

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS, CLÍNICOS E
LESÕES VESICAIS NA INTOXICAÇÃO CRÔNICA
ESPONTÂNEA POR *Pteridium aquilinum* EM BOVINOS**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Adriane Loy Gabriel

**Santa Maria, RS, Brasil
2008**

**ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS, CLÍNICOS E LESÕES
VESICAIS NA INTOXICAÇÃO CRÔNICA ESPONTÂNEA
POR *Pteridium aquilinum* EM BOVINOS**

por

Adriane Loy Gabriel

Dissertação apresentada ao curso de Mestrado 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
Mestre em Medicina Veterinária

Orientadora: Prof^ª. Glaucia Denise Kommers

Santa Maria, RS, Brasil

2008

Gabriel, Adriane Loy, 1982-

G118a

Aspectos epidemiológicos, clínicos e lesões vesicais na intoxicação crônica espontânea por *Pteridium aquilinum* em bovinos / por Adriane Loy Gabriel ; orientador Gláucia Denise Kommers. - Santa Maria, 2008.

104 f. ; il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, RS, 2008.

1. Medicina veterinária 2. Doença de bovinos 3. Plantas tóxicas 4. *Pteridium aquilinum* 5. Hematúria enzoótica bovina 6. Carcinoma de células escamosas do trato digestório 7. Patologia veterinária I. Kommers, Glaucia Denise, orient. II. Título

CDU: 619:636.2

Ficha catalográfica elaborada por
Luiz Marchiotti Fernandes – CRB 10/1160
Biblioteca Setorial do Centro de Ciências Rurais/UFSM

C 2008

Todos os direitos autorais reservados a Adriane Loy Gabriel. A reprodução de partes ou do todo deste trabalho só poderá ser feita com autorização por escrito do autor.

Endereço: caixa postal 40, São Vicente do Sul, RS, 97420-000

Endereço eletrônico: drica.vet@hotmail.com

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

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS, CLÍNICOS E LESÕES VESICAIS
NA INTOXICAÇÃO CRÔNICA ESPONTÂNEA POR *Pteridium aquilinum*
EM BOVINOS**

elaborada por
Adriane Loy Gabriel

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Medicina Veterinária

COMISSÃO EXAMINADORA:

Glaucia Denise Kommers, PhD (UFSM)
(Presidente/Orientadora)

Claudio Severo Lombardo de Barros, PhD (UFSM)

David Driemeier, Dr. (UFRGS)

Santa Maria, 16 de dezembro de 2008

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária
Universidade Federal de Santa Maria

ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS, CLÍNICOS E LESÕES VESICAIS NA INTOXICAÇÃO CRÔNICA ESPONTÂNEA POR *Pteridium aquilinum* EM BOVINOS

AUTORA: ADRIANE LOY GABRIEL

ORIENTADORA: GLAUCIA DENISE KOMMERS

Data e local da defesa: Santa Maria, 16 de dezembro de 2008.

Foram estudados casos espontâneos de intoxicação crônica por samambaia em bovinos nas formas clinicopatológicas de carcinoma de células escamosas (CCE) no trato alimentar superior (TAS) e de hematúria enzoótica bovina (HEB), provenientes da Mesorregião Centro Ocidental do Rio-Grandense e encaminhados ao Laboratório de Patologia Veterinária (LPV) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Para o estudo epidemiológico, foi avaliado o perfil das propriedades quanto à finalidade da criação, principal atividade da propriedade, altitude e área de infestação pela planta. Quanto a esses parâmetros, as propriedades com uma ou outra forma de intoxicação crônica não apresentaram diferenças. Foi determinado o perfil dos bovinos afetados quanto à idade, sexo e raça. Os mais afetados por ambas as formas clínicas foram fêmeas de raça mista (predominante na região). Na HEB houve predomínio de bovinos adultos (três a sete anos) e a forma de CCEs no TAS afetou mais bovinos idosos (mais de oito anos). Para o estudo clínico foram avaliados os sinais clínicos de bovinos com CCEs no TAS e com HEB e realizados hemogramas na fase terminal da doença. Os principais sinais clínicos nos bovinos com CCEs no TAS foram emagrecimento progressivo, atonia ruminal, tosse, disfagia, timpanismo, regurgitação e hematúria, vista em um caso. Nos bovinos com HEB, hematúria foi o principal sinal, observado em todos os casos, seguido de emagrecimento progressivo. No exame hematológico, 33,33% dos bovinos com CCEs no TAS e 66,67% dos bovinos com HEB apresentaram anemia arregenerativa. Alterações no leucograma ocorreram em alguns casos, mas linfopenia foi um achado infrequente em ambas as formas de intoxicação. Para o estudo morfológico, foram avaliadas as bexigas de 46 casos de CCEs no TAS e de 11 casos de HEB. Macroscopicamente, 16/46 bexigas dos casos de CCEs no TAS apresentaram alterações macroscópicas, que foram nódulos vermelhos ou pálidos, hemorragia e papilomas; urina vermelha foi observada em três casos. Nos casos de HEB, os achados macroscópicos vesicais foram nódulos vermelhos, massas neoplásicas focalmente extensas, urina vermelha, papilomas, hemorragias e ruptura de bexiga; pielonefrite e hidronefrose foram observados em poucos casos. Histologicamente, 44/46 (95,65%) bexigas de bovinos com CCEs no TAS apresentaram 22 tipos diferentes de alterações morfológicas, que foram classificadas em alterações neoplásicas (5/22) e alterações não-neoplásicas (17/22), as quais foram divididas em alterações epiteliais não-neoplásicas (6/17), alterações gerais na lâmina própria (6/22) e alterações inflamatórias (5/17). Os achados histológicos das bexigas dos casos de HEB foram classificados da mesma forma, resultando em 19 tipos diferentes de alterações morfológicas. Dessas, 5/19 eram alterações neoplásicas e 14/19, alterações não-neoplásicas (9/14 alterações epiteliais não neoplásicas, 3/14 alterações gerais na lâmina própria e 2/14 alterações inflamatórias). Na HEB, os neoplasmas mesenquimais foram mais observados que os epiteliais, e a maior parte era maligno. A técnica de imuno-histoquímica foi utilizada para caracterizar os aspectos morfológicos, principalmente dos neoplasmas. Através do estudo morfológico concluiu-se que é muito frequente a ocorrência de lesões vesicais em bovinos com a forma crônica de CCEs no TAS e que essas são idênticas às encontradas nos bovinos com HEB.

Palavras-chave: doenças de bovinos; plantas tóxicas; *Pteridium aquilinum*; hematuria enzoótica bovina; carcinoma de células escamosas do trato digestório; patologia veterinária.

ABSTRACT

MS Dissertation
Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária
Universidade Federal de Santa Maria

EPIDEMIOLOGICAL AND CLINICAL ASPECTS AND URINARY BLADDER LESIONS IN SPONTANEOUS CHRONIC POISONING BY *Pteridium aquilinum* IN CATTLE

AUTHOR: ADRIANE LOY GABRIEL
ADVISER: GLAUCIA DENISE KOMMERS
Santa Maria, December 16, 2008

Spontaneous cases of chronic poisoning by *Pteridium aquilinum* in cattle were studied. The clinical forms of the disease were squamous cell carcinoma (SCCs) of the upper digestive tract (UDT) and bovine enzootic hematuria (BEH). The cases were from the midland Region of the Midwest of Rio Grande do Sul State, Brazil. For the epidemiological study, the profile of the farms was analyzed about herd purpose, main activity of the farm, altitude, and area of plant infestation. No differences were observed among the clinical forms, according to these criteria. Analysis of the age, gender, and breed of the affected cattle revealed that, in both clinical forms of disease, mixed breed cows (more common in that region) were more affected. In BEH, adult cattle (3-to-7-years-old) were more frequently affected. In the form of UDT SCCs, aged cattle (more than 8-years-old) were more affected. For the clinical study, clinical signs and blood work were evaluated at terminal phase of disease. Cattle with UDT SCCs, had progressive weight loss, ruminal atony, cough, dysphagia, bloating, and regurgitation. Hematuria was clinically observed in one case of this disease form. In cattle with BEH, hematuria was observed in all cases, followed by progressive weight loss. Non-regenerative anemia was detected in 33.33% in UDT SCCs form and in 66.66% of BEH form. Changes in white blood count occurred in some cases but drop in lymphocytes was uncommon in both forms of disease. For the morphological study, urinary bladders of 46 UDT SCCs cases and 11 BEH cases were analyzed. Grossly, 16/46 bladders of the UDT SCCs form had gross lesions (vesical red or pale nodules, hemorrhages, and papilomas; red urine in the three cases). In BEH form, the bladder had nodules, large neoplastic masses, red urine, papilomas, and hemorrhages. Pielonephritis and hidronephosis were seen in a few cases. Microscopically, in the UDT SCCs form, 44/46 (95.65%) bladders had 22 different types of morphological changes, characterized by neoplastic lesions (5/22) and non-neoplastic lesions (17/22), which were subdivided in non-neoplastic epithelial changes (6/17), general changes of the lamina propria (6/17), and inflammatory changes (5/17). The bladder changes in BEH form were of 19 different types, characterized by neoplastic lesions (5/19) and non-neoplastic lesions (14/19), which were subdivided in non-neoplastic epithelial changes (9/14), general changes of the lamina propria (3/14), and inflammatory changes (2/14). In BEH, mesenchymal neoplasms were more observed than epithelial ones, and most of them were malignant. Immunohistochemistry was utilized to characterize the histogenesis of poorly differentiated neoplasms. In conclusion, the morphological study showed that urinary bladder lesions are very often in cattle with the UDT SCCs form, and were identical to the ones seen in cattle with BEH.

Key-words: diseases of cattle; toxic plants; *Pteridium aquilinum*; bovine enzootic hematuria; squamous cell carcinomas of the digestive system; veterinary pathology.

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1 - Esfregaço sanguíneo; Bovino 76; forma clínica de carcinoma de células escamosas (CCEs) no trato alimentar superior (TAS). Grande quantidade de neutrófilos no esfregaço sanguíneo deste bovino que apresentou leucocitose por neutrofilia. Este mesmo animal estava anêmico e não foram observados sinais indicativos de regeneração medular. Panótico rápido (Obj. 20X) 54
- FIGURA 2 - Hemangioma; bexiga; Bovino 74; forma clínica de carcinoma de células escamosas (CCEs) no trato alimentar superior (TAS). Nódulo vermelho-escuro, único, na mucosa vesical (peça fixada)..... 54
- FIGURA 3 - Hemangiomas; bexiga; Bovino 76; forma clínica de carcinoma de células escamosas (CCEs) no trato alimentar superior (TAS). Nódulos vermelhos, múltiplos e de tamanhos variados e hemorragias multifocais na mucosa. Há urina com sangue na luz vesical. 54
- FIGURA 4 - Hemangiomas; bexiga; Bovino 76; forma clínica de carcinoma de células escamosas (CCEs) no trato alimentar superior (TAS). Magnificação da Figura 3. Nódulos vermelhos de 0,2 e 0,5 cm de diâmetro. 54
- FIGURA 5 - Hemorragia; bexiga; Bovino 73; forma clínica de carcinoma de células escamosas (CCEs) no trato alimentar superior (TAS). Hemorragias leves e multifocais na mucosa vesical..... 55
- FIGURA 6 - Carcinoma de células de transição; bexiga; Bovino 73; forma clínica de carcinoma de células escamosas (CCEs) no trato alimentar superior (TAS). Nódulos discretos, branco-amarelados, múltiplos e de tamanhos variados na mucosa vesical (setas)..... 55
- FIGURA 7 - Papiloma; bexiga; Bovino 67; forma clínica de carcinoma de células escamosas (CCEs) no trato alimentar superior (TAS). Papilomas multifocais na mucosa vesical (peça fixada)..... 55
- FIGURA 8 - Papiloma; bexiga; Bovino 30; forma clínica de carcinoma de células escamosas (CCEs) no trato alimentar superior (TAS). Papiloma na mucosa vesical (peça fixada). 55
- FIGURA 9 - Urina vermelha; bexiga; Bovino 76; forma clínica de carcinoma de células escamosas (CCEs) no trato alimentar superior (TAS). Grande quantidade de urina vermelho-escuro na bexiga. Observam-se também nódulos e hemorragias na mucosa vesical. 56
- FIGURA 10 - Urina vermelha; bexiga; Bovino 73; forma clínica de carcinoma de células escamosas (CCEs) no trato alimentar superior (TAS). Urina vermelho-escuro na bexiga sendo retirada com uma seringa..... 56
- FIGURA 11 - Urina vermelha pós-centrifugação; Bovino 76; forma clínica de carcinoma de células escamosas (CCEs) no trato alimentar superior (TAS). Observa-se grande quantidade de sedimento vermelho-escuro no fundo do tubo de ensaio (microscopicamente esse sedimento corresponde a eritrócitos). Há também marcado avermelhamento do sobrenadante devido à hemólise pelo tempo transcorrido entre morte e coleta. 56

FIGURA 12 - Carcinoma de células escamosas (CCE); trato alimentar superior (TAS); Bovino 40; forma clínica de CCEs no TAS. Úlcera focalmente extensa na orofaringe. Bolo alimentar impactado caudalmente a epiglote.....	57
FIGURA 13 - Carcinoma de células escamosas (CCE); trato alimentar superior (TAS); Bovino 40; forma clínica de CCEs no TAS. Na superfície de corte da orofaringe há uma extensa área de necrose. Observam-se ainda papilomas na orofaringe e pequenas áreas ulceradas na epiglote.	57
FIGURA 14 - Estroma mixóide/carcinoma de células de transição/hemangioma; bexiga; Bovino 40; forma clínica de carcinoma de células escamosas (CCEs) no trato alimentar superior (TAS). Nódulos pálidos e pequenos nódulos vermelhos multifocais na mucosa vesical.	57
FIGURA 15 - Hemangioma; bexiga; Bovino 36; forma clínica de hematúria enzoótica bovina (HEB). Há um nódulo vermelho na mucosa e um coágulo de sangue na luz vesical.	58
FIGURA 16 - Hemangiossarcoma; bexiga; Bovino 68; forma clínica de hematúria enzoótica bovina (HEB). Massa tumoral exofítica de 20 x 28 cm de superfície irregular, branco-amarelada com áreas vermelhas, localizada na região do trígono da bexiga.	58
FIGURA 17 - Carcinoma de células escamosas; bexiga; Bovino 5; forma clínica de hematúria enzoótica bovina (HEB). Massa tumoral exofítica de superfície irregular e amarela que se estende para a luz vesical. Há conteúdo necrótico sobre a massa tumoral e na luz da bexiga.	58
FIGURA 18 - Carcinoma de células de transição; bexiga; Bovino 78; forma clínica de hematúria enzoótica bovina (HEB). Massa tumoral endofítica, com a superfície extensamente ulcerada, recoberta por fibrina, localizada no trígono da bexiga. Há úlceras menores localizadas no corpo da bexiga.	58
FIGURA 19 - Hemangiossarcoma; bexiga; Bovino 63; forma clínica de hematúria enzoótica bovina (HEB). A luz vesical está preenchida por uma massa exofítica amarela e necrótica (peça fixada).	59
FIGURA 20 - Metástase de hemangiossarcoma; linfonodo da cavidade pélvica; Bovino 63; forma clínica de hematúria enzoótica bovina (HEB). Observam-se áreas branco-amareladas extensas que obliteram parcialmente a arquitetura nodal de um linfonodo da cavidade pélvica (peça fixada).	59
FIGURA 21 - Cistite polipóide; bexiga; Bovino 68; forma clínica de hematúria enzoótica bovina (HEB). Há projeções multifocais, alongadas e de consistência gelatinosa na mucosa vesical.	60
FIGURA 22 - Cistite polipóide/hemangiossarcoma; bexiga; Bovino 68; forma clínica de hematúria enzoótica bovina (HEB). Observam-se as mesmas projeções da Figura 21, adjacentes ao hemangiossarcoma (peça fixada).	60
FIGURA 23 - Hidronefrose e hidroureter; bexiga, ureteres e rins; Bovino 68; forma clínica de hematúria enzoótica bovina (HEB). A bexiga está repleta de urina e os ureteres estão acentuada e difusamente dilatados. Note aumento de volume que se projeta por sobre a uretra.	61
FIGURA 24 - Hidronefrose; rim; Bovino 63; forma clínica de hematúria enzoótica bovina (HEB). Os cálices renais estão multifocalmente dilatados.....	61
FIGURA 25 - Hidronefrose; rim; Bovino 78; forma clínica de hematúria enzoótica bovina (HEB). Cálices acentuadamente dilatados com atrofia da região medular renal.	61
FIGURA 26 - Pielonefrite; rim; Bovino 78; forma clínica de hematúria enzoótica bovina (HEB). A cápsula renal está espessada e aderida. Há exsudato purulento sobre a superfície capsular do rim.	62
FIGURA 27 - Pielonefrite; rim; Bovino 78; forma clínica de hematúria enzoótica bovina (HEB). Na superfície capsular observam-se áreas multifocais ou coalescentes branco-amareladas.	62

FIGURA 28 - Pielonefrite/hidronefrose; rim; Bovino 78; forma clínica de hematúria enzoótica bovina (HEB). Ao corte, o rim está repleto de líquido branco-amarelado e turvo (pus). Observam-se áreas branco-amareladas na cortical.....	62
FIGURA 29 - Carcinoma de células de transição; bexiga; Bovino 78; forma clínica de hematúria enzoótica bovina (HEB). Pressionando-se o ureter correspondente ao rim da Figura 28, o líquido turvo fluía, misturando-se ao conteúdo sanguinolento da luz vesical.....	62
FIGURA 30 - Urina vermelha (bexiga)/urina turva (rim); Bovino 78; forma clínica de hematúria enzoótica bovina (HEB). Observa-se a urina vermelha contida na luz vesical e a urina turva contida no rim (com pielonefrite) nos tubos de ensaio.	62
FIGURA 31 - Urina turva pós-centrifugação; Bovino 78; forma clínica de hematúria enzoótica bovina (HEB). Após a centrifugação da urina, observou-se a formação de grande quantidade de sedimento amarelado-acinzentado.	62
FIGURA 32 - Sedimento urinário; Bovino 78; forma clínica de hematúria enzoótica bovina (HEB). Através do exame do sedimento urinário observado na figura 31, evidencia-se grande quantidade de neutrófilos degenerados (indicativo de piúria) e células epiteliais descamadas. Note que algumas células epiteliais são alongadas (setas), um aspecto morfológico típico de células da pelve renal (Obj. 40X).	62
FIGURA 33 - Fibroma; bexiga; Bovino 6; forma clínica de carcinomas de células escamosas (CCEs) no trato alimentar superior (TAS). Há proliferação de células fusiformes em feixes dispostos em várias direções formando um nódulo discreto na lâmina própria delimitado por cápsula delicada. Hematoxilina-eosina (Obj. 4X).	63
FIGURA 34 - Hemangioma cavernoso; bexiga; Bovino 76; forma clínica de carcinomas de células escamosas (CCEs) no trato alimentar superior (TAS). Há proliferação de células endoteliais neoplásicas formando numerosos espaços vasculares repletos de eritrócitos na lâmina própria. Hematoxilina-eosina (Obj. 10X).	63
FIGURA 35 - Hemangioma cavernoso; bexiga; Bovino 76; forma clínica de carcinomas de células escamosas (CCEs) no trato alimentar superior (TAS). Magnificação da Figura 34. Observam-se células endoteliais neoplásicas bem diferenciadas, revestindo os espaços vasculares separados por septos conjuntivos. Hematoxilina-eosina (Obj. 20X).	63
FIGURA 36 - Papiloma; bexiga; Bovino 30; forma clínica de carcinomas de células escamosas (CCEs) no trato alimentar superior (TAS). Papiloma na bexiga. Hematoxilina-eosina. Aspecto submacroscópico.	63
FIGURA 37 - Papiloma; bexiga; Bovino 30; forma clínica de carcinomas de células escamosas (CCEs) no trato alimentar superior (TAS). Proliferação de células epiteliais bem diferenciadas formando projeções arranjadas sobre um delicado estroma fibrovascular. Hematoxilina-eosina (Obj. 4X).	63
FIGURA 38 - Papiloma; bexiga; Bovino 30; forma clínica de carcinomas de células escamosas (CCEs) no trato alimentar superior (TAS). Magnificação de uma das projeções observadas na Figura 37. As células proliferadas são muito semelhantes às células do epitélio de transição (urotélia) normal. Hematoxilina-eosina (Obj. 40X).	63
FIGURA 39 - Hemangiossarcoma; bexiga; Bovino 67; forma clínica de carcinomas de células escamosas (CCEs) no trato alimentar superior (TAS). Proliferação de células endoteliais moderadamente diferenciadas formando projeções para o interior dos vasos neoplásicos. Hematoxilina-eosina (Obj. 20X).	64
FIGURA 40 - Carcinoma de células de transição (CCT) tipo não-papilífero e infiltrativo; bexiga; Bovino 73; forma clínica de carcinomas de células escamosas (CCEs) no trato alimentar superior (TAS). Proliferação de células epiteliais neoplásicas, as quais invadem a lâmina própria subjacente. Há edema acentuado e infiltrado linfoistioplasmocítico na lâmina própria. Hematoxilina-eosina (Obj. 10X).	64

FIGURA 41 - Carcinoma de células de transição (CCT) tipo não-papilífero e infiltrativo; bexiga; Bovino 73; forma clínica de carcinomas de células escamosas (CCEs) no trato alimentar superior (TAS). Magnificação da Figura 40. Células neoplásicas acentuadamente pleomórficas, com núcleos grandes ou pequenos, de formas variadas com um ou dois nucléolos evidentes e citoplasma eosinofílico abundante, às vezes vacuolizado. Hematoxilina-eosina (Obj. 40X).	64
FIGURA 42 - Displasia; bexiga; Bovino 75; forma clínica de carcinomas de células escamosas (CCEs) no trato alimentar superior (TAS). Há aumento do número de camadas e perda da orientação das células uroteliais, com vacuolização citoplasmática em algumas delas e núcleos de tamanhos e padrões de cromatina diferentes. Hematoxilina-eosina (Obj. 20X). 64	64
FIGURA 43 - Bexiga controle; Bovino 95. Epitélio de transição sem alteração, para comparação com as Figuras 42 e 44. Hematoxilina-eosina (Obj. 40X).	64
FIGURA 44 - Vacúolos intraepiteliais; bexiga; Bovino 73; forma clínica de carcinomas de células escamosas (CCEs) no trato alimentar superior (TAS). Há numerosos vacúolos no epitélio de transição. Hematoxilina-eosina (Obj. 40X).	64
FIGURA 45 - Ninhos de Brunn; bexiga; Bovino 62; forma clínica de carcinomas de células escamosas (CCEs) no trato alimentar superior (TAS). Proliferação de células epiteliais formando ninhos na lâmina própria. Hematoxilina-eosina (Obj. 20X).	65
FIGURA 46 - Ninhos de Brunn; bexiga; Bovino 62; forma clínica de carcinomas de células escamosas (CCEs) no trato alimentar superior (TAS). Magnificação da Figura 45. As células epiteliais são muito semelhantes às células do urotélio normal. Hematoxilina-eosina (Obj. 40X).	65
FIGURA 47 - Ninhos de Brunn; bexiga; Bovino 40; forma clínica de carcinomas de células escamosas (CCEs) no trato alimentar superior (TAS). Formação de ninhos de Brunn na lâmina própria. Há edema acentuado e infiltrado inflamatório linfoplasmocítico moderado. Hematoxilina-eosina (Obj. 20X).	65
FIGURA 48 - Hiperplasia; bexiga; Bovino 62; forma clínica de carcinomas de células escamosas (CCEs) no trato alimentar superior (TAS). Observa-se um maior número de camadas de células no epitélio de transição (entre 15-20 camadas). Hematoxilina-eosina (Obj. 20X).	65
FIGURA 49 - Cistite cística; bexiga; Bovino 73; forma clínica de carcinomas de células escamosas (CCEs) no trato alimentar superior (TAS). Proliferação de células epiteliais formando cistos, contendo material amorfo eosinofílico intraluminal. Observam-se ainda ninhos de Brunn na lâmina própria (setas). Hematoxilina-eosina (Obj. 10X).	65
FIGURA 50 - Cistite cística; bexiga; Bovino 40; forma clínica de carcinomas de células escamosas (CCEs) no trato alimentar superior (TAS). A parede do cisto é formada por duas a três camadas de células epiteliais achatadas e contém material eosinofílico amorfo intraluminal. Hematoxilina-eosina (Obj. 40X).	65
FIGURA 51 - Cistite cística; bexiga; Bovino 40; forma clínica de carcinomas de células escamosas (CCEs) no trato alimentar superior (TAS). Os cistos contém material fortemente PAS-positivo intraluminal. Técnica do PAS (Obj. 20X).	66
FIGURA 52 - Dilatação de vasos linfáticos; bexiga; Bovino 74; forma clínica de carcinomas de células escamosas (CCEs) no trato alimentar superior (TAS). Observa-se acentuada dilatação de um vaso linfático na lâmina própria. Hematoxilina-eosina (Obj. 10X).	66
FIGURA 53 - Tumefação de células endoteliais; bexiga; Bovino 22; forma clínica de carcinomas de células escamosas (CCEs) no trato alimentar superior (TAS). As células endoteliais de vasos da lâmina própria estão marcadamente tumefeitas. Hematoxilina-eosina (Obj. 40X).	66

FIGURA 54 - Hemorragia; bexiga; Bovino 76; forma clínica de carcinomas de células escamosas (CCEs) no trato alimentar superior (TAS). Há hemorragia acentuada na lâmina própria. Observa-se diapedese de eritrócitos pelo urotélio. Hematoxilina-eosina (Obj. 20X).	66
FIGURA 55 - Estroma mixóide; bexiga; Bovino 41; forma clínica de carcinomas de células escamosas (CCEs) no trato alimentar superior (TAS). Estroma mixóide azul alciano-positivo observado na lâmina própria da bexiga. Técnica do azul alciano. Aspecto submacroscópico.	66
FIGURA 56 - Estroma mixóide; bexiga; Bovino 41; forma clínica de carcinomas de células escamosas (CCEs) no trato alimentar superior (TAS). Há proliferação de células fusiformes ou estreladas arranjadas frouxamente e envoltas por matriz eosinofílica, formando um nódulo bem delimitado na lâmina própria. Hematoxilina-eosina (Obj. 4X).	67
FIGURA 57 - Estroma mixóide; bexiga; Bovino 41; forma clínica de carcinomas de células escamosas (CCEs) no trato alimentar superior (TAS). A matriz que envolve as células é fortemente azul alciano-positivo. Técnica do azul alciano (Obj. 4X).	67
FIGURA 58 - Infiltrado linfoistioplasmocítico; bexiga; Bovino 62; forma clínica de carcinomas de células escamosas (CCEs) no trato alimentar superior (TAS). Há acentuado infiltrado inflamatório, composto por linfócitos, plasmócitos e histiócitos na lâmina própria. Hematoxilina-eosina (Obj. 20X).	67
FIGURA 59 - Folículos linfóides; bexiga; Bovino 76; forma clínica de carcinomas de células escamosas (CCEs) no trato alimentar superior (TAS). Observam-se agregados de linfócitos, plasmócitos e histiócitos organizados, formando folículos linfóides na lâmina própria. Hematoxilina-eosina (Obj. 20X).	67
FIGURA 60 - Cistite fibrinossuprativa; bexiga; Bovino 74; forma clínica de carcinomas de células escamosas (CCEs) no trato alimentar superior (TAS). Há necrose do epitélio de transição, acúmulo de fibrina, infiltrado neutrofílico acentuado e agregados bacterianos basofílicos intralesionais. Hematoxilina-eosina (Obj. 10X).	67
FIGURA 61 - Hemangioma capilar; bexiga; Bovino 4; forma clínica de hematúria enzoótica bovina (HEB). Proliferação de células endoteliais neoplásicas bem diferenciadas que formam espaços vasculares irregulares, às vezes contendo eritrócitos, separados por um fino estroma conjuntivo. Hematoxilina-eosina (Obj. 4X).	67
FIGURA 62 - Hemangiossarcoma; bexiga; Bovino 64; forma clínica de hematúria enzoótica bovina (HEB). Há proliferação de células endoteliais formando projeções para o interior dos espaços vasculares neoplásicos. As células neoplásicas têm núcleos grandes redondos ou ovais com cromatina periférica e um ou dois nucléolos evidentes e citoplasma eosinofílico com limites citoplasmáticos indistintos. Hematoxilina-eosina (Obj. 40X).	68
FIGURA 63 - Carcinoma de células escamosas; bexiga; Bovino 5; forma clínica de hematúria enzoótica bovina (HEB). Proliferação de ceratinócitos neoplásicos formando ilhas com ceratinização lamelar concêntrica central (pérolas de ceratina). Hematoxilina-eosina (Obj. 20X).	68
FIGURA 64 - Carcinoma de células de transição tipo não-papilífero e infiltrativo; bexiga; Bovino 78; forma clínica de hematúria enzoótica bovina (HEB). Proliferação de células neoplásicas formando ninhos, fitas, cordões e pequenos agregados que invadem a submucosa. Há moderada reação desmoplásica entre as células neoplásicas. Hematoxilina-eosina (Obj. 20X).	68
FIGURA 65 - Carcinoma de células de transição tipo não-papilífero e infiltrativo; bexiga; Bovino 78; forma clínica de hematúria enzoótica bovina (HEB). Observam-se células neoplásicas no interior de um vaso linfático da submucosa. Hematoxilina-eosina (Obj. 20X).	68
FIGURA 66 - Metástase de carcinoma de células de transição tipo não-papilífero e infiltrativo; linfonodo renal; Bovino 78; forma clínica de hematúria enzoótica bovina (HEB).	

Há células epiteliais neoplásicas nos seios trabeculares do linfonodo. As células neoplásicas são acentuadamente pleomórficas e observam-se mitoses. Hematoxilina-eosina (Obj. 40X) .68	
FIGURA 67 - Hemangiossarcoma; bexiga; Bovino 4; forma clínica de hematúria enzoótica bovina (HEB). Proliferação de células endoteliais neoplásicas na lâmina própria formando espaços vasculares contendo poucos eritrócitos e áreas sólidas. Há ainda vacuolização do epitélio de transição. Hematoxilina-eosina (Obj. 10X).....	68
FIGURA 68 - Hemangiossarcoma pouco diferenciado; bexiga; Bovino 63; forma clínica de hematúria enzoótica bovina (HEB). Proliferação de células neoplásicas altamente pleomórficas. Os núcleos têm tamanhos e formatos variados com cromatina frouxa e nucléolos pouco evidentes. O citoplasma é eosinofílico e escasso, com limites citoplasmáticos indistintos. Observa-se uma mitose (seta). Hematoxilina-eosina (Obj. 40X).....	69
FIGURA 69 - Metástase de hemangiossarcoma pouco diferenciado; linfonodo da cavidade pélvica; Bovino 63; forma clínica de hematúria enzoótica bovina (HEB). Proliferação de células neoplásicas nos seios subcapsulares do linfonodo. Hematoxilina-eosina (Obj. 20X). 69	
FIGURA 70 - Vacúolos intraepiteliais; bexiga; Bovino 4; forma clínica de hematúria enzoótica bovina (HEB). Há vacúolos no epitélio de transição. Hematoxilina-eosina (Obj. 40X).....	69
FIGURA 71 - Cistite polipóide; bexiga; Bovino 68; forma clínica de hematúria enzoótica bovina (HEB). Observam-se projeções recobertas por epitélio de transição, com edema acentuado na lâmina própria. Hematoxilina-eosina. Aspecto submacroscópico.....	69
FIGURA 72 - Cistite glandular; bexiga; Bovino 78; forma clínica de hematúria enzoótica bovina (HEB). Proliferação de células epiteliais formando estruturas glandulares na lâmina própria. Hematoxilina-eosina (Obj. 10X).....	69
FIGURA 73 - Cistite glandular; bexiga; Bovino 78; forma clínica de hematúria enzoótica bovina (HEB). Magnificação da Figura 72. As células epiteliais contém no citoplasma vacúolos repletos de um conteúdo fracamente basofílico. Hematoxilina-eosina (Obj. 40X) . 69	
FIGURA 74 - Cistite glandular; bexiga; Bovino 78; forma clínica de hematúria enzoótica bovina (HEB). O material fracamente basofílico, observado no citoplasma das células epiteliais da FIGURA 73, apresenta-se fortemente azul alciano-positivo. Técnica do azul alciano (Obj. 10X).....	70
FIGURA 75 - Cistite glandular; bexiga; Bovino 78; forma clínica de hematúria enzoótica bovina (HEB). O material observado nos vacúolos das células epiteliais proliferadas é fortemente PAS-positivo. Técnica do PAS (Obj. 40X).....	70
FIGURA 76 - Metaplasia escamosa; bexiga; Bovino 78; forma clínica de hematúria enzoótica bovina (HEB). Observa-se a proliferação de células do urotélio, as quais sofrem diferenciação escamosa à medida que se aproximam da luz vesical. Hematoxilina-eosina (Obj. 20X).	70
FIGURA 77 - Pielonefrite; rim; Bovino 78; forma clínica de hematúria enzoótica bovina (HEB). Há acentuado infiltrado neutrofílico na luz tubular e no interstício renal, necrose tubular multifocal, espessamento da cápsula de Bowman e fibrose moderada. Hematoxilina-eosina (Obj. 10X).	70
FIGURA 78 - Pielonefrite; rim; Bovino 78; forma clínica de hematúria enzoótica bovina (HEB). Há infiltrado neutrofílico acentuado na luz tubular e fibrose intersticial. Hematoxilina-eosina (Obj. 20X).	70
FIGURA 79 - Papiloma; bexiga; Bovino 30; forma clínica de carcinomas de células escamosas (CCEs) no trato alimentar superior (TAS). Imuno-histoquímica, anticorpo anti-pancitocerotina bovina. Há forte imunomarcagem das células epiteliais proliferadas. Método da estreptavidina-biotina-peroxidase (Obj. 40X).	70
FIGURA 80 - Carcinoma de células escamosas; bexiga; Bovino 5; forma clínica de hematúria enzoótica bovina (HEB). Imuno-histoquímica, anticorpo anti-pancitocerotina bovina.	

Observa-se forte imunomarcção das células neoplásicas. Método da estreptavidina-biotina-peroxidase (Obj. 20X).....	71
FIGURA 81 - Carcinoma de células de transição tipo não-papilífero e infiltrativo; bexiga; Bovino 40; forma clínica de carcinomas de células escamosas (CCEs) no trato alimentar superior (TAS). Imuno-histoquímica, anticorpo anti-pancitoceratina bovina. Moderada imunomarcção das células epiteliais neoplásicas na lâmina própria. Método da estreptavidina-biotina-peroxidase (Obj. 20X).....	71
FIGURA 82 - Carcinoma de células de transição tipo não-papilífero e infiltrativo; bexiga; Bovino 78; forma clínica de hematúria enzoótica bovina (HEB). Imuno-histoquímica, anticorpo anti-pancitoceratina bovina. Observam-se ninhos, fitas, pequenos agregados e células individuais fortemente imunomarcadas na submucosa. Método da estreptavidina-biotina-peroxidase (Obj. 20X).....	71
FIGURA 83 - Ninhos de Brunn; bexiga; Bovino 40; forma clínica de carcinomas de células escamosas (CCEs) no trato alimentar superior (TAS). Imuno-histoquímica, anticorpo anti-pancitoceratina bovina. Observa-se imunomarcção das células epiteliais dos ninhos de Brunn e do epitélio de revestimento. Método da estreptavidina-biotina-peroxidase (Obj.20X).....	72
FIGURA 84 - Ninhos de Brunn; bexiga; Bovino 40; forma clínica de carcinomas de células escamosas (CCEs) no trato alimentar superior (TAS). Imuno-histoquímica, anticorpo anti-pancitoceratina bovina. Magnificação da Figura 83. Método da estreptavidina-biotina-peroxidase (Obj. 40X).	72
FIGURA 85 - Metaplasia escamosa; bexiga; Bovino 78; forma clínica de hematúria enzoótica bovina (HEB). Imuno-histoquímica, anticorpo anti-pancitoceratina bovina. Observa-se forte imunomarcção das células do urotélio. Método estreptavidina-biotina-peroxidase (Obj. 20X).	72
FIGURA 86 - Cistite glandular; bexiga; Bovino 78; forma clínica de hematúria enzoótica bovina (HEB). Imuno-histoquímica, anticorpo anti-pancitoceratina bovina. Há forte imunomarcção das células epiteliais, com conteúdo intracitoplasmático fortemente azul alciano-positivo. Método da estreptavidina-biotina-peroxidase, contracorado com azul alciano e hematoxilina de Harris (Obj. 10X).	72
FIGURA 87 - Cistite glandular e carcinoma de células de transição (CCT) tipo não-papilífero e infiltrativo; bexiga; Bovino 78; forma clínica de hematúria enzoótica bovina (HEB). Imuno-histoquímica, anticorpo anti-pancitoceratina bovina. Há proliferação de células epiteliais bem diferenciadas formando estruturas semelhantes a glândulas, contendo material azul alciano-positivo intracitoplasmático (cistite glandular). Subjacente, observa-se a proliferação de células epiteliais neoplásicas, formando ninhos que invadem a lâmina própria (CCT). Método da estreptavidina-biotina-peroxidase, contracorado com azul alciano e hematoxilina de Harris (Obj. 20X).....	72
FIGURA 88 - cistite glandular; bexiga; Bovino 78; forma clínica de hematúria enzoótica bovina (HEB). Imuno-histoquímica, anticorpo anti-pancitoceratina bovina. Magnificação da Figura 87. Método da estreptavidina-biotina-peroxidase, contracorado com azul alciano e hematoxilina de Harris (Obj. 40X).....	72
FIGURA 89 - Hemangiossarcoma; bexiga; Bovino 68; forma clínica de hematúria enzoótica bovina (HEB). Imuno-histoquímica, anticorpo anti-vimentina. Observa-se forte imunomarcção das células neoplásicas. Método da estreptavidina-biotina-peroxidase (Obj. 20X).....	73
FIGURA 90 - Hemangiossarcoma; bexiga; Bovino 4; forma clínica de hematúria enzoótica bovina (HEB). Imuno-histoquímica, anticorpo anti-fator de von Willebrand. Há imunomarcção de células endoteliais neoplásicas. Método da estreptavidina-biotina-peroxidase (Obj. 20X).	73

FIGURA 91 - Hemangiossarcoma; bexiga; Bovino 64; forma clínica de hematúria enzoótica bovina (HEB). Imuno-histoquímica, anticorpo anti-fator de von Willebrand. Há forte imunomarcção das células endoteliais neoplásicas. Método da estreptavidina-biotina-peroxidase (Obj. 40X).	73
FIGURA 92 - Hemangiossarcoma pouco diferenciado; bexiga; Bovino 63; forma clínica de hematúria enzoótica bovina (HEB). Imuno-histoquímica, anticorpo anti-fator de von Willebrand. Observa-se imunomarcção de poucas células neoplásicas. Método da estreptavidina-biotina-peroxidase (Obj. 40X).	73

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Classificação histológica das lesões neoplásicas observadas nos casos de hematúria enzoótica bovina (HEB).	51
---	----

LISTA DE ESQUEMAS

ESQUEMA 1 – Classificação das alterações histológicas observadas nas bexigas dos bovinos cronicamente intoxicados por samambaia (*Pteridium aquilinum*). Os critérios utilizados basearam-se em alterações vesicais descritas para humanos (MURPHY et al., 2004) e animais (PEIXOTO et al., 2003; SARDON et al., 2005; CARVALHO et al., 2006). 41

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 – Altitude das propriedades afetadas pelas formas crônicas da intoxicação por samambaia (<i>Pteridium aquilinum</i>).	44
GRÁFICO 2 – Idade dos bovinos afetados pelas formas crônicas da intoxicação por samambaia (<i>Pteridium aquilinum</i>).	44

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 - Achados hematológicos na hematúria enzoótica bovina (HEB).....	26
QUADRO 2 – Número de propriedades e de bovinos avaliados em cada parâmetro estudado.	37

LISTA DE APÊNDICES

APÊNDICE A – Casos de intoxicação crônica por samambaia (<i>P. aquilinum</i>), dados do bovino afetado e parâmetros avaliados.....	93
APÊNDICE B - Hemograma dos bovinos cronicamente intoxicados por samambaia, forma clínica de carcinomas de células escamosas (CCEs) no trato alimentar superior (TAS).....	97
APÊNDICE C - Hemograma dos bovinos cronicamente intoxicados por samambaia, forma clínica de hematúria enzoótica bovina (HEB).....	99
APÊNDICE D – Alterações histopatológicas observadas nas bexigas dos bovinos com carcinomas de células escamosas (CCEs) no trato alimentar superior (TAS).	100
APÊNDICE E – Alterações histopatológicas observadas nas bexigas dos bovinos com hematúria enzoótica bovina (HEB).	104

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	19
2	REVISÃO DE LITERATURA	21
2.1	Considerações gerais sobre <i>Pteridium aquilinum</i>	21
2.2	Formas clinicopatológicas de intoxicação por <i>P. aquilinum</i> em bovinos	21
2.3	Epidemiologia da intoxicação crônica	22
2.4	Alterações clínico-hematológicas na intoxicação crônica	24
2.4.1	Sinais clínicos	24
2.4.2	Aspectos hematológicos	25
2.5	Alterações morfológicas na intoxicação crônica	27
2.5.1	Alterações macroscópicas	27
2.5.2	Alterações histopatológicas	28
2.6	Etiopatogênese na intoxicação crônica	31
2.6.1	Carcinogênese química	31
2.6.2	Infecção pelo papilomavírus bovino tipo 2 (BPV-2)	32
2.6.3	Reprodução experimental	33
2.7	Imuno-histoquímica (IHQ) nos neoplasmas vesicais	36
3	MATERIAIS E MÉTODOS	37
3.1	Casos estudados e parâmetros analisados	37
3.2	Epidemiologia	38
3.3	Aspectos clínico-hematológicos	38
3.4	Aspectos morfológicos	39
3.5	Estudo imuno-histoquímico	40
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
4.1	Resultados	42
4.1.1	Epidemiologia	42
4.1.2	Aspectos clínico-hematológicos	43
4.1.3	Aspectos morfológicos	46
4.1.4	Imuno-histoquímica	53
4.2	Discussão	74
6	CONCLUSÕES	83
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	85

1 INTRODUÇÃO

A samambaia (*Pteridium aquilinum*) é uma planta de grande importância e ampla distribuição que causa diversos quadros clínicos de intoxicação em animais domésticos (TOKARNIA et al., 1979). Em bovinos ela é conhecida por causar três quadros clínicos de intoxicação, um agudo e dois crônicos. As formas crônicas são os carcinomas de células escamosas (CCEs) no trato alimentar superior (TAS; SOUTO et al., 2006a) e a hematúria enzoótica bovina (HEB; SOUTO et al., 2006b). Ambas as formas são responsáveis por grandes perdas econômicas em regiões endêmicas (RIET-CORREA; MEDEIROS, 2001), porém a prevalência dessas formas varia de região para região (TOKARNIA et al., 1969).

A concentração dos princípios tóxicos pode variar dependendo de condições geográficas e ambientais (HIRONO et al., 1973; VILLALOBOS-SALAZAR, 1999) e talvez influenciar na ocorrência de uma ou outra forma crônica de intoxicação (GAVA et al., 2002). A idade dos bovinos, a quantidade de planta ingerida e o tempo de ingestão também estão diretamente relacionados ao tipo de intoxicação observada (DÖBEREINER et al., 1967).

Foi observada a coexistência de lesões das formas crônicas de intoxicação e, nesses casos, a lesão mais acentuada, aquela que finalmente causa o aparecimento dos sinais clínicos mais evidentes, parece determinar o tipo de forma clínica apresentada pelo animal (DÖBEREINER et al., 1967; TOKARNIA et al., 1969).

Nos últimos anos, estudos das formas crônicas de intoxicação espontânea por *P. aquilinum* têm sido realizados no Laboratório de Patologia Veterinária (LPV) da UFSM (SOUTO, 2005; SOUTO et al., 2006b; MASUDA, 2007). Nesses trabalhos sempre foram enfatizadas as alterações características de uma ou de outra forma clínica crônica, porém a sobreposição das formas não foi contemplada nos mesmos, especialmente a avaliação das lesões vesicais nos casos da forma crônica de CCEs no TAS. A forma aguda da intoxicação também tem sido estudada no LPV-UFSM (ANJOS et al., 2008).

Os objetivos gerais deste estudo foram avaliar parâmetros epidemiológicos, clínico-hematológicos e morfológicos das formas crônicas de intoxicação por *P. aquilinum*. Para o estudo epidemiológico foram avaliados aspectos relacionados às propriedades e aos bovinos afetados. Os aspectos clínico-hematológicos foram avaliados pelos sinais clínicos e as alterações hematológicas na fase terminal da doença. Para o estudo morfológico foram estudadas as lesões vesicais observadas em ambas as formas de intoxicação crônica. O

presente trabalho foi realizado a partir de materiais recebidos pelo LPV-UFSM, entre 2003 e 2008.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Considerações gerais sobre *Pteridium aquilinum*

Pteridium aquilinum é uma planta pertencente à família Polypodiaceae, conhecida pelos nomes populares de “samambaia”, “samambaia do campo” ou “pluma” (TOKARNIA et al., 2000). Ela é considerada uma das plantas tóxicas mais importantes em todo o mundo, principalmente devido à sua extensa distribuição e pelos diversos quadros clinicopatológicos que provoca em animais domésticos (TOKARNIA et al., 1979). A ingestão de outras samambaias como *P. revolutum*, encontrada no sul da Ásia, *P. esculentum* e *Cheilanthes sieberi*, encontrada na Austrália, também induz intoxicação crônica com quadro clínico de hematúria enzoótica (NEWMAN et al., 2007).

A samambaia tem por habitat ideal regiões frias e montanhosas, com boa pluviosidade, solos ácidos, bem drenados, porém se adapta em outros ambientes. *P. aquilinum* subesp. *caudatum* var. *arachnoideum* é a única descrita no Brasil (RIET-CORREA et al., 2007), e ocorre principalmente nas regiões montanhosas, desde o sul da Bahia até o Rio Grande do Sul, mas também é invasora nos estados de Amazonas, Acre, Mato Grosso e Pernambuco (TOKARNIA et al., 2000).

2.2 Formas clinicopatológicas de intoxicação por *P. aquilinum* em bovinos

Em bovinos, são descritas três formas clínicas de intoxicação, sendo uma forma aguda chamada de síndrome hemorrágica aguda (SHA) ou diátese hemorrágica (ANJOS et al., 2008) e duas formas de intoxicação crônica que são a hematúria enzoótica bovina (HEB; SOUTO et al., 2006b) e os carcinomas de células escamosas (CCEs) no trato alimentar superior (TAS; SOUTO et al., 2006a).

A SHA acomete principalmente bovinos jovens, com menos de dois anos de idade, que ingerem doses diárias maiores que 10 g/Kg da planta (10 a 30 g/Kg) por algumas semanas a poucos meses (TOKARNIA et al., 1979). Os bovinos afetados apresentam febre, andar

cambaleante, sialorréia, depressão, perda de apetite, emagrecimento, fezes com sangue e/ou coágulos de sangue (BARROS et al., 1987) e hemorragias na pele e mucosas visíveis (TOKARNIA et al., 2000). Macroscopicamente, observam-se hemorragias em todos os órgãos e eventualmente úlceras nas mucosas (TOKARNIA et al., 1979). Através do exame histopatológico, as hemorragias observadas na necropsia são vistas nos mais diversos órgãos e há rarefação do tecido hematopoético na medula óssea (TOKARNIA et al., 1967; ANJOS et al., 2008).

A ênfase das seções que se seguem desta revisão de literatura, com detalhamento da epidemiologia, aspectos clínicopatológicos e etiopatogênese, será nas formas crônicas de intoxicação (HEB e CCEs no TAS) por samambaia em bovinos.

2.3 Epidemiologia da intoxicação crônica

A ocorrência das formas crônicas de intoxicação em bovinos tem como característica comum a infestação dos pastos por *P. aquilinum*. A incidência e a frequência com que as formas da doença ocorrem variam entre as diversas regiões do país (TOKARNIA et al., 1969).

A atividade carcinogênica e a concentração dos princípios tóxicos da planta são influenciadas por diversos fatores, entre eles: condições geográficas e ambientais (HIRONO et al., 1973; VILLALOBOS-SALAZAR, 1999), variedade de *P. aquilinum* (FENWICK, 1988), estágio de crescimento (SMITH et al., 1999) e armazenamento (FRANÇA et al., 2002) da planta. Talvez a ocorrência das diferentes manifestações clínicas esteja ligada a alguns destes fatores (GAVA et al., 2002). Foi demonstrado, através de experimentos em ratos, que *P. aquilinum* proveniente de áreas onde ocorre a HEB, possui atividade carcinogênica mais elevada e concentração maior de ptaquilosídeo do que de áreas onde a HEB não tem sido relatada (SMITH et al. 1988).

A intoxicação ocorre em diversos países do mundo em áreas baixas, situadas a poucos metros acima do nível do mar, e em regiões altas, com até 2.400 metros de altitude (CAMPOS NETO et al., 1975). A HEB tem sido descrita especialmente em locais com altitudes entre 200 a 1.000 metros (FRANÇA et al., 2002). A ocorrência de HEB e de CCEs no TAS, diferentemente da forma aguda, não tem distribuição sazonal, provavelmente devido à progressão crônica da doença (GAVA et al., 2002).

Toda a planta é tóxica (fresca e dessecada como feno) e a brotação é a parte mais tóxica (TOKARNIA et al., 1979). A ingestão de feno contaminado com a planta e a ingestão dos rizomas expostos pela aração também tem causado a intoxicação em animais (TOKARNIA et al., 2000). As condições em que ocorre a intoxicação são várias. A fome é o principal fator que leva os bovinos a ingerirem a samambaia, porém há indícios de que o vício também possa condicionar a ingestão, visto que os animais seguem ingerindo a planta mesmo após cessada a condição que determinou sua ingestão inicial (TOKARNIA et al., 1979). Como condições iniciais estão relacionadas a escassez de alimento causada por superlotação, períodos prolongados de seca (GAVA, 1993), geadas, queimadas (SOUZA; GRAÇA, 1993) e a carência de material fibroso na alimentação (TOKARNIA et al., 2000).

Alguns fatores parecem ter participação em determinar o tipo de intoxicação observada; entre eles, a idade em que os bovinos começam a ingerir *P. aquilinum*, a quantidade consumida e o período de tempo pelo qual ingerem a planta (DÖBEREINER et al., 1967). A HEB afeta principalmente bovinos com idade superior a dois anos (TOKARNIA et al., 2000). Os CCEs no TAS afetam principalmente bovinos de idade mais avançada, com aproximadamente seis anos ou mais (TOKARNIA et al., 2000). Em um estudo de 40 casos espontâneos de CCEs no TAS, a idade dos bovinos variou entre três e 13 anos, com pico aos oito anos (27,5%) (MASUDA, 2007). Quanto à quantidade ingerida, bovinos que consomem menos de 10 g/kg/dia durante um ano ou mais, desenvolvem HEB. As quantidades diárias de samambaia a serem ingeridas capazes de causar o desenvolvimento dos neoplasmas no TAS são ainda menores que as que causam HEB, porém a ingestão se dá por mais tempo (TOKARNIA et al., 2000).

Em ambas as formas crônicas não há predisposição por raça (PAMUKCU et al., 1976; SOUTO, 2005) ou sexo (HOPKINS, 1986), porém, as fêmeas parecem ser mais afetadas devido à maior permanência desses animais na fazenda (CAMPOS NETO et al., 1975). Pela mesma razão, os bois destinados ao trabalho foram também mais afetados por CCEs no TAS (SOUTO, 2005).

A prevalência da doença varia de região para região; a morbidade da HEB pode ser de 10% e a dos neoplasmas no TAS de 3% nas propriedades atingidas. A letalidade nas duas formas é de 100% (GAVA, 1993). No entanto, não se sabe o número exato de animais sob risco, visto que muitos não são enviados para diagnóstico (SOUZA; GRAÇA, 1993).

Em um estudo realizado no estado de Santa Catarina, a forma menos freqüentemente observada foi a HEB e, segundo os autores, esse resultado provavelmente não representa a

situação real, pois muitas vezes os animais vão para o abate logo após a identificação dos sinais clínicos (GAVA et al., 2002).

2.4 Alterações clínico-hematológicas na intoxicação crônica

2.4.1 Sinais clínicos

Ambas as formas crônicas apresentam características clínicas distintas, entretanto, as duas acarretam o emagrecimento progressivo e a morte dos animais afetados (DÖBEREINER et al., 1967).

A HEB é observada em animais adultos e é caracterizada por hematúria e anemia associada a lesões hemorrágicas ou neoplásicas no trato urinário inferior. Os animais afetados geralmente desenvolvem micro-hematúria seguida de macro-hematúria, sendo que, a primeira muitas vezes ocorre antes do aparecimento de lesões macroscopicamente visíveis (MAXIE; NEWMANN, 2007).

Na HEB, os principais sinais clínicos são hematúria intermitente ou contínua, emagrecimento, mucosas pálidas (GAVA, 1993; SOUTO et al., 2006b), e, nas vacas, considerável queda na produção de leite (GAVA, 1993). Sinais clínicos menos freqüentes incluem: incontinência urinária (TOKARNIA et al., 2000), poliúria, disúria (HOPKINS, 1986), debilidade e obstrução do trígono vesical pelos neoplasmas ou da uretra por coágulos de sangue (SCHOTT et al., 2002). Geralmente, não são observadas alterações na temperatura corporal e atividade ruminal, porém a doença progride para severa anemia e caquexia. O volume de sangue perdido pela urina varia de 0,01 a 1,0 litro por dia (DAWRA et al., 1999). Na palpação retal pode-se evidenciar espessamento da parede da bexiga em alguns casos (RADOSTITS et al., 2002).

A HEB apresenta-se algumas vezes com intervalos sem sinais clínicos que podem perdurar por semanas e até meses. A retirada dos bovinos dos campos infestados pela planta e a boa alimentação levam a uma recuperação parcial que ocorre somente nas fases iniciais da doença. Entretanto, esses animais permanecem pouco produtivos e após novas ingestões da planta a hematúria rapidamente recomeça (TOKARNIA et al., 2000). A morte dos animais afetados ocorre meses e até mesmo anos após o início da doença (FRANÇA et al., 2002).

Os CCEs no TAS causam principalmente perturbações de ordem mecânica na ingestão e ruminação dos alimentos e os sinais clínicos dependem da localização das lesões (TOKARNIA et al., 2000). Emagrecimento progressivo, atonia ruminal, tosse, disfagia, regurgitação, halitose, diarreia, timpanismo, apetite seletivo, dispnéia e salivação são freqüentemente observados (SOUTO, 2005). A doença é invariavelmente fatal, com evolução de pelo menos seis meses, podendo chegar até dois a três anos (PLOWRIGHT, 1955).

Foi observada a coexistência de lesões das formas crônicas de intoxicação e, nesses casos, a lesão mais acentuada, aquela que finalmente causa o aparecimento dos sinais clínicos mais evidentes, parece determinar o tipo de forma clínica apresentada pelo animal (DÖBEREINER et al., 1967; TOKARNIA et al., 1969).

2.4.2 Aspectos hematológicos

Os achados hematológicos descritos em bovinos com HEB estão resumidos no Quadro 1.

O perfil hematológico de bovinos com a forma de CCEs no TAS intoxicados espontaneamente por *P. aquilinum* não foi encontrado na literatura consultada para esta revisão.

Sob condições experimentais, bovinos que ingeriram a planta apresentaram rápida queda nos leucócitos polimorfonucleares, resultando, muitas vezes, em morte por septicemia. Com interrupções periódicas na administração da planta, a contagem de neutrófilos praticamente normalizou. Entretanto, a contagem de linfócitos circulantes estava cronicamente deprimida (linfopenia crônica = valores próximos à $2.000/\text{mm}^3$ de sangue) após 34 semanas e permaneceu assim durante todo o experimento (CAMPO et al., 1992; CAMPO et al., 1994). Detalhes deste experimento encontram-se na seção 2.6.3 - Reprodução experimental – desta revisão.

Tipo de intoxicação	Eritrograma	Leucograma	Autores
Espontânea	-Anemia pós-hemorrágica com perda por igual de todos os elementos figurados do sangue.	-Pode ocorrer leucocitose.	LEE et al. (1966)
Espontânea	-Geralmente há anemia normocrômica (devido à perda de sangue) -Diminuição da hemoglobina.	-Redução no número de leucócitos. -Em casos graves há trombocitopenia e leucopenia leve a moderada, com distribuição normal de leucócitos.	ROSENBERGER (1971)
Espontânea	-Redução na contagem total de eritrócitos, hemoglobina e hematócrito (anemia pela perda de sangue pela urina).	-Número total de leucócitos sem alterações. -Linfocitose e neutropenia moderada (devido à condição inflamatória crônica).	SINGH et al. (1973)
Espontânea	-Redução no número de eritrócitos e na hemoglobina (anemia secundária).	-Número total de leucócitos não muda em alguns casos. -Leve leucocitose em alguns. -Leucocitose por neutrofilia (nos bovinos com infecções piogênicas).	PAMUKCU et al. (1976)
Espontânea	-Redução na contagem de eritrócitos, hemoglobina e hematócrito	-Redução no número total de leucócitos.	HOPKINS (1986)
Experimental	-Não informado.	-Linfopenia crônica. -Neutropenia acentuada.	CAMPO et al. (1992)
Espontânea	-Redução na contagem de eritrócitos.	-Redução no número de linfócitos -Aumento dos basófilos, neutrófilos e monócitos.	DAWRA et al. (1999)
Espontânea	-Anemia	-Leucopenia	MARRERO et al. (2001)
Espontânea	-Anemia microcítica (havia diferenças dos bovinos controle em relação ao hematócrito, hemoglobina, número de eritrócitos e volume corpuscular médio [VCM]).	-Não informado.	SÁNCHEZ-VILLALOBOS et al. (2004)
Espontânea	-Redução do hematócrito de alguns bovinos (valor médio permaneceu sem alterações). -Valores médios da concentração de hemoglobina, hematócrito e contagem de eritrócitos sem alterações.	-Valores médios dos leucócitos totais, neutrófilos, eosinófilos e linfócitos sem alterações. -Leucocitose por neutrofilia, linfopenia e eosinofilia em alguns bovinos.	FALBO et al. (2005)

Quadro 1 - Achados hematológicos na hematúria enzoótica bovina (HEB).

2.5 Alterações morfológicas na intoxicação crônica

2.5.1 Alterações macroscópicas

Há uma grande heterogeneidade de lesões inflamatórias, anormalidades epiteliais e alterações neoplásicas em bovinos com HEB. Outra característica interessante é que muitas bexigas examinadas apresentam múltiplas alterações (PEIXOTO et al., 2003; CARVALHO et al., 2006). Em um estudo, de 15 casos naturais de HEB, seis animais apresentaram mais de um tipo de neoplasma na bexiga (CAMPO et al., 1992).

Na mucosa vesical podem-se observar áreas hemorrágicas, na maioria das vezes petéquias (DÖBEREINER et al., 1967), ulcerações multifocais (SOUZA; GRAÇA, 1993) e congestão (TOKARNIA et al., 2000). O aspecto macroscópico das lesões neoplásicas varia grandemente. Observam-se crescimentos exofíticos aderidos na parede vesical por base ampla ou pedunculada, de superfície lisa ou rugosa, pálidos ou hemorrágicos e crescimentos endofíticos, que variam desde discretas ondulações na mucosa com moderada alteração na cor, até grandes massas infiltrativas, ocupando extensas áreas (CARVALHO et al., 2006). A urina é vermelha e, às vezes, apresenta coágulos de sangue (GAVA, 1993). A formação de coágulos de sangue na bexiga pode propiciar a ocorrência de infecções secundárias, levando à cistite e pielonefrite (DAWRA et al., 1999). Em alguns animais pode ocorrer obstrução das vias urinárias com hidronefrose e até ruptura da bexiga, porém este é um achado raramente observado (TOKARNIA et al., 2000).

Na outra forma crônica de intoxicação os principais achados de necropsia são papilomas e CCEs, geralmente em associação, ao longo do TAS (TOKARNIA et al., 1969; JARRETT, 1978; JARRETT et al., 1978; SOUTO et al., 2006a). Papilomas em transformação para CCE também têm sido frequentemente relatados (JARRETT, 1978; JARRETT et al., 1978; SOUTO et al., 2006a). Os CCEs consistem de massas exuberantes, de crescimento exofítico ou endofítico, podendo ser sésseis ou pedunculados, acompanhados ou não por edema e por extensas áreas de ulceração ou de necrose na superfície de corte (SOUTO et al., 2006a; MASUDA, 2007).

Informações detalhadas sobre a frequência da coexistência de lesões das formas crônicas de intoxicação num mesmo animal foram limitadas na literatura consultada (DÖBEREINER et al., 1967; JARRETT et al., 1978; POLACK, 1990; SOUZA; GRAÇA,

1993). Em um estudo de 80 casos espontâneos de CCEs no TAS, foram observados neoplasmas na bexiga de 30% deles (JARRETT et al., 1978). Em outro estudo com 12 casos contendo lesões na bexiga, oito (66,7%) também tiveram lesões no TAS. Entretanto, não foram fornecidos detalhes quanto à natureza das lesões vesicais (POLACK, 1990).

2.5.2 Alterações histopatológicas

Histologicamente, as bexigas podem ser consideradas sem alterações quando a mucosa for formada por três a sete camadas de células do epitélio transicional normal (urotélíio), incluindo as camadas superficial, intermediária e basal (CARVALHO et al., 2006). As células basais são muito pequenas e de formato poliédrico; as da região intermediária são poliédricas ou piriformes e as células da borda luminal são cúbicas, e suas membranas apicais se projetam para o lúmen. A variação no número de camadas de células depende de como estava a bexiga no momento da coleta. Quando o órgão está vazio, a mucosa está relaxada e apresenta-se pregueada com mais camadas de células; quando a bexiga está repleta de urina, as pregas da mucosa se desfazem e a espessura do epitélio se reduz (BANKS, 1992). Subjacentes à mucosa, observam-se a lâmina própria e a submucosa, separadas entre si pela muscular da mucosa. A próxima camada é a muscular própria, formada por uma camada interna de fibras dispostas longitudinalmente e uma externa espessa e circular. Uma serosa recobre o ápice e o corpo; o colo é revestido pela adventícia (BACHA; WOOD, 1990).

As alterações histopatológicas observadas nas bexigas de animais com HEB podem ser divididas em neoplásicas e não-neoplásicas; nessa última incluem-se lesões inflamatórias, hiperplásicas e metaplásicas. É comum a ocorrência simultânea de algumas destas lesões na mesma bexiga e é extremamente difícil ou até impossível estabelecer qual é a principal alteração e a ordem cronológica do surgimento destas lesões (PEIXOTO et al., 2003).

As alterações neoplásicas descritas na HEB podem ser de origem epitelial ou mesenquimal, às vezes com acentuado grau de anaplasia e acompanhados de marcada reação inflamatória linfocitária (TOKARNIA et al., 2000). Em um estudo, 52% dos neoplasmas vesicais encontrados eram malignos, 42% benignos e 6% foram classificados como neoplasmas epiteliais com baixo potencial maligno. Os neoplasmas epiteliais foram mais comuns (62%) que os mesenquimais (38%) (CARVALHO et al., 2006). Outros autores observaram 35% de neoplasmas puramente epiteliais, 9% de neoplasmas mesenquimais e

54% de neoplasmas mistos em casos naturais de HEB (PAMUKCU et al., 1976). A coexistência de neoplasmas com elementos epiteliais e mesenquimais, bem como a concomitância de dois ou mais tumores da mesma origem, no mesmo animal, tornam complicada a tentativa de determinar a frequência com que os neoplasmas ocorrem em bovinos com HEB (PEIXOTO et al., 2003).

Dentre os neoplasmas benignos encontram-se papilomas, hemangiomas (BENTO et al., 1999), papilomas invertidos, adenomas e fibromas (CARVALHO et al., 2006). Os neoplasmas malignos comumente observados são: carcinoma de células de transição, adenocarcinoma, carcinoma de células escamosas, carcinoma *in situ* e hemangiossarcoma (CARVALHO et al., 2006). No entanto, neoplasmas e diferenciações raras também têm sido descritos, tais como carcinoma trabecular com diferenciação em células de Paneth, adenoma e adenocarcinomas mesonefróides, carcinoma em anel de sinete, carcinoma plasmocitóide, carcinoma de células cromóforas e carcinoma transicional tipo em ninho (PEIXOTO et al., 2003).

A diversidade de neoplasmas observados nas bexigas de bovinos com HEB é surpreendente, especialmente quando consideramos a pequena variação na ocorrência de neoplasmas de bexiga nas outras espécies animais (PEIXOTO et al., 2003).

Apesar de muitas vezes serem pouco diferenciados, esses neoplasmas dificilmente causam metástases, e quando essas ocorrem, são geralmente para linfonodos regionais, no peritônio por implantação e mais raramente para outros órgãos (TOKARNIA et al., 2000). A reação imunológica local pode ajudar a impedir essa disseminação. A descoberta das causas dessa “barreira contra metástases” e suas relações com a carcinogênese química induzida pelo ptaquilosídeo podem ser de interesse para estudos futuros (PEIXOTO et al., 2003).

As principais alterações não-neoplásicas descritas na HEB incluem: hiperplasia epitelial, displasia epitelial, ninhos de Brunn, metaplasia glandular, cistite polipóide, estroma mixóide, cistite folicular, cistite cística e cistite glandular. A hiperplasia epitelial é caracterizada pelo aumento no número de camadas de células normais do urotélio, formando ou não ondulações na mucosa (CARVALHO et al., 2006), muitas vezes com descamação celular. A displasia epitelial (PEIXOTO et al., 2003) caracteriza-se pela presença de núcleos grandes, desorientados e agrupados (MURPHY et al., 2004). Os ninhos de Brunn são caracterizados por colunas ou agregados de células do epitélio transicional na lâmina própria (HOPKINS, 1986), com ou sem conexão com a superfície epitelial (CARVALHO et al., 2006). A metaplasia glandular, também chamada de metaplasia intestinal, ocorre pela formação de células epiteliais contendo muco, localizadas tanto na superfície epitelial como

na lâmina própria, lembrando células da mucosa intestinal (MURPHY et al., 2004; CARVALHO et al., 2006). A cistite polipóide caracteriza-se por edema na lâmina própria, formando pregas na mucosa, cobertas por urotélio normal, muitas vezes com infiltrado inflamatório (CARVALHO et al., 2006), podendo exibir áreas de hiperplasia epitelial e estroma mixóide (PEIXOTO et al., 2003). A cistite folicular é assim chamada quando há presença de folículos linfóides na lâmina própria, com ocasional atipia e variações no tamanho do núcleo e coloração das células do epitélio transicional (CARVALHO et al., 2006). A cistite cística caracteriza-se pela formação de cavidades císticas na lâmina própria, revestidas por células do urotélio e a cistite glandular, inicia com a proliferação dos ninhos de Brunns, seguida da obstrução dos poros desses ninhos, formando cistos e estruturas semelhantes a glândulas. As células uroteliais superficiais que revestem esses cistos secretam mucina, a qual comumente se acumula no interior dessas estruturas (MURPHY et al., 2004). Descrevem-se ainda proliferação micropolipóide, cistos intraepiteliais, proliferação vascular, infiltrado linfoplasmocítico, hemorragia, fibrose (PEIXOTO et al., 2003) e ectasia vascular (TOKARNIA et al., 2000).

Na forma de CCEs no TAS, as principais alterações histopatológicas são papilomas, papilomas em transformação e CCEs afetando desde a cavidade oral até a entrada do rúmen (JARRETT et al., 1978; JARRETT, 1978; SOUTO et al., 2006a). Em um estudo de 40 casos, metástases ocorreram em 57,75% dos bovinos afetados (MASUDA, 2007).

Em poucos estudos foram detalhados os tipos histológicos dos neoplasmas que afetaram a bexiga e o TAS simultaneamente. Em um desses estudos, de 21 bovinos com as formas crônicas de intoxicação, três apresentaram sinais clínicos de HEB, mas também tinham CCEs no TAS; de sete bovinos com sinais clínicos de CCEs no TAS, seis tinham proliferações capilares e hemangiomas na bexiga. Nos demais onze casos de bovinos com papilomas e/ou CCEs no TAS, as bexigas não foram remetidas para avaliação (DÖBEREINER et al., 1967). Os autores discutiram seus resultados, encontrando semelhanças com outro estudo de nove casos realizado no estado do Paraná (CURIAL, 1964, apud DÖBEREINER et al., 1967). Em um estudo de 80 casos espontâneos de CCEs no TAS com 30% de neoplasmas também na bexiga, observaram-se hemangiomas (23%), fibromas (4%), carcinomas de células de transição (8%) e adenocarcinomas (1%), considerando que a presença simultânea de mais de um tipo de neoplasma ocorreu ocasionalmente (JARRETT et al., 1978). Em outro estudo retrospectivo, de 18 bovinos com neoplasmas atribuídos à intoxicação crônica por samambaia, três tiveram neoplasmas simultaneamente na bexiga (hemangiomas) e no TAS (CCEs) (SOUZA; GRAÇA, 1993).

2.6 Etiopatogênese na intoxicação crônica

A etiopatogênese da HEB e dos CCEs no TAS de bovinos têm sido alvo de vários estudos de casos espontâneos (DÖBEREINER et al., 1967; TOKARNIA et al., 1969; JARRETT et al., 1978; SOUTO et al., 2006a) ou experimentais (ROSENBERGER, 1971; PAMUKCU et al., 1976; CAMPO et al., 1992; CAMPO et al., 1994). Muitos deles têm buscado o papel de *P. aquilinum* na gênese dos neoplasmas vesicais ou do trato alimentar (DÖBEREINER et al., 1967; TOKARNIA et al., 1969; ROSENBERGER, 1971; PAMUKCU et al., 1976). Por outro lado, vários grupos de pesquisadores têm voltado seus esforços para estudar a participação dos papilomavírus bovinos, particularmente do papilomavírus bovino tipo 2 (BPV-2), encontrado na bexiga, e do papilomavírus bovino tipo 4 (BPV-4), encontrado no TAS, como agentes atuando sinergicamente com os princípios tóxicos de *P. aquilinum* no desenvolvimento de neoplasmas nessas localizações anatômicas (JARRETT, 1978; JARRETT et al., 1978; CAMPO et al., 1992; CAMPO et al., 1994).

2.6.1 Carcinogênese química

A samambaia é a única planta que naturalmente produz neoplasmas em animais (YAMADA et al., 2007). Ela contém princípios tóxicos que reproduzem muitos dos efeitos da radiação, capazes de causar, experimentalmente, alterações neoplásicas como adenocarcinomas intestinais em ratos, adenomas pulmonares em camundongos, neoplasmas vesicais e hematúria em porquinhos-da-Índia (EVANS, 1968). Da mesma forma, causa dano progressivo no tecido hematopoético de bovinos e ovinos, produzindo lesões semelhantes às causadas por radiação ou produtos químicos radiomiméticos (EVANS, 1958). Seus efeitos em longo prazo, testados em várias espécies, são consistentemente radiomiméticos (EVANS, 1968). Seus princípios tóxicos atuam como mutágenos, carcinógenos (FENWICK, 1988) e imunossupressores (MEUTEN, 2002). O ptaquilosídeo (Pt) é considerado a substância mais carcinogênica da samambaia (ALONSO-AMELOT et al., 1999; SHAHIN et al., 1999). Sob condições alcalinas, ele é convertido em uma dienona reativa (APT), a qual causa alterações no DNA das células. Enquanto algumas alterações são reparadas, outras levam a mutações em genes, direcionando a célula até vários estágios de transformação hiperplásica e neoplásica

(SHAHIN et al., 1999). Através da administração intravenosa de APT para ratos, ocorreu a formação de carcinomas de glândula mamária, demonstrando o potencial carcinogênico dessa substância (SHAHIN et al., 1998). Os neoplasmas induzidos no esôfago e na bexiga de bovinos foram associados com os pHs dessas regiões, que são aproximadamente 8,1-8,2 (saliva) e 7,5-8,5 (urina) (FENWICK, 1988). A grande maioria dos neoplasmas observados nas bexigas de bovinos com HEB se localiza na porção ventral e paredes laterais da bexiga, regiões estas, que ficam grande tempo em contato com a urina (NEWMAN et al., 2007).

A quercetina é um flavonóide mutagênico presente em altas concentrações na samambaia (BENISTON et al., 2001). Exerce atividades clastogênica e carcinogênica, mas alguns dos seus efeitos biológicos são considerados benéficos (MUSONDA; CHIPMAN, 1999). Foi demonstrado que existem substâncias carcinogênicas na urina de vacas que ingerem a samambaia (DÖBEREINER et al., 1966). Posteriormente, os dois princípios tóxicos citados anteriormente foram detectados qualitativamente na urina, soro e leite de 19 animais, num grupo de 20 bovinos com HEB (LIOI et al., 2004).

2.6.2 Infecção pelo papilomavírus bovino tipo 2 (BPV-2)

O papilomavírus bovino tipo 2 (BPV-2) é o vírus indutor de fibropapilomas na pele e no canal alimentar (infecção abortiva) nessa espécie animal (LANCASTER, 1979). O BPV-2 têm sido associado aos casos de HEB (CAMPO et al., 1992), e seu papel na gênese dos neoplasmas vesicais permanece alvo de investigação (BORZAQUIELLO et al., 2007).

Alguns autores, através da técnica de hibridização em *Southern blot*, detectaram BPV-2 em 46% dos casos naturais de hematúria e em 69% dos casos experimentais (CAMPO et al., 1992). Posteriormente, foi proposto um mecanismo de interação entre o BPV-2 e a samambaia. O vírus infectaria as células do urotélio e estabeleceria uma infecção abortiva, sem a produção de víriões. Os imunossupressores da samambaia permitiriam a formação de lesões pré-neoplásicas, as quais podem tornar-se malignas pela ação dos carcinógenos químicos da planta (CAMPO, 2002).

Através da técnica de PCR foi detectado o DNA do BPV-2 em 62,5% de casos naturais de HEB, e os fragmentos de bexigas provenientes de animais clinicamente saudáveis de regiões livres de samambaia (grupo controle) foram todos negativos para essa técnica. A observação de DNA viral em bexigas de animais com HEB, reforçam a teoria do

envolvimento do BPV-2 na etiologia dessa doença (WOSIACKI, 2002). Recentemente, o DNA do BPV-2 foi detectado através da técnica de PCR, em 100% de neoplasmas vasculares vesicais em casos de HEB, e também detectaram por imuno-histoquímica as proteínas E5 e E7 nessas células neoplásicas (BORZACCHIELLO et al., 2007). A proteína E5 é a principal oncoproteína transformadora dos papilomavírus e a proteína E7 age em conjunto com as proteínas E5 e E6 na transformação celular (BORZACCHIELLO; ROPERTO, 2008). A alta porcentagem de detecção do BPV-2 nos neoplasmas de origem mesenquimal e a imunomarcagem da oncoproteína E5 nas células neoplásicas (BORZACCHIELLO et al., 2007), somado à ligação demonstrada entre a oncoproteína E5 e o receptor β do fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF β R) nas células epiteliais neoplásicas, sugerem que o vírus possa ter um papel causal nesses processos neoplásicos (BORZACCHIELLO et al., 2007). A observação da expressão das duas oncoproteínas (E5 e E7) na mesma célula endotelial (por imunofluorescência confocal) pode indicar a cooperação dessas duas proteínas na formação de neoplasmas vasculares vesicais (BORZACCHIELLO et al., 2007). Também através da PCR, 68% de neoplasmas de bovinos com HEB e uma amostra de bexiga sem alterações foram positivos para o BPV-2. Pela técnica de imuno-histoquímica, todas as lesões neoplásicas e pré-neoplásicas foram positivas para a proteína E5, a qual não foi imunomarcada nos fragmentos de bexigas sem alterações (controle). A observação do DNA viral nos neoplasmas de diferentes tipos histológicos sugere que não há determinados tipos de neoplasmas associados com o agente viral. A marcação da proteína E5 somente nas amostras com lesões, indica a ligação entre o agente viral e os neoplasmas de bexiga de bovinos provenientes de determinadas áreas geográficas, onde a samambaia está disseminada nos pastos e sugere um possível papel desse vírus nos processos neoplásicos (BALCOS et al., 2008).

2.6.3 Reprodução experimental

Tentativas de reprodução experimental de HEB, muitas vezes desencadearam alterações compatíveis com a forma aguda (SHA) de intoxicação, dependendo da dose e da duração da administração da planta (ROSENBERGER, 1971; PAMUKCU et al., 1976; CAMPO et al., 1992). Isso foi detalhadamente relatado em três experimentos (ROSENBERGER, 1971), sendo que no terceiro deles, foi administrado cerca de 1kg/dia de

feno de samambaia. Uma vaca jovem teve micro-hematúria nove meses após o início do experimento e macro-hematúria sete semanas mais tarde. A dose foi reduzida para 500g por uma semana, depois a administração foi suspensa. A urina permaneceu turva, variando de levemente avermelhada à sanguinolenta. A hematúria continuou com severidade variável por um período de três anos, embora a administração da planta tenha sido suspensa. No abate, o animal apresentou os tumores vesicais típicos de HEB.

Os neoplasmas vesicais observados em casos experimentais foram macroscopicamente e histologicamente idênticos aos vistos em casos espontâneos (PAMUKCU et al., 1976).

Num experimento complexo, com duração de até 13 anos (1979-1992) para alguns bovinos, oito tratamentos foram utilizados numa tentativa de analisar os efeitos de diferentes fatores na gênese dos neoplasmas vesicais (HEB) e dos tumores do trato alimentar. Os bezerros utilizados tinham 3-5 meses, eram filhos de mães livres e eles próprios eram livres de papilomatose e foram mantidos em baias isoladas (CAMPO et al., 1992). Dentre os principais resultados desse estudo resumidamente, constam:

- Grupo 1 (inoculação de BPV-4; seis bovinos): papilomas confinados aos locais de inoculação (língua e palato mole); ausência de lesões vesicais;

- Grupo 2 (inoculação de BPV-4 + azatioprina [imunossupressor]; seis bovinos): severa imunossupressão (diminuição no número de leucócitos totais de 6.700 para 2.200/mm³ de sangue); todos tiveram papilomas no canal alimentar; todos com hemangiomas vesicais; submetidos à eutanásia (em 1981) devido à hematúria contínua;

- Grupo 3 (azatioprina; quatro bovinos): severa imunossupressão (diminuição no número de leucócitos totais de 6.700 para 2.200/mm³ de sangue); todos com hemangiomas vesicais; submetidos à eutanásia (em 1981) devido à hematúria contínua;

- Grupo 4 (controle [sem tratamento]; quatro bovinos): sem alterações;

- Grupo 5 (dieta [à vontade] de samambaia; seis bovinos): neutropenia cíclica acentuada (contagem de neutrófilos retornava ao normal após pausas na administração da planta); linfopenia crônica (valores próximos à 2.000 linfócitos/mm³ de sangue) após 34 semanas; ausência de papilomas no canal alimentar; todos os bovinos tiveram neoplasmas de um ou mais tipos histológicos na bexiga, incluindo hemangiomas, hemangiossarcomas, hemangioendoteliomas, carcinomas de células de transição (CCT) e metástases; três deles submetidos à eutanásia (em 1981) devido à hematúria contínua; demais submetidos à eutanásia entre 1983 e 1990;

- Grupo 6 (inoculação de BPV-4 + dieta [à vontade] de samambaia; seis bovinos): neutropenia cíclica acentuada (contagem de neutrófilos retornava ao normal após pausas na

administração da planta); linfopenia crônica (valores próximos à 2.000 linfócitos/mm³ de sangue) após 34 semanas; todos com papilomas no canal alimentar; cinco bovinos tiveram tumores na bexiga, incluindo pólipos, hemangiomas, hemangiossarcomas, hemangioendoteliomas, carcinomas de células de transição (CCT) com metástases; dois deles submetidos à eutanásia (em 1981) devido à hematúria contínua; três foram submetidos à eutanásia entre 1985 e 1992; um bovino estava vivo ao término do experimento;

- Grupo 7 (quercetina (um dos princípios tóxicos da samambaia; dois bovinos): sem efeito no estado imunológico (contagem de neutrófilos normal); sem sinais de hematúria; não foram necropsiados;

- Grupo 8 (BPV-4 + quercetina; 2 bovinos): sem efeito no estado imunológico (contagem de neutrófilos normal); papilomas confinados aos locais de inoculação (língua e palato mole); sem sinais de hematúria; não foram necropsiados;

Nesse mesmo experimento, o DNA do BPV-2 (epissomal) foi encontrado (por hibridização em *Southern blot*) em neoplasmas de bovinos (dos grupos 2, 5 e 6) que não tinham sido inoculados com BPV algum ou que tinham sido inoculados com BPV-4 e que foram mantidos isolados, sugerindo que o BPV-2 pode persistir num estado latente e ser ativado quando o animal é exposto aos co-carcinógenos da samambaia e a imunossupressores. Na época, não foram encontrados vírus ou antígeno viral nas lesões vesicais, somente o DNA viral. A rota de infecção sugerida para o BPV-2 em bovinos foi a possível propagação a partir de áreas genitais, como tem sido postulado para os papilomavírus humanos (HPVs) em tumores vesicais. Os autores concluíram através desse experimento de longa duração que ambos, vírus e samambaia, estão envolvidos na carcinogênese vesical e que a samambaia realmente contribui para o processo (CAMPO et al., 1992).

Resultados complementares do experimento descrito anteriormente foram publicados posteriormente, com ênfase nos neoplasmas alimentares (CAMPO et al., 1994). Papilomas estavam confinados ao local de inoculação nos bovinos dos grupos 1 e 8, e desapareceram após um ano (semelhantemente ao que ocorre em animais imunocompetentes). Papilomatose acentuada e persistente (sem regressão) foi reproduzida somente nos animais infectados com BPV-4 e imunossuprimidos pela azatioprina (grupo 2) ou pela samambaia (grupo 6; um bovino tinha papilomatose da boca ao rúmen 13 anos pós-inoculação de BPV-4). Papilomas ou carcinomas no TAS não ocorreram nos bovinos tratados somente com samambaia (grupo 5). Carcinomas no TAS e no intestino foram observados somente em dois animais infectados pelo BPV-4 e consumindo samambaia (grupo 6). Um desses bovinos, submetido à eutanásia em 1985, além de papilomas na língua, palato e esôfago, apresentou dois focos de CCE no

esôfago e múltiplos pólipos, adenomas e adenocarcinomas no intestino. O outro bovino submetido à eutanásia em 1989, tinha papilomas e CCEs no esôfago e adenocarcinoma intestinal.

Papilomas removidos três meses pós-infecção continham múltiplas cópias de DNA de BPV-4 episomal. Papilomas de longa duração (da mesma forma que em casos espontâneos), CCEs esofágicos e tumores intestinais dos dois bovinos descritos anteriormente foram negativos para o DNA viral. Os autores concluíram que a imunossupressão é necessária para a persistência e disseminação dos papilomas virais, que os mutágenos da samambaia são responsáveis pela conversão neoplásica (maligna) das células dos papilomas e que a expressão contínua das funções virais não é necessária para a manutenção do estado maligno (papel do BPV-4 na carcinogênese confinado aos estágios iniciais de transformação celular). A proliferação celular induzida pelo BPV-4 proveria um alvo grandemente expandido para os co-carcinógenos da samambaia (CAMPO et al., 1994).

2.7 Imuno-histoquímica (IHQ) nos neoplasmas vesicais

A IHQ é uma técnica amplamente utilizada na classificação de neoplasmas, principalmente nos casos em que não é possível identificar o tipo de célula na coloração de hematoxilina-eosina (HE) (CULLEN et al., 2002). Anticorpos anti-citoceratina e anti-vimentina são frequentemente utilizados, pois permitem a diferenciação entre células epiteliais e mesenquimais (CULLEN et al., 2002). Anticorpos contra o fator de von Willebrand são usados principalmente para distinguir neoplasmas vasculares pouco diferenciados de outros neoplasmas mesenquimais (CERILLI; WICK, 2006).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Casos estudados e parâmetros analisados

Foram estudados casos espontâneos de intoxicação crônica por samambaia (*Pteridium aquilinum*) em bovinos, nas formas clínicas de hematúria enzoótica bovina (HEB) e de carcinoma de células escamosas (CCEs) no trato alimentar superior (TAS), provenientes de propriedades rurais de municípios da Mesorregião Centro Ocidental Rio-Grandense, que incluem Nova Esperança do Sul, Jaguari, Santiago, Mata e Vale Vêneto. Dois casos de HEB, provenientes de Vale Vêneto-RS e de Campo Mourão-PR, foram incluídos somente no estudo morfológico das lesões vesicais. As necropsias foram realizadas pela equipe do Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria (LPV-UFSM) ou amostras de necropsias, feitas por outros veterinários, foram encaminhadas ao LPV no período de Agosto/2003 a Agosto/2008.

Através deste estudo foram avaliados aspectos epidemiológicos, clínico-hematológicos e morfológicos da intoxicação crônica por samambaia. Para cada um dos parâmetros avaliados foram utilizados todos os casos disponíveis que continham elementos necessários para a inclusão no estudo, desta forma cada parâmetro teve um número diferente de bovinos, visando sempre aproveitar o maior número de dados e materiais remetidos ao laboratório, conforme Quadro 2.

	Epidemiologia		Sinais clínicos	Hematologia	Morfologia
CCE	48 propriedades	60 bovinos	30 bovinos	30 bovinos	46 bovinos
HEB	16 propriedades	17 bovinos (8 confirmadas e 9 clínicas)*	18 bovinos (9 confirmadas e 9 clínicas)*	15 bovinos (6 confirmadas e 9 clínicas)*	11 bovinos (todos confirmados)*
Controles	-	-	-	-	10 casos

Quadro 2 – Número de propriedades e de bovinos avaliados em cada parâmetro estudado.

CCE = carcinoma de células escamosas; HEB = hematúria enzoótica bovina. *Incluem-se aqui os casos de HEB confirmados pela necropsia e casos de HEB clínica.

O detalhamento dos casos estudados e os parâmetros avaliados podem ser visualizados no Apêndice A.

3.2 Epidemiologia

Com a finalidade de traçar o perfil das propriedades afetadas pelas diferentes formas clínicas crônicas da intoxicação, foram avaliadas as características de 48 propriedades, totalizando 60 casos de CCEs no TAS, e 16 propriedades com 17 casos de HEB. As informações necessárias foram obtidas através da ficha de encaminhamento do material, remetida pelo veterinário de campo. Os parâmetros avaliados foram: a) finalidade da criação (cria, engorda, subsistência, cria/recria, cria/recria/engorda e recria/engorda); b) principal atividade da propriedade (pecuária e/ou agricultura); c) altitude (abaixo de 200 metros, entre 200 e 400 metros e entre 400 e 800 metros); d) percentual estimado de infestação das áreas de pastoreio por *P. aquilinum*.

Da mesma forma, foi também avaliado o perfil dos animais afetados (60 bovinos com CCEs no TAS, oito com HEB confirmada pela necropsia e nove com hematúria clínica), incluindo informações sobre sexo, raça e idade. Quanto à idade, os bovinos foram classificados em jovens (até dois anos de idade), adultos (de três a sete anos) e idosos (acima de oito anos), conforme havia sido classificada anteriormente (MASUDA, 2007).

Esses parâmetros foram analisados através da formação de tabelas de contingência simples e análise descritiva.

3.3 Aspectos clínico-hematológicos

Foram avaliados os sinais clínicos observados em 30 bovinos com CCEs no TAS (todos com hemograma), em nove bovinos com HEB confirmada pela necropsia (seis destes com hemograma) e nove com HEB clínica (todos com hemograma; consideraram-se aqui nove bovinos provenientes de propriedades com a planta nas áreas de pastoreio que apresentaram hematúria).

Com o objetivo de avaliar o perfil hematológico na fase terminal de ambas as formas clínicas crônicas, foram realizados hemogramas de 30 bovinos com CCEs no TAS, seis com HEB confirmada pela necropsia e nove com HEB clínica. Amostras de sangue, coletadas pelo veterinário responsável durante o atendimento clínico dos animais com suspeita de intoxicação crônica por *Pteridium aquilinum*, foram remetidas e os hemogramas realizados

conforme técnicas convencionais, constituindo-se de: 1) contagem de eritrócitos e leucócitos em câmara de Neubauer utilizando-se líquidos de Hayen e de Türk como diluentes, respectivamente; 2) determinação do hematócrito por centrifugação de microcapilares por cinco minutos a 7.000 rotações por minuto (RPM); 3) determinação do volume corpuscular médio (VCM) por cálculo; e 4) análise de esfregaços corados por panótico rápido para a diferenciação celular e pesquisa de alterações morfológicas nas células. Os valores de referência foram determinados de acordo com Jain, 1986.

No Bovino 78, foi realizado o exame do sedimento da urina. Para isso, a urina foi centrifugada por cinco minutos a 1.500 RPM, o sobrenadante foi desprezado e uma gota do sedimento foi colocada numa lâmina e coberta com lamínula. Após a confecção, a lâmina foi observada em microscópio de luz.

3.4 Aspectos morfológicos

Os bovinos tiveram morte espontânea ou foram submetidos à eutanásia devido à deterioração do quadro clínico. Foi realizada a necropsia e os materiais foram coletados. O detalhamento das lesões do TAS de grande parte dos bovinos incluídos nesta dissertação foi abordado em outros dois estudos (SOUTO, 2005; MASUDA, 2007) e não será repetido.

Para este estudo, foram avaliadas macroscopicamente e histologicamente as bexigas de 11 casos de HEB e de todos os casos de CCEs no TAS nos quais as bexigas com ou sem alterações macroscópicas tenham sido remetidas (46 casos). Bexigas normais de 10 bovinos foram utilizadas como controles. Metástases de neoplasmas vesicais também foram avaliadas. Após a fixação em formol 10%, os materiais foram clivados e encaminhados ao processamento histológico de rotina, sendo emblocados em parafina. Foram encaminhados fragmentos de lesões vesicais macroscopicamente visíveis e dois fragmentos de regiões aleatórias nos casos em que não havia lesão aparente. Cortes de 3µm foram utilizados para as avaliações histológica e histoquímica. Em cortes selecionados, foram realizadas as seguintes técnicas histoquímicas: ácido periódico de Schiff (PAS) e azul alciano (conforme técnicas padrão).

As lesões da bexiga foram classificadas em: a) neoplásicas (epiteliais ou mesenquimais, malignas ou benignas); b) não-neoplásicas (anormalidades epiteliais não-neoplásicas [hiperplasia, displasia, ninhos de Brunn, cistite polipóide, cistite cística, cistite

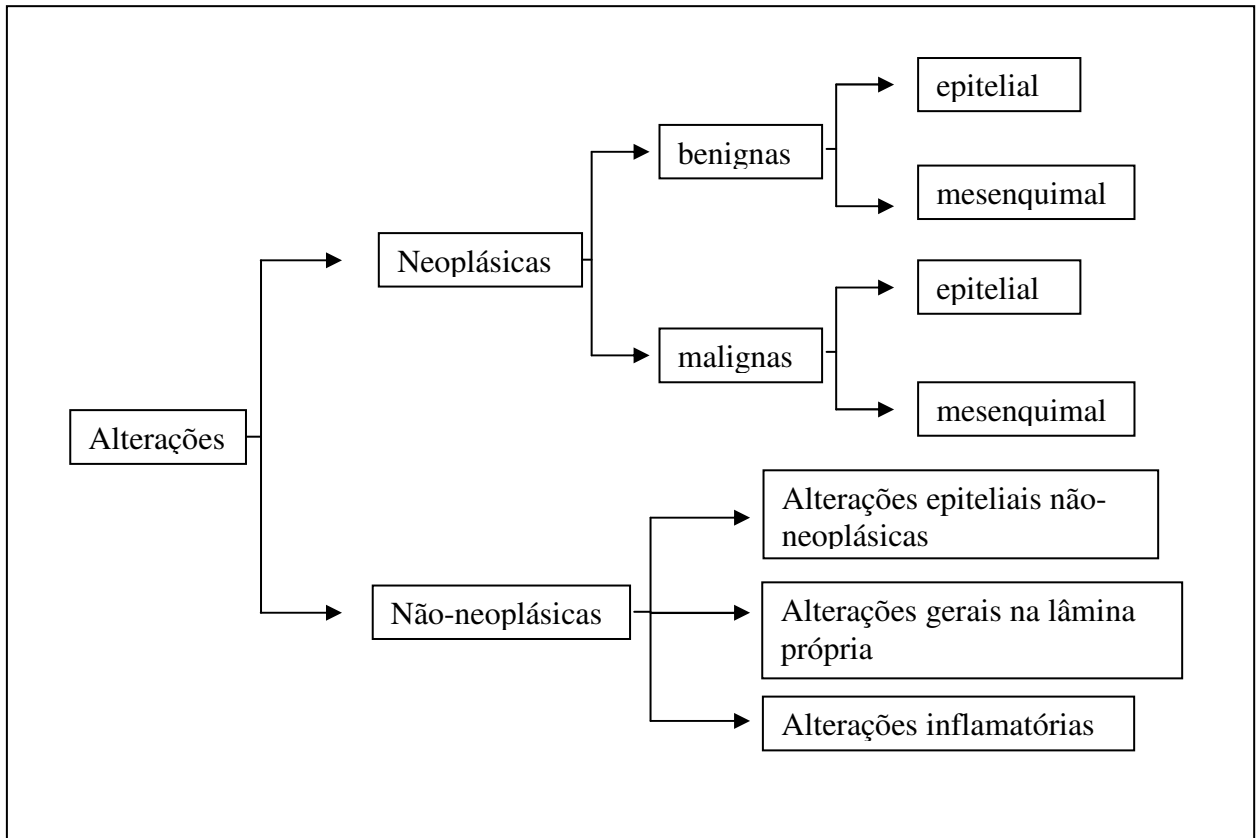
glandular, metaplasia glandular, metaplasia escamosa, vacúolos intraepiteliais], alterações gerais na lâmina própria [dilatação de vasos linfáticos, hemorragia, edema, estroma mixóide, tecido fibrovascular e tumefação de células endoteliais] e somente inflamatórias [infiltrado inflamatório, folículos linfóides, cistite fibrinossupurativa, cistite crônica e aumento leve nos mastócitos na lâmina própria]. Esta classificação foi compilada a partir das descrições de lesões vesicais na HEB (PEIXOTO et al., 2003; SARDON et al., 2005; CARVALHO et al., 2006) e de alterações vesicais em humanos (MURPHY et al., 2004) e está resumida no Esquema 1.

3.5 Estudo imuno-histoquímico

As análises de imuno-histoquímica foram feitas em lâminas silanizadas com seções histológicas de 3µm. Foram utilizados os seguintes anticorpos (Acs) primários: anticorpo policlonal anti-pancitoceratina bovina produzido em coelho (DakoCytomation, cód. Z0622), na diluição 1:4000; anticorpo monoclonal anti-vimentina suína, clone V9 (DakoCytomation, cód. M0725), na diluição 1:100, e anticorpo policlonal anti-fator de von Willebrand humano (DakoCytomation, cód. A0082), na diluição 1:400. Foi utilizada a técnica do complexo estreptavidina-biotina-peroxidase (LSAB Kit Peroxidase Universal, DakoCytomation, cód. K0690).

Após a desparafinização e re-hidratação com banhos de xilóis e álcoois em concentrações decrescentes até água destilada, foi realizado o bloqueio da peroxidase endógena com peróxido de hidrogênio e as seções histológicas foram submetidas à recuperação antigênica, sendo incubadas em solução de TRIS-EDTA (pH 9,0) no forno microondas (800W) em potência máxima por 10 minutos. Os Acs primários diluídos em PBST foram adicionados separadamente nos cortes histológicos e incubados a 37°C por duas horas. O Ac secundário biotilado e o complexo estreptavidina-biotina-peroxidase (DakoCytomation, código K0690) foram incubados consecutivamente à 25°C por 35 minutos e marcados através da adição do cromógeno de tetracloreto de 3-3'diaminobenzidina (DAB, Sigma D-5637). As seções histológicas foram então contra-coradas com hematoxilina de Harris, desidratadas e montadas com resina sintética e lamínulas. Em cortes histológicos selecionados, as seções foram primeiramente contra-coradas com azul alciano para a demonstração de muco, por 20 minutos, antes da utilização da hematoxilina de Harris.

Como controles positivos, foram utilizadas seções histológicas previamente determinadas como positivas para os Acs primários utilizados. Como controles negativos foram utilizadas as mesmas seções histológicas testadas, porém com substituição dos Acs primários por diluente de anticorpo (PBST).



Esquema 1 – Classificação das alterações histológicas observadas nas bexigas dos bovinos cronicamente intoxicados por samambaia (*Pteridium aquilinum*). Os critérios utilizados basearam-se em alterações vesicais descritas para humanos (MURPHY et al., 2004) e animais (PEIXOTO et al., 2003; SARDON et al., 2005; CARVALHO et al., 2006).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Resultados

4.1.1 Epidemiologia

Foram analisadas 48 propriedades com ocorrência de carcinoma de células escamosas (CCE) no trato alimentar superior (TAS), as quais totalizaram 60 casos dessa forma de intoxicação e 16 propriedades com ocorrência de hematúria enzoótica bovina (HEB), com 17 casos. Os resultados obtidos estão descritos abaixo.

4.1.1.1 Perfil das propriedades e dos animais afetados por CCEs no TAS

Quanto à finalidade da criação, 28 (58,33%) propriedades realizavam cria e recria, oito (16,66%) cria/recria/engorda, seis (12,5%) tinham a finalidade de subsistência, cinco (10,41%) de cria e uma (2,08%) fazia somente a engorda dos animais. Em 23 (47,91%) propriedades a pecuária era a principal atividade econômica e em 25 (52,08%) não.

Quanto à altitude, 30 (62,5%) propriedades se localizavam até 200 metros acima do nível do mar, 15 (31,25%) entre 200 e 400 metros e três (6,25%) entre 400 e 800 metros de altitude. A porcentagem da área de pastoreio infestada pela samambaia foi até 30% em todas as propriedades que apresentaram essa forma de intoxicação.

Dos 60 animais que apresentavam CCEs no TAS, 28 (46,66%) eram adultos, com idades entre três e sete anos e 32 (53,33%) eram idosos, com mais de oito anos. Nenhum dos animais afetados era jovem (até dois anos de idade). Com relação ao sexo, 56 (93,33%) eram fêmeas e quatro (6,66%) eram machos. A grande maioria dos animais afetados (55) eram de raça mista (91,66%), três (5,0%) eram da raça Holandesa e dois (3,33%) da raça Jersey.

4.1.1.2 Perfil das propriedades e dos animais afetados por HEB

Com relação à finalidade da criação, cinco (31,25%) propriedades realizavam cria, quatro (25%) cria e recria, quatro (25%) subsistência, duas (12,5%) cria/recria/engorda e uma recria/engorda (6,25%). Nenhuma das 16 propriedades fazia apenas a terminação dos animais. Em oito (50%) propriedades, a pecuária era a atividade principal e em oito (50%) não.

Com relação à altitude, seis (37,5%) estabelecimentos estavam situados em altitude até 200 metros, nove (56,25%) localizadas entre 200-400 metros e um (6,25%) entre 400-800 metros. Nas 16 propriedades estudadas a infestação dos campos por *P. aquilinum* foi estimada como de até 30% da área de pastoreio. A distribuição das propriedades, com CCEs no TAS e com HEB, conforme a altitude encontra-se no Gráfico 1.

Dos 17 bovinos acometidos por HEB, 14 eram adultos (82,35%) e apenas três (17,64%) eram idosos. Nenhum estava na faixa etária considerada jovem. Quanto ao sexo, 15 (88,23%) eram fêmeas e dois (11,76%) eram machos. Com relação à raça, 14 (82,35%) eram de raça mista, dois eram da raça Holandesa (11,76%) e um da raça Jersey (5,88%). A distribuição dos bovinos, com CCEs no TAS e com HEB, conforme a idade encontra-se no Gráfico 2.

4.1.2 Aspectos clínico-hematológicos

4.1.2.1 Sinais clínicos em bovinos com CCEs no TAS

Os sinais clínicos observados nos animais com CCEs no TAS (30 bovinos com hemograma), em ordem decrescente de frequência, foram emagrecimento progressivo (29/30), atonia ruminal (22/30), tosse (20/30), disfagia (18/30), timpanismo (9/30), regurgitação (9/30), estertor (6/30), apetite seletivo (6/30), sialorréia (6/30), anorexia (6/30), extensão do pescoço (5/30), fraqueza (5/30), dificuldade de deglutir (4/30), halitose (3/30), decúbito (2/30), dispnéia (2/30), edema de faringe (2/30), secreção nasal (1/30) e queda na produção de leite (1/30). Frequentemente eram observados grumos de alimento pouco digerido nas fezes. O Bovino 40 apresentou sinais clínicos de ambas as formas crônicas de

intoxicação, caracterizados por emagrecimento progressivo, tosse (incluídos na contagem anterior) e hematúria.

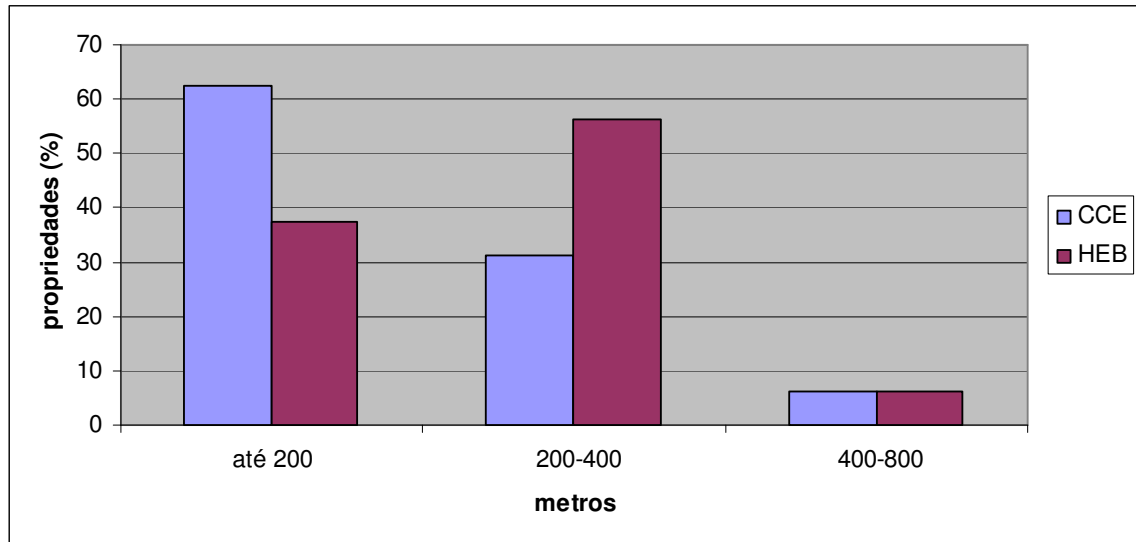


Gráfico 1 – Altitude das propriedades afetadas pelas formas crônicas da intoxicação por samambaia (*Pteridium aquilinum*).

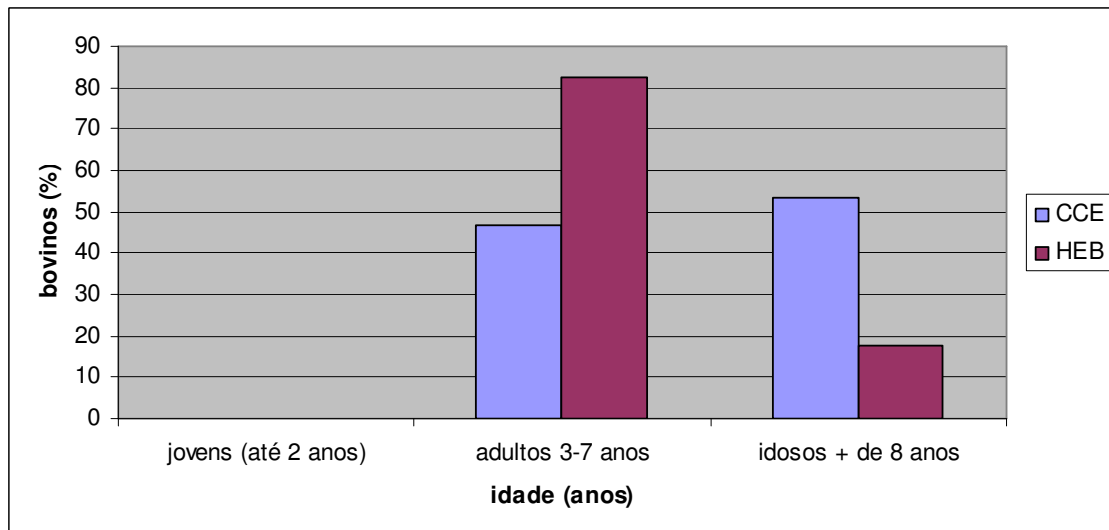


Gráfico 2 – Idade dos bovinos afetados pelas formas crônicas da intoxicação por samambaia (*Pteridium aquilinum*).

4.1.2.2 Sinais clínicos em bovinos com HEB

Os sinais clínicos descritos nos bovinos com HEB confirmada pela necropsia (nove animais) e nos casos clínicos (nove animais) foram, em ordem decrescente de frequência: hematúria (18/18; com o tempo de duração informado em três casos de 40, 90 e 180 dias e intermitente em outro), emagrecimento progressivo (9/18), mucosas pálidas (4/18), apetite seletivo (2/18), anorexia (2/18), decúbito lateral (1/18), dor abdominal (1/18), polaciúria (1/18), prostração (1/18), fraqueza (1/18) e tenesmo (1/18). No Bovino 81 foi detectada, por palpação retal, uma massa no interior da cavidade pélvica.

4.1.2.3 Achados hematológicos em bovinos com CCEs no TAS

Foram realizados 30 hemogramas de bovinos com lesões no TAS. Destes, 20 não apresentaram alterações no eritrograma e 10 apresentaram anemia arregenerativa leve. Nos animais anêmicos, o número de eritrócitos variou de 3,4 a 4,9 x 10⁶/mm³ de sangue (valores de referência - VR: 5,0-10,0 x 10⁶/mm³); o hematócrito de 18-23% (VR: 24-46%) e o VCM variou de 45,2 a 56,2 fl (VR: 40,0-60,0 fl).

Vinte e quatro bovinos não apresentaram alterações no leucograma. Seis apresentaram desvio à esquerda (Figura 1), sendo cinco deles regenerativos e um degenerativo. O Bovino 42 apresentou linfopenia, o Bovino 60 eosinofilia, e o Bovino 77 monocitose concomitantemente ao desvio à esquerda.

Os resultados detalhados e individualizados dos hemogramas dos bovinos com CCEs no TAS podem ser observados no Apêndice B.

4.1.2.4 Achados hematológicos em bovinos com HEB

Foram realizados 15 hemogramas de bovinos com HEB, sendo que em seis destes as lesões vesicais foram confirmadas pela necropsia. Destes 15, cinco não demonstraram alterações no eritrograma e 10 apresentaram anemia arregenerativa. Nos animais anêmicos, o

número de eritrócitos variou de 1,9 a 4,8 x 10⁶/mm³ de sangue (VR: 5,0-10,0 x 10⁶/mm³); o hematócrito de 10-23% (VR: 24-46%) e o VCM de 43,9 a 56,4 fl (VR: 40,0-60,0 fl).

Onze bovinos não demonstraram alterações no leucograma e quatro tiveram alterações, sendo que três tiveram desvio à esquerda regenerativo, dois destes com linfopenia concomitante, e um leucocitose por neutrofilia.

Os resultados detalhados e individualizados dos hemogramas dos bovinos com HEB podem ser observados no Apêndice C.

4.1.3 Aspectos morfológicos

4.1.3.1 Achados macroscópicos em bovinos com CCEs no TAS

De um total de 46 casos de CCEs no TAS em que as bexigas foram avaliadas, 16 (34,78%) apresentavam alterações macroscópicas. Em ordem decrescente de frequência, estas alterações se caracterizavam por nódulos vermelhos e elevados (9/46; Figura 2), que variam de 0,1 a 1,0 cm de diâmetro, na grande maioria múltiplos e distribuídos aleatoriamente pela mucosa vesical (Figuras 3 e 4); hemorragia (6/46; Figura 5), principalmente nas formas de petéquias e sufusões; nódulos pálidos (4/46; Figura 6), com no máximo 0,7 cm de diâmetro; edema (3/46), papilomas (2/46; Figuras 7 e 8) e urina vermelha (2/46; Figuras 9 e 10). Muitas dessas alterações estavam presentes numa mesma bexiga. Nos Bovinos 73 e 76 em que a urina estava vermelha, através da centrifugação, foi possível observar um sedimento vermelho-escuro (microscopicamente correspondente a eritrócitos; Figura 11).

O Bovino 40, que apresentou sinais clínicos das duas formas crônicas da intoxicação, tinha macroscopicamente uma úlcera focalmente extensa na orofaringe (Figura 12), a qual na superfície de corte se apresentava como extensa área de necrose (Figura 13) e numerosos nódulos pálidos de até 0,7 cm de diâmetro na bexiga (Figura 14), alguns com pontos vermelhos na superfície.

4.1.3.2 Achados macroscópicos em bovinos com HEB

Os achados macroscópicos observados no trato urinário dos 11 bovinos com HEB foram: nódulos vesicais multifocais vermelho-escuros ou vermelho-claros (4/11); neoplasmas vesicais focalmente extensos, com alteração da forma normal do órgão (5/11); urina vermelha (4/11); hidronefrose com hidroureter (3/11); papilomas vesicais (2/11); áreas vermelhas multifocais na mucosa vesical (1/11), pielonefrite (1/11) e ruptura da bexiga (1/11).

Os nódulos vermelho-escuros ou vermelho-claros (Figura 15) estavam distribuídos aleatoriamente na mucosa vesical, variando desde 0,1 até 0,8 cm de diâmetro, alguns ulcerados. Os neoplasmas que ocupavam extensas áreas eram formados por crescimentos exofíticos com superfície irregular, branco-amarelada, com ou sem áreas vermelhas (Figuras 16 e 17) ou eram endofíticos, com espessamento da parede da bexiga e superfície extensamente ulcerada recoberta por fibrina (Figura 18). Esses neoplasmas geralmente se localizavam na região do trígono vesical. No Bovino 63 havia uma massa exofítica e necrótica que obliterava toda a luz do órgão (Figura 19) e os linfonodos da cavidade pélvica estavam aumentados, alguns com áreas multifocais firmes branco-amareladas (Figura 20). No Bovino 68 havia numerosas projeções, longas e finas com consistência gelatinosa, agrupadas em áreas multifocais do neoplasma (cistite polipóide; Figuras 21 e 22).

Urina vermelha foi observada na bexiga de quatro bovinos (4, 36, 39 e 78), em dois destes havia coágulos de sangue, alguns aderidos à mucosa vesical (rever Figura 15).

Hidronefrose e hidroureter (Figura 23, 24 e 25) estavam associadas à obstrução dos óstios ureterais ou do início da uretra pelos neoplasmas e foram observados somente nos casos com grandes neoplasmas vesicais. Os papilomas tinham aproximadamente 0,5 cm de diâmetro. As áreas vermelhas multifocais eram constituídas de petéquias e equimoses. No Bovino 78 o rim estava aumentado de tamanho, com a cápsula espessada e aderida (Figura 26). Na superfície capsular havia áreas branco-amareladas, multifocais a coalescentes e irregulares (Figura 27), recobertas por exsudato purulento e fibrina. Ao corte, este rim estava repleto de urina turva (Figura 28). Quando pressionado o ureter correspondente a esse rim, fluía um líquido branco-amarelado e turvo para o interior da bexiga, misturando-se ao conteúdo sanguinolento vesical (Figura 29). A urina contida na bexiga era vermelho-escura com coágulos de sangue, diferente da observada no rim, a qual era turva (Figura 30). No exame da urina encontrada neste rim, após a centrifugação, formou-se um sedimento amarelo-

acinzentado (Figura 31), o qual era formado por uma grande quantidade de neutrófilos degenerados (indicando piúria) em meio a células epiteliais descamadas (Figura 32).

4.1.3.3 Achados histopatológicos em bovinos com CCEs no TAS

Nas bexigas dos 46 bovinos com CCEs no TAS, 44 (95,65%) apresentaram 22 tipos de alterações diferentes. Dessas 22, cinco eram alterações neoplásicas (três neoplasmas benignos e dois malignos) e 17 eram alterações não-neoplásicas. Das alterações não-neoplásicas, seis foram enquadradas em alterações epiteliais não-neoplásicas, seis em alterações gerais na lâmina própria e cinco em alterações somente inflamatórias. O detalhamento dos achados histológicos observados nos bovinos com CCEs no TAS podem ser observados no Apêndice D.

Os neoplasmas benignos observados foram classificados em mesenquimais (um fibroma e quatro hemangiomas) ou epiteliais (papilomas em três bovinos). Dentre os neoplasmas malignos, havia um de origem mesenquimal (hemangiossarcoma no Bovino 67) e um epitelial (carcinoma de células de transição – CCT – nos Bovinos 40 e 73).

O fibroma se caracterizava pela proliferação de células neoplásicas fusiformes, delimitadas por uma cápsula de tecido conjuntivo (Figura 33). As células tinham o citoplasma eosinofílico, com núcleos alongados e cromatina agregada. O pleomorfismo era leve.

Os hemangiomas eram do tipo cavernoso e se caracterizavam pela formação de espaços vasculares irregulares de tamanhos variados (Figura 34), geralmente preenchidos por eritrócitos, delimitados internamente por uma única camada de células endoteliais bem diferenciadas e separados um dos outros por septos de tecido conjuntivo (Figura 35). Os papilomas (Figuras 36 e 37) eram compostos por células epiteliais bem diferenciadas, arranjadas sobre um delicado estroma fibrovascular (Figura 38).

O hemangiossarcoma se caracterizava pela proliferação de células endoteliais neoplásicas, pleomórficas formando espaços vasculares e, algumas vezes com projeções para dentro desses espaços (Figura 39).

O CCT caracterizava-se pela proliferação de células uroteliais neoplásicas pleomórficas, invadindo a lâmina própria (CCT não-papilífero e infiltrativo) (Figuras 40 e 41).

Em três casos houve mais de um tipo de neoplasma; no Bovino 40 observaram-se hemangioma e CCT, no Bovino 67 hemangioma, hemangiossarcoma e papiloma e no caso 73, papiloma e CCT.

As alterações epiteliais não-neoplásicas observadas nas bexigas dos bovinos com CCEs no TAS foram, em ordem decrescente de frequência, displasia (17/46), caracterizada por vacuolização citoplasmática, proliferação e perda da orientação das células nas camadas do urotélio, com núcleos de tamanhos e padrões de cromatina diferentes (Figura 42; ver controle na Figura 43); vacúolos intraepiteliais (10/46), quando havia somente a formação de vacúolos nas células do epitélio de transição (Figura 44); ninhos de Brunn (8/46), formados por células do epitélio de transição, agrupadas em ninhos na lâmina própria, com ou sem ligação com a superfície epitelial (Figuras 45, 46 e 47); hiperplasia (3/46), caracterizada por mais de sete camadas de células epiteliais em áreas focalmente extensas do urotélio (Figura 48; ver controle na Figura 43), cistite cística (2/46), caracterizada pela formação de estruturas císticas na lâmina própria, revestidas por epitélio de transição (Figuras 49 e 50), algumas contendo substância eosinofílica amorfa intraluminal, PAS-positiva (Figura 51) e cistite polipóide (1/46), quando havia edema na lâmina própria, causando a formação de pólipos, cobertos por urotélio normal.

As alterações gerais na lâmina própria foram: dilatação de vasos linfáticos (18/46) (Figura 52), alguns acompanhados de infiltrado inflamatório perivascular; tumefação de células endoteliais (9/46; Figura 53); hemorragia (8/46), caracterizada por acúmulos de eritrócitos na lâmina própria (em cinco casos havia diapedese de eritrócitos pelo urotélio; Figura 54) e em um havia eritrofagocitose e pigmento granular marrom-dourado (hemossiderina) no interior de macrófagos; edema (6/46); estroma mixóide (4/46), quando havia áreas multifocais de tecido conjuntivo frouxo com produção de pequena quantidade de substância amorfa levemente basofílica, azul alciano-positiva (Figuras 55, 56 e 57) e formação focal de tecido fibrovascular (1/46).

As alterações somente inflamatórias foram: infiltrado linfoistioplasmocítico (41/46) (Figura 58); folículos linfóides (16/46) organizados, muitas vezes, ao redor de pequenos vasos (Figura 59); aumento leve nos mastócitos da lâmina própria (5/46); cistite fibrinonecrosupurativa (1/46), quando havia neutrófilos na lâmina própria, necrose multifocal no epitélio de transição e depósitos de fibrina (Figura 60) e cistite histiocítica crônica (1/46), quando o infiltrado inflamatório era composto predominantemente por macrófagos, com tecido conjuntivo fibroso.

Apenas em dois bovinos (18 e 58) não foram observadas alterações histopatológicas vesicais. Em 36 casos, mais de uma alteração microscópica foi observada na bexiga.

4.1.3.4 Achados histopatológicos em bovinos com HEB

Nas bexigas de 11 bovinos com HEB foi observado um total de 19 tipos de alterações, em 10 bovinos foram encontradas alterações múltiplas numa mesma bexiga. Das 19 alterações observadas, cinco eram alterações neoplásicas e 14 eram não-neoplásicas (nove classificadas como alterações epiteliais não-neoplásicas, três como alterações gerais na lâmina própria e duas como alterações somente inflamatórias). O detalhamento dos achados histológicos observados nos bovinos com HEB podem ser observados no Apêndice E.

Dentre os neoplasmas benignos, havia dois de origem epitelial, dois papilomas (Bovinos 43 e 68), e três de origem mesenquimal, todos hemangiomas (Bovinos 4, 36 e 64). Os hemangiomas eram do tipo capilar (Bovino 36; Figura 61), cavernoso (Bovino 64) e dos dois tipos no Bovino 4.

Dentre os neoplasmas malignos, observaram-se três de origem epitelial, dois carcinomas de células escamosas (CCE) nos Bovinos 5 e 65 e um carcinoma de células de transição (CCT) no Bovino 78; e cinco de origem mesenquimal, todos hemangiossarcomas (Bovinos 4, 17, 63, 68 e 64; Figura 62).

Quanto ao comportamento biológico, 38,46% dos neoplasmas eram benignos e 61,53% eram malignos. A classificação histológica das lesões neoplásicas, com a frequência de cada uma, pode ser observada na Tabela 1.

Os CCEs se caracterizavam pela proliferação de ceratinócitos neoplásicos formando ilhas, algumas com ceratinização central (pérolas de ceratina; Figura 63), fitas e cordões. As células eram poliédricas, grandes, com citoplasma eosinofílico, às vezes vacuolizado, núcleo grande, redondo ou oval, com cromatina frouxa e um a dois nucléolos grandes e evidentes. Havia grande quantidade de tecido conjuntivo fibroso (reação desmoplásica) entre as células neoplásicas.

O CCT era do tipo não-papilífero e infiltrativo, formado pela proliferação de células neoplásicas originadas do epitélio de transição. As células neoplásicas eram acentuadamente pleomórficas, formando ninhos, fitas, pequenos agregados e dispostas em células individuais, as quais invadiam a camada muscular própria da bexiga (Figura 64). Havia ilhas de células

neoplásicas no interior de vasos linfáticos (Figura 65), e as mesmas células obliteravam os seios subcapsulares e trabeculares do linfonodo renal (Figura 66). Observavam-se em média três mitoses em campo de grande aumento e áreas de metaplasia escamosa e glandular adjacentes ao neoplasma.

Tabela 1 – Classificação histológica das lesões neoplásicas observadas nos casos de hematúria enzoótica bovina (HEB).

Tipo de neoplasma	Número	Porcentagem (%)
Epiteliais	5	38,46
Benignos		
Papiloma	2	15,38
Malignos		
CCE	2	15,38
CCT	1	7,69
Mesenquimais	8	61,53
Benignos		
Hemangiomas	3	23,07
Malignos		
Hemangiossarcoma	5	38,46
Número total	13	100

CCE = carcinoma de células escamosas; CCT = carcinoma de células de transição.

Os hemangiossarcomas eram formados pela proliferação de células neoplásicas, às vezes originando pequenos espaços vasculares, contendo poucos eritrócitos e áreas sólidas adjacentes (Figura 67). As células eram na maioria fusiformes, com moderada quantidade de citoplasma eosinofílico, núcleos grandes, redondos, alongados ou reniformes, com cromatina frouxa e dois ou três nucléolos grandes e evidentes. O pleomorfismo era moderado ou acentuado e observavam-se uma a três mitoses por campo de grande aumento (CGA). Em dois bovinos (63 e 68), as células neoplásicas eram acentuadamente pleomórficas (Figura 68). Nesses dois casos se fez necessário à utilização da técnica de imuno-histoquímica para a determinação do diagnóstico. Em dois bovinos (63 e 78) havia metástases para linfonodos regionais. No Bovino 63, o tecido linfóide dos linfonodos da cavidade pélvica estava

substituído pelas células neoplásicas (Figura 69). No Bovino 78 os seios subcapsulares e trabeculares do linfonodo renal estavam obliterados pelas células epiteliais neoplásicas, conforme descrito anteriormente.

Em três bovinos havia mais de um tipo de neoplasma, no Bovino 4 e 64 observou-se hemangioma e hemangiossarcoma e no 68, papiloma e hemangiossarcoma. Em apenas um dos casos não houve a formação de neoplasmas (Bovino 39).

A maioria das alterações não-neoplásicas estava relacionada ao epitélio de transição. Esse grupo continha hiperplasia (5/11); displasia (3/11); ninhos de Brunn (6/11); vacúolos intraepiteliais (5/11; Figura 70); cistite polipóide (2/11; Figura 71); cistite cística (2/11); metaplasia glandular (3/11), quando células isoladas ou grupos de células no urotélio e na lâmina própria produziam muco PAS e azul alciano-positivo; cistite glandular (1/11), quando as células referidas anteriormente formavam estruturas semelhantes a glândulas que invadiam a lâmina própria (Figuras 72, 73, 74 e 75); e metaplasia escamosa (1/11), caracterizada pela proliferação de células bem diferenciadas do epitélio de revestimento, as quais sofriam ceratinização à medida que se aproximavam da luz vesical (Figura 76).

As alterações na lâmina própria, observadas nos 11 casos de HEB perfizeram 3/14 alterações não-neoplásicas e foram: dilatação de vasos linfáticos (6/11), associada ou não a infiltrado inflamatório adjacente; hemorragia (6/11), em três bovinos com diapedese de eritrócitos pelo epitélio de transição da bexiga e edema leve a acentuado na lâmina própria (6/11).

Foram observados dois tipos de alterações somente inflamatórias (2/14), as quais foram: formação de folículos linfóides em seis dos casos e infiltrado inflamatório em 10 dos casos estudados. Os folículos linfóides tinham distribuição multifocal na lâmina própria e o infiltrado inflamatório observado era localizado subjacente ao urotélio e composto principalmente por linfócitos, plasmócitos e histiócitos. Em três desses casos havia grande quantidade de neutrófilos em associação com estas células. No Bovino 78 havia ulceração multifocal no urotélio, agregados bacterianos basofílicos multifocais e acentuado infiltrado neutrofílico.

No rim do Bovino 78 observava-se grande quantidade de neutrófilos e agregados bacterianos basofílicos no interior de túbulos, necrose tubular e dilatação tubular multifocal. Em regiões multifocais havia infiltrado neutrofílico no interstício, formando microabscessos (pielonefrite) (Figuras 77 e 78).

4.1.4 Imuno-histoquímica

Os papilomas (Figura 79), CCE (Figura 80) e CCT (Figuras 81 e 82) e as alterações epiteliais não-neoplásicas, como ninhos de Brunn (Figuras 83 e 84), metaplasia escamosa (Figura 85) e cistite glandular (contracorada com azul alciano e hematoxilina de Harris) (Figuras 86, 87 e 88) foram positivos para citoceratina. A vimentina marcou a reação desmoplásica do CCE e CCT e os dois hemangiossarcomas pouco diferenciados (Figura 89), os quais foram submetidos também a citoceratina, obtendo-se resultado negativo nesse anticorpo. Os hemangiomas e hemangiossarcomas (Figuras 90 e 91) foram positivos para o fator de von Willebrand. Nos dois hemangiossarcomas pouco diferenciados, referidos anteriormente, obteve-se imunomarcacão de poucas células neoplásicas através do uso desse anticorpo (Figura 92).

Figura 1 - Esfregaço sanguíneo; Bovino 76; forma clínica de carcinoma de células escamosas (CCEs) no trato alimentar superior (TAS). Grande quantidade de neutrófilos no esfregaço sanguíneo deste bovino que apresentou leucocitose por neutrofilia. Este mesmo animal estava anêmico e não foram observados sinais indicativos de regeneração medular. Panótico rápido (Obj. 20X)

Figura 2 - Hemangioma; bexiga; Bovino 74; forma clínica de carcinoma de células escamosas (CCEs) no trato alimentar superior (TAS). Nódulo vermelho-escuro, único, na mucosa vesical (peça fixada).

Figura 3 - Hemangiomas; bexiga; Bovino 76; forma clínica de carcinoma de células escamosas (CCEs) no trato alimentar superior (TAS). Nódulos vermelhos, múltiplos e de tamanhos variados e hemorragias multifocais na mucosa. Há urina com sangue na luz vesical.

Figura 4 - Hemangiomas; bexiga; Bovino 76; forma clínica de carcinoma de células escamosas (CCEs) no trato alimentar superior (TAS). Magnificação da Figura 3. Nódulos vermelhos de 0,2 e 0,5 cm de diâmetro.

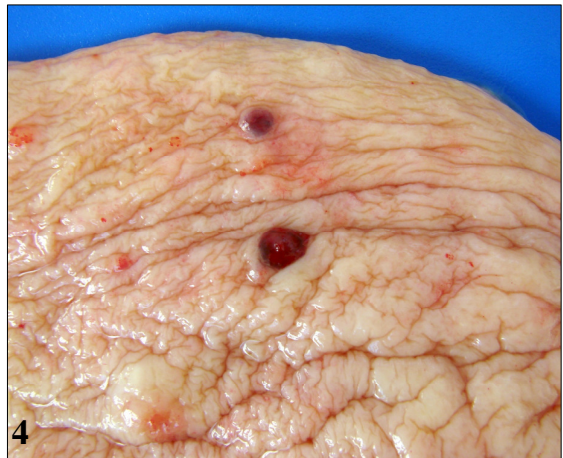
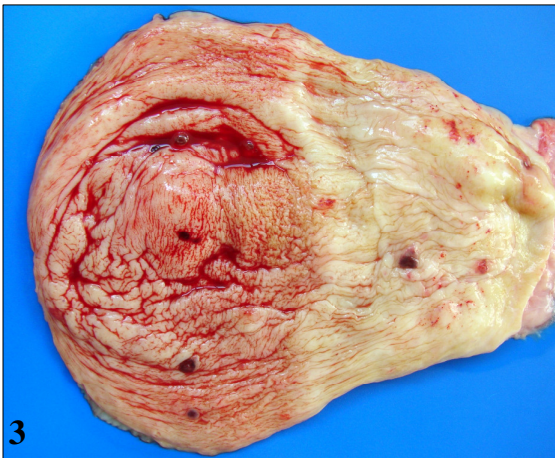
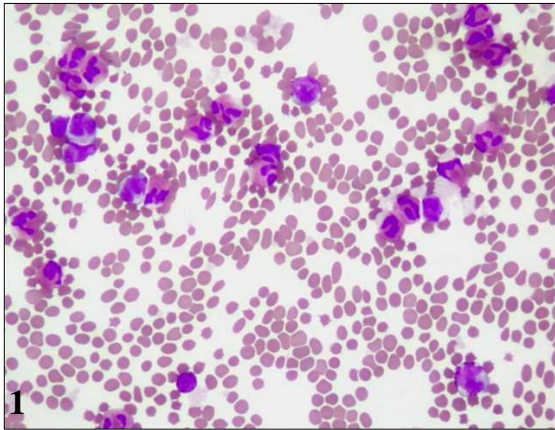


Figura 5 - Hemorragia; bexiga; Bovino 73; forma clínica de carcinoma de células escamosas (CCEs) no trato alimentar superior (TAS). Hemorragias leves e multifocais na mucosa vesical.

Figura 6 - Carcinoma de células de transição; bexiga; Bovino 73; forma clínica de carcinoma de células escamosas (CCEs) no trato alimentar superior (TAS). Nódulos discretos, branco-amarelados, múltiplos e de tamanhos variados na mucosa vesical (setas).

Figura 7 - Papiloma; bexiga; Bovino 67; forma clínica de carcinoma de células escamosas (CCEs) no trato alimentar superior (TAS). Papilomas multifocais na mucosa vesical (peça fixada).

Figura 8 - Papiloma; bexiga; Bovino 30; forma clínica de carcinoma de células escamosas (CCEs) no trato alimentar superior (TAS). Papiloma na mucosa vesical (peça fixada).

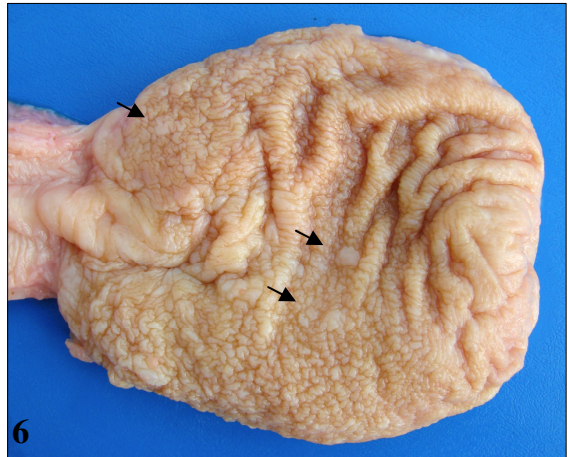
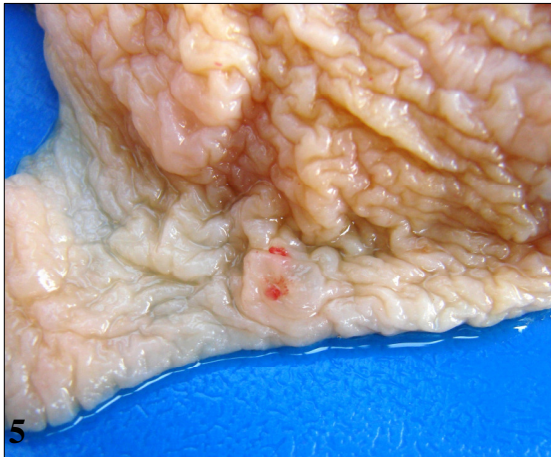


Figura 9 - Urina vermelha; bexiga; Bovino 76; forma clínica de carcinoma de células escamosas (CCEs) no trato alimentar superior (TAS). Grande quantidade de urina vermelho-escura na bexiga. Observam-se também nódulos e hemorragias na mucosa vesical.

Figura 10 - Urina vermelha; bexiga; Bovino 73; forma clínica de carcinoma de células escamosas (CCEs) no trato alimentar superior (TAS). Urina vermelho-escura na bexiga sendo retirada com uma seringa.

Figura 11 - Urina vermelha pós-centrifugação; Bovino 76; forma clínica de carcinoma de células escamosas (CCEs) no trato alimentar superior (TAS). Observa-se grande quantidade de sedimento vermelho-escuro no fundo do tubo de ensaio (microscopicamente esse sedimento corresponde a eritrócitos). Há também marcado avermelhamento do sobrenadante devido à hemólise pelo tempo transcorrido entre morte e coleta.

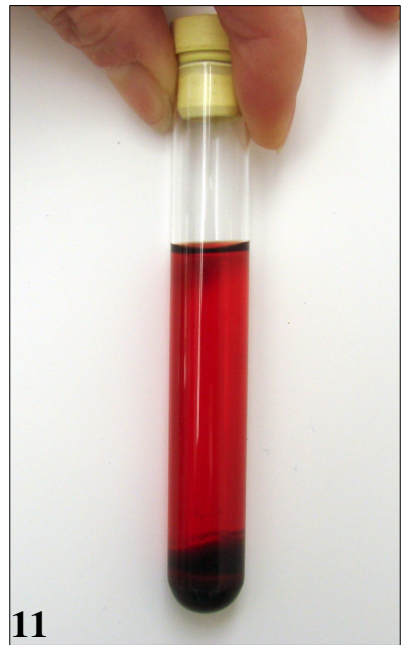
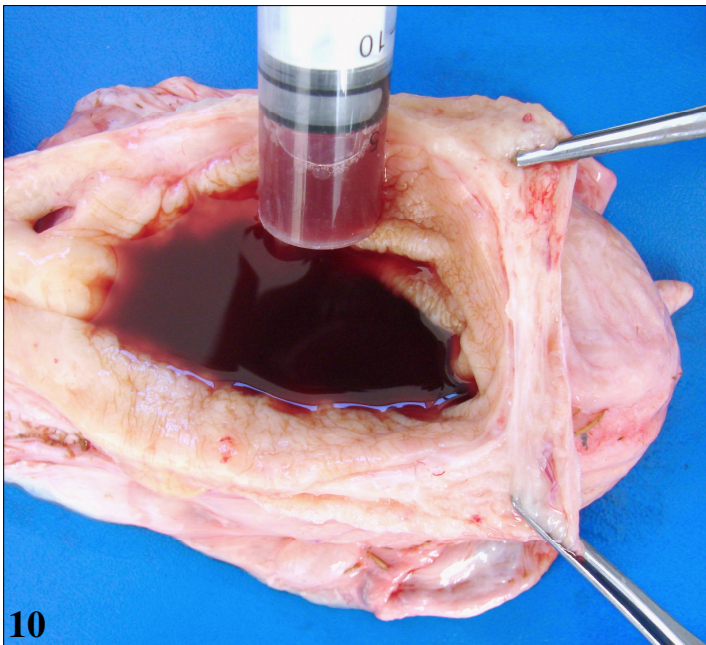
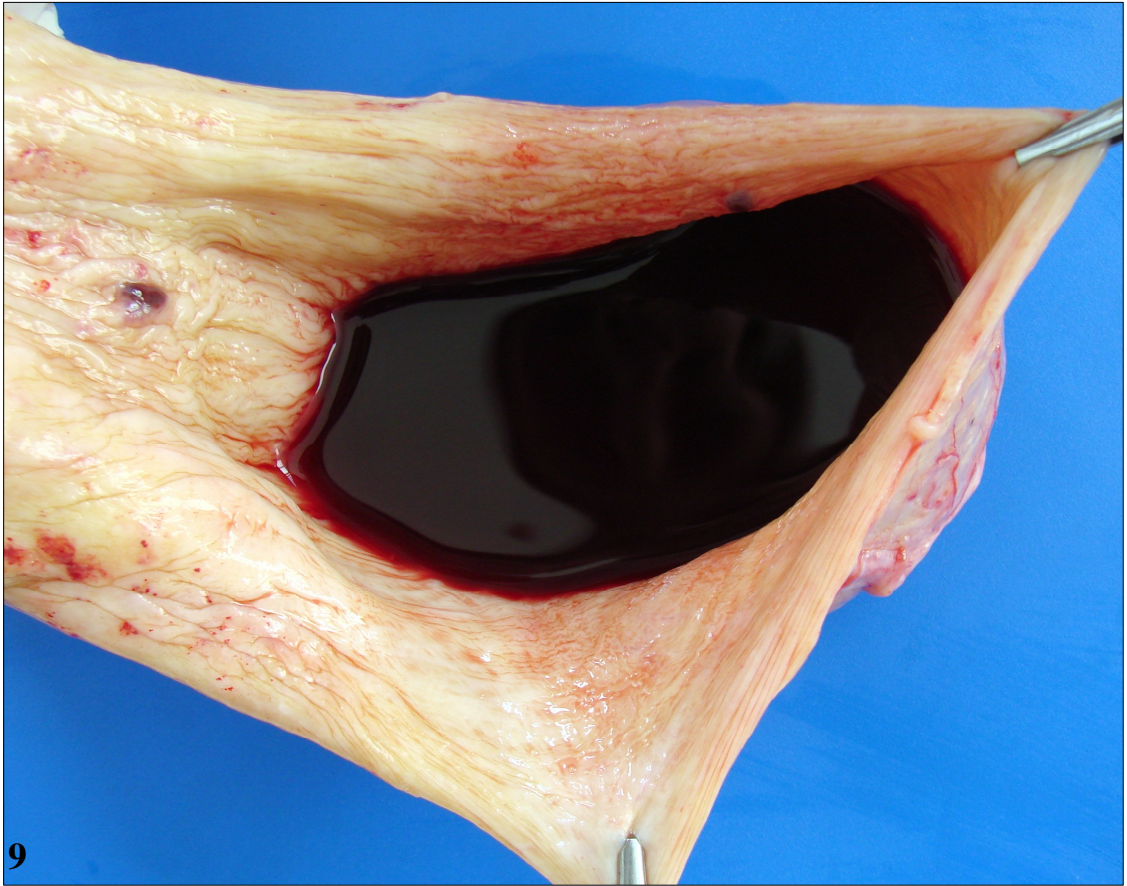


Figura 12 - Carcinoma de células escamosas (CCE); trato alimentar superior (TAS); Bovino 40; forma clínica de CCEs no TAS. Úlcera focalmente extensa na orofaringe. Bolo alimentar impactado caudalmente a epiglote.

Figura 13 - Carcinoma de células escamosas (CCE); trato alimentar superior (TAS); Bovino 40; forma clínica de CCEs no TAS. Na superfície de corte da orofaringe há uma extensa área de necrose. Observam-se ainda papilomas na orofaringe e pequenas áreas ulceradas na epiglote.

Figura 14 - Estroma mixóide/carcinoma de células de transição/hemangioma; bexiga; Bovino 40; forma clínica de carcinoma de células escamosas (CCEs) no trato alimentar superior (TAS). Nódulos pálidos e pequenos nódulos vermelhos multifocais na mucosa vesical.



Figura 15 - Hemangioma; bexiga; Bovino 36; forma clínica de hematúria enzoótica bovina (HEB). Há um nódulo vermelho na mucosa e um coágulo de sangue na luz vesical.

Figura 16 - Hemangiossarcoma; bexiga; Bovino 68; forma clínica de hematúria enzoótica bovina (HEB). Massa tumoral exofítica de 20 x 28 cm de superfície irregular, branco-amarelada com áreas vermelhas, localizada na região do trígono da bexiga.

Figura 17 - Carcinoma de células escamosas; bexiga; Bovino 5; forma clínica de hematúria enzoótica bovina (HEB). Massa tumoral exofítica de superfície irregular e amarela que se estende para a luz vesical. Há conteúdo necrótico sobre a massa tumoral e na luz da bexiga.

Figura 18 - Carcinoma de células de transição; bexiga; Bovino 78; forma clínica de hematúria enzoótica bovina (HEB). Massa tumoral endofítica, com a superfície extensamente ulcerada, recoberta por fibrina, localizada no trígono da bexiga. Há úlceras menores localizadas no corpo da bexiga.

