

**PERFIL SOROLÓGICO EM EQÜINOS INTOXICADOS EXPERIMENTALMENTE  
POR *SENECIO BRASILIENSIS* (COMPOSITAE).  
PARTE I. DHL, AST, FAS e  $\gamma$ GT<sup>1</sup>**

**EQUINE SEROLOGICAL PROFILE IN EXPERIMENTAL *SENECIO BRASILIENSIS*  
(COMPOSITAE) POISONING. PART I. DHL, AST, FAS and  $\gamma$ GT**

**Sonia Terezinha dos Anjos Lopes<sup>2</sup>  
Luis Carlos Ribeiro Fan<sup>3</sup> Celso Pilati<sup>4</sup> Mariza Luchese<sup>5</sup>**

**RESUMO**

As partes aéreas dessecadas de *Senecio brasiliensis*, colhidas no período de brotação, foram administradas a 14 eqüinos de raça mista, com idade de 4 a 22 anos e pesando de 230 a 475kg. A planta era misturada à ração dada aos animais ou moída, misturada em água e administrada por sonda nasogástrica. Colheitas de sangue foram realizadas periodicamente em 14 eqüinos para avaliação da atividade enzimática sérica. Oito cavalos morreram em consequência da intoxicação. Três cavalos morreram por outras causas. Três cavalos sobreviveram sem

apresentar quaisquer sinais clínicos durante o período em que foram observados. Nos oito eqüinos intoxicados, os sinais clínicos tiveram evolução de um a seis dias e caracterizaram-se por anorexia, icterícia e distúrbios neurológicos. Conclui-se que entre as provas laboratoriais usadas a gama-glutamilttransferase e aspartato-aminotransferase apresentaram significado prático melhor na avaliação da função hepática, pois a atividade sérica dessas enzimas estiveram elevadas em todos os eqüinos que desenvolveram a intoxicação por *Senecio brasiliensis*.

**Palavras-chave:** enzimas, intoxicação, *Senecio*, eqüinos.

<sup>1</sup>Parte da Dissertação de Mestrado intitulada Alterações sorológicas em eqüinos intoxicados experimentalmente por *Senecio brasiliensis* (Compositae), apresentada ao Curso de Pós-graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). 97119-900 - Santa Maria, RS.

<sup>2</sup>Médico Veterinário, Mestre, Laboratório Clínico do Hospital de Clínicas Veterinárias da UFSM.

<sup>3</sup>Médico Veterinário, Mestre, Professor Titular do Departamento de Clínica de Pequenos Animais da UFSM.

<sup>4</sup>Médico Veterinário, Mestre, Bolsista do CNPq.

<sup>5</sup>Farmacêutico Bioquímico, Laboratório Central, Hospital Universitário de Santa Maria, UFSM.

## SUMMARY

In experimental studies fourteen crossbred horses with ages between 4 to 22-year-old and weighing from 230 to 475kg were fed with the dried aerial parts of *Senecio brasiliensis* harvested during its sprouting period. The plant was administered to the horses either mixed with the ration or grounded or mixed with water and force fed through a nasoesophagic sound. Blood samples were collected periodically in fourteen horses to evaluate serum biochemical parameters. Eight horses died due to the intoxication whereas three horses died of unrelated diseases. Three horses survived without any clinical signs during the experiment. The clinical disease induced by the plant in the eight intoxicated horses had a course of one to six days and included signs as anorexia, jaundice and neurological disturbance. It is concluded the variation of serum levels of gamma glutamil transferase and aspartate transaminase gave a better picture of the hepatic function since these enzymes were increased only in those horses that were intoxicated by *Senecio brasiliensis* poisoning.

**Key words:** enzyme, poisoned, *Senecio*, horses.

## INTRODUÇÃO

*Senecio brasiliensis* é uma planta tóxica que tem causado grandes prejuízos à pecuária do Rio Grande do Sul (BARROS et al., 1987). Essa planta é uma invasora comum de pastagens e de frequência muito alta na maior parte do Estado; seu princípio ativo são alcalóides pirrolizidínicos (APs), (BULL, 1961) que são substâncias hepatotóxicas, podendo também determinar lesões em outros órgãos como pulmões, intestino e sistema nervoso central (LLOYD, 1957). Nas hepatopatias os níveis enzimáticos aumentam na necrose aguda e na cirrose, podendo ocorrer diminuições nesses níveis em circunstâncias de fibrose hepática (COFFMANN, 1979).

A gama-glutamilttransferase ( $\gamma$ GT) é indicador de colestase e de necrose hepatocelular (GILES, 1983; WEST, 1989), dano hepático agudo e lesão do trato biliar (BLOOD & RADOSTITS, 1989). A hemólise não interfere na atividade da  $\gamma$ GT no cavalo (RICO et al., 1977).

Na intoxicação por *Senecio jacobaea*, em eqüinos, a  $\gamma$ GT foi um indicador precoce de lesão hepática (GILES, 1983). LESSARD et al. (1986) encontraram variações individuais, na concentração séri-

ca, de  $\gamma$ GT entre animais intoxicados experimentalmente por *Senecio vulgaris*. Em pôneis intoxicados com *Senecio jacobaea*, essa enzima mostrou considerável variabilidade (GARRET et al., 1984).

Segundo WEST (1989) a fosfatase alcalina no soro (FAS) tem sido usada como o mais confiável indicador de doença hepatobiliar, particularmente em colestase. Os níveis totais de FAS são a soma de várias isoenzimas encontradas em diversos órgãos como fígado, ossos, placenta, mucosa intestinal e córtex renal (GOLDSTON et al., 1981).

No cavalo os níveis de FAS no plasma são usados como testes de função excretora hepática (BLOOD & RADOSTITS, 1989). Valores significativamente altos podem ocorrer em hepatopatia megalocítica crônica. Em necrose hepática aguda os níveis de FAS são variáveis, podendo ser normais ou significativamente elevados (TENNANT et al., 1973).

Em eqüinos, os níveis de FAS estiveram elevados na fase terminal da intoxicação por *Senecio vulgaris* (QUALLS, 1980). Para o autor este aumento está relacionado com a colestase observada histologicamente. Para LESSARD et al. (1986), medições seriadas de aspartato-aminotransferase (AST), na intoxicação por *Senecio vulgaris* no cavalo, deu melhor indicação da doença hepática confirmada por biópsia. Esta elevação está correlacionada com a severidade da necrose hepatocelular na fase terminal da intoxicação. Resultados similares também foram encontrados por QUALLS (1980).

A desidrogenase láctica (DHL) está presente em muitos tecidos como fígado, músculo cardíaco e esquelético, hemácias, intestino e córtex renal (COFFMANN, 1979).

Segundo QUALLS (1980) e LESSARD et al. (1986) a DHL aumenta nos estágios finais da intoxicação por alcalóides pirrolizidínicos em cavalos, sendo este aumento um indicador de prognóstico grave.

O objetivo do presente experimento foi determinar experimentalmente o valor dos vários testes enzimáticos capazes de contribuir como auxílio diagnóstico na intoxicação por planta do gênero *Senecio* e o reconhecimento precoce dos efeitos hepatotóxicos da planta.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 14 eqüinos de diferentes idades e ambos os sexos. A quantidade da planta administrada e os métodos de administração encontram-se resumidos na Tabela 1.

Os 10cm superiores da planta em brotação,

foram colhidos no município de Santa Maria, RS, em junho e julho de 1988; após a colheita, foi secada à sombra e após estocada em local arejado, à temperatura ambiente.

A relação do peso entre a planta verde e a planta dissecada foi de 5:1. As administrações em todos os experimentos foram feitas com a planta em estado seco. Porém, todos os dados de quantidade de planta mencionado neste estudo, referem-se ao correspondente em planta verde.

Dez mililitros de sangue de cada animal foram retirados por punção da jugular, antes do início da administração da planta e por vários períodos após o início do experimento. O soro foi separado a 3000rpm por 15 minutos e a prova do DHL foi realizada imediatamente, sendo que para determinação da AST, FAS e  $\gamma$ GT o soro foi armazenado e mantido no congelador por um período inferior a 40 dias. Foram usados Kits Labtest<sup>a</sup> para AST, FAS e DHL e as absorbâncias determinadas no Spectronic 21<sup>b</sup>. A  $\gamma$ GT foi realizada pelo método colorimétrico Monotest<sup>c</sup>. A extinção da enzima foi determinada no Spectronic 2100 Clinical Analyser<sup>d</sup> na temperatura de 25°C.

Animais que morreram foram necropsiados imediatamente após o óbito, sendo colhidas amostras de vários órgãos para exames histopatológicos rotineiros.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 2. Os valores usados como referência estão expressos na Tabela 3. O equino 09 morreu três dias após a administração da planta, sendo realizada somente a colheita pré-experimento.

A DHL não mostrou ser uma enzima fidedigna em relação à  $\gamma$ GT, nos resultados deste experimento, porque ocorreram muitas variações, inclusive

Tabela 1. Alterações sorológicas em equinos intoxicados experimentalmente por *Senecio brasiliensis* (Compositae). Dados dos animais que receberam a planta, quantidade e modo de administração da planta.

Equino (nº)	Idade (anos)	Sexo	Peso (kg)	Administração da Planta*				
				Quantidade diária (g/kg)	Número	Método	Total (g)	Porcentagem total em relação ao peso vivo animal (%)
01	17	MC	280	5,0000	1	MR	1,400	0,50
02	20	F	230	0,3125 x 7**	43	MR	21,530	9,30
03	11	MC	320	0,3125	284	MR	28,500	8,90
04	14	MC	337	0,6250	240	MR	52,160	15,00
05	16	mc	280	10,0000	1	SNE	2,800	1,00
06	13	MC	274	0,6250 x 7**	17	SNE	21,999	7,42
07	04	F	255	1,2500	82	MR e SNE	24,173	9,63
08	22	F	348	5,0000	30	SNE	52,200	15,00
09	17	F	390	8,7500	1	SNE	3,412	0,87
10	12	MC	435	1,2500 x 7**	2	SNE	7,394	1,74
11***	19	MC	290	10,0000	3	SNE	8,450	3,00
12	12	MC	354	2,5000	60	MR	53,000	15,00
13	13	MC	475	15,0000	1	SNE	7,125	1,50
14	15	F	355	5,0000	7	SNE	11,725	3,50

\* A planta foi administrada em estado seco, porém os valores referem-se ao correspondente em planta verde. 1g de planta seca corresponde a 5g de planta verde;

\*\* Nesses animais as doses diárias eram multiplicadas por 7 e administradas uma vez por semana;

\*\*\* Recebeu as três administrações da planta nas seguintes datas: 08.02.89; 10.03.89 e 24.03.89;

MC = macho castrado; F = fêmea; MR = misturada à ração; SNE = administrada por sonda nasoesofágica.

nos animais que não desenvolveram a doença. Suspeita-se que esse aumento (nos animais 02, 04, 05, 08 e 12) seja de origem extrahepático, uma vez que esta enzima não é específica de fígado (COFFMANN, 1979). Os equinos 03, 10, 11, 13 e 14 desenvolveram a intoxicação e morreram apresentando acentuado aumento na fase terminal da concentração sérica do DHL (Tabela 2). Este aumento está relacionado com a necrose hepática encontrada nos exames histológicos, achados semelhantes aos encontrados por QUALLS (1980) e LESSARD et al. (1986) na intoxicação experimental por *Senecio vulgaris*. Os equinos 06 e 07 apresentaram discreto aumento nos níveis séricos de DHL, fato esse atribuído à moderada necrose, pequena fibrose e leve estase biliar constatadas pelos exames histológicos do fígado.

O acentuado aumento na atividade sérica da aspartato-aminotransferase (AST) na fase terminal, nos

eqüinos 03, 06, 07, 10, 11, 13 e 14 pode ser atribuído à necrose hepática encontrada nesses animais. Esses achados são semelhantes aos encontrados por QUALLS (1980). A grande elevação da DHL e AST que ocorreu na fase terminal pode ter sido devido a lise dos eritrócitos. Estas células contêm consideráveis quantidades de DHL e AST (COFFMANN, 1979), sendo possível que os eqüinos 10, 11, 13 e 14, os quais apresentaram acentuado aumento dessas enzimas na fase terminal, tenham desenvolvido hemólise intravascular, achado freqüente em eqüinos com insuficiência hepática (TENNANT et al., 1973). Os eqüinos 06 e 07 apresentaram pequena elevação nos níveis de DHL e AST. Esses animais desenvolveram hemoglobinúria, confirmando a possibilidade de ter ocorrido hemólise intravascular.

A elevação nos níveis séricos da da  $\gamma$ GT foi observada nos sete eqüinos que desenvolveram intoxicação (Tabela 2), confirmada pela necropsia e estudo em microscopia. Essa foi a enzima que apresentou valores séricos mais constantes sempre que ultrapassou os limites normais (Tabela 3). Esses níveis permaneceram elevados até a morte do animal. Resultados similares foram encontrados por GILES (1983) na intoxicação experimental com *Senecio jacobaea* em eqüinos e LESSARD et al. (1986) na intoxicação com *Senecio vulgaris*. O aumento na  $\gamma$ GT encontrado no presente experimento não foi devido à hemólise, visto que RICO et al. (1977) não encontraram interferência da hemólise na atividade dessa enzima no cavalo. Esse aumento na concentração sérica está relacionado com as lesões de necrose hepática encontrados nos sete animais que adoeceram e também à estase biliar vistas nos eqüinos 10 e 13, o que está de acordo com GILES (1983), GARRET et al. (1984), BLOOD & RADOSTITS (1989) e WEST (1989).

O eqüino 03 apresentou maior aumento na concentração sérica da  $\gamma$ GT, em relação ao valor inicial (18 vezes), que os demais eqüinos. Esse aumento pode estar relacionado com acentuada megalocitose, moderada fibrose e necrose hepática encontradas nos exames histológicos. Também as lesões crônicas mostradas no fígado justificam a elevação dessa enzima.

A atividade sérica da FAS, nos eqüinos 02, 03, 10 e 13, foi encontrada acima dos limites de referência (Tabela 3), sendo que os animais 10 e 13 apresentaram aumento acentuado e crescente de FAS até a última amostra, ou seja até a morte. Nesses animais foram encontrados estase biliar e acentuada necrose hepática, achados similares aos de QUALLS (1980). O aumento da FAS no eqüino 02 não ficou esclarecido, suspeita-se que esta elevação tenha origem extrahepática (GOLDSTON et al., 1981). Esse animal não apresentou manifestação clínica da intoxicação, duran-

te o período em que foi observado (465 dias após a administração da planta). No eqüino 03 a megalocitose e a necrose hepática justificaram o aumento da FAS, de acordo com TENNANT et al. (1973). No entanto, os eqüinos 06, 07, 11 e 14 não apresentaram valores elevados de FAS, embora tivessem desenvolvido a doença.

Tabela 2. Atividade enzimática em eqüinos intoxicados experimentalmente por *Senecio brasiliensis* (Compositae). Variação dos resultados das provas enzimáticas usadas.

Eqüinos (nº)	Teste bioquímico			
	DHL	$\gamma$ GT	FAS	AST
01	-	-	-	-
02	+	-	+	-
03	+++	+++	+++	+++
04	+	-	-	-
05	+	-	-	-
06	+	+++	-	++
07	+	++	-	+
08	+	-	-	-
10	+++	+++	+++	+++
11	+++	+++	-	+++
12	+	-	-	-
13	+++	++	+++	+++
14	+++	+++	-	+++

- = permaneceu nos limites normais; + = leve aumento;  
 ++ = aumento moderado; +++ = aumento acentuado;  
 DHL = desidrogenase láctica;  $\gamma$ GT = gama-glutamyltransferase;  
 FAS = fosfatase alcalina no soro;  
 AST = aspartato-aminotransferase.

Tabela 3. Valores de referência (UI/l) das provas enzimáticas utilizadas na intoxicação experimental por *Senecio brasiliensis* em eqüinos.

Autores	Teste bioquímico			
	DHL	AST	FAS	$\gamma$ GT
DUNCAN & PRASSE (1982)	200	0-150	-	-
BERNREUER et al. (1987)	142-354	184-566	80-216	3,0-30,0
BLOOD & RADOSTITS (1989)	-	200-400	95-233	0,0-25,0
KANEKO (1989)	162-412	226-366	143-395	4,3-13,4

DHL = Desidrogenase láctica; AST = Aspartato-aminotransferase;  
 FAS = Fosfatase alcalina no soro;  
 $\gamma$ GT = gama-glutamyltransferase.

Independente da quantidade e do tempo em que a planta foi administrada as alterações nos níveis séricos das substâncias estudadas foram bastante evidentes, comprovando dessa maneira a ação hepatotóxica do *Senecio brasiliensis* em eqüinos.

## CONCLUSÃO

A gama-glutamyltransferase e a aspartato-aminotransferase são as enzimas mais eficientes como meio auxiliar no diagnóstico, na avaliação da função hepática, em eqüinos intoxicados por *Senecio brasiliensis*. A desidrogenase láctica e a fosfatase alcalina no soro também podem ser utilizadas como meio auxiliar no diagnóstico das hepatopatias por alcalóides pirrolizidínicos.

## FONTES DE AQUISIÇÃO

- a - Labtest Sistemas Diagnósticos Ltda.: Av. Izabel Bueno, 948. Belo Horizonte, MG.
- b - Milton Roy Company/Analytical Products Division: 820, Lunden Avenue, Rochester, NY14625.
- c - Merck S.A. Indústrias Químicas: Estrada dos Bandeirantes, 1099. Rio de Janeiro, RJ.
- d - Bausch & Lomb - Milton Roy Company/Analytical Products: 820, Lunden Avenue, Rochester, NY14625.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARROS, C.S.L., METZDORF, L.L., PEIXOTO, P.F.V. Ocorrência de surtos de intoxicação por *senecio* spp (Compositae) em bovinos no Rio grande do Sul. **Pesq Vet Bras**, v. 7, n. 4, p. 101, 1987.
- BERNREUER, D.C., MEGILL, C.D., MERO, K. et al. Biochemical profiling and the orderly approach to interpretation of large chemistry profiles. **An Animed Company the Veterinarians Resource**, Salt Lake City, Utah, 1987. 12 p.
- BLOOD, D.C., RADOSTITS, O.M. **Veterinary medicine. A textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs and horses**. 7. ed. London: Ballière Tindall, 1989. Cap. 7: diseases of the liver and pancreas: p. 288-298.
- BULL, L.B. Liver disease in livestock from intake of hepatotoxic substance. **Aust Vet J**, v. 37, p. 126-130, 1961.
- COFFMANN, J. Clinical chemistry and pathophysiology of horses. Enzymology. Part I. **Vet Med Small Anim Clinic**, v. 7, p. 1644-1649, 1979.
- DUNCAN & PRASSE, K.W. **Patologia clínica veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1982. 217 p.
- GARRET, B.J., HOLTAN, D.W., CHEESE, P.R. et al. Effects of dietary supplementation with butylated hydroxiamizole, cysteine, and vitamins B on tansy ragwort (*Senecio jacobea*) toxicosis in ponies. **Am J Vet Res**, v. 45, n. 3, p. 459-474, 1984.
- GILES, C.J. Outbreak of ragwort (*Senecio jacobea*) poisoning in horses. **Eq Vet J**, v. 15, n. 3, p. 248-250, 1983.
- GOLDSTON, R.T., WILKES, R.D., SEYBOLD, J.M. The clinical pathology laboratory. Hepatic function test I. **Vet Med Small Anim Clinic**, v. 27, p. 642-646, 1981.
- KANEKO, J.J. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 4. ed. London: Academic Press, 1989. 932 p.
- LESSARD, P., WILSON, W.D., OLANDER, H.J. et al. Clinicopathologic study of horses surviving pyrrolizidine alkaloid (*Senecio vulgaris*) toxicosis. **Am J Vet Res**, v. 47, n. 8, p. 1776-1780, 1986.
- LLOYD, J.R. The use of a liver function test in the prognosis of ragwort poisoning in cattle. **Vet Rec**, v. 69, n. 25, p. 623-625, 1957.
- QUALLS Jr., C.D. *Senecio vulgaris* toxicosis in the horse. Davis, 1980. 179 p. Thesis. University of California, 1980.
- RICO, A.G., BRAUN, J.P., BERNARD, P. et al. Tissue distribution and blood levels of gama-glutamyltransferase in the horse. **Equine Vet J**, v. 9, n. 2, p. 100-101, 1977.
- TENNANT, B., EVANS, C.D., SCHWARTZ, L.W. et al. Equine hepatic insufficiency. **Vet Clin North Amer**, v. 3, n. 2, p. 279-289, 1973.
- WEST, H.J. Observations on gama-glutamyltransferase, 5' - nucleotidase and leucine aminopeptidase activities in the plasma of the horse. **Res Vet Sci**, v. 46, p. 301-306, 1989.