros países: *S. kwebense* na África do Sul, *S. dimidiatum* nos Estados Unidos e *S. bonariense* no Uruguai em bovinos e *S. viarum*, *S. cinereum* causam intoxicação semelhante em caprinos na Austrália e nos Estados Unidos, respectivamente. Essa intoxicação em ruminantes é considerada de baixa morbidade e mortalidade e caracteriza-se por sinais clínicos restritos ao sistema nervoso central, com crises convulsivas ou epileptiformes periódicas e transitórias, principalmente, quando os animais são excitados, apresentando tremores de intenção, opistótono, nistagmo e perda do equilíbrio. Esses ataques podem ser induzidos pelo *Head Raising Test*. Na necropsia não são encontradas lesões macroscópicas específicas da intoxicação, mas podem ser observadas lesões associadas aos traumatismos provenientes das quedas. Já as lesões histológicas estão localizadas principalmente no cerebelo, caracterizadas por degeneração, com vacuolização difusa fina do pericário e perda dos grânulos de Nissl das células de Purkinje e áreas multifocais de perda ou desaparecimento dessas células. O diagnóstico da intoxicação é baseado nos sinais clínicos observados, nos dados epidemiológicos, na presença da planta, podendo ser confirmado pelas lesões histológicas características. Não se conhece tratamento e as medidas profiláticas das intoxicações por jurubeba são difíceis. Por ser *S. paniculatum* a espécie predominante na região Nordeste e a responsável pelos surtos de intoxicação espontânea descrita no Estado de Pernambuco, é de fundamental importância realizar um estudo experimental da *S. paniculatum* em bovinos desenvolvendo o quadro clínico-patológico para descrever a localização das lesões no SNC, avaliar as alterações no líquido céfalo-raquidiano e realizar a morfometria da lesão cerebelar.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Jurubeba, *Solanum paniculatum*, células de Purkinje, cerebelo, ruminantes.

CLINICAL-PATHOLOGICAL STUDY OF CATTLE EXPERIMENTALLY POISONED BY *SOLANUM PANICULATUM*

ABSTRACT: Lysosomal storage diseases (LSD) cause neurological disorders in humans and animals and are classified as genetic or acquired. The acquired type result of ingestion of plants containing specific inhibitors of catabolic lysosomal enzymes causing neuronal metabolic substrates accumulation. Among these plants, in Brazil best known neurolipidosis are caused by some species of *Solanum*, responsible for intoxication in ruminants clinically distinguished by cerebellar disorders. They are commonly known as "Jurubebas" and are widely used in folk cooking and medicine, the *Solanum paniculatum* is the predominant species in the Northeast and considered the true jurubeba. From 2005 to 2008 outbreaks of poisoning in cattle occurred in properties located in Pernambuco, where animals were kept in pastures invaded by this species. In southern Brazil, the best known species to cause neurological poisoning in cattle is the *S. fastigiatum* var. *fastigiatum*. Several species of *Solanum* cause similar diseases in other countries: *S. kwebense* in South Africa, *S. dimidiatum* in the U.S. and *S. bonariense* in cattle in Uruguay and *S. viarum*, *S. cinereum* cause similar poisoning in goats in Australia and the U.S. respectively. This poisoning in ruminants is considered low morbidity and mortality and is characterized by clinical signs restricted to the central nervous system with seizures or epileptiform periodic and transient, especially when the animals are excited, with intention tremors, opisthotonos, nystagmus and loss of balance. These attacks can be induced by the Head Raising Test. At necropsy no gross lesions are found in specific poisoning, but can be observed lesions associated with injuries from falls. Histological lesions are located mainly in the cerebellum, characterized by degeneration, with thin diffuse vacuolation of the perikaryon and loss of Nissl granules in Purkinje cells and multifocal areas of loss or disappearance of these cells. The diagnosis of poisoning is based on clinical signs, epidemiological data, in the presence of the plant can be confirmed by characteristic pathological lesions. There is no known treatment and prophylaxes of poisoning are difficult. As *S. paniculatum* is the predominant species in the Northeast and responsible for spontaneous intoxication outbreaks described in the State of Pernambuco, is of utmost importance to perform an experimental study of *S. paniculatum* in cattle developing the clinical and pathological criteria to describe the location of the lesions in the CNS, measure changes in cerebrospinal fluid and perform morphometry of cerebellar damage.

INDEX TERMS: Jurubeba, *Solanum paniculatum*, Purkinje cells, cerebellum, ruminants.

1. INTRODUÇÃO

Um grande número de plantas na natureza apresenta princípios ativos capazes de desenvolver alterações em animais, porém são classificadas apenas como plantas tóxicas de interesse pecuário, as espécies que causam intoxicação sob condições naturais. Diante disto, nem todas as plantas demonstradas experimentalmente como tóxicas devem ser consideradas plantas tóxicas de interesse pecuário por não produzirem quadros clínico-patológicos sob condições naturais (TOKARNIA et al., 2000).

Na pecuária brasileira, assim como em outros países, a intoxicação por plantas, especialmente em ruminantes é muito comum, sendo uma causa significativa de prejuízos com perdas diretas e economicamente indiretas. Esses problemas são morte dos animais, perda reprodutiva como aborto e defeitos congênitos (malformações), doença crônica levando a uma redução do desenvolvimento e perda de peso (RISSI et al., 2007; RISSI et al., 2011). Perdas indiretas incluem os custos com o controle das plantas venenosas nos pastos, as medidas de gestão para prevenir a intoxicação, tais como cercas e pastagens alternativas, redução do valor da forragem devido ao pastoreio atrasado ou adiado, o valor da terra reduzido, o custo de substituição do plantel devido a intoxicação por plantas, e os custos associados com o diagnóstico e tratamentos dos animais afetados (TOKARNIA et al., 2000).

Uma série de fatores pode desencadear a exposição dos animais de produção as plantas tóxicas, e se dá principalmente por sua presença nas pastagens, contaminação acidental do alimento e oferecimento como alimento (RIET-CORREA e MEDEIROS, 2001; BARBOSA et al., 2007). A fome é considerada a condição mais frequente para ocorrência de intoxicações por planta. Portanto, plantas que são pouco palatáveis devido a alguns compostos que acumulam passam a ser consumidas pelos animais quando começa a faltar o alimento comestível, como ocorre nos períodos de estiagem (RIET-CORREA e MENDEZ, 1993; TOKARNIA et al., 2000). No entanto, existem inúmeras plantas tóxicas de fácil acesso aos animais domésticos por isso sua ingestão é facilitada e os casos de intoxicação são frequentes (DANTAS et al., 2007).

Apesar da vasta informação e trabalho realizado sobre intoxicações por plantas em bovinos no Brasil (TOKARNIA et al., 1979; RIET-CORREA et al., 1993; RIET-CORREA et al., 1994; TOKARNIA et al., 2000) ainda existem poucos estudos

sistemáticos sobre epidemiologia e impacto econômico destas intoxicações (SILVA et al., 2006; SANTOS et al., 2008) e não existe nenhum programa oficial com objetivo de controlar e minimizar as perdas ocasionadas por esse problema no rebanho bovino brasileiro. Além disso, nota-se uma carência de informações referente à ocorrência de intoxicações por plantas no país (RIET-CORREA e MEDEIROS, 2001). A falta de informação de veterinários e produtores foi apontada como um dos principais fatores que contribuem para o crescimento do número de casos de intoxicação por plantas numa determinada região (JAMES, 1978). Diante disso, quando há ocorrência de mortalidade de bovinos por enfermidades desconhecidas em diferentes regiões do país, principalmente na época da seca, há a necessidade de comprovação experimental dos diagnósticos presuntivos de intoxicação por plantas (RODRIGUES et al., 2005).

No Brasil são conhecidos no mínimo 64 gêneros com 113 espécies de plantas tóxicas que causam intoxicação espontânea em animais domésticos (RIET-CORREA et al., 2006). Destas as mais importantes são *Palicourea marcgravii*, em todo o país exceto na região Sul, *Brachiaria* spp. em todo o país, principalmente no Centro-Oeste, *Senecio* spp. e *Ateleia glazioviana* na região Sul e *Cestrum laevigatum* na região Sudeste (TOKARNIA et al., 2000; RIET-CORREA et al., 2006). Na região Nordeste é conhecido pelo menos 38 plantas tóxicas, sendo as mais importantes *Mascagnia rígida*, *Thiloa glaucocarpa*, para bovinos, e *Mimosa tenuiflora*, principalmente para caprinos e ovinos (SILVA et al., 2006). No entanto, o estudo sistemático das plantas tóxicas em determinadas regiões aumenta consideravelmente o número de espécies tóxicas e a identificação de espécies não descritas como tóxicas anteriormente. Um exemplo disto é o estado da Paraíba, onde até o ano 2000 eram conhecidas oito plantas tóxicas e, após a criação de um grupo de pesquisa em plantas tóxicas este número aumentou para 21 plantas tóxicas (RIET-CORREA et al., 2006). Segundo Tokarnia et al. (2000), as principais plantas que ocorrem no estado do Pernambuco são *Mascagnia rígida*, *Brachiaria* spp., *Cestrum laevigatum*, *Mimosa tenuiflora*, *Crotalaria retusa*, *Manihot* spp., *Prosopis juliflora*, *Ipomoea asarifolia*, *Lantana* sp. e *Sorghum vulgare*. As intoxicações por plantas devem ser estudadas como um problema regional, já que a ocorrência das mesmas depende dos fatores epidemiológicos considerando a importância variável para cada região (RIET-CORREA et al., 1993).

No Brasil existem muitas plantas que induzem doenças do SNC em bovinos, incluindo aquelas plantas que causam doença de depósito lisossômico (*Ipomoea carnea*

sub. *fistulosa*, *Phalaris angusta*, *Sida carpinifolia* e *Solanum fastigiatum* var. *fastigiatum*, degeneração neuronal primária (*Ipomoea asarifolia*, *Prosopis juliflora*) e plantas causando degeneração esponjosa da substância branca do SNC (*Ateleia glazioviana*, *Tetrapteryx* spp. e *Senecio* spp.) (RECH et al., 2007).

Doenças neurológicas em ruminantes causadas pela ingestão de diferentes espécies de *Solanum* têm sido descritos na África do Sul, América do Norte, América do Sul e Austrália (VERDES et al., 2006).

Surtos de intoxicação em bovinos ocorreram durante o período de três anos (2005 a 2008) em propriedades localizadas no Agreste do estado de Pernambuco, onde os animais permaneciam em pastos invadidos por uma planta do gênero *Solanum*, que era denominada vulgarmente de “jurubeba”, que foi identificada como *S. paniculatum* L. (GUARANÁ et al., 2011). Os sinais neurológicos eram compatíveis com intoxicação por esta planta, cujos achados clínicos corroboram aos resultados dos exames histopatológicos obtidos, onde se constataram lesões compatíveis com a intoxicação provocada pela mesma (AFONSO et al., 2009). Os registros na literatura de intoxicação por jurubeba estão associados no Brasil, principalmente, a *S. fastigiatum*, e doenças com aspectos clínicos e patológicos semelhantes são descritas em outros países pela ingestão de *S. kwebense* na África do Sul, *S. dimidiatum* nos Estados Unidos e *S. bonariensis* como causa de doença similar no Uruguai (TOKARNIA et al., 2000).

Embora haja muitos trabalhos científicos descrevendo a intoxicação em bovinos por *S. fastigiatum*, existem poucos trabalhos de intoxicação experimental por *S. paniculatum* em bovinos (MEDEIROS et al., 2004; AFONSO et al., 2009). Em virtude do *S. paniculatum* ser a espécie de *Solanum* envolvida nos casos de intoxicação espontânea ocorridos na região Agreste de Pernambuco é de fundamental importância o desenvolvimento de estudo para caracterização do quadro clínico-patológico causado por esta espécie.

1. OBJETIVOS

2.1 Geral

Realizar um estudo clínico-laboratorial e anátomo-patológico em bovinos intoxicados experimentalmente por *S. paniculatum*.

2.2 Específicos

- Descrever o quadro clínico-patológico causado pela intoxicação por *S. paniculatum* em bovinos;
- Realizar estudo morfométrico das alterações no SNC;
- Avaliar as alterações físicas, químicas e citológicas acarretadas no líquido céfalo-raquidiano (LCR) dos bovinos, intoxicadas por esta espécie de planta.

2. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Doença do depósito lisossomal

Disfunções da degradação dos produtos do metabolismo celular normal mediada pelos lisossomos resultam em doenças referidas como doenças do depósito lisossomal (DDL) e o substrato acumulado eventualmente resultam em morte das células afetadas, sendo esse acúmulo algumas vezes decorrente da ausência de um produto metabólico crítico para a função lisossomal normal. A morte celular é o ponto culminante de um processo crônico e progressivo de acúmulo do substrato que interfere com os processos bioquímicos celulares e os sistemas de transporte (McGAVIN e ZACHARY, 2009).

Muitas DDLs de humanos e animais afetam o SNC, com consequentes distúrbios neurológicos (RALPH, 1990) e caracterizam-se por acúmulo interneuronal de substratos metabólicos indigeríveis, que se acumulam nas células devido à atividade deficiente de uma, dentre diversas enzimas catabólicas lisossômicas, as denominadas hidrolases ácidas (SUMMER et al., 1995; JOLLY e WALKLEY, 1997). Praticamente todos os tipos de células são potencialmente vulneráveis à indução de armazenamento, mas as mais vulneráveis são as células de longa vida pós-mitótica, como neurônios e miócitos cardíacos (JUBB e HUXTABLE, 2010). Os neurônios possuem longo período de existência, sendo ricos em gangliosídeos e glicolipídios, que são continuamente degradados e resintetizados em moléculas complexas. Distúrbios do metabolismo dos gangliosídeos resultam no acúmulo dos subprodutos degradativos nos neurônios, e em outras células, causando uma sobrecarga dos lisossomos pelo material indigesto e produzindo uma profunda disfunção neurológica (SMITH, 2006).

As DDLs não são incomuns em animais e são classificadas como genéticas ou adquiridas. As genéticas são denominadas segundo o subproduto metabólico que se acumula nos lisossomos, como por exemplo α -manosidose, e as adquiridas resultam da ingestão de plantas que contêm inibidores específicos de uma ou mais enzimas catabólicas lisossômicas. Plantas conhecidas por causarem DDLs são *Astragalus*, *Oxytropis* e *Swainsona* spp, conhecidas como “locoweed”, termo designado à intoxicação causada pela ingestão destas plantas, encontradas no oeste do Canadá, Estados Unidos, nordeste do México e Austrália; respectivamente, acometendo equinos,

bovinos, ovinos e caprinos (JAMES et al., 1981; JOLLY, 1993; SMITH, 2006). No Brasil, as DDLs induzidas pela ingestão de plantas incluem manosiidose causadas por *Ipomoea carnea* subsp. *fistulosa* (RIET-CORREA et al., 2003) e *Sida carpinifolia* (DRIEMEIER et al., 2000), lipofuscinosose causada por *Phalaris angusta* (BARROS et al., 2006). A neurolipidose mais conhecida e estudada é a intoxicação por *S. fastigiatum*, que ocorre no sul do Brasil e Uruguai. Estudos retrospectivos realizados no Sul do Brasil constataram que a *S. fastigiatum* foi responsável por 2,29% de 305 casos analisados de degeneração neuronal primária (SANCHES et al., 2000; RECH et al., 2007).

A morfologia da célula afetada tem como um princípio geral a tumefação celular e a vacuolização citoplasmática por causa do acúmulo de substratos não processados nos lisossomos; por esse motivo, as diferenças no tamanho e na aparência das células dependem da disponibilidade dos substratos (carboidratos ou lipídios) no órgão. Muitos lipídios e glicolipídios são únicos no SNC, então quando existe um defeito lisossomal, as células neurais frequentemente acumulam o substrato (McGAVIN e ZACHARY, 2009). Microscopicamente, os neurônios afetados frequentemente apresentam um citoplasma espumoso, finamente vacuolado ou granular, que é um reflexo do grau no qual o material armazenado é removido durante o processamento histológico. Eles representam a hipertrofia adaptativa do aparelho lisossômico. Em alguns casos, a morfologia e a histoquímica da substância armazenada pode razoavelmente indicar claramente sua natureza, por exemplo, o glicogênio. Porém, as características específicas do material armazenado podem ser mais bem apreciadas por exame ultraestrutural (McGAVIN e ZACHARY, 2009; JUBB e HUXTABLE, 2010).

Em muitas DDLs, o processo é multissistêmico, e todos os neurônios estão envolvidos, incluindo os da retina e gânglios periféricos, juntamente com as células na maioria dos outros órgãos. Quando os neurônios estão envolvidos na DDL os sinais clínicos de comprometimento neurológico, eventualmente, tornam-se evidentes, mas, em geral, estes não se correlacionam com a morte neuronal significativa, e os mecanismos da disfunção ainda estão sem solução. No estágio inicial da DDL ocorre pouca morte neuronal que será progressiva, que provavelmente contribui muito significativamente para a perturbação funcional na fase final da DDL (JUBB e HUXTABLE, 2010).

3.2 Gênero *Solanum*

O gênero *Solanum* é considerado um dos maiores e mais complexos entre as angiospermas, é composto mais de 1.550 espécies e tem pelo menos 500 epítetos publicados. Algumas espécies de *Solanum* são conhecidas pela população brasileira como “Jurubeba”, mas a farmacopéia brasileira descreve apenas a espécie *S. paniculatum* como a verdadeira jurubeba (FORNI-MARTINS et al., 1998; SABIR e ROCHA, 2008; AGRA et al., 2009). Esse nome é derivado da palavra tupi-guarani "yu'beba", que se refere à presença de espinhos em algumas delas. Essa planta é encontrada em toda a América tropical, incluindo o Brasil, especialmente no Cerrado, onde cerca de 20 espécies de *Solanum* são endêmicas da região Nordeste, Sul e Sudeste e são amplamente utilizados na medicina popular (SILVA et al., 2007). Sendo que do gênero *Solanum*, a mais conhecida principalmente no Sul do Brasil é a *S. fastigiatum* var. *fastigiatum*, onde causa em bovinos uma doença neurológica caracterizada por ataques convulsivos transitórios com morbidade moderada e baixa letalidade (BARROS et al., 2006; RECH et al., 2006).

A *S. paniculatum* é uma planta tóxica de pouca importância econômica, sendo considerada uma invasora de pastagens ou de terrenos abandonados, presente nas margens de estradas, em beira de matas e em campos limpos, principalmente em capoeiras e roças abandonadas. Essa planta ocupa os mais variados tipos de solo, possuindo algumas características típicas, como a colonização rápida de ambientes abertos, perenes, arbustivas, atingindo até dois metros de altura, observando-se rebrota após a poda do ramo principal quase no nível do solo (FORNI-MARTINS et al., 1998; TOKARNIA et al., 2000; BARROS et al., 2006; GUARANÁ et al., 2011).

Devido seu uso na medicina popular e culinária regional, como chás e xaropes utilizados no tratamento da icterícia, da hepatite crônica e de febres intermitentes, além de seu uso pelas fábricas de bebidas alcoólicas, onde é produzido o vinho da jurubeba. Deve-se chamar a atenção para os riscos da utilização desta planta em humano devido sua toxicidade, já que se desconhecem os princípios ativos responsáveis pelo quadro de intoxicação (FORNI-MARTINS et al., 1998; MEDEIROS et al., 2004; SANTOS NETO et al., 2006; GUARANÁ et al., 2011). Estudos recentes mostraram o potencial anti-helmíntico da *S. paniculatum* no controle de helmintos gastrintestinais de ovelhas na

Paraíba, sendo um produto fitoterápico e uma nova alternativa para o controle dessas infecções parasitárias (VILELA et al., 2009).

3.3 Epidemiologia

A intoxicação espontânea por *S. kwebense* na África do Sul (PIENAAR et al., 1976), *S. dimidiatum* dos Estados Unidos (MENZIES et al., 1979) e *S. bonariense* do Uruguai (RIET-CORREA et al., 1983a) causam em bovinos sinais clínicos e achados anatomopatológicos semelhantes à intoxicação por *S. fastigiatum*, e *S. paniculatum* (AFONSO et al., 2009). As espécies *S. viarum*, *S. cinereum* e *S. paniculatum* causam intoxicação semelhante em caprinos na Austrália, nos Estados Unidos e no Brasil, no estado de Pernambuco, respectivamente (BOURKE, 1997; PORTER et al., 2003; BARBOSA JUNIOR et al., 2010). Relatórios da África do Sul sugerem que cavalos, burros e cabras também são afetados pela *S. cinereum* (BOURKE, 1997). Em experimentos realizados com *S. fastigiatum* em ovinos foi observado que essa espécie não mostrou sinais, porém apresentou lesões histológicas no SNC similares às observadas em bovinos, no entanto necessitam de doses e tempo de administrações maiores. Coelhos, cobaias e ratos não demonstraram susceptibilidade à intoxicação por essa espécie (ZAMBRANO et al., 1985).

Parece que os animais comem a *Solanum* sem haver necessidade de condições especiais, entretanto experimentalmente não foram observadas diferenças sazonais na ocorrência da doença e os animais precisam ingerir quantidades consideráveis da planta para apresentar sinais clínicos, o que ocorre, sobretudo, nas épocas de carência alimentar (TOKARNIA et al., 2000; BARROS et al., 2006).

A *S. paniculatum* ocorre durante todo o ano (SILVA et al., 2007) invadindo as pastagens e terrenos abandonados. Experimentos realizados com as espécies de *Solanum* sp. que causam degeneração cerebelar em bovinos demonstraram que todas as partes destas plantas são potencialmente tóxicos (BOURKE, 1997). E tanto a planta fresca quanto a planta seca são capazes de desenvolver o quadro clínico-patológico (BARROS et al., 1987).

Sob condições naturais, as intoxicações por jurubeba só tem sido observadas em bovinos com mais de oito meses de idade. Porém, experimentalmente, a doença foi

reproduzida em bovinos com seis a 12 meses de idade (ZAMBRANO et al., 1985; AFONSO et al., 2009).

Em intoxicação pela *S. paniculatum* em bovinos, as constantes epidemiológicas de morbidade, mortalidade e letalidade, variam respectivamente entre: 3 a 25%, 0 a 20% e 0 a 60%. Embora a intoxicação seja considerada de morbidade (1 a 20%) e mortalidade baixa e de baixa letalidade (3,4%), a doença é crônica, estendendo-se por vários meses, e os sinais clínicos podem persistir por muitos anos após a retirada dos animais das áreas invadidas pela planta. Em geral, não se observam mortes naturais, porque os proprietários vendem os animais para o abate, após manifestação dos sinais (RECH et al., 2007; RIET-CORREA et al., 2009).

Atualmente, desconhece-se o princípio ativo da planta, que apresenta lesões semelhantes às do grupo de DDLs, as neurolipidoses (RIET-CORREA, 1993; TOKARNIA et al., 2000; RIET-CORREA e MÉNDEZ, 2007; AFONSO et al., 2009). É possível que tenha como princípio tóxico algum inibidor enzimático ou substância que favoreça a formação de complexos lipídicos resistentes ao metabolismo (TOKARNIA et al., 2000), causando uma doença neurológica caracterizada por ataques convulsivos transitórios (BARROS et al., 2006).

Análises nas raízes de *Solanum* spp. mostram uma multiplicidade de alcalóides ou a presença de compostos que representem novos tipos estruturais. Há relatos do isolamento de um novo alcalóide esteróide, paniculidina, e seu glicosídeo, paniculina, das raízes de solanáceas brasileiras (*S. paniculatum*). Em raízes de plantas cultivadas na Europa produziu um glicosídeo, juribina, que por hidrólise enzimática ou ácida, obteve-se um mol D-glicose e uma alcalamina (jurubidina), representando este último composto um alcalóide esteróide de novo tipo estrutural (SCHREIBER, 1968), no entanto, não tem sido demonstrado que sejam essas substâncias que causem o quadro clínico (GUARANÁ et al., 2011).

Os bovinos têm que ingerir grandes quantidades da planta verde para iniciar a intoxicação, aproximadamente 10g/kg de peso vivo, diariamente, por mais de 100 dias (RIET-CORREA et al., 2009). A patogênese das lesões do cerebelo é desconhecida, mas a presença de glicolípídeo sugere que a intoxicação pode ser resultado da incapacidade de neurônios, em particular as células de Purkinje, de metabolizar a toxina da planta ou substrato celular (VAN DER LUGT et al., 2010).

3.4 Sinais clínicos

A intoxicação por espécies de *Solanum* em bovinos e caprinos caracteriza-se por sinais clínicos restritos ao SNC, característicos de uma disfunção cerebelar, com crises convulsivas ou epileptiformes periódicas e transitórias, principalmente, quando os animais são perturbados ou assustados. Apresentam tremores de intenção, opistótono, nistagmo, extensão dos membros torácicos e pescoço com marcada paresia dos membros posteriores intermitente. Nota-se perda de equilíbrio, adotando posturas anormais com graus variáveis de ataxia, hipermetria, hiperestesia e incoordenação, apresentando uma posição de base ampla e quedas para trás ou para o lado. Os animais podem recuperar-se rapidamente em alguns segundos até um minuto não apresentando sinais clínicos significativos entre as crises. Entre os episódios, a maioria dos bovinos mostram os sinais clínicos, mas alguns podem demonstrar hipermetria permanente, com lateralização do andar, extensão ou inclinação da cabeça e outras posições anormais da cabeça e do corpo (MEDEIROS et al., 2004; AFONSO et al., 2009; BARBOSA JUNIOR, 2010; GUARANA et al., 2011).

Os ataques podem ser induzidos pelo *Head Raising Test (HR Test)* ou teste de levantar a cabeça do animal por aproximadamente um minuto e soltá-la de repente (RIET-CORREA et al., 2009; BARBOSA JUNIOR et al., 2010; GUARANÁ, et al., 2011). Pienaar et al. (1976), descreveram o uso desse teste nos animais afetados que não tiveram sinais clínicos associados com deficiência grave ou súbita, episódica ou perda da consciência. Portanto, é usado nos sinais comumente associados com transtornos cerebelares, ou seja, equilíbrio perturbado, coordenação prejudicada, ataxia, mas sem perda da consciência, por isso chamada de “crises epileptiformes” e não “ataques convulsivos” (BOURKE, 1997).

As frequências das crises são variáveis e se repetem com periodicidade, em alguns casos, elas aparecem todo tempo perturbando o animal, enquanto que em outros os ataques são mais esporádicos. Em alguns animais com sinais clínicos permanentes, foram observados um andar dismétrico e olhar fixo (RIET-CORREA et al., 1983a; BOURKE, 1997; GUARANÁ et al., 2011).

Os animais com crises periódicas ou com sinais mais severos e/ou permanentes, mesmo sem acesso a planta, mantém quadro clínico estável e sem melhora, ganham

peso e demonstram sinais apenas quando bastante estimulados ou estressados. Porém, os animais com quadro clínico não muito severo que deixam de ingerir a planta, os sinais se tornam mais brandos e esporádicos, sugerindo que algum grau de reversão das lesões nesta situação possa ocorrer (BARROS et al., 2006; GUARANÁ et al., 2011).

Os animais acometidos espontaneamente e experimentalmente pela intoxicação por espécie de *Solanum* apresentam escore corporal regular com emagrecimento progressivo, permanecendo com apetite normal. Os parâmetros cardíacos, respiratórios e ruminais se encontram normais e os achados hematológicos da maioria dos animais revelam valores normais para a espécie (AFONSO et al., 2009; GUARANÁ et al., 2011).

Alguns animais podem ficar com sinais permanentes, perdem peso até ficarem em decúbito, morrendo mais tarde. Os acidentes causadores de morte mais comuns durante as crises são afogamentos, quedas com fraturas de coluna e traumas em geral (RIET-CORREA et al., 1983a; TOKARNIA et al., 2000; BARROS et al., 2006; GUARANÁ et al., 2011).

3.5 Diagnóstico

O diagnóstico da intoxicação é baseado nos sinais clínicos observados, nos dados epidemiológicos, na presença da planta, podendo ser confirmado pelas lesões histológicas características (RIET-CORREA, 1993; RIET-CORREA et al., 1998; GUARANÁ et al., 2011). Deve diferenciar essa intoxicação de outras causadas também por plantas que contém manosídeos em bovinos (*Sida carpinifolia*, *Ipomoea carnea* subsp. *fistulosa* e *Turbina cordata*), que causam degeneração cerebelar (ANTONIASSI et al., 2007; ARMIEN et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2009; DANTAS et al., 2007). A história, sinais clínicos, histopatologia são essenciais para diferenciar as sequelas da intoxicação de outras formas de degeneração cerebelar como, por exemplo, causada no útero por diarréia viral bovina (BVD), vírus abiotrófico cerebelar ou degeneração cerebelar congênita cortical (VERDES et al., 2006). Leva-se em consideração também diferenças de abiotrofia e a hipoplasia que são enfermidades congênitas, sendo que a hipoplasia aparece ao nascimento e, se não causar a morte do animal, permanece estável, enquanto que a abiotrofia aparece ao nascimento ou algumas semanas ou meses

após, com sinais clínicos progressivos, até causar a morte do animal (RIET-CORREA, 1993).

Portanto, é importante diferenciar a síndrome tóxica de *Solanum* de outras doenças neurológicas, principalmente com doenças cerebelares (BOURKE, 1997), bem como das intoxicações tremorgênicas causadas no Brasil, por *Ipomoea asarifolia* que ocorre nas regiões Norte e Nordeste (DÖBEREINER et al., 1960; RIET-CORREA et al., 2003) e pela ingestão de diversas espécies de *Paspalum* sp. contaminadas pelo fungo *Claviceps paspali* (RIET-CORREA et al., 1983b; RIET-CORREA et al., 2009). Nessas intoxicações a recuperação dos animais afetados ocorre logo após a retirada dos animais dos campos infestados (TOKARNIA et al., 2000; BARROS et al., 2006). A ingestão de *Phalaris angusta*, pelos bovinos pode ser distinguida de outras síndromes tremorgênicas através de suas alterações macroscópicas (SOUSA e IRIGOYEN, 1999).

3.6 Achados de necropsias

Na intoxicação não há lesões macroscópicas específicas na necropsia (TOKARNIA et al., 2000; MEDEIROS et al., 2004; BARROS et al., 2006; GUARANÁ et al., 2009), mas podem ser observadas lesões associadas provavelmente aos traumatismos provenientes de quedas, como por exemplo, escoriações na pele, afogamentos, luxação de quadril e ocasionalmente pode ocorrer hemorragia traumática subdural no telencéfalo e do cerebelo (RIET-CORREA et al., 1983a; RECH et al., 2006; RIET-CORREA et al., 2009). Diminuição do tamanho do cerebelo, com marcada atrofia da substância cinzenta também foram observados em casos experimentais e espontâneos de bovinos intoxicados por jurubeba (GUARANÁ et al., 2011; RECH et al., 2006).

3.7 Achados microscópicos

As lesões histológicas encontradas tanto nos casos espontâneos como nos casos experimentais de intoxicação por *Solanum* em bovinos e caprinos, estão localizadas no cerebelo, e são caracterizadas principalmente por degeneração e áreas multifocais de perda ou desaparecimento de células de Purkinje (VERDES et al., 2002; BARROS et al., 2006; AFONSO et al., 2009; GUARANÁ et al., 2009; BARBOSA JUNIOR et al.,

2010; GUARANÁ et al., 2011). Os neurônios lesados apresentam tumefação, vacuolização difusa fina do pericário e perda dos grânulos de Nissl (MEDEIROS et al., 2004), dando a célula um aspecto esponjoso e alguns núcleos aparecem com aspecto globular ou picnótico. Em alguns casos a vacuolização é tão acentuada que o núcleo das células de Purkinje é deslocado para a periferia. Por último, estes neurônios desaparecem e são substituídos pela proliferação de astrócitos da glia de Bergman ao redor dos espaços deixados pelos neurônios (PAULOVICH et al., 2002).

A depleção das camadas granular e molecular, que se encontram marcadamente diminuídas de espessura, com rarefação do neurópilo e menor número de células, quando comparadas com cerebelos de animais normais, ocorre também em consequência da remoção de axônios e dendritos das células de Purkinje (GUARANÁ et al., 2011).

Quantidades variáveis de esferóides axonais são observadas na camada granular, na substância branca e medular do cerebelo, principalmente nesta última, e nos pedúnculos cerebelares (RIET-CORREA et al., 1983a; VERDES et al., 2002; MEDEIROS et al., 2004; RECH et al., 2006; AFONSO et al., 2009; GUARANÁ et al., 2009). Associado aos esferóides axonais observam-se degeneração Walleriana (microcavitações) com macrófagos no seu interior e vacuolização da substância branca (elipsóide de mielina) e na camada granular do cerebelo (VERDES et al., 2002; RIET-CORREA et al., 2009; GUARANÁ et al., 2009; BARBOSA JUNIOR et al., 2010; GUARANÁ et al., 2011). Também pode ser observado lesão vascular leve caracterizada por manguitos perivasculares de células mononucleares (RIET-CORREA et al., 1983a).

3.8 Tratamento e profilaxia

Não se conhece tratamento e as medidas profiláticas das intoxicações por jurubeba são difíceis. A medida mais eficiente é evitar o aparecimento de novos casos de intoxicação ou perda com morte de animais. Os proprietários devem ser orientados a retirar os bovinos de pastos muito infestados pela planta, sobretudo em épocas de carência de forragem, realizar o controle da planta, ou alterar o manejo e a época do pastejo ou limitar o consumo abaixo do limiar tóxico e manejar os animais com

sintomatologia nervosa em local de fácil manejo e sem estresse (RIET-CORREA, 1993; TOKARNIA et al., 2000; RIET-CORREA et al., 2009; GUARANÁ et al., 2011).

4. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

AFONSO, J. A. B.; GUARANÁ, E. L. S.; RIET-CORREA, F.; MENDONÇA, C. L.; COSTA, N. A. Ocorrência de Intoxicação por *Solanum paniculatum* (Jurubeba) em bovinos no estado de Pernambuco. **Veterinária & Zootecnia**, Pernambuco, n. 1, p. 7, 2009.

AGRA, M. F.; NURIT-SILVA, K.; BERGER, L. R. Flora da Paraíba, Brasil: *Solanum* L. (Solanaceae). **Acta Botânica Brasílica**, Porto Alegre, v. 120, n. 3, p. 826-842, 2009.

ANTONIASSI, N. A. B.; FERREIRA, E. V.; SANTOS, C. E. P.; ARRUDA, L. P.; CAMPOS, J. L. E.; NAKAZATO, L.; COLODEL, E. M. Intoxicação espontânea por *Ipomoea carnea* subsp. *fistulosa* (Convolvulaceae) em bovinos no Patanal Matogrossense. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 27, n. 10, p. 415-418, out., 2007.

BARBOSA, R. R.; FILHO, M. R. R.; SILVA, I. P.; SOTO-BLANCO, B. Plantas tóxicas de interesse pecuário: importância e formas de estudo. **Acta Veterinária Brasílica**, Mossoró, v. 1, n. 1, p. 1-7, 2007.

BARBOSA JUNIOR, S. A.; MONTEIRO, B. C. M.; ALBUQUERQUE, R. F.; CUNHA, A. L. B.; MENDONÇA, F. S. Ocorrência de doença lisossomal associada à ingestão de *Solanum paniculatum* em caprinos em Pernambuco. In: JORNADA DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO, 10., 2010, Recife-PE. **Anais...** Recife-PE: UFRPE, 2010.

BARROS, S. S.; RIET-CORREA, F., ANDUJAR, M. B.; BARROS, C. S. L.; MÉNDEZ, M. C.; SCHILD, A. L. *Solanum fastigiatum* var. *fastigiatum* and *Solanum* sp. poisoning in cattle: ultrastructural changes in the cerebellum. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v.7, n.1, p.1-5, 1987.

BARROS, C. S. L.; DRIEMEIER, D.; DUTRA, I. S.; LEMOS, R. A. A. **Doenças do sistema nervoso de bovinos no Brasil**. São Paulo:Valleé, 2006. 207p. (Coleção Vallée).

BOURKE, C. A. Cerebellar degeneration in goats grazing *Solanum cinereum* (Narrawa burr). **Australian Veterinary Journal**, Brunswick, v. 75, n. 5, p.363-365, maio. 1997.

DANTAS, A. C.; GUIMARÃES, J. A.; CÂMARA, A. C.; AFONSO, J. A. B.; MENDONÇA, C. L.; COSTA, N. A.; SOUZA, M. I. Intoxicação por comigo-ninguém-pode (*Dieffenbachia* sp.) em caprino. **Ciência Veterinária nos Trópicos**, Recife, v. 10, n. 2/3, p. 119-123, 2007.

DÖBEREINER, J.; TOKARNIA, C. H.; CANELLA, C. F. C. Intoxicação experimental pela “salsa” (*Ipomoea asarifolia* R. et Schult) em ruminantes. **Arquivos do Instituto Biológico Animal**, São Paulo, v. 3, p. 39-57, 1960.

DRIEMEIER, D.; COLODEL, E. M.; GIMENO, E. J.; BARROS, S. S. Lysosomal storage disease caused by *Sida carpinifolia* poisoning in goats. **Veterinary Pathology**, Washington, v. 37, n. 2, p. 153-159. 2000.

FORNI-MARTINS, E. R.; MARQUES, M. C. M.; LEMES, M. R. Biologia floral e reprodução de *Solanum paniculatum* L. (Solanaceae) no Estado de São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 21, n. 2, p. 117-124, 1998.

GUARANÁ, E. L. S.; RIET-CORREA, F.; MENDONÇA, C. L.; MEDEIROS, M. T.; COSTA, N. A.; AFONSO, J. A. B. Poisoning by *Solanum paniculatum* in cattle in Pernambuco, Northeastern Brazil. IN: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON POISONOUS PLANTS, 8., 2009, João Pessoa-PB. **Proceeding...** João Pessoa-PB, 2009. p. 62.

GUARANÁ, E. L. S.; RIET-CORREA, F.; MENDONÇA, C. L.; MEDEIROS, R. M. T.; COSTA, N. A.; AFONSO, J. A. B. Intoxicação por *Solanum paniculatum* (Solanaceae) em bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 31, n. 1, p. 59-64, jan. 2011.

JAMES, L. F. Overview of poisonous plants problems in the United States. In: KEELER, R.; VAN KAMPER, K. R.; JAMES, L. F. (eds.). **Effects of poisonous plants on livestock**. New York: Academic Press, 1978. 600p.

JAMES, L. F.; HARTLEY, W. J.; VAN-KAMPEN, K. R. Syndromes of *Astragalus* poisoning in livestock. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 178, p. 146-150, 1981.

JOLLY, R. D. Lysosomal storage diseases in livestock. **Veterinary Clinics of North America: Food animal practice**, Philadelphia, v. 9, n. 1, p. 41-53, mar., 1993.

JOLLY, R. D.; WALKLEY, S. U. Lysosomal storage diseases of animals: an essay in comparative pathology. **Veterinary Pathology**, Washington, v. 34, p. 159-163, 1997.

JUBB, K. V. F.; HUXTABLE, C. R. The nervous system. In: JUBB, K. V. F.; KENNEDY, P. C.; PALMER, N. (Eds.). **Pathology of Domestic Animals**. San Diego: Academic Press, 2010. v. 1, n. 4, p. 267-437.

McGAVIN, M. D.; ZACHARY, J. F. **Bases da Patologia em Veterinária**. 4 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009. 1476 p.

MEDEIROS, R. M. T.; GUILHERME, R. E.; RIET-CORREA, F.; BARBOSA, R. C.; LIMA, E. F. Intoxicação Experimental por *Solanum Paniculatum* (jurubeba) em bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 24 (supl.), p. 41, 2004.

MENZIES, J. S.; BRIDGES, C. H.; BAYLEY Jr, E. M. A neurological disease of cattle associated with *Solanum dimidiatum*. **The Southwestern Veterinarian**, Texas, v. 32, p. 45-49. 1979.

OLIVEIRA, C. A.; BARBOSA, J. D.; DUARTE, M. D.; CERQUEIRA, V. D.; RIET-CORREA, F.; RIET-CORREA, G. Intoxicação por *Ipomoea carnea* subsp. *fistulosa* (Convolvulaceae) em caprinos na Ilha de Marajó. Pará. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 29, n. 7, p. 583-588, 2009.

PAULOVICH, F. B.; PORTIANSKI, E. L.; GIMENO, E. J.; SCHILD, A. L.; MENDEZ, M. C.; RIET-CORREA, F. Lectin histochemical study of lipopigments present in the cerebellum of *Solanum fastigiatum* var. *fastigiatum* intoxicated cattle. **Journal of Veterinary Medicine. Series A, Physiology, Pathology, Clinical Medicine**, Berlin, v. 49, p. 473-477, 2002.

PIENAAR, J. G.; KELLERMAN, T. S.; BASSON, P. A.; JENKINS, W. L.; VAHRMEIJER, J. Maldronksiekte in cattle: a neuronopathy caused by *Solanum kwebense* N. E. Br. **Onderstepoort Journal of Veterinary Research**, Pretoria, v. 43, p.67-74, jun. 1976.

PORTER, M. B.; MACKAY, R. J.; UHL, E.; PLATT, S. R.; DE LAHUNTA, A. Neurologic disease putatively associated with *Solanum viarum* in goats. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 223, n. 4, p. 501-504, 2003.

RALPH, W. S. **Sistema nervoso central**. In: THOMSON, R. G. Patologia Veterinária Especial. São Paulo: Manole, 1990. p. 579-643.

RECH, R. R.; RISSI, D. R.; RODRIGUES, A.; PIEREZAN, F.; PIAZER, J. V. M.; KOMERS, G. D.; BARROS, C. S. L. Intoxicação por *Solanum fastigiatum* (Solanaceae) em bovinos: epidemiologia, sinais clínicos e morfometria das lesões cerebelares. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 26, n. 3, p. 183-189, jul./set. 2006.

RECH, R. R.; RODRIGUES, A.; RISSI, D. R.; RIET-CORREA, F.; BARROS, C. S. L. Poisonous plants affecting the Central Nervous System (CNS) of cattle in Brazil. In: PANTER, K. E.; WIERENGA, T. L.; PFISTER, J. A. (eds.) **Poisonous plants: Global research and solutions**. Wallingford: CAB International, 2007. p. 238-243.

RIET-CORREA, F. Intoxicação por *Solanum fastigiatum* var. *fastigiatum*. In: RIET-CORREA, F.; MÉNDEZ, M. C.; SCHILD, A. L. **Intoxicação por plantas e micotoxícoses em animais domésticos**. Montevideo: Agropecuária Hemisfério Sul, 1993. v. 1, p. 113-120.

RIET-CORREA, F.; MEDEIROS, R. M. T.; PFISTER, J.; SCHILD, A. L.; DANTAS, A. F. M. **Poisonings by plants, mycotoxins and related substances in Brazilian livestock**. João Pessoa-PB: Sociedade Vicente Pallotti, 2009. 246p.

RIET-CORREA, F.; TABOSA, I. M.; AZEVEDO, E. O.; MEDEIROS, R. M. T.; SIMOES, S. V. D.; DANTAS, A. F. M.; ALVES, C. J.; NOBRE V. M. T.; ATHAYDE, A. C. R.; GOMES, A. A.; LIMA, E. F. **Semi-árido em Foco**. Patos: UFCG, 2003. v. 1, n. 1, p. 56-57.

RIET-CORREA, F.; MEDEIROS, R. M. T. Intoxicações por plantas em ruminantes no Brasil e no Uruguai: Importância econômica, controle e riscos para a saúde pública. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 21, n. 1, p.00-00, jan./mar., 2001.

RIET-CORREA, F.; MEDEIROS, R. M. T.; TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J. Toxic plants for livestock in Brazil: toxic species, economic impact and public health. INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON POISONOUS PLANTS, 8., Logan-Ut. **Proceeding...** Logan-UT, 2006.

RIET-CORREA, F.; MEDEZ, M. D.; SCHILD, A. L.; SUMMERS, B. A.; OLIVEIRA, J. A. Intoxication by *Solanum fastigiatum* var. *fastigiatum* as a cause of cerebellar degeneration in cattle. Estados Unidos: **Cornell Veterinarian**, Ithaca, v. 73, n. 3, p.240-256, 1983a.

RIET-CORREA, F.; MÉNDEZ, M. C. Intoxicações por plantas e Micotoxinas. In: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L.; LEMOS, R. A. A.; BORGES, J. R. J. **Doenças de Ruminantes e Equídeos**. Santa Maria: Pallotti, 2007. p. 99-221.

RIET-CORREA, A. F.; MÉNDEZ, M. C. Introdução ao estudo das plantas tóxicas. In: RIET-CORREA, F.; MÉNDEZ, M. C.; SCHILD, A. L. **Intoxicações por plantas e micotoxicoses em animais domésticos**. Pelotas: Hemisfério Sul, 1993. p. 1-20

RIET-CORREA, F.; MÉNDEZ, M. C.; SCHILD, A. L. **Intoxicações por plantas e micotoxicoses em animais domésticos**. Pelotas: Hemisfério Sul do Brasil, 1993. 340p.

RIET-CORREA, F.; MÉNDEZ, M. C.; BARROS, C. S. L.; GAVA, A. Poisonous plants of Rio Grande do Sul. In: COLEGATE, S. M.; DORLING, P. R. (eds.). **Plant-Associated Toxins: Agricultural, phytochemical and ecological aspects**. Wallingford, Oxfordshire, UK: CAB International, 1994. p. 13-18.

RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L.; FERNANDES, C. G. Enfermidades do sistema nervoso dos ruminantes no Sul do Rio Grande do Sul. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.28, n. 2, p. 341-348, 1998.

RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L.; MÉNDEZ, M. C.; TAVARES, A. S.; RODRIGUES, J. O. Intoxicação por *Claviceps paspali* em bovinos no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 3, p.59-65, 1983b.

RISSI, D. R.; RECH, R. R.; PIEREZAN, F.; GABRIEL, A. L.; TROST, M. E.; BRUM, J. S. KOMMERS, G. D.; BARROS, C. S. L. Intoxicações por plantas e micotoxinas associadas a plantas em bovinos no Rio Grande do Sul: 461 casos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 27, n. 7, p. 261-268, jul. 2007.

RISSI, D. R.; SANT'ANA, F. J. F.; PIEREZAN, B. L.; ANJOS, B. L.; BARROS, C. S. L. Poisonous plants affecting sheep in Southern Brazil. In: RIET-CÔRREA, F.; PFISTER, J.; SCHILD, A. L.; WIERENGA, T. (eds.). **Poisoning by plants, mycotoxins and related toxins**. Cambridge: CAB international, 2011, p. 73-78.

RODRIGUES, A. S.; CHAVES, N. S. T.; DAMASCENO, A. D.; SOUZA, M. A.; ROCHA JUNIOR, L. H.; GONZAGA JUNIOR, W. C. Aspectos anatomo-histopatológicos da intoxicação experimental de bovinos pela ingestão de frutos de *Stryphnodendron fissuratum* MART. ("Rosquinha"). **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v.6, n. 3, p. 195-202, jul./set. 2005.

SABIR, S. M.; ROCHA, J. B. T. Antioxidant and hepatoprotective activity of aqueous extract of *Solanum fastigiatum* (false "Jurubeba") against paracetamol-induced liver damage in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 120, p. 226-232, 2008.

SANCHES, A. W. D.; LAGBOBR, I. M.; STIGGER, A. L. BARROS, S. L. Doenças do sistema nervosa central em bovinos no Sul do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 20, n. 3, p.113-118, jul./set. 2000.

SANTOS, J. C. A.; RIET-CORREA, F.; SIMÕES, S. V. D.; BARROS, C. L. S. Patogênese, sinais clínicos e patologia das doenças causadas por plantas hepatotóxicas em ruminantes e equinos no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 28, n. 1, p. 1-14, 2008.

SANTOS NETO, O. D.; KARBURG, I. V.; YOSHITOME, M. Y. Viabilidade e germinabilidade polínica de populações de jurubeba (*Solanum paniculatum* l.). **Ciência Agro-Ambientais**, Alta Floresta. v. 4, n. 1, p. 67-74, 2006.

SCHREIBER, K. Steroid Alkaloids: the *Solanum* group. In: _____. **The Alkaloids: Chemistry and Pharmacology**. New York: Academic Press, 1968. v. 10 p. 1-82.

SILVA, D. M.; RIET-CORREA, F.; MEDEIROS, R. T.; OLIVEIRA, O. D. Plantas tóxicas para ruminantes e equídeos no Seridó Ocidental e Oriental do Rio Grande do Norte. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 26, n. 1, p. 223-236, 2006.

SILVA, T. M. S.; NASCIMENTO, R. J. B.; BATISTA, M. M.; AGRA, M. F.; CAMARA, C. A. Brine shrimp bioassay of some species of *Solanum* from Northeastern Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 17, n. 1, p. 35-38, Jan./Mar. 2007.

SMITH, M. O. Doenças do Sistema Nervoso. In: **Tratado de medicina interna de grandes animais** (Smith B. P., ed.). São Paulo: Manole, 2006. p. 872-1018.

SOUSA, R. S.; IRIGOYEN, L. F. Intoxicação experimental por *Phalaris angusta* (Gramineae) em bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 19, n.3/4, p.116-122, jul./dez., 1999.

TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J.; PEIXOTO, P. V. **Plantas tóxicas do Brasil**. Rio de Janeiro: Helianthus, 2000. 310p.

TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J.; SILVA, M. F. **Plantas tóxicas da Amazônia a bovinos e outros herbívoros**. Manaus: Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia, 1979. 95p.

VAN DER LUGT, J. J.; BASTIANELLO, S. S.; VAN EDEREN, A. M.; VAN WILPE, E. Cerebellar cortical degeneration in cattle caused by *Solanum kwebense*. **The Veterinary Journal**, London, v. 185, n. 2, p. 225-227, Aug. 2010.

VERDES, J. M.; MORAÑA, A.; BATTES, D.; GUERRERO, F.; RIET-CORREA, F.; SANTOS, C. G. Enfermedad cerebelosa em bovinos ocasionada por lá ingestion de *Solanum bonariensis*. In: CONGRESSO LATINOAMERICANO DE BUIATRÍA, 10., 2002, Paysandú- Uruguay. **Anais...** Paysandú-Uruguay, 2002. p. 252-255.

VERDES, J. M.; MORAÑA, A.; GUTIÉRREZ, F.; BATTES, D.; FIDALGO, L. E.; GUERREIRO, F. Cerebellar degeneration in cattle grazing *Solanum bonariense* ("Naranjillo") in western Uruguay. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, Columbia, v. 18, p.299-303. 2006.

VILELA, V. L. R.; FEITOSA, T. F.; LÔBO, K. M. S.; BEZERRA, D. A. C.; ATHAYDE, A. C. R. Potencial anti-helmíntico da raiz de *Solanum paniculatum* Linnaeus (1762) em ovelhas do Semi-Árido Paraibano. **Acta Veterinaria Brasilica**, Mossoró, v. 3, n. 1, p. 20-24, 2009.

ZAMBRANO, M. S.; RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L.; MÉNDEZ, M. C.; Intoxicação por *Solanum fastigiatum* var. *fastigiatum*: evolução e reversibilidade das lesões em bovinos, e susceptibilidade de ovinos, coelhos, cobaias e ratos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 5, n. 4, p. 133-141, 1985.

5. ARTIGO CIENTÍFICO

Alterações no SNC e morfometria cerebelar de bovinos intoxicados experimentalmente por
Solanum paniculatum

Submetido para envio

Alterações no SNC e morfometria cerebelar de bovinos intoxicados experimentalmente por *Solanum paniculatum*¹

Rafael O. Rego², José A.B. Afonso³, Carla L. de Mendonça³, Gliere S.L. Soares⁴, e Márcia B.A.M. Torres⁵

ABSTRACT. - Rego O.R., Afonso J.A.B., Mendonça C.L., Soares G.S.L & Torres M.B.A.M. 2012. [In.] [Alterations in the CNS and cerebellar morphometry of cattle experimentally poisoned by *Solanum paniculatum*.]. Alterações no SNC e morfometria cerebelar de bovinos intoxicados experimentalmente por *Solanum paniculatum*. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 00(0):00-00. Universidade Federal Rural de Pernambuco/Unidade Acadêmica de Garanhuns (UAG), Av. Bom Pastor s/n, Cx. Postal 152, Mundaú, Garanhuns, PE 55296-901, Brasil, Email: faelvet@yahoo.com.br.

Some species of *Solanum* cause poisoning in ruminants clinically characterized by cerebellar disorders and microscopically lysosomal storage disease. There are no specific necropsy injuries and microscopically occurs vacuolization and Purkinje cells loss. Since *S. paniculatum* is the species of greater occurrence in the Northeast region of Brazil and is responsible for spontaneous intoxication outbreaks in Pernambuco State, an experimental delineation was carried out to characterize the clinical and pathological condition of the intoxication. Five cattle were randomly allotted in two groups, with four animals in the experimental group (EG) and one animal as control (CG), with six months of age, no defined breed and weighting 120 kg. All animals were kept in stalls along 5 months in the Clínica de Bovinos de Garanhuns/UFRPE. All animals from the experimental group were fed 5g/kg/body weight/day of *S. paniculatum* which was mixed in the ration. The plant was collected in farms where outbreaks of intoxication were described. A Head Raising Test was weekly performed to determine the occurrence of any cerebellum clinical signs and when the result was positive the animal was submitted to a blood and cerebrospinal fluid sampling and subsequently euthanized. The CNS and *rete mirabile* were fixed in 10% buffered formalin and stained by hematoxylin-eosin for histological evaluation. Morphometric analysis of cerebellum injuries was accomplished. To evaluate the laboratory results, it was used descriptive analysis and in relation to morphometry the Student t test ($p < 0.05$) was used in the counting of Purkinje cells and the thickness of the molecular layer of the cerebellum the Mann Whitney test, with 5% level of significance. Three animals showed clinical signs of intoxication a mean period of 90 days and one animal in 155 days. Clinical signs involved transient seizure episodes and balance disturbance. At necropsy there were no specific injuries of intoxication observed as well as changes in red and white cell blood count and liquor analysis. Histological examination showed mainly thin vacuolization of the pericardium, loss of Purkinje cells with Wallerian degeneration, spheroid axons in the granular layer and in the marrows white matter with astrocytes Bergman proliferation. Vacuolization and neuron necrosis were also observed in other sites the obex, cerebellum peduncles, rostral and caudal colliculi and rarely in the thalamus, basal ganglia, hippocampus and medulla oblongata. Morphometric analysis did not differ significantly ($p < 0.05$) in number of Purkinje cells and in molecular layer thickness between the EG and CG, showing that despite the cattle develop clinical symptoms of intoxication and marked histopathological changes, these experimental conditions had caused no significant morphometric changes in relation to the CG. It is suggested a greater time of administration of the plant for the development of most intense lesions as natural cases. Laboratory results of blood and cerebrospinal fluid do not reflect changes related to poisoning by the plant.

INDEX TERMS: Jurubeba, Purkinje cells, vacuolization, cerebellum, ruminants.

¹ Recebido em ...

Aceito para publicação em

Parte da dissertação do primeiro autor no Programa de Pós-Graduação em Sanidade e Reprodução de Ruminantes, Universidade Federal Rural de Pernambuco/Unidade Acadêmica de Garanhuns (UAG).

² Pós-Graduando em Sanidade e Reprodução de Ruminantes, Universidade Federal Rural de Pernambuco/Unidade Acadêmica de Garanhuns (UAG), Av. Bom Pastor s/n, Cx. Postal 152, Mundaú, Garanhuns, PE 55296-901, Brasil, E-mail: faelvet@yahoo.com.br.

³ Clínica de Bovinos, Campus Garanhuns, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Av. Bom Pastor s/n, Cx. Postal 152, Mundaú, Garanhuns, PE 55292-901, Brasil. E-mail: afonsojab@oi.com.br.

⁴ Aluno de Graduação do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco/Unidade Acadêmica de Garanhuns (UAG), Av. Bom Pastor s/n, Cx. Postal 152, Mundaú, Garanhuns, PE 55296-901, Brasil, E-mail: glieresilmara@hotmail.com.

⁵ Professor Adjunto 1 do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco/Unidade Acadêmica de Garanhuns (UAG), Av. Bom Pastor s/n, Cx. Postal 152, Mundaú, Garanhuns, PE 55296-901, Brasil, E-mail: bersane@hotmail.com.

RESUMO - Algumas espécies de *Solanum* causam intoxicações em ruminantes caracterizadas clinicamente por distúrbios cerebelares e microscopicamente como doença do depósito lisossomal. Não há lesões de necropsia específicas e microscopicamente ocorrem vacuolização e perda de neurônios de Purkinje. Por ser *S. paniculatum* a espécie de ocorrência na região Nordeste, sendo responsável pelos surtos de intoxicação espontânea descrito no Estado de Pernambuco foi realizado um delineamento experimental para caracterizar o quadro clínico-patológico da intoxicação. Foram usados cinco bovinos, sendo quatro no grupo experimental (GE) e um animal no controle (GC), de seis meses de idade, sem raça definida, com peso de 120 Kg, mantidos em baias durante cinco meses na Clínica de Bovinos de Garanhuns/UFRPE. Os animais receberam a planta, colhida nas propriedades em que ocorreram os surtos naturais, na dosagem de 5g/kg/PV/dia misturada na ração por ingestão natural. Semanalmente realizou-se o *Head Raising Test* para determinar os sinais cerebelares e quando positivo os animais foram submetidos à colheita de sangue e do líquido céfalo-raquidiano e em seguida foi feita a eutanásia. O SNC e a *rete mirabile* foram fixados em formol a 10% tamponado, processados rotineiramente e corados pela hematoxilina e eosina para avaliação histopatológica. Foi realizada análise morfométrica das lesões cerebelares. Para avaliação dos resultados laboratoriais utilizou-se análise descritiva e em relação à morfometria, empregou-se o teste T de Student ($p < 0.05$) na contagem de células de Purkinje e para a espessura da camada molecular do cerebelo o teste de Mann Whitney, com nível de 5% de significância. Três animais apresentaram sinais de intoxicação com tempo em média de 90 dias e um com 155 dias. Os sinais clínicos observados foram ataques convulsivos transitórios, e distúrbios do equilíbrio. Na necropsia não foram encontradas lesões específicas da intoxicação. Não houve alterações no hemograma e no líquido céfalo-raquidiano causado pela planta. No histopatológico havia principalmente vacuolização fina do pericário e perda de células de Purkinje, com degeneração Walleriana e esferóides axonais na camada granular e na substância branca medular, com proliferação dos astrócitos de Bergman. Vacuolização e necrose neuronal também foram observadas no óxex, pedúnculos cerebelares e colículos rostral e caudal e raramente no tálamo, núcleos da base, hipocampo e medula oblonga. Na análise morfométrica não houve diferença significativa ($p < 0.05$) entre o número de células de Purkinje e a espessura da camada molecular entre o GE e GC, demonstrando que apesar dos bovinos desenvolverem quadro clínico da intoxicação e alterações histopatológicas acentuadas, mas nestas condições experimentais não ocorreram alteração morfométricas significativas em relação ao GC. Sugerindo que há necessidade de um tempo de administração maior da planta para o aparecimento de lesões mais acentuadas como as que ocorrem em casos naturais. Os resultados laboratoriais de sangue e do líquido céfalo-raquidiano não refletem alterações relacionadas à intoxicação pela planta.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Jurubeba, células de Purkinje, vacuolização, cerebelo, ruminantes.

INTRODUÇÃO

Algumas espécies de *Solanum*, popularmente conhecidas como “jurubeba”, causam intoxicações espontâneas em bovinos e caprinos caracterizadas clinicamente por distúrbios cerebelares e microscopicamente como doença do depósito lisossomal (Sant’Ana et al. 2011).

A jurubeba ocorre o ano inteiro invadindo pastagens e terrenos abandonados e para que ocorra a intoxicação é necessário o consumo de quantidades consideráveis da planta, o que ocorre sobretudo em épocas de carência alimentar (Tokarnia et al. 2000). No Brasil a ocorrência de intoxicação por jurubebas mais estudada é por *S. fastigiatum* na região Sul (Rech et al. 2006), enquanto que em relação a *S. paniculatum*, existem poucos relatos sobre intoxicações espontâneas e experimentais (Medeiros et al. 2004, Barbosa Junior et al. 2010, Afonso et al. 2009). Surtos de intoxicação por essa espécie em bovinos foram diagnosticados durante o período de três anos (2005 a 2008) em propriedades do Agreste do Estado de Pernambuco (Guaraná et al. 2011).

A intoxicação por *S. paniculatum* causa uma doença neurológica caracterizada clinicamente por ataques convulsivos transitórios e à necropsia não são encontradas lesões macroscópicas específicas. O diagnóstico é realizado através dos sinais clínicos observados e dos dados epidemiológicos, sendo confirmadas pela observação das lesões histológicas características, localizadas principalmente no cerebelo, mais especificamente nas células de Purkinje que apresentam vacuolização no citoplasma, com áreas multifocais de perda ou desaparecimento destas células, além da presença de esferóides axonais (Guaraná et al. 2011).

Por ser *S. paniculatum* a espécie predominante na região Nordeste e a responsável pelos surtos de intoxicação espontânea descritos no Estado de Pernambuco, é de fundamental importância o desenvolvimento de estudo para caracterização do quadro de toxidez causado por esta espécie de *Solanum*. Portanto o objetivo deste trabalho foi realizar um estudo experimental da *S. paniculatum* em bovinos desenvolvendo o quadro clínico-patológico, as alterações do líquido céfalo-raquidiano, descrever a localização das lesões no SNC e realizar a morfometria da lesão cerebelar.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais

No experimento foram utilizados cinco bovinos machos escolhidos ao acaso e divididos em dois grupos: grupo experimental (GE) com quatro animais identificados como B1, B2, B3 e B4, permanecendo em dupla por baias e o grupo controle (GC) com um bezerro chamado de controle (BC), com faixa etária de aproximadamente seis meses de idade sem raça definida (SRD), com peso médio de 120 Kg. Os animais foram mantidos em baias de alvenaria, em sistema de criação intensiva, e submetidos ao mesmo manejo higiênico sanitário e nutricional, onde foram vacinados contra raiva, vermifugados e alimentados durante o experimento com capim elefante (*Pennisetum purpureum*) e tifton (*Cynodon dactylon*) à vontade e ração comercial, equivalente a 1% de peso vivo, receberam água e sal mineral *ad libitum*. Foi estabelecido um período de 30 dias para a adaptação dos animais, sendo realizado parasitológico de fezes e hemogramas para verificar a higidez clínica dos animais para o início do experimento.

Colheita e ingestão da planta

A planta *S. paniculatum* foi colhida manualmente na propriedade em que foram relatados os casos naturais de intoxicação, no município de Brejão no Pernambuco. Três colheitas foram realizadas durante os meses de março, abril e setembro de 2010 e uma adicional em Janeiro de 2011. Após a colheita a planta foi dessecada a sombra durante uma semana, sendo revolvidas diariamente, e após a secagem as folhas foram trituradas em moinho industrial. Depois de triturada foi armazenada em local seco e ventilado e acondicionada em saco plástico em temperatura ambiente, sendo semanalmente pesada em balança digital (Filizola® CS-15).

A planta foi fornecida no cocho aos animais do GE por ingestão natural, misturada na ração comercial, na dose única de 5g/kg/peso vivo diariamente pela manhã até o dia anterior ao da eutanásia. Um bezerro (BC) que não recebeu a planta, recebendo apenas a ração comercial, serviu como animal controle. Os animais foram pesados semanalmente para o ajuste da dose da planta. A duração do experimento foi de cinco meses. A dose e período de experimentação seguiram o que foi preconizado por Medeiros et al. (2004) e Afonso et al. (2009).

Exame Clínico

Os animais foram avaliados clinicamente, diariamente pela manhã antes da ingestão da planta durante, todo período experimental segundo Dirksen et al. (1993) observando-se as características de atitude, comportamento de postura e movimentação, apetite, frequência cardíaca e respiratória, motilidade retículo-ruminal (frequência e amplitude), temperatura retal, o aspecto das fezes e urina e entre outros achados. *Head Raising Test (HR test)* foi o teste de controle realizado semanalmente para determinar os sinais cerebelares. O teste consistia em levantar a cabeça do animal forçando-a para trás no sentido crânio caudal, mantendo essa posição durante um minuto e soltando-a subitamente logo após, se houvesse uma crise com perda de equilíbrio e crise epileptiforme o teste então era considerado positivo (Pienaar et al. 1976). Esses testes eram realizados fora das baias para a observação da movimentação e postura e evitar traumas secundários.

Os animais foram eutanasiados após o resultado positivo do *HR test*, sendo mantidos por uma a três semanas para observação da ocorrência de crises espontâneas. Os animais foram submetidos a análises de amostras de sangue e de líquido céfalo-raquidiano (LCR) e em seguida foi feita a eutanásia com tiopental sódico (Cristália) (15 mg/kg), xilazina (Sedazine®) a 10% (0,2 mg/kg) e cloreto de potássio (EquiPLEX) a 19,1% (0,8 mL/kg) (Luna & Teixeira 2007).

Análise laboratorial

Os exames laboratoriais foram realizados através da obtenção de amostras de sangue coletadas em dois momentos, no período de adaptação para verificar a normalidade dos parâmetros hematológicos e imediatamente antes da colheita do LCR. A realização do hemograma e as determinações das concentrações plasmáticas de proteína total e fibrinogênio foram realizadas conforme descrito por Jain (1986). Para determinação da glicose foram utilizadas as amostras de plasma e no soro foram analisados as seguintes variáveis bioquímicas: aspartato aminotransferase (AST), lactato desidrogenase (LDH), creatina quinase (CK), proteínas totais e albumina. Estas determinações das atividades séricas foram realizadas em analisador semi-automático (Labquest) seguido o processamento recomendado pelos kits comerciais (Labtest). A proteína total sérica foi mensurada pelo método de biureto (Labtest).

A colheita do LCR foi feita assepticamente através do espaço atlantoccipital (Scott, 1995), por meio de fluxo livre, sendo coletada uma amostra de dois a três mL, fracionada em três frascos a fim de minimizar os riscos de contaminação com sangue. Para a análise do LCR foi utilizada uma fração da amostra do terceiro tubo (Stöber 1993). A análise física foi realizada segundo as especificações preconizadas por Stöber (1993) avaliando-se

coloração e aspecto (transparência), densidade por meio de refratometria, o pH utilizando fita reagente (Merck) e prova de Pandy segundo a metodologia de Meyer & Harvey (1998). Foram realizadas as determinações da proteína (Kit sensiprot- Labtest), glicose, e as atividades séricas da CK, LDH e AST com kits comerciais (Labtest) e a leitura foi realizada em um analisador (Labquest) bioquímico semi-automático.

As contagens globais de leucócitos contidas no LCR foram efetuadas na Câmara de Neubauer (Herka®) realizou-se a contagem com microscópio óptico usando a objetiva de 10X. De cada amostra foi realizada a análise diferencial, provenientes da centrifugação das amostras em citocentrífuga (Fanem-SP/Brasil) durante cinco minutos a 3000 rpm. Os esfregaços foram corados com Panótico rápido (Laborclin) e foram analisados ao microscópio óptico (Microscópio Leica modelo DM500 com câmera digital Leica modelo DFC290) com objetiva de 100X (Stöber 1993). A contagem global de células foi realizada prontamente após a obtenção das amostras, a fim de evitar degeneração celular.

Avaliação anátomo-patológica

Durante a necropsia foram colhidos encéfalo e a medula espinhal em formol tamponado a 10% o encéfalo e a medula foram fixados na íntegra por sete dias, e após 24 horas da colheita, o encéfalo foi seccionado transversalmente para melhor fixação. Os seguintes fragmentos do SNC foram selecionados para exame histopatológico seguindo o protocolo de colheita de Rech et al. (2006) em bovinos intoxicados por *S. fastigiatum*: fragmentos de bulbo na altura do óbex, cerebelo, ponte com pedúnculos cerebelares, mesencéfalo na altura dos colículos rostrais e caudais, córtex occipital, seção do diencéfalo através da massa intermédia, incluindo córtex parietal, hipocampo e tálamo, córtex frontal na altura do joelho do corpo caloso e dos núcleos de base. Sendo acrescentado a *Rete mirabiles* (gânglio trigeminal) e as medulas: oblonga (bulbo), cervical, torácica, lombo-sacro e cauda eqüina. Estes fragmentos foram processados rotineiramente e corados pela hematoxilina e eosina (HE) para avaliação descritiva da lesão (Barros & Marques 2003).

Análise morfológica

Foi feito um estudo morfológico de secção longitudinal do verme cerebelar utilizando um software (Leica LAS *Interactive Measurements*) de morfometria. Nestes cortes as células de Purkinje foram contadas em 20 campos microscópicos com objetiva de 10X. Em cada campo foram contadas todas as células de Purkinje de uma folha cerebelar. Foi avaliada também a espessura da camada molecular através da mensuração de três medidas por folha (faces laterais e ápice da folha) nas mesmas folhas cerebelares em que foram contadas as células de Purkinje (Rech et al. 2006). O material para a avaliação anátomo-patológica foi obtido dos animais de ambos os grupos experimentais.

Análise estatística

Para a análise estatística das variáveis relacionadas ao hemograma, enzimas séricas, proteínas totais, albumina no sangue e no LCR foi realizada análise descritiva. Com relação à morfometria, empregou-se o teste T de Student ($p < 0.05$) para avaliar o comparativo de contagem de células de Purkinje entre GE e GC. Para a mensuração da espessura da camada molecular do cerebelo entre os grupos empregou-se o teste de Mann Whitney, com nível de 5% de significância, através do programa *SigmaStat 3.0* (Curi 1997).

Aprovação do Comitê de Ética

A Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), da UFRPE aprovou o delineamento experimental sob o processo n. 017559/2008.

RESULTADOS

Achados clínicos

Todos os bovinos de ambos os grupos experimentais apresentavam um bom escore corporal, em virtude do ganho de peso observado no final do experimento. O consumo médio da planta pelos animais foi de 96 Kg.

O delineamento experimental com os principais dados sobre a administração da planta *S. paniculatum* aos bovinos, bem como sobre o desfecho: períodos de alimentação, peso do animal inicial e final e da quantidade de planta consumida até a observação do *HR test* positivo e sacrifício subsequentes são apresentados no quadro 01.

Em relação aos parâmetros clínicos avaliados como: aspecto da urina, micção, dinâmica e plenitude ruminal não foram observadas alterações. Enquanto que no exame das fezes do GE foram observadas na maior parte do período, fezes ressecadas em forma de disco. Os parâmetros cardíacos, respiratórios e temperatura corpórea apresentaram-se dentro da normalidade para espécie.

Quanto à avaliação do comportamento no decorrer do experimento, a partir de 70 dias, três animais (B1, B2 e B4) apresentaram um quadro neurológico leve de hiperestesia, excitação, olhar ansioso, tremores de intenção e

dificuldade para se levantar do decúbito esternal, permanecendo em posição de base ampla (Figura 01a). Este quadro ocorria quando os animais eram manejados. Com a evolução do quadro clínico os animais não caíam, mas mostravam uma extensão de cabeça e membros torácicos, apresentando de forma espontânea uma excitabilidade a ruídos, movimentos e estimulação tátil, e uma discreta incoordenação motora momentânea. O *HR Test* foi positivo após 90 dias do início da intoxicação em três animais (B1, B2 e B4), e no animal B3 aos 155 dias do início do experimento. Os animais positivos apresentavam crises epileptiformes periódicas, de duração de 20 a 30 segundos, sem perda da consciência acompanhada de tremores de intenção, torção lateral, extensão e rigidez dos músculos do pescoço, cabeça e dos membros torácicos, mantendo uma postura de repouso e com os membros abduzidos para tentar manter o equilíbrio. Em seguida ocorreram quedas frequentes para o lado e para trás, permanecendo em decúbito esternal e/ou lateral, mantendo esta posição por curtos períodos de tempo, tentando se levantar, porém sem êxito. Durante a crise, observou-se opistótono (Figura 01b) e nistagmo. Quando em estação, os animais apresentaram ataxia e hipermetria, com o andar cambaleante e lateralização do mesmo. A realização de *HR tests* seguidos num mesmo animal resultava em sinais clínicos mais brandos ou até mesmo ausentes. O BC não apresentou *HR test* positivo.

Apenas o B4, apresentava as crises epileptiformes de forma espontânea e com periodicidade variável, principalmente quando era excitado. Todos os animais do GE permaneceram normais entre as crises epileptiformes quando não excitados.

Achados laboratoriais

Os resultados do eritrograma e concentração plasmática do fibrinogênio, de ambos os grupos não apresentaram alterações, com exceção da concentração da proteína plasmática total que apresentou valores médios pouco inferiores a 6,33 g/dL e 6,40 g/dL, no GE e GC, respectivamente. Com relação ao leucograma, ambos os grupos demonstraram discreta leucocitose por neutrofilia com desvio para esquerda regenerativo.

Foi observada discreta elevação da glicemia em ambos os grupos, com valores médios de 79 mg/dL e 86 mg/dL, respectivamente no GE e no GC. No entanto, os valores de proteína total sérica estavam no limiar inferior. Em relação às atividades séricas de CK, AST e LDH, apresentaram valores médios superiores no GE, quando comparado ao GC.

Não foram constatadas alterações nos parâmetros físico-químicos e citológicos avaliados no LCR de ambos os grupos experimentais. No diferencial celular, houve predominância de linfócitos seguido de poucos monócitos e neutrófilos. Em relação à análise bioquímica do LCR, as proteínas totais das amostras analisadas dos dois grupos experimentais apresentaram valores inferiores. No entanto, o valor médio encontrado para a glicose de ambos os grupos apresentou um leve aumento. Em relação à atividade da CK analisada manteve-se bem superior no GE (20,3 U/L), quando comparado ao GC (1,22 U/L), o mesmo sendo observado para as atividades de AST e LDH, mais de duas a três vezes superiores.

Achados patológicos

Não foram encontradas alterações macroscópica associadas a intoxicação pela planta. As lesões histológicas mais acentuadas foram encontradas no cerebelo nos animais do GE e consistiam de células de Purkinje tumefeitas e com vacuolização parcial ou difusa fina do pericário e perda dos grânulos da substância de Nissl, dando a célula um aspecto esponjoso, com seus núcleos deslocados para periferia da mesma (Figura 02a). Havia áreas multifocais necrose neuronal com desaparecimento das células de Purkinje e ao redor proliferação de astrócitos de Bergman, espessando a camada granular do cerebelo. Vacuolização neuronal moderada foi encontrada no óbex, pedúnculos cerebelares (Figura 02b,c) e colículos rostrais de todos os animais intoxicados. No colículo caudal, este achado só não foi encontrado no B1. No tálamo, núcleos da base, hipocampo e medula oblonga, este achado foi raramente encontrado.

Necrose neuronal em áreas multifocais associados a focos de gliose foi observada na região de óbex, pedúnculos cerebelares, tálamo, colículos caudal e rostral, nos núcleos da base e no hipocampo, na medula oblonga, torácica e cervical. Raramente foi observado gliose focal na medula espinhal de alguns animais do GE inclusive na cauda equina do controle.

Quantidades variáveis de esferóides axonais foram frequentemente encontrados na camada granular (Figura 02d) e molecular, na substância branca medular do cerebelo de todos os animais do GE. Estes achados foram moderadamente encontrados no colículo caudal, rostral e tálamo, sendo observados raramente nos cortes do hipocampo, núcleos da base e da medula espinhal. Próximo às áreas aonde foi encontrado os esferóides axonais, observaram-se degeneração Walleriana, microcavitações de tamanhos variados, tanto na substância branca como na cinzenta de B1 nos hemisférios cerebelares e colículo rostral. O mesmo achado foi observado no animal

B3, no hemisfério cerebelar e colículo caudal e nos pedúnculos cerebelares de B2. Células Gitter foram observadas dentro de algumas dessas cavidades.

Áreas com manguitos perivasculares foram encontrado em ambos os grupos experimentais nas regiões de óbex, colículo rostral, tálamo, núcleos da base, córtex frontal córtex parietal e temporal. A distribuição das principais lesões nas diferentes secções do SNC dos animais encontram-se detalhadas no quadro 02.

Análise morfométrica

Na avaliação da morfometria quanto à contagem de células de Purkinje não existiram diferenças significativas ($p > 0,05$) entre os animais do GE ($x = 31 \pm 3,5$) em relação ao GC (26 \pm 8) células. Com relação à espessura da camada molecular foi constatado haver diferença significativa ($p < 0,05$) entre os animais do GE e do GC (Quadro 03).

DISCUSSÃO

O delineamento experimental proposto pelo estudo resultou em manifestações clínicas semelhantes às descritas em intoxicações naturais e experimentais, por outras espécies do gênero *Solanum* como: *S. fastigiatum*, *S. kwebense*, *S. dimidiatum*, *S. bonariensis*, *S. cinereum* e *S. viarum* (Pienaar et al. 1976, Porter et al. 2003, Menzies et al. 1979, Bourke et al. 1997, Verdes et al. 2006, Rech et al. 2006, Van der lugt et al. 2010).

A duração de poucos segundos dos ataques convulsivos e a recuperação rápida da crise dos animais, foi também descrita por Medeiros et al. (2004) e Guaraná et al. (2011), nas intoxicações espontâneas e experimentais, e nos casos de intoxicação natural pela *S. fastigiatum* citados por Riet-Correa et al. (1983) e Rech et al. (2006). A diminuição da intensidade dos sinais com a repetição do teste foi bem observada segundo relatado por Tokarnia et al. (2000). Em relação às variações de intensidade dos sinais observadas entre os animais, isso pode ser justificado pelo fato de ocorrer variabilidade na resistência de cada animal e no desconhecimento do conteúdo das substâncias químicas indicadas como responsáveis pela doença (Sousa & Irigoyen 1999, Tokarnia et al. 2000, Guaraná et al. 2009).

Os sinais neurológicos encontrados nesta intoxicação associadas às lesões cerebelares foram relatados por outros autores do Brasil e do mundo em bovinos, caprinos e ovinos, com variação de intensidade dependendo da espécie de *Solanum* e da espécie animal envolvida (Bourke 1997, Menzies et al. 1979, Pienaar et al. 1976, Riet-Correa et al. 1983, Zambrano et al. 1985, Verdes et al. 2002, Verdes et al. 2006, Van der lugt et al. 2010). Zambrano et al. (1985), em experimentos com ovinos justificaram que essas variações no quadro clínico patológico ocorrem em função da dosagem e o maior tempo de administração da planta, já que nas condições do experimento não foi observado quadro clínico semelhante encontrado nos bovinos, porém apresentaram as mesmas lesões histológicas no SNC.

Os resultados do eritrograma e da concentração plasmática do fibrinogênio de ambos os grupos estavam dentro dos parâmetros de normalidade para a espécie bovina (Kramer 2000). Achados semelhantes foram relatados em bovinos intoxicados com a *S. paniculatum* e outras espécies de *Solanum* (Pienaar et al. 1976, Guaraná et al. 2011). A discreta hipoproteinemia que não se refletiu no hematócrito, pode estar relacionada à atividade espoliativa de alguns nematódeos gastrintestinal comuns na região (Costa et al. 2009) e a leve alteração leucocitária observada nos animais deste estudo, pode estar associado a um leve quadro infeccioso respiratório, não atribuindo essa oscilação a uma reação orgânica dos bovinos a ação da planta ingerida.

A elevação da glicemia poderia estar relacionada ao aumento da glicogenólise hepática, em resposta a liberação de epinefrina e pela estimulação da gliconeogênese exercida pelo cortisol, ocasionado nas situações de estresse (Bennet et al. 1989). Por outro lado, Menzies et al. (1979) e Chaves (2009) estudando a intoxicação espontânea por *S. dimidiatum* em bovinos e ovinos intoxicados por *Ipomoea asarifolia* não observaram alterações nos valores de glicemia.

Todos os parâmetros físicos e químicos avaliados no LCR de ambos os grupos situaram-se nos limites fisiológicos para a espécie bovina (Stöber 1993, Scott 1995, Meyer & Harvey 1998). Os resultados das análises da proteína total e da glicemia, de ambos os grupos não se distanciaram dos valores fisiológicos de bovinos adultos (Welles et al. 1992). O aumento da atividade sérica de CK, AST e LDH encontrado pode ter ocorrido como consequência do esforço muscular realizado durante as tentativas dos animais em permanecerem em estação e/ou pelo decúbito prolongado (Kaneko et al. 2008, Chaves 2009). De acordo com Bennet et al. (1989), os aumentos dos níveis de AST e CK, durante situações de estresse prolongado, são atribuídos aos efeitos do catabolismo. A liberação de fosfato de creatina das fibras musculares catabolizadas promove um aumento da atividade destas enzimas. Portanto Chaves (2009) descreve achados semelhantes, em que ovinos intoxicados por

I. asarifolia apresentaram marcadas elevações na atividade da CK, porém com valores médios ainda bem inferiores aos encontrados neste estudo. Já em relação à atividade enzimática da AST, o mesmo autor relata um discreto aumento de sua atividade.

Vacuolização neuronal não é um achado específico da intoxicação por *S. paniculatum* e *S. fastigiatum*, pois ocorre em outras doenças de ruminantes causadas pela ingestão de plantas do gênero *Solanum* (Pienaar et al. 1976, Menzies et al. 1979, Bourke 1997, Porter et al. 2003), *Swainsona*, *Oxytropis*, *Astragalus* (Summers et al. 1995), *Ipomoea* (Van der lugt 2002) e *Sida* (Dremeier et al. 2000, Loretto et al. 2003, Furlan et al. 2008, Seitz et al. 2005) e nas doenças de depósitos lisossomais (DDL) hereditárias (Jolly & Walkley 1997). Diferente da *S. fastigiatum* em que a vacuolização é confinada apenas as células de Purkinje (Rech 2007), esse achado predominou nestas células, mas ocorreu também em neurônios dos pedúnculos cerebelares, óbex, colículos e tálamo. A presença de raros vacúolos neuronais em outras áreas do SNC, particularmente no núcleo vermelho, pode ocorrer como um achado incidental em animais clinicamente sadios (Jardim et al. 1999, Gavier-Widen et al. 2001). No entanto esse achado só foi observado em animais com sintomatologia clínica. A vacuolização neuronal ocorre devido alterações subcelulares nas organelas neuronais, nos bovinos a forma mais comum esta associado ao acúmulo de substratos não metabolizados nos lisossomos (Jolly & Wakley 1997, Rech 2007).

Com relação à morfometria das células de Purkinje, os resultados foram semelhantes aos encontrados por Verdes et al. (2002), em estudo experimental com *S. bonariensis*. Entretanto diferem da casuística de intoxicação natural de *S. fastigiatum*, onde ocorreu uma redução de células de Purkinje e da espessura da camada molecular nos campos analisado (Rech et al. 2006). Tais diferenças observadas podem ser decorrentes das espécies da planta, a quantidade, ao tempo de ingestão pelos animais. Esses resultados confirmam a hipótese levantada por Riet-Correa et al. (1983) e Zambrano et al. (1985) de que nos casos naturais, a ingestão de quantidades menores da planta durante períodos prolongados, ocasionaria o desaparecimento mais acentuado de células de Purkinje do que nos casos experimentais, onde ocorre a ingestão de doses maiores num menor espaço de tempo (Tokarnia et al. 2000, Verdes et al. 2006). Provavelmente em nosso estudo no momento da avaliação havia proliferação das células da glia em resposta da lesão neuronal, que ainda não tinha sido suficiente para que ocorresse e redução da camada molecular. Segundo Guaraná et al. (2011), depleção das camadas granular e molecular que se encontravam marcadamente diminuídas de espessura e com rarefação do neurópilo e menor número de células quando comparadas com cerebelos de animais normais são em consequência da remoção de axônios e dendritos das células de Purkinje.

Nas DDLs com a progressão da lesão os neurônios acumulam vacúolos até a sua necrose ou morte do animal e parece provável que haja alguma capacidade limitada para descarregar parte da carga armazenada por exocitose, isso quando não há atividade enzimática deficiente. Os locais de armazenamento se limitam mais para o corpo neuronal e algumas hastes dendríticas maiores, tornando a célula muita distendida, arredondada, tumefeita e não angular. No entanto, mesmo dentro do corpo celular do neurônio, o armazenamento pode ser um tanto polarizado, muitas vezes ao lado de vários axônios, diferentes planos da seção podem sugerir que alguns neurônios não são afetados, principalmente se analisado no início do curso da doença (Jubb & Huxtable 2010). Portanto no estágio inicial da DDL ocorre pouca morte neuronal que será progressiva e que provavelmente contribui muito significativamente para a perturbação funcional na fase final da doença. Independentemente do quadro clínico observado pelos animais no GE havia o mesmo padrão de lesão em todos os animais, o que pode ser justificado pois quando os neurônios estão envolvidos na DDL os sinais clínicos de comprometimento neurológico, eventualmente, tornam-se evidentes, mas, em geral, estes não se correlacionam com a morte neuronal significativa, pois os mecanismos da disfunção estão em desenvolvimento (Jubb & Huxtable 2010).

Esferóides axonais e degeneração Walleriana são os dois principais tipos de reações à injúria observados nos axônios em doença com lesão neuronal. Em casos de intoxicação por *S. fastigiatum*, esferóides axonais ocorrem devido à degeneração do pericário que prejudica o transporte de substâncias entre o pericário e o axônio (Rech 2007), porém não deve ser descartada a possibilidade da ação direta da planta sobre esses axônios (Medeiros et al. 2004). Essas lesões também foram descritas em casos de intoxicação espontânea e experimental por *S. paniculatum* (Guaraná et al. 2011) e por *S. fastigiatum* (Riet-Correa et al. 1983, Rech et al. 2006). A presença de esferóides axonais no tronco encefálico de equinos e degeneração Walleriana na substância branca da medula espinhal de ovinos e caprinos são considerados achados incidentais (Hooper 1999, Jahns et al. 2006).

Os focos de gliose observados nos animais do GE também foram observados em intoxicações por *S. paniculatum* em bovinos (Guaraná et al. 2011) e em outras espécies de *Solanum* (Riet-Correa et al. 1983, Porter et al. 2003, Rech et al. 2006, Verdes et al. 2006) porém alguns animais não apresentaram tais focos o que pode ser justificado pelos diferentes tempos de ingestão e quantidade da planta, sendo relacionado principalmente essa resposta a função de reparação realizada por essas células (Zambrano et al. 1985). Portanto segundo Rech (2007), gliose é uma resposta inespecífica das células gliais a diversas formas de injúria e geralmente envolve astrócitos e microglia.

O delineamento proposto neste trabalho representa um bom modelo experimental de intoxicação por *S. paniculatum* uma vez que desenvolveu o quadro de sintomatologia clínica da intoxicação, sendo as lesões

degenerativas cerebelares, as mais acentuadas, mas estendendo-se estas lesões a outras áreas do SNC, que devem ser colhidas e examinadas para avaliação do grau e extensão da lesão. Os resultados laboratoriais de sangue e do LCR não refletem alterações relacionadas à intoxicação pela *S. paniculatum* e o desenvolvimento do quadro clínico não causou uma depleção neuronal em relação ao GC. Portanto, nas condições experimentais propostas não houve uma correlação positiva entre sinais clínicos e gravidade das lesões histopatológicas examinadas, sugerindo que necessitam de um tempo de administração da planta maior para o agravamento das lesões.

Agradecimentos - à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Pernambuco (FACEPE) pela concessão da bolsa de mestrado (Edital PBPG - 0772-5.05/09). Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico Tecnológico (MCT/CNPq), pelo apoio financeiro e bolsa de PIBIC. Ao Edital universal Rural. À Clínica de Bovinos de Garanhuns pelas instalações para desenvolvimento da pesquisa. A professora Dra. Rosemeri Vasconcelos do departamento de Patologia da UNESP-Jaboticabal, pelo treinamento na análise morfométrica.

REFERÊNCIAS

- Afonso J.A.B., Guaraná E.L.S., Riet-Correa F., Mendonça C.L. & Costa N.A. 2009. Ocorrência de Intoxicação por *Solanum paniculatum* (jurubeba) em bovinos no estado de Pernambuco. *Vet. & Zoo.* 1:7.
- Barbosa Junior S.A., Monteiro B.C.M., Albuquerque R.F., Cunha A.L.B. & Mendonça F. S. 2010. Ocorrência de doença lisossomal associada à ingestão de *Solanum paniculatum* em caprinos em Pernambuco. In: Jornada de ensino, pesquisa e extensão, 10., Recife-PE. **Anais...** Recife-PE: UFRPE, 2010.
- Barros C.S.L & Marques G.H.F. 2003. Procedimentos para o Diagnóstico das Doenças do Sistema Nervoso Central de Bovinos. Depto Defesa Animal, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), Brasília. 50p.
- Bennet B.W., Kerschenm R.P. & Nockfls C.F. 1989. Stress-induced hematological changes in feedlot cattle. *Agri. Practice.* 10:16-28.
- Bourke C.A. 1997. Cerebellar degeneration in goats grazing *Solanum cinereum* (Narrawa burr). *Aust. Vet. J.* 75(5):363-365.
- Chaves D.P. 2009. Intoxicação experimental por *Ipomoea asarifolia* em ovinos: achados clínicos, laboratoriais e anatomopatológicos. Tese de doutorado em clínica médica veterinária, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Federal Paulista, Jaboticabal, SP. 82p.
- Costa V.M.M., Simões S.V.D. & Riet-Correa F. 2009. Doenças parasitárias em ruminantes no semi-árido brasileiro. *Pesq. Vet. Bras.* 29(7):563-568.
- Curi P.R. 1997. Metodologia e Análise da Pesquisa em Ciências Biológicas. Tipomic, Botucatu, p.220-228.
- Dirksen G., Gründer H.D. & Stöber M. 1993. Rosemberger Exame Clínico dos Bovinos. 3^o ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 419p.
- Driemeier D., Colodel E.M., Gimeno E.J. & Barros S.S. 2000. Lysosomal storage disease caused by *Sida carpinifolia* poisoning in goats. *Vet. Pathol.* 37:153-159.
- Furlan F.H., Luciola J., Veronezi L.O., Traverso S.D. & Gava A. 2008. Intoxicação experimental por *Sida carpinifolia* (Malvaceae) em bovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 29(1):57-62.
- Gavier-Widen D., Wells G.A.H., Simmons M.M., Wilesmith J.W. & Ryan J. 2001. Histological observations on the brains of symptomless 7-year-old cattle. *J. Comp. Path.* 124:52-59.
- Guaraná E.L.S., Riet-Correa F., Mendonça C.L., Medeiros M.T., Costa N.A. & Afonso J.A.B. 2009. Poisoning by *Solanum paniculatum* in cattle in Pernambuco, Northeastern Brazil. *Proceedings 8th International Symposium on Poisonous Plants, João Pessoa, Brazil*, p.62.
- Guaraná E.L.S., Riet-Correa F., Mendonça C.L., Medeiros R.M.T., Costa N.A. & Afonso J.A.B. 2011. Intoxicação por *Solanum paniculatum* (Solanaceae) em bovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 31(1):59-64.
- Hooper P.T. 1999. Incidental lesions in the brains of sheep and goats. *Aust. Vet. J.* 77:398-399.
- Jahns H., Callanan M.C., McElroy M.C., Sammin D.J. & Basset H.F. 2006. Age-related and non age-related changes in 100 surveyed horses brains. *Vet. Pathol.* 43:740-750.
- Jain N. C. 1986. Schalm's veterinary hematology. 4^o ed. Lea & Febiger, Philadelphia. 1221p.
- Jardim L.S., Andrade-Neto J.P. & Alessi A.C. 1999. Neuronal vacuolation and spongiform lesions in young Rottweiler dogs. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 51(5):449-452.
- Jolly R.D. & Walkley S.U. 1997. Lysosomal storage diseases of animals: an essay in comparative pathology. *Vet. Pathol.* 34:159-163.
- Jubb K.V.F. & Huxtable C.R. 2010. The nervous system. p. 267-437. In: Jubb K.V.F., Kennedy P.C. & Palmer N. (Eds), *Pathology of Domestic Animals*. Vol. 1, 4. Academic Press, San Diego.
- Kaneko J.J., Harvey J.W. & Bruss M.L. 2008. *Clinical biochemistry of domestic animal*. 6^o ed. California, Elsevier, New York. 916p.

- Kramer J.W. 2000. Normal hematology of cattle, sheep and goats, p. 1075-1084. In: Feldman B. F., Zinkl J. G. & Jain N.C. (Eds), Schalm's Veterinary Hematology. 5th ed. Williams and Wilkins, Philadelphia.
- Loretti A.P., Colodel E.M., Gimeno E.J. & Driemeier D. 2003. Lysosomal storage disease in *Sida carpinifolia* toxicosis: an induced mannosidosis in horses. *Equine Vet. J.* 35:434-438.
- Luna S.P.L. & Teixeira M.W. 2007. Eutanásia: considerações éticas e indicações técnicas. *Revista do CFMV.* 41:60-69.
- Medeiros R.M.T., Guilherme R.E., Riet-Correa F., Barbosa R.C. & Lima E.F. 2004. Intoxicação Experimental por *Solanum Paniculatum* (jurubeba) em bovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 24(supl.):41,
- Menzies J.S., Bridges C.H. & Bayley Jr E.M. 1979. A neurological disease of cattle associated with *Solanum dimidiatum*. *Southwestern Vet.* 32:45-49.
- Meyer D.J. & Harvey D.J. 1998. *Veterinary Laboratory Medicine: interpretation & diagnosis.* Philadelphia, W. B. Saunders. 373p.
- Pienaar J.G., Kellerman T.S., Basson P.A., Jenkins W.L. & Vahrmeijer J. 1976. Maldronksiekte in cattle: a neuronopathy caused by *Solanum kwebense* N. E. Br. *Ondertespoort J. Vet. Res.* 43:67-74.
- Porter M.B., Mackay R.J., Uhl E., Platt S.R. & De Lahunta A. 2003. Neurologic disease putatively associated with *Solanum viarum* in goats. *J. Am. Vet. Med. Ass.* V. 223(4):501-504.
- Rech R.R. 2007. Alterações no encéfalo de bovinos submetidos à vigilância das encefalopatias espongiformes transmissíveis. Tese de doutorado em medicina veterinária, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, RS. 228p.
- Rech R.R., Rissi D.R., Rodrigues A., Pierezan F., Piazer J.V.M., Komers G.D. & Barros C.S.L. 2006. Intoxicação por *Solanum fastigiatum* (Solanaceae) em bovinos: epidemiologia, sinais clínicos e morfometria das lesões cerebelares. *Pesq. Vet. Bras.* 26(3):183-189.
- Riet-Correa F., Méndez M.D., Schild A.L., Summers B.A. & Oliveira J.A. 1983. Intoxication by *Solanum fastigiatum* var. *fastigiatum* as a cause of cerebellar degeneration in cattle. *Cornell Vet.* 73(3):240-256.
- Sant'Ana F.J.F., Barbeito C.G., Nishida F., Gimeno E.J., Verdes J.M., Battes D., Moraña A. & Barros C.S.L. 2011. Clinical and pathological aspects and cerebellar lectin binding in cattle poisoned with *Solanum fastigiatum* var. *fastigiatum* and *Solanum bonariense*. *International J. of Poisonous Plant Res.* 1(1):28-34.
- Scott P.R. 1995. The collection and analysis of cerebrospinal fluid as an aid to diagnosis in ruminant neurological disease. *Br. Vet. J.* 151:603-614.
- Seitz A.L., Colodel E.M., Barros S.S. & Driemeier D. 2005. Intoxicação experimental por *Sida carpinifolia* (Malvaceae) em ovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 25(1):15-20.
- Sousa R.S. & Irigoyen L.F. 1999. Intoxicação experimental por *Phalaris angusta* (Gramineae) em bovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 19(3/4):116-122.
- Stöber M. 1993. Sistema Nervoso Central. p.341-62. In: Dirksen G., Gründer H.D. & Stöber M. (Eds.) *Rosemberger: exame clínico dos bovinos.* 3ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.
- Summers B.A., Cummings J.F. & De Lahunta A. 1995. *Veterinary Neuro-pathology.* St Louis, Mosby. 527 p.
- Tokarnia C.H., Döbereiner J. & Peixoto P.V. 2000. *Plantas tóxicas do Brasil.* Helianthus, Rio de Janeiro. 310p.
- Van Der Lugt J.J. 2002. Lysosomal storage diseases. p.15-16. In: Van Der Lugt J.J. (ed.) *The Clinicopathology and Pathology of Selective Toxicoses and Storage Disease of the Nervous System of Ruminants in Southern Africa.* Dissertation, University of Utrecht, The Netherlands. 174p.
- Van Der Lugt J.J., Bastianello S.S., Van Ederen A.M. & Van Wilpe E. 2010. Cerebellar cortical degeneration in cattle caused by *Solanum kwebense*. *Vet. J.* 185(2):225-227.
- Verdes J.M., Moraña A., Battes D., Guerrero F., Riet-Correa F. & Santos C.G. 2002. Enfermedad cerebelosa em bovinos ocasionada por lá ingestión de *Solanum bonariense*. In: 10º Congresso Latinoamericano de Buiatria, Paysandú, Uruguay, p.252-255.
- Verdes J.M., Moraña A., Gutiérrez F., Battes D., Fidalgo L.E. & Guerreiro F. 2006. Cerebellar degeneration in cattle grazing *Solanum bonariense* ("Naranjillo") in Western Uruguay. *J. Vet. Diag. Invest.* 18(3):299-303.
- Welles E.G., Tyler J.W., Sorjonen D.C. & Whatley E.M. 1992. Composition and analysis of cerebrospinal fluid in clinically normal adult cattle. *Am. J. Vet. Res.*, 5:2050 -2057.
- Zambrano M.S., Riet-Correa F., Schild A.L. & Méndez M.C. 1985. Intoxicação por *Solanum fastigiatum* var. *fastigiatum*: evolução e reversibilidade das lesões em bovinos, e susceptibilidade de ovinos, coelhos, cobaias e ratos. *Pesq. Vet. Bras.* 5(4):133-141.

Legendas das Figuras

- Fig. 01. A: Bovino intoxicado com *S. paniculatum* com extensão do pescoço e membros torácicos (opistótono) após a crise epileptiforme. B: Bovino intoxicado com *S. paniculatum* com desequilíbrio, mantendo a base ampla após crise epileptiforme.
- Fig. 02. A: Células de Purkinje com vacuolização fina do pericário do cerebelo de bovino intoxicado por *S. paniculatum* (setas). B: Neurônio com vacuolização fina do pericário na região de pedúnculo cerebelar de

Quadro 01 - Delineamento experimental e desfecho na intoxicação experimental pela *S. paniculatum* em bovinos: períodos de alimentação, peso do animal inicial e final e da quantidade de planta consumida até a observação do *HR test* positivo e sacrifício.

N° do animal	Peso/Kg		Total da planta consumida		Período experimental		
	Inicial	Final	Kg	Dose	Tempo de ingestão da planta	<i>HR test</i> positivo (dias)	Eutanásia após o início do experimento (dias)
B1	77	122	79,555		108	91	109
B2	74	122	76,195	5 g/Kg	112	91	113
B3	110	160	111,65		156	155	157
B4	130	170	116,620		106	98	107
BC	90	130	-	-	-	-	114

bovino intoxicado por *S. paniculatum* (seta). C: Vacuolização neuronal na região do óbex de bovino intoxicado por *S. paniculatum* (seta). D: Esferoides axonais na camada granular do cerebelo (setas). 40x, HE.

Quadro 02 - Distribuição das principais lesões nas diferentes secções do Sistema Nervoso Central (SNC) de bovinos intoxicados experimentalmente por *S. paniculatum*.

Principais Lesões	Animais	Verme	Hemisfério cerebelar	Pedúnculos Cerebelares	Óbex	Colículos		Tálamo	Hipocampo	Núcleos da base	Medula Espinhal				
						Caudal	Rostral				O	C	T	LS	CE
Vacuolização Neuronal	B1	+	+	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-
	B2	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-
	B3	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-
	B4	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Necrose	B1	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-
	B2	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-
	B3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
	B4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-
Gliose	B1	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+		+		+
	B2	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	
	B3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	
	B4	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+		+	
Esferoide axonal	B1	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	+
	B2	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+
	B3	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-
	B4	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-

Medula Espinhal: O = oblonga, C= cervical, T = torácica, LS = lombo-sacra, CE = cauda equina

Quadro 03 - Valores de média, desvios padrão do número de células de Purkinje e mediana da espessura da camada molecular no cerebelo dos bovinos intoxicados por *S. paniculatum* do grupo experimental (GE) e o animal do grupo controle (GC).

Animais	nº de cels de Purkinje	Espessura da camada molecular
B1	31 ± 10	967
B2	33 ± 9	812
B3	26 ± 12	813
B4	33 ± 8	948
BC	26 ± 8	787

*Mediana - Intervalo de confiança de 25 a 75%

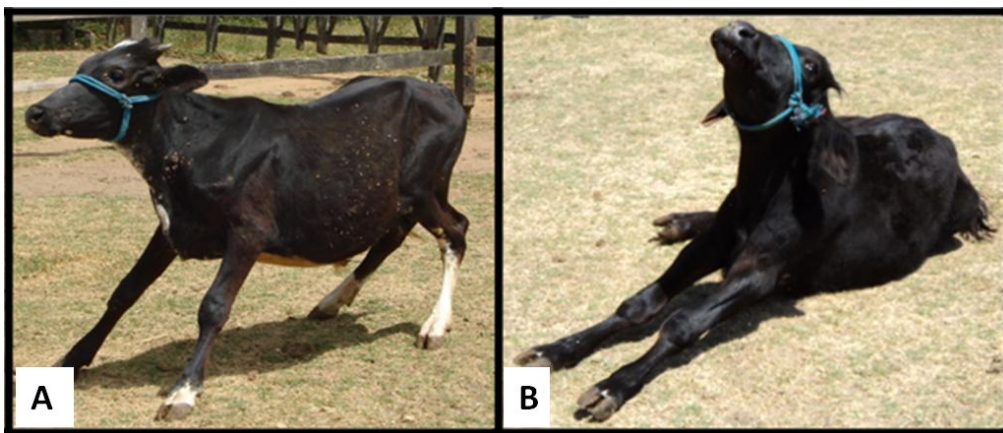


Figura 01

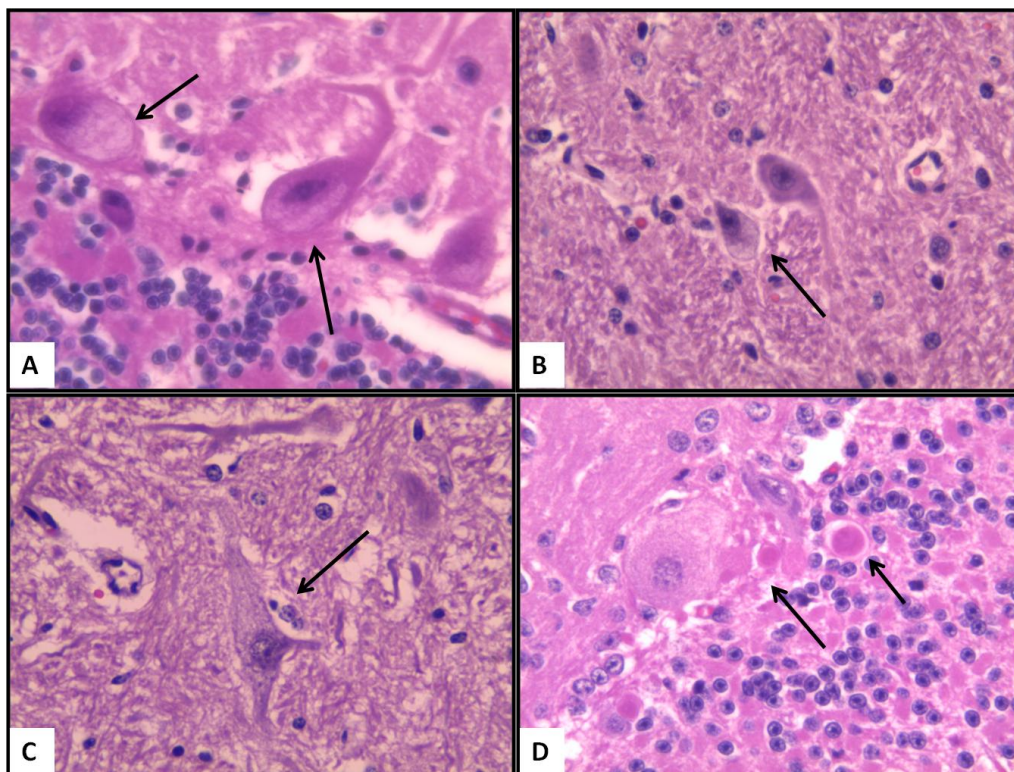


Figura 02

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em virtude da ampla difusão da *S. paniculatum* na região do Agreste Meridional de Garanhuns-PE, como invasora de pastagens causando um quadro clínico neurológico em bovinos é necessário técnicas de controle da planta nos pastos e remoção dos animais para que ocorra a prevenção das intoxicações. Ressaltando que por ser uma intoxicação de caráter crônico é necessária uma grande quantidade de planta e de consumo para que ocorram lesões histológicas compatíveis com os achados clínicos.

7. ANEXO

Instrução aos autores da Revista Pesquisa Veterinária Brasileira (PVB)

Parecer do Comitê de Ética no uso de Animais

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

Os trabalhos para submissão devem ser enviados por via eletrônica, através do e-mail <jurgen.dobereiner@terra.com.br>, com os arquivos de texto na versão mais recente do Word. Havendo necessidade (por causa de figuras "pesadas"), podem ser enviados em CD pelo correio, com uma via impressa, ao Dr. Jürgen Döbereiner, Revista PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA, Caixa Postal 74.591, Seropédica, RJ 23890-000. Devem constituir-se de resultados de pesquisa ainda não publicados e não considerados para publicação em outra revista.

Para abreviar sua tramitação e aceitação, os trabalhos sempre devem ser submetidos conforme as normas de apresentação da revista (www.pvb.com.br) e o modelo em Word (PDF no site). **Os originais submetidos fora das normas de apresentação, serão devolvidos aos autores para a devida adequação.**

Apesar de não serem aceitas comunicações (*Short communications*) sob forma de "Notas Científicas", não há limite mínimo do número de páginas do trabalho enviado, que deve, porém, conter pormenores suficientes sobre os experimentos ou a metodologia empregada no estudo. **Trabalhos sobre Anestesiologia e Cirurgia serão recebidos para submissão somente os da área de Animais Selvagens.**

Embora sejam de responsabilidade dos autores as opiniões e conceitos emitidos nos trabalhos, o Conselho Editorial, com a assistência da Assessoria Científica, reserva-se o direito de sugerir ou solicitar modificações aconselháveis ou necessárias. Os trabalhos submetidos são aceitos através da aprovação pelos pares (*peer review*).

NOTE: Em complementação aos recursos para edição da revista (impressa e online) e distribuição via correio é cobrada taxa de publicação (page charge) no valor de R\$ 120,00 por página editorada e impressa, na ocasião do envio da prova final, ao autor para correspondência.

1. Os trabalhos devem ser organizados, sempre que possível, em Título, ABSTRACT, RESUMO, INTRODUÇÃO, MATERIAL E MÉTODOS, RESULTADOS, DISCUSSÃO, CONCLUSÕES (ou combinação destes dois últimos), **Agradecimentos e REFERÊNCIAS**:

a) o **Título** do artigo deve ser conciso e indicar o conteúdo do trabalho; pormenores de identificação científica devem ser colocados em MATERIAL E MÉTODOS.

b) O(s) **Autor(es)** deve(m) sistematicamente encurtar os nomes, tanto para facilitar sua identificação científica, como para as citações bibliográficas. Em muitos casos isto significa manter o primeiro nome e o último sobrenome e abreviar os demais sobrenomes:

Paulo Fernando de Vargas Peixoto escreve Paulo V. Peixoto ou Peixoto P.V.; Franklin Riet-Correa Amaral escreve Franklin Riet-Correa ou Riet-Correa F.; Silvana Maria Medeiros de Sousa Silva poderia usar Silvana M.M.S. Silva, inverso Silva S.M.M.S., ou Silvana M.M. Sousa-Silva, inverso, Sousa-Silva S.M.M., ou mais curto, Silvana M. Medeiros-Silva, e inverso, Medeiros-Silva S.M.; para facilitar, inclusive, a moderna indexação, recomenda-se que os trabalhos tenham o máximo de 8 autores.

c) o **ABSTRACT** deverá ser apresentado com os elementos constituintes do RESUMO em português, podendo ser mais explicativos para estrangeiros. Ambos devem ser seguidos de "INDEX TERMS" ou "TERMOS DE INDEXAÇÃO", respectivamente;

d) o **RESUMO** deve apresentar, de forma direta e no passado, o que foi feito e estudado, indicando a metodologia e dando os mais importantes resultados e conclusões. Nos trabalhos em inglês, o título em português deve constar em negrito e entre colchetes, logo após a palavra RESUMO;

e) a **INTRODUÇÃO** deve ser breve, com citação bibliográfica específica sem que a mesma assuma importância principal, e finalizar com a indicação do objetivo do trabalho;

f) em **MATERIAL E MÉTODOS** devem ser reunidos os dados que permitam a repetição do trabalho por outros pesquisadores. Na experimentação com animais, deve constar a aprovação do projeto pela Comissão de Ética local;

g) em **RESULTADOS** deve ser feita a apresentação concisa dos dados obtidos. Quadros devem ser preparados sem dados supérfluos, apresentando, sempre que indicado, médias de várias repetições. É conveniente, às vezes, expressar dados complexos por gráficos (Figuras), ao invés de apresentá-los em Quadros extensos;

h) na **DISCUSSÃO** devem ser discutidos os resultados diante da literatura. Não convém mencionar trabalhos em desenvolvimento ou planos futuros, de modo a evitar uma obrigação do autor e da revista de publicá-los;

i) as **CONCLUSÕES** devem basear-se somente nos resultados apresentados no trabalho;

j) **Agradecimentos** devem ser sucintos e não devem aparecer no texto ou em notas de rodapé;

k) a Lista de **REFERÊNCIAS**, que só incluirá a bibliografia citada no trabalho e a que tenha servido como fonte para consulta indireta, deverá ser ordenada alfabeticamente pelo sobrenome do primeiro autor, registrando-se os nomes de todos os autores, em caixa alta e baixa (colocando as referências em ordem cronológica quando houver mais de dois autores), o título de cada publicação e, abreviado ou por extenso (se tiver dúvida), o nome da revista ou obra, usando as instruções do "Style Manual for Biological Journals" (American Institute for Biological Sciences), o "Bibliographic Guide for Editors and Authors" (American Chemical Society, Washington, DC) e exemplos de fascículos já publicados (www.pvb.com.br).

2. Na elaboração do texto deverão ser atendidas as seguintes normas:

a) os trabalhos devem ser submetidos seguindo o exemplo de apresentação de fascículos recentes da revista e do modelo constante do site sob "Instruções aos Autores" (www.pvb.com.br). A digitalização deve ser na fonte Cambria, corpo 10, entrelinha simples; a página deve ser no formato A4, com 2cm de margens (superior, inferior, esquerda e direita), o texto deve ser corrido e não deve ser formatado em duas colunas, com as legendas das figuras e os Quadros no final (logo após as REFERÊNCIAS). As Figuras (inclusive gráficos) devem ter seus arquivos fornecidos separados do texto. Quando incluídos no texto do trabalho, devem ser introduzidos através da ferramenta "Inserir" do Word; pois imagens copiadas e coladas perdem as informações do programa onde foram geradas, resultando, sempre, em má qualidade;

b) a redação dos trabalhos deve ser concisa, com a linguagem, tanto quanto possível, no passado e impessoal; no texto, os sinais de chamada para notas de rodapé serão números arábicos colocados em sobrescrito após a palavra ou frase que motivou a nota. Essa numeração será contínua por todo o trabalho; as notas serão lançadas ao pé da página em que estiver o respectivo sinal de chamada. Todos os Quadros e todas as Figuras serão mencionados no texto. Estas remissões serão feitas pelos respectivos números e, sempre que possível, na ordem crescente destes. ABSTRACT e RESUMO serão escritos corridamente em um só parágrafo e não deverão conter citações bibliográficas.

c) no rodapé da primeira página deverá constar **endereço profissional completo de todos os autores e o e-mail do autor para correspondência, bem como e-mails dos demais autores (para eventualidades e confirmação de endereço para envio do fascículo impresso)**;

d) siglas e abreviações dos nomes de instituições, ao aparecerem pela primeira vez no trabalho, serão colocadas entre parênteses e precedidas do nome por extenso;

e) citações bibliográficas serão feitas pelo sistema "autor e ano"; trabalhos de até três autores serão citados pelos nomes dos três, e com mais de três, pelo nome do primeiro, seguido de "et al.", mais o ano; se dois trabalhos não se distinguem por esses elementos, a diferenciação será feita através do acréscimo de letras minúsculas ao ano, em ambos. **Trabalhos não consultados na íntegra pelo(s) autor(es), devem ser diferenciados, colocando-se no final da respectiva referência, "(Resumo)" ou "(Apud Fulano e o ano.)"**; a referência do trabalho que serviu de fonte, **será incluída na lista uma só vez**. A menção de comunicação pessoal e de dados não publicados é feita no texto somente com citação de Nome e Ano, colocando-se na lista das Referências dados adicionais, como a Instituição de origem do(s) autor(es). Nas citações de trabalhos colocados entre parênteses, **não se usará vírgula entre o nome do autor e o ano, nem ponto-e-vírgula após cada ano**; a separação entre trabalhos, nesse caso, se fará apenas por vírgulas, exemplo: (Christian & Tryphonas 1971, Priester & Haves 1974, Lemos et al 2004, Krametter-Froetcher et. al 2007);

f) a Lista das **REFERÊNCIAS** deverá ser apresentada **isenta do uso de caixa alta**, com os nomes científicos em itálico (grifo), e sempre em conformidade com o padrão adotado nos últimos fascículos da revista, inclusive quanto à ordenação de seus vários elementos.

3. As Figuras (gráficos, desenhos, mapas ou fotografias) **originais devem ser preferencialmente enviadas por via eletrônica**. Quando as fotos forem obtidas através de câmeras digitais (com extensão ".jpg"), os arquivos deverão ser enviados como obtidos (sem tratamento ou alterações). Quando obtidas em papel ou outro suporte, deverão ser anexadas ao trabalho, mesmo se escaneadas pelo autor. Nesse caso, cada Figura será identificada na margem ou no verso, a traço leve de lápis, pelo respectivo número e o nome do autor; havendo possibilidade de dúvida, deve ser indicada a parte inferior da figura pela palavra "pé". Os gráficos devem ser produzidos em 2D, com colunas em branco, cinza e preto, sem fundo e sem linhas. A chave das convenções adotadas será incluída preferentemente, na área da Figura; evitar-se-á o uso de título ao alto da figura. Fotografias deverão ser apresentadas preferentemente em preto e branco, em papel brilhante, ou em diapositivos ("slides"). Para evitar danos por grampos, desenhos e fotografias deverão ser colocados em envelope.

Na versão online, fotos e gráficos poderão ser publicados em cores; na versão impressa, somente quando a cor for elemento primordial a impressão das figuras poderá ser em cores.

4. As legendas explicativas das Figuras conterão informações suficientes para que estas sejam compreensíveis, (até certo ponto autoexplicativas, com independência do texto) e serão apresentadas no final do trabalho.

5. Os Quadros deverão ser explicativos por si mesmos e colocados no final do texto. Cada um terá seu título completo e será caracterizado por dois traços longos, um acima e outro abaixo do cabeçalho das colunas; entre esses dois traços poderá haver outros mais curtos, para grupamento de colunas. **Não há traços verticais. Os sinais de chamada serão alfabéticos, recomendo, se possível, com "a" em cada Quadro**; as notas serão lançadas logo abaixo do Quadro respectivo, do qual serão separadas por um traço curto à esquerda.



LICENÇA N° -
005/2010



COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS DA UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

SOLICITAÇÃO DE LICENÇA PARA USO DE ANIMAIS

1. IDENTIFICAÇÃO DO SOLICITANTE

NOME	Márcia Bersane Araújo de Medeiros Torres
INSTITUIÇÃO DE ORIGEM	Unidade Acadêmica de Garanhuns - UFRPE
CARGO/FUNÇÃO	Professor Adjunto I
DEPARTAMENTO/UNIDADE ACADÊMICA	Medicina Veterinária – Unidade Acadêmica de Garanhuns
ENDEREÇO ELETRÔNICO E TELEFONE	bersane@hotmail.com e fone (087) 3761-6646 96248522

2. DADOS DA EQUIPE

	NOME	FORMAÇÃO/QUALIFICAÇÃO*	FUNÇÃO
RESPONSÁVEL (IS)	Márcia Bersane Araújo de Medeiros Torres,	Médica Veterinária, Doutora em Patologia e Mestrado em Medicina Veterinária com área de concentração em Patologia Veterinária. Especialista em Toxicologia.	Professora Adjunta I de Patologia Veterinária.
COLABORADOR (ES)	Carla Lopes Mendonça,	Médica Veterinária da Clínica de Bovinos de Garanhuns – UFRPE, Mestrado e Doutorado em Medicina Veterinária.	
	José Augusto Bastos,	Médico Veterinário da Clínica de Bovinos de Garanhuns – UFRPE, Mestrado e Doutorado em Medicina Veterinária.	
	Carlos José de Moura,	aluno do sétimo período de Medicina Veterinária da Unidade Acadêmica de Garanhuns – UFRPE.	

*Informar titulação e/ou cursos realizados.



CEUA - UFRPE

Aprovado em

26/02/2010

Validade

26/02/2012

3. DADOS GERAIS DO PROJETO

TÍTULO	Estudo Experimental Clínico-laboratorial e Anatômo-patológico da Intoxicação por <i>Solanum paniculatum</i> em bovinos
ÁREA TEMÁTICA ¹	Agrárias
CATEGORIA (PESQUISA, ENSINO OU EXTENSÃO)	Pesquisa
DATA INÍCIO/TÉRMINO	Agosto de 2009 a agosto de 2011
LOCAL DE EXECUÇÃO	Clínica de Bovinos de Garanhuns

¹De acordo com o CNPq

4. RESUMO DO PROJETO

Solanum fastigiatum var. *fastigiatum* (Solanacea) é um arbusto de até um metro de altura com flores brancas ou azuis claras e fruto globoso, conhecida popularmente como “jurubeba” ou “joá preto” e causa em bovinos uma doença neurológica caracterizada por ataques convulsivos transitórios com morbidade moderada e baixa letalidade (Barros et al. 2006). Esta intoxicação em bovinos caracteriza-se por sinais clínicos restritos ao sistema nervoso central, característicos de uma disfunção cerebelar, com crises epileptiformes periódicas. Não há lesões de necropsia específicas, mas lesões associadas a traumatismos podem ser observadas. Histologicamente ocorre vacuolização e perda de neurônios de Purkinje. (Barros et al. 2006, Riet-Correa et al. 2002). As lesões neuronais caracterizam-se por tumefação, vacuolização fina do pericário e perda dos grânulos de Nissl, dando a célula um aspecto esponjoso (Barros et al. 2006). Nos últimos quatro anos foram registrados casos clínicos naturais em bovinos em propriedades localizadas no Agreste do Estado de PE, com sinais neurológicos compatíveis com intoxicação por jurubeba. Entretanto na caracterização da planta foi verificado que a mesma é da espécie *Solanum paniculatum*, que é uma planta com poucos relatos de descrição de intoxicação e sem caracterização morfológica da lesão bem descrita para a espécie bovina (Medeiros et al., 2004, Afonso et al. 2009). Portanto o objetivo deste trabalho é realizar um estudo clínico-laboratorial e anatômo-patológico de *Solanum paniculatum* em bovinos, verificando a sua toxidez e o impacto na saúde desta espécie. Para tanto será realizado um modelo de intoxicação experimental usando quatro bovinos, com faixa etária de aproximadamente seis



meses de idade, sem raça definida (SRD), com peso médio de 100 a 120 Kg e um bovino como grupo controle com características semelhantes mantidos em baias individuais na Clínica de Bovinos de Garanhuns – UFRPE que receberão *Solanum paniculatum* na dosagem de 5g/kg/PV/dia misturada na ração e administrada por ingestão natural. A duração do experimento será de aproximadamente 3 a 4 meses. A dose e período de experimentação serão baseados em trabalho experimental realizado por Medeiros et al., 2004. Após o aparecimento dos sinais clínicos será realizada a colheita de liquor para análise de alterações físicas e propriedades bioquímicas e será realizada a eutanásia dos animais com Thiopental sódico, Xilazina e Cloreto de Potássio segundo Luna & Teixeira, 2007. Serão colhidos os encéfalos dos animais e fixados em formol a 10% e os seguintes fragmentos serão selecionados para exame histopatológico: bulbo na altura do óbex, cerebelo, ponte com pedúnculos cerebelares, mesencéfalo na altura dos colículos rostrais seguindo o mesmo protocolo de colheita de Rech *et al* 2006 em bovinos intoxicados por *Solanum fastigiatum*. Estes fragmentos serão processados rotineiramente para histologia e corados pela hematoxilina e eosina (Barros & Marques 2003). Será realizado estudo morfométrico de cortes do cerebelo de animais intoxicados e do animal controle. Os neurônios de Purkinge serão contados em 20 campos microscópicos com objetiva 10 X.

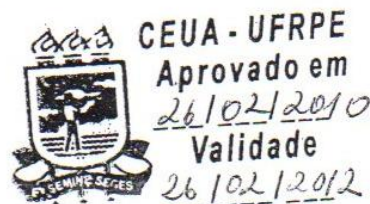


5. JUSTIFICATIVA PARA A REALIZAÇÃO DO PROJETO (DESTACAR A RELEVÂNCIA DO PROJETO E CONTRIBUIÇÃO PARA O AVANÇO DO CONHECIMENTO ATUAL E/OU POTENCIAIS BENEFÍCIOS PARA A ESPÉCIE SOB ESTUDO E/OU ESPÉCIE HUMANA)

Nos últimos quatro anos foram registrados casos clínicos naturais em bovinos em propriedades localizadas no Agreste do Estado de PE, com sinais neurológicos compatíveis com intoxicação por jurubeba (Bastos et al., 2009), onde foi observada na pastagem a presença da planta em excesso o que facilitou a ingestão da mesma. Achados que corroboram estas informações clínicas foram os resultados dos exames histopatológicos, onde se constatou lesões compatíveis com a intoxicação provocada por esta planta. Entretanto na caracterização da planta foi verificado que a mesma é da espécie *Solanum paniculatum*. Os casos de intoxicação espontânea no Brasil que se encontram na literatura são associados com *Solanum fastigiatum*.

Solanum paniculatum aparece na literatura como planta medicinal em humanos para doenças hepáticas, como cicatrizante, neoplasias, inflamações no baço e bexiga (Rodrigues & Carvalho, 2001). Portanto em virtude deste seu uso medicinal em humanos é importante pesquisar se esta planta tem efeito tóxico para bovinos uma vez que ela é amplamente disseminada na nossa região.

Embora a intoxicação seja considerada na literatura de morbidade moderada e de baixa letalidade, a doença é crônica e os sinais clínicos podem persistir por muitos anos após a retirada dos animais das áreas invadidas pela planta. A recuperação dos bovinos afetados só ocorre quando os animais são retirados das áreas com *S. fastigiatum*, logo após o aparecimento dos sinais clínicos, portanto em bovinos com curso clínico longo observam-se lesões cerebelares avançadas e estes acabam morrendo por acidentes durante as crises epileptiformes ou são eutanasiados em decorrência da má condição corporal (Barros et al, 2006).



Não há relatos de intoxicações naturais em outras espécies animais, sendo a espécie bovina, a única descrita de importância intoxicada naturalmente. Experimentos descritos com ratos, coelhos e cobaias que receberam durante 120ds a planta dessecada à sombra e moída misturada a 10% em ração comercial não adoeceram. Ovinos que receberam a planta, praticamente não mostraram sinais, porém apresentaram lesões histológicas no sistema nervoso central, similares às observadas em bovinos (Tokarnia et al., 2000).

Em virtude da cronicidade da doença e a regressão dos sinais clínicos ser rara, é importante o desenvolvimento do modelo experimental, pois o que geralmente observa-se são quadros de curso mais longo que vão levar a uma doença crônica progressiva com depreciação do estado geral do animal, diminuição de produção e sinais clínicos que podem levar a morte.

Devido ao fato do *Solanum paniculatum* ser a espécie de *Solanum* envolvida nos casos de intoxicação espontânea ocorridos na região Agreste de Pernambuco é de fundamental importância o desenvolvimento de estudo para caracterização do quadro causado por esta espécie.

 **CEUA - UFRPE**
Aprovado em
26/02/2010
Validade
26/02/2012

6. INFORMAÇÕES SOBRE O (S) ANIMAL (IS) SUJEITO À EXPERIMENTAÇÃO

ESPÉCIE/NOME VULGAR	Bovina
IDADE	6 meses
SEXO	machos
ORIGEM ¹	Propriedades rurais

Em caso de animal silvestre, anexar comprovante de licença do IBAMA, especificando método de captura, manipulação e soltura.

7. INFORMAÇÕES SOBRE O DELINEAMENTO ESTATÍSTICO

TIPO DE DELINEAMENTO	As alterações morfológicas serão avaliadas através de análises descritivas das lesões que a planta testada ocasiona nos tecidos alvo. Tendo como parâmetros de normalidade os tecidos dos animais controle. Será realizado um estudo descritivo empregando-se a média como medida de tendência central para as variáveis paramétricas (CURI, 1997).	
NÚMERO DE ANIMAIS	POR GRUPO	TOTAL
	4 animais grupo experimental e 1 animal controle	5 animais

8. INFORMAÇÕES SOBRE MANEJO DOS ANIMAIS EXPERIMENTAIS

TIPO DE INSTALAÇÃO (GAIOLA, BAIJA, TANQUE, ETC.)	Baias individuais, cobertas, cercadas
DENSIDADE POPULACIONAL POR INSTALAÇÃO	1 animal por baia
CLIMATIZAÇÃO (CASO SE APLIQUE)	Temperatura ambiente
RENOVAÇÃO DO AR/ÁGUA (CASO SE APLIQUE)	Não se aplica
ALIMENTAÇÃO (TIPO, QUANTIDADE E FREQUÊNCIA)	sal mineral <i>ad libidum</i> e ração comercial e capim elefante (<i>Penisetum purpurium</i>)
ÁGUA (QUANTIDADE E FREQUÊNCIA)	água sal mineral <i>ad libidum</i>
HIGIENIZAÇÃO (TÉCNICA E FREQUÊNCIA)	Limpeza diária das baias para coleta de resíduos
COLETA E DESTINO DOS RESÍDUOS SÓLIDOS E LÍQUIDOS	Uso para adubo orgânico
OUTRAS INFORMAÇÕES	

CEUA - UFRPE
 Aprovado em
 26/02/2010
 Validade
 26/02/2012



9. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL (PREENCHER UM QUADRO PARA CADA TIPO)

NOME DO PROCEDIMENTO	Intoxicação experimental por <i>Solanum paniculatum</i> em bovinos
GRAU DE SEVERIDADE ¹	Substancial
PROVOCA, INTENCIONALMENTE, ESTRESSE NO (S) ANIMAL (IS)?	não
PROVOCA, INTENCIONALMENTE, DOR NO (S) ANIMAL (IS)?	não
O (S) ANIMAL (IS) SERÁ (ÃO) IMOBILIZADO (S)? ESPECIFICAR (TIPO E TÉCNICA)	não
SERÁ REALIZADO PROCEDIMENTO CIRÚRGICO? ESPECIFICAR (TIPO, TÉCNICA, FREQUÊNCIA E CUIDADOS PÓS-CIRÚRGICO).	não
USARÁ SEDAÇÃO/ANALGESIA/ANESTESIA? ESPECIFICAR (DROGA, DOSAGEM, VIA E FREQUÊNCIA)	não
QUAL O LOCAL ONDE SERÁ REALIZADO (S) O (S) PROCEDIMENTO (S) CIRÚRGICO (S)?	não
INDIQUE O MÉDICO VETERINÁRIO RESPONSÁVEL ² , CASO SE APLIQUE	
SERÁ REALIZADA EXPOSIÇÃO, INOCULAÇÃO ³ OU ADMINISTRAÇÃO DE SUBSTÂNCIA? ESPECIFICAR (TIPO, DOSAGEM, VIA E FREQUÊNCIA)	<i>Solanum paniculatum</i> , 5g/kg/PV/dia misturada na ração e administrada por ingestão natural. Por 3 a 4 meses
SERÁ REALIZADA EXTRAÇÃO DE FLUIDOS/TECIDOS? ESPECIFICAR (TIPO, MÉTODO DE COLHEITA, QUANTIDADE E FREQUÊNCIA)	Será realizada colheita de líquido dos 4 animais do grupo experimental e do animal controle na cisterna lombossacral antes da eutanásia. A colheita será realizada em três alíquotas com o intuito de minimizar os riscos de contaminação com sangue e a análise imediata
SERÁ REALIZADA EUTANÁSIA ⁴ /ABATE DURANTE O EXPERIMENTO? ESPECIFICAR (NÚMERO DE ANIMAIS, TÉCNICA, DROGA, DOSAGEM, ETC)	Será realizada eutanásia dos 4 animais do grupo experimental e do animal do grupo controle após desenvolvimento de sinais clínicos usando Thiopental sódico (15mg/kg), Xilazina (0,2 mg/kg) e Cloreto de Potássio (0,8ml/kg) endovenoso segundo Luna & Teixeira, 2007.

¹Para classificação considerar o Guia de Preenchimento do protocolo CEUA-Fiocruz, disponível no link CEUA-UFRPE

²De acordo com a Lei 5.517 de 23 de outubro de 1968, Art. 5º, alínea "a".

³Em caso de inoculo infeccioso, indicar a classe de risco

⁴Considerar a Resolução nº 714 de junho de 2002 do CFMV.

10. JUSTIFICATIVA PARA O ENVOLVIMENTO DE ESTRESSE E/OU DOR INTENCIONAL NO (S) ANIMAL (IS) EXPERIMENTAL (IS) - CASO SE APLIQUE

É necessário o desenvolvimento do modelo experimental na espécie bovino em virtude da não obtenção de êxito em desenvolver o quadro clínico-patológico em animais de laboratório e por ser a espécie bovina, a espécie animal com ocorrência de surtos naturais. A avaliação não é possível em casos de intoxicação natural, pois não teremos como mesurar parâmetros como dose tóxica e período suficiente de ingestão para causar lesão. Medidas como diminuição do número amostral e protocolo de eutanásia baseado na indicação do COBEA serão medidas para minimizar o estresse envolvido no processo.



11. INFORMAÇÕES SOBRE O DESTINO DO (S) ANIMAL (IS), VIVO (S) OU MORTO (S), APÓS O TÉRMINO DO EXPERIMENTO*

Após eutanásia serão submetidos à necropsia, realizada a colheita de material e os animais serão enterrados em vala sanitária profunda apropriada para esta finalidade.

*Inclui reutilização do (s) animal (is). Neste caso, justificar.

12. INFORMAÇÕES SOBRE AS CONDIÇÕES DE BIOSSEGURIDADE E IMPACTO AMBIENTAL OFERECIDOS PELO EXPERIMENTO – CASO SE APLIQUE

As carcaças serão enterradas em vala com profundidade adequada para o tamanho da espécie e com bastante terra para cobertura completa para evitar predação por aves de rapina ou animais invasores no local e para acelerar processo de decomposição. Este procedimento é realizado em todas as instituições universitárias brasileiras que não dispõem de forno crematório e que trabalham com modelos de experimentação animal.

13. TERMO DE RESPONSABILIDADE:

Certifico que este projeto não é desnecessariamente duplicativo, tem mérito científico e que a equipe responsável/colaboradora é treinada para executar os procedimentos descritos nesse protocolo, estando todos cientes dos Princípios Éticos na Experimentação Animal constantes na legislação vigente e no Regimento Interno da CEUA-UFRPE e concordo plenamente com as suas exigências durante a execução desse experimento.

NOME: Márcia Bersane Araújo de Medeiros Torres

DATA: 06/07/2009

ASSINATURA: _____

M. Torres



CEUA - UFRPE
Aprovado em
26/02/2010
Validade
26/02/2012



Carlos Antônio Alves Pontes
Carlos Antônio Alves Pontes
Presidente
CEUA - UFRPE