

**UFSM**

**Tese de Doutorado**

**INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL POR *Ateleia glazioviana* EM  
OVINOS: PATOGÊNESE E BASES MORFOLÓGICAS DA FALHA  
REPRODUTIVA, DA INSUFICIÊNCIA CARDÍACA E DOS  
DISTÚRBIOS NEUROLÓGICOS**

---

**Margarida Buss Raffi**

**PPGMV**

**Santa Maria, RS, Brasil**

**2004**

**INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL POR *Ateleia glazioviana* EM  
OVINOS: PATOGÊNESE E BASES MORFOLÓGICAS DA FALHA  
REPRODUTIVA, DA INSUFICIÊNCIA CARDÍACA E DOS  
DISTÚRBIOS NEUROLÓGICOS**

---

**por**

**Margarida Buss Raffi**

Tese apresentada ao Curso de Doutorado  
do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária,  
Área de Concentração em Patologia Veterinária, da  
Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS),  
como requisito parcial para obtenção do grau de  
**Doutor em Medicina Veterinária**

**PPGMV**

**Santa Maria, RS, Brasil**

**2004**

**Universidade Federal de Santa Maria**  
**Centro de Ciências Rurais**  
**Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,  
aprova a Tese de Doutorado

**INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL POR *Ateleia glazioviana* EM OVINOS:  
PATOGÊNESE E BASES MORFOLÓGICAS DA FALHA REPRODUTIVA, DA  
INSUFICIÊNCIA CARDÍACA E DOS DISTÚRBIOS NEUROLÓGICOS**

elaborada por

**Margarida Buss Raffi**

como requisito parcial para obtenção do grau de  
**Doutor em Medicina Veterinária**

**COMISSÃO EXAMINADORA:**

---

**Claudio Severo Lombardo de Barros**  
(Presidente/Orientador)

---

**Dominguita Lühers Graça**

---

**Franklin Riet-Correa**

---

**Gláucia Denise Kommers**

---

**David Driemeier**

Santa Maria, 17 de setembro 2004.

## AGRADECIMENTOS

A Deus por ter me proporcionado força e coragem para fazer o doutorado, e ter colocado pessoas tão maravilhosas em meu caminho, minha família, meus familiares e amigos.

Ao meu esposo, Leonardo Luiz Raffi, por sempre me estimular e acompanhar, nas importantes etapas da minha vida, e as minhas filhas, Lauren e Sophia, que souberam entender as minhas constantes ausências.

Ao meu orientador Claudio Barros, excelente profissional, que é exemplo e estímulo a profissão que escolhi, e que não mediu esforços para ajudar na realização deste trabalho.

A minha amiga, colega de doutorado e profissão, Eliza Simone Viéguas Sallis, por sua imensa amizade e estímulo nas horas difíceis.

A Raquel Rubia Rech, pela amizade e estar sempre pronta a ajudar, que possui um coração imenso, maior que ela mesma.

Aos colegas Shana, Fabiano, Inge, Cristina pelas discussões profissionais e filosóficas que tanto contribuíram para o crescimento profissional e pessoal.

Aos professores do Setor de Patologia (UFSM), Dominguita, Glaucia e Luiz Francisco, que me acolheram tão bem, e contribuíram com o meu crescimento profissional.

Ao Dr. Severo e Riet pelo exemplo de profissionais e estímulo para a realização do doutorado.

Aos colegas Cristina, Mielke e Josiane pelo estímulo à realização e conclusão deste trabalho.

A amiga Ana Lúcia pela amizade, carinho e estímulo para realização do doutorado. A amiga Zuleica que sempre demonstrou enorme carinho e amizade, muito obrigada.

Ao João Nunes pela dedicação e carinho demonstrados na confecção das lâminas histológicas necessárias para conclusão deste trabalho. E a Simone que com paciência e dedicação preparou o material da microscopia eletrônica.

Aos bolsistas Ricardo, Aline, Marta e Odair, que tanto me ajudaram para realização do experimento, desde a coleta da planta até a administração por via oral, individual aos animais. Ao Juca pelos inúmeros exames de ultra-som e inseminação artificial que foram realizados nas ovelhas.

Ao Serginho pelos vários auxílios em diferentes etapas deste trabalho e Rosmarina pelo carinho e elaboração das fotos de microscopia eletrônica.

Aos meus pais, que me inculcaram a importância do estudo para a vida; e minha irmã Maira, por seu imenso amor, e que sempre foi exemplo e estímulo para minha vida.

E a CAPES pela concessão da bolsa de doutorado.

## SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS.....	iv
RESUMO.....	vii
ABSTRACT.....	ix
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	03
2.1 Manifestações clínico-patológicas da intoxicação por <i>Ateleia glazioviana</i> e enfermidades semelhantes.....	03
2.2 Distúrbios reprodutivos em ovelhas.....	09
2.2.1 Causas infecciosas de aborto em ovinos.....	11
2.2.2 Plantas que causam problemas reprodutivos.....	15
3. TRABALHO 1.....	19
4. TRABALHO 2.....	41
5. DISCUSSÃO GERAL.....	62
6. CONCLUSÕES.....	68
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	69

## **RESUMO**

Tese de Doutorado

Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária

Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil

### **INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL POR *Ateleia glazioviana* EM OVINOS: PATOGÊNESE E BASES MORFOLÓGICAS DA FALHA REPRODUTIVA, DA INSUFICIÊNCIA CARDÍACA E DOS DISTÚRBIOS NEUROLÓGICOS**

AUTORA: MARGARIDA BUSS RAFFI

ORIENTADOR: CLAUDIO SEVERO LOMBARDO DE BARROS

Data e local da defesa: Santa Maria, 17 de setembro de 2004.

Este estudo foi realizado para investigar os seguintes aspectos da intoxicação por *Ateleia glazioviana* em ovinos: (1) as propriedades abortivas da planta e a patogênese dos abortos e da falha reprodutiva associada à toxicose e (2) a morfologia e patogênese das lesões cardíacas e encefálicas. Para a primeira parte do experimento, 17 ovelhas prenhes receberam, por via oral, diferentes quantidades das folhas verdes ou secas de *A. glazioviana* fracionadas em 1-24 doses diárias. Todas as 17 ovelhas manifestaram alguma forma de falha reprodutiva. Nove ovelhas (52,9%) abortaram seus fetos aos 4-36 dias após o início da administração da planta; houve um natimorto e uma morte intra-uterina. Seis ovelhas pariram 8 cordeiros fracos, sete dos quais morreram de alguns minutos até 48 horas após o nascimento. Alterações macro e microscópicas observadas em cordeiros, num natimorto e nos fetos abortados eram notavelmente

semelhantes às observadas na intoxicação espontânea por *A. glazioviana* em ruminantes. Foi concluído que os abortos causados por *A. glazioviana* são devidos às lesões induzidas no feto por via transplacentária e consistem de miocardiopatia tóxica e degeneração esponjosa da substância branca do encéfalo. Para a segunda parte do experimento, 15 ovinos adultos receberam diferentes quantidades diárias das folhas verdes frescas de *A. glazioviana* por vários períodos de tempo (1-24 dias). Os sinais clínicos observados nos ovinos afetados incluíram depressão, anorexia, fraqueza, incoordenação e decúbito prolongado. Um ovino apresentou sinais de insuficiência cardíaca congestiva. Os achados de necropsia incluíram edema subcutâneo e das cavidades orgânicas em dois ovinos e fígado de noz moscada em um. Os achados histopatológicos incluíram degeneração, necrose e fibrose intersticial no miocárdio em 4 ovinos e degeneração esponjosa da substância branca do encéfalo (*status spongiosus*) em 10 ovinos. A ultra-estrutura da lesão encefálica foi morfológicamente classificada no grupo das mielinopatias espongiiformes em que ocorre vacuolização da mielina sem degradação ou fagocitose significativas.

**Palavras-chave:** plantas tóxicas, *Ateleia glazioviana*, miocardiopatia tóxica, intoxicação transplacentária, falha reprodutiva, abortos, *status spongiosus*, doenças de ovinos.



***ABSTRACT***

Doctoral Thesis

Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária

Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil

**INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL POR *Ateleia glazioviana* EM OVINOS:  
PATOGÊNESE E BASES MORFOLÓGICAS DA FALHA REPRODUTIVA, DA  
INSUFICIÊNCIA CARDÍACA E DOS DISTÚRBIOS NEUROLÓGICOS**

**(EXPERIMENTAL POISONING BY *A glazioviana* IN SHEEP: THE  
PATHOGENESIS AND MORPHOLOGICAL BASIS FOR THE  
REPRODUCTIVE AND CARDIAC FAILURE AND FOR THE  
NEUROLOGICAL DISTURBANCES)**

AUTHOR: MARGARIDA BUSS RAFFI

ADVISER: CLAUDIO SEVERO LOMBARDO DE BARROS

Santa Maria, September 17, 2004.

This experiment was undertaken to study the following aspects of the *A. glazioviana* poisoning in sheep: (1) abortifacient properties of the plant and the pathogenesis of the abortions and reproductive failure associated with the toxicosis and (2) the morphology and pathogenesis of cardiac and brain lesions. In the first part of the experiment, 17 pregnant ewes were orally fed variable amounts of either green or dried leaves of *A. glazioviana* fractioned in 1-24 daily doses. All 17 ewes manifested some form of

reproductive failure. Nine (52.9%) aborted their fetuses at 4-36 days after starting being fed the leaves of the plant; one had a stillbirth and in another one intrauterine fetal death was diagnosed. The other six ewes delivered 8 weak lambs seven of which died from few minutes to 48 hours after birth. Gross and histopathological changes observed in lambs, stillborn, and in aborted fetuses were rather similar to those found in the spontaneous poisoning by *A. glazioviana* in ruminants. It is concluded that abortions caused by *A. glazioviana* are due to transplacental induced fetal lesions consisting of toxic cardiomyopathy and spongy degeneration of the white matter of the brain. For the second part of the experiment 15 mature sheep were fed varying daily amounts of the fresh green leaves of *A. glazioviana* for different periods of time (1-24 days). Clinical signs observed in poisoned sheep included depression, anorexia, general weakness, staggering gait and prolonged recumbency. One sheep had signs of congestive heart failure. Necropsy findings included subcutaneous and cavitory edema in two sheep and nutmeg liver in one. Histopathological findings included degeneration, necrosis and interstitial fibrosis in the myocardium of 4 sheep and spongy degeneration of cerebral white matter (*status spongiosus*) in 10 sheep. The ultrastructure of the brain lesion was morphological consistent with those found in diseases grouped as spongiform myelinopathies in which vacuolation of myelin occur in absence of significant myelin break down or phagocytosis.

**Key words:** poisonous plants, *Ateleia glazioviana*, toxic cardiomyopathy, transplacental poisoning, reproductive failure, abortions, *status spongiosus*, diseases of sheep.

## 1 INTRODUÇÃO

*Ateleia glazioviana* é uma árvore que, no Brasil, é encontrada no noroeste do Rio Grande do Sul e oeste de Santa Catarina (Longhi, 1995). Dependendo da região onde ocorre, a planta recebe diferentes denominações populares como “timbó”, “maria-preta”, “cinamomo bravo” e “amargo” (Gava *et al.*, 2001).

Há muitas décadas, produtores atribuem as altas taxas de abortos observadas em bovinos da região noroeste do Rio Grande do Sul à ingestão de *A. glazioviana*. Nessa região, onde a planta ocorre em grande quantidade há também alta incidência de enfermidades em bovinos caracterizadas por apatia e depressão (interpretadas pelos produtores como tristeza parasitária), por mortes súbitas (interpretadas como carbúnculo hemático) e por edema subcutâneo de declive (interpretadas geralmente como pericardite traumática) (Barros 2004, Comunicação Pessoal). No entanto, por muito tempo, as causas dessas doenças não foram devidamente confirmadas nem investigadas.

No início da década de 1990, a reprodução experimental dos abortos em bovinos pela administração oral de *A. glazioviana* (Stolf *et al.*, 1994) confirma definitivamente a antiga suspeita dos produtores da região de ocorrência da planta. Abortos espontâneos em eqüinos foram também verificados nessa época (Barros, dados não publicados). No entanto, as possíveis lesões associadas aos abortos não puderam ser investigadas.

Experimentos realizados posteriormente com bovinos (Gava, 2000; Gava & Barros, 2001; Gava *et al.*, 2001) definiram que a doença interpretada anteriormente como tristeza parasitária era causada por degeneração esponjosa da substância branca do encéfalo e que a doença caracterizada por edema subcutâneo de declive (insuficiência cardíaca congestiva) e as mortes súbitas eram causadas por miocardiopatia crônica e que tanto essa miocardiopatia como a degeneração esponjosa do encéfalo, eram induzidas pela ingestão de *A. glazioviana*. Ficou então esclarecido que essa intoxicação era responsável por grandes perdas econômicas causadas tanto pela falha reprodutiva como por mortes de bovinos adultos.

Desde o início dos experimentos com bovinos, observou-se que essa espécie era difícil de ser usada como animal de experimentação, principalmente pelo alto custo, difícil manejo e gestação longa.

Testes com animais de laboratório indicaram que coelhos, cobaias, ratos e camundongos não são sensíveis (Leite *et al.*, 2002) e, portanto, não servem como modelo experimental. Por outro lado, experimentos com ovinos (Stigger *et al.*, 2001) revelaram que essa espécie era a mais adequada para determinar doses tóxicas, morfologia e patogênese das alterações associadas à intoxicação por *A. glazioviana*.

O estudo que vai ser relatado a seguir investigou esses aspectos da intoxicação por *A. glazioviana* usando ovinos como animal de experimentação. Os objetivos foram investigar a patogenia dos abortos, das lesões encefálicas e das lesões cardíacas e determinar a morfologia e distribuição das lesões responsáveis pelas três manifestações clínicas. Os resultados dessas conclusões foram submetidos para publicação no periódico *Veterinary and Human Toxicology*. Os manuscritos desses trabalhos estão anexados a essa tese e referenciados ao final.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Manifestações clínico-patológicas da intoxicação por *Ateleia glazioviana* e enfermidades semelhantes

*Ateleia glazioviana* (Leg. Papilionoideae) é uma árvore decídua de copa alongada, que ocorre no noroeste do Rio Grande do Sul, na zona da mata latifoliada da bacia do Alto Uruguai e no oeste e meio-oeste de Santa Catarina (Lorenzi, 1992; Longhi, 1995). Nessas regiões, a planta é conhecida como “timbó”, “cinamomo bravo”, “maria-preta” ou “amargo” (Longhi, 1995; Gava, 2000). A árvore pode atingir alturas de 8-20 metros. Possui tronco liso de 30-60 cm de diâmetro, e as folhas são compostas e imparipinadas. Floresce de novembro a janeiro (principalmente dezembro), possui flores brancas, e seus frutos amadurecem de março a maio. Os frutos consistem de vagens achatadas com ápice afilado, contendo duas ou três sementes redondas, pequenas, reniformes e marrom-escuras (Lorenzi, 1992; Longhi, 1995). *A. glazioviana* é freqüente em vegetação secundária, na orla de capões, em beira de estradas e como invasora de pastagens, geralmente em agrupamentos populacionais quase puros, principalmente em terrenos úmidos (Lorenzi, 1992; Longhi, 1995; Gava & Barros, 2001).

A intoxicação espontânea por *A. glazioviana* é observada freqüentemente em bovinos (Gava, 1993) e já foi descrita em ovinos (Gava *et al.*, 2003). A planta é palatável para os bovinos que a ingerem prontamente quando há escassez de forragem, principalmente em casos de seca ou de superpopulação dos campos (Gava, 1993). Várias manifestações clínicas têm sido atribuídas à ingestão de *A. glazioviana* pelos bovinos; os animais afetados têm geralmente acima de um ano de idade (Stolf *et al.*, 1994; Gava & Barros, 2001; Gava *et al.*, 2001).

As primeiras documentações sobre a intoxicação por *A. glazioviana* relatam uma alta freqüência de abortos em vacas (Gava, 1993; Stolf *et al.*, 1994). Esses abortos ocorrem em qualquer fase da gestação, 6 a 16 dias após a ingestão da planta. Bezerros de vacas afetadas no final da gestação podem nascer fracos, e as vacas podem

apresentar retenção de placenta e corrimento vaginal sanguinolento. Não foram documentadas lesões nos fetos abortados (Stolf *et al.*, 1994).

A intoxicação por *A. glazioviana* em bovinos manifesta-se também por alterações clínicas relacionadas aos sistemas nervoso e cardiovascular. Bovinos apresentam morte súbita (insuficiência cardíaca aguda) ou insuficiência cardíaca congestiva (insuficiência cardíaca crônica) caracterizada por edemas de declive, ingurgitamento e pulso venoso positivo das veias jugulares. As manifestações clínicas de distúrbios neurológicos caracterizam-se por depressão e cegueira. Esses sinais podem ou não preceder as manifestações de insuficiência cardíaca. A doença aparece principalmente no outono e inverno, com morbidade de 10 a 60% e mortalidade que pode atingir 95% (Gava & Barros, 2001; Gava *et al.*, 2001).

Os bovinos afetados geralmente estão em bom estado nutricional. Ao serem movimentados para a ordenha ou para outros procedimentos, como vacinação ou everminação, os bovinos param, tornam-se ofegantes, cansados, trêmulos e caem em decúbito esternal ou lateral. O tempo entre o aparecimento desses sinais clínicos e a morte não é mais que alguns minutos. Nesses casos, os achados de necropsia são restritos ao coração e caracterizados por áreas brancas, firmes, bem demarcadas e de contornos irregulares, mais facilmente perceptíveis na superfície de corte. Histologicamente, há degeneração, necrose e fibrose acentuadas do miocárdio (Gava, 2000).

Os sinais clínicos de insuficiência cardíaca congestiva associados à intoxicação em bovinos por *A. glazioviana* incluem edema subcutâneo de declive, ingurgitamento e pulso venoso positivo da jugular. Quando os sinais clínicos estão bem desenvolvidos, os animais tornam-se lentos e cansam facilmente. Diarréia é um achado freqüente, e os bovinos afetados podem morrer subitamente após serem forçados a se exercitar. A morte sobrevém dentro de poucas semanas a alguns meses do aparecimento dos sinais clínicos. Os achados de necropsia são relacionados à insuficiência cardíaca congestiva, i.é, edema subcutâneo, derrame nas cavidades orgânicas e fígado de noz-moscada (Gava & Barros, 2001; Gava *et al.*, 2001).

Em alguns casos de intoxicação por *A. glazioviana* em bovinos, predominam os sinais clínicos de distúrbios nervosos (Gava & Barros, 2001; Gava *et al.*, 2001).

Nesses casos, a morbidade e letalidade são variáveis, mas podem atingir 30% e 20% respectivamente. Os animais afetados demonstram profunda depressão caracterizada por inércia e indiferença ao ambiente, permanecendo por longos períodos parados, geralmente dentro de águas rasas ou banhados, com a cabeça baixa e orelhas caídas. Ocasionalmente há cegueira. Quando forçados a se movimentar, mostram incoordenação e freqüentemente se chocam contra objetos. Há emagrecimento, e as fezes estão ressequidas. Vacas prenhes abortam. Não há lesões significativas na necropsia, e os principais achados histopatológicos consistem de degeneração esponjosa (*status spongiosus*) na substância branca do encéfalo (Gava, 2000). Acredita-se que essa lesão seja responsável pelos distúrbios nervosos observados clinicamente (Gava & Barros, 2001; Gava *et al.*, 2001). Lesões semelhantes têm sido descritas em afecções primárias do sistema nervoso central. Essas incluem condições hereditárias congênitas como deficiências enzimáticas (Summers *et al.*, 1995; Storts & Montgomery, 2000) e distúrbios adquiridos de natureza tóxica. Em ruminantes, a condição tem sido associada à intoxicação pelas plantas *Helichrysum argyrosphaerum* em ovelhas e cabras (Van der Lugt *et al.*, 1996), *Ornithogalum saundersiae* e *O. prasinum* em bovinos (Van der Lugt *et al.*, 2002a) e por substâncias químicas, como os anti-helmínticos closantel e rafxamide em ovelhas e cabras (Ecco *et al.*, 1999; Van der Lugt & Venter, 2002). A degeneração esponjosa da substância branca do cérebro tem sido também observada como uma manifestação secundária de lesões hepáticas crônicas difusas, como as causadas por *Crotalaria* spp (Van der Lugt *et al.*, 2002b), *Senecio* spp (Finn & Tennant, 1974; Barros *et al.*, 1992) em bovinos e intoxicação crônica por cobre em ovinos (Ilha *et al.*, 2001). Essa última alteração em ovinos no Rio Grande do Sul tem sido associada à intoxicação crônica por *Senecio brasiliensis*.

Outras condições associadas à degeneração esponjosa do cérebro incluem os problemas hereditários do metabolismo, como é o caso da “doença da urina de xarope de bordo” (*maple syrup urine disease*) em bezerros (Harper *et al.*, 1986; Baird *et al.*, 1987) e a doença de Canavan em crianças (De Girolami *et al.*, 1999).

Nos casos de intoxicação por *A. glazioviana* relacionados à insuficiência cardíaca em ruminantes, há marcada degeneração, necrose e fibrose do miocárdio. Alterações semelhantes em animais podem ser causadas por toxinas de plantas,

substâncias químicas, deficiências nutricionais (Barros *et al.*, 1990; Barros *et al.*, 1999; Barros, 2001a; Barros, 2001b), distúrbios metabólicos (Vogel & Fritz, 2003) e neurogênicos (King *et al.*, 1982).

As plantas que causam insuficiência cardíaca em ruminantes são divididas em dois grandes grupos: plantas que causam insuficiência cardíaca aguda ou superaguda com morte súbita, sem lesões morfológicas apreciáveis macroscopicamente, e plantas que causam insuficiência cardíaca crônica, associada a acentuadas lesões degenerativas e fibrosantes no miocárdio, que podem ser facilmente detectadas ao exame macroscópico (Kellerman *et al.*, 1988; Tokarnia *et al.*, 1990; Peixoto *et al.*, 1995; Tokarnia *et al.*, 2000).

No Brasil, são descritas, até o presente, três plantas do segundo grupo: *Tetrapteryx acutifolia*, *T. multiglandulosa* (Tokarnia *et al.*, 1990; Peixoto *et al.*, 1995) e *A. glazioviana* (Gava & Barros, 2001; Gava *et al.*, 2001). Na África, são relatadas cinco plantas que induzem lesões miocárdicas semelhantes em bovinos: *Pachystigma pygmaeum*, *P. thamnus*, *Pavetta harborii*, *P. schumanniana* e *Fadogia monticola* (Kellerman *et al.*, 1988). Embora todas as doenças desse grupo sejam caracterizadas por lesões crônicas do miocárdio, todas elas podem, com maior ou menor frequência, causar morte súbita, o que as torna clinicamente confundíveis com as doenças do primeiro grupo. Alternativamente, essas enfermidades podem estar associadas a sinais de insuficiência cardíaca congestiva (Kellerman *et al.*, 1988; Tokarnia *et al.*, 1990; Tokarnia *et al.*, 2000).

Uma outra doença cardíaca, não associada a mortes súbitas e provavelmente associada à ingestão de uma planta tóxica, ocorre em bovinos do Planalto Leste de Santa Catarina (Tokarnia *et al.*, 1989b). A enfermidade é conhecida como “doença do peito inchado” em razão do edema subcutâneo de declive que ocorre como resultado da insuficiência cardíaca congestiva. Outro sinal clínico de insuficiência cardíaca congestiva observado nesses casos é o ingurgitamento da jugular. Na necropsia, observam-se fígado de noz-moscada, dilatação cardíaca e áreas brancas de contorno irregular no miocárdio, principalmente no septo interventricular. Achados histopatológicos incluem tumefação difusa de miofibras cardíacas, vacuolização de fibras isoladas e fibrose intersticial.



A intoxicação por *Senna occidentalis* (fedegoso) é descrita em várias espécies (Barros *et al.*, 1990; Barros, 1993; Barth *et al.*, 1994; Barros *et al.*, 1999). Essa planta causa lesões degenerativas e necrosantes nos músculos esqueléticos e, em menor grau, no miocárdio, e é geralmente mencionada no diagnóstico diferencial das miocardiopatias tóxicas e nutricionais de ruminantes (Barros, 2001a; Barros, 2001b). No entanto, na intoxicação por *S. occidentalis*, as lesões cardíacas, se de fato ocorrem, são mínimas; não se comparam às causadas por *A. glazioviana* e *Tetrapteryx* spp (Barros *et al.*, 1990; Barros, 1993; Barth *et al.*, 1994) e nunca são associadas a fibrose; além disso, as lesões degenerativas dos músculos esqueléticos, vistas na intoxicação por *S. occidentalis*, não são observadas na intoxicação pelas plantas cardiotoxicas (Barros, 1993).

Surtos de morte súbita ou insuficiência cardíaca congestiva têm sido descritos em bovinos e ovinos intoxicados por antibióticos ionóforos (Gava *et al.*, 1997; Barros, 2001a). Alguns aspectos clínicos e achados de necropsia nesses casos podem se assemelhar aos da intoxicação por *A. glazioviana*. Os animais intoxicados mostram anorexia, incoordenação, rigidez muscular, diarreia, emagrecimento e se cansam facilmente. Edema subcutâneo de declive e nas cavidades orgânicas e fígado de nozmoscada podem ocorrer associados às lesões macroscópicas do miocárdio que consistem de áreas branco-amareladas. Na histopatologia, há necrose de fibras e, em casos avançados, fibrose. Lesões degenerativas nos músculos esqueléticos fazem parte dos achados de necropsia (Bastianello *et al.*, 1995; Wouters *et al.*, 1997a, Wouters *et al.*, 1997b).

Surtos de miopatia nutricional (deficiência de vitamina E/selênio) têm sido descritos no Rio Grande do Sul (Barros *et al.*, 1988; Barros, 2001b). A doença caracteriza-se por degeneração dos músculos esqueléticos e do miocárdio e afeta principalmente bezerras e cordeiros jovens (2-4 meses) de crescimento rápido e deficientes em vitamina E/selênio. A forma mais comum tem curso clínico subagudo com evolução de alguns dias a uma semana. Os sinais clínicos caracterizam-se por rigidez dos músculos, dificuldade de locomoção, tremores musculares, posturas anormais, depressão e morte. As lesões de necropsia são principalmente relacionadas à musculatura esquelética e ao miocárdio e são geralmente simétricas e bilaterais

localizadas nos músculos que trabalham mais. Lesões iniciais aparecem como áreas e listras pálidas na musculatura e podem passar facilmente despercebidas, particularmente em músculos normalmente pálidos. No entanto, à medida que a lesão evolui, ocorre calcificação sobre a fibra do músculo degenerado, as lesões tornam-se opacas, brancas e muito mais conspícuas. Lesões histológicas incluem alterações degenerativas, regenerativas e calcificação no músculo esquelético e no miocárdio.

Os resultados dos experimentos com a reprodução experimental da intoxicação por *A. glazioviana* indicam que o tipo de sinais clínicos predominantes depende da quantidade de planta ingerida. Os sinais clínicos de distúrbios nervosos ocorrem quando os bovinos ingerem grandes quantidades (30-40g/kg) em um único dia. Se o animal exposto for uma vaca prenhe, ocorrerá o aborto, mas, nesses casos, geralmente há recuperação clínica do animal afetado. Quando a planta é ingerida em quantidades diárias de 10 g/kg até um total de 70 g/kg ou mais, predominam os sinais de distúrbios nervosos, e o quadro evolui para morte, mas as lesões cardíacas são mínimas ou ausentes, e as lesões encefálicas (*status spongiosus*) predominam. Quando quantidades maiores que 70 g/kg são fracionadas em doses diárias de 2,5 a 7,5 g/kg e administradas a bovinos, as mortes ocorrem associadas a lesões cardíacas (Gava, 2000).

A intoxicação por *A. glazioviana* foi também reproduzida experimentalmente em ovinos, que apresentam alterações semelhantes às observadas em bovinos (Stigger *et al.*, 2001). Por isso, essa é a espécie de escolha como modelo experimental, pois são animais de aquisição mais fácil, de menor porte e mais dóceis para o manejo diário. A tentativa de reprodução experimental da intoxicação em cobaias, camundongos, ratos e coelhos resultou negativa, o que elimina a possibilidade de uso desses animais de laboratório como modelos experimentais (Leite *et al.*, 2002).

O princípio ativo de *A. glazioviana* permanece desconhecido; no entanto, é conhecido seu efeito ictiotóxico, e tem sido isolado dos extratos das folhas da planta, como principais componentes isoflavonas (afrormosina e 5-metoxiafrormosina), rutina, flavonóides, taninos, triterpenos/esteróides e aminoácidos (Ortega & Schenkel, 1987). Extratos aquosos e hidroalcoólicos de *A. glazioviana* administrados a ratas, durante a gestação, comprometeram a performance reprodutiva e o desenvolvimento ponderal (Langeloh *et al.*, 1992). Estudos utilizando extratos hidroetanólicos, administrados por

injeção intraperitoneal a ratas prenhes, demonstraram aumento da reabsorção fetal, diminuição do ganho de peso e abortos (Marona *et al.*, 1992).

## **2.2 Distúrbios reprodutivos em ovelhas**

Para a manutenção da gestação em bovinos e ovinos, é necessário que a lise cíclica normal do corpo amarelo seja inibida; isso ocorre pela inibição da síntese e liberação endometrial de prostaglandina  $F_2\alpha$  pelos blastocistos, o que induz a manutenção do corpo amarelo que determina o suporte hormonal parcial ou total da gestação. O corpo amarelo é essencial somente durante a primeira metade da gestação em bovinos e ovinos. Nessas espécies, a morte embrionária precoce permite a liberação de  $PGF_2\alpha$ , lise do corpo amarelo e subsequente volta ao ciclo estral. As infecções venéreas são algumas das causas de morte embrionária precoce, porém existem evidências de que as anomalias cromossômicas sejam de fato, as principais responsáveis (Kennedy & Miller, 1993).

Em ovelhas, o parto é iniciado por aumento brusco da secreção de cortisol pelo córtex adrenal do feto. Essa hipersecreção é parcialmente devida à maior capacidade de resposta à corticotropina (ACTH) e, parcialmente, ao aumento da produção de ACTH fetal. O cortisol fetal induz a síntese de enzimas placentárias indutoras da produção de estrógeno a partir de progesterona, aumenta a produção de estrógeno placentário e diminui a progesterona. Essa alteração da relação estrógeno-progesterona estimula a liberação de  $PGF_2\alpha$  pelo endométrio materno. A  $PGF_2\alpha$  induz o relaxamento da cérvix alterando as propriedades físicas das fibras colágenas. Essas alterações consistem, em parte, na diminuição do colágeno, mas principalmente num aumento nos glicosaminoglicanos e água, que tornam mais frouxa a matriz onde as fibras colágenas estão inseridas. A  $PGF_2\alpha$  também aumenta a resposta da ocitocina e estimula as contrações uterinas (Kennedy & Miller, 1993).

Desconhecem-se os mecanismos pelos quais os fetos mortos de bovinos e ovinos são expulsos, porém é provável que a expulsão tenha algumas características em comum com o parto normal. Certamente há liberação de  $PGF_2\alpha$ , relaxamento cervical e contrações coordenadas do miométrio. Uma enfermidade fetal crônica em bovinos e

ovinos resulta na expulsão prematura de fetos vivos, porém enfermos. O estresse fetal ativa o mesmo eixo endócrino hipotálamo-pituitária-adrenal do parto normal (Kennedy & Miller, 1993).

O zigoto degenerado ou o embrião precoce podem ser reabsorvidos ou expulsos do útero. Nas etapas mais tardias do desenvolvimento, os efeitos da morte fetal são imprevisíveis. O feto pode ser abortado, sofrer maceração ou mumificar. Em alguns casos, o corpo amarelo autolisa, o feto morto pode ser expulso, geralmente em estado acentuado de autólise. O aborto é definido como a expulsão do feto antes de ele atingir expectativa de viabilidade; um feto que é expulso morto quando já havia expectativa de viabilidade é denominado natimorto (McCue & Troedsson, 2002).

A mumificação fetal é um evento ocasional em todas as espécies, porém mais freqüente nas múltiparas, principalmente em suínos. Para que ocorra a mumificação fetal, é necessária ausência de infecção bacteriana. Os líquidos fetais são reabsorvidos e as membranas se apóiam firmemente sobre o feto dessecado. Toda a massa se torna marrom ou negra, com aspecto coriáceo, com sua superfície umedecida por um muco pegajoso, porém inodoro e sem exsudato (Kennedy & Miller, 1993).

Para que ocorra maceração ou enfisema, é necessária a infecção uterina. Nos ovinos, existe uma enfermidade que se manifesta em fetos quase a termo, ocasionando distensão timpânica aguda do útero, lesões necrosantes e hemorrágicas típicas no feto, e acúmulo de exsudato escuro, liquefeito e escasso. A patogenia dessa infecção não está totalmente esclarecida, porém é associada a práticas de manejo, como a tosquia (Kennedy & Miller, 1993).

A baixa eficiência reprodutiva dos ovinos ocorre principalmente pelo alto índice de mortalidade perinatal. Na Austrália, Nova Zelândia e Inglaterra estima-se que morram anualmente 15%-20% dos cordeiros nascidos; essas taxas são de 15%-32% dos cordeiros no Uruguai. No Rio Grande do Sul, estima-se que morrem 15%-40% dos cordeiros nascidos. Considerando-se uma mortalidade de 25%, calcula-se em 900.000 o número de cordeiros mortos anualmente (Oliveira & Barros, 1982; Riet-Correa & Méndez, 2001).

Entre os fatores responsáveis pela mortalidade perinatal, que atuam individualmente ou relacionados entre si, obtiveram-se as seguintes porcentagens, em

trabalho realizado no Sul do Rio Grande do Sul (Méndez *et al.*, 1982; Riet-Correa & Méndez, 2001): a) condições ambientais adversas, que causam a morte como conseqüência da falta de adaptação do recém-nascido às novas condições de vida (40%-78%); b) distocias e suas conseqüências (10%-22%); c) microrganismos causadores de mortalidade fetal e abortos (2%-5%); d) predadores primários (menor de 5%); e) infecções neonatais (0,5%-3,6%) e f) malformações congênitas (0,5%-2,3%).

### **2.2.1 Causas infecciosas de aborto em ovinos**

O protozoário *Toxoplasma gondii* é comum a muitas espécies animais e ao homem. *T. gondii* é atualmente reconhecido como a maior causa de aborto em ovinos; os abortos podem ser esporádicos ou epizooticos e podem ocorrer também em caprinos e suínos. As ovelhas mais propensas a desenvolver a infecção são as transportadas para áreas altamente contaminadas com material fecal de gatos; isso é comum em regiões onde as ovelhas são alojadas em estábulos (Kirkbride, 1990; Stewart & Turner, 1994).

A infecção é mais patogênica para os fetos no primeiro terço da gestação e determina morte e expulsão ou retenção e reabsorção. Nos fetos infectados no terço final da gestação podem ocorrer natimortos, nascimento de cordeiros fracos e nascimento de cordeiros infectados, mas clinicamente normais. As ovelhas geralmente não apresentam sinais clínicos de infecção após o aborto. As lesões mais pronunciadas são na placenta e consistem de necrose multifocal e calcificação das vilosidades cotiledonárias. Essas áreas de necrose podem ser discretas, moderadas ou acentuadas e coalescentes. A região intercotiledonária geralmente não está afetada (Kirkbride, 1990; Kennedy & Miller, 1993; Stewart & Turner, 1994).

O feto não apresenta lesões macroscópicas significativas. Histologicamente, em alguns desses pode haver lesões e exemplares do parasita no miocárdio, nos pulmões e no encéfalo. Focos irregulares, pequenos ou grandes de malácia são freqüentes na substância branca do encéfalo. Na placenta observam-se áreas de necrose caseosa nos cotilédones que podem estar calcificadas. Os microrganismos podem ser observados na forma livre ou em pseudocistos. Com freqüência, os protozoários são observados no endométrio (Kennedy & Miller, 1993).

Bactérias do gênero *Brucella* são pequenos bacilos ou cocobacilos gram-negativos. Os ovinos podem ser infectados por *Brucella ovis* e *B. melitensis*, que ocasionam distúrbios reprodutivos nos machos e nas fêmeas (Kennedy & Miller, 1993; Smith, 2001). *B. ovis* é espécie-específica e reconhecida em muitos países como causa de epididimite em carneiros e abortos em ovelhas (Kirkbride, 1990). Os abortos causados por *B. ovis* e *B. melitensis* ocorrem geralmente no terço final da gestação. Algumas ovelhas infectadas podem parir natimortos ou cordeiros fracos, que morrem nos primeiros dias após o parto. Após abortar, as ovelhas, em geral, permanecem clinicamente normais (Kirkbride, 1990; Smith, 2001).

Alterações macroscópicas associadas ao aborto por *Brucella* spp incluem espessamento e avermelhamento da placenta intercotiledonária. Em casos mais graves, o espessamento ocorre em placas multifocais branco-amareladas que podem coalescer. Os cotilédones podem apresentar necrose periférica ou difusa. No feto, ocasionalmente se observa peritonite ou pleurite fibrinosa. No alantocórion há edema e inflamação supurativa difusa com vasculite fibrinosa e necrose das vilosidades coriônicas. Os fetos podem apresentar bronquiolite e pneumonia supurativa. Menos freqüentemente há infiltrado inflamatório neutrofílico intersticial no rim, particularmente na junção corticomedular, e na região portal do fígado (Kirkbride, 1990; Kennedy & Miller, 1993).

*Campylobacter jejuni* (principalmente) e *C. fetus* são as principais causas de aborto em ovinos nos Estados Unidos (Smith, 2001). A transmissão da campilobacteriose ocorre em ovinos por via digestiva e não venérea, como ocorre em bovinos. Ovinos podem permanecer por longos períodos infectados com *C. jejuni* na mucosa da vesícula biliar e intestino. O microrganismo é eliminado intermitentemente nas fezes e contamina alimentos e água. *C. jejuni* é comumente observado nas fezes de animais domésticos e silvestres, aparentemente normais, e qualquer desses animais pode fazer parte no ciclo de transmissão da campilobacteriose nos ovinos. A taxa de aborto em surtos espontâneos varia entre 5% e 70%; no entanto, usualmente, permanece em torno de 25% (Kennedy & Miller, 1993; Van der Walt, 1994).

Ovinos suscetíveis contaminam-se por via oral, desenvolvem bacteremia transitória após o que o microrganismo localiza-se na vesícula biliar e intestino. Quando

ovelhas prenhes não-imunizadas se infectam, há comprometimento do útero e placenta, e ocorre o aborto, geralmente, na sexta semana de gestação. A ovelha pode morrer em consequência de metrite após o aborto. A frequência de abortos depende do número de ovelhas com mais de um mês de gestação, e sua exposição anterior ou não à cepa infectante. As lesões placentárias são inespecíficas e mais acentuadas nos placentomas do que entre os cotilédones. Os cotilédones estão aumentados de volume, amarelados, opacos, friáveis, recobertos por um exsudato marrom-amarelado. Histologicamente, há edema, infiltrado inflamatório histiocítico e necrose. As alterações no feto incluem edema subcutâneo, derrame pleural fibrinoso e broncopneumonia. Quarenta por cento dos fetos afetados apresentam focos de necrose hepática aleatórios de 0,5 a 2 cm de diâmetro, salientes na cápsula. Microscopicamente, observam-se áreas de necrose hepática multifocais. As lesões devem ser diferenciadas de hepatite necrobacilar multifocal secundária à infecção umbilical (Kirkbride, 1990; Kennedy & Miller, 1993).

*Listeria monocytogenes* afeta primariamente ruminantes e é caracterizada por encefalite ou aborto em adultos e septicemia nos fetos e natimortos (Kirkbride, 1990). *L. monocytogenes* e *L. ivanovii* estão envolvidas no aborto de ovinos, no entanto essa última é menos patogênica (Smith, 2001). A infecção é mais prevalente em locais de clima frio do que em regiões quentes ou tropicais. O microrganismo é amplamente distribuído na natureza, podendo ser encontrado no solo, plantas, silagem e outros alimentos, superfície da água, paredes e pisos de instalações e fezes. A bactéria já foi isolada da secreção nasal e das fezes de ruminantes sadios (Schneider, 1994).

A infecção por *L. monocytogenes* em ovinos produz lesões no feto e placenta, especialmente durante o último trimestre da gestação, e é responsável por taxas de aborto em ovinos em média de 10% (Kirkbride, 1990). Se a infecção uterina ocorrer no início do último trimestre da gestação, o microrganismo desenvolve-se rapidamente na placenta, e o feto morre em consequência de septicemia e é expulso aproximadamente 5 dias após a morte. Há alterações autolíticas que mascaram as lesões macroscópicas produzidas pela bactéria. Todos os órgãos contêm grande número de bactérias que continuam a se multiplicar após a morte fetal. Os abortos nesse período não são geralmente associados a doença sistêmica na ovelha. Há retenção de placenta secundária a metrite, no entanto o microrganismo é rapidamente eliminado do útero vazio. Se a

infecção ocorrer no final da gestação, pode haver distocia, metrite e septicemia. Lesões macroscópicas incluem pequenos pontos multifocais amarelos no fígado. Lesões microscópicas semelhantes são observadas no pulmão, miocárdio, rim, adrenal, baço e encéfalo. Essas lesões correspondem a necrose com bactérias intralesionais, circundadas por neutrófilos degenerados e células mononucleares. Se a infecção ocorrer próximo ao nascimento o feto pode apresentar meningite não-supurativa difusa com bactérias intralesionais. Há necrose das vilosidades da placenta, recobertas por exsudato purulento e colônias bacterianas intralesionais (Kennedy & Miller, 1993).

*Chlamydia psittaci* é uma causa importante de infecção uterina de ovinos e caprinos e causa aborto, natimorto e nascimento de cordeiros fracos. A doença em ovelhas é conhecida como aborto enzoótico ovino (Kennedy & Miller, 1993; Smith, 2001). O microrganismo é transmitido por via oral em rações contaminadas com fezes ou produtos de abortos. *C. psittaci* pode infectar permanentemente o intestino. Em ovelhas gestantes o microrganismo invade a corrente circulatória e infecta a placenta e o feto. Os animais mais suscetíveis são ovelhas prenhes sem imunidade. A morbidade pode atingir 30% quando o microrganismo é introduzido num rebanho livre; taxas de 5% ocorrem em áreas enzoóticas (Kirkbride, 1990; Kennedy & Miller, 1993; Smith, 2001).

A infecção é crônica, e o aborto geralmente ocorre no final da gestação. A retenção pode ocorrer ocasionalmente, provocando doença nas ovelhas. Os cotilédones estão vermelho-escuros ou marrons, firmes e recobertos por exsudato vermelho. Entre os cotilédones, há áreas irregulares marrom-avermelhadas, edema e espessamento que resultam da marcada vasculite de vasos de médio e grande calibre. A vasculite é caracterizada por necrose fibrinóide da média com moderado infiltrado de neutrófilos e algumas células mononucleares. No córion, há necrose superficial e inclusões intracitoplasmáticas características nas células trofoblásticas. O feto geralmente está bem preservado e pode apresentar discretas hemorragias dispersas no tecido subcutâneo, timo, linfonodos e músculos. No fígado e baço, há pequenos focos amarelos multifocais distribuídos pela superfície capsular. Lesões histológicas no feto são discretas, mas características. No fígado e baço há pequenos focos de necrose de coagulação circundados por infiltrado inflamatório mononuclear e, nos pulmões, há espessamento



dos septos alveolares por infiltrado de células mononucleares. Meningoencefalite e vasculite com hemorragia podem ocorrer (Kirkbride, 1990; Kennedy & Miller, 1993).

A língua azul é uma enfermidade viral causada por um reovírus do gênero orbivírus. Os ovinos são a espécie mais suscetível à infecção, mas caprinos e bovinos desenvolvem doença com sinais clínicos discretos ou inaparentes. Ovinos afetados apresentam enfermidade vascular sistêmica com trombose na microcirculação, hemorragia e edema decorrente da lesão endotelial, determinando pequenas áreas multifocais de necrose isquêmica em vários órgãos (Michelsen, 2002). Se a infecção ocorre durante a gestação, pode resultar em diferentes distúrbios reprodutivos, dependendo do período gestacional; dos primeiros dias até o 50º. dia de gestação ocorre morte fetal com reabsorção ou aborto; entre 50-55 dias de gestação, o feto desenvolve encefalopatia necrosante grave e retinopatia, que resultam em hidranencefalia e displasia da retina no recém-nascido; a infecção aos 75 dias de gestação causa encefalite multifocal e vacuolização da substância branca, que resulta em porencefalia no cordeiro. Se a infecção ocorre aos 100 dias de gestação, há discreta meningoencefalite focal (Jubb & Huxtable, 1993). No terço final da gestação, os efeitos são mais leves; podem ocorrer partos prematuros, mas geralmente os cordeiros sobrevivem (Jubb & Huxtable, 1993; Michelsen, 2002).

### **2.2.2 Plantas que causam problemas reprodutivos**

*Pinus ponderosa* induz aborto e partos prematuros em bovinos, principalmente quando ingerida no terço final da gestação. Acomete apenas vacas em gestação; tanto vacas ciclando, como ovelhas, cabras e coelhas não são afetadas. A intoxicação por *P. ponderosa* é descrita nos Estados Unidos, Canadá e México. Vacas intoxicadas apresentam exsudato vaginal muco-hemorrágico, edema da vulva, dilatação cervical incompleta e contrações uterinas fracas. Após o parto, ocorre retenção de placenta, atonia uterina com retenção de detritos placentários e exsudato mucoso com sangue; pode ocorrer metrite com conseqüente peritonite fatal. Quando a intoxicação ocorre no final da gestação, os bezerros nascem vivos, mas fracos, pequenos e susceptíveis a enfermidades respiratórias (Panter *et al.*, 1992; Burrows & Tyrl, 2001e). Tem sido

sugerido que o aborto ou parto prematuro ocorrem por alterações na circulação da placenta com conseqüente hipóxia fetal causada pela ação do ácido isocuprêssico presente na planta, que aumenta o tônus das artérias carunculares e diminui o fluxo sanguíneo (Stegelmeier *et al.*, 1996; Burrows & Tyrl, 2001e).

*Astragalus* spp e *Oxytropis* spp causam em animais intoxicação conhecida como “locoísmo” e podem causar aborto e malformações congênitas em bovinos e ovinos. Estudos em ovinos sugerem que o princípio ativo de *Astragalus* aumente os níveis circulantes das prostaglandinas ocasionando alteração na função do corpo amarelo e induzindo a morte fetal (Burrows & Tyrl, 2001c).

A ingestão de *Gutierrezia* spp determina problemas reprodutivos em bovinos. Animais afetados apresentam edema vulvar seguido de aborto, natimortos ou nascimento de terneiros pequenos, fracos, que geralmente não sobrevivem mais de 48 horas (Burrows & Tyrl, 2001b).

*Veratrum californicum* ocorre no oeste dos Estados Unidos e causa malformações congênitas em ovinos. Quando a ovelha ingere a planta nos dias 13 a 15 de gestação, ocorre ciclopia. A ingestão da planta no período de 12 até 30 dias de gestação pode causar múltiplas anomalias, como fenda palatina, lábio leporino, braquignatia, sindactilismo, diminuição do comprimento e diâmetro de todos os ossos e decréscimo no número das vértebras coccígeas. Em muitos casos, ocorre aplasia da pituitária fetal, determinando uma gestação prolongada e fetos grandes que invariavelmente provocam distocia tornando necessária a intervenção cirúrgica (Jones *et al.*, 1997; Burrows & Tyrl, 2001d).

*Conium maculatum* (cicuta) causa malformações congênitas em bovinos e suínos. Animais de laboratório (por ex., ratas e coelhas) aparentemente não são susceptíveis. O princípio ativo contém vários alcalóides piridínicos voláteis. Os efeitos teratogênicos são observados quando as vacas e porcas ingerem a planta no primeiro terço da gestação. O período de suscetibilidade em suínos ocorre aos 30-60 dias de gestação e em bovinos nos primeiros 50-75 dias de gestação e determina grave malformação esquelética (Burrows & Tyrl, 2001a).

A planta *Nicotiana glauca* também causa deformidades em recém-nascidos que apresentam grave rotação lateral e flexura da articulação cárpica, moderada rotação

do boleto e, menos comumente, malformações da coluna espinhal que resultam em lordose e escoliose (Burrows & Tyrl, 2001f).

A ingestão de *Lupinus* spp tem sido associada a problemas reprodutivos em bovinos, como aborto, natimorto e defeitos congênitos. Em experimentos com vacas prenhes, a ingestão de *L. formosus* e *L. arbustus* produziu deformações nos terneiros (Burrows & Tyrl, 2001c).

No Brasil, existem cinco plantas associadas a problemas reprodutivos em ruminantes: *A. glazioviana* (Stolf *et al.*, 1994), *Tetrapteryx acutifolia* (Tokarnia *et al.*, 2000), *T. multiglandulosa* (Melo *et al.*, 2001), *Stryphnodendron obovatum* (Tokarnia *et al.*, 2000) e *Aspidosperma pyricollum* (Riet-Correa *et al.*, 2003), que já foram confirmadas experimentalmente.

*Tetrapteryx acutifolia* e *T. multiglandulosa* ocorrem nos estados de São Paulo, Minas Gerais, Rio de Janeiro e Espírito Santo, principalmente nas encostas de morros. Surto espontâneo são relatados em bovinos causando problemas cardíacos e abortos (Tokarnia *et al.*, 2000). Recentemente, foi realizado experimento em ovinos com reprodução das lesões cardíacas (Terra *et al.*, 2002). Não foram publicados ainda, os resultados de experimentos com vacas gestantes; no entanto o exame histopatológico do miocárdio de fetos abortados revelou fibrose cardíaca, sugerindo que o princípio ativo da planta atravessa a barreira placentária determinando lesões no feto, semelhantes às desenvolvidas pelos bovinos adultos (Tokarnia *et al.*, 1989a).

*Stryphnodendron obovatum* ocorre no cerrado dos estados de Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Goiás, Minas Gerais e São Paulo e é conhecido popularmente como “barbatimão-da-folha-miúda” e causa intoxicação em bovinos, determinando transtornos digestivos e reprodutivos. As favas de *S. obovatum* são tóxicas quando ingeridas em qualquer período da gestação e resultam em abortos e fetos mumificados. No exame histológico de órgãos do feto e placenta, não foram observadas alterações (Tokarnia *et al.*, 2000).

*Aspidosperma pyrifolium*, conhecida popularmente como “pereiro”, ocorre nos estados do nordeste, na região semi-árida, e tem sido responsabilizada por produtores da região como causa de abortos e malformações em caprinos. Até o momento,

experimentos realizados em cabras prenhes resultaram em abortos, mas o efeito teratogênico não foi ainda reproduzido (Riet-Correa *et al.*, 2003).

**3 TRABALHO 1**

**THE PATHOGENESIS OF REPRODUCTIVE FAILURE INDUCED IN SHEEP  
BY THE INGESTION OF *Ateleia glazioviana***

**Margarida B Raffi DVM, MSc, Ricardo R Barros DVM, José F M Bragança  
DVM, MSc, Raquel R Rech DVM, MSc, Fabiano N Oliveira DVM and Claudio SL  
Barros DVM, PhD**

**ACEITO PARA PUBLICAÇÃO**

**em**

***VETERINARY AND HUMAN TOXICOLOGY, 2004***

**THE PATHOGENESIS OF REPRODUCTIVE FAILURE INDUCED IN SHEEP  
BY THE INGESTION OF *Ateleia glazioviana***

**Margarida B Raffi DVM, MSc, Ricardo R Barros DVM, José F M Bragança  
DVM, MSc, Raquel R Rech DVM, MSc, Fabiano N Oliveira DVM and Claudio SL  
Barros DVM, PhD**

Laboratory of Veterinary Pathology of the Department of Pathology and BioRep  
Laboratory of the Department of Large Animal Medicine  
Federal University of Santa Maria (UFSM), 97105-900, Santa Maria, RS, Brazil

**ABSTRACT.** Seventeen pregnant ewes were orally fed variable amounts of either green or dried leaves of *Ateleia glazioviana* fractioned in 1-24 daily doses. All 17 ewes manifested some form of reproductive failure. Nine (52.9%) aborted their fetuses at 4-36 d after starting being fed the leaves of the plant; one had a stillbirth and in another one intrauterine fetal death was diagnosed. The other six ewes delivered 8 weak lambs seven of which died from few m to 48 h after birth. Three ewes had neurologic disturbances and loss of weight. Thirteen ewes were euthanatized 1-48 h after lambing or pregnancy loss; two of them had gross and histopathological changes related to the *A glazioviana* poisoning. Gross and histopathological changes observed in seven lambs and in a stillborn, and histopathological changes found in 4 aborted fetuses from *A glazioviana* fed ewes were rather similar to those found in the spontaneous poisoning by *A glazioviana* in adult cattle in the field. It is conclude that *A glazioviana* has a powerful abortifacient activity whether if it is ingested green or dried. Our data also show that the abortions caused by *A glazioviana* are not due to placental damage, but rather to transplacental induced fetal lesions consisting of toxic cardiomyopathy and spongy degeneration of the white matter of the brain. Fetuses succumbing to these lesions are expelled from the uterus; those not lethally affected are born weak and with meager chances to survive.

*Ateleia glazioviana* (Leg. Papilionoideae) is a tree (up from 5-10 m in height when fully grown) frequently found in woods and roadsides and invading pastures; in Brazil it

is found in large amounts in the southern states (1,2). The spontaneous poisoning by the ingestion of the fallen leaves or the sprouts of *A glazioviana* has been described in cattle (2) and sheep (3). The intoxication is manifested as 3 clinical forms i) abortions, ii) neurological disease characterized by lethargy and blindness and iii) acute or chronic congestive heart failure; however considerable overlapping exist among the various forms (2). The experimental disease was produced by feeding leaves of *A glazioviana* to cattle (1,4) and to sheep (5,6); however the effect on the of *A glazioviana* on reproductive performance of sheep has not been yet properly investigated, neither has the pathogenesis of the the abortions in either of the two species affected spontaneously.

Our lab started a research line to study the pathogenesis of the various aspects of *A glazioviana* poisoning in sheep because previous attempts to intoxicate laboratory animals such as rabbits, mice, rats, and guinea pigs have failed (6) and because our first attempt using sheep as an animal model (5) indicated this species as being suitable to study the pathogenesis of *A glazioviana* poisoning in ruminants.

This study was conducted to test, in sheep, the abortifacient properties of *A glazioviana* and to determine the pathogenesis of the abortions and the related reproductive failure associated with this toxicosis.

## **MATERIAL AND METHODS**

Twenty crossbred adult ewes were identified by the numbers 1-20 (Table 1) and then impregnated either by artificial (Ewes #1-13) or natural insemination (Ewes #14-20). For the artificial insemination synchronization of heat was carried out using pessaries containing 60 mg of medroxyprogesterone acetate (MPA) for 14 d, when the pessary was withdraw from the vagina and 600 UI of equine chorionic gonadotrophin (eCG) was injected intramuscularly. Fifty six h after eCG was injected the ewes were inseminate using a laparoscopic technique described elsewhere (7).

The 5 ewes submitted to natural insemination have their heats detected by a teaser ram and were then placed with a fertile ram to breed. Pregnancy was confirmed by ultrasound in all 20 cases and the pregnant ewes were placed indoors in individual stalls with concrete floors where they received water and alfalfa *ad libitum* and were kept for

the whole duration of the experiment. Ultrasound was performed three times a w to check for viable fetuses. A clinical exam was performed daily in each ewe to evaluate cardiac and respiratory rates, rectal temperature, ruminal movements and changes in behavior, posture and locomotion. Ewes #3 and 7 died from unrelated causes before the feeding trial started. Variable amounts of either the green or dried leaves of *A glazioviana* were fed to 17 of the pregnant ewes. Ewe #13 was not fed the plant and served as a control. It was euthanatized the day following lambing. Three normal fetuses obtained by C section at 90 and 120 d of gestational age and five lambs obtained from normal ewes of the same size and from same supplier as the other 20 ewes were also used as controls for the necropsy and histopathological findings. Control lambs were no older than 48 hours. One of the control lambs was the product of control Ewe #13.

The leaves of *A glazioviana* were harvest once a w and kept in a (4°C) walk-in cooler for no more than 7 d and used as needed. A portion of leaves were weighed and then allowed to dry in the shade for 1-3 mo. After drying the leaves weighed half of their original fresh weight. Six ewes (#9, 14-18) received the dried leaves of the plant; in all instances in this paper when referring to the amounts of the plant we will be using the green leaves weight, eg, when it is stated in Table 1 that Ewe #9 was fed 10 g/kg/bw/d of *A glazioviana* leaves, it means that this ewe was fed 5g/kg/bw/d of the dried plant, which, as we determined previously, corresponds to 10 g/kg/bw/d of the green leaves.

Every time a sheep aborted or delivered a lamb, the fetus or lamb were identified by the ID number of the ewe preceded respectively by the letter F or L (eg, F8 or L16). If twin fetuses were aborted or twin lambs delivered the ID of each fetus or lamb was followed by letters A and B (eg, F8A; F8B and L16A; L16B). Thirteen ewes (#1, 2, 4-6, 8-13, 19 and 20) were euthanatized 24-48 h after abortion or lambing or immediately after fetal death was detected. The euthanasia of these 13 ewes and of the 5 control lambs was by barbiturate overdose. All fetuses (except for a mummified fetus), lambs and euthanatized ewes and all control lambs were necropsied. Tissue sampled for histopathology from the fetuses and lambs included brain, liver, lung, and kidney. From the necropsied ewes uterus and placenta were included in the histological evaluation. The placenta from Ewes #6, 14 and 20 was autholized and was not processed for



histological exam. Fragments of all tissues were fixed in buffered 10% formalin, routinely processed for histology and stained by hematoxylin and eosin.

## RESULTS

### Clinical signs

All 17 ewes fed *A glazioviana* were affected by some form of reproductive failure. Types of reproductive failure observed in this study were pregnancy loss (abortions, mummified fetuses and stillbirth) and deliver of weak lambs unable to suck and thrive properly, eventually dying.

Gestational stage of ewes at the start of experiment varied from 60 to 120 d. Nine ewes (#1, 2, 4-6, 8, 14, 15 and 19) aborted 4-36 d after the feeding of the leaves of *A glazioviana* started (AFL). Fetal death was diagnosed by ultrasonography at 18 d AFL on Ewe #20; it was then euthanatized and two fetuses heavily autolized were found at necropsy. Since six ewes that aborted or carried dead fetuses had twin pregnancies the number of aborted or dead fetuses totalled 16 (Table 2). In one case (Ewe #6) abortion was followed by placental retention; this ewe was euthanatized in the d following the abortion. Ewe #14 had bloody vaginal discharge 28 d AFL and aborted a mummified fetus 4 d after that.

The other 7 ewes carried their pregnancy to term or almost to term and delivered 8 live lambs – Ewes #10 and #16 had twin lambs – and a stillbirth (Lamb #9) (Table 3). The 8 live born lambs were weak and undersized as compared to controls and unable to suck by themselves. Except for L16B all other lambs died within few minutes to 48 h after birth. L16B received nursing care, was bottled fed and recovered. Thereafter it began to gain weight and developed to a normal size for its age and is healthy after 8 mo of the end of the experiment.

Other than the signs related to the reproductive system, clinical signs were absent in the pregnant ewes fed less than 60 g/kg/bw of *A glazioviana* leaves (Ewes #1, 2, 4-6, 8, 14, 16-18), except for Ewe #15 which at 3 d AFL presented lethargy, incoordination of the hind limbs and head pressing; there was remission of these clinical signs but at 15 d AFL the ewe have dropped from its original weight of 43 kg to 32.5 kg and at 39 d

AFL developed dependant subcutaneous edema in the submandibular area. Again, these signs abate within 10 d and the ewe recovered completely and is still alive and healthy, 8 mo after the experiment had been completed. Ewes #19 and #20, which were fed respectively 130 and 170 g/kg/bw of *A glazioviana* leaves, start to show decreased appetite when the amount of ingested plant reached 60 g/kg/bw. From the second w AFL on, they were lethargic and remained recumbent for long periods. At 28 d AFL, Ewe #19 had subcutaneous dependant edema and ascites.

### **Gross Pathology**

Gross lesions were observed at necropsies of Ewes #19 and #20. They consisted of subcutaneous edema, ascites, hydrothorax and hydropericardium. At the cut surface of the hearts of both ewes there were firm, irregular white or yellow areas. There was marked dilatation of right ventricle in Ewe #19. The placenta was autholized in these ewes. Other than the autholysis observed in the placenta of Ewes #6, 14, and 20, no gross changes were observed in any of the other placenta examined.

Most necropsied fetuses were moderately to severely autholized which hindered a reliable gross evaluation. Fetus F14 was mummified. In the case of twin pregnancies one of the fetuses was in a more advanced autholytic stage than its sibling indicating different times of death. The product of Ewe #9 was an almost full term lamb (138 d gestational age) but it was already dead when expelled since its lungs were not aerated; therefore it was considered a stillbirth.

Gross lesions were observed at necropsy of 8 lambs. L17 had 40 ml of clear fluid in the abdominal cavity (Fig1) and translucent subcutaneous edema. L9, L10A, L10B, L11, L12, L16A, L17 and L18 all had moderately firm pale areas in the myocardium which were more evident at the cut surface of the heart. Moderate to severe myocardial hypertrophy of left and right ventricles and interventricular septum were observed in these seven lambs. Hypertrophy was moderate in both ventricles and septum of L12. In L11 the myocardial hypertrophy was moderate in the right ventricle and marked in the left ventricle and septum. L16A and L18 had marked hypertrophy of both ventricles and septum (Fig 2).

## **Histopathology**

The main histopathological findings in Ewes #19 and #20 were degenerative and necrotic changes in the myocardium and *status spongiosus* in the brain. There were acute swollen of myocardial fibers associated with rectangle or irregularly shaped nuclei. More advanced changes consisted of empty collapsed sarcolemmal tubes surrounded by interstitial connective tissue and fibrosis. Hyaline and floccular necrosis of myofibers were also occasionally observed. Varying degrees of spongy degeneration (*status spongiosus*) were seen in the white matter of the brain of the two ewes.

Histopathological examination of fetal tissue was unrewarding in several instances due to autolytic changes. However, moderate (F1A and F5A) to marked (F8A and F15) multifocal areas of fibrosis could be observed in the myocardium of four fetuses (Fig 3).

Histopathological changes were found in the heart (Table 4) and in the brain of the 8 necropsied lambs. The myocardial cells had increased diameter and their nuclei were enlarged, rectangular (boxcar shaped) and hyperchromatic; irregular nuclear contours and irregularly orientated myofibers were also observed (Fig 4). Focal groups of myofibers showed necrosis and there were multifocal areas of interstitial fibrosis. In all lambs there was mild to severe sponginess (*status spongiosus*) of the white matter of the brain. Large, round or oval vacuoles measuring up to 50 µm in diameter were observed between axons, apparently producing vesiculation of myelin sheaths. These changes were most marked in the white matter of the cerebellar folia (Fig 5). The intensity of *status spongiosus* varied among lambs: it was marked in Lambs 17 and 18, moderate in L10A, L11 and L16A and mild in L9, L10B and L12.

No histopathological changes were observed in the uterus or placenta of any ewe examined microscopically.

No significant changes were observed in gross or histopathological examination carried out on tissues of control fetuses, lambs and ewe. No histopathological changes were observed in the placentae examined.

## DISCUSSION

In this study it was demonstrated that the ingestion of *A glazioviana* had negative impact over reproductive performance of all sheep tested. Pregnancy loss (PL) occurred in 11 out of 17 (64.7%) ewes that were fed the plant. Six ewes delivered 8 live born weak lambs, 7 of which end up dying in the first 48 h after birth and one had a stillbirth. The only surviving lamb would not make it in the field without the time consuming and expensive nursing care it received during this experiment.

If one considers that the level of fertility in sheep is usually expressed as the reproductive performance of the flock, defined as the number of lambs born per 100 ewes put to a ram, that is, true lambing percentage (8) in our feeding trial there was a total loss of reproductive performance. In pastures of southern Brazil where *A glazioviana* abounds, a similar situation might occur naturally. Indeed, we have been hearing from small sheep farmers of regions infested by *A glazioviana*, complains that their sheep herds “hardly increase in number” or “increase very marginally”. Recently a spontaneous abortion outbreak in sheep caused by *A glazioviana* was reported from this region of Brazil (3).

Abortion in sheep is a diagnosis challenge and definite cause is reached in only 30%-40% of the cases (9). Causes of abortion in this species include a diversity of factors such as structural, functional, management, nutritional, infectious and toxic agents (8); the importance of the latter has been overly neglected. The main causes of alteration in reproductive ability in the sheep of this study included pregnancy loss (PL) and deliver of weak lambs which ultimately died. Depending on the gestational stage in which PL occurs, conditions associated with it are classified as early embryonic death, abortion or stillbirth (10). Early embryonic death is defined by loss of concept before organogenesis is complete which in sheep is around 34 days (11). This clearly was no the case of any of the ewes of this study. Abortion is the death and expulsion of the concept after organogenesis is completed which occurred in 52.9 % of the ewes fed *A glazioviana*.

Another form of PL is maceration and mummification. This condition occurred in only one of the 17 ewes fed *A glazioviana* and it indeed is not a common form of PL in

sheep (10). One ewe had a stillbirth and in another one intrauterine fetal death was detected and the ewe euthanatized. This latter ewe would most probably abort.

There are several reports of spontaneous outbreaks of *A glazioviana* poisoning in cattle in southern Brazil. The ingestion *A glazioviana* by adult cattle is associated with 3 main clinical manifestations: i) abortions with rates up to 45% of pregnant cows (1), ii), neurological disease characterized by lethargy, and iii) acute or chronic heart failure due to myocardial degeneration and fibrosis (2); The ingestion of *A glazioviana* have been confirmed as the cause of these 3 forms of clinical manifestation, by experimental feeding the leaves of the plant to cattle (1,4).

Although until recently (3) the spontaneous disease was not reported in sheep, experimental feeding trials carried out in this species reproduced the neurological and myocardial forms of the disease (5). Earlier experiments with *A glazioviana* in sheep (6) suggested that sheep might not be susceptible or might have low susceptibility to the abortifacient substances in *A glazioviana* and that the active toxic principles in the plant that causes abortion and those causing cardiac and neurological disease might not be the same. Also, as in that experiment and in other previous experiment (5) the dried leaves of plant were used to fed the experimental sheep (it is worth noting that only one pregnant sheep was part of each experiment), led to the suspicion that the abortifacient substance in *A glazioviana* is lost when the leaves drier out. Although the active chemical principles that causes the clinical manifestations of *A glazioviana* poisoning are not yet clearly determined, our work can clarify some of these points. Sheep is by far more susceptible than cattle to abortifacient factor(s) in *A glazioviana* if one compares the results of experiments done in pregnant cows (1) with those of our experiment. Also, the plant kept its abortifacient and other toxic properties for at least 3 mo after drying. This can be clearly demonstrated by the 6 ewes which received the dried plant and either aborted or delivered weak lambs that died soon after birth. It is worth noting that this has practical epidemiological significance; as farm animals generally have limited access to fresh green leaves of *A glazioviana*, a tall tree (2), sheep and cattle can graze fallen and dried *A glazioviana* leaves in autumn and get poisoned.

As far as different active principles in the plant (one causing abortion and the other causing the myocardial and neurological disease) although our study does not rule this possibility out completely we think this is highly unlikely. Reasons for that are as follows: The lesions induced in the fetus *in utero* and demonstrated more clearly in the 7 live born lambs and the one stillborn in our experiment, are the same observed in the spontaneous disease in adult ruminants (cattle and sheep). It is known that ewes do not depend on a corpus luteum to maintain most of the pregnancy and that fetal death will cause an abrupt decrease in placental progesterone production, resulting in rapid expulsion of the the dead fetus (10). Indeed our results suggest that *A glazioviana* causes abortion by killing the fetus through cardiac and/or neurological lesions induced by the toxic principles in the plant crossing the placental barrier. Fetuses that would not be aborted, would born weak due to the neurological and cardiac lesion; if not attended, these lambs will die. In fact, one of our affected lambs had lesions clearly related to congestive heart failure such as subcutaneous edema, hydrothorax and ascites. Transplacental lesions in the bovine fetus induced by *A glazioviana* has also been observed in cattle (12). So if the disease induced by *A glazioviana* in the fetus is the same as that induced in adult animals (sheep and cattle) there is no reason to advocate a different chemical as the cause for the abortions. As said before, the toxic principle of *A glazioviana* remains undetermined. However, the plant is recognized as ichthiotoxic (13), and isoflavones are reportedly responsible for the ichthiotoxicity (14). Aqueous and hydroethanolic extracts of leaves of *A glazioviana* injected in pregnant rats induced increased fetal resorption, decrease in weight gain, and abortion (15,16).

The neurological lesion might be the major cause of the weakness observed in the newborn lambs. However, this lesions appears to be reversible; this has been suspected in cattle (2) and sheep (5) and seems to be the case in one lamb of this study that received nursing care and recovered. The histopathological changes in the brain (*status spongiosus*) are strikingly similar to the ones seen in inborn errors of enzymatic metabolism, such as as maple syrup urine disease in calves (17,18) and Canavan's disease in children (19); in intoxications like *Helichrysum argyrosphaerum* poisoning in cattle, sheep, and goats (20,21), closantel poisoning in goats (22) and hepatic encephalopathy in cattle (23). The histological myocardial changes are somewhat

similar to those described for hypertensive cardiopathy (enlarged fibers, enlarged hyperchromatic boxcar nuclei) and for the autosomally inherited hypertrophic cardiomyopathy (hypertrophy, disarray of the myofibers) of human beings (24).

A similar disease to *A glazioviana* poisoning including abortions and heart failure occurs in Brazilian cattle poisoned by at least two other plants, namely *Tetrapteryx acutifolia* and *T multiglandulosa* (25,26). In a feeding trial carried out in pregnant goats fed *T multiglandulosa* to determine the pathogenesis of the abortions caused by this plant (27) it was concluded that lesions in the placentomes (increased numbers of apoptotic cells) were responsible for premature placenta detachment and fetal death due to lack of placental support. We failed to observe any changes in the placenta of our treated ewes that could not be matched by those found in the placenta of the control ewe, and in other placentae of normal ewes we had so far examined, but one has to bear in mind that we are dealing with different plants and different animal species. However, aborted fetuses from cows poisoned by *Tetrapteryx* spp reportedly have myocardial lesions similar to those observed in our lambs (26). Thus, the pathogenesis of *Tetrapteryx* spp induced abortion in cattle might have similar pathogenesis as the one described here.

## REFERENCES

1. Stolf L, Gava A, Varaschin MS et al: Abortion in cattle due to the ingestion of *Ateleia glazioviana* (Leg. Papilionoideae). *Pesq Vet Bras* 14:15-18, 1994. (Text in Portuguese, abstract in English)
2. Gava A, Barros CSL: Field observations on the *Ateleia glazioviana* poisoning in cattle in southern Brazil. *Vet Human Toxicol* 43:37-41, 2001.
3. Gava D, Reis RN, Rocha TS et al: Spontaneous cases of *Ateleia glazioviana* (Leg. Papilionoideae) poisoning in sheep. Proceedings of the XI National Meeting of the Brazilian College of Veterinary Pathology (ENAPAVE), Botucatu, São Paulo, Brazil, p.60. 2003. (Abstract in Portuguese)

4. Gava A, Barros CSL, Pilati C et al: Poisoning by *Ateleia glazioviana* (Leg. Papilionoideae) in cattle. *Pesq Vet Bras* 21: 49-59, 2001 (Text in Portuguese, abstract in English)
5. Stigger AL, Barros CSL, Langohr IM et al: Experimental poisoning by *Ateleia glazioviana* (Leg. Papilionoideae) in sheep. *Pesq Vet Bras* 21:98-108, 2001. (Text in Portuguese, abstract in English)
6. Leite LG, Riet-Correa F, Medeiros RMT et al: Susceptibility of laboratory animals to the toxic effects of *Ateleia glazioviana* (Leg. Papilionoideae). *Pesq Vet Bras* 22:73-78, 2002. (Text in Portuguese, abstract in English)
7. Neves JP, Luz SLN: Artificial insemination in sheep with induced and synchronized heat in between and during the reproductive season. *Ciencia Rural* 24:133-137, 1994. (Text in Portuguese, abstract in English)
8. Smith K: Infertility of the ewe and doe (female goat). In Noakes DE, Parkinson TJ, England GC (ed): *Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics*, 8th ed, chap 25. Saunders, Philadelphia, 557-575, 2001.
9. Menzies PI, Miller R: Abortion in sheep: Diagnosis and control. In Youngquist RS (ed) *Current Therapy in Large Animal Therionology*, Saunders, Philadelphia, 1997.
10. McCue PM, Troedsson MHT: Pregnancy loss. In Smith BD (ed): *Large Animal Internal Medicine*, 3rd Ed, chap. 12. Mosby, St Louis, 217-221, 2002.
11. Roberts SJ: *Veterinary Obstetrics and Genital Diseases (Therionology)*, ed 3, North Promphet, 35-50, 1986.
12. Garcia y Santos MC: Experimental poisoning by *Ateleia glazioviana*: lesions in the bovine fetus and characteristics of the active toxic principle. MSc Thesis in Veterinary



Medicine, Federal University of Pelotas, 96000-000, Pelotas, RS, Brazil, 34 p, 2003.  
(Text in Portuguese, abstract in English)

13. Ortega GG, Schenkel EP: Isoflavones from *Ateleia glazioviana* Baill. Cad Farm 2: 133-161, 1986. (In Portuguese, abstract in English)

14. Ortega GG, Schenkel EP: Ichthyotoxic activities of *Ateleia glazioviana* Baill and *Thinouia Coriaceae*. Britt J Ethnopharmacol 20: 81-84, 1987.

15. Langeloh A, Maidana-Leguizamón F, Dalsenter P: Potential abortive properties of some Brazilian weeds to cattle and other herbivores. Pesq Vet Bras 12: 11-18, 1992. (In Portuguese)

16. Morona HRN, Langeloh A, Shenkel EP: Abortive properties of *Ateleia glazioviana* (Leg Papilionoideae). Pesq Vet Bras 12: 81-83, 1992. (In Portuguese, abstract in English)

17. Baird JD, Wojcinski ZW, Wise AP et al: Maple syrup urine disease in five Hereford calves in Ontario. Can Vet J 28: 505-511, 1987.

18. Harper PA, Healy PJ, Dennis JA: Maple syrup urine disease as a cause of spongiform encephalopathy in calves. Vet Rec 119: 62-65, 1986.

19. De Girolami U, Anthony DC, Frosch MP: The central nervous system. In Cotran RS, Kumar V, Collins, T (ed): Robbins Pathologic Basis of Disease, 6th ed, chap 30. Saunders, Philadelphia, 1293-1357, 1999.

20. Basson PA, Kellerman TS, Albl P et al: Blindness and encephalopathy caused by *Helichrysum argyrosphaerum* DC (Compositae) in sheep and cattle. Onderstepoort J Vet Res 42:135-148, 1975.

21. Van der Lugt JJ, Olivier J, Jordaan P: *Status spongiosis*, optic neuropathy and retinal degeneration in *Helichrysum argyrosphaerum* poisoning in sheep and a goat. *Vet Pathol* 33:495-502, 1996.
22. Ecco RE, Barros CSL, Graça DL: Closantel toxicosis in kid goats. (in preparation)
23. Barros CSL, Driemeier D, Pilati C et al: *Senecio* spp poisoning in cattle in Southern Brazil. *Vet Human Toxicol* 34: 241-246, 1992.
24. Jennings RB, Steenbergen, Jr, C: The heart. In Rubin E (ed): *Essential Pathology*, 3rd ed, Lippincott-Williams & Wilkins, Philadelphia, Pennsylvania, 275-308, 2001.
25. Tokarnia CH, Peixoto PV, Döbereiner J: Poisonous plants affecting heart function of cattle in Brazil. *Pesq Vet Bras* 10:1-10, 1990.
26. Tokarnia CH, Döbereiner J, Peixoto PV: Poisonous Plants from Brazil, *Helianthus*, Rio de Janeiro, 48-51, 2000. (In Portuguese)
27. Melo MM, Vasconcelos AC, Dantas GC et al: Experimental intoxication of pregnant goats with *Tetrapteryx multiglandulosa* A. Juss. (Malpighiaceae). *Arq Bras Med Vet Zootec* 53:58-65, 2001.

## **ACKNOWLEDGMENTS**

This research was undertaken and this paper was written in partial fulfillment of the requirements for the Doctoral Degree of the first author at the Graduate Program in Veterinary Medicine, Major in Veterinary Pathology, at the Federal University of Santa Maria, RS, Brazil. It was fully supported by the Programa de Apoio a Núcleos de Excelência (PRONEX), Grant No. 7697102600.

Table 1. The pathogenesis of reproductive failure induced in sheep by the ingestion of *Ateleia glazioviana*. Experimental design.

Ewe ID	D of pregnancy when experiment started	Daily amounts of plant fed (g/kg/bw)	Number of d fed	Total amount of plant fed (g/kg/bw)	Outcome
1	90	30	1	30	Euthanatized
2	90	30	2	60	Euthanatized
4	90	30	2	60	Euthanatized
5	94	35	1	35	Euthanatized
6	94	35	1	35	Euthanatized
8	100	10	6	60	Euthanatized
9*†	100	5	12	60	Euthanatized
10	118	18	2	36	Euthanatized
11	120	5	20	100	Euthanatized
12	120	2.5	24	60	Euthanatized
13‡	-	-	-	-	Euthanatized
14*●	91	30	2	60	Still alive
15*	110	30	2	60	Still alive
16*	110	10	6	60	Still alive
17*	110	5	12	60	Still alive
18*	110	2.5	24	60	Still alive
19	60	10	13	130	Euthanatized
20	80	10	17	170	Euthanatized

\*Ewes fed the dried leaves of the plant. ‡Control ewe; was not fed the plant and it was euthanatized 24 hours after lambing. †Stillbirth; ● mummified fetus. Ewe #20 was diagnosed by ultrasound as having fetal death and was euthanatized prior to abortion at 18 d after the start of the experiment. Ewe # 3 and 7 died of unrelated causes before being fed the plant.

Table 2. The pathogenesis of reproductive failure induced in sheep by the ingestion of *Ateleia glazioviana*. D of pregnancy in which abortion, stillbirth or fetal mummification was observed in the ewes fed *A glazioviana*.

Ewe ID	Gestational period (d) at the start of the experiment	Total amount of plant fed (g/kg/bw)	Abortion (d after the start of the experiment)	ID of aborted fetuses
1	90	30	10	F1A and F1B
2	90	60	5	F2A and F2B
4	90	60	4	F4A and F4B
5	94	35	19	F5A and F5B
6	94	35	28	F6
8	100	60	21	F8A and F8B
14*	91	60	36	F14 ‡
15*	110	60	22	F15
19	60	130	13	F19
20	80	170	18	F20A and F20B

\*Ewes fed dried leaves of the plant. ‡fetal mummification; ewes #1, 2, 4, 5, 8 and 20 had twin pregnancies. Ewe #20 was diagnosed as having fetal death by ultrasound and was euthanatized prior to abortion at 18 d after the start of the experiment.

Table 3. The pathogenesis of reproductive failure induced in sheep by the ingestion of *Ateleia glazioviana*. Time of lambing for the ewes fed *A glazioviana*.

<b>Ewe ID</b>	<b>Total of plant fed (g/kg/bw)</b>	<b>D of pregnancy when experiment started</b>	<b>Lambing (d after the start of the experiment)</b>	<b>Number and ID of lambs delivered</b>
9*‡	60	100	38	L9
10	36	118	20	L10A and L10B
11	100	120	21	L11
12	60	120	25	L12
16*	60	90	60	L16A and L16B
17*	60	110	24	L17
18*	60	110	35	L18

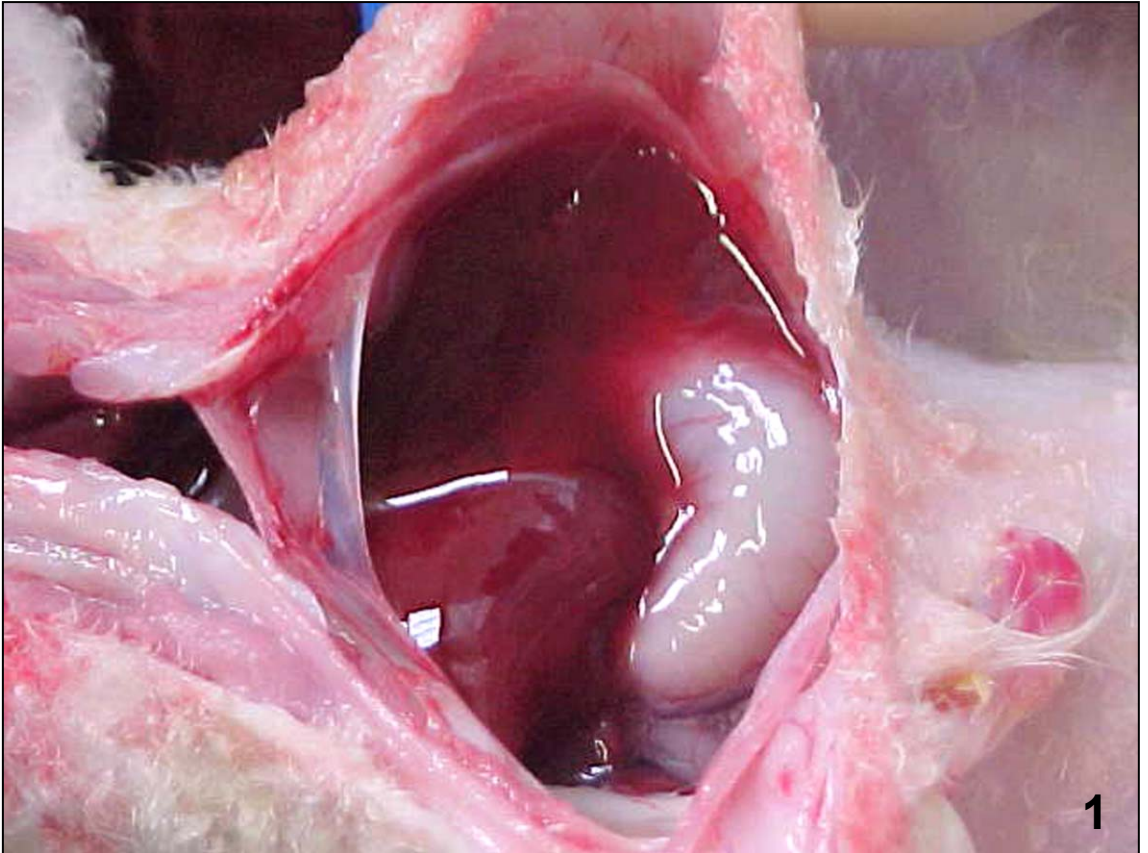
\*Ewes fed the dried leaves of the plant. Ewes #10 and 16 delivered twin lambs. ‡The product of this ewe was a stillbirth.

Table 4. The pathogenesis of reproductive failure induced in sheep by the ingestion of *Ateleia glazioviana*. Type and intensity\* of histopathological changes in the myocardium of lambs born from ewes which were fed *A glazioviana* leaves.

Lamb ID	Histopathological change			
	Enlargement of sarcoplasm	Nucleus enlarged, retangular or irregularly shaped	Fibrosis	Necrosis
L9‡	2	2	2	1
L10A	3	2	2	2
L10B	3	3	2	3
L11	2	2	3	2
L12	2	2	2	3
L16A	3	3	1	1
L17	3	3	2	2
L18	3	3	2	2

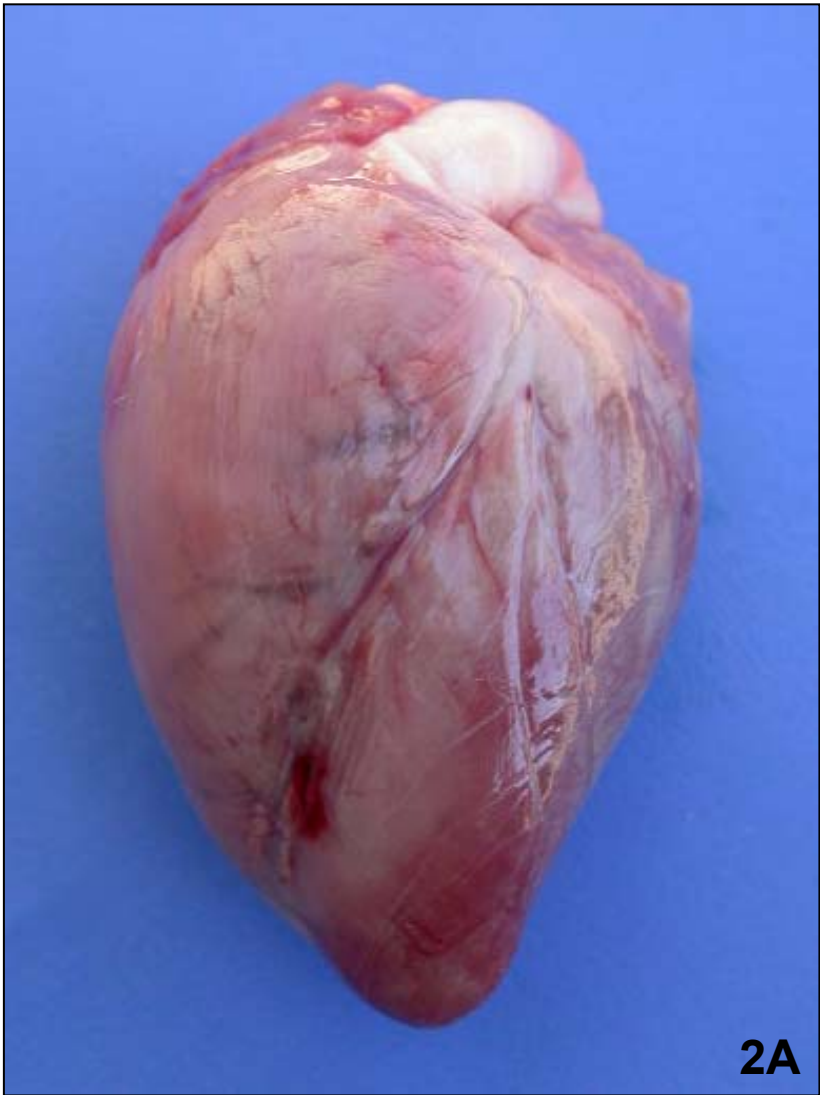
\*Intensity of histopathological changes are indicate as 1, mild; 2, moderate; and 3, marked; ‡stillbirth.

**Figure 1.** The pathogenesis of reproductive failure induced in sheep by the ingestion of *Ateleia glazioviana*. Lamb #17. Abdominal cavity. Ascites (40 ml) was observed at necropsy. This lamb also had marked translucent subcutaneous edema.





**Figure 2.** The pathogenesis of reproductive failure induced in sheep by the ingestion of *Ateleia glazioviana*. Lamb #18. Gross aspects of the heart. **A.** The heart is enlarged and has pale areas in the free wall of right ventricle (R). **B.** Transverse section of the heart, pale areas can be observed in the myocardium. Observe marked thickening of the right (R) and left (L) ventricles and of the septum (S).



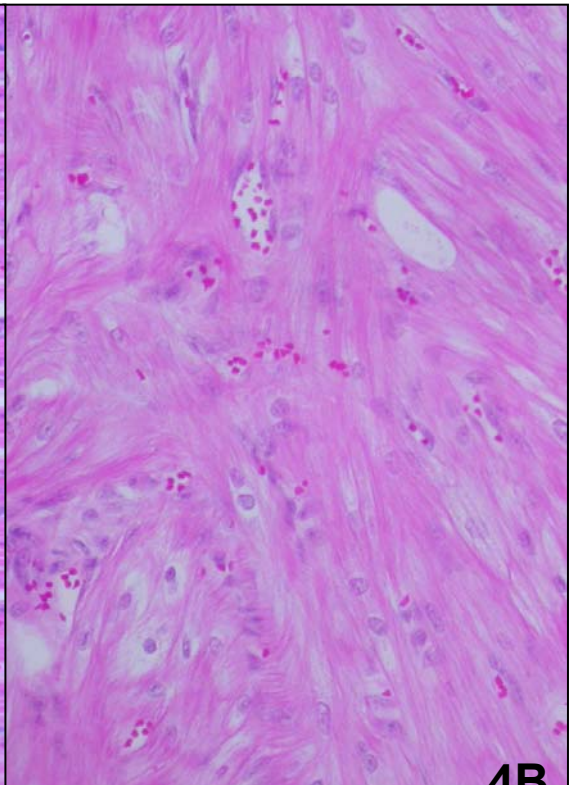
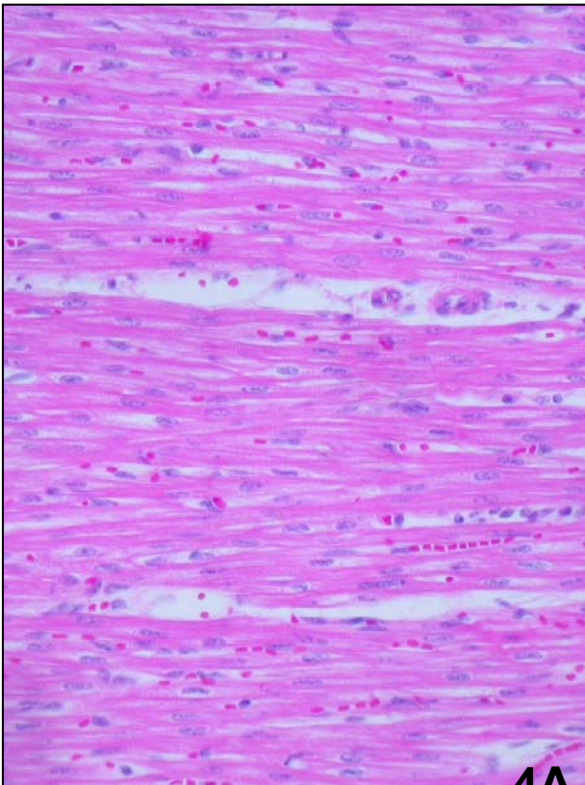
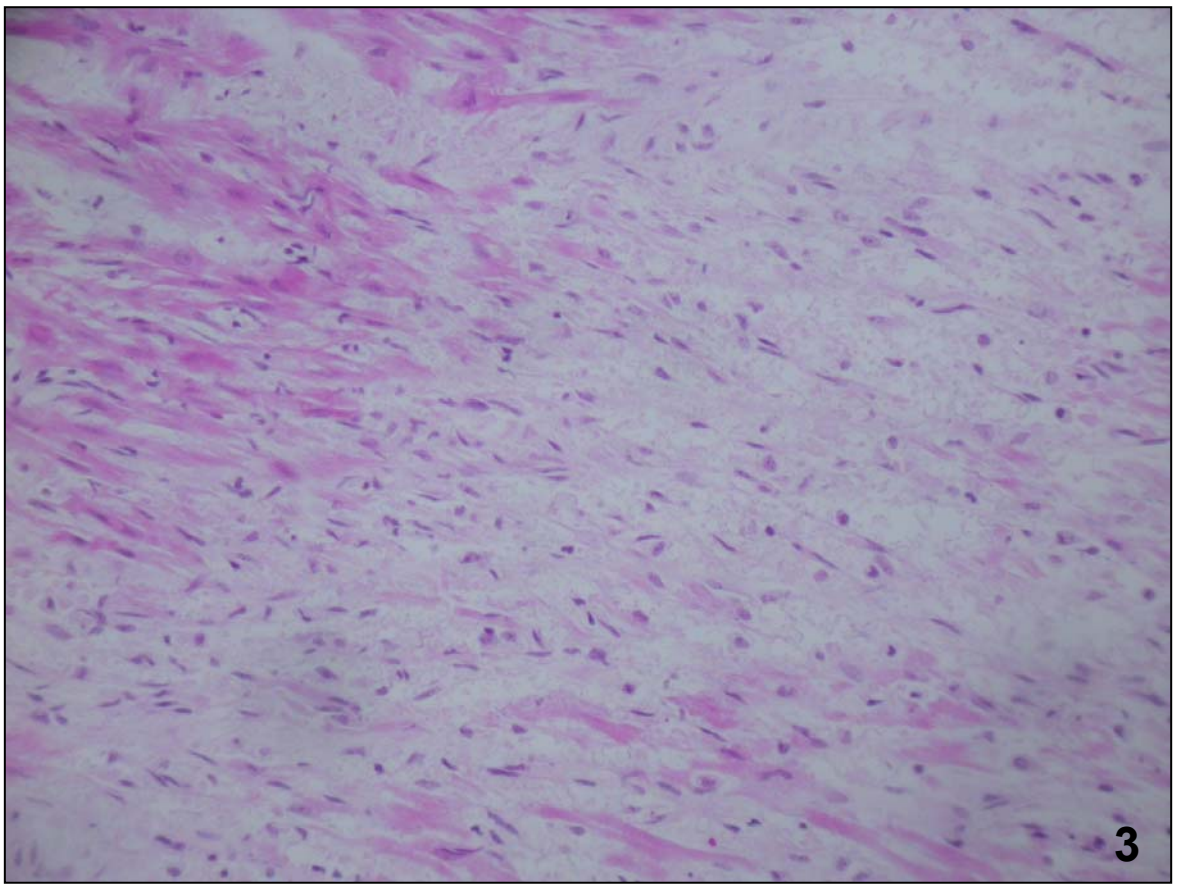
2A



2B

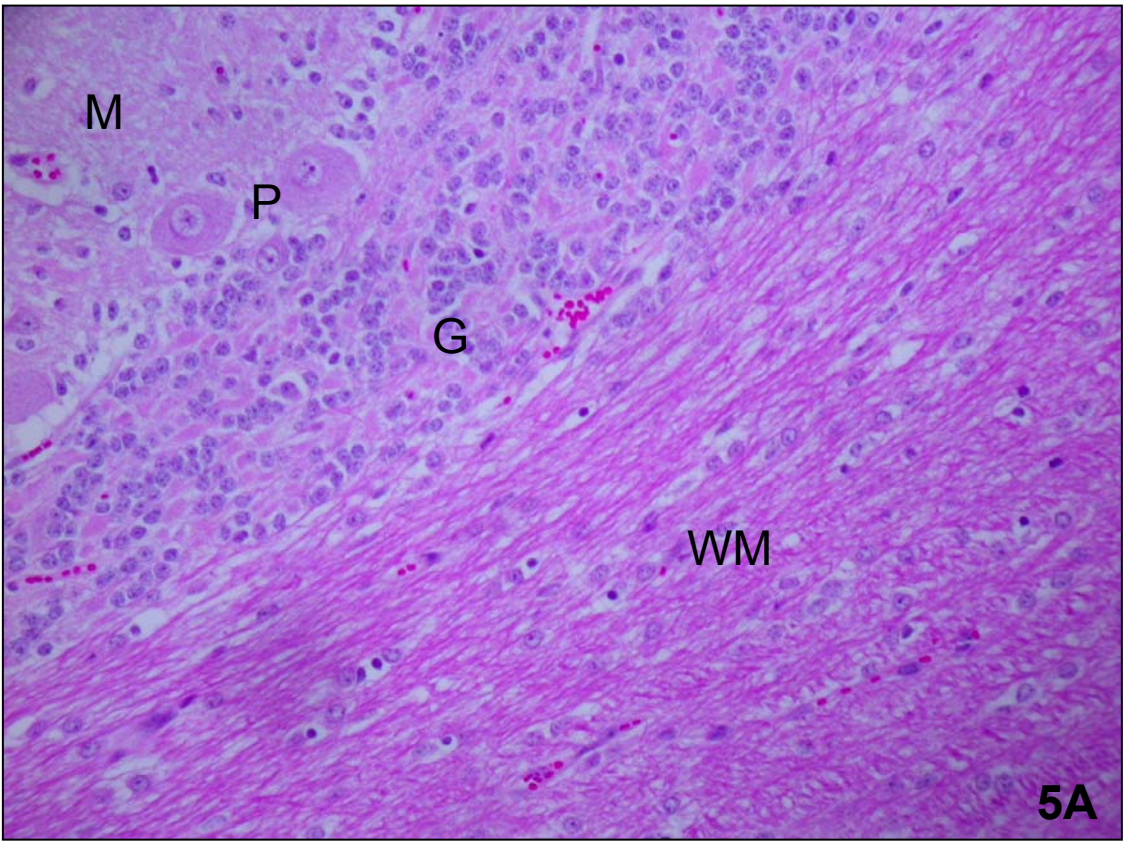
**Figure 3.** The pathogenesis of reproductive failure induced in sheep by the ingestion of *Ateleia glazioviana*. Fetus #8A. Myocardium, histopathological aspects. There is an extensive area of fibrosis with few myofibers remaining, in the borders of fibrotic area. Hematoxilin and eosin, 200x.

**Figure 4.** The pathogenesis of reproductive failure induced in sheep by the ingestion of *Ateleia glazioviana*. Myocardium, histopathological aspects. **A.** Control lamb of same age as the one in B. Observe the regularly oriented myofibers and the normal sized and shaped myofiber nuclei. **B.** Affected Lamb #17. The myofibers are marked thickened and the nuclei are enlarged, irregularly shaped and some have a boxcar appearance. Observe the disarray of myofibers. Hematoxilin and eosin, 200x.

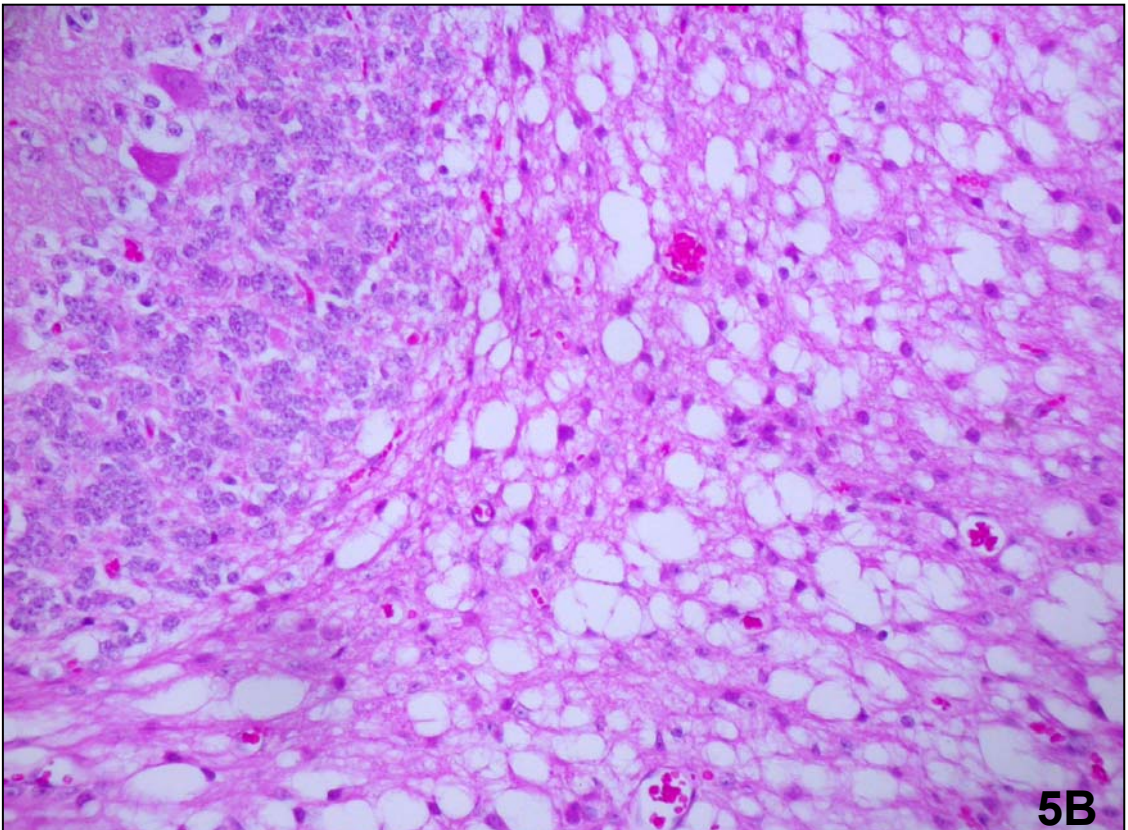


**Figure 5.** The pathogenesis of reproductive failure induced in sheep by the ingestion of *Ateleia glazioviana*. Cerebellum, histopathological aspects. **A.** Control lamb of same age as the one in B. Molecular layer (M), Purkinje cell layer (P), granule cell layer (G), white matter of cerebellar folium (WM). **B.** Affected Lamb #17. In the white matter of the cerebellar folium there are round or oval vacuoles of variable sizes producing vesiculation of myelin sheaths (*status spongiosus*). Hematoxilin and eosin, 200x.





5A



5B

**4 TRABALHO 2**

**CHRONIC CARDIOMYOPATHY AND CEREBRAL SPONGY CHANGES IN  
SHEEP EXPERIMENTALLY FED WITH *Ateleia glazioviana***

**Margarida B Raffi DVM, MSc, Raquel R Rech DVM, MSc, Eliza SV Sallis DVM,  
MSc, Fabiano N Oliveira DVM, Severo S Barros DVM and Claudio SL Barros  
DVM, PhD**

**SUBMETIDO PARA PUBLICAÇÃO**

**em**

***VETERINARY AND HUMAN TOXICOLOGY, 2004***

**CHRONIC CARDIOMYOPATHY AND CEREBRAL SPONGY CHANGES IN SHEEP EXPERIMENTALLY FED WITH *Ateleia glazioviana***

**Margarida B Raffi DVM, MSc, Raquel R Rech DVM, MSc, Eliza SV Sallis DVM, MSc, Fabiano N Oliveira DVM, Severo S Barros DVM and Claudio SL Barros DVM, PhD**

Laboratory of Veterinary Pathology of the Department of Pathology, Federal University of Santa Maria (UFSM), 97105-900, Santa Maria, RS, Brazil

**ABSTRACT.** Fifteen mature crossbred sheep were fed different daily amounts (2.5-35 g/kg/bw) of the fresh green leaves of *Ateleia glazioviana* for different periods of time (1-24 d). One sheep was not fed the plant and served as control. All 16 sheep were euthanatized at different stages of the experiment, necropsied, and several organs, including heart and brain were evaluated histologically. Fragments of 5 brain regions from 3 affected sheep were evaluated by electron microscopy. Clinical signs observed in 3 sheep included depression, anorexia, general weakness, staggering gait and prolonged recumbency. One sheep had signs of congestive heart failure. Necropsy findings included subcutaneous edema and cavitory edema in two sheep and nutmeg liver in one. Histopathological findings included degeneration, necrosis and interstitial fibrosis in the myocardium of 4 sheep and vacuolation of cerebral white matter (spongy degeneration, *status spongiosis*) in 10 sheep, although this latter change were marked only in two of those 10. The ultrastructure of the brain lesion was morphological consistent with those found in diseases grouped as spongiform myelinopathies in which vacuolation of the myelin occur in absence of significant myelin break down or phagocytosis. The morphology and pathogenesis of the chronic cardiomyopathy and of the cerebral spongy change in affect sheep in this experiment are discussed and compared with other similar conditions in domestic ruminants.

*Ateleia glazioviana* (Leg Papilionoideae) is a native Brazilian tree 5-15 m in height which is commonly found in woods and roadsides and invading pastures of southern



Brazil (1). The plant is palatable and is readily consumed by cattle when green herbage is scarce due to long periods of drought or overcrowding; shipment seems to be a predisposing factor (2).

Heavy losses occur in cattle due to the ingestion *A glazioviana* and 3 clinical manifestations have been associated with the toxicosis: (i) Abortions, (ii) a neurological disease characterized by lethargy and occasional blindness, and (iii) heart failure associated to sudden death or signs of chronic congestive right heart failure. Lesions in the myocardium include degeneration and myocardial fibrosis (1).

Our Laboratory has a research line aimed to study various aspects of the morphology and pathogenesis of the lesions induced by *A glazioviana* poisoning. The pathogenesis of the abortions and other forms of reproductive failure associated with the ingestion of *A glazioviana* in sheep were recently determined (3). We use sheep as an experimental animal to reproduce the toxicosis because previous attempts to intoxicate laboratory animals such as rabbits, mice, rats and guinea pigs have failed (4) and also because our first attempts to use sheep as an animal model (4,5) indicated that this species is suitable to study the pathogenesis of *A glazioviana* poisoning in ruminants. Recently the spontaneous intoxication by *A glazioviana* was reported in sheep (6).

This experiment was conducted to study the morphology and pathogenesis of cardiac and brain lesions induced in sheep by the ingestion of *A glazioviana*.

## **MATERIAL AND METHODS**

Data on the experimental design are on Table 1. Sixteen crossbred adult female sheep with average weights of 43 kg were identified by letters A-P, kept indoors in barns of concrete floor and fed alfalfa hay and water *ad libitum* throughout the experiment. Fifteen of those ewes were fed daily amounts of 2.5 to 35g/kg/bw of the fresh green leaves of *A glazioviana* for different periods of time (1-24d). One sheep (P) did not received the plant and served as control. The 15 plant-fed sheep were killed by exanguination after anesthesia with sodium pentobarbitone in different times after the start of the experiment (ASE). The control sheep was killed in the same way at the end of the experiment. Necropsy was performed in all 16 sheep. Samples of the heart, brain,

lungs, liver and kidneys were fixed in 10% neutral formalin, embedded in paraffin, sectioned at 6  $\mu\text{m}$ , stained with hematoxylin-eosin and evaluated histologically.

Samples of the heart were taken from the septum and from the free borders of right and left ventricles. To provide more controls for the study of the myocardial changes, the hearts from eight sheep were collected at an abattoir known to slaughter sheep from regions free of *A. glazioviana*. These hearts were processed for histology and examined in the same way as the other 16.

The whole brain was fixed in 1.5 L of 10% formaldehyde for two weeks and then sectioned coronally at intervals of 0.5 cm for gross inspection. Five regions of the brain were consistently processed for histology: (i) medulla at the level of obex, (ii) cerebellum and cerebellar peduncles (i) mesencephalon at the level of rostral colliculi, (i) parietal cortex and thalamus (i) frontal cortex and basal ganglia.

Myocardial and brain histological lesions were classified according to their degree of intensity and distribution in the various sections examined. The degree of intensity of histological lesions were classified as 0 (absent), 1 (mild), 2 (moderate) and 3 (severe). The degree of intensity for each lesion was determined by the average of degrees ascribed by each of three of the authors (CSLB, MBR and RRR) after a blind independent histological examination.

Prior to formalin fixation of the brains of Sheep L, N and O, small fragments of all the 5 selected brain areas were sampled in 2% glutaraldehyde in phosphate buffer (pH 7.4) for 2 h, postfixed in 1% osmium tetroxide buffered in a 0.4 M sodium cacodylate (pH 7.4) and embedded in Epon 812. Semithin sections were stained with methylene blue. Ultrathin sections were stained with lead citrate and uranyl acetate and examined with EM 109 Zeiss electron microscope.

## RESULTS

### Clinical signs

All sheep were killed 3-40 d ASE. Clinical signs were observed only in sheep (J, L-O) that were fed amounts of the plant equal to or higher than 60g/kg/bw for periods equal to or higher than 9 d. The time for appearance of the clinical signs ASE was 4 d-2 w. Clinical signs started as depression and loss of appetite and progress to weakness,

staggering gait and prolonged periods of recumbency. Sheep O presented muffled cardiac sounds, dyspnea, ascites and groaning 7 d before euthanasia. Sheep J and L recovered from clinical signs and were clinically normal when euthanatized respectively 40 and 11 d ASE. The clinical signs in sheep M-O remained until they were euthanatized, respectively 22, 18 and 37 d ASE with advanced clinical signs.

### **Necropsy findings**

Gross lesions were observed only at necropsies of Sheep N and O and were consistent with congestive (right) heart failure. There were subcutaneous translucent gelatinous edema, hydropericardium (respectively 15 and 55 ml), hydrothorax (respectively 300 and 1,200 ml) and ascites (respectively 2-10 L) (Fig 1). There were firm, irregular white or yellow areas in the myocardium which were more evident on the cut surface of the heart (Fig 2). The liver of Sheep O was firm, dark red and had a nutmeg aspect in the cut surface.

### **Histopathology**

Other than the centrilobular congestion, hepatocellular fat degeneration and necrosis (secondary lesion to heart failure) observed in the liver of Sheep O, the histopathological changes were restrict to the heart and brain.

Histopathologic changes observed in the myocardium will be presented in two groups: (i) those occurring only in sheep that were fed *A glazioviana* (n=15) and (ii) those found both in the hearts of experimental sheep receiving the toxic plant and in the control hearts (n=24).

Lesions observed exclusively in the myocardium of sheep fed *A glazioviana* were observed only in four sheep (I, L, N, O). Early lesions in this group were characterized by swollen of myofibers with finely granular sarcoplasm, loss of cross striations and paleness (rarefaction of myofibrils) in the perinuclear region. The nucleus of affected cardiac myofibers had 2-3 times the size observed in the nucleus of control hearts and were vesicular, round, oval or elongated, occasionally with indentations which conferred a convoluted aspect to the nuclear membrane. Frequently two or more nuclei could be seen in close proximity in the same myofiber (Fig 3).

In more advanced lesions there was partial or complete loss of cytoplasm, remaining only the collapsed basal laminae in the middle of a condensed interstitial stroma. Subsequently large areas of fibrosis replaced large groups of lost cardiac myofibers (Figs 4 and 5). In 2 cases (Sheep N and O) there were marked hyaline necrosis with calcification of cardiac myofibers. Some of these fibers could be invaded by inflammatory cells and abortive fiber regeneration associated to multinucleated giant cells was occasionally observed. The degree of intensity and distribution of these lesions in the 7 affected sheep are presented in Table 2.

Histological changes observed equally in the hearts of plant fed sheep as in the hearts of control sheep consisted of eosinophilia of sarcoplasm and nuclear picnosis; these changes could be seen in isolated fibers or as in clusters of degenerated fibers which were occasionally associated to mild to moderate mononuclear inflammatory infiltrate and fragments of necrotic fibers (floccular necrosis). *Sarcocystis* sp were found in all sections of myocardium examined; they appeared in the sarcoplasm of cardiac myofibers, within Purkinje fibers and, occasionally, within the cytoplasm of endothelial cells. Cysts were 20-200  $\mu\text{m}$  in diameter and contained numerous 4-8  $\mu\text{m}$ , basophilic, elliptical or banana-shaped tachyzoites. Frequently the protozoa were associated with clusters of degenerate, necrotic fibers and inflammatory infiltrate.

No lesions were found in the brain of Sheep A-C, F, H and in the control sheep. Lesions found in Sheep D-K and M were rather mild or minimal. Brain lesions were moderate to severe in Sheep L, N and O. The main histopathological changes found in the brain of affected sheep were widespread spongy degeneration (*status spongiosis*) which varied from mild to severe. Lesions were symmetrical and most conspicuous, in decreasing order of frequency, in the telencephalic subcortical white matter adjacent to lateral ventricles, in the mesencephalon at the level of rostral colliculi, in the peripheral white matter of thalamus, in the white matter of cerebellar peduncles, in the white matter of cerebellar medullae and in the internal capsule interposed between the basal ganglia. No spongy lesions were found in the medulla oblongata. The vacuoles in the neuropil were round to oval or elongated, uni- or multilocular, with 5-40  $\mu\text{m}$  in diameter (Fig 6). Coalescence of vacuoles was frequent. In sheep with mild spongy changes only a few small vacuoles were seen in the white matter of thalamic optic tracts. There was no

evidence of either axonal or myelin degeneration nor of inflammation. The severity and distribution of spongy degeneration in the brain of affected sheep are presented in Table 3.

### **Ultrastructural findings**

The ultrastructure of these vacuoles consisted of empty spaces located in the outer portions of myelin sheaths (Fig 7). These empty spaces were formed by the splitting of myelin sheaths at the intraperiod lines (Fig 8). The empty spaces were surrounded by few myelin lamellae.

## **DISCUSSION**

In this experiment the clinical signs (CS) induced in sheep by the feeding of *A glazioviana* were characterized by chronic congestive heart failure and neurological disturbances. Pathological lesions consisted of chronic degenerative cardiomyopathy and spongy degeneration of the white matter of the brain. Those lesions are remarkable similar to those found in cattle (1) and sheep (6) in the spontaneous intoxication by *A glazioviana*.

CS were observed only in 5 sheep of this experiment fed large total amounts ( $\leq 60$ g/kg/bw) of the plant for long periods of time ( $\leq 9$  d). Large single dosis can cause abortion in pregnant sheep (3) or nervous signs (5), but it seems that if the feeding is discontinued remission of CS occurs. Myocardial lesions occurred only in sheep fed smaller amounts of the plant (10 g/kg/bw) for 6-20 d totalling 60-200 g/kg/bw of *A glazioviana*. Considering the data of this and of other experiments (5) with *A glazioviana* in sheep and also considering observations on the spontaneous disease in cattle (1,2) it is apparent that ruminants which consume large amounts of *A glazioviana* for short periods of time develop the nervous form of the disease which can be fatal, but which, if the ingestion is discontinued, are potentially reversible. Smaller amounts ingested for longer periods of time induce chronic cardiomyopathy and heart failure which is eventually fatal.

Two sheep in this experiment had CS of heart failure. The myocardial lesions related to the administration of *A glazioviana* to sheep in this experiment consisted of pale and

firm areas in the myocardium. In the light microscopical examination, these pale areas corresponded to degenerated/necrotic, occasionally mineralized myocardial fibers and interstitial fibrosis. The intensity of myocardial lesion was the same in all the 3 regions of the heart examined, differently from what is reported by others (5) which documented more severe lesions in the left ventricle and atria.

It seems that the first change observed in the myocardium by light microscopy is swelling of the myofiber and loss of eosinophilia (paleness) around nuclei of myocardial fibers. Our observations based on light microscopic examination suggest the following sequence of events: swelling of the myocardial fibers progresses to destroy the sarcoplasm turning the myofiber in an empty tube limited only by the sarcolemma which eventually collapses. When the myocardium is histologically examined at this stage, one can observe multifocal pale areas (less eosinophilic) which correspond to areas of fiber loss and passive fibrosis. As time goes by, fibrosis may dominate the histological picture. Hyaline and floccular necrosis of cardiac myofibers were observed frequently in our cases. These changes were occasionally associated with inflammatory events and abortive attempts in regeneration (invasion of the sarcolemmal tube by inflammatory cells, multinucleated giant cells). It was not possible to determine whether these lesions were advanced stages of the previously described events or whether they were independent events. The early myocardial lesions in sheep experimentally fed *A glazioviana* are compatible with changes described as colliquative myocytolysis (7) and the ultrastructural aspects of these lesions are referred as myofibrillar degeneration (5,8). However these changes are non-specific and may be caused by several agents. In cases of degeneration/necrosis of the myocardium there have been attempts to relate certain responses of myofibers to the injury from different agents, but a conclusive association of this kind remain elusive (7).

The gross and microscopical lesions observed in the myocardium of sheep from our study are qualitatively the same as described in several spontaneously occurring toxic and nutritional cardiomyopathies induced in domestic ruminants by the ingestion of plants such as *A glazioviana* (1), *Tetrapteryx acutifolia* and *T multiglandulosa* (9-11), *Pachystigma pygmaeum*, *P thamnus*, *Pavetta harborii*, *P schumaniana*, *Fadogia*

*monticola* (12) and *Acacia georginae* (13), by toxic chemicals as ionophore antibiotics (14,15) or by nutritional deficiencies such as Selenium and/or vitamin E (16).

Some of the histopathological changes observed in the myocardium of sheep from this experiment occurred both in plant fed sheep and in controls. A secure knowledge of these non-specific incidental lesions and histological artifacts to which the myocardium is prone is essential for the recognition of true and significant myocardial lesions. Incidental findings observed in all 24 hearts examined (of which nine were controls) consisted of eosinophilic fibers associated with inflammatory foci and protozoal cysts (*Sarcocystis* sp). These cysts are common in skeletal and cardiac muscles of ruminants (7). In this experiment inflammatory foci, related or not to myofiber necrosis, occurred both in treated and control sheep and are common incidental findings in domestic ruminants (17). *Sarcocystis* spp are potential causes of focal myocarditis in cattle and sheep (7, 18) and it is described that degenerated protozoal cysts occur associated with focal non-suppurative myocarditis (7). Although *Sarcocystis* sp is likely to be the cause of the focal myocarditis observed in sheep of this experiment, we were unable to demonstrate intralésional fragments of degenerate cysts by the routine histological techniques employed here. Eosinophilic fibers are described in cases of acute cardiac failure but are also found in equal numbers of hearts from healthy sheep (17) and is probably that in both instances these findings are actually contraction artifacts caused by fixation (7). As eosinophilia of cardiac myofibers is described as an early myocardial lesion in ischemia (7) or caused by action of catecholamines (15) it is important to include sufficient numbers of controls to allow accurate histological evaluation of myocardium in suspected toxic cardiomyopathies.

It is argued whether the myofiber degeneration is caused by the action of the parasite or alternatively the degeneration of myofiber releases bradyzoites to the interstitium where they would no longer be protected from the host immune system and would incite inflammation (19). This suggests the interesting possibility that toxic induced muscle lesions could be amplified by this mechanism.

Neurological signs were observed in 3 sheep fed *A. glazioviana*. These included depression, loss of appetite, weakness, staggering gait and prolonged periods of recumbency. Similar signs have been described in spontaneous and experimental

poisoning *A glazioviana* in cattle (1,2) and in sheep (5,6). In *A glazioviana* poisoning in cattle (1) these neurological signs have been attributed to spongy degeneration (*status spongiosis*) of the white matter of the brain and has been suggested that this lesion is potential reversible (1,2). Histologic lesions of spongy degeneration were observed in the brains of 10 out of 15 sheep fed *A glazioviana*. These lesions were minimal or very mild in 8 of those sheep and moderate or severe in 2 sheep of this study.

The type of histological lesion described in the brain of our sheep can be classified within the group of myelinopathies (20) which are non-inflammatory conditions of the central or peripheral nervous system in which the primary event relates to some disorder of myelin formation, maintenance or stability and includes several subcategories (21). The condition observed in the sheep of this study falls in the subcategory known as spongiform myelinopathy in which the dominant pathological feature is vacuolation of myelin in absence of significant degree of myelin breakdown or phagocytosis (20). The vacuolation observed by light microscopy in this condition are referred to as spongy degeneration or *status spongiosis* and may result from vacuolation within processes of the neuropil, vesiculation of myelin sheaths or swelling of astrocytes or oligodendrocytes (22). The specific morphological basis for the spongy change can only be determined by electron microscopy. Most of the times the spongy changes result from intramyelinic vacuolation caused by splitting of myelin lamellae along the intraperiod line producing empty vacuoles lined by myelin lamellae (23); the ultrastructural findings in the brain of sheep in this study indicate that intramyelinic vacuolation is the case in *A glazioviana* poisoning.

The morphology and distribution of the light microscopic changes of *status spongiosis* observed in sheep of this study are rather similar to those induced in the ruminant brain by other poisonous plants such as *Helichrysum argyrosphaerum* in sheep and goats (24), *Ornithogalum saundersiae* and *O prasinum* in cattle (25) and chemicals compounds such as the antiparasitic closantel and radoxanide in sheep and goats (26). Cerebral spongy degeneration in ruminants has also been described as a condition secondary to chronic and diffuse liver disease (hepatic encephalopathy) from several causes, such as *Senecio* spp (27,28) and *Crotalaria* spp (29) poisoning in cattle and chronic copper toxicosis in sheep (30).



It is interesting to note that myocardial lesions and the cerebral spongy degeneration similar to the ones found in sheep of this study to the ones described in adult sheep and cattle with spontaneous *A glazioviana* poisoning were reproduced in the fetus of pregnant ewes experimentally fed with *A glazioviana* (3); this lesions are responsible for death of the fetus and abortion, stillbirth or deliverance of weak lambs that die soon after birth.

The active principle of *A glazioviana* remains undetermined. However the plant is known to be ichthyotoxic (31) and isoflavones are reportedly responsible for this effect (32). Furthermore, aqueous and hydroethanolic extracts of the leaves of *A glazioviana* induced increased fetal resorption, decreases in weight gain, and abortion when injected in pregnant rats (33,34).

## REFERENCES

1. Gava A, Barros CSL: Field observations on the *Ateleia glazioviana* poisoning in cattle in southern Brazil. *Vet Human Toxicol* 43:37-41, 2001.
2. Gava A, Barros CSL, Pilati C et al: Poisoning by *Ateleia glazioviana* (Leg. Papilionoideae) in cattle. *Pesq Vet Bras* 21: 49-59, 2001 (Text in Portuguese, Abstract in English)
3. Raffi MB, Barros RR, Bragança JFM et al: The pathogenesis of reproductive failure induced in sheep by the ingestion of *Ateleia glazioviana*. *Vet Human Toxicol*, 2004 (in press)
4. Leite LG, Riet-Correa F, Medeiros RMT et al: Susceptibility of laboratory animals to the toxic effects of *Ateleia glazioviana* (Leg. Papilionoideae). *Pesq Vet Bras* 22:73-78, 2002. (Text in Portuguese, Abstract in English)

5. Stigger AL, Barros CSL, Langohr IM et al: Experimental poisoning by *Ateleia glazioviana* (Leg. Papilionoideae) in sheep. *Pesq Vet Bras* 21:98-108, 2001. (Text in Portuguese, Abstract in English)
6. Gava D, Reis RN, Rocha TS et al: Spontaneous cases of *Ateleia glazioviana* (Leg. Papilionoideae) poisoning in sheep. Proceedings of the XI National Meeting of the Brazilian College of Veterinary Pathology (ENAPAVE), Botucatu, São Paulo, Brazil, p.60, 2003. (In Portuguese)
7. Robinson WF, Maxie MG: The cardiovascular system, p. 1-100. In: Jubb K.V.F., Kennedy P.C. & Palmer N. (ed.) *Pathology of Domestic Animals*. Vol 3, 4th ed. Academic Press, San Diego. 653p., 1993.
8. Ghadially FN: *Ultrastructural Pathology of the Cell Matrix*. Vol 2. Butterworths, London, p.49-850, 1998.
9. Tokarnia CH, Gava A, Peixoto PV et al: Brisket disease (dependant edema of the sternal region) in cattle in Santa Catarina, Brazil. *Pesq Vet Bras* 9:73-83, 1989. (Text in Portuguese, Abstract in English)
10. Peixoto PV, Loretto AP, Tokarnia CH: Doença do peito inchado, *Tetrapteryx* spp poisoning, brisket disease and St. George disease: A comparative study. *Pesq Vet Bras* 15:43-50, 1995.
11. Tokarnia CH, Peixoto PV, Döbereiner J: Poisonous plants affecting heart function of cattle in Brazil. *Pesq Vet Bras* 10:1-10, 1990.
12. Kellerman TS, Coetzer JA, Naudé TW: *Plant poisoning and mycotoxicoses of livestock in South Africa*. Oxford University Press, Cape Town: 83-130, 1988.

13. Whitem JH, Murray LR: The chemistry and pathology of georgina river poisoning. *Aust Vet J* 39:168-173, 1963.
14. Barros CSL: Poisoning by ionophore antibiotics, In: Riet-Correa F, Schild AL, Méndez Mc et al eds: *Diseases of ruminants and Horses*. Varela, São Paulo, p. 186-191, 2001. (In Portuguese)
15. Bastianello SS, Fourie N, Prozesky et al: Cardiomiopathy of ruminants induced by litter of poultry fed on rations containing the ionophore antibiotic maduromicin. II. Macropathology and histopathology. *Onderstepoort J Vet Res* 65:5-18, 2001.
16. Barros CSL: Selenium and vitamina E deficiency, In: Riet-Correa F, Schild AL, Méndez MC eds: *Diseases of ruminants and horses*. Varela, São Paulo, p.329-333, 2001. (In Portuguese)
17. Newsholme SJ, Coetzer JAW: Myocardial pathology of domestic ruminants in Southern Africa. *J South Afr Vet Med Assoc* 55:89-96, 1984.
18. Taylor M: Protozoal disease of cattle and sheep. *In Practice* 22:604-617, 2000.
19. Bezerra PS, Driemeier D, Loretto AP et al.: Monensin poisoning in Brazilian horses *Vet Hum Toxicol* 41:383-385, 1999.
20. Van der Lugt JJ: Myelinopathies, p 67. In: Van der Lugt JJ: *The clinicopathology and pathology of selective toxicoses and storage diseases of the nervous system of ruminants in southern Africa*. Doctoral Thesis, University of Utrecht, The Netherlands, 174 p, 2002.
21. Jubb KVF, Huxtable CR: The nervous system, p. 267-439. In: Jubb KVF, Kennedy PC, Palmer N eds: *Pathology of Domestic Animals*. Vol 1, 4th ed, Academic Press, San Diego. 780p., 1993.

22. Adornato B, Lampert P: *Status spongiosis* of nervous tissue. *Acta Neuropathol (Berl)* 19:271-289, 1971.
23. Kreutzberg GW, Blakemore WF, Graeber MB: Cellular pathology of the central nervous system. In: Graham DI, Lamos PL eds: *Greenfield's Neuropathology*, 6<sup>th</sup> ed, Arnold, London. p 85-140, 1997.
24. Van der Lugt JJ, Olivier J, Jordaan P: *Status spongiosis*, optic neuropathy and retinal degeneration in *Helichrysum argyrosphaerum* poisoning in sheep and a goat. *Vet Pathol* 33:495-502, 1996.
25. Van der Lugt JJ, Kellerman TSW, Fourie N et al: Diarrhoea, blindness and cerebral spongy changes in cattle caused by *Ornithogalum saundersiae* and *O. prasinum*, p 99-114. In: Van der Lugt JJ: *The clinicopathology and pathology of selective toxicoses and storage diseases of the nervous system of ruminants in southern Africa*. Doctoral Thesis, University of Utrecht, The Netherlands. 174 p, 2002.
26. Van der Lugt JJ, Venter I: Myelin vacuolation, optic neuropathy and retinal degeneration following closantel overdosage in sheep and goat, p 83-97. In: Van der Lugt JJ: *The clinicopathology and pathology of selective toxicoses and storage diseases of the nervous system of ruminants in southern Africa*. Doctoral Thesis, University of Utrecht, The Netherlands. 174 p, 2002.
27. Finn JP, Tennant B: Hepatic encephalopathy in cattle. *Cornell Vet* 64: 136-153, 1974.
28. Barros CSL, Driemeier D, Pilati C et al: *Senecio* spp poisoning in cattle in Southern Brazil. *Vet Human Toxicol* 34:241-246, 1992.
29. Van der Lugt JJ, Fourie N, Liddell JR: Chronic liver disease and hepatic encephalopathy in cattle caused by *Crotalaria spartioides*, p 115-126. In: Van der Lugt

JJ: The clinicopathology and pathology of selective toxicoses and storage diseases of the nervous system of ruminants in southern Africa. Doctoral Thesis, University of Utrecht, The Netherlands. 174 p, 2002.

30. Ilha MRS, Loretto A, Barros SS et al: 2001. Spontaneous poisoning in sheep by *Senecio brasiliensis* (Asteraceae) in southern Brazil. *Pesq Vet Bras* 21:23-138, 2001. (Text in Portuguese, Abstract in English).

31. Ortega GG, Schenkel EP: Ichthyotoxic activities of *Ateleia glazioviana* Baill and *Thinouia Coriaceae*. *Britt J Ethnopharmacol* 20: 81-84, 1987.

32. Ortega GG, Schenkel EP: Isoflavones from *Ateleia glazioviana* Baill. *Cad Farm* 2: 133-161, 1986. (Text in Portuguese, Abstract in English)

33. Langeloh A, Maidana-Leguizamón F, Dalsenter P: Potential abortive properties of some Brazilian weeds to cattle and other herbivores. *Pesq Vet Bras* 12: 11-18, 1992. (Text in Portuguese, Abstract in English)

34. Morona HRN, Langeloh A, Shenkel EP: Abortive properties of *Ateleia glazioviana* (Leg Papilionoideae). *Pesq Vet Bras* 12:81-83, 1992. (Text in Portuguese, Abstract in English)

## **ACKNOWLEDGMENTS**

This research was undertaken and this paper was written in partial fulfillment of the requirements for the Doctoral Degree of the first author at the Graduate Program in Veterinary Medicine, Major in Veterinary Pathology, at the Federal University of Santa Maria, RS, Brazil. It was fully supported by the Programa de Apoio a Núcleos de Excelência (PRONEX), Grant No. 661069/1997.

Table 1. *Ateleia glazioviana* poisoning in sheep. Experimental design.

Sheep	Daily amounts of plant fed (g/kg)	Number of daily feedings	Total amount of plant fed (g/kg)	D of euthanasia*
A	30	1	30	12
B	35	1	35	20
C	35	1	35	29
D	18	2	36	23
E	30	2	60	6
F	30	2	60	3
G	30	2	60	5
H	20	3	60	4
I	10	6	60	23
J	5	12	60	40
K	2.5	24	60	26
L	10	9	90	11
M	5	20	100	22
N	10	17	170	18
O	10	20	200	37

\*D after the beginning of the trial. All sheep and were killed by exanguination after anesthesia with sodium pentobarbitone.

Table 2. Degree of intensity and distribution of microscopic lesions found exclusively in the myocardium of sheep experimentally fed *Ateleia glazioviana*.

Sheep	Septum	Free border of right ventricle	Free border of left ventricle
I	2	2	2
L	2	1	2
N	3	3	3
O	2	3	2

No histopathological findings related to the ingestion of the plant were found in sheep A-H, J, K and M and in the control.

Table 3. Degree of intensity and distribution of microscopic lesions found in the brain of sheep fed *A glazioviana*.

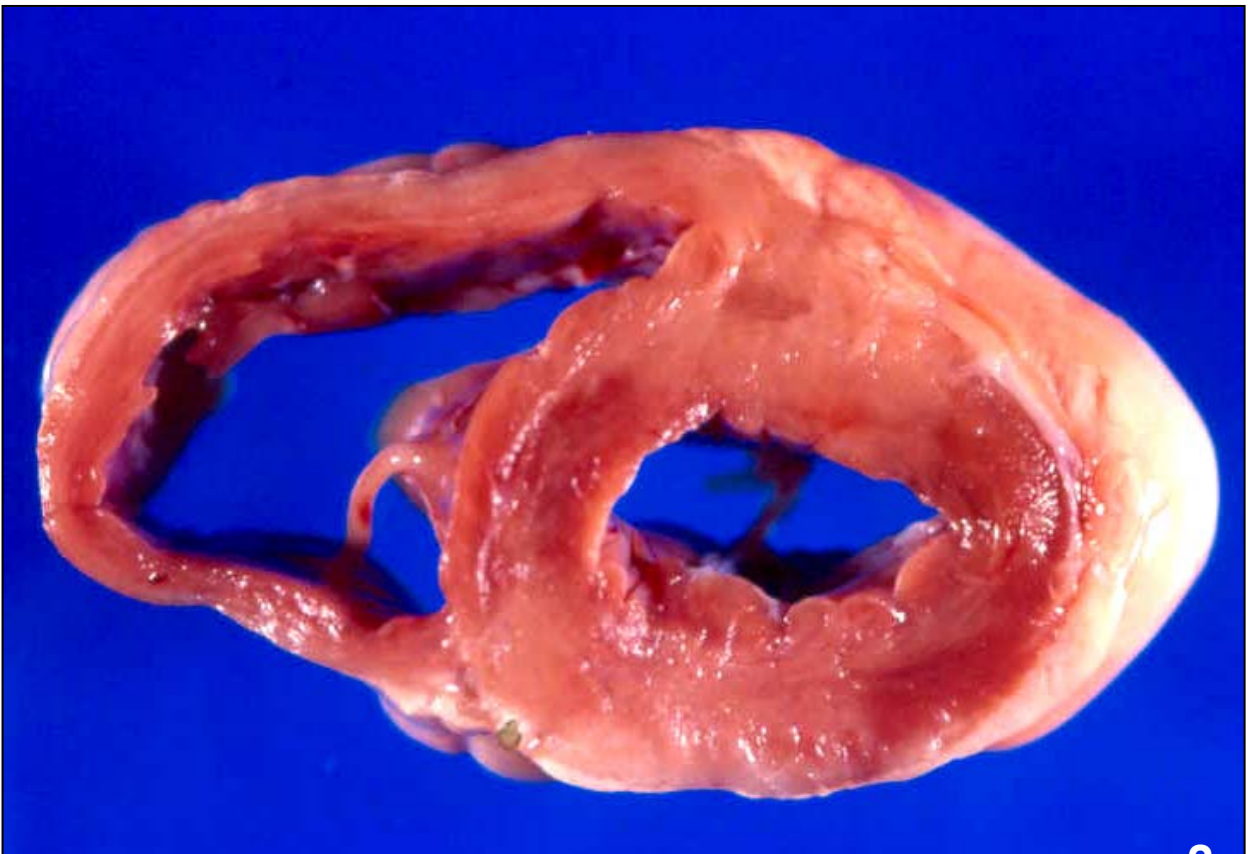
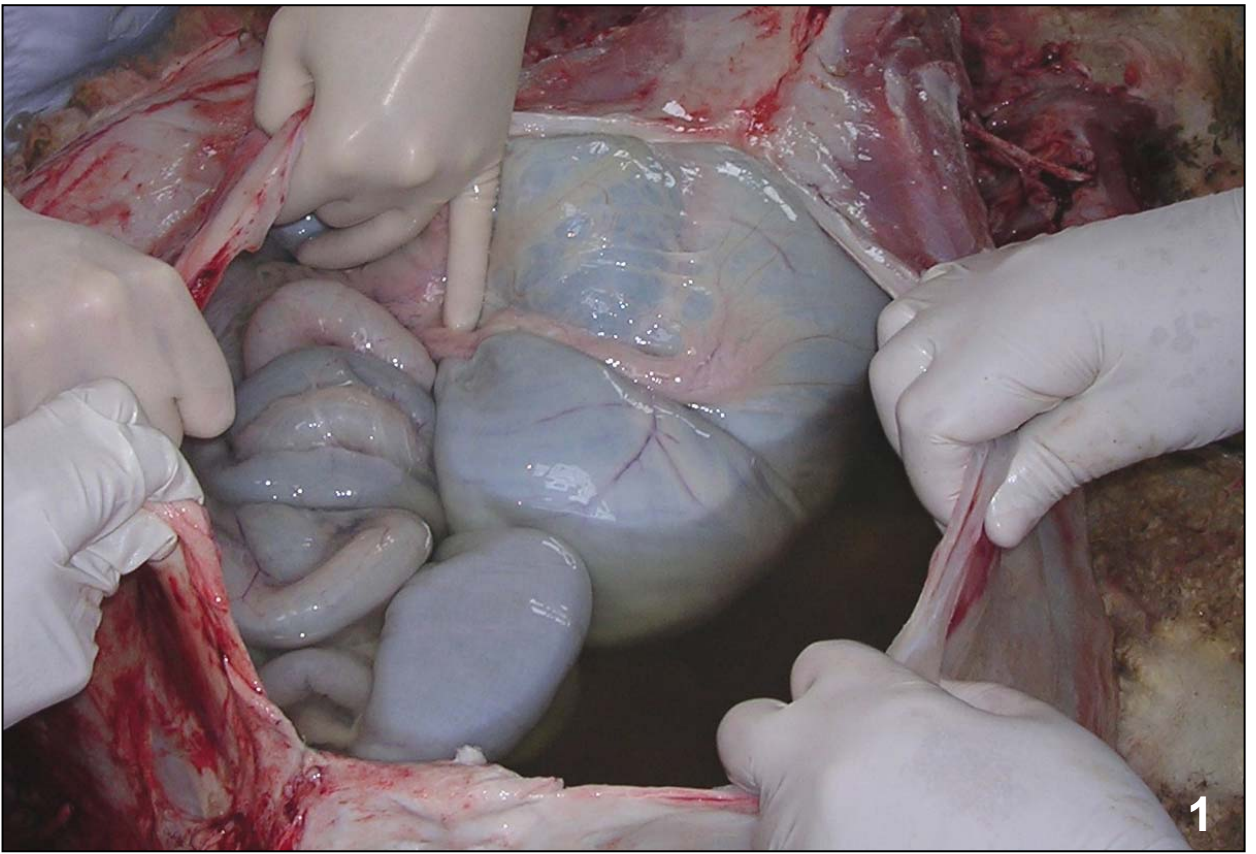
Sheep	Ce	CePe	Mes	PCort.	Thal	FCort	BG
D	1	0	1	1	1	1	0
E	0	1	1	NE	1	0	0
G	0	0	1	1	1	0	NE
I	0	0	1	1	1	1	0
J	1	0	0	1	1	0	0
K	1	0	1	1	1	1	0
L	0	2	2	0	1	0	0
M	0	0	1	1	0	1	0
N	2	2	1	1	1	0	0
O	3	3	3	2	NE	2	2

No lesions were found in the brain of Sheep A-C, F, H and in the control sheep. Abbreviations used: Ce = cerebellum, CePe, cerebellar peduncles, Mes, mesencephalon at the level of rostral colliculi, PCort = parietal cortex, Thal = Thalamus, FCort = Frontal cortex, BG, basal ganglia. 0 = absence of lesion, 1 = mild lesion, 2 = moderate lesion and 3 = severe lesion. NE = not examined.

**Figure 1.** Experimental *Ateleia glazioviana* poisoning in sheep. Necropsy findings. Abdominal cavity. Ascites.

**Figure 2.** Experimental *Ateleia glazioviana* poisoning in sheep. Necropsy findings. Heart. Firm, irregular white or yellow areas were observed on the cut surface.

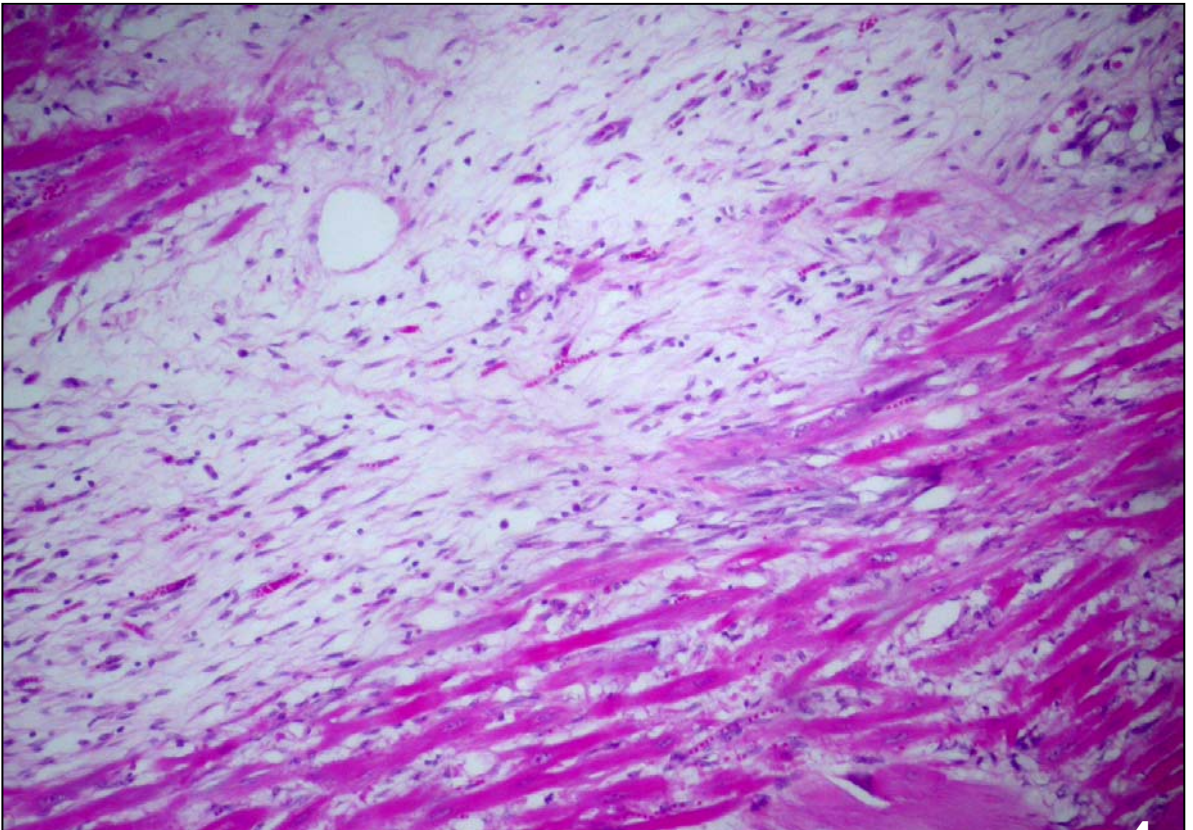
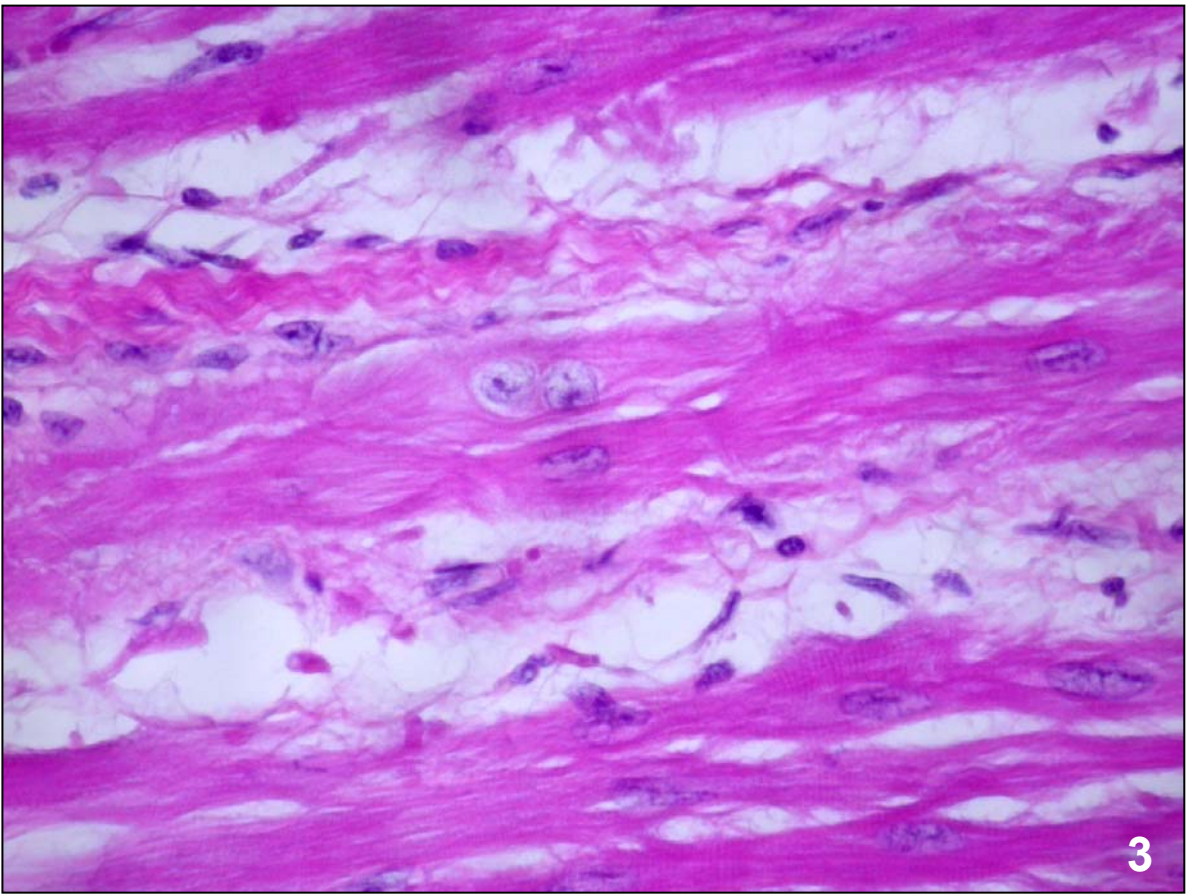




**Figure 3.** Experimental *Ateleia glazioviana* poisoning in sheep. Histopathology. Myocardium. There are two marked enlarged round nuclei in close proximity within the same myofiber. The two longitudinal oriented clear spaces seen above and below represent areas of sarcoplasm loss in two adjacent myofiber. HE, X 400.

**Figure 4.** Experimental *Ateleia glazioviana* poisoning in sheep. Histopathology. Myocardium. Large areas of fibrosis as the one shown here represent advanced lesions where fibrovascular tissue replaced large numbers of lost cardiac myofibers. Such lesions were associated with clinical signs of cardiac heart failure. HE, X 200.

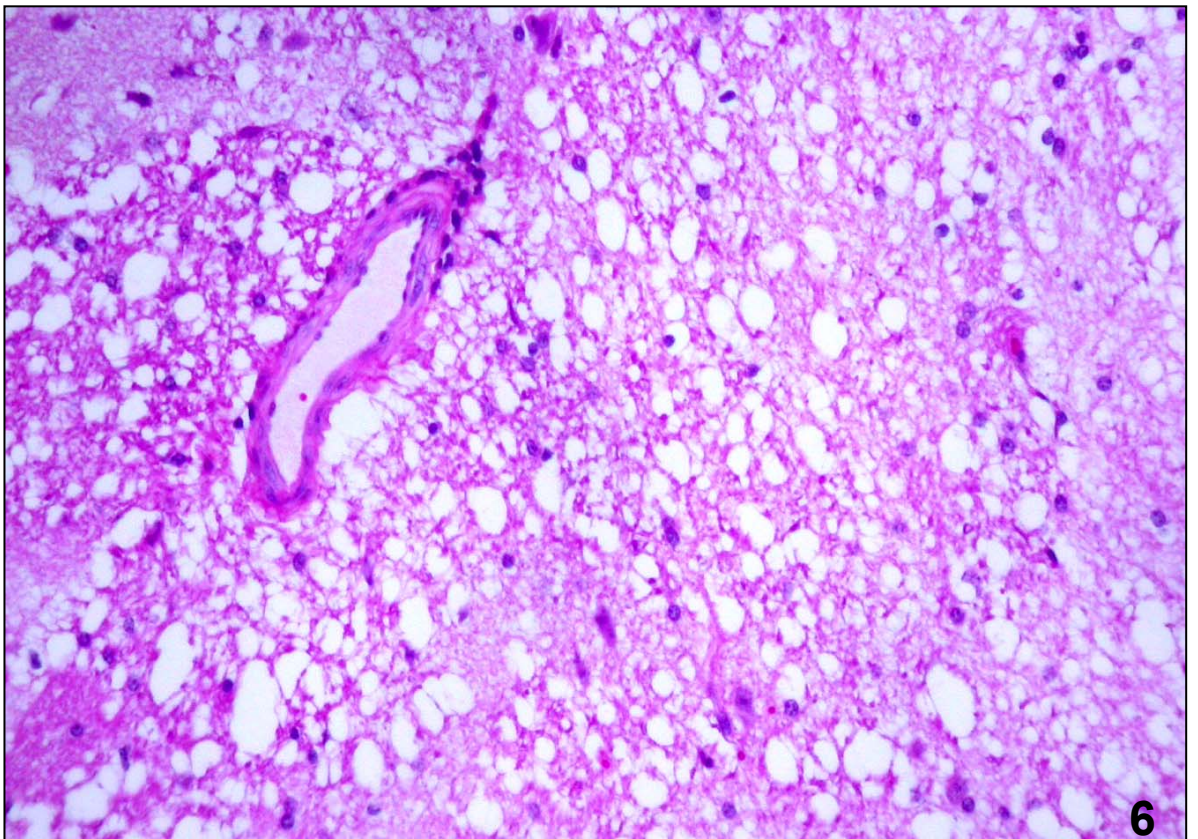
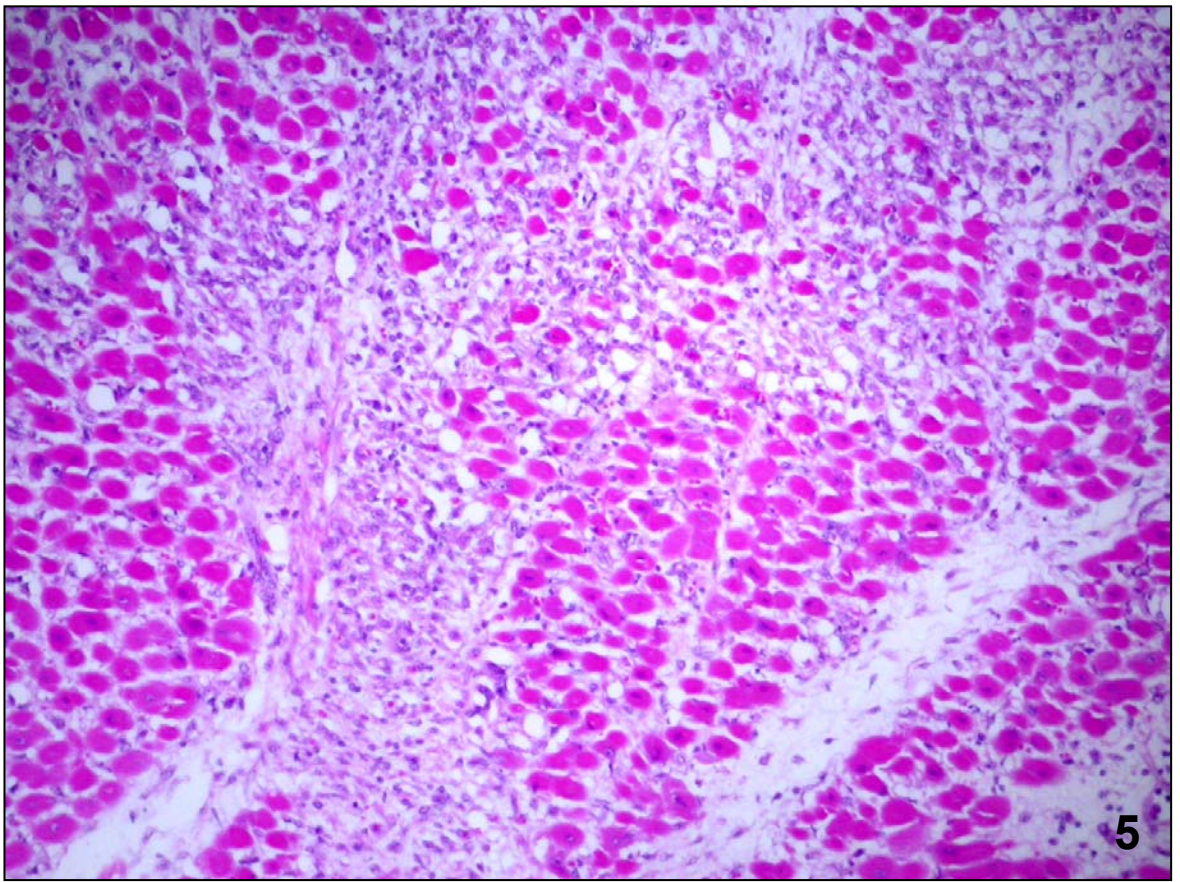




**Figure 5.** Experimental *Ateleia glazioviana* poisoning in sheep. Histopathology. Myocardium. Cross section of a similar lesion as the one shown in the previous figure. HE, X 200.

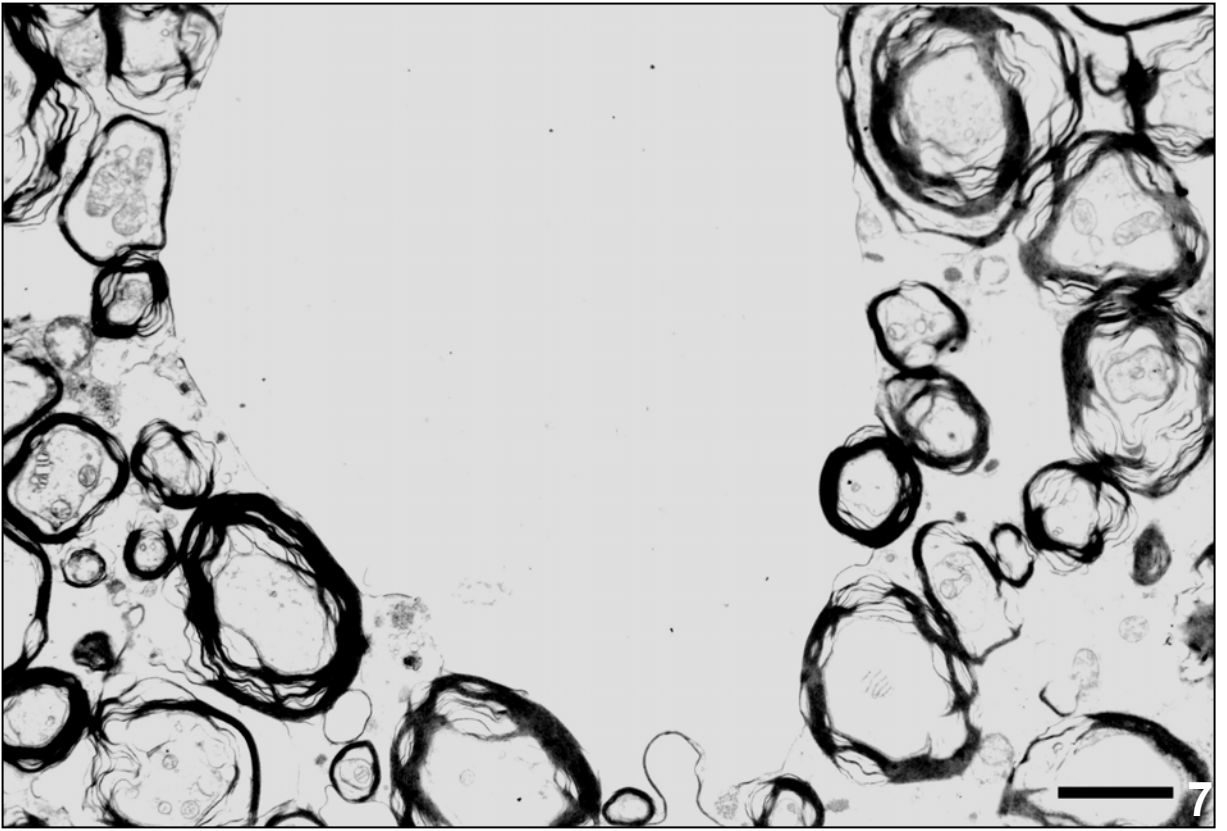
**Figure 6.** Experimental *Ateleia glazioviana* poisoning in sheep. Histopathology. Cerebrum. Vacuolation of the white matter of the telencephalic subcortical white matter at the level of the parietal lobe. HE, X 200.





**Figure 7.** Experimental *Ateleia glazioviana* poisoning in sheep. Transmission electron microscopy. Cerebrum. There is intramyelinic vacuolation (arrow) and distension of extracellular space. Bar = 10  $\mu$ m.

**Figure 8.** Experimental *Ateleia glazioviana* poisoning in sheep. Transmission electron microscopy. Cerebrum. A higher magnification illustrates splitting of myelin lamella at the intraperiod line. Bar = 5 nm.



7



8



## 5 DISCUSSÃO GERAL

Toxinas de plantas com ação transplacentária e eliminação no leite podem afetar o embrião, o feto e o recém-nascido. Muitos desses eventos têm importância econômica significativa. No Brasil, há aproximadamente 70 espécies de plantas de interesse pecuário (Tokarnia *et al.*, 2000). Dessas, três são reconhecidas por produzirem miocardiopatias, i.é, *Ateleia glazioviana* (Gava & Barros, 2001), *Tetratpterys acutifolia* e *T. multiglandulosa* (Tokarnia *et al.*, 2000; Melo *et al.*, 2001); pelo menos cinco, i.é, *A. glazioviana* (Stolf *et al.*, 1994), *Tetratpterys acutifolia*, *T. multiglandulosa* (Tokarnia *et al.*, 2000; Melo *et al.*, 2001) *Stryphnodendron obovatum* (Tokarnia *et al.*, 2000) e *Aspidosperma perycollum* (Riet Correa *et al.*, 2003) provocam abortos em animais de produção. No caso específico de *A. glazioviana*, a doença provocada em bovinos pela ingestão da planta consiste de três manifestações clínicas que, juntas, são responsáveis por grandes perdas econômicas. As três manifestações clínicas principais da intoxicação por *A. glazioviana* incluem abortos (com morbidade de até 45%) e outras formas de falha reprodutiva, insuficiência cardíaca e distúrbios neurológicos (Gava & Barros, 2001). Os detalhes dessas manifestações clínicas foram apresentadas na Revisão da Literatura.

Este trabalho discute as bases morfológicas e a patogênese da intoxicação por *A. glazioviana*. Foram usados ovinos para a reprodução experimental da doença com a presunção de que as alterações encontradas nessa espécie possam ser extrapoladas para a doença espontânea em bovinos e ovinos. Os sinais clínicos e as lesões na intoxicação experimental em ovinos (Stigger *et al.*, 2001) são muito semelhantes aos da intoxicação espontânea por *A. glazioviana* em bovinos (Gava & Barros, 2001) e ovinos (Gava *et al.*, 2003). Na insuficiência cardíaca, observa-se miocardiopatia crônica com perda de miofibras por necrose e fibrose passiva e de substituição. A manifestação neurológica está associada à degeneração esponjosa do encéfalo, mas há poucos dados sobre a patogênese e bases morfológicas do aborto, embora experimentos recentes com *A. glazioviana* em vacas prenhes (Garcia y Santos, 2003) indiquem que as lesões



encontradas nos casos espontâneos em adultos sejam reproduzidas nos fetos por ação transplacentária da planta.

O presente estudo foi conduzido para testar em ovinos os seguintes aspectos da intoxicação por *A. glazioviana*: (1) as propriedades abortivas da planta, a patogênese dos abortos e da falha reprodutiva e (2) morfologia e patogênese das lesões cardíacas e encefálicas. Os resultados obtidos nestes experimentos encontram-se discutidos nos trabalhos que resultaram desses experimentos (Raffi *et al.*, 2004 a,b) e que se encontram anexados a essa tese e referenciados ao final.

Algumas das dúvidas geradas por experimentos anteriores e relacionadas com o item 1 eram as seguintes: (a) Os ovinos são suscetíveis aos efeitos de *A. glazioviana*? (b) A planta seca perde seus efeitos tóxicos em relação à produção de abortos? (c) O princípio ativo que causa abortos é diferente do que produz lesões nos casos espontâneos em animais adultos? (d) Qual a patogenia do aborto produzido pela ingestão de *A. glazioviana*?

Experimentos relacionados anteriormente com *A. glazioviana* em ovinos (Leite *et al.*, 2002) sugeriram que ovinos poderiam não ser susceptíveis ou poderiam apresentar baixa susceptibilidade aos efeitos abortivos de *A. glazioviana*. Os resultados deste experimento (Raffi *et al.*, 2004a) esclarecem que ovinos são até mais suscetíveis que bovinos aos efeitos de *A. glazioviana* sobre a gestação e que a planta induz, em ovinos, abortos, mumificação fetal, natimortos ou produção de cordeiros fracos que morrem poucas horas após o nascimento. Neste estudo, o efeito negativo da planta sobre a performance reprodutiva de ovelhas incluiu perda da gestação em 10 de 17 ovelhas (58,8%); seis ovelhas pariram cordeiros fracos, sete dos quais morreram até 48 horas após o nascimento e uma ovelha pariu um natimorto. Isso dá uma idéia do sério problema econômico que pode advir da falha reprodutiva induzida pela ingestão de *A. glazioviana* em bovinos e ovinos no noroeste do Rio Grande do Sul e oeste de Santa Catarina. Recentemente foi relatado um surto espontâneo de aborto em ovinos relacionado à ingestão de *A. glazioviana* (Gava *et al.*, 2003).

Em experimentos anteriores com ovinos (Stigger *et al.*, 2001; Leite *et al.*, 2002), a administração de folhas secas de *A. glazioviana* não causou aborto em duas ovelhas prenhes utilizadas, uma em cada experimento. Isso gerou a suspeita de que a

planta seca perdesse sua ação abortiva, mantendo sua ação sobre o miocárdio e tecido nervoso, uma vez que lesões cardíacas e encefálicas foram encontradas nas ovelhas que abortaram. Isso gerou também a idéia que existiam dois princípios ativos em *A. glazioviana*, um que provocava o aborto e outro que provocava a miocardiopatia e a degeneração esponjosa. Esses experimentos, no entanto, não foram delineados para o estudo dos abortos, o número de ovinos prenhes usados foi reduzido, ovinos prenhes fizeram parte dos experimentos de forma acidental e em nenhum dos casos os tecidos do feto foram examinados. Os dados do nosso experimento (Raffi *et al.*, 2004a) demonstram claramente que a planta mantém a capacidade de causar aborto e outras formas de falha reprodutiva até três meses após a secagem; neste experimento, seis ovinos que receberam a planta seca abortaram ou pariram cordeiros fracos que morreram logo após o nascimento. Esse fato tem importância epidemiológica nos surtos espontâneos, pois ovinos e bovinos podem se intoxicar pela ingestão de folhas de *A. glazioviana* que caem ao chão no outono.

Quanto à suspeita de que há diferentes princípios em *A. glazioviana*, um causando abortos e outro causando a doença cardíaca e neurológica, os dados de nosso experimento não incluíram métodos químicos que permitam confirmar ou negar com segurança essa hipótese. Mas é muito pouco provável que existam dois princípios ativos. Uma forte razão para refutar a teoria dos dois princípios ativos é que, neste experimento (Raffi *et al.*, 2004a), as lesões induzidas *in utero* e demonstradas mais claramente em um feto, 7 cordeiros e um natimorto são notavelmente semelhantes às observadas na doença espontânea em bovinos e ovinos adultos (Gava & Barros, 2001; Gava *et al.*, 2003). Não seria lógico, portanto, supor que um princípio ativo diferente produzisse o aborto através de lesões virtualmente idênticas às produzidas pela planta em adultos. Nossa conclusão, portanto, com base nessas evidências circunstanciais, é que há apenas um princípio ativo que causa miocardiopatia, degeneração esponjosa e abortos.

Quanto à resposta ao quarto item, a nossa hipótese era de que ingestão da planta provoca aborto pela intoxicação e morte do feto por via transplacentária. Sabe-se que ovinos não dependem do corpo amarelo para manter a gestação e que a morte fetal causa um decréscimo abrupto na produção de progesterona pela placenta resultando em

rápida expulsão do feto morto (McCue & Troedsson, 2002). Os resultados de nosso experimento (Raffi *et al.*, 2004a) demonstram que *A. glazioviana* causa aborto pela morte do feto. Mais ainda, que essa morte é provocada pela indução transplacentária de miocardiopatia degenerativa com fibrose e degeneração esponjosa cerebral no feto. Fetos que não morrem não são abortados, mas nascem fracos devido às lesões cardíacas e neurológicas e não resistem por muito tempo no ambiente após o nascimento. Lesões transplacentárias causadas por *A. glazioviana* no feto bovino já haviam sido observadas (Garcia y Santos, 2003). O princípio tóxico de *A. glazioviana* permanece indeterminado. A planta tem sido reconhecida como ictiotóxica (Ortega & Schenkel, 1987). Extratos aquosos e hidroetanólicos das folhas de *A. glazioviana* induziram aumento da reabsorção fetal, decréscimo de ganho de peso e abortos quando injetados em ratas prenhes (Langeloh *et al.*, 1992; Marona *et al.*, 1992).

As alterações histopatológicas (*status spongiosus*) encontradas nos cérebros dos cordeiros cujas mães foram intoxicadas por *A. glazioviana* são comparáveis às lesões encontradas em erros hereditários do metabolismo, como é o caso da “doença da urina de xarope de bordo” (*maple syrup urine disease*) em bezerros (Harper *et al.*, 1986; Baird *et al.*, 1987) e da doença de Canavan em crianças (De Girolami *et al.*, 1999). Essas alterações são também comparáveis às observadas em intoxicações por plantas como *Helichrysum argyrosphaerum* (Basson *et al.*, 1975; Van der Lugt *et al.*, 1996) e por substâncias químicas, como os anti-helmínticos closantel e raxofanida (Van der Lugt & Venter, 2002) em ovinos e cabras; *status spongiosus*, como foi observado nos fetos de nosso experimento (Raffi *et al.*, 2004a), ocorre também na encefalopatia hepática associada a doença crônica do fígado, como na intoxicação por espécies de *Senecio* (Finn & Tennant, 1974; Barros *et al.*, 1992) e *Crotalaria* em bovinos (Van der Lugt *et al.*, 2002b) e na intoxicação por cobre associada à intoxicação por *Senecio* spp em ovinos (Ilha *et al.*, 2001). As lesões histológicas observadas no miocárdio dos fetos em nosso experimento guardam certa semelhança com o que é descrito em cardiopatias de ocorrência em seres humanos, como a cardiopatia hipertensiva (aumento de volume das fibras cardíacas, núcleos aumentados de volume e retangulares) e a miocardiopatia hipertrófica de fundo genético autossômico (hipertrofia, desorganização das miofibras) (Jennings & Steenbergen, 2001).

Quanto às lesões cardíacas e encefálicas, as nossas conclusões são de que a morfologia e a patogênese dessas alterações são as mesmas tanto para as alterações induzidas no cérebro do feto (Raffi *et al.*, 2004a) como para o ovino adulto (Raffi *et al.*, 2004b).

A doença induzida por *A. glazioviana* em ovinos adultos (Raffi *et al.*, 2004b) foi caracterizada por insuficiência cardíaca congestiva e distúrbios neurológicos. As alterações histopatológicas consistiram de miocardiopatia crônica e degeneração esponjosa da substância branca do cérebro. Essas lesões são idênticas às encontradas na intoxicação espontânea por *A. glazioviana* em bovinos (Gava & Barros, 2001) e ovinos (Gava *et al.*, 2003) adultos. Os dados desse experimento (Raffi *et al.*, 2004b) sugerem que animais que consomem grandes quantidades de *A. glazioviana* por períodos curtos desenvolvem uma doença neurológica que pode ser fatal, mas que, se a ingestão é interrompida, pode ocorrer remissão. Pequenas quantidades da planta ingerida por longos períodos de tempo induzem miocardiopatia crônica. Dados desse e de outros experimentos (Stigger *et al.*, 2001) e da observação de casos espontâneos (Gava & Barros, 2001) sugerem que a doença cardíaca quase sempre é fatal.

A lesão miocárdica relacionada à ingestão de *A. glazioviana* nesse experimento (Raffi *et al.*, 2004b) consistiu de áreas pálidas e firmes no miocárdio. Ao exame no microscópio de luz, essas áreas pálidas correspondiam à degeneração e necrose das miofibras cardíacas e à fibrose intersticial. A intensidade da lesão era a mesma em todas áreas cardíacas examinadas, ao contrário do que havia sido observado em trabalho anterior (Stigger *et al.*, 2001). Nossas observações, baseadas no exame em microscopia de luz, sugerem a seguinte seqüência de eventos: a tumefação das fibras miocárdicas progride para a dissolução do sarcoplasma; a fibra resulta num tubo vazio limitado por sarcolema e acaba colapsando. Quando o miocárdio é examinado ao microscópio nesse ponto, podem-se observar áreas pálidas (menos eosinofílicas) que correspondem a áreas de perda de fibras e fibrose passiva. Com o passar do tempo, a fibrose pode predominar no quadro histológico.

Os aspectos macroscópicos e microscópicos observados no miocárdio dos ovinos desse estudo (Raffi *et al.*, 2004b) são qualitativamente os mesmos descritos para outras miocardiopatias tóxicas ou nutricionais de ruminantes. As miocardiopatias

tóxicas incluem a intoxicação pelas plantas *Tetrapteryx acutifolia* e *T. multiglandulosa* (Tokarnia *et al.*, 1989a; Peixoto *et al.*, 1995; Tokarnia *et al.*, 1990), *Pachystigma pygmaeum*, *P. thamnus*, *Pavetta harborii*, *P. Schumaniana*, *Fadogia monticola* (Kellerman *et al.*, 1988) e por antibióticos inonóforos (Barros, 2001a; Bastianello *et al.*, 2001); as causas nutricionais incluem a deficiência de selênio e vitamina E (Barros, 2001b).

Os sinais clínicos neurológicos observados em ovinos adultos intoxicados por *A. glazioviana* (Raffi *et al.*, 2004b) incluíram depressão, anorexia, fraqueza, andar cambaleante e períodos prolongados de decúbito, que são semelhantes aos da doença espontânea observada em bovinos (Gava & Barros, 2001; Gava *et al.*, 2001) e ovinos (Gava *et al.*, 2003). Histologicamente, *status spongiosus* foi observado no cérebro de 10 de 15 ovinos que receberam *A. glazioviana* nesse estudo (Raffi *et al.*, 2004b). Pelo exame ultra-estrutural realizado no cérebro dos ovinos deste experimento, as lesões foram classificadas no grupo das mielinopatias (Van der Lugt, 2002) que são condições não-inflamatórias do sistema nervoso central ou periférico nas quais o evento primário está relacionado com um distúrbio na formação, manutenção ou estabilidade da mielina e inclui várias subcategorias (Jubb & Huxtable, 1993). A condição observada nos ovinos de nosso experimento, podem ser classificadas na subcategoria conhecida como mielinopatia esponjiforme, na qual o aspecto patológico dominante é a vacuolização sem degradação significativa ou fagocitose da mielina (Van der Lugt, 2002). Quando observada na microscopia de luz, essa alteração é denominada degeneração esponjosa ou *status spongiosus* (Summers *et al.*, 1995) e pode resultar de vacuolização nos processos localizados na neurópila, vacuolização da bainha de mielina ou pela tumefação de astrócitos e oligodendrócitos (Adornato & Lampert, 1971). A alteração específica responsável pela degeneração esponjosa pode ser determinada apenas pela ultra-estrutura (Summers *et al.*, 1995). Os achados ultra-estruturais encontrados no cérebro dos ovinos desse experimento (Raffi *et al.*, 2004b) indicam que a vacuolização intramielínica é a causa da degeneração esponjosa na intoxicação por *A. glazioviana*.

## 6 CONCLUSÕES

1. Ovinos são suscetíveis à intoxicação por *Ateleia glazioviana*.
2. Abortos e outras manifestações de falha reprodutiva são produzidos tanto pela planta verde como pela seca armazenada por até três meses.
3. Falha reprodutiva induzida experimentalmente em ovinos inclui abortos, mumificação fetal, natimortos e nascimento de cordeiros fracos.
4. *Ateleia glazioviana* provoca aborto pela intoxicação e morte do feto por via transplacentária.
5. Lesões produzidas no feto pela ação transplacentária de *Ateleia glazioviana* incluem miocardiopatia crônica e degeneração esponjosa da substância branca do encéfalo.
6. As alterações produzidas por *Ateleia glazioviana* no miocárdio e encéfalo são as mesmas para fetos e animais adultos e, portanto, causadas pelo mesmo princípio tóxico.
7. As alterações produzidas por *Ateleia glazioviana* no miocárdio do feto ovino induzem insuficiência cardíaca congestiva em cordeiros recém-nascidos, semelhante à observada na doença espontânea em bovinos adultos.
8. A alteração esponjosa observada no encéfalo dos ovinos é uma mielinopatia espongifforme causada por vacuolização intramielínica.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADORNATO, B. & LAMPERT, P. *Status spongiosus* of nervous tissue. **Acta Neuropathologica** (Berlin), v. 19, p. 271-289, 1971.

BAIRD, J.D.; WOJCINSKI, Z.W.; WISE, A.P. & GODKIN, M.A. Maple syrup urine disease in five Hereford calves in Ontario. **Canadian Veterinary Journal**, v. 28, p. 505-511, 1987.

BARROS, C.S.L. **Comunicação Pessoal**. UFSM, Santa Maria, RS, 2004.

BARROS, C.S.L. Deficiência de selênio e vitamina E. In: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A.L.; MÉNDEZ, M.C.; LEMOS, R.A.A. **Doenças de Ruminantes e Eqüinos**. São Paulo : Varela, 2001b, 565p., V. 2., p. 329-333.

BARROS, C.S.L. Intoxicação por antibióticos ionóforos. In: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A.L.; MÉNDEZ, M.C.; LEMOS, R.A.A. **Doenças de Ruminantes e Eqüinos**. São Paulo : Varela, 2001a, 565p., V. 2., p. 186-191.

BARROS, C.S.L. Intoxicação por *Senna occidentalis*. In: RIET-CORREA, F.; MÉNDEZ, M.C.; SCHILD, A.L. **Intoxicações por Plantas e Micotoxicoses em Animais Domésticos**. Montevideo : Editorial Agropecuária Hemisferio Sur, 1993, cap. 9, p. 201-213.

BARROS, C.S.L.; BARROS, S.S.; SANTOS, M.N. & METZDORF, L.L. Miopatia nutricional em bovinos no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 8, p. 51-55, 1988.

BARROS, C.S.L.; DRIEMEIER, D.; PILATI, C. & BARROS, S.S. *Senecio* spp poisoning in cattle in southern Brazil. **Veterinary and Human Toxicology**, v. 34, p. 241-246, 1992.

BARROS, C.S.L.; ILHA, M.R.S.; BEZERRA, Jr. P.S.; LANGOHR, I.M. & KOMMERS, G.D. Intoxicação por *Senna occidentalis* (Leguminosae) em bovinos em pastoreio. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 19, p. 68-70, 1999.

BARROS, C.S.L.; PILATI, C.; ANDUJAR, M.B.; GRAÇA, D.L.; IRIGOYEN, L.F.; LOPES, S.T. & SANTOS, C.F. Intoxicação por *Cassia occidentalis* (Leg. Caes.) em bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 10, p. 47-58, 1990.

BARTH, A.T.; KOMMERS, G.D.; SALLES, M.S.; WOUTERS, F. & BARROS, C.S.L. Coffee senna (*Senna occidentalis*) poisoning in cattle in Brazil. **Veterinary and Human Toxicology**, v. 36, p. 541-545, 1994.

BASSON, P.A.; KELLERMAN, T.S.; ALBL, P.; MALTITZ, L.J.F.; MILLER, E.S. & WELMAN, W.G. Blindness and encephalopathy caused by *Helichrysum argyrosphaerum* DC (Compositae) in sheep and cattle. **Onderstepoort Journal of Veterinary Research**, v. 42, p. 135-148, 1975.

BASTIANELLO, S.S.; FOURIE, N.; PROZESKY, L.; NEL, P.W. & KELLERMAN, T.S. Cardiomiopathy of ruminants induced by litter of poultry fed on rations containing the ionophore antibiotic, maduromicin. II. Macropathology and histopathology. **Onderstepoort Journal of Veterinary Research**, v. 65, p. 5-18, 1995.



BURROWS, G.E. & TYRL, R.J. **Toxic Plants of North America.** Ames : Iowa State University Press, 2001a, 1342p., cap. 7, p. 54-57.

BURROWS, G.E. & TYRL, R.J. **Toxic Plants of North America.** Ames : Iowa State University Press, 2001b, 1342p., cap. 13, p. 167-170.

BURROWS, G.E. & TYRL, R.J. **Toxic Plants of North America.** Ames : Iowa State University Press, 2001c, 1342p., cap. 37, p. 500-684.

BURROWS, G.E. & TYRL, R.J. **Toxic Plants of North America.** Ames : Iowa State University Press, 2001d, 1342p., cap. 47, p. 782-786.

BURROWS, G.E. & TYRL, R.J. **Toxic Plants of North America.** Ames : Iowa State University Press, 2001e, 1342p., cap. 57, p. 862-869.

BURROWS, G.E. & TYRL, R.J. **Toxic Plants of North America.** Ames : Iowa State University Press, 2001f, 1342p., cap. 69, p. 1122-1125.

De GIROLAMI, U.; ANTHONY, D.C. & FROSCH, M.P. The central nervous system. In COTRAN, R.S.; KUMAR, V.; COLLINS, T. **Robbins Pathologic Basis of Disease.** 6 ed., Philadelphia : Saunders, 1999, 1250p., cap. 30, p. 1155-1211.

ECCO, R.; GAVA, A.; GRAÇA, D.L. & BARROS, C.S.L. Intoxicação por closantel em caprinos – relato de caso. In: IX ENCONTRO NACIONAL DE PATOLOGIA VETERINÁRIA, 1999, Belo Horizonte, MG. **Anais...**p.91.

FINN, J.P. & TENNANT, B. Hepatic encephalopathy in cattle. **The Cornell Veterinarian**, v. 64, p. 136-153, 1974.

GARCIA Y SANTOS, M.C. **Intoxicação experimental por *Ateleia glazioviana*: lesões fetais em bovinos e características do princípio ativo.** 34f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária)-Universidade Federal de Pelotas, RS, 2003.

GAVA, A. Intoxicação por *Ateleia glazioviana*. In: RIET-CORREA, F.; MÉNDEZ, M.C.; SCHILD, A.L. **Intoxicações por Plantas e Micotoxicoses em Animais Domésticos.** Montevideo : Agropecuária Hemisferio Sur, 1993, 326p., p. 222-225.

GAVA, A. **Intoxicação por *Ateleia glazioviana* (Leg. Papilionoideae) em bovinos.** 96f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária)-Universidade Federal de Santa Maria, RS, 2000.

GAVA, A. & BARROS, C.S.L. Field observations on the *Ateleia glazioviana* poisoning in cattle in southern Brazil. **Veterinary and Human Toxicology**, v. 43, p. 37-41, 2001.

GAVA, A.; BARROS, C.S.L.; PILATI, C.; BARROS, S.S. & MORI, A.M. Intoxicação por *Ateleia glazioviana* (Leg. Papilionoideae) em bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 21, p. 49-59, 2001.

GAVA, A.; WOUTERS, A.T.B.; WOUTERS, F.; NISZGOSKI, L. & BARROS, C.S.L. Intoxicação por salinomicina em bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 17, p. 127-139, 1997.

GAVA, D.; REIS, R.N.; ROCHA, T.S.; PASQUALE, E. & GAVA, A. Intoxicação natural por *Ateleia glazioviana* (Leg. Papilionoideae) em ovinos. In: XI ENCONTRO NACIONAL DE PATOLOGIA VETERINÁRIA, 2003, Botucatu, SP. **Anais...**p.60.

HARPER, P.A.; HEALY, P.J. & DENNIS, J.A. Maple syrup urine disease as a cause of spongiform encephalopathy in calves. **The Veterinary Record**. v. 119, p. 62-65, 1986.

ILHA, M.R.S.; LORETTI, A.; BARROS, S.S. & BARROS, C.S.L. Intoxicação espontânea por *Senecio brasiliensis* (Asteraceae) em ovinos no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 21, p. 123-138, 2001.

JENNINGS, R.B. & STEENBERGEN, Jr.C. The heart. In: RUBIN, E. **Essential Pathology**. 3 ed., Philadelphia : Lippincott-Williams & Wilkins, 2001, p. 275-308.

JONES, T.C.; HUNT, R.D. & KING, N.W. **Patologia Veterinária**, 6 ed., São Paulo : Manole, 1997, 1415p., cap. 15, p. 784-785.

JUBB, K.V.F. & HUXTABLE, C.R. The nervous system. In: JUBB, K.V.F.; KENNEDY, P.C.; PALMER, N. **Pathology of Domestic Animals**. San Diego : Academic Press, 4 ed., 1993, V. 1, 780p., p. 267-437.

KELLERMAN, T.S.; COETZER, J.A. & NAUDÉ, T.W. Heart. In: \_\_\_\_\_ **Plant Poisonings and Mycotoxicoses of Livestock in Southern Africa**. Cape Town : Oxford University Press, 1988, cap. 3, p. 83-130.

KENNEDY, P.C. & MILLER, R.B. The female genital system. In: JUBB, K.V.F.; KENNEDY, P.C.; PALMER, N. **Pathology of Domestic Animals**. San Diego : Academic Press, 1993, 653p., V. 3, p. 349-443.

KING, J.M.; ROTH, L. & HASCHEK, W.M. Myocardial necrosis secondary to neural lesions in domestic animals. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. v. 180, p. 144-148, 1982.

KIRKBRIDE, A.C. **Laboratory Diagnosis of Livestock Abortion**. Ames : Iowa State University Press, 1990, 254p.

LANGELOH, A., MAIDANA-LEGUIZAMÓN, F. & DALSENTER, P. Potencial abortivo e infertilizante de plantas brasileiras contaminantes ocasionais de pastagens de bovinos e outros herbívoros de interesse econômico. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 12, p. 11-18, 1992.

LEITE, L.G.; RIET-CORREA, F.; MEDEIROS, R.M.T.; PIACENTI, A.; ARAGÃO, M. & SCHONS, S.V. Susceptibilidade de animais de laboratório à intoxicação por *Ateleia glazioviana* (Leg. Papilionoideae). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 22, p. 73-78, 2002.

LONGHI, R.A. **Livro das Árvores: árvores e arvoretas do Sul**. Porto Alegre : L&PM, 1995, 176p.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras**: manual de identificação de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa : Plantarum, 1992, 352p.

MARONA, H.R.N.; LANGELOH, A. & SCHENKEL, E.P. Atividade abortiva de *Ateleia glazioviana* (Leg. Papilionoideae). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 12, p. 81-83, 1992.

McCUE, P.M. & TROEDSSON, M.H.T. Pregnancy loss. In: SMITH, B.D. **Large Animal Internal Medicine**. 3 ed., St Louis : Mosby, 2002, cap. 12, p. 217-221.

MELO, M.M.; VASCONCELOS, A.C.; DANTAS, G.C.; SERAKIDES, R. & ALZAMORA, F.F. Experimental intoxication of pregnant goats with *Tetrapteryx multiglandulosa* A. Juss. (Malpighiaceae). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 53, p. 58-65, 2001.

MÉNDEZ, M.C.; RIET-CORREA, F.; RIBEIRO, J.; SELAIVE, A. & SCHILD, A.L. Mortalidade perinatal em ovinos nos municípios de Bagé, Pelotas e Santa Vitória do Palmar no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 2, p. 69-76, 1982.

MICHELSEN, P.G.E. Bluetongue. In: SMITH, B.P. **Large Animal Internal Medicine**. St. Louis : Mosby, 2002, 1735p., p. 702-704.

OLIVEIRA, A.C. & BARROS, S.S. Mortalidade perinatal em ovinos no município de Uruguaiana, Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 2, p. 1-7, 1982.

ORTEGA, G.G. & SCHENKEL, E.P. Ichthyotoxic activities of *Ateleia glazioviana* Baill and *Thinouia coriaceae*. **British Journal of Ethnopharmacology**, v. 20, p. 81-84, 1987.

ORTEGA, G.G. & SCHENKEL, E.P. Isoflavonas de *A. glazioviana* Baill (Leguminosae). **Cadernos de Farmacologia**, v. 2, p. 133-161, 1986.

PANTER, K.E.; JAMES, L.F. & MOLINEUX, R.J. Ponderosa Pine needle-induced parturition in cattle. **Journal Animal Science**, v. 70, p. 1604-1608, 1992.

PEIXOTO, P.V.; LORETTI, A.P. & TOKARNIA, C.H. Doença do peito inchado, *Tetrapteryx* spp. Poisoning, brisket disease and St. George disease: a comparative study. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 15, p. 43-50, 1995.

RAFFI, M.B.; BARROS, R.R.; BRAGANÇA, J.F.M.; RECH, R.R.; OLIVEIRA, F.N. & BARROS, C.S.L. The pathogenesis of reproductive failure induced in sheep by the ingestion of *Ateleia glazioviana*. **Veterinary and Human Toxicology**, 2004a. (No prelo)

RAFFI, M.B.; RECH, R.R.; SALLIS, E.S.V.; BARROS, S.S. & BARROS, C.S.L. Chronic cardiomyopathy and cerebral spongy changes in sheep experimentally fed *Ateleia glazioviana*. **Veterinary and Human Toxicology**, 2004b. (Submetido para publicação)

RIET-CORREA, F. & MÉNDEZ, M.C. Mortalidade perinatal em ovinos. In: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A.L.; MÉNDEZ, M.C.; LEMOS, R.A.A. **Doenças de Ruminantes e Eqüinos**. São Paulo : Varela, 2001, 565p., V. 2., p. 417-425.

RIET-CORREA, F.; TABOSA, I.M.; AZEVEDO, E.O.; MEDEIROS, R.M.T.; SIMÕES, S.V.D.; DANTAS, A.F.M.; ALVES, C.J.; NOBRE, V.M.T.; ATHAYDE, A.C.; GOMES, A.A. & LIMA, E.F. **Semi-árido em Foco**. Patos : UFCG, v. 1, 2003, 115p.

SCHNEIDER, D.J. Listeriosis. In: COETZER, J.A.W.; THOMSON, G.R.; TUSTIN, R.C. **Infectious Diseases of Livestock**. New York : Oxford University Press, 1994, 1605p., V. 2, p. 1374-1377.

SMITH, K. Infertility in the ewe and doe (female goat). In: NOAKES, D.E.; PARKINSON, T.J.; ENGLAND, G.C.W. **Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics**. Toronto : W.B. Saunders, 2001, 868p., p. 557-576.

STEGELMEIER, B.L.; GARDNER, D.R.; JAMES, L.F.; PANTER, K.E. & MOLYNEUX, R.J. The toxic and abortifacient effects of Ponderosa Pine. **Veterinary Pathology**. v. 33, p. 22-28, 1996.

STEWART, C.G. & TUNNER, G.V.S. Toxoplasmosis. In: COETZER, J.A.W.; THOMSON, G.R.; TUSTIN, R.C. **Infectious Diseases of Livestock**. New York : Oxford University Press, 1994, 729p., V. 1, p. 238-244.

STIGGER, A.L.; BARROS, C.S.L.; LANGOHR, I.M. & BARROS, S.S. Intoxicação experimental por *Ateleia glazioviana* (Leg. Papilionoideae) em ovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 21, p. 98-108, 2001.

STOLF, L.; GAVA, A.; VARASCHIN, M. S.; NEVES, D.S., MONDADORI, A.J. & SCOLARI, L.S. Aborto em bovinos causado pela ingestão de *Ateleia glazioviana* (Leg. Papilionoideae). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 14, p. 15-18, 1994.

STORTS, R.W. & MONTGOMERY, D.L. The nervous system. In: McGAVIN, M.D.; CARLTON, W.W.; ZACHARY, J. F. **Thomson's Special Veterinary Pathology**. New York: Academic Press, 2000, 636p., p. 381-459.

SUMMERS, B.A.; CUMMINGS, J.F. & DE LAHUNTA, A. Degenerative diseases of the central nervous system. In: \_\_\_\_\_ **Veterinary Neuropathology**. Baltimore : Mosby, 1995, 527p., p. 209-350.

TERRA, F.; RIET-CORREA, G. & SCHILD, A.L. Intoxicação experimental por *Tetrapteryx* spp em ovinos – Reprodução da forma cardíaca. In: XI CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 2002, Pelotas, RS. **Anais.....**p. 49.

TOKARNIA, C.H.; GAVA, A.; PEIXOTO, P.V.; STOLF, L. & MORAES, S.S. A “doença do peito inchado” (edema da região esternal) em bovinos no Estado de Santa Catarina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 9, p. 73-83, 1989b.

TOKARNIA, C.H.; DÖBEREINER, J. & PEIXOTO, P.V. **Plantas Tóxicas do Brasil**. Rio de Janeiro : Helianthus, 287p. 2000.



TOKARNIA, C.H.; PEIXOTO, P.V. & DÖBEREINER, J. Poisonous plants affecting the heart function of cattle in Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 10, p. 1-10, 1990.

TOKARNIA, C.H.; PEIXOTO, P.V.; DÖBEREINER, J.; CONSORTE, L.B. & GAVA, A. *Tetrapteryx* spp. (Malpighiaceae), a causa de mortandades em bovinos caracterizadas por alterações cardíacas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 9, p. 23-44, 1989a.

VAN der LUGT, J.J. Myelinopathies. In: \_\_\_\_\_ **The clinicopathology and pathology of selective toxicoses and storage diseases of the nervous system of ruminants in southern Africa**. Tese de Doutorado, University of Utrecht, The Netherlands, 2002, 174p., p. 67.

VAN der LUGT, J.J. & VENTER, I. Myelin vacuolation, optic neuropathy and retinal degeneration following closantel overdosage in sheep and a goat. In: VAN der LUGT, J.J. **The clinicopathology and pathology of selective toxicoses and storage diseases of the nervous system of ruminants in southern Africa**. Tese de Doutorado, University of Utrecht, The Netherlands, 2002, 174p., p. 83-97.

VAN der LUGT, J.J.; FOURIE, N. & LIDDEL, J.R. Chronic liver disease and hepatic encephalopathy in cattle caused by *Crotalaria spartioides*. In: VAN der LUGT, J.J. **The clinicopathology and pathology of selective toxicoses and storage diseases of the nervous system of ruminants in southern Africa**. Tese de Doutorado, University of Utrecht, The Netherlands, 2002b, 174p., p. 115-126.

VAN der LUGT, J.J.; KELLERMAN, T.S.; FOURIE, N. & COETZER, J.A.W. Diarrhoea, blindness and cerebral spongy changes in cattle caused by *Ornithogalum saundersiae* and *O. prasinum*. In: VAN der LUGT, J.J. **The clinicopathology and**

**pathology of selective toxicoses and storage diseases of the nervous system of ruminants in southern Africa.** Tese de Doutorado, University of Utrecht, The Netherlands, 2002a, 174p., p. 99-114.

VAN der LUGT, J.J.; OLIVER, J. & JORDAAN, P. *Status spongiosis*, optic neuropathy and retinal degeneration in *Helichrysum argyrosphaerum* poisoning in sheep and a goat. **Veterinary Pathology**, v. 33, p. 495-502, 1996.

VAN DER WALT, M.L. Campylobacter jejuni infection. In: COETZER, J.A.W.; THOMSON, G.R.; TUSTIN, R.C. **Infectious Diseases of Livestock**. New York : Oxford University Press, 1994, V. 2, 1605p., p. 1025-1029.

VOGEL, P. & FRITZ, D. Cardiomyopathy associated with angiomatous pheochromocytoma in a Rhesus macaque (*Macaca mulatta*). **Veterinary Pathology**, v. 40, p. 468-473, 2003.

WOUTERS, A.T.B.; WOUTERS, F. & BARROS, C.S.L. Intoxicação experimental por narasina em bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 17, p. 82-88, 1997a.

WOUTERS, F.; WOUTERS, A.T.B. & BARROS, C.S.L. Intoxicação experimental por narasina em ovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 17, p. 89-95, 1997b.