



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**ASPECTOS HISTOPATOLÓGICOS DA HEMATÚRIA
ENZOÓTICA BOVINA NO BRASIL**

TICIANA DO NASCIMENTO FRANÇA

Sob a Orientação do Professor

Paulo Fernando de Vargas Peixoto

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Magister Scientiae** em Medicina Veterinária, Área de Concentração em Patologia Veterinária e da Reprodução

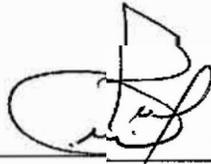
Seropédica, RJ
Fevereiro de 2002

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

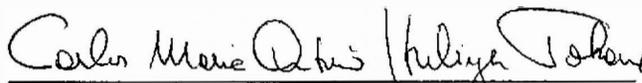
TICIANA DO NASCIMENTO FRANÇA

Dissertação submetida ao Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, área de Concentração em Patologia Animal e da Reprodução, como requisito parcial para obtenção do grau de Magister Scientiae, em Medicina Veterinária.

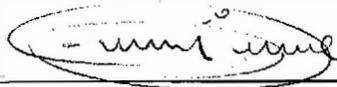
TESE APROVADA EM 07/02/2002



Paulo F. de Vargas Feixoto. MV. Ph.D. UFRRJ
(Orientador)



Carlos M. A. Hubinger Tokarnia. MV, B.D. UFRRJ



Eulogio C. Queiroz de Carvalho. MV, Ph.D. UFF

*Por maiores que sejam
os obstáculos, procura
doar o melhor de ti, na
execução das tarefas
que te cabem.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, por todas as oportunidades que tem me oferecido...

Aos meus pais, Maria do Nascimento França e Sérgio de Souza França, que me proporcionaram, além do afeto, integridade moral e sólida base para enfrentar as vicissitudes do caminho.

Ao Professor Paulo Fernando de Vargas Peixoto, pela participação importantíssima, em cada passo desse projeto e de minha vida profissional, que com primoroso conhecimento e mérito de EDUCADOR, fez-me entender o verdadeiro significado da palavra patologista.

Ao companheiro Paulo Fernando, pessoa muito especial, cujo amor, compreensão e espírito de doação me enternecem e cativam...

Ao Professor Carlos Maria Antônio Hubinger Tokarnia, homem que merece, com louvor, ser chamado de MESTRE. Obrigado pela presteza e paciência com que sempre atende a todos e pelo exemplo de vida dedicado à pesquisa.

A meus grandes amigos – aqui não preciso citar nomes – que nos momentos bons e ruins, sempre estiveram e estarão presentes.

Aos técnicos de laboratório Wilson Cabral Fonseca e José Ricardo Alcântara que, pacientemente e com grande capricho, confeccionaram as lâminas utilizadas neste estudo.

Enfim, a todas as pessoas que contribuíram para realização desse trabalho.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	01
2 REVISÃO DE LITERATURA	03
2.1 Parte Geral	03
2.1.1 Aspectos gerais e histórico	03
2.1.2 Princípio tóxico (ação radiomimética)	04
2.1.3 Fatores que alteram a atividade carcinogênica de <i>P. aquilinum</i>	05
2.1.4 Intoxicação em humanos	07
2.1.5 Principais neoplasias na bexiga de humanos	08
2.2 Hematúria Enzoótica Bovina (HEB)	08
2.2.1 Epidemiologia	08
2.2.2 Aspectos históricos e estabelecimento da etiologia	09
2.2.3 Caracterização da enfermidade	11
2.2.4 Quadro clínico-patológico	11
2.2.5 Ocorrência natural de hematúria enzoótica em ovelhas	15
2.2.6 Intoxicação por outras “samambaias” em bovinos	15
2.2.7 Reprodução experimental da HEB em animais de produção	15
2.2.8 Reprodução experimental em animais de laboratório e outros	18
2.3 Diátese Hemorrágica (DH)	19
2.3.1 Epidemiologia	19
2.3.2 Histórico e estabelecimento da etiologia	20
2.3.3 Quadro clínico-patológico da doença natural	21
2.3.4 Reprodução experimental	22
2.4 Carcinoma das Vias Digestivas Superiores (CVDS)	23
2.4.1 Epidemiologia	23
2.4.2 Histórico e estabelecimento da etiologia	24
2.4.3 Quadro clínico-patológico da doença natural	24
2.5 Tumores Intestinais	25
2.5.1 Aspectos gerais	25
2.5.2 Quadro clínico-patológico da doença natural	26
2.5.3 Reprodução experimental	26
3 MATERIAL E MÉTODOS	28
3.1 Local	28
3.2 Casos Avaliados	28
3.3 Material	28
3.4 Metodologia Empregada na Classificação	28
4 RESULTADOS	33
4.1 Apresentação	33
4.2 Caracterização dos Achados Microscópicos	36
5 DISCUSSÃO	62
6 CONCLUSÕES	67
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	68
8 ANEXOS	79

RESUMO

FRANÇA, Ticiano do Nascimento. **Aspectos Histopatológicos da Hematúria Enzoótica Bovina no Brasil**. Seropédica: UFRRJ, 2002. 85p. (Dissertação, Mestrado em Medicina Veterinária, Patologia Animal e da Reprodução).

Com o objetivo de descrever alterações neoplásicas e não-neoplásicas ainda não reportadas e, paralelamente, reclassifica-las de acordo com nomenclatura mais completa e atual utilizada em Medicina Humana, foram estudadas, histologicamente, lesões da bexiga de 59 bovinos com Hematúria Enzoótica Bovina (enfermidade causada pela ingestão de *Pteridium aquilinum*), oriundos dos Estados do Rio de Janeiro, São Paulo, Minas Gerais, Espírito Santo, Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná e Amazonas. Verificou-se, em termos qualitativos, quase uma perfeita identidade com as lesões de bexiga observadas em seres humanos. Comparações mais exatas com relação à frequência dessas alterações ficaram prejudicadas, dadas a ocorrência de duas ou mais neoplasias em um mesmo animal e as diferenças da metodologia empregada ou do conceito de classificação. Coexistência entre neoplasias diversas, epiteliais e/ou mesenquimais, foi vista com frequência. Neoplasias raras, ainda não descritas na bexiga de bovinos, como carcinoma trabecular com diferenciação em células de Paneth, adenoma e adenocarcinoma mesonefróides, carcinoma "signet ring" (anel de sinete), carcinoma plasmocitóide, carcinoma de células cromóforas e carcinoma transicional tipo ninhado, foram observadas na bexiga de alguns animais com HEB. Também foi identificada malignização de tumores benignos, como por exemplo a transformação de hemangiomas em hemangiossarcomas. O estudo revelou, ainda, a ocorrência de diversos tumores com anaplasia e caráter infiltrativo acentuados, incapazes, porém, de metastizarem. O esclarecimento da (s) causa (s) dessa "barreira à metástase" e suas relações com a carcinogênese química induzida pelo ptaquilosídeo talvez possa ser de interesse em futuros estudos que visem combater o câncer no homem e nos animais.

Palavras chave: Neoplasias, bexiga, *Pteridium aquilinum*

ABSTRACT

FRANÇA, Ticiania do Nascimento. **Histopathological Aspects of Bovine Enzootic Hematuria in Brazil**. Seropédica: UFRRJ, 2000. 85p. (Dissertation, Master Science in Medicine Veterinary, Pathologie of Animals Domestics and of Reproduction).

The bladder lesions of 59 cattle, from the states of Rio de Janeiro, São Paulo, Minas Gerais, Espírito Santo, Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná and Amazonas, affected by Bovine Enzootic Haematuria (BEH) were studied histologically. The objective of this study was to describe and reclassify neoplastic and non neoplastic alterations not yet reported, according to the more complete and current nomenclature used in human medicine. There was an almost complete indenty with alterations observed in the bladder of humans. Due to the occurrence of two or more neoplasms in the same animal, differences of the methodology and the concept of classification was not possible. Coexistence of different types of epithelial and/or mesenchymal neoplasms was frequently seen. Rare neoplasms not yet described were found in the bladder of some the animals affected by BEH. Those were trabecular carcinoma with differentiation in Paneth cells, mesonephroid adenoma and adenocarcinoma, “signet ring” cell carcinoma, plasmocytoid carcinoma, chromophobe cell carcinoma and nested type of transitional cell carcinoma. Malignization of benign tumors, as for example a transformation of haemangiomas into haemangiosarcomas, was also observed. The study also revealed the occurrence of many tumors with anaplasia and pronounced infiltrative features, but which did not metastize. The elucidation regarding the cause(s) of this “barrier against metastases” and its relationships with the chemical carcinogenesis induced by the ptaquiloside, the active principle of bracken fern (*Pteridium aquilinum*), could be of interest for future research with the objective to control neoplasms in humans and animals.

Key words: Neoplasms, bladder, *Pteridium aquilinum*

1. INTRODUÇÃO

Pteridium aquilinum (L.) Kuhn, planta tóxica conhecida pelos nomes populares de “samambaia” ou “samambaia-do-campo” (Figura 1 e 2), tem sido registrada em todos os continentes e, no Brasil, apresenta extensa distribuição, ocorrendo em quase todas as Regiões. Esta planta causa diferentes quadros patológicos, principalmente, por apresentar dois princípios tóxicos distintos: um princípio radiomimético, o norsesquiterpeno ptaquilosídeo, composto carcinogênico (HIRONO et al., 1984a) e uma tiaminase tipo I (EVANS et al., 1963; EVANS, 1976). Em função do tempo de ingestão e da quantidade de planta ingerida, os animais ainda podem apresentar manifestações diversas determinadas pela ingestão do princípio carcinogênico (TOKARNIA et al., 2000).

O princípio radiomimético é responsável por três diferentes quadros clínico-patológicos, observados sobretudo em bovinos: a *diátese hemorrágica* (DH) (SIPPEL, 1952; NAFTALIN & CUSHNIE, 1954; EVANS et al., 1954a; TOKARNIA et al., 1967; EVANS, 1970), a *hematúria enzoótica bovina* (HEB) (CURIAL, 1964; LEE et al., 1966; DÖBEREINER et al., 1967; TOKARNIA et al., 1969; MOURA, 1989; SOUZA & GRAÇA, 1993) e os *carcinomas das vias digestivas superiores* (CVDS) (DÖBEREINER et al., 1967; TOKARNIA et al., 1969; PIRIE, 1973). O princípio radiomimético ainda está envolvido na gênese de neoplasias em diversas outras espécies.

De uma forma geral, parece claro que a toxicidade e carcinogenicidade de *P. aquilinum* variam com a espécie animal envolvida. Por outro lado, há indícios de que o efeito deletério dessa planta não se restrinja aos animais, o que a torna ainda mais importante; menciona-se maior incidência de câncer estomacal no homem, em países onde se come broto de *P. aquilinum*, como no Japão, ou em regiões severamente invadidas pela planta, como o País de Gales, Inglaterra.

A natureza dos tumores de bexiga, associados à ingestão de *P. aquilinum*, por sua vez, é bastante peculiar. Tanto tumores epiteliais, quanto mesenquimais têm sido descritos nessa intoxicação, inclusive essa estranha capacidade de indução a diferentes neoplasias em um mesmo animal já foi, sucintamente, destacada na literatura (TOKARNIA et al., 2000).

O exame histológico de novos casos de hematúria enzoótica por nós estudados revelou diversas neoplasias ainda não descritas; a reavaliação microscópica e a reclassificação de casos oriundos de publicações anteriores (DÖBEREINER et al., 1967; TOKARNIA et al., 1969, SOUZA & GRAÇA, 1993) foi feita visando a uniformização e atualização dos diagnósticos, de acordo com a nomenclatura mais recente.

Esse trabalho objetiva caracterizar e descrever, histologicamente, lesões neoplásicas e não-neoplásicas de bexiga de bovinos, ainda não relatadas em trabalhos científicos sobre a HEB e, paralelamente, reclassificar, renomeando lesões já descritas, de acordo com classificações mais completas e atuais, usadas em medicina humana, com o intuito de distinguir esses processos dentro da patologia veterinária. Também são estudadas as correlações entre as lesões observadas e a resposta inflamatória local.



Fig. 1 Aspectos histopatológicos da Hematúria Enzoótica Bovina no Brasil. *Pteridium aquilinum*, Cunha, SP.

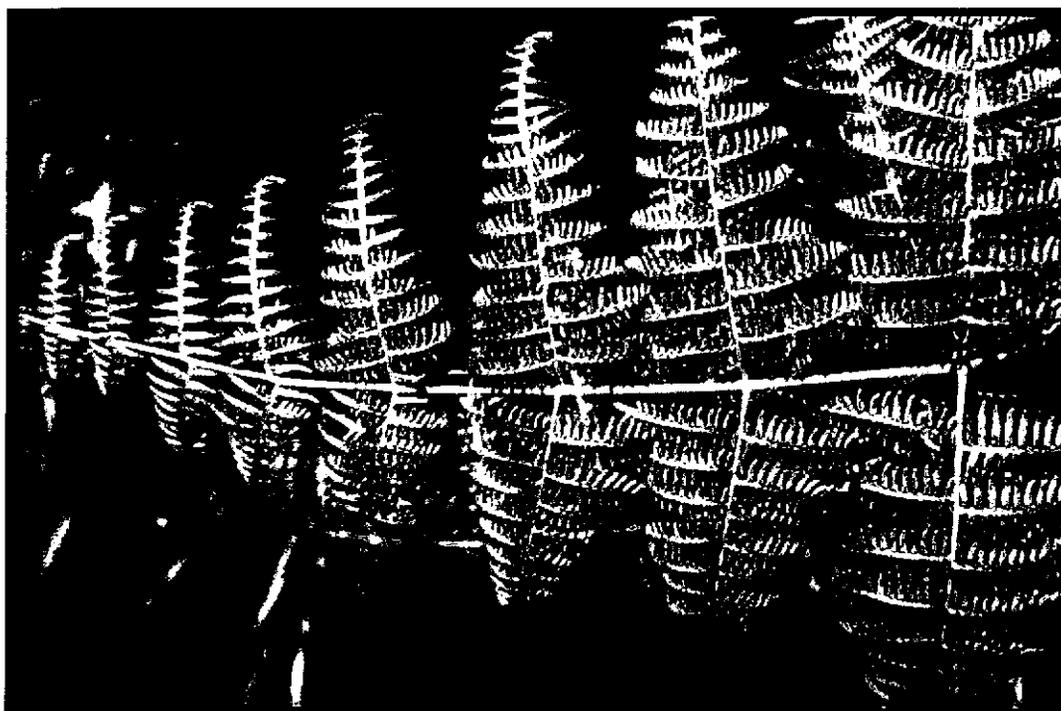


Fig. 2 Aspectos histopatológicos da Hematúria Enzoótica Bovina no Brasil. *Pteridium aquilinum*, Cunha, SP (maior aproximação).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Parte Geral

2.1.1 Aspectos gerais e histórico

Pteridium aquilinum é considerada uma das plantas tóxicas mais importantes, não só por ser cosmopolita e ter extensa distribuição, mas também pelos diferentes tipos de intoxicação que provoca em diversas espécies animais (EVANS, 1987; TOKARNIA et al., 2000). As pteridófitas (samambaias) estão entre as plantas mais amplamente difundidas, por serem muito resistentes e agressivas, invadindo com rapidez terras não-cultivadas, áreas desmatadas e pastagens (RYMER, 1976). Sua presença é observada em todos os continentes, exceto na Antártida (FENWICK, 1988). O gênero *Pteridium* tem como única espécie, *P. aquilinum*, todavia são reconhecidas muitas variedades. No Brasil identificou-se a variedade *arachnoideum*. A elevação, por parte de alguns botânicos, de variedades à categoria de espécie, é responsável pelo aparecimento de outras “espécies” para o gênero *Pteridium* (KINGSBURY, 1964; TOKARNIA et al., 2000).

Essa planta tem sido registrada desde o período mesozóico, há cerca de 150 milhões de anos (EVANS, 1984) e, de acordo com GROUNDS (1974), há fortes evidências arqueológicas que o homem pré-histórico consumia seus rizomas no inverno e os brotos na primavera. Embora haja citação sobre seu uso como substância abortiva, há mais de 3 séculos (CULPEPER, 1652), sua toxidez só começou a ser reconhecida em 1893; após um severo período de seca nas ilhas britânicas, verificou-se a intoxicação por *P. aquilinum* em bovinos, que apresentaram alterações clínico-patológicas compatíveis com às observadas na Diátese Hemorrágica – DH (PENBERTHY, 1893).

Nessa mesma época já existiam suspeitas sobre os efeitos tóxicos dessa planta (PENBERTHY, 1893; STORRAR, 1893; ALMOND, 1894), porém a natureza variável das alterações causadas pela sua ingestão em cavalos, bovinos e ovelhas, a limitação dos métodos biológicos e a relativa instabilidade de seus compostos, foram responsáveis pelo fato de que só em anos mais recentes, a toxidez de *P. aquilinum* fosse realmente confirmada (EVANS, 1979).

Publicações mais embasadas sobre a toxicidade dessa planta para animais de fazenda só vieram a lume a partir da década de 40.

Os primeiros trabalhos sobre a toxidez de *P. aquilinum* se referiam a seu princípio tiaminolítico. Em 1946, WESWIG et al. induziram polineurite em ratos, através da administração de dietas contendo 40% de *P. aquilinum*. Resultados similares foram obtidos por EVANS & EVANS (1949) e também por THOMAS & WALKER (1949); nestes trabalhos são descritos baixos níveis de tiamina nos tecidos e elevada quantidade de piruvato no sangue, alteração bioquímica observada em casos de deficiência de tiamina (vitamina B1). EVANS et al. (1958a) fizeram interessante analogia entre as características clínicas da intoxicação por *P. aquilinum* em bezerros e as lesões produzidas por radiação ionizante (raio-X) e por substâncias químicas radiomiméticas; após reproduzirem a DH em bovinos utilizando extrato etanólico da planta, chegaram à conclusão que a tiaminase tipo I não estava envolvida nessa forma da doença. A diátese hemorrágica, porém, já tinha sido induzida em bovinos pela administração de grandes quantidades de *P. aquilinum* (NAFTALIN & CUSHNIE, 1954; EVANS, et al., 1954a,b).

A primeira evidência mais direta da presença de carcinógenos em *P. aquilinum* foi reportada por ROSENBERGER & HEESCHEN (1960), que reproduziram clinicamente a HEB pela ingestão dessa planta durante longo período.

Através de levantamento epidemiológico realizado em rebanho bovino na Turquia, PAMUKÇU (1963) também estabeleceu associação entre a HEB e os tumores de bexiga. A possibilidade de um agente viral estar incluído na gênese do processo também foi sugerida e a transmissibilidade dos tumores testada, sem grandes resultados.

A inequívoca carcinogenicidade desta planta foi demonstrada por EVANS & MASON (1965) em ratos que, pela ingestão prolongada de "pellets" contendo *P. aquilinum*, desenvolveram múltiplos adenocarcinomas intestinais; também em 1965, ROSENBERGER, em novos experimentos, conseguiu reproduzir hematúria e alterações de aspecto tumoral na bexiga de um bovino.

2.1.2 Princípio tóxico (ação radiomimética)

Muitos estudos foram realizados em diversos países para elucidar as propriedades carcinogênicas de *P. aquilinum* (TOKARNIA et al., 2000). Vários compostos dessa planta têm sido isolados na tentativa de identificar(em)-se a(s) substância (s) responsável (eis) pelas intoxicações aguda e crônica, o que não é fácil, uma vez que nos testes usuais, nem sempre substâncias consideradas mutagênicas são cancerígenas para animais (MOURA, 1989).

EVANS & OSMAN (1974) reportaram que o **ácido chiquímico**, encontrado em *P. aquilinum*, quando administrado intraperitonealmente é um carcinógeno para camundongos, porém não para ratos submetidos a uma dieta contendo o mesmo ácido (HIRONO et al., 1977). Além disso, os dados experimentais demonstraram que o **ácido chiquímico** não é mutagênico para *Salmonella typhimurium*, nem induz aberrações cromossômicas em células cultivadas de hamster chinês (IARC, 1986). PAMUKÇU et al. (1980a) sustentaram que a **quercitina**, um flavonóide presente em *P. aquilinum*, teria efeito carcinogênico sobre a bexiga e o intestino de ratos, todavia o potencial dessa substância não foi confirmado por nenhum outro autor, seja em ratos, hamsters ou em camundongos (HIRONO et al., 1981; MORINO et al., 1982; SAITO et al., 1980, respectivamente).

O possível envolvimento de **taninos** existentes em *P. aquilinum*, como substância cancerígena, foi mencionado por WANG et al. (1976a, 1976b), entretanto essa hipótese também foi descartada, pois a administração oral de **taninos** não produziu tumores em ratos (PAMUKÇU et al., 1980b).

HIRONO et al. (1984a) isolaram de *P. aquilinum* o **ptaquilosídeo**, um norsesquiterpeno, glicosídeo intermediário da biossíntese de pterosídeos, e comprovaram sua carcinogenicidade. Pela administração intragástrica ou pela ingestão normal da planta, esses autores conseguiram induzir à formação de múltiplos tumores no íleo, câncer de mama e papiloma na bexiga urinária de ratos, além de demonstrarem seu efeito radiomimético, reproduzindo a DH em bezerros através do fornecimento da planta por via oral (HIRONO et al., 1984b).

Parece que o **ptaquilosídeo** é a única substância que, entre outros compostos isolados de *Pteridium aquilinum*, reúne as atividades cancerígena e mutagênica, incluindo-se aí os efeitos radiomiméticos observados na intoxicação aguda em bovinos (MOURA, 1989).

A hipótese da toxina radiomimética ter efeito mutagênico também foi explorada por BARBER (1969) que verificou mutação letal dominante, induzida por extratos de *P. aquilinum*, em moscas do gênero *Drosophila*.

2.1.3 Fatores que alteram a atividade carcinogênica de *P. aquilinum*

O efeito carcinogênico de *P. aquilinum* pode variar em função de diversos fatores, alguns destes possivelmente ainda desconhecidos. Com certeza, a espécie animal envolvida na intoxicação por essa planta é um desses fatores. Bovinos desenvolvem neoplasias no trato digestivo superior e na bexiga (TOKARNIA et al., 2000), ovelhas intoxicadas cronicamente pela planta apresentam, geralmente, tumores intestinais e camundongos-suíços alimentados com dietas contendo *P. aquilinum*, podem desenvolver até adenomas pulmonares (EVANS, 1968). Em camundongos, já foram reproduzidas neoplasias do sistema linfóide (PAMUKÇU et al., 1972), do intestino (HIRONO et al., 1975), do fígado (EVANS et al., 1982) e do estômago (JONES, 1974). Algumas críticas foram feitas sobre a reprodução de leucemias em camundongos, uma vez que estas ocorrem com elevada frequência nesta espécie, entretanto EVANS et al. (1982) ponderam que, em relação aos tumores gástricos, não há restrições, já que estes tumores são raros em animais, especialmente em camundongos.

Experimentos com *P. aquilinum* em camundongos mostram que estes desenvolvem tumores da bexiga com maior frequência que tumores intestinais, enquanto ratos apresentam maior incidência de tumores intestinais do que da bexiga. A razão para esta diferença não é conhecida (PAMUKÇU et al., 1977a).

Em bovinos sabemos que as neoplasias de bexiga e do trato digestivo superior e a diátese hemorrágica podem ser determinadas pela ingestão de *P. aquilinum*, e que essas diferentes síndromes causadas pelo princípio radiomimético variam de acordo com a quantidade de planta ingerida e com o tempo de ingestão (TOKARNIA et al., 2000).

Por outro lado, verificou-se que búfalos d'água são menos susceptíveis à intoxicação por esta planta do que bovinos (XU, 1986).

A variação de carcinogenicidade entre espécimes de *P. aquilinum* colhidos em duas diferentes áreas sugere que a toxidez também varie de acordo com a distribuição geográfica (HIRONO et al., 1972). Adicionalmente verificou-se que a capacidade carcinogênica diminui, à medida que a planta envelhece (HIRONO et al., 1975). PAMUKÇU & BRYAN (1979), entretanto, são da opinião que o envelhecimento da planta não afeta o potencial carcinogênico para formação de tumores intestinais; estes autores afirmam que tumores induzidos em ratos podem ser alterados por outros "aditivos", e que a incidência de tumores de bexiga poderia ser aumentada pela suplementação com tiamina (PAMUKÇU et al., 1970) e diminuída pela administração de fenotiazina (PAMUKÇU et al., 1971). Dietas contendo nitrato ou nitrito também aumentariam a frequência de tumores na bexiga de ratos, induzidos pela ingestão de *P. aquilinum* (ERTÜRK et al., 1974). Em contraste, polivinilpirrolidona e cloreto de cálcio inibiriam em 80% a formação desses tumores (PAMUKÇU et al., 1977b).

Tumores intestinais, principalmente do íleo, foram reproduzidos em ratos (EVANS & WIDDOP, 1966; WIDDOP, 1967; PAMUKÇU & PRICE, 1969; HIRONO et al., 1970), entretanto WIDDOP (1967) não conseguiu induzir a formação dessas neoplasias quando fez uso de ratos mais velhos, demonstrando assim que a idade também é um fator que altera a susceptibilidade do animal.

O armazenamento reduz a toxidez de *P. aquilinum* (KAWAI et al., 1981), possivelmente em consequência da ação de β -glucosidases, que converteriam glucosídeos precursores em carcinógenos instáveis.

Infecção pelo vírus da papilomatose bovina (BPV) foi, tentativamente, relacionada ao aparecimento de tumores do trato digestivo e da bexiga nessa espécie.

OLSON et al. (1959a), em estudos preliminares, tentaram demonstrar a interação desse vírus com a HEB através da inoculação, de suspensão feita com papilomas de pele de bovinos, na submucosa da bexiga de 14 vacas. Conseguiram, em 13 animais, apenas produzir lesões semelhantes à fibroma nos sítios das injeções. Mais tarde nova tentativa foi feita através da inoculação de suspensões de diferentes tipos de vírus do papiloma cutâneo de bovino, na submucosa da bexiga e na pele de bezerros não-vacinados e vacinados contra a papilomatose bovina. A maioria dos bovinos não-vacinados desenvolveu tumores de bexiga e verrugas na pele nos sítios de inoculação. Microscopicamente, as lesões da bexiga caracterizavam-se por formações polipóides, hiperplasia urotelial, cistos intra e subepiteliais, ninhos de Brunn, metaplasia glandular e escamosa, edema e aumento de vascularização; na base de todas essas lesões observou-se uma massa compacta de fibroblastos, semelhante a observada na base de papilomas cutâneos e vaginais de bovinos. As projeções polipóides vesicais e os papilomas cutâneos de parte dos animais regrediram. Nos bezerros vacinados, as lesões foram semelhantes, porém geralmente mais leves. Não foram observadas neoplasias epiteliais e mesenquimais progressivas como as vistas na hematúria, sugerindo fortemente a existência de um outro fator adicional na causa da hematúria (BROBST & OLSON, 1965).

A infecção por BPV ocorre em rebanhos de quase todos os países (OLSON et al., 1969), entretanto a malignização de lesões papilomatosas não foi encontrada em áreas onde *P. aquilinum* não existia (JARRETT et al., 1978a). Baseado nessas observações Jarrett et al. (1978b) propuseram que os tumores de bexiga e de trato digestivo seriam o resultado da interação entre um agente infeccioso, representado pelo BPV, e um agente químico, presente em *Pteridium aquilinum*, constituindo assim o que seria um modelo multifatorial de oncogênese. A interação entre a samambaia e o BPV na produção de tumores de bexiga e do trato digestivo em bovinos foi testada experimentalmente mais tarde por CAMPO & JARRETT (1986). Os pesquisadores selecionaram bezerros de vacas livres de papilomatose, nascidos de cesariana, que foram mantidos em isolamento e inocularam o BPV4 (vírus relacionado a lesões de trato digestivo) no palato de parte destes animais. O aparecimento de papilomas, no sítio de inoculação, foi verificado em todos eles. No entanto, a persistência e amplificação das lesões papilomatosas só ocorreram nos bovinos infectados expostos à ação de *P. aquilinum* ou de drogas imunossupressoras. Além disso, vários animais, sob efeito da planta ou do agente químico imunossupressor, desenvolveram tumores malignos de bexiga, embora o BPV2 (vírus relacionado a lesões de bexiga) não tenha sido inoculado. Por outro lado, a detecção do BPV2 em algumas lesões de bexiga indicou que a infecção por outros BPVs, que não o BPV4 injetado, existia em estado de latência nestes bovinos. Assim, a oncogênese multifatorial permanece apenas como hipótese, já que não foi possível a realização do estudo da ação de *P. aquilinum* em animais livres da infecção por BPV.

Bovinos mantidos em pastagens invadidas por *P. aquilinum* foram analisados sob os aspectos clínico-patológico e citogenético. Com relação ao estudo citogenético, verificou-se maior frequência de aberrações cromossômicas estruturais, em células sangüíneas, de animais intoxicados por essa planta do que as encontradas em animais sadios. Enquanto BPV (tipo II e IV), parece atuar apenas no processo de **iniciação**, *P. aquilinum*, através de sua ação **imunossupressora** e **clastogênica**, poderia estar contribuindo, respectivamente, nos eventos de **manutenção** e **progressão** (**malignização**) dos tumores (MOURA, 1989).

2.1.4 Intoxicação em humanos

Existem algumas indicações de que o efeito radiomimético de *P. aquilinum* também seja responsável por doença em seres humanos. *P. aquilinum* é consumida, em quantidades significativas, em algumas partes do mundo, notadamente no Japão, no nordeste dos Estados Unidos, no Canadá, na China, na Sibéria (FENWICK, 1988), na Nova Zelândia (FERNALD & KINSEY 1943) e até mesmo no Brasil (SANTOS et al., 1986). Há especulações sobre se a maior incidência de câncer estomacal no homem em certas regiões, como no Japão (HIRONO et al., 1970, 1972; PAMUÇKU & PRICE, 1969; IARC, 1986), onde se consome broto de *P. aquilinum* cozido, e algumas áreas da Grã-Bretanha (EVANS, 1970), estaria relacionada com *P. aquilinum*, já que essa planta retém sua ação cancerígena, para ratos, mesmo após a fervura; processo geralmente utilizado pelo homem antes do consumo (HIRONO et al., 1970, 1972).

Estudos realizados no Japão, nos quais *P. aquilinum* sofreu preparação semelhante a produtos regularmente consumidos pelo homem, demonstraram que a ingestão dessa planta fresca produziu tumores intestinais em todos os ratos submetidos a essa dieta. Nos experimentos com brotos da planta imersos em água fervente por 5-10 minutos, a incidência dos tumores no íleo ficou reduzida em 75%, porém aumentou a frequência de tumores de bexiga urinária! Adicionalmente, verificou-se que *P. aquilinum* tratada com cinza de madeira, bicarbonato de sódio ou sal comum tem sua atividade carcinogênica reduzida, mas não completamente eliminada (HIRONO et al., 1970, 1972).

Especula-se também uma possível associação entre *P. aquilinum* e a alta incidência de tumores de bexiga em humanos na Irlanda (EVANS, 1970); essa planta também tem sido utilizada na fermentação industrial, na Sibéria e na Noruega, para produção de cerveja (HARRINGTON, 1967).

Os riscos à população humana não se restringem apenas ao consumo direto da planta, mas também à ingestão do princípio carcinogênico através de leite e laticínios.

Comprovou-se, experimentalmente, que um bezerro, que recebera leite de 2 vacas que consumiam dietas suplementadas com *P. aquilinum* por período prolongado, apresentou alterações na atividade da medula óssea. (EVANS et al., 1971, 1972).

Em camundongos foi observado que a substância carcinogênica de *P. aquilinum* também pode ser transferida para o feto através da placenta e do leite maternos, induzindo a formação de adenomas pulmonares nesses animais (EVANS et al., 1972); nessa mesma espécie também verificou-se a ocorrência de leucemia e carcinomas gástricos em filhotes, através da transferência da atividade carcinogênica somente pelo leite (JONES, 1974). Mais ainda, foi possível a indução de tumores de bexiga e intestino em ratos através do fornecimento, a esses animais, de leite produzido por vacas alimentadas com a planta (PAMUÇKU et al., 1978).

Estudos epidemiológicos na Costa Rica sugerem existir uma correlação entre consumo de leite pontencialmente contaminado com carcinógenos de samambaia (*P. aquilinum* L var *caudatum*) e carcinomas gástricos em humanos (VILLALOBOS-SALAZAR, 1985).

Estes achados são importantes, pois demonstram que lactentes humanos, filhos de mulheres gestantes que consomem essa planta, ou que ingerem leite de vacas que pastam em regiões por ela contaminadas, também podem estar sendo afetados pelo efeito deletério do princípio radiomimético (LIENER, 1980).

Considera-se ainda que, pelo processo de lixiviação, a ingestão do princípio tóxico também possa ocorrer pela água armazenada em reservatórios de áreas muito invadidas

por *P. aquilinum* (EVANS, 1987), como por exemplo no Reino Unido (FENWICK, 1988).

Dado o consumo relativamente alto de broto de samambaia, por humanos, em Ouro Preto, MG, realizou-se experimento, no qual ratos de 6 semanas foram alimentados com dietas contendo 33 % de broto seco de *P. aquilinum* por nove semanas. O exame “post-mortem” revelou a presença de um adenoma subcutâneo numa fêmea e um pólipo adenomatoso no íleo de um macho que consumiu broto de samambaia cru (SANTOS et al., 1986).

2.1.5 Principais neoplasias na bexiga de humanos

Em relação a incidência de tumores de bexiga em humanos, ORDÓNEZ & ROSAI (1996) verificaram que os carcinomas transicionais perfaziam 90% dos tumores de bexiga e MURPHY et al. (1994) que correspondiam a 60 a 80% dos carcinomas, estando ambos de acordo que o carcinoma transicional é o tipo neoplásico mais comum observado na bexiga. Já os carcinomas escamosos só seriam mais comuns em áreas endêmicas de *Schistosoma hematobium*, fora dessas áreas corresponderiam a menos de 5% de todas as neoplasias de bexiga, seguidos de carcinoma misto (4-6% dos carcinomas uroteliais), adenocarcinomas (menos de 2% das neoplasias uroteliais) e carcinoma pobremente diferenciado (menos de 0,5% de todas as neoplasias de bexiga) (MURPHY et al., 1994; ORDÓNEZ & ROSAI, 1996).

2.2 Hematúria Enzoótica Bovina (HEB)

2.2.1 Epidemiologia

De uma forma geral, *P. aquilinum* tem por habitat ideal regiões frias e montanhosas, com boa pluviosidade e solos ácidos, porém se adapta a muitos outros tipos de solo (TOKARNIA et al., 2000).

A HEB, especificamente, tem ocorrido sobretudo em locais com altitudes de 200-1000 metros, porém também em locais mais altos, como nos Balcãs e nos países alpinos muitos casos foram referenciados, da mesma forma que em regiões mais baixas da Holanda, França e Alemanha. Nesses locais, em geral, constatou-se que os solos eram pobres. Por outro lado, os dados sobre a natureza do solo nas áreas de HEB não devem ser supervalorizados, uma vez que a doença também podia ocorrer em bons solos e fazendas de qualidade (HEESCHEN, 1959).

Na **Alemanha**, a HEB foi observada sobretudo na Floresta Negra, Estados de Baden (SCHLEGEL, 1934; BRETZINGER, 1957), Solling (GÖTZE, 1942; GELDMACHER, 1942; KLAESSEN, 1942), Sachsen (GLÖCKNER, 1913), bem como nos Alpes e no baixo Reno (HEESCHEN, 1959). Lá, como em todo o mundo, a doença era localizada, atingindo pequenas propriedades, sem que sítios próximos fossem afetados. As perdas econômicas eram decorrentes de abates, mortes e, em parte, pela diminuição da produção de leite e de carne (HEESCHEN, 1959). Na **Áustria**, a HEB foi descrita em Steiermark e, principalmente, nas terras montanhosas de Graz (HEESCHEN, 1959). Na **Suíça**, a doença grassava mais frequentemente na parte superior do Emmenthal, bem como nas terras altas de Zurique e de St. Gallen (HEß, 1950; SIEBER, 1950). Nesse país, os “Rothöfe” (Rincões vermelhos – denominação dada a locais com alta incidência de HEB) podem ser encontrados principalmente na altitude de 800 metros, entretanto a enfermidade pode estar presente ou não em locais

de condições geológico-geográficas semelhantes. Na **França**, a HEB é muito difundida, sendo conhecida desde 1834 (DUMAS, 1934).

Perdas econômicas importantes foram relatadas em rebanhos bovinos na Região dos Balcãs em função da HEB. Em algumas regiões da **Bulgária**, 90% das fazendas apresentavam o problema, tornando a criação de animais inviável (HUTYRA et al., 1954). Na **Romênia** havia lugares onde 20% de todos os bovinos sofriam dessa doença (CELAN, 1941). Na **Iugoslávia**, a hematúria ocorria de forma severa e “muito maligna”, em 95 de 300 distritos, com até 76% dos animais afetados em alguns locais (BUTOZAN, 1935); nesses sítios, a doença sempre constituiu uma exceção em animais jovens, da mesma forma que em animais muito velhos (acima de 12 anos). Na **Turquia**, a enfermidade foi descrita em áreas montanhosas, com altitude entre 200 a 1000 metros (PAMUKÇU, 1955). A incidência de hematúria, nas áreas consideradas enzoóticas, variava desde casos ocasionais, podendo atingir, por vezes, até 90% das vacas adultas (PAMUKÇU et al., 1976).

Na **Itália**, a HEB afetava vacas leiteiras de boa qualidade (GOTTARDI, 1935). Na **Inglaterra**, a doença era mais conhecida no sul, porém também ocorria no norte, principalmente em áreas acidentadas. Desde 1916 observaram-se casos de HEB na **Irlanda** (CRAIG, 1930). No **Canadá**, a HEB ocorria mais em fazendas descuidadas e era conhecida como “a enfermidade do homem pobre” (HADWEN, 1918). No **Himalaia** encontraram-se numerosos casos de hematúria enzoótica em bovinos, búfalos e cervos (DATTA, 1934). Na **Índia**, até 50% dos bovinos de alguns rebanhos apresentavam HEB (DATTA, 1934). Na **ilha de Formosa** foram relatados casos de hematúria com lesões primárias na bexiga (MYAMOTO, 1929). Ainda há referências à doença no **Japão** (OSHINA & ONO, 1957), na **Rússia** (ZADERYI & MECHTCHENKO, 1953) e na **Austrália** (BULL et al., 1932).

Mais tarde, a HEB também foi descrita em bovinos no **Kenya** (MUGERA & NERITE, 1968), na **Nova Zelândia**, afetando animais com idade superior a 4 anos (SMITH & BEATSON, 1970), no **Japão**, em animais com média de 10,3 anos (MAEDA et al., 1974), no **Brasil**, ocorrendo em bovinos com idade superior a dois anos (DÖBEREINER et al., 1967) e na **Colômbia**, afetando bovinos acima de 20 meses (RAVE et al., 1978). Na **Colômbia**, a doença tinha morbidade entre 1 e 25% e era associada a terrenos montanhosos e erodidos, com boa pluviosidade, solos úmidos e ácidos, com vegetação pobre, e altura entre 1800 a 2400 metros (LUQUE, 1960).

Excluindo-se os casos determinados pela ingestão de *P. aquilinum*, a ocorrência de tumores na bexiga de bovinos é rara (BROBST & OLSON, 1963); a enfermidade pode ser sazonal, tornando-se evidente no início da primavera e desaparecendo no final do verão (SMITH & BEATSON, 1970).

2.2.2 Aspectos históricos e estabelecimento da etiologia

A hematúria enzoótica foi reportada pela primeira vez por TOPHAN, em 1787 (DATTA, 1952), porém sua associação direta com *P. aquilinum*, foi feita mais recentemente (ROSENBERGER & HEESCHEN, 1960).

Nos trabalhos mais antigos, principalmente, não é possível uma separação entre a HEB e outras enfermidades que cursam com coloração avermelhada na urina, de forma que a avaliação crítica dessa literatura apresenta dificuldades (HEESCHEN, 1959).

Nandi (1954) cita várias hipóteses, sugeridas por outros autores, como possíveis causas para HEB, entre elas princípios tóxicos de certas plantas da família *Ranunculaceae*, cristais de oxalato de cálcio presente em alguns vegetais, *Schistosoma*

sp, *Trifolium* *sp*, toxinas derivadas de forragens locais, protozoário intestinal, *Entamoeba kamala* e *Corynebacterium renale*. Por outro lado DATTA (1952) menciona que a presença de *Pteridium aquilinum* seria proeminentemente mencionada em casos de HEB. O próprio Nandi (1954) também considerou *Corynebacterium renale* como o agente da denominada cistite específica, porém conclui que haveria uma associação desse agente com outras substâncias presentes em diferentes plantas; cita uma lista de 25 plantas e *P. aquilinum* é uma delas.

Em 1955, Pamukçu observou bovinos e búfalos com hematúria, em províncias da Turquia e, embora cite que a presença de *P. aquilinum* era uma constante nas áreas de ocorrência de HEB, conclui que os sintomas, até então conhecidos, da intoxicação por essa planta não incluíam hematúria e assim descartou-a como causa da doença!

OLSON et al. (1959) mencionam ainda outros fatores etiológicos que poderiam estar relacionados à hematúria enzoótica, entre os quais alimentação insuficiente, ingestão de plantas ricas em oxalatos, intoxicação por plantas, deficiência de cálcio ou excesso de molibdênio no solo, infestação por *Schistosoma sp* e infecção por bactérias, fungos e protozoários.

Apenas em 1960, ROSENBERGER & HEESCHEN demonstraram experimentalmente o envolvimento de *P. aquilinum* na gênese da HEB, porém não conseguiram reproduzir neoplasias.

Surtos de HEB observados na Colômbia foram associados à "alimentação" com pastos e certos musgos de ação tóxica e irritante sobre a mucosa da bexiga, bem como à presença de ácido traumático, ácido pirogálico e glicosídeos presentes na urina. Não se conseguiu reproduzir a doença em coelhos, pela inoculação intra-vesical de macerados e cultivos bacterianos da bexiga de bovinos com HEB (LUQUE, 1960).

No Brasil, no município de Paranavaí, PR, registrou-se a ocorrência de HEB, em bovinos da raça Nelore; o autor assinala a presença de *P. aquilinum* nas pastagens (CURIAL, 1964).

ROSENBERGER (1965) realizou novos experimentos em bovinos utilizando doses menores dos que as usadas nos experimentos de 1960, com períodos de suspensão da administração da planta, conseguindo assim reproduzir, em um animal, proliferações de aspecto tumoral do tamanho de uma ervilha e de coloração vermelho-escuro ou vermelho-enebrecida, o que definitivamente estabeleceu *P. aquilinum* como causa principal da HEB; também em 1965, STAMATOVIC et al., provocaram experimentalmente tumores vesicais em bovinos.

Em alguns municípios paulistas, foi observada uma doença que cursava com sintomas semelhantes aos da HEB e da DH. A conclusão final dos autores deste trabalho foi de que haveria duas entidades mórbidas capazes de levar ao síndrome hemorrágico: "hematúria enzoótica dos bovinos" e a intoxicação por *P. aquilinum* (LEE et al., 1966)!

DÖBEREINER et al. (1967) verificaram a ocorrência de hematúria enzoótica e também de carcinomas epidermóides no trato digestivo superior de bovinos, nos Estados de Minas Gerais, Rio de Janeiro e Espírito Santo, associados à ingestão prolongada de *P. aquilinum*.

Em estudos complementares, TOKARNIA et al. (1969), descrevem mais casos de HEB e CVDS, por vezes concomitantes, nos Estados de Santa Catarina e do Rio de Janeiro; a maior parte dos casos provinha de Santa Catarina.

A HEB foi diagnosticada em vacas também no Japão, através de endoscopia (MAEDA et al., 1977).

Mais recentemente, foi feito um estudo retrospectivo no Rio Grande do Sul, de 7 casos de HEB, 8 de CVDS e 3 em que esses processos eram simultâneos, ocorridos entre 1964 a 1991 (SOUZA & GRAÇA, 1993).

2.2.3 Caracterização da enfermidade

A HEB, conhecida também pelos nomes de hematúria vesical bovina, cistite crônica hemorrágica, hematúria essencial e hematúria vesical crônica, é uma das formas da intoxicação por *P. aquilinum* (RAVE et al., 1978) que ocorre quando bovinos ingerem quantidades menores que 10g/kg/dia, durante um ou mais anos (TOKARNIA et al., 2000). A enfermidade apresenta curso crônico, com óbito após meses e até mesmo anos depois do início da enfermidade (HEESCHEN, 1959).

A doença caracteriza-se por hematúria intermitente, anemia e emagrecimento (ROSENBERGER & HEESCHEN, 1960; ROSENBERGER, 1965; STAMATOVIC et al., 1965; PAMUKÇU et al., 1976; PRICE & PAMUKÇU, 1968; STÖBER, 1970; MUELLER et al., 1975; MAXIE, 1993). Intervalos sem sintomas podem ocorrer e perdurar por semanas ou meses, entretanto não se conhecem casos de cura definitiva se os animais permanecerem nos “locais de hematúria” (HEESCHEN, 1959). A gestação (“gravidez vermelha”) parece predispor à hematúria (ANGELOFF, 1910).

A melhora do animal pode ocorrer na fase inicial da doença, se os animais forem retirados dos pastos invadidos pela planta e receberem boa alimentação (STÖBER, 1970), todavia, se houver nova ingestão, a hematúria recomeça com rapidez (TOKARNIA et al., 2000).

A HEB é determinada por processos neoplásicos e/ou hiperplásicos da mucosa da bexiga, que variam desde alguns milímetros até vários centímetros de diâmetro (TOKARNIA et al., 2000). Em parte dos surtos observou-se, com frequência, a concomitância entre tumores de bexiga e de carcinomas epidermóides no trato digestivo superior (DOBĚREINER et al., 1967; TOKARNIA et al., 1969; CURIAL, 1964).

O exame histológico destes tumores revela diversos tipos neoplásicos de origem epitelial e mesenquimal, porém metástases são raras (TOKARNIA et al., 2000). Em alguns casos, a hematúria não está relacionada à presença de neoplasias, mas sim à congestão e à ectasia de vasos sanguíneos (TOKARNIA et al., 2000).

2.2.4 Quadro clínico-patológico da hematúria enzoótica bovina

A HEB observada em 89 bovinos e 4 búfalos na Turquia caracterizou-se por hematúria intermitente, de evolução progressiva, por semanas ou meses, micção frequente, anemia e debilidade. À necropsia de 20 vacas e 4 búfalos observaram-se congestão, focos de hemorragia e crescimentos vasculares na bexiga. Adicionalmente foram examinadas 266 bexigas de bovinos, coletadas em abatedouros; destas 26 tinham tumores. A histopatologia (de todos os casos, inclusive das bexigas de abatedouros) revelou papiloma, carcinoma papilar, adenocarcinoma, carcinoma infiltrativo, adenoma, hemangioma cavernoso, hemangioma capilar, fibrossarcoma, sarcoma de células redondas, leiomiossarcoma e angiossarcoma. Metástases não foram observadas (PAMUKÇU, 1955).

A hematúria crônica foi descrita em numerosas áreas da Colômbia e seus sintomas se resumiam à hematúria prolongada, com períodos de cura entremeados por agravamento do quadro, anemia e emagrecimento. Na necropsia foram verificados palidez da carcaça, edema, congestão e petéquias, acompanhados de espessamento da parede e de dilatação da bexiga; observaram-se ainda coágulos, nódulos com aspecto de

couve-flor, capilares “arborizados” e estruturas polipóides na mucosa da bexiga. Histologicamente havia proliferação epitelial do tipo “tumoral” ou “pseudotumoral”, cistite crônica, hemangiomas cavernosos, hemangiomas capilares e “processo granulomatoso” (LUQUE, 1960).

Os bovinos estudados em Paranavaí, PR, apresentaram, como sintomas principais, emaciação e coloração avermelhada da urina. Na bexiga observaram-se alterações inflamatórias crônicas, associadas a fenômenos proliferativos e, freqüentemente, também a neoplasias do epitélio ou a hemangiomas. As lesões neoplásicas da mucosa da bexiga consistiam de hemangiomas, papilomas, adenomas, carcinomas espinocelulares, carcinomas de células de transição e adenocarcinomas; freqüentemente diversos tipos tumorais coexistiam na bexiga do mesmo animal. Em associação à HEB, carcinomas epidermóides foram observados com freqüência na mucosa da base da língua e no espaço glosso-epiglótico (CURIAL, 1964).

O acompanhamento clínico-patológico de 1500 bovinos criados a campo, feito em vários municípios do Estado de São Paulo, durante 4 anos, evidenciou a ocorrência de uma doença que cursava com hematúria e melena, tempo de coagulação normal ou ligeiramente diminuído, menor nível de granulócitos e plaquetas; 100 animais morreram. A maior parte dos animais apresentou, segundo os autores, quadro similar ao observado na HEB, entretanto aqueles do Município de Avaré mostraram sintomas relacionados à forma aguda da intoxicação por *P. aquilinum* (nestes o tempo de coagulação era retardado). Na necropsia de parte dos animais verificou-se presença de massas, de diversos tamanhos, localizadas na bexiga, “algumas diagnosticadas como carcinomas” (LEE et al., 1966).

DÖBEREINER et al. (1967) reportaram hematúria crônica intermitente, emagrecimento e pelagem sem brilho em animais intoxicados por *P. aquilinum*. Foram necropsiados 10 animais provenientes de Minas Gerais, Espírito Santo e Rio de Janeiro e, adicionalmente, realizados exames histológicos em 11 materiais (sem bexiga) enviados de Santa Catarina, Minas Gerais e Espírito Santo. Na necropsia, os autores relataram a presença de cistos na medula do rim e nódulos vermelhos ou amarelados e estruturas pedunculadas e multilobuladas na bexiga. Ao exame histopatológico observou-se proliferação de capilares (6/10), infiltrados linfocitários difusos (5/10) e focais (1/10), hemorragia (1/10), proliferação de células epiteliais (1/10), hemangioma cavernoso (4/10), hemangioma capilar (2/10) e hemangioma parte capilar, parte cavernoso (1/10). Havia casos com tumores concomitantes no trato digestivo superior.

Já no Kenya verificou-se apenas hematúria não-febril, em nove vacas adultas, que se alimentavam de pasto contendo samambaia. Na necropsia destes animais, a bexiga estava 2 a 3 vezes aumentada de volume e apresentava hemorragias petequiais, equimoses e tumores pedunculados, semelhantes à couve-flor, medindo entre 2mm e 4 cm. Os tumores maiores eram friáveis e ulcerados. Um animal apresentou nódulos no fígado. Histologicamente foram descritos hemangiomas e carcinomas de células de transição. Hemangiomas também foram verificados no fígado, porém em alguns casos estes eram esquirrosos (MUGERA & NERITE, 1968).

Em seu estudo complementar, TOKARNIA et al. (1969), examinaram e necropsiaram 11 animais afetados pela HEB e pelos CVDS; adicionalmente exames histológicos foram feitos em 12 materiais recebidos, provenientes de Santa Catarina e do Rio de Janeiro. Os animais com HEB apresentavam hematúria intermitente crônica, palidez de mucosa e emagrecimento. À necropsia dos animais com HEB verificou-se, na bexiga, presença de sangue misturado à urina e formações micronodulares com aspecto de cacho de uva, com diâmetro de 2 a 3 mm, base larga, consistência firme e coloração acinzentada. Adicionalmente havia pequenos vasos cheios de sangue, pontos

vermelhos espalhados por toda mucosa e elevações rugosas na bexiga. Ao exame microscópico, das bexigas dos animais necropsiados, observaram-se proliferação capilar (5/11), infiltrado linfocitário (7/11), hemorragias (1/11), nódulos de tecido conjuntivo “embrionário” (3/11), hemangioma cavernoso (1/11), hemangioma capilar (1/11), adenocarcinoma (1/11) e adenocarcinoma com áreas de carcinoma simples (1/11).

Na Nova Zelândia, a ocorrência de intoxicação natural por *P. aquilinum* foi descrita em 13 vacas. A enfermidade cursava com anemia e hematúria, por vezes intermitente; edema subcutâneo foi observado em apenas um animal; à necropsia verificaram-se pequenos nódulos vermelhos e brilhantes, com aproximadamente 1 cm de diâmetro, localizados na bexiga. Em casos mais crônicos, as áreas lesadas eram maiores, coalescentes, com bordos menos distintos e mais hemorrágicos. Havia também nódulos “simples”, moles ou duros, de cor creme, geralmente com 1 cm de diâmetro. Em um caso ocorreu metástase para linfonodos abdominal e torácico e para o pulmão. Adicionalmente, foram verificados espessamento na parede da bexiga, edema e emaciação. Ao exame histológico, os autores evidenciaram hemangioma cavernoso e simples, hemangiossarcoma, papiloma de células de transição, carcinoma papilar de células de transição, adenocarcinoma de células de transição e carcinoma de células escamosas. Ainda havia acúmulo de células linfóides, acompanhado de proliferação vascular e hemorragia na lâmina própria. Corpos intracitoplasmáticos eosinofílicos, de tamanho variável, PAS (+) e Feulgen (-) foram observados no tecido epitelial neoplásico (SMITH & BEATSON, 1970).

TSUMURA et al. (1972) realizaram estudo clínico-patológico em 11 vacas afetadas pela HEB, no Japão. Os animais apresentavam hematúria e anemia. Foi observada “tumefação” da bexiga em todos os bovinos. As células tumorais puderam ser examinadas por citologia, através da urina e “swabs” da bexiga. Os tumores observados ao microscópio óptico correspondiam a carcinoma de células de transição, hemangioendotelioma, hemangioma, adenoma, papiloma, independentes ou associados.

Na Índia, avaliações bioquímicas e hematológicas foram realizadas em 20 bovinos com hematúria, nos quais observaram-se linfocitose, neutropenia, anemia progressiva, aumento da fragilidade de eritrócitos, hematúria, redução do hematócrito e do conteúdo de hemoglobina. Em adição, os autores descreveram decréscimo da albumina, aumento da fração globulina, diminuição dos níveis de cálcio e fósforo e aumento da creatinina e da fosfatase ácida (SINGH et al., 1973).

No Japão, a HEB, reportada em 30 bovinos nativos, cursava com hematúria crônica e anemia, acompanhadas por tumores císticos. Hemangiomas, hemangioendoteliomas, adenocarcinomas e carcinoma de células de transição, solitários ou associados, acompanhados por urocistite, foram diagnosticados histologicamente. Hemorragia foi observada nas proximidades da tumoração e também em outras áreas da mucosa da bexiga. Em alguns casos mais agudos e severos, os animais apresentavam anemia, acompanhada de cistite hemorrágica, complicada por nefrite supurativa e piroplasmose (MAEDA et al., 1974).

PAMUKÇU et al. (1976) realizaram estudos de tumores de ocorrência natural e induzidos experimentalmente na Turquia. Por hora trataremos apenas dos casos naturais, nos quais foram estudados 129 vacas e 7 búfalos d’água, porém apenas 67 animais foram abatidos e necropsiados; adicionalmente foram examinadas 72 bexigas com tumores, coletadas em abatedouros de áreas enzoóticas para hematúria, estudados assim um total de 139 animais com tumores de bexiga de ocorrência natural. Os sinais clínicos variaram de acordo com o estágio da doença e com a ocorrência de obstrução e infecções secundárias do trato urinário. Vinte e um de 136 animais apresentaram, como sinal cardinal, macrohematúria, com duração de semanas a meses; esta caracterizava-se

por curso progressivo com períodos freqüentes remissões. Dois búfalos tinham papilomas verrucosos e pequenos nódulos na pelve renal e no ureter. Os tumores de bexiga, com freqüência, tinham forma polipóide, fungóide ou papilar e freqüentemente foram encontrados em mais de uma área. Cerca de 24% dos tumores eram papilomas. Carcinomas, simples ou múltiplos, perfaziam 69% de todos os tumores epiteliais. Hemangiomas foram os tumores não-epiteliais mais freqüentes e sendo observados em vários pontos da mucosa da bexiga e também na pelve renal e nos ureteres. Dez por cento dos carcinomas metastizaram para os linfonodos ilíacos e em 3 animais também para o pulmão. Trinta e cinco por cento eram tumores epiteliais; tumores epiteliais benignos eram representados por papilomas e adenomas de células de transição e os malignos por carcinoma de células de transição (mais freqüente), simples ou com áreas escamosas e glandulares, carcinoma epidermóide, carcinoma indiferenciado e por adenocarcinoma; os adenocarcinomas formavam estruturas glandulares de tamanhos diversos, revestidas por epitélio colunar ou cuboidal, secretoras de muco. Fibroma, hemangioma, hemangioendotelioma, leiomiossarcoma, sarcoma de células redondas e fibrossarcomas foram os tumores não-epiteliais (9%) observados. Parte dos tumores eram mistos (54%), por exemplo, fibrocarcinoma, papiloma com hemangioma, carcinoma de células transicionais com hemangioma (também denominado pelos autores como carcino-hemangioma) e outras combinações.

Em estudo realizado no Japão (MAEDA et al., 1977), treze vacas com hematúria foram examinadas por endoscopia; esses animais apresentaram sintomas pelo período de 1 mês até 3 anos. As estruturas observadas, à endoscopia, com seu respectivo diagnóstico histológico, foram as seguintes: nódulos vermelhos (hemangioma cavernoso), crescimentos de aspecto papilado (carcinoma de células de transição), elevações sob forma de colinas (lesões pré-cancerosas) e estruturas vesiculares avermelhadas e hemorragia (hemangioma em fase inicial de crescimento).

Na Colômbia, foram documentadas alterações clínico-patológicas relativas à hematúria enzoótica bovina em 47 animais mantidos em seu local de origem e em 8 animais, que foram estabulados e receberam alimentação livre de samambaia. A sintomatologia caracterizou-se por hematúria, anemia e emagrecimento; 76% dos animais não-estabulados apresentavam macrohematúria e 23,4% microhematúria, enquanto que dos estabulados, 7 evidenciaram macrohematúria e apenas um, microhematúria. Em 3 animais estabulados, os sintomas desapareceram, porém os outros 5 morreram ou foram sacrificados "in extremis". À necropsia, dois animais estabulados apresentaram palidez de mucosas e órgãos, pneumonia e edema por decúbito, proliferação vegetativa na parede da bexiga, edema subcutâneo, degeneração da gordura peritoneal, exsudato seroso na cavidade abdominal, pielonefrite bilateral, edema, hemorragia e membranas cruposas na parede da bexiga. Não foram feitos estudos histopatológicos (RAVE et al., 1978).

MAEDA (1978a), em estudo histopatológico de 33 casos de HEB, realizado no Japão, observou as seguintes neoplasias: 29 angiomas, 16 carcinomas de células de transição, 8 endoteliomas vasculares, 5 papilomas, 3 adenocarcinomas, 2 adenomas, 1 carcinoma escamoso e 1 fibroma. Dois ou mais destes tumores foram observados em 18 animais. Adicionalmente havia hiperplasia e várias alterações metaplásicas de células epiteliais, proliferação e dilatação de vasos sanguíneos periféricos e hemorragias.

Dos 18 animais observados por SOUZA & GRAÇA (1993) no Rio Grande do Sul, 10 apresentaram tumores de bexiga e hematúria intermitente ou constante, com urina de coloração marron-escuro ou vermelha e evolução lenta e progressiva. À necropsia a bexiga continha urina sanguinolenta, a mucosa estava avermelhada e com

nódulos de aspecto hemorrágico, de 1,5 a 2 cm de diâmetro, em geral sésseis; um animal apresentava formação papilomatosa de coloração rósea. Observaram-se ainda ulceração e pontos hemorrágicos na mucosa da bexiga. Microscopicamente foram identificados 9 hemangiomas, um hemangiossarcoma, um carcinoma e um papiloma. Em 3 animais foram verificados tumores simultâneos de bexiga e CDVS.

2.2.5 Ocorrência natural de hematúria enzoótica em ovelhas

A hematúria enzoótica, embora com frequência bem menor, já foi registrada em ovinos (HARBUTT & LEAVER, 1969; MAXIE, 1993).

Na Austrália documentou-se a ocorrência de neoplasias de bexiga em ovinos, associada à ingestão de *P. esculentum*. Um total de 450 ovinos de 4 anos de idade ingeriram essa planta por 18 meses. Destes, 25 morreram, parte dos quais com severa postite. Mais tarde 5 animais desenvolveram hematúria e, meses depois, 34 animais morreram. Anemia normocítica hipocrômica, leucocitose e neutrofilia relativa foram os principais sinais hematológicos. A urina estava avermelhada, com o pH elevado e havia proteinúria. À necropsia, as lesões se caracterizaram por postite, “atrofia ou degeneração cística do rim”, dilatação do ureter, edema e hemorragia na parede da bexiga; ulceração e nódulos altamente vasculares, polipóides e múltiplos também foram evidenciados na mucosa da bexiga. Ao exame histológico, o epitélio da bexiga estava proliferado e espessado e apresentava alterações metaplásicas, além de “formações alveolares”. Cordões de “tecido epitelial” estendiam-se pela própria; figuras de mitose e variação no tamanho do núcleo foram observadas com frequência, porém não havia metástases. As lesões foram consideradas pelos autores como carcinomas (HARBUTT & LEAVER, 1969).

2.2.6 Intoxicação por outras “samambaias” em bovinos

Entre 1960 e 1976, a HEB foi observada em sete localidades de Queensland, Austrália, associada à ingestão de *Cheilantes sieberi* e, em três outras propriedades vinculada à presença de *P. esculentum*. Esta investigação fortaleceu as evidências de que *P. esculentum* também poderia provocar HEB na Austrália, porém o autor deixou claro que a maior causa dessa enfermidade em bovinos de Queensland seria *C. sieberi*. A enfermidade cursava com hematúria, anemia, caquexia, edema submandibular e ascite. Na necropsia verificaram-se palidez tecidual, reservas de gordura diminuídas, ascite, edema submandibular e urina marron ou avermelhada. A bexiga encontrava-se congesta, edemaciada, hemorrágica e com pólipos sésseis negros ou nódulos discretos. Dois animais apresentaram lesões hepáticas diagnosticadas com hemangiomas hepáticos; a possibilidade de serem focos de teleangiectasia foi descartada pelo autor. Adenoma, papiloma, carcinoma de células de transição, hemangiossarcoma, hemangioma e fibroma foram os tipos neoplásicos evidenciados pela microscopia (McKENZIE, 1978).

2.2.7 Reprodução experimental da HEB em animais de produção

Alguns estudos anteriores foram realizados visando a reprodução do quadro clínico-patológico observado na HEB, entretanto o primeiro ensaio a reproduzir a hematúria em bovinos foi realizado por ROSENBERGER & HEESCHEN (1960), que alimentaram com *P. aquilinum*, 5 bovinos de diversas idades, oriundos de locais livres de HEB, por 15 meses; durante os primeiros 7 meses os animais ingeriram 2-3 kg de *P.*

aquilinum fresca por dia, e após esse período, 1,7 kg dessa planta fenada, diariamente. Mais ou menos um 1 ano após o início do experimento notou-se, em dois animais, a presença de eritrócitos no sedimento da urina (microhematúria). Um mês após esse achado, a urina de um bovino de 2 anos tornou-se bem turva e 2 semanas depois vermelha cor-de-sangue. A endoscopia revelou pequenos locais de hemorragia na mucosa, dos quais, em parte saíam estrias de sangue que conduziam a “lagos” de sangue depositado. Logo depois, a hematúria começou nos outros 4 animais, entre 14 e 15 meses após o início do experimento. Aproximadamente 7 semanas depois do início dos sintomas, a anemia afebril ficou bastante pronunciada e o animal de 2 anos morreu. Nos 4 animais restantes, a enfermidade diferenciou-se, pois depois de um estágio de hematúria, sem alterações do estado geral, os animais evidenciaram, de súbito, febre elevada (40 a 41° C), com anorexia total e morte em 2 a 3 dias. Esses animais não tiveram anemia significativa, porém apresentaram acentuada leucopenia, agranulocitose, linfocitose relativa e forte queda na taxa de trombócitos. Concluiu-se então que a HEB não poderia ser a causa da morte desses animais, e sim que esta fora causada pela intoxicação aguda por *P. aquilinum*. Os principais achados anátomo-patológicos no bovino que desenvolveu a forma “característica” da HEB foram acentuada anemia, raras hemorragias no coração e na traquéia e edema, focos hemorrágicos proeminentes e proliferações de cor vermelho-claro na parede da bexiga. O estudo histopatológico da bexiga deste animal revelou proliferação epitelial focal, coleções de linfócitos e proliferação adventicial. Nos outros animais, à necropsia, além das discretas lesões de bexiga, que se caracterizaram por edema da parede e leves hemorragias focais na mucosa, verificaram-se também diátese hemorrágica generalizada e enterite hemorrágica. Histologicamente notou-se, na bexiga, proliferação de células endoteliais, descamação epitelial, edema da parede, hemorragias subepiteliais, infiltração inflamatória linfo-leucocitária e infiltração adventicial por histiócitos e linfócitos.

Em virtude da maioria dos animais terem morrido de DH nos experimentos de 1960, ROSENBERGER (1965) realizou outros experimentos, em mais 4 bovinos, nos quais a administração da planta aos bovinos era reduzida ou suspensa periodicamente. Três bovinos de 2 anos receberam diariamente, mais ou menos 2kg de feno de samambaia. Oito meses e meio após, um animal apresentou microhematúria, algum tempo depois essa alteração também foi detectada nos outros animais. Apesar da redução da quantidade de *P. aquilinum* na alimentação, para 1/2 kg ou até mesmo 3/4 kg por dia, um animal morreu de DH, depois de ter apresentado hematúria por 2 meses. Suspendeu-se então a administração de *P. aquilinum* por 1 mês, até a urina dos animais restantes apresentar coloração normal. Após esse período, os bovinos voltaram a receber 1/2 kg ou 3/4 kg de *P. aquilinum* por dia e, depois de 3 e 5 semanas a hematúria recomeçou, entretanto também esses animais morreram de DH, 6 ½ meses e 21 meses depois do início da hematúria. A histopatologia revelou lesões “idênticas”, só variáveis pela intensidade, às observadas nos casos de hematúria vesical. Por fim, um último experimento foi realizado, em uma vaca jovem (último dos 4 animais), que recebeu doses entre 0,5 kg/dia a 1,5 kg/dia, com períodos de suspensão. A microhematúria iniciou 9 meses após o início do experimento, acontecimento que levou a suspensão definitiva da administração da planta. A urina permaneceu turva, variando entre levemente avermelhada e vermelho-escura. Apesar da suspensão da administração, o animal seguiu apresentando hematúria variável, por mais 22 meses, período após o qual cresceram proliferações de aspecto tumoral, do tamanho de uma ervilha e de coloração vermelho-escura ou vermelho-enebrecida na mucosa da bexiga.

Através da administração diária de pequenas quantidades de *P. aquilinum* (0,5-1kg/dia), a 5 bovinos, com idades variando entre 6 meses e 8 anos, STAMATOVIC et

al. (1965) reproduziram os sinais clínicos e alterações de bexiga típicas da HEB, em 3 bovinos. Com relação aos animais restantes, um deles tinha somente alterações hematológicas (sem hematúria) e o outro foi acometido por pielonefrite bacteriana intercorrente; este último, apesar de não desenvolver hematúria, apresentou lesões na mucosa da bexiga, semelhantes às observadas na HEB. Os animais intoxicados tiveram diminuição do número de eritrócitos, leucócitos e da quantidade de hemoglobina, associada à trombocitopenia.

Adicionalmente à descrição de casos de HEB de ocorrência natural, LEE et al. (1966) realizaram experimentos administrando as partes aéreas e rizomas dessecados e macerados de *P. aquilinum*, por via oral, a 6 bovinos e 2 ovinos. Durante 250 dias, os bovinos ingeriram doses diárias de 1 a 2 kg, de *P. aquilinum*. Estes animais não apresentaram hematúria, apenas alopecia e parte do quadro relacionado à intoxicação aguda, entretanto nada foi observado na necropsia ou ao exame microscópico. Também nos ovinos, em 120 dias de experimento, nada foi observado à necropsia ou no exame microscópico.

Em 1967, PAMUKÇU et al. reproduziram o quadro clínico-patológico da hematúria enzoótica pela administração de 300 a 600g de *P. aquilinum* seca ou 100 a 400g da planta fresca, a 18 vacas com idades variando entre 1,5 a 4 anos. O tempo mínimo de ingestão para provocar micro-hematúria foi de 67 dias. Além de alterações clínico-patológicas relacionadas à diátese hemorrágica, em 3 animais foram observados diversos tumores macroscopicamente caracterizados por placas vermelho-escuras, de vários tamanhos, algumas de consistência firme e nódulos sésseis múltiplos, firmes, de coloração esbranquiçada. Em 7 animais, as neoplasias de bexiga só foram observadas ao exame microscópico, sendo descritos crescimento vascular, "placas congestionadas", focos hemorrágicos, papilomas, hemangioma capilar, hemangioendotelioma, carcinoma de células de transição, papiloma de células de transição, fibroma e carcinoma de células escamosas. Os carcinomas ocorreram, sobretudo, em animais que sobreviveram por mais tempo (936 dias). Dois carcinomas invadiam a parede da bexiga.

Logo a seguir, PRICE & PAMUKÇU (1968) induziram à formação de tumores na bexiga de bovinos. Nestes experimentos, 7 bovinos foram alimentados diariamente com *P. aquilinum* (200 a 300g/dia da planta seca) por 510 a 1920 dias. Todos os bovinos apresentaram hematúria por meses ou anos, e adicionalmente, demonstraram também mudanças hematológicas (diminuição progressiva de células brancas e plaquetas). O exame *post mortem* revelou hemorragias no tecido subcutâneo dos pré-estômagos, na mucosa do trato alimentar e no coração. Sangue livre foi observado no intestino grosso de alguns animais. Em todos os animais observaram-se múltiplas hemorragias que se estendiam do cálice renal até a uretra. Na bexiga de 6 animais, a parede encontrava-se espessada, com focos de hemorragia puntiformes e nódulos sésseis ou com aspecto de couve-flor. Centenas de lesões neoplásicas achatadas, algumas alcançando 2-3 cm de comprimento, foram observadas causando retenção urinária na bexiga. O exame microscópico evidenciou carcinoma de células de transição (4/6), adenocarcinoma mucoso (1/6), hemangioma (4/6), hemangioendotelioma (1/6) e papilomas (5/6).

Em Campinas, SP, 25 bezerros mestiços, de 12 a 16 meses de idade, divididos em 5 lotes, sendo um controle, foram alimentados inicialmente, com *P. aquilinum* fenado (300 a 600 g/ animal/ dia) ou fresco (400 a 1000 g/animal/dia), durante 20 meses. Posteriormente, os autores retiraram um animal de cada lote e com estes formaram um outro lote de 5 animais que continuou recebendo *P. aquilinum*, fresco (2000g/dia/animal) e fenado (1200g/animal/dia), em maior quantidade, até que se completasse 36 meses de experimentação; a planta foi coletada em Pirassununga, em

locais de ocorrência de HEB. Nenhum animal desenvolveu sintoma durante os 36 meses de experimento, porém um deles apresentou sangue oculto na urina um mês após a suspensão do experimento. Sete outros animais, abatidos 34 e 114 dias após o término do experimento, apresentaram lesões hemorrágicas e edema na bexiga. Os principais achados histológicos foram hemorragia, congestão passiva na lâmina própria da bexiga e cistite hemorrágica crônica (MULLER et al., 1975).

Na Turquia, PAMUKÇU et al. (1976) realizaram experimentos com 30 vacas (gado nativo), com idades entre 1,5 e 4 anos, alimentando-as com *P. aquilinum*. Sete dos 30 animais receberam grandes quantidades de *P. aquilinum* e morreram em menos de 1 ano. Vinte dos 30 bovinos desenvolveram sinais clínicos e tumores na bexiga semelhantes aos da ocorrência natural. Hematúria foi intermitente em 14 e contínua em 9 animais. A duração da hematúria variou de poucos dias até meses. Muitos bovinos foram acometidos pelos sinais típicos da DH. Vinte animais desenvolveram tumores na bexiga urinária entre 276 a 1920 dias; 13 neoplasias foram vistas macroscopicamente e 7 observadas apenas na microscopia. Adicionalmente observaram-se hemorragias petequiais e difusas dos cálices renais até a uretra e sangue na urina. As características histológicas dos tumores (papiloma, carcinoma de células de transição, hemangioma, hemangioendotelioma, fibroma, fibrossarcoma e carcinoma de células escamosas) foram indistinguíveis das observadas nos casos de ocorrência natural. Carcinomas foram os tumores mais frequentes.

Em 1978, fez-se uma investigação sobre a etiologia da hematúria vesical bovina no Japão. O autor concluiu que *P. aquilinum* era a causa da HEB, após reprodução de tumores vesicais em bovinos alimentados com cerca de 300 ~ 1.200g da planta fresca ou seca, diariamente, por mais de 2 anos (MAEDA, 1978b).

Na Inglaterra, McCREA & HEAD (1981) reproduziram hematúria em ovelhas Cheviot, alimentadas com *P. aquilinum* seco e incorporado à ração, na dose de 0,9 kg/ovelha/semana; a duração do experimento foi de 5 anos. Foram utilizadas 8 ovelhas, de 5 meses de idade, das quais uma morreu de intoxicação aguda, após 45 meses. Todas as outras desenvolveram tumores de bexiga; 3 morreram após 26, 26 e 34 meses; duas foram sacrificadas "in extremis" após 37 e 59 meses e em dois outros animais, os tumores foram observados no final do experimento, após 62 meses. A evolução variou de 1 mês a 2 anos e 9 meses. Clinicamente estes animais apresentavam marcada perda de peso, declínio de leucócitos e de plaquetas, hematúria e uremia. Foram observados, macroscopicamente, na maioria dos animais, tumores vesicais sésseis e pedunculados, em forma de couve-flor, hidronefrose e ascite. O exame histopatológico da bexiga revelou carcinoma de células de transição (5), com metaplasia glandular (4), com presença de melanócitos (1), carcinoma de células de transição multicêntrico (2), carcinoma indiferenciado multicêntrico (1) e leiomiossarcoma (1). Adicionalmente evidenciaram-se cistite hemorrágica (5), hidronefrose (4) e postite (2).

2.2.8 Reprodução experimental em animais de laboratório e outros

De 13 porquinhos-da-índia de 6 semanas de idade suplementados com *P. aquilinum* por um período de 77 dias, nove desenvolveram hemorragias intermitentes na bexiga urinária, entre 17 e 28 meses após o início do experimento e um dos animais apresentou adenocarcinoma no jejuno, após 23 meses do início de experimento. Na histopatologia verificou-se hiperplasia urotelial com evolução para proliferação papilomatosa ou para carcinoma ou adenocarcinoma papilar. Carcinoma infiltrante e carcinoma de células de transição, freqüentemente, apresentaram metaplasia escamosa e glandular (EVANS, 1968).

De cinco coelhos alimentados com "pellets" de *P. aquilinum*, por 11 semanas, dois desenvolveram severa condição hemorrágica na bexiga, um ano após o início do experimento (EVANS, 1968).

PRICE & PAMUKÇU (1968), além de induzirem à formação de adenocarcinomas no íleo de 13 ratos, após 8 meses do início do experimento, através de dietas ("pellets") contendo 1/3 de *P. aquilinum*, verificaram que 6 destes apresentavam concomitantemente tumores macroscópicos na bexiga. PAMUKÇU & PRICE (1969) fizeram estudos mais aprofundados das neoplasias de bexiga em ratos e obtiveram tumores em 31 animais, de um total de 90, alimentados com dietas ("pellets") contendo 1/3 de *P. aquilinum*, por 29 semanas. Nestes animais foram observados 31 tumores intestinais e 10 neoplasias de bexiga urinária, estas últimas ocorreram concomitantemente. Ao exame histológico, os tumores de bexiga foram classificados como carcinomas de células escamosas, carcinoma de células de transição e papilomas.

No Japão, a administração de dietas contendo 1/3 de *P. aquilinum* por quatro meses, reproduziu apenas papiloma de bexiga urinária em um animal, em contrapartida 100% dos ratos apresentavam tumores no íleo (HIRONO et al., 1970).

Em 1975, estudos experimentais foram realizados em dois grupos de porquinhos-da-índia. O grupo número I, constituído por 14 porquinhos-da-índia, com 2 meses de idade, foi alimentado por 5,5 meses, com 10-30% de *P. aquilinum* seco e alimentação normal por 7 meses. O grupo número II, formado por 10 animais, com 15 dias de idade, foi alimentado por 4 meses, com 33-50% da planta fresca e alimentação normal por 12 meses. Nove animais do grupo I e 7 animais do grupo II, que sobreviveram por um período prolongado, apresentaram proliferações epiteliais e vasculares na bexiga. Quatro dos 16 animais apresentaram carcinomas de células de transição, 9 desenvolveram carcinomas intra-epiteliais, um teve adenocarcinoma e dois tinham hemangiomas. Hiperplasia epitelial, atipia epitelial e ninhos de epitélio de transição (ninhos de Brunn) foram observados e considerados como lesões pré-cancerosas. Em poucas bexigas foram verificadas metaplasia escamosa ou glandular e "alterações" papilares. Em 13 dos 16 animais havia dilatação vascular e capilar. Nove animais mostraram hemorragias na mucosa da bexiga e 11 animais, cistite crônica. Um dos 16 animais apresentou adenoma no intestino delgado (MAEDA, 1975).

Evidências indiretas da atividade carcinogênica de *P. aquilinum* foram observadas por GEORGIEV et al. (1963) que, utilizando extrato de urina de bovinos, oriundos de distritos onde ocorria hematúria, produziram lesões semelhantes a hemangiomas, mediante introdução por sonda desse extrato na bexiga de cães. Por outro lado, a aplicação do mesmo extrato na pele de camundongos brancos induziu à formação de papilomas.

2.3 Diátese Hemorrágica (DH)

2.3.1 Epidemiologia

De acordo com EVANS et al. (1954a), surtos de intoxicação aguda por samambaia são esporádicos, geralmente com morbidade baixa e alta mortalidade. Em certas épocas do ano, os surtos podem alcançar grandes proporções em algumas fazendas. A incidência da doença é mais alta no final do verão, presumivelmente após os animais terem ingerido grandes quantidades da planta. Escassez de pastagem, clima adverso, carência de material fibroso ou superpopulação em pastos pequenos poderiam

desencadear a intoxicação; adicionalmente, os autores citam que alguns animais desenvolveriam um gosto especial pela ingestão da planta (vício). A síndrome hemorrágica aguda em geral estaria associada com o consumo da brotação, que é mais tóxica que as outras partes aéreas da planta.

A DH afeta animais jovens e adultos, porém atinge mais frequentemente animais de até 2 anos (TOKARNIA et al., 1967), quando estes ingerem diariamente quantidades maiores que 10g/kg da planta, durante algumas semanas a poucos meses (TOKARNIA et al., 2000). Os sinais clínicos têm início de 3 semanas, após o início da ingestão, até 8 semanas depois da última ingestão da planta (EVANS et al., 1954a, EVANS & EVANS, 1961; STÖBER, 1970).

Como há leucopenia, os animais ficam mais susceptíveis à infecção bacteriana e à septicemia (EVANS, 1964).

Embora os ovinos sejam mais resistentes do que os bovinos à síndrome hemorrágica aguda, casos naturais (PARKER & McCREA, 1965; SUNDERMAN, 1987) e experimentais (MOON & RAAFAT, 1951; McCREA & HEAD, 1981; SUNDERMAN, 1987) têm sido reportados. Alguns autores acreditam que o hábito alimentar mais seletivo dos ovinos e a ingestão de menor quantidade de samambaia, seriam responsáveis por essa menor incidência (MOON & RAAFAT, 1951; SUNDERMAN, 1987).

2.3.2 Histórico e estabelecimento da etiologia

Em 1893, na Inglaterra, depois de uma severa seca, ocorreu o primeiro surto descrito de síndrome hemorrágica aguda em bovinos (PENBERTHY, 1893; STORRAR, 1893). No ano seguinte, concluiu-se que a etiologia deste surto estaria associada a *P. aquilinum* (ALMOND, 1894). Subseqüentemente, ensaios feitos para comprovar esta hipótese falharam, e semelhantes resultados, associados à suspeita de que a enfermidade seria carbúnculo hemático, complicaram os estudos sobre a etiologia da DH (FENWICK, 1988).

No início da década de 50, descreveu-se a DH na Georgia, Estados Unidos e esta foi associada a intoxicação por *P. aquilinum* (SIPPEL, 1952). Estudos mais detalhados, inclusive experimentais, realizados por EVANS et al. (1954abc, 1958a) e NAFTALIN & CUSHNIE (1954), finalmente determinaram que *P. aquilinum* era a causa da DH.

Em 1958, concluiu-se que a tiaminase não seria o princípio de *P. aquilinum* causador da DH, uma vez que em experimentos com *Equisetum arvense*, planta que possui uma tiaminase comparável a de *P. aquilinum* e com bactérias que produzem tiaminase (*Bacillus thiaminolyticus* e *Clostridium thiaminolyticum*), não se reproduziu DH em bovinos; o extrato solúvel de *P. aquilinum*, extraído através de etanol quente, porém foi capaz de reproduzir o quadro (EVANS et al., 1958a). Além disso, notou-se que as alterações causadas pela DH não eram modificadas pela suplementação com tiamina (FENWICK, 1988).

Em 1967, relatou-se a ocorrência de mortandades causadas por *P. aquilinum* no Brasil (TOKARNIA et al., 1967) e um ano após, na África do Sul (TUSTIN et al., 1968).

A intoxicação aguda por *P. aquilinum* também foi descrita no Reino Unido (PARKER & McCREA, 1965), na Nova Zelândia (HICKMAN, 1910) e na Austrália (SUNDERMAN, 1987).

2.3.3 Quadro clínico-patológico da doença natural

Na Geórgia (EUA), inicialmente, SIPPEL (1952) descreveu que a ingestão de *P. aquilinum* causava um tipo acumulativo de intoxicação e que os sintomas lembrariam aqueles das doenças infecciosas, incluindo febre, hemorragias petequiais e equimóticas difusas e presença de sangue nas fezes. Neste trabalho fez-se também referência a dois diferentes tipos de quadros clínicos. O **tipo entérico**, seria o mais freqüente em animais mais velhos, cursando com depressão, perda de apetite, hipertermia marcada, pulso fraco, enterite com sangue, conjuntiva pálida e hemorragias nas membranas mucosas dos olhos, narinas, vagina e ânus. O **tipo laringítico**, que afetaria mais animais novos, cursaria com tumefação da região da garganta, dificuldade de respirar, "ronqueira", aumento dos movimentos respiratórios e hipertermia.

Além dos muitos trabalhos experimentais (EVANS et al. 1954 a,b), EVANS et al. (1954c) também descreveram a ocorrência de dois surtos de intoxicação natural por *P. aquilinum* em bovinos. No primeiro surto, 22 bovinos jovens apresentaram hemorragias na mucosa das narinas, da vulva, do reto e na conjuntiva, febre, fezes contendo sangue e perda da condição corporal. No exame "post-mortem" verificou-se o típico quadro de DH. O último animal morreu cerca de 7 a 8 semanas após ter acesso direto a *P. aquilinum*. O segundo surto envolveu 15 bovinos; os animais apresentaram leucopenia e trombocitopenia, associadas a lesões típicas de intoxicação aguda por *P. aquilinum*.

O diagnóstico de DH foi estabelecido em diversas mortandades nos Estados de São Paulo, Rio de Janeiro e Minas Gerais. Os animais afetados tinham entre 6 meses e 5 anos, sendo maior a ocorrência em animais até 2 anos. A evolução variou de 6 horas até 15 dias, porém na maioria dos casos era aguda. A doença cursava com febre, inapetência, anorexia, parada da ruminação, hemorragias cutâneas e nas mucosas, fezes com sangue, diarreia fétida, respiração ofegante e úlceras na boca. Na necropsia observaram-se, além das alterações acima citadas, hemoperitônio e hemotórax, hemorragias em serosas, úlceras e coágulos no cólon, fígado pontilhado de amarelo, petéquias na mucosa intestinal e na bexiga e hemorragias inter e intra-musculares. A histopatologia evidenciou rarefação do tecido hematopoiético e focos de necrose com hemorragia no fígado (TOKARNIA et al., 1967).

Casos de intoxicação natural também foram observados em ovinos. PARKER & McCREA (1965) necropsiaram 43 ovelhas, provenientes de fazendas invadidas por *P. aquilinum*, na Inglaterra, das quais 16 animais apresentaram síndrome hemorrágica aguda; adicionalmente foram realizados exames sanguíneos, em 5 ovelhas e os resultados foram compatíveis com os observados na intoxicação aguda por *P. aquilinum*.

Na Austrália, ovinos intoxicados por *P. esculentum*, apresentaram o quadro de intoxicação aguda, após ingerirem grande quantidade da brotação por muitos meses. Os sintomas eram caracterizados por perda de peso, letargia, depressão, intolerância ao exercício, anemia e diarreia. Os animais apresentaram anemia normocítica normocrônica e leucopenia. De um rebanho de 450 animais (Merino), 120 morreram. Na necropsia de dois animais observaram-se petéquias e equimoses em vários tecidos e, ao exame histopatológico, havia enterite linfo-plasmocitária aguda necrotizante, necrose paracentral hepática, hemossiderose esplênica, pneumonia fibrinosa difusa e degeneração da série eritróide e mielóide da medula óssea (SUNDERMAN, 1987)

2.3.4 Reprodução experimental

A lesão fundamental em bovinos, a *destruição da medula óssea*, levando à leucopenia aguda e trombocitopenia, bem como alterações na mucosa intestinal, foram demonstradas experimentalmente (EVANS et al., 1954a,b; NAFTALIN & CUSHNIE, 1954).

EVANS et al. (1954a) utilizaram bovinos de 16 a 18 meses de idade, divididos em 3 grupos: os animais do grupo A receberam *P. aquilinum* puro (total: 260,9 e 273,6 kg) por 70 e 73 dias, os do grupo B ingeriram *P. aquilinum* (total: 210,19 e 228,3 kg) e levado durante 58 e 63 dias e os bovinos do grupo C apenas aveia e feno; somente os animais que receberam aveia e feno sobreviveram. Descarga aquosa nas narinas, tremores em músculos superficiais, presença de sangue nas fezes, febre e fraqueza foram os sinais observados nos animais que adoeceram. Nesse mesmo estudo, em outros experimentos com animais de aproximadamente 6 meses, todos os 6 bovinos que receberam somente *P. aquilinum* (total: 57,07 - 152,2 kg/12 a 50 dias) adoeceram e morreram, todavia um animal que recebeu *P. aquilinum* e melão (total: 154,02 kg/40 dias) e dois outros que ingeriram *P. aquilinum* autoclavado a vapor e melão (total: 154,02 kg/40 dias) sobreviveram, sem apresentar sintomas. Os sintomas nos animais afetados incluíam perda de apetite, descarga nasal copiosa, por vezes sanguinolenta, dificuldade respiratória e temperatura elevada; a morte geralmente ocorria após poucas semanas do início dos sintomas (EVANS et al., 1954a).

Em outro trabalho, 8 bovinos com aproximadamente um ano foram divididos em 4 grupos, que consumiram de 135,9 a 339,75 kg de *P. aquilinum* puro, autoclavado a vapor ou com melão, durante 56 a 84 dias; só sobreviveram os animais que receberam *P. aquilinum* autoclavado à vapor. A sintomatologia destes animais foi caracterizada por severa leucopenia, especialmente de granulócitos, trombocitopenia, hematúria, febre e hemorragias nas mucosas. As alterações observadas histologicamente foram “mudanças hipoplásicas” no tecido mielóide e desaparecimento de megacariócitos (EVANS et al., 1954b).

NAFTALIN & CUSHNIE (1954) também administraram grandes quantidades de *P. aquilinum* a bovinos, visando obter a reprodução experimental da intoxicação aguda por esta planta. Além de hemorragias em diversos órgãos, encontraram úlceras nos pré-estômagos e no intestino, focos de necrose no fígado e hipoplasia da medula óssea esternal.

Casos de DH experimentalmente induzidos em bovinos, foram tratados com sucesso com álcool batílico (EVANS et al., 1958b). No surto observado por TUSTIN et al. (1968) na África do Sul, tratamento com transfusão de sangue e terapia intravenosa com sulfato de protamina também apresentaram bons resultados.

Também foi feito experimento em bovino com leite de duas vacas que receberam *P. aquilinum* por um período longo; o leite destes animais foi dado a um bezerro que posteriormente apresentou diminuição na produção de leucócitos e plaquetas e presença de pequena quantidade de sangue e muco nas fezes, alterações semelhantes às que ocorrem na intoxicação aguda direta causada por *P. aquilinum* (EVANS et al., 1971, 1972).

Em 1951, os sintomas de DH foram reproduzidos em ovelhas alimentadas com a planta fresca (64 e 66 dias) e artificialmente seca (16, 33 e 70 dias); entretanto os ovinos não apresentaram o quadro clínico-patológico de DH quando alimentados com cubos de farinha de *P. aquilinum* prensada, em doses relativamente altas (1,38 kg/dia/44 dias) (MOON & RAAFAT, 1951).

Em um cordeiro de 8 semanas, que recebeu extrato de *P. aquilinum* contendo o equivalente a 600 g da planta seca por dia, WIDDOP (1967) reproduziu a “clássica síndrome gastrointestinal” e marcada leucopenia e trombocitopenia.

McCREA & HEAD (1981), na tentativa de induzirem a tumores em ovelhas, reproduziram DH em uma delas. Este animal recebeu broto de *P. aquilinum* seco, durante 45 meses. Febre, severa dispnéia e descarga nasal foram os sintomas observados. Os achados de necropsia incluíam hemorragias subcutâneas, hemorragia e aumento de linfonodos, hidrotórax, hidropericárdio, extensa “consolidação vermelha” do pulmão e dilatação cardíaca. Histologicamente, os tecidos apresentavam vasos dilatados e hemorragia.

Em estudo complementar com ratos (EVANS et al., 1958a), dietas contendo *P. aquilinum*, induziram à leucopenia e trombocitopenia transitória, por vezes com hemorragias petequiais em membranas mucosas.

Em cobaias, experimentos com partes aéreas e rizomas dessecados de *P. aquilinum* determinaram aplasia de medula óssea, determinada através de mielografia (LEE et al., 1966).

2.4 Carcinomas das Vias Digestivas Superiores (CVDS)

2.4.1 Epidemiologia

Nas diversas regiões do Brasil, onde os pastos são severamente invadidos por *P. aquilinum*, existe uma alta incidência de carcinomas epidermóides das vias digestivas superiores de bovinos, tumores que são raros com essa localização anatômica e em áreas onde essa planta não existe (DÓBEREINER et al., 1967; TOKARNIA et al., 2000). Em virtude desses dados foi levantada a hipótese de que esta planta seria a responsável ou teria ligação à etiologia desses tumores (DÓBEREINER et al., 1967; TOKARNIA et al., 1969). Mais tarde, outros autores também fizeram observações semelhantes (PIRIE, 1973; JARRETT 1978a).

Na Inglaterra, JARRETT (1978a) associou a formação dos CVDS a uma interação entre o vírus da papilomatose bovina e uma substância ambiental, possivelmente derivada de *P. aquilinum*. Em todos os locais onde ocorriam os tumores observou-se grande quantidade de *P. aquilinum*. Outra observação feita neste trabalho é que carcinomas epidermóides do trato digestivo superior podem levar a queda de resistência, um fator importante no aparecimento da papilomatose bovina.

Não foram feitos experimentos capazes de reproduzir os CVDS, entretanto parece lógico que, para causarem CDVS, as quantidades diárias ingeridas de *P. aquilinum*, seriam ainda menores que aquelas que causam o quadro da HEB, porém a ingestão se daria em um período mais longo (TOKARNIA et al., 2000).

No Brasil, estas neoplasias quase só acometem bovinos de idade mais avançada, geralmente “bois-carreiros” e vacas de leite, a partir de aproximadamente 5-6 anos de idade e sua evolução é crônica, variando de meses a anos (TOKARNIA et al., 2000); no Kenya, a enfermidade acomete principalmente vacas de 7 a 8 anos de idade e a mortalidade anual pode chegar a 10 %. (PLOWRIGHT, 1955).

Ao contrário do que ocorre na fase inicial da HEB, a retirada dos animais afetados dos locais invadidos por *P. aquilinum*, parece não ter influência sobre a evolução da enfermidade (TOKARNIA et al., 2000). A evolução da doença geralmente é de 6 meses, entretanto em alguns casos chega até 2 ou 3 anos (PLOWRIGHT, 1955). Parte dos animais apresenta HEB e CVDS, concomitantemente (CURIAL, 1964;

DÖBEREINER et al., 1967; TOKARNIA et al., 1969; PIRIE, 1973; SOUZA & GRAÇA, 1993).

2.4.2 Histórico e estabelecimento da etiologia

PLOWRIGHT (1955) fez referência à alta incidência de neoplasias de esôfago e rúmen em bovinos da raça zebu, em uma reserva do Kenya. Observaram-se 5 casos de doença crônica distinta; em 3 destes casos foram feitos necropsia e exames histopatológicos. A causa destas neoplasias não foi determinada. Os animais retirados destas pastagens continuavam doentes.

No Brasil, em 1964, CURIAL verificou associação, em alguns animais, de carcinomas epidermóides do trato digestivo superior e tumores de bexiga, entretanto não correlacionou *P. aquilinum* aos CVDS.

Finalmente DÖBEREINER et al. (1967) e TOKARNIA et al. (1969) atribuíram o desenvolvimento dos CVDS em bovinos das Regiões Sudeste e Sul, à ingestão prolongada de *P. aquilinum*.

PLOWRIGHT et al. (1971) referem-se a numerosos casos de tumores ruminais em bovinos no Kenya, porém, novamente, não chegaram a conclusão sobre a etiologia da doença. Mais tarde, relatos sobre a ocorrência de carcinomas escamosos no trato alimentar superior em bovinos, associados à ingestão de *P. aquilinum*, foram feitos na Inglaterra (PIRIE, 1973).

Na década de 90 fez-se estudo retrospectivo referente a intoxicação por *P. aquilinum* em 18 bovinos no RS, sendo 7 casos de HEB, 8 de CVDS e 3 nos quais essas duas enfermidades foram observadas concomitantemente; os casos ocorreram entre os anos de 1964 e 1991 (SOUZA & GRAÇA, 1993).

2.4.3 Quadro clínico-patológico da doença natural

Os principais sintomas associados aos CVDS são de ordem mecânica na ingestão e ruminação dos alimentos e estão associados aos sítios de ocorrência da neoplasia (TOKARNIA et al., 2000).

Timpanismo ruminal crônico, devido a distúrbio no mecanismo de regurgitação por infiltração da neoplasia na parede do esôfago, progressiva perda de condição corporal, pele seca e áspera e mucosas pálidas. Macroscopicamente havia crescimentos papilomatosos ou lesões ulceradas no esôfago, faringe, rúmen. Todos os casos foram diagnosticados como carcinoma de “origem multicêntrica”; metástase para linfonodo ocorreu em um animal (PLOWRIGHT, 1955).

No Brasil foi observada dificuldade de deglutição, “ronqueira”, regurgitação de alimentos e timpanismo crônico. Os sintomas da doença caracterizada por “ronqueira” e dificuldade de deglutição foram associados à presença de tumores na faringe e a regurgitação e o timpanismo crônico aos carcinomas epidermóides localizados no esôfago. A mucosa da língua encontrava-se rugosa e cornificada e havia estruturas papilomatosas e formação de grandes úlceras no trato digestivo superior. Histologicamente observaram-se carcinomas epidermóides queratinizantes e papilomas; dois animais apresentaram metástases em linfonodo (DÖBEREINER et al., 1967).

Em estudo complementar (TOKARNIA et al., 1969), os animais com CVDS apresentavam, adicionalmente, tosse, dificuldade respiratória, edema submaxilar, corrimento nas narinas, dificuldade de mastigação e ruminação, diarreia, timpanismo crônico intermitente e emagrecimento progressivo. À necropsia observaram-se papilomas pinceliformes ou com forma de couve-flor no palato mole, rugosidades,

formação pedunculada e ulceração na base da língua, proliferação nodular saliente na faringe, formação oval, pedunculada e de coloração amarelada no rúmen. Verificaram-se ainda úlcera profunda envolvendo os palatos duro e mole, proliferação tumoral no seio maxilar e formações pinceliformes no esôfago. O estudo histológico dos CVDS revelou carcinoma epidermóide esquirroso queratinizado em todos os casos (12/12), acompanhados de infiltrados linfocitários (10/12) e, por vezes, calcificação da substância córnea (3/12). Metástases para fígado, linfonodos regionais e pulmão ocorreram em dois animais.

No surto descrito no Kenya (PLOWRIGHT et al., 1971) evidenciou-se em bovinos, dificuldade em engolir ou regurgitar, timpanismo ruminal recorrente, dor abdominal, anorexia parcial, perda da condição corpórea, pêlos ressecados e ásperos e, por vezes, excessiva sede. Neoplasias ruminais foram observadas macroscopicamente em 18 bovinos, dos quais 3 apresentaram concomitantemente tumores no esôfago; em 3 bovinos observou-se metástase em linfonodos regionais e 2 animais tinham metástases em fígado e pulmões. Muitos desses animais apresentaram papilomas, principalmente, no esôfago. Todos os tumores ruminais e esofágicos eram carcinomas escamosos. Um animal exibiu sinais clínicos de hematúria.

Na Inglaterra, observou-se em seis vacas, a presença de carcinomas escamosos envolvendo a cavidade oral, faringe e esôfago. Um destes animais apresentou um carcinoma escamoso da base da língua coexistindo com um carcinoma de esôfago e um hemangioma na bexiga (PIRIE, 1973).

Em 80 casos de CVDS, Jarrett (1978a) encontrou 165 tumores (alguns animais apresentavam CVDS em mais de um local), distribuídos nos seguintes sítios: 7% na língua, 4% no palato, 8% na faringe, 41% no esôfago e 30% no rúmen. Papilomas escamosos foram observados em 96% das vacas com carcinomas epidermóides. Os papilomas que apresentavam áreas de transformação maligna, mostravam marcada ulceração e invasão. Metástases foram observadas em 36% dos casos. O vírus da papilomatose foi isolado dos papilomas orais. Alguns animais com carcinomas epidermóides não apresentavam papilomas.

SOUZA & GRAÇA (1993), também são da opinião de que os sintomas provocados pelas neoplasias do tubo digestivo superior, variam de acordo com a localização da tumoração, observando-se sobretudo dificuldade de deglutição, emagrecimento, dificuldade respiratória, tosse e timpanismo. A necropsia foram descritos tumores vegetantes, medindo entre um e 11 cm, ulcerados, brancos ao corte, com focos amarelados. Ao exame microscópico todos eram carcinomas epidermóides. Três animais apresentaram, simultaneamente, CVDS e neoplasias de bexiga. Também ocorreram papilomas associados a tumores de bexiga e do trato digestivo.

2.5 Tumores Intestinais (TI)

2.5.1 Aspectos gerais

Adenocarcinomas intestinais em ovelhas têm sido reportados em partes da Nova Zelândia (DODD, 1960; SIMPSON, 1972a), na Austrália (McDONALD & LEAVER, 1965), na Islândia (GEORGSSON & VIGFUSSON, 1973), na Inglaterra (McCREA & HEAD, 1978) e na Escócia (HEAD, 1976).

McCREA & HEAD (1978) são da opinião que *P. aquilinum* poderia estar envolvida na gênese dos tumores intestinais em ovelhas.

No Brasil não têm sido constatados tumores intestinais em ovelhas associados a intoxicação por *Pteridium aquilinum* (DÖBEREINER et al., 1967).

Levantou-se a possibilidade de que a utilização de superfosfato estaria envolvida na etiologia dos tumores intestinais em ovelhas (LUDWIG, pers. comm. apud SIMPSON, 1972b), entretanto SIMPSON (1972b), em seu trabalho, não observou esta correlação. Outra hipótese sugerida foi a de que o selênio teria efeito na prevenção dessas neoplasias (WEDDERBURN, 1972), todavia essa assertiva também foi descartada, após a realização de experimentos com essa substância, em ovelhas (SIMPSON, 1972b). Por outro lado, SCHROEDER & MITCHENER (1971) creem que a utilização de selênio aumentaria a incidência de tumores em ratos

2.5.2 Quadro clínico-patológico da doença natural

Dodd (1960), na Nova Zelândia, descreveu adenocarcinomas intestinais, com denso estroma e áreas de degeneração mucóide, localizados na metade distal do intestino delgado de 25 ovinos, com idade acima de 5 anos; estes tumores disseminavam-se para a cavidade abdominal. Entre os sinais clínicos significativos foram mencionados distensão abdominal, inabilidade para levantar-se e dor abdominal. O autor não correlacionou este tipo de tumor com *P. aquilinum*.

Cinco ovelhas adultas (5-7 anos) com tumores intestinais foram examinadas e necropsiadas em Victoria, Austrália. A sintomatologia apresentada pelos animais cursava com dispnéia, constipação, distensão abdominal e presença de líquido na cavidade abdominal; alguns animais eram abobalhados e apresentavam distúrbio de locomoção. À necropsia observaram-se ascite, espessamento do omento, intestinos e diafragma, que apresentavam-se recobertos de fibrina e, por vezes, aderidos. O tumor primário situava-se, geralmente, 3-4 metros caudalmente ao piloro. A neoplasia foi classificada como adenocarcinoma, com denso estroma fibroso; metástases foram observadas no fígado e pulmão (McDONALD & LEAVER, 1965).

Há referência sobre a ocorrência de vários tipos de tumores em ovinos, na Inglaterra, em áreas infestadas por *P. aquilinum*. Neste trabalho, 62 ovelhas foram estudadas e 86 tumores foram descritos. A maior parte dos animais morria entre 4 e 6 anos. Dentre esses tumores observaram-se 14 adenocarcinomas do intestino (11 no intestino delgado e 3 no cólon); alguns ovinos apresentaram hematúria enzoótica (McCREA & HEAD, 1978).

Em 1980, na Austrália, reportou-se em 17 ovelhas de 3 abatedouros, a ocorrência de carcinomas intestinais que se caracterizavam, macroscopicamente, por densas massas de tecido fibroso esbranquiçado que envolviam o jejuno e o íleo e causavam estenose e dilatação cranial no intestino. Com freqüência havia metástases para os linfonodos mesentéricos e para as vísceras abdominais (ROSS, 1980).

2.5.3 Reprodução experimental

Em várias espécies foi possível a reprodução das neoplasias intestinais.

De dois ovinos alimentados com "pellets" de *P. aquilinum* durante 8 meses; um apresentou adenocarcinoma pobremente diferenciado no cólon espiral, com metástases no fígado, após 2 anos e 8 meses do início da ingestão (EVANS, 1968).

Apesar de tumores intestinais não serem freqüentemente observados em ratos (SCHOENTAL & BENSTED, 1963), a administração de dietas contendo 1/3 de *P. aquilinum*, a 40 ratos de 7 semanas, por um período de 64 dias, levou todos os ratos a

sucumbirem com múltiplos adenocarcinomas intestinais, 7 meses a 1 ano após o início do experimento (EVANS & MASON, 1965).

Também HIRONO et al. (1970), administrando dietas contendo 1/3 de *P. aquilinum* a ratos, por 4 meses, reproduziram tumores no íleo em 100% dos animais; um destes animais, adicionalmente, apresentou papiloma de bexiga urinária.

Outros pesquisadores também conseguiram reproduzir adenocarcinomas no íleo de ratos (PRICE & PAMUKÇU, 1968; EVANS & WIDDOP, 1966; WIDDOP, 1967).

De 34 codornas alimentadas, durante 5 meses, com dieta normal acrescida de extrato etílico de *P. aquilinum*, 27 desenvolveram adenocarcinomas de intestino, principalmente no ceco (EVANS, 1968).

Em experimentos realizados com 13 porquinhos-da-índia, com 6 semanas de idade, suplementados com *P. aquilinum*, por um período de 77 dias, a maioria dos animais desenvolveu hemorragias intermitentes na bexiga (9/13), entretanto, um destes animais apresentou adenocarcinoma no jejuno, 23 meses após o início do experimento (EVANS, 1968).

Já em estudo com 2 hamsters jovens, um animal desenvolveu adenocarcinomas no ceco e no íleo distal, com metástases para o mesentério, linfonodos mesentéricos e pâncreas, após a ingestão de *P. aquilinum* (o autor não citou nem a dosagem, nem o tempo de ingestão da planta) (EVANS, 1968).

PRICE & PAMUKÇU (1968) reproduziram múltiplos adenocarcinomas de intestino, em 13 ratos de um total de 90 animais, que receberam "pellets" de *P. aquilinum* (1/3 da dieta); os animais vieram a óbito 8 meses após o início da ingestão; parte dos animais (6/13) também apresentaram tumores de bexiga.

Finalmente, no ano de 1969, PAMUKÇU & PRICE, induziram o aparecimento de tumores em 31 ratos, de um total de 90, alimentados com dietas ("pellets") contendo 1/3 de *P. aquilinum*, por 29 semanas. Os 31 animais apresentaram tumores intestinais e 10 deles também desenvolveram neoplasias de bexiga urinária. Ao exame histológico os tumores intestinais foram classificados como pólipos adenomatosos e adenocarcinomas.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local

O trabalho foi desenvolvido nas instalações do Setor de Anatomia Patológica, do Convênio EMBRAPA/Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), situado no Km 47 da Antiga Rodovia Rio-São Paulo, Seropédica, RJ. O processamento do material obtido de necropsia, bem como a confecção e a avaliação microscópica das lâminas foram realizadas neste mesmo Setor.

3.2 Casos Avaliados

Histologicamente, 59 casos foram examinados: 15 (Bovino 2145 [16759-60], Bovino 4862 [24496], Bovino 4863 [24498], Bovino 4864 [24581], Bovino 4865 [24582], 18207, 20289, 20667, 20896, 28196, 28231, 29056, 29279, 866 [Paraná], 920 [Paraná]) da rotina do Setor de Anatomia Patológica (EMBRAPA/UFRRJ), 8 (Vn-65-77, V-214-83, V-328-84, V-65-87, V-211-87, V-563-89, V-36-90, Vn-4-94) da rotina da Área de Patologia Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) do Rio Grande do Sul, 17 (V-265-90, V-266-90, V-269-90, V-270-90, V-271-90, V-272-90, V-273-90, V-274-90, V-275-90, V-276-90, V-277-90, V-278-90, V-448-90, V-234-91 [esses processados na UFSM/RS], 24762, 24765, 24796 [esses processados na UFRRJ/EMBRAPA]) oriundos de São Paulo (Instituto Butantan), bem como 19 (Bovino 823 [13694, 13775-79, 17806], Bovino 874 [14768-70], Bovino 961 [15302-05, 17807], Bovino 2188 [17422-24, 17808], Bovino 2285 [17857-62], Bovino 2286 [17863-67], Bovino 2287 [17868-70], Bovino 2291 [17898-00, 17911], Bovino 2303 [17907-10], Bovino 2371 [18231-33], Bovino 2374 [18234-36], Bovino 2376 [18237], Bovino 2377 [18238-42], Bovino 2379 [18245-47], Bovino 2380 [18248-51], Bovino 2381 [18252-53], Bovino 2382 [18254-56], Bovino 2385 [18257], Bovino 2396 [18294-18301]) dos trabalhos publicados por DÖBEREINER et al. (1967) e por TOKARNIA et al. (1969).

3.3 Material

A maior parte do material analisado estava incluído em blocos de parafina ou em lâminas já confeccionadas. Algumas lâminas antigas foram descoradas com ácido acético e recoradas pela hematoxilina-eosina (HE). Os materiais emblocados em parafina, foram cortados a 5 micrômetros, corados pelo HE e submetidos a exame histopatológico. Em alguns casos foram feitas colorações especiais pelo PAS (reagente de Schiff), Azul de Toluidina e Tricrômio de Masson. As lâminas foram examinadas em microscópio ótico. Com relação aos animais por nós necropsiados, estes tiveram seus órgãos coletados imediatamente após a morte. Os fragmentos destinados ao estudo histopatológico foram fixados em formalina a 10% e também processados pelos métodos usuais.

3.4 Metodologia Empregada na Classificação e na Contagem dos Tumores

Por não existir na literatura uma classificação histológica recente e completa dos tumores de bexiga dos animais domésticos, baseamos esse trabalho em classificações humanas utilizadas pelo Instituto de Patologia das Forças Armadas dos Estados Unidos

da América (AFIP), elaborada por MURPHY et al. (1994) (**Quadro 1**) e na nomenclatura do livro Ackerman's Surgical Pathology, utilizada por ORDÓNEZ & ROSAI (1996) (**Quadro 2**). Estas foram comparadas com a Classificação Histológica Internacional dos Tumores de Animais Domésticos, da Organização Mundial da Saúde (WHO), elaborada por PAMUKÇU (1974) (**Quadro 3**).

As neoplasias foram contadas nas lâminas examinadas, várias delas pertencentes a um único animal. Processos neoplásicos, visualizados isoladamente em uma lâmina, foram classificados separadamente. Dois tumores, numa mesma lâmina, para serem considerados isoladamente não podiam apresentar contigüidade física. Quando os tumores apresentavam pequenas áreas, com morfologia diferente da maior parte do neoplasma, essas áreas foram denominadas como diferenciações e não novos tumores.

Seguem-se as classificações acima citadas.

Quadro 1. Classificação oficial dos tumores de bexiga urinária em humanos do Instituto de Patologia das Forças Armadas dos Estados Unidos da América - AFIP (MURPHY et al. 1994).

NEOPLASIAS EPITELIAIS	NEOPLASIAS NÃO-EPITELIAIS
Neoplasias de células transitórias	Tumores mesenquimais
Papiloma	Benignos
Invertido	Malígnos
Exofítico	Feocromocitoma (paraganglioma)
Carcinoma	Linfoma
Baixo grau	Plasmocitoma
Alto grau	Neoplasias de células germinativas
Carcinoma in situ	
Variantes do carcinoma de células transitórias	CONDIÇÕES TUMORAIS NÃO-NEOPLÁSICAS
Carc. de céls. trans. com lúmen semelhante a glândula	Condioma acuminatum - papiloma escamoso
Carc. de céls. transitórias, tipo ninhado	Metaplasia
Carcinoma sarcomatóide	Escamosa
Carcinoma de células escamosas	Intestinal
Carcinoma verrucoso	Nefrogênica (adenoma mesonefróide)
Carcinoma misto	Inflamação
Adenocarcinoma	Nódulo fusocelular pós-operatório
Carcinoma de células "signet ring" (anel de sinete)	Pseudotumor inflamatório (tumor fibromixóide pseudossarcomatoso)
Carcinoma de células claras	Malacoplaquia
Tumor viloso	Cistite Xantogramulomatosa
Carc. pobremente diferenciado/Carc. de pequenas céls.	Granulomas
Neoplasias raras	"Cistites"
Carcinossarcoma	Glandular e cística
Tumor carcinoide	Folicular
Melanoma	Bolhosa
Carcinoma linfo-epitelial	Polipóide
Carcinoma plasmocitóide	Pólipo fibroepitelial
Carcinoma com estroma fusocelular	Enfisematosa
Carcinoma de células gigantes	Amiloidose
	Restos teciduais (embrionários), coristomas, hamartomas
	Cistos
	Endometrioses e endocervicose
	Próstata ectópica
	Tecido paragangliônico
	Hematopoiese extra-medular
	Hamartoma

Quadro 3. Classificação histológica internacional dos tumores de animais domésticos da Organização Mundial da Saúde (WHO) – Tumores de bexiga urinária (PAMUKÇU, 1974).

<p>I – TUMORES EPITELIAIS</p> <p>A. Papiloma</p> <p>B. Adenoma</p> <p>C. Carcinoma de células transitórias Carcinoma não-infiltrativo e não-papilar Carcinoma papilar Carcinoma infiltrativo e papilar Carcinoma infiltrativo</p> <p>D. Variantes do carcinoma de células transitórias 1. com metaplasia escamosa 2. com metaplasia glandular 3. com metaplasia escamosa e glandular</p> <p>E. Carcinoma de células escamosas</p> <p>F. Adenocarcinoma</p> <p>G. Carcinoma indiferenciado</p>	<p>II. TUMORES NÃO-EPITELIAIS</p> <p>A. Tumores musculares Leiomioma Leiomiossarcoma</p> <p>B. Tumores vasculares Hemangioma Hemangiossarcoma Hemangiopericitoma</p> <p>C. Tumores fibroblásticos Fibroma Fibrossarcoma Sarcoma (não-classificado)</p> <p>D. Outros tumores não-epiteliais</p> <p>III. TUMORES COM COEXISTÊNCIA DE ELEMENTOS EPITELIAL E MESENQUIMAIS (carcinossarcoma, carcinohemangioma, carcinoleiomiossarcohemangioma, adenoemangioma, adenocarcinoemangioma, papioemangioma)</p> <p>IV. TUMORES SECUNDÁRIOS</p> <p>V. TUMORES NÃO-CLASSIFICADOS</p> <p>VI. MUDANÇAS PROLIFERATIVAS Ninhos de Brunn Metaplasia glandular (cistite glandular) Metaplasia escamosa Cistite cística Cistite papilar (polipóide)</p>
--	--

4. RESULTADOS

4.1 Apresentação

As alterações encontradas na bexiga dos animais com hematúria (**Figuras 3, 4, 5 e 6**) foram divididas em neoplásicas e não-neoplásicas que, por sua vez, foram subdivididas em inflamatórias, hiperplásicas e metaplásicas. A coexistência entre elas era quase uma constante, observando-se, muitas vezes, a ocorrência simultânea de várias delas em uma mesma bexiga, como pode ser verificado nos **Quadros 4, 5, 6, 7, 8 e 9**. Dada a esta "promiscuidade" de lesões, com certa freqüência ficava difícil ou impossível estabelecer qual a alteração principal e a ordem cronológica no aparecimento destas lesões, uma vez que os tumores e as alterações metaplásicas pareciam surgir, ao mesmo tempo, em vários sítios da mucosa. Acrescente-se a isso, o fato de terem sido encaminhados apenas alguns fragmentos de bexiga de muitos animais.

Em alguns casos havia, no mesmo local, clara "diferenciação" de um tipo tecidual em outro, como por exemplo, focos de urotélio hiperplásico com metaplasia "intestinal" ou mesonefróide transformando-se, na base, em carcinoma "in situ" ou em adenocarcinoma "intestinal" ou adenocarcinoma mesonefróide, por vezes já com clara tendência infiltrativa. Em outros animais, verificou-se evidente proliferação celular hiperplásica, metaplásica e/ou neoplásica em áreas distantes umas das outras, caracterizando-se assim, *lesões multicêntricas* com diversos tipos de diferenciação. Esse achado também foi observado em tecidos mesenquimais, uma vez que parte dos hemangiomas e dos hemangiossarcomas pareciam estar relacionados ou serem oriundos de *proliferação focal ou multifocal de pequenos vasos de aspecto normal*, morfológicamente falando; esta última alteração, aliás, foi verificada em praticamente todas as bexigas observadas. De forma constante, infiltração inflamatória predominantemente linfocítica, por vezes acompanhada por plasmócitos, difusa e/ou sob a forma de folículos linfóides, acompanhava os fenômenos de proliferação celular, em meio a variáveis graus de fibroplasia da própria, por entre os feixes musculares (músculo detrusor) e até da serosa.

Em resumo, a diversidade e a coexistência das mais diversas alterações histopatológicas só permite uma melhor avaliação através da individualização dos casos, que será melhor visualizada em quadros.

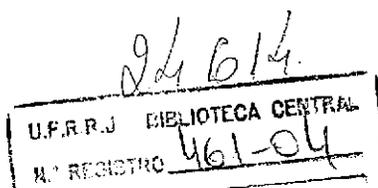




Fig. 3 Aspectos histopatológicos da Hematúria Enzoótica Bovina no Brasil. Vaca com hematúria (29279). São José do Barreiro, SP.



Fig. 4 Aspectos histopatológicos da Hematúria Enzoótica Bovina no Brasil. Mucosa ocular pálida de animal com hematúria. São José do Barreiro, SP

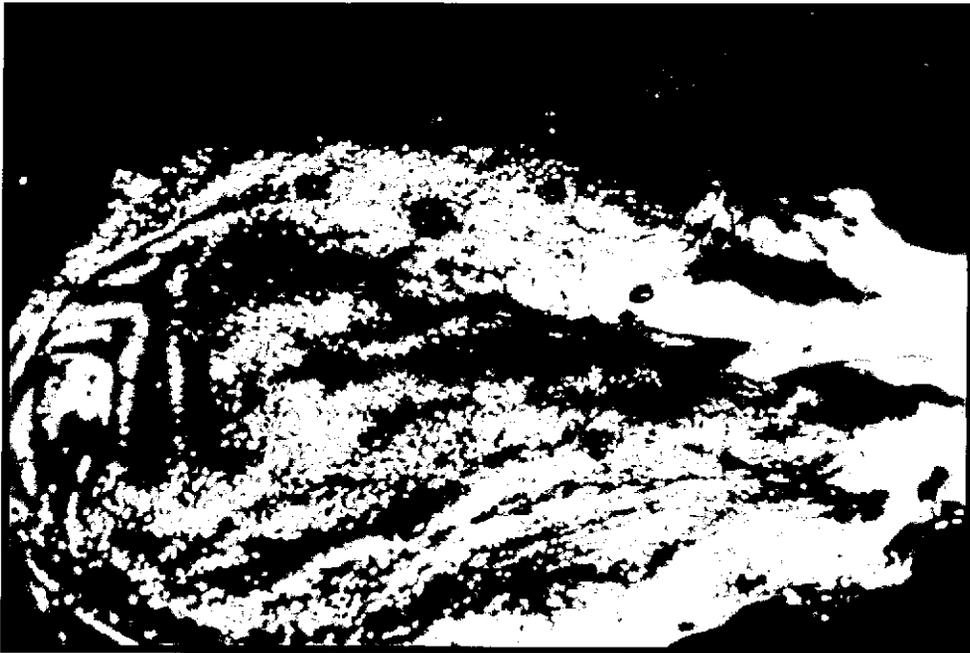


Fig. 5 Aspectos histopatológicos da Hematúria Enzoótica Bovina no Brasil. Vaca com hematúria (292979), apresentando pequenos nódulos tumorais avermelhados na bexiga. São José do Barreiro, SP.



Fig. 6 Aspectos histopatológicos da Hematúria Enzoótica Bovina no Brasil. Animal com hematúria (Bov. 4864, 24581), apresentando bexiga preenchida por proliferações neoplásicas; hidroureter e hidronefrose leves. São Vicente de Minas, MG.

4.2 Caracterização dos Achados Microscópicos

Baseados a partir das classificações mencionadas no material e métodos, os diferentes tipos de lesões são apresentados nos **Quadros 4, 5, 6, 7, 8 e 9** e caracterizados nas **figuras (7-18)**.

A descrição histopatológica mais detalhada das lesões pode ser encontrada no **Apêndice**.



Fig. 7 Aspectos histopatológicos da Hematúria Enzoótica Bovina no Brasil. Carcinoma transicional médio grau (em outras áreas, a neoplasia apresenta-se mais anaplásica [alto grau]), com estroma mixomatoso e infiltração linfocítica difusa leve (parte superior); adenocarcinoma bem diferenciado, com diferenciação intestinal (Bov. 4862, 24496). HE, obj. 16.



Fig. 8 Aspectos histopatológicos da Hematúria Enzoótica Bovina no Brasil. Adenocarcinoma mesonefróide, bem diferenciado (abaixo) e "cistite intestinal" (acima) (Bov. 4862, 24496). HE, obj. 20.

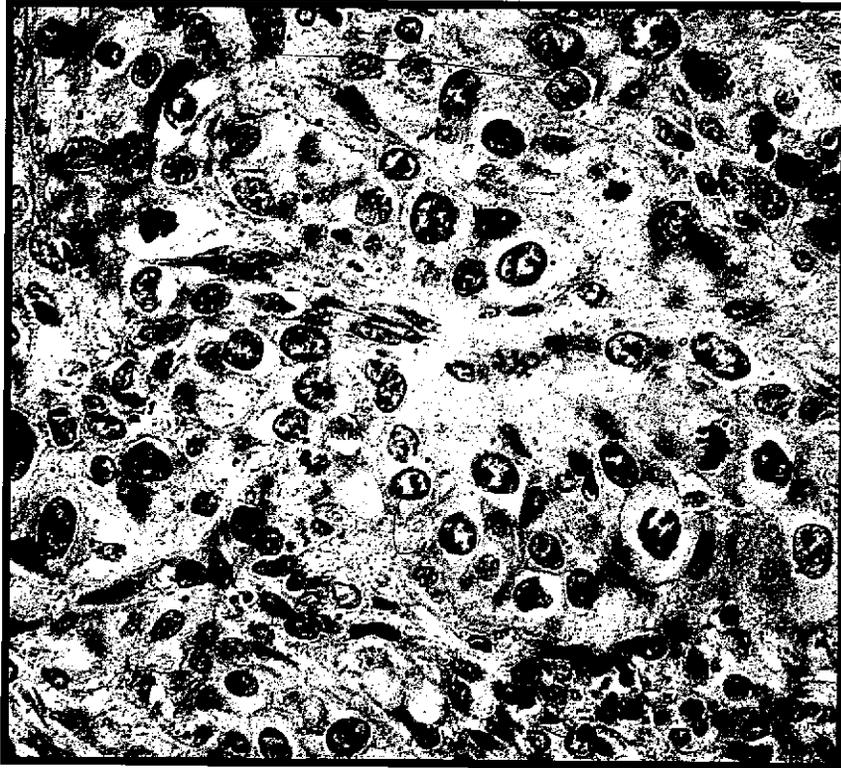


Fig. 9 Aspectos histopatológicos da Hematúria Enzoótica Bovina no Brasil. Carcinoma pobremente diferenciado (Bov. 4864, 24581). HE, obj. 40.

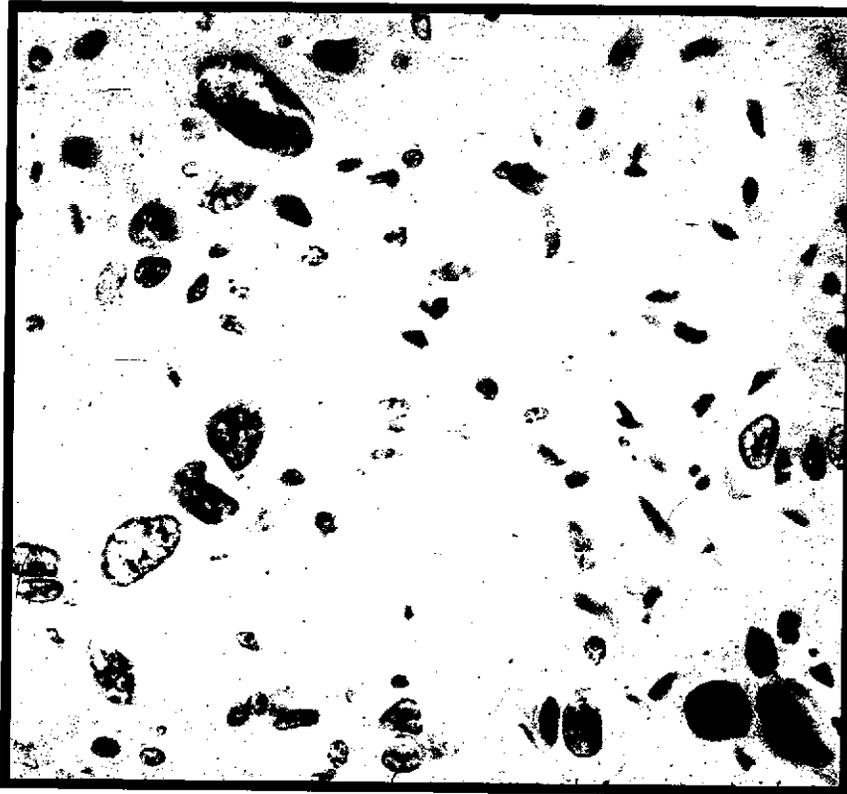


Fig. 10 Aspectos histopatológicos da Hematúria Enzoótica Bovina no Brasil. Carcinoma pobremente diferenciado, com acentuada atipia (Bov. 4864, 24581). HE, obj. 40.



Fig. 11 Aspectos histopatológicos da Hematúria Enzoótica Bovina no Brasil. Carcinoma "in situ" com proliferação polipóide, estroma mixóide e infiltração linfocítica difusa; há também formação de pequenos cistos intra-epiteliais (Bov. 4862, 24496). HE, obj. 20.

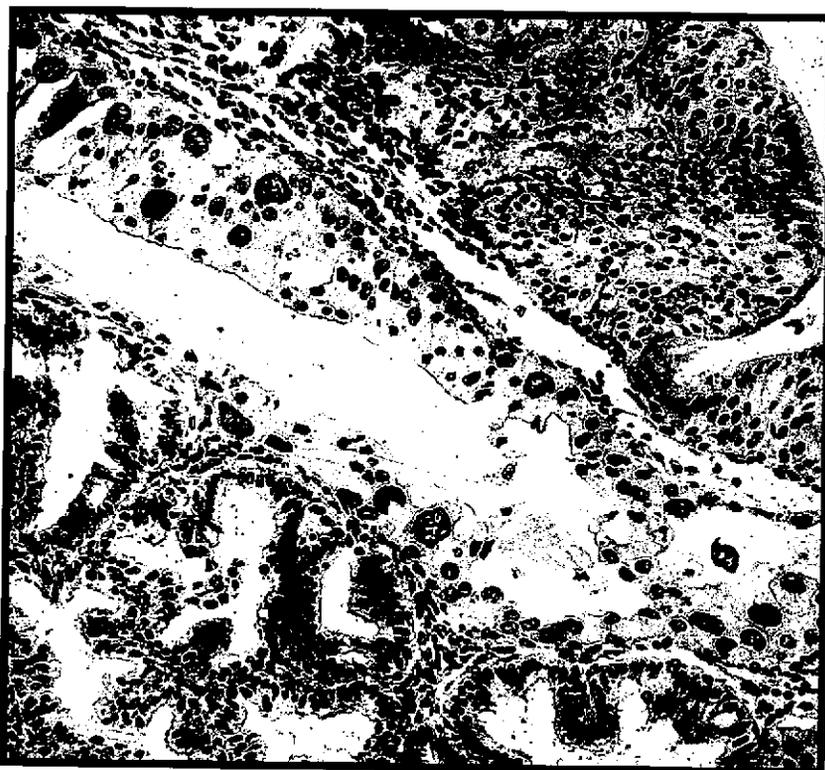


Fig. 12 Aspectos histopatológicos da Hematúria Enzoótica Bovina no Brasil. Carcinoma "in situ" com células bizarras (no meio), acompanhado de adenocarcinoma com diferenciação intestinal (abaixo) e displasia urotelial (acima) grau II (Bov. 4862, 24496). HE, obj. 20.



Fig. 13 Aspectos histopatológicos da Hematúria Enzoótica Bovina no Brasil. Carcinoma trabecular esquirroso infiltrando o músculo detrusor (Bov. 4862, 24496). HE, obj. 16.



Fig. 14 Aspectos histopatológicos da Hematúria Enzoótica Bovina no Brasil. Carcinoma trabecular (abaixo) e cistite glandular (acima), com infiltração linfocítica focal (à direita) e difusa (Bov. 4862, 24496). HE, obj. 20.

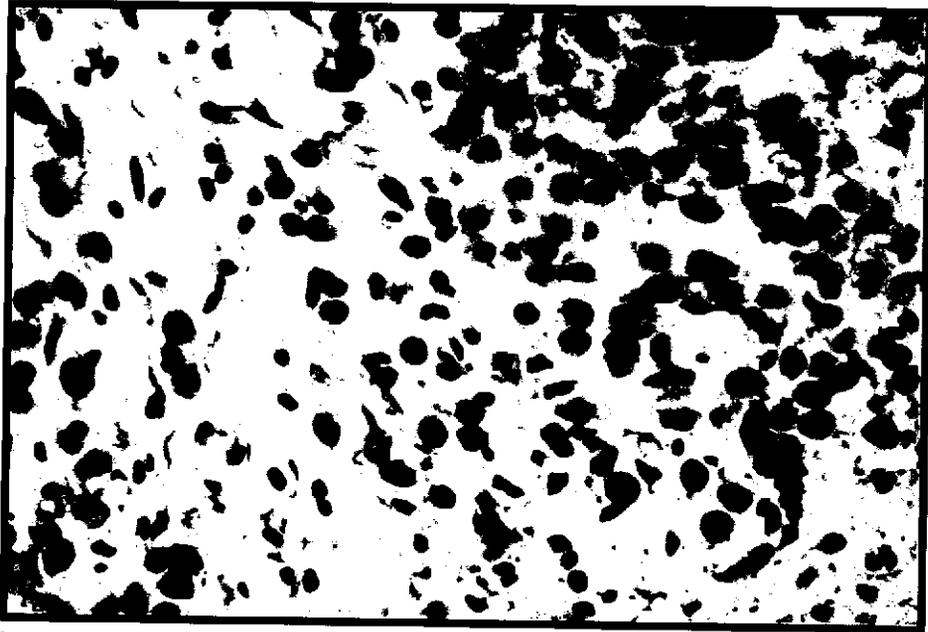


Fig. 15 Aspectos histopatológicos da Hematúria Enzoótica Bovina no Brasil. Carcinoma plasmocitóide (Bov. 4862, 24496). HE, obj. 40.

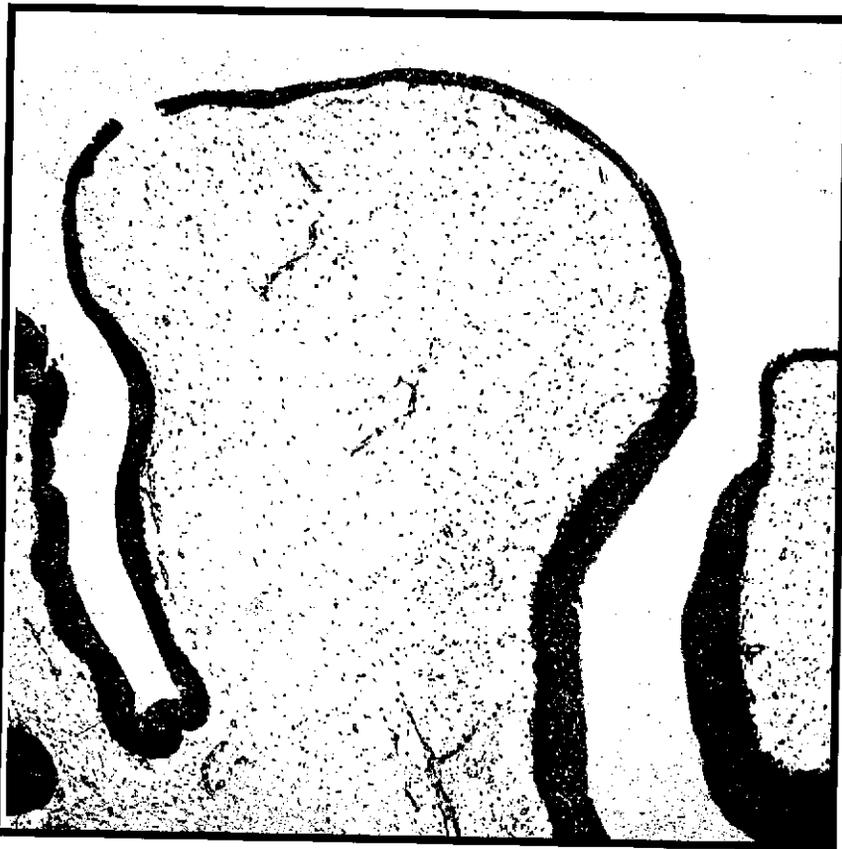


Fig. 16 Aspectos histopatológicos da Hematúria Enzoótica Bovina no Brasil. Proliferação polipóide com hiperplasia urotelial e estroma mixóide (Bov. 4862, 24496). HE, obj. 4.



Fig. 17 Aspectos histopatológicos da Hematúria Enzoótica Bovina no Brasil. Proliferação polipóide com hiperplasia urotelial, estroma mixóide, ninho de Brunner, "cistite cística" e "cistite intestinal" (Bov. 4862, 24496). HE, obj. 10.



Fig. 18 Aspectos histopatológicos da Hematúria Enzoótica Bovina no Brasil. Carcinoma transicional baixo grau (em outras áreas a neoplasia é mais anaplásica [alto grau]), com discreta infiltração linfocítica difusa (Bovino 4862, 24496). HE, obj. 20.

Quadro 4 - Alterações neoplásicas malignas observadas na bexiga em surtos de HEB no Brasil (continua)

Protocolo	Ca "in situ"	Ca transicional	Ca escamoso trabecular	Ca Ca	Ca Ca	Ca Ca	Adeno carcinoma	Adenocarc mesonefroides	Ca com estroma fusocelular	outras carcinomas	Hemangiossar coma	Diferenciação
Bovino 4862 24496	+	+* (alto grau)	-	+**	+*	+ c/ grandes células isoladas	+***	+	-	Ca "signet ring" Ca plasmocitoides	-	* pseudoglandular ** Paneth *** intestinal e Paneth * pseudoglandular
Bovino 4863 24498	+	+* (alto grau) c/ estroma pseudosarcomatoso	+	-	+		-	+	-	Ca transicional tipo nublado	-	
Bovino 4864 24581	+	+* (alto grau)	+**	-	+		-	-	-	Ca sarcomatóide ou Carcinossarcoma?	+	* pseudoglandular, mesonefroides e intestinal ** pseudoglandular * pseudoglandular, mesonefroides e intestinal ** pseudoglandular
Bovino 4865 24582	+	+* (alto grau)	+**	-	-		-	-	-		-	
18207	-	-	-	-	-		-	-	-		-	
Bovino 2145 16750-60	-	-	-	-	++		-	-	-		-	* pseudoglandular e escamosa
20667	-	-	-	-	-		-	-	+		+	
20289	-	-	-	-	-		-	-	-		-	
20896	+	-	-	-	++	c/ células bizarras	-	-	-		-	* pseudoglandular e escamosa
28231	+	+ (alto grau) c/ estroma pseudosarcomatoso	-	+*	-		-	-	-		-	* escamosa
29056	+	+* (alto grau)	-	-	-		-	-	-		-	* escamosa, mesonefroides e intestinal
866 Paraná	+	+* (alto grau) c/ estroma pseudosarcomatoso	-	-	-		+***	+	+ (transição)		-	* pseudoglandular ** intestinal
920 Paraná	+	+* (alto grau)	+**	-	-		-	-	-		-	* pseudoglandular, mesonefroides e intestinal ** pseudoglandular
29279	-	-	-	-	-		-	-	-		+	
28196	+ centríco	+ (alto grau)	-	-	-		-	-	-		+	

! = ausência de lesão, + = presença de lesão, * ** *** = tipos de diferenciação, ? = lesão duvidosa

Quadro 4 - Alterações neoplásicas malignas observadas na bexiga em surtos de HEB no Brasil (continuação)

Protocolo	Ca "in situ"	Ca transicional	Ca escamoso	Ca trabecular	Ca pobremente diferenciado	Adeno carcinoma	Adenocarcinoma frotide	Ca com estroma fusocelular	outros carcinomas	Hemangiossarcoma	diferenciação
Vn-65-77	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
V-214-83	+	++ (alto grau)	-	-	-	-	+++	-	Ca de células cromóforas	-	*célis cromóforas, pseudoglandular, escamosa **célis cromóforas
V-228-84	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
V-65-87	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
V-211-87	+	++ (alto grau)	-	-	-	-	-	-	-	-	* intestinal e pseudoglandular
V-563-89	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
V-36-90	+	-	-	-	-	-	-	-	Ca sarcomatóide?	-	-
V-4-94	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
V-265-90	-	+	+	-	-	+	-	-	-	+	* intestinal
V-266-90	+	++ (alto grau) c/ estroma pseudosarcomatoso	+++	-	-	-	-	-	-	+	*pseudoglandular ** pseudoglandular
V-269-90	-	++ (alto grau)	+++	-	+	-	-	+	(escamoso)	-	*pseudoglandular, intestinal e mesonefróide ***pseudoglandular
V-270-90	+	++ (alto grau) c/ estroma pseudosarcomatoso	+	-	-	-	-	-	Ca sarcomatóide c/ células sincício trolablasticas?	-	* escamosa e intestinal
V-271-90	-	++ (alto grau)	-	-	+	-	+	-	-	-	* escamosa e pseudoglandular
V-272-90	+	++ (alto grau)	-	-	-	-	-	-	-	+	* escamosa e pseudoglandular

l - ausência de lesão, + = presença de lesão, * ** *** = tipos de diferenciação, ? = lesão duvidosa

Quadro 4 - Alterações neoplásicas malignas observadas na bexiga em surtos de HEB no Brasil (continuação)

Protocolo	Ca "in situ"	Ca transicional	Ca escamoso (carcinoma)	Ca trabecular	Ca pobremente diferenciado	Adeno carcinoma	Adenocarc mesonefroide	Ca com estroma fusocelular	outros carcinomas	hemangiomas coma	diferenciação
V-275-90	-	-	++ (carcinoma)	-	-	-	-	-	-	-	* pseudoglandular
V-274-90	+	++ (alto grau)	+	-	-	-	-	-	-	+	* escamosa e pseudoglandular
V-275-90	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
V-276-90	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
V-277-90	+ multi cêntrico	++ (alto grau)	-	-	-	-	-	-	-	-	* pseudoglandular e escamosa
V-278-90	+	++ (alto grau)	-	-	-	-	-	-	-	-	* mesonefroide
V-448-90	-	++ (alto grau)	-	-	-	++	-	-	-	-	* pseudoglandular e escamosa ** intestinal
24762	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24765	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24796	+	++ (alto grau)	-	-	-	-	-	-	-	+ e/ céls sincitotrofo blásticas	* escamosa, pseudoglandular e mesonefroide
V-234-91	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bovino 823 13694, 13775 -79, 17806	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bovino 874 14768-70	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Bovino 961 15502-05, 17807	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Bovino 2377 18238-42	+	++ (baixo grau)	-	-	-	-	-	-	-	-	* pseudoglandular

1 - = ausência de lesão, + = presença de lesão, * ** *** = tipos de diferenciação, ? = lesão duvidosa

Quadro 4 - Alterações neoplásicas malignas observadas na bexiga em surtos de HEB no Brasil (continuação)

Protocolo	Ca "in situ"	Ca transicional	Ca escamoso	Ca trabecular	Ca pobremente diferenciado	Adeno carcinoma	Adenocarc mesone froide	Ca com estroma fusocelular	outros carcinomas	hemangiossar coma	diferenciação
Bovino 2379 18245-47	-	+ * (baixo grau)	-	-	-	+	-	-	-	+	* intestinal
Bovino 2380 18248-51	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bovino 2381 18252-53	+	+ * (médio grau)	-	-	-	-	-	-	-	-	* escamosa, mesonefróide e pseudoglandular
Bovino 2396 18394-18301	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bovino 2188 17422-24, 17808	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Bovino 2386 17863-67	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Bovino 2291 17898- 900/17911	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bovino 2303 17907-910	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bovino 2285 17857-62	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bovino 2287 17868-70	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bovino 2371 18231-33	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bovino 2374 18234-36	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bovino 2376 18237	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bovino 2382 18254-56	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bovino 2385 18257	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

! = ausência de lesão, + = presença de lesão, * ** *** = tipos de diferenciação, ? = lesão duvidosa

Quadro 5 - Alterações neoplásicas benignas observadas na bexiga em surtos de HEB no Brasil (continua)

Protocolo	papiloma transicional	adenoma transicional	adenoma mesonefróide	hemangioma capilar	hemangioma cavernoso	hemangioma venoso	mixoma
Bovino 4862 24496	-	-	+	-	-	-	-
Bovino 4863 24498	+	-	+	-	-	-	-
Bovino 4864 24581	+	+	-	+	+	-	-
Bovino 4865 24582	-	-	-	-	+	-	-
18207	-	-	-	-	-	-	-
Bovino 2145 16759-60	+	-	-	-	-	-	-
20667	-	-	-	-	-	-	-
20289	+	-	-	-	+	-	-
20896	-	-	-	-	-	-	-
28231	-	-	-	-	+	-	-
29036	-	-	-	-	-	-	-
866 Paraná	-	+	c/ dif. intestinal	-	-	-	-
920 Paraná	-	-	-	-	-	-	-
29279	+	-	-	+	+	-	-
28196	+	+	-	-	-	-	-

1 - ausência de lesão, + = presença de lesão, dif. = diferenciação

Quadro 5 - Alterações neoplásicas benignas observadas na bexiga em surtos de HEB no Brasil (continuação)

Protocolo	papiloma transicional	adenoma transicional	adenoma mesonefróide	hemangioma capilar	hemangioma cavernoso	hemangioma venoso	mixoma
Vn - 65-77	-	-	-	-	-	+	-
V-214-83	-	-	-	-	-	-	-
V-328-84	+	-	-	-	-	-	-
V-65-87	-	-	-	+	-	-	-
V-211-87	+	-	-	-	-	-	-
V-563-89	-	-	-	-	-	+	-
V-36-90	-	-	-	-	-	-	-
Vn-4-94	+	-	-	-	-	-	-
V-265-90	+	-	-	+	-	-	-
V-266-90	-	-	-	-	+	+	-
V-269-90	-	-	-	-	+	-	-
V-270-90	-	-	-	-	-	-	-
V-271-90	-	-	-	-	-	+	-
V-272-90	-	-	-	-	-	-	-

1 - ausência de lesão, + = presença de lesão, dif. = diferenciação

Quadro 5 - Alterações neoplásicas benignas observadas na bexiga em surtos de HEB no Brasil (continuação)

Protocolo	papiloma transicional	adenoma transicional	adenoma mesonefróide	hemangioma capilar	hemangioma cavernoso	hemangioma venoso	mixoma
V-273-90	-	-	-	-	-	-	-
V-274-90	-	-	-	-	-	-	-
V-275-90	+	-	-	-	-	+	-
V-276-90	-	-	-	+	+	+	+
V-277-90	-	-	-	-	-	+	-
V-278-90	-	-	-	-	-	-	-
V-448-90	-	-	-	-	-	-	-
24762	-	-	-	+	+	-	-
24765	-	-	-	-	+	-	-
24796	-	-	-	-	-	-	-
V-234-91	-	-	-	-	-	-	-
Bovino 823 13694, 13775-79, 17806	-	-	-	-	-	-	-
Bovino 874 14768-70	-	-	-	+	+	+	-
Bovino 961 15302-05, 17807	-	-	-	+	+	+	-
Bovino 2377 18238-42	-	+	-	-	-	-	-

I = ausência de lesão, + = presença de lesão, dif. = diferenciação

Quadro 5 - Alterações neoplásicas benignas observadas na bexiga em surtos de HEB no Brasil (continuação)

Protocolo	papiloma transicional	adenoma transicional	adenoma mesonefróide	hemangioma capilar	hemangioma cavernoso	hemangioma venoso	mixoma
Bovino 2379 18245-47	-	+	-	+	+	+	-
Bovino 2380 18248-51	-	-	-	-	-	-	+
Bovino 2381 18252-53	+	+	-	+	-	-	-
Bovino 2396 18294-18301	-	-	-	-	-	-	-
Bovino 2188 17422-24, 17808	-	-	-	+	-	+	-
Bovino 2286 17863-67	-	-	-	-	-	+	-
Bovino 2291 17898-00, 17911	-	-	-	-	-	-	-
Bovino 2303 17907-10	-	-	-	-	-	-	-
Bovino 2285 17857-62	-	-	-	-	-	-	-
Bovino 2287 17868-70	-	-	-	-	-	-	-
Bovino 2371 18231-33	-	-	-	-	-	-	-
Bovino 2374 18234-36	-	-	-	-	-	-	-
Bovino 2376 18237	-	-	-	-	-	-	-
Bovino 2382 18254-56	-	-	-	-	-	-	-
Bovino 2385 18257	-	-	-	-	-	-	-

1 - ausência de lesão, + = presença de lesão, dif. = diferenciação

Quadro 6 - Alterações não-neoplásicas observadas na bexiga em surtos de HEB no Brasil I (continua)

Protocolo	hiperplasia urotelial	displasia urotelial grau II e III	metaplasia intestinal e mesonefroide	ninhos de Brun	"cistite" cística	"cistite" glandular	proliferação polipóide	proliferação micropolipóide	cistos intra-epiteliais
bovino 4862 24496	++	grau II e III	intestinal e mesonefroide	+	+	+	+++	-	(+)
bovino 4863 24498	+(+)	grau III	mesonefroide	+	+	-	+	+	+++
bovino 4864 24581	++	grau III	intestinal	+	+	+	+	-	++
bovino 4865 24582	++	graus II e III	intestinal	+	+	+	+	-	(+)
18207	(+)	-	-	-	-	-	+	-	-
bovino 2145 16759-60	+	-	-	-	-	-	+	+	-
20667	+(+)	grau III	mesonefroide e em cél. cromófolos	-	-	-	-	-	-
20289	++	graus I e II	mesonefroide	(+)	(+)	-	+(+)	(+)	++
20896	+(+)	graus I e II	escamosa	++	++	-	+(+)	-	++
28231	-	-	-	-	-	-	-	-	+
29056	++	grau III	-	(+)	(+)	-	(+)	-	-
866 Paraná	++	grau III	intestinal	+	+	+	-	-	-
920 Paraná	+	grau III	intestinal	+	+	+	-	-	(+)
29279	++	graus I e II	-	(+)	(+)	-	+	+	(+)
28196	++	grau III e/ células nucleadas	-	+	(+)	-	+(+)	-	-

I. = ausência de lesão. (+) = discreta. + = leve. +(+) = leve a moderada. ++ = moderada. ++(+) = moderada a acentuada. +++ = acentuada. ? = lesão duvidosa

Quadro 6 - Alterações não-neoplásicas observadas na bexiga em surtos de HEB no Brasil I (continuação)

Protocolo	hiperplasia urotelial	displasia urotelial	metaplasia	ninhos de Brunn	"cistite" cística	"cistite" glandular	proliferação polipóide	proliferação micropolipóide	cistos intra-epiteliais
Vn-65-77	-	-	-	-	-	-	-	-	-
V-214-83	+	graus II e III	-	-	-	-	(+)	-	(+)
V-328-84	+	-	-	(+)	(+)	-	+	-	(+)
V-65-87	++	graus II e III	célis cromóforas	(+)	-	-	(+)	-	(+)
V-211-87	++	graus II e III	-	+	+	-	+	-	+
V-563-89	-	-	-	-	-	-	-	-	-
V-36-90	++	graus I e II	-	-	-	-	+	-	(+)
Vn-4-94	-	-	-	-	-	-	-	-	(+)
V-265-90	+	-	+	+	+	+	+	+	-
V-266-90	-	-	-	+	+	-	-	-	-
V-269-90	+	-	intestinal	-	-	-	-	-	-
V-270-90	-	-	-	-	-	-	+	-	-
V-271-90	-	-	-	+	-	-	-	-	-
V-272-90	+	-	-	-	-	-	-	-	-

I - = ausência de lesão, (+) = discreta, + = leve, +(+) = leve a moderada, ++ = moderada, ++(+) = moderada a acentuada, +++ = acentuada, ? = lesão duvidosa

Quadro 6 - Alterações não-neoplásicas observadas na bexiga em surtos de HEB no Brasil I (continuação)

Protocolo	hiperplasia urotelial	displasia urotelial	metaplasia	ninhos de Brunn	"cistite" cística	"cistite" glandular	proliferação polipóide	proliferação micropolipóide	cistos intra-epiteliais
V-273-90	+	-	-	-	-	-	-	-	-
V-274-90	-	-	-	+	+	-	-	-	-
V-275-90	+(+)	-	-	+	+	-	+	-	-
V-276-90	+	graus II e III	-	+	+	-	+	-	(+)
V-277-90	+	graus I e II	-	+	-	-	+	-	+
V-278-90	(+)+	grau II	-	+	+	-	++	(+)	++
V-448-90	-	-	-	-	-	-	+	-	++
24762	+(+)	grau III	-	-	-	-	-	-	(+)
24765	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24796	+	graus II e III mesonefroide	-	(+)	-	-	+	-	(+)
V-234-91	(+)	grau III	-	(+)	-	-	-	+	(+)
bovino 823 13694, 13775-79, 17806	-	-	-	-	-	-	(+)	-	(+)
bovino 874 14768-70	++	graus II e III	-	+(+)	+	-	+(+)	-	++
bovino 961 15302-05, 17807	+(+)	grau I	-	(+)	-	-	-	(+)	+
bovino 2577 18238-42	+	grau III mesonefroide	-	+(+)	+	-	++	-	-

I = ausência de lesão. (+) = discreta, + = leve, +(+) = leve a moderada, ++ = moderada, ++(+) = moderada a acentuada, +++ = acentuada, ? = teste duvidoso

Quadro 6 - Alterações não-neoplásicas observadas na bexiga em surtos de HEB no Brasil I (continuação)

Protocolo	hiperplasia urotelial	displasia urotelial grau II e III	metaplasia mesonefróide	ninhos de Brunn	"cistite" cística"	"cistite" glandular	proliferação polipóide	proliferação micropolipóide	cistros intra- epiteliais
bovino 2379 18245-47	+			++	++	-	+	-	-
bovino 2380 18248-51	++	--	-	(+)	(+)	-	+	-	-
bovino 2381 18252-53	++	grau III	mesonefróide e em cél. cromóforas	++	++	-	++	-	+
bovino 2396 18394-18301	(+)	grau I	-	(+)	-	-	-	+	-
bovino 2188 17422-24, 17808	(+)	grau I	-	(+)	-	-	-	(+)	-
bovino 2286 17863-67	+	grau I	-	+(+)	-	-	++	++	-
bovino 2291 17898-900 17911	(+)	--	mesonefróide e em cél. cromóforas	(+)	-	-	-	+	-
bovino 2303 17907-910	++	grau II	-	(+)	-	-	(+)	-	-
bovino 2285 17857-62	(+)	grau II	-	(+)	-	-	-	(+)	-
bovino 2287 17868-70	+	-	-	(+)	-	-	++	+(+)	-
bovino 2371 18231-33	(+)	-	-	(+)	-	-	+(+)	+	-
bovino 2374 18234-36	(+)	-	-	+	-	-	++	(+)	-
bovino 2376 18237	(+)	-	-	(+)	-	-	+	-	-
bovino 2382 18254-56	-	-	-	-	-	-	-	-	-
bovino 2385 18257	(+)	-	-	-	-	-	-	(+)	-

I - -- ausência de lesão. (+) = discreta, + = leve, +(+) = leve a moderada, ++ = moderada, +++ = moderada a acentuada, +++ = acentuada, ? = lesão dividida

Quadro 7- Alterações não-neoplásicas observadas na bexiga de bovinos em surtos de HEB no Brasil II (continua)

Protocolo	proliferação vascular	ectasia vascular	hemorragias	focos linfocíticos	infiltração linfocítica difusa	fibrose	estroma mixóide	pseudotumor inflamatório
Bovino 4862 24496	++ sangünea e linfática	(+)	++	+	+	+++ própria, muscular e serosa	+++	+
Bovino 4863 24498	+ sangünea e linfática	+ sangünea e linfática	(+)	++	(+)	++(+) própria e muscular	-	-
Bovino 4864 24581	++ sangünea e linfática	(+) sangünea e linfática	++	+	++(+)	+++ própria, muscular e serosa	+	?
Bovino 4865 24582	+	(+)	-	++	+++	++ muscular	+	-
18207	(+)	++(+)	-	+	(+)	++(+) própria	-	-
Bovino 2145 16759-60	(+)	-	-	(+)	++(+)	++ muscular	-	-
20667	++	++	(+)	-	(+)	(+) própria	-	-
20289	++(+)	(+)	-	(+)	(+)	(+) muscular	-	-
20896	++(+)	-	-	+	++(+)	++ muscular	++(+)	-
28231	++	(+)	++	-	++	++ muscular e serosa	+	-
29056	++(+)	(+)	(+)	++	+++	++ muscular e serosa	(+)	-
866 Paraná	(+)	(+)	(+)	-	++	++ muscular e serosa	-	-
920 Paraná	++	(+)	(+)	+++	++	++ muscular e serosa	-	-
29279	++(+)	++(+)	(+)	++	(+)	(+) própria	-	-
28196	++(+)	++(+)	(+)	++	++	++(+) própria e muscular	+	-

I. - = ausência de lesão, (-) = fúsceta, + = leve, ++(+)= leve a moderada, ++ = moderada, +++ = moderada a acentuada, ++++ = acentuada, ? = lesão duvidosa

Quadro 7 - Alterações não-neoplásicas observadas na bexiga de bovinos em surtos de HEB no Brasil II (continuação)

Protocolo	proliferação vascular	ectasia vascular	hemorragias	focos linfocíticos	infiltração linfocítica difusa	fibrose	estroma mixóide	pseudotumor inflamatório
Vn-65-77	+	+	+	-	-	(+) própria	-	-
V-214-83	(+)	+(+)	(+)	+(+)	+(+)	(+) própria	-	-
V-228-84	+	+	(+)	+	(+)	(+) e muscular própria e muscular	+	-
V-65-87	++	(+)	++	-	-	(+) própria	-	-
V-211-87	(+)	-	-	+(+)	(+)	(+) própria	-	-
V-563-89	+	(+)	(+)	-	-	(+) própria	-	-
V-36-90	(+)	(+)	(+)	-	(+)	+++	-	-
Vn-4-94	(+)	-	-	(+)	(+)	(+) própria	-	-
V-265-90	++	+(+)	++	++	++	+++	+	-
V-266-90	++	+(+)	++	(+)	++	própria, muscular e serosa	+	-
V-269-90	++	(+)	-	(+)	++	+++	+	-
V-270-90	++	-	-	-	+(+)	própria, muscular e serosa	-	-
V-271-90	+	-	-	++	++	+++	+	-
V-273-90	+	-	-	++	++	própria muscular e serosa	-	-

1 - ausência de lesão, (+) = discreta, + = leve, +(+) = leve a moderada, ++ = moderada, ++(-) = moderada a acentuada, +++ = acentuada, ? = lesão duvidosa

Quadro 7 - Alterações não-neoplásicas observadas na bexiga de bovinos em surtos de HEB no Brasil II (continuação)

Protocolo	proliferação vascular	ectasia vascular	hemorragias	focos linfocíticos	infiltração linfocítica difusa	fibrose	estroma mixóide	pseudotumor inflamatório
V-273-90	(+)	-	-	-	(+)	+++ própria, muscular e serosa	-	-
V-274-90	++(+)	+	+	++(+)	++(+)	++(+) própria, muscular e serosa	-	-
V-275-90	++(+)	(+)	++	+	++	++ própria e muscular	-	-
V-276-90	++	++	++(+)	(+)	++	++ própria e muscular	-	-
V-277-90	+	-	-	-	++(+)	++ própria e muscular	-	-
V-278-90	++	(+)	-	(+)	++(+)	++ própria e muscular	-	-
V-448-90	-	-	+	-	+	++ própria, muscular e serosa	(+)	-
24762	++(+)	-	-	(+)	-	(+) própria	-	-
24765	++	(+)	(+)	-	+	(+) própria	-	-
24796	++	(+)	++(+)	(+)	(+)	+++ própria, serosa e muscular	-	-
V-234-91	++(+)	+	-	++(+)	(+)	-	-	-
Bovino 823 13694, 13775-79, 17806	++(+)	(+)	-	++(+)	+	++ própria	-	-
Bovino 874 14768-70	++(+)	(+)	-	(+)	(+)	++ própria	-	-
Bovino 961 13302-305, 17807	++(+)	(+)	++	+	(+)	++(+) própria	-	-
Bovino 2377 18238-42	++(+)	-	-	+++	++	++ própria	++(+)	-

I - = ausência de lesão, (+) = discreta, ++ = leve, ++(+)= leve a moderada, +++ = moderada, +++(+)= moderada a acentuada, ++++ = acentuada, ? = lesão dividida

Quadro 7 - Alterações não-neoplásicas observadas na bexiga de bovinos em surtos de HEB no Brasil II (continuação)

Protocolo	proliferação vascular	ectasia vascular	hemorragias	focos linfocíticos	infiltração linfocítica difusa	fibrose	estroma mitótico	pseudotumor inflamatório
Bovino 2379 18245-47	+(+)	-	++	++	+(+)	++ própria	++	-
Bovino 2380 18248-51	+(+)	+(+)	-	+(+)	++	+(+) própria	+	-
Bovino 2381 18252-53	+	+	+	++	+(+)	+(+) própria	+	-
Bovino 2396 18394-18301	(+)	-	-	++	-	(+) própria	-	-
Bovino 2188 17422-24, 17808	+	-	(+)	+	-	++ própria	-	-
Bovino 2286 17863-67	+(+) atípica	(+) trombo	(+)	(+)	+	(+) própria	-	-
Bovino 2291 17898-900, 17911	(+)	-	-	-	-	(+) própria	-	-
Bovino 2303 17907-910	+(+)	-	-	-	(+)	+	-	-
Bovino 2285 17857-62	(+)	-	-	+(+)	-	-	-	-
Bovino 2287 17868-70	(+)	-	-	+	+	+(+) própria	-	-
Bovino 2371 18331-33	(+)	-	-	-	(+)	(+) própria	-	-
Bovino 2374 18234-56	(+)	-	-	(+)	(+)	(+) própria	-	-
Bovino 2376 18237	(+)	-	-	(+)	(+)	(+) própria	-	-
Bovino 2382 18254-56	(+)	-	-	-	(+)	-	-	-
Bovino 2385 18257	-	-	-	(+)	-	-	-	-

I = ausência de lesão, (+) = discreta, ++ = leve, +(+) = leve a moderada, +++ = moderada a acentuada, ++++ = acentuada, ? = lesão duvidosa

Quadro 8 - Incidência das alterações de bexiga observadas em surtos de HEB no Brasil (continua)

Tipo de alteração	Nº de animais afetados	Incidência
Carcinoma "in situ"	25	42,3%
Carcinoma transicional baixo grau	1	1,6%
Carcinoma transicional baixo grau c/ dif. intestinal	1	1,6%
Carcinoma transicional baixo grau c/ dif. pseudoglandular	1	1,6%
Carcinoma transicional médio grau c/ dif. escamosa, mesonefróide e pseudoglandular	1	1,6%
Carcinoma transicional alto grau	1	1,6%
Carcinoma transicional alto grau c/ estroma pseudossarcomatoso	2	3,3%
Carcinoma transicional alto grau c/ dif. pseudoglandular	2	3,3%
Carcinoma transicional alto grau c/ dif. pseudoglandular e estroma pseudossarcomatoso	2	3,3%
Carcinoma transicional alto grau c/ dif. intestinal, mesonefróide e pseudoglandular	4	6,7%
Carcinoma transicional alto grau c/ dif. escamosa, mesonefróide e intestinal	1	1,6%
Carcinoma transicional alto grau c/ dif. céls cromófobas, escamosa e pseudoglandular	1	1,6%
Carcinoma transicional alto grau c/ dif. intestinal e pseudoglandular	1	1,6%
Carcinoma transicional alto grau c/ dif. escamosa e intestinal e estroma pseudossarcomatoso	1	1,6%
Carcinoma transicional alto grau c/ dif. escamosa e pseudoglandular	5	8,4%
Carcinoma transicional alto grau c/ dif. mesonefróide	1	1,6%
Carcinoma transicional alto grau c/ dif. escamosa, mesonefróide e pseudoglandular	1	1,6%
Carcinoma escamoso	4	6,7%
Carcinoma escamoso c/ dif. pseudoglandular	6	10,1%
Carcinoma trabecular c/ dif. céls de Paneth	1	1,6%
Carcinoma trabecular c/ dif. escamosa	1	1,6%
Carcinoma pobremente diferenciado	5	8,4%
Carcinoma pobremente diferenciado c/ dif. pseudoglandular	2	3,3%
Adenocarcinoma	1	1,6%
Adenocarcinoma d/ dif. intestinal	3	5,0%
Adenocarcinoma c/ dif. intestinal e em céls de Paneth	1	1,6%
Adenocarcinoma mesonefróide	3	5,0%
Adenocarcinoma mesonefróide c/ dif. em céls cromófobas	1	1,6%
Carcinoma (transicional) com estroma fusocelular	1	1,6%
Carcinoma (escamoso) com estroma fusocelular	1	1,6%
Adenocarcinoma "signet ring"	1	1,6%
Carcinoma plasmocitóide	1	1,6%
Carcinoma de céls cromófobas	1	1,6%
Carcinoma sarcomatóide ³	1	1,6%
Carcinoma sarcomatóide c/ céls sinciciotrofoblásticas?	1	1,6%
Ca. sarcomatóide ou carcinosarcoma?	1	1,6%
Hemangiossarcoma	14	23,7%
Hemangiossarcoma c/ céls sinciciotrofoblásticas	1	1,6%

³? = lesão incerta

Quadro 8 - Incidência das alterações de bexiga observadas em surtos de HEB no Brasil (continuação).

Tipo de alteração	Nº de animais afetados	Incidência
Papiloma transicional	10	16,9%
Papiloma transicional c/ dif. mesonefróide	2	3,3%
Adenoma transicional	5	8,4%
Adenoma transicional c/ dif. intestinal	1	1,6%
Adenoma mesonefróide	2	3,3%
Hemangioma capilar	11	18,6%
Hemangioma cavernoso	12	20,3%
Hemangioma venoso	12	20,3%
Mixoma	2	3,3%
Hiperplasia urotelial	12	20,3%
Displasia grau I, II e III	32	54,2%
Metaplasia intestinal	6	10,1%
Metaplasia mesonefróide	9	15,2%
Metaplasia escamosa	1	1,6%
Metaplasia em céls cromóforas	4	6,7%
Ninhos de Brunn	41	69,4%
"Cistite" cística	24	40,6%
"Cistite" glandular	6	10,1%
Proliferação polipóide	36	61,0%
Proliferação micropolipóide	17	28,8%
Cistos intra-epiteliais	26	44,0%
Proliferação vascular	58	98,3%
Ectasia vascular	35	59,3%
Hemorragias	29	49,1%
Focos linfocíticos	43	72,8%
Infiltração linfocítica difusa	50	84,7%
Fibrose	55	93,2%
Estroma mixóide	16	27,1%
Pseudotumor inflamatório?	1 + 1?	1,6 ou 3,2%

^{1?} = lesão incerta

Quadro 9 - Frequência dos infiltrados linfocíticos observados na bexiga em surtos de HEB no Brasil

	Total	Focos linfóides	Infiltrados linfocíticos difusos
Tumores malignos	13	9	13
Tumores benignos	8	4	5
Concomitância de tumores malignos e benignos	25	21	23
Ausência de neoplasias	13	9	9

5. DISCUSSÃO

A diversidade das neoplasias observadas em bovinos com HEB pode ser considerada surpreendente, em especial se considerarmos a pequena variação na ocorrência de tumores de bexiga em outras espécies de animais domésticos. Por outro lado, **há quase uma perfeita identidade** com os processos neoplásicos que ocorrem na bexiga de humanos; quase só no aspecto quantitativo (frequência) observaram-se divergências significativas em alguns processos verificados na bexiga de bovinos com HEB e seres humanos.

No que se refere ao homem, tudo indica que essa variabilidade esteja associada aos três segmentos embrionários que participam da formação da bexiga, quais sejam **porções dos ductos mesonéfricos, mesênquima que circunda o seio urogenital e porção infra-umbilical da parede abdominal** (MURPHY et al., 1994). De fato, a embriogênese torna mais fácil compreende-se o porquê da presença das alterações neoplásicas e metaplásicas idênticas a tecidos renal e intestinal na bexiga de bovinos e de seres humanos. Seria interessante verificar a correlação exata entre as diferentes porções da bexiga (de acordo com a embriogênese) e a frequência dos diversos tipos de neoplasias. Nesse estudo não pudemos levantar esse aspecto, porque em apenas alguns casos recebemos a bexiga inteira para clivagem; a maior parte dos fragmentos recebidos foram coletados aleatoriamente de vários pontos da bexiga, principalmente de áreas que apresentavam alterações macroscópicas, ficando assim excluídas do estudo áreas da bexiga sem alterações macroscópicas evidentes que, no entanto, poderiam apresentar alterações microscópicas significativas. Mesmo assim, por que um mesmo estímulo carcinogênico pode dar origem a diferentes neoplasias, em um mesmo animal, ainda é uma incógnita. Talvez possa estar relacionado com o tempo de ingestão da planta ou com a quantidade de carcinógenos contidos na planta em cada surto. PAMUKÇU et al. (1967) relacionaram a maior frequência de carcinomas transicionais a bovinos que sobreviveram por mais tempo.

No que diz respeito à incidência das principais neoplasias encontradas nos bovinos com HEB em nosso estudo, não é fácil estabelecerem-se comparações mais exatas com os dados encontrados na literatura. Primeiramente, porque são poucos os autores que mencionam a frequência dos diferentes tipos histológicos com precisão. Também dificulta muito esse tipo de comparação, o fato de que, em muitos casos, os animais apresentam dois ou mais tipos de neoplasias.

Outro problema na determinação mais exata da frequência dessas neoplasias relaciona-se às possíveis variações na nomenclatura utilizada por diferentes patologistas, o que, aliás, já foi mencionado por MURPHY et al. (1994) em relação às neoplasias de bexiga em humanos. Lesões interpretadas como “severa displasia” por alguns autores, são consideradas como neoplásicas por outros.

De forma análoga, a metodologia e/ou o critério a ser considerado na avaliação das proporções também influenciam. Exemplificando, PAMUKÇU et al. (1976) e MCKENZIE (1978) aparentemente só incluíram em seus estudos, animais com neoplasias verdadeiras. Em nosso levantamento, também incluímos animais com HEB que apresentavam somente alterações não-neoplásicas, o que perfazia 22% do total.

Nesse ponto julgamos oportuno mencionar que a HEB pode também ser provocada por alterações inflamatórias e vasculares, sem a presença de neoplasias (ROSENBERGER & HEESCHEN, 1960; MULLER et al., 1975; NIELSEN & MOULTON, 1990; TOKARNIA et al., 2000). Por este motivo preferimos manter em nosso estudo casos nos quais não existiam neoplasias. Não se trata, aqui, de estabelecer

quem está certo ou errado. É apenas uma questão de critérios, cujo peso deve ser levado em conta na interpretação dos resultados.

Não obstante, alguns dados por nós levantados estão mais ou menos em consonância com aqueles existentes na literatura. Por exemplo, encontramos 44% de **carcinomas de células de transição (CCT)**, número próximo dos 32,5% de CCT observados em bovinos e búfalos com HEB na Turquia (PAMUKÇU et al., 1976). Carcinomas transicionais, com ocorrência natural, também foram observados com maior frequência na bexiga de ovelhas (McCREA & HEAD, 1981). Adicionalmente verificamos 42,3% de **carcinoma "in situ" (CAIS)**. Proporções semelhantes também foram verificadas com relação aos **papilomas de células de transição (PCT)**, 17% e 16,9%, para os estudos de PAMUKÇU (1974) e para nossa série, respectivamente. Todavia, em outro trabalho, PAMUKÇU et al. (1976) verificou 24% de PCT. Nos estudos de PAMUKÇU et al. (1976) os **adenomas** foram raros (3,5%), em nossa série perfizeram 10,1% dos tumores.

Já o número de **carcinoma epidermóide** (16,9%) por nós observados foi superior e o de **adenocarcinoma** (8,4%), ligeiramente inferior (excluindo-se o adenocarcinoma mesonefróide), aos verificados por PAMUKÇU et al. (1976), 10,7% e 13,6%, respectivamente.

Embora as neoplasias constituídas pelo epitélio de transição (mais ou menos diferenciadas) sejam mais freqüentes tanto nos animais (NIELSEN & MOULTON, 1990; PAMUKÇU, 1974; PAMUKÇU et al., 1976), como no homem (MURPHY et al., 1994; ORDÓNEZ & ROSAI, 1996), há algumas diferenciações, descritas como raras ou pouco freqüentes para humanos (MURPHY et al., 1994; ORDÓNEZ & ROSAI, 1996) ou não mencionadas na literatura veterinária, que ocorreram com incidência mais ou menos significativa em nossos casos de HEB. Como exemplo, podem ser citados os processos neoplásicos e metaplásicos com características nefrogênicas (mesonefróide). Além disso verificamos diferenciação intermediária entre hiperplasia urotelial, metaplasia, adenoma e adenocarcinoma nefrogênicos. Outros autores, porém, não mencionam ou não crêem na ocorrência de adenocarcinoma nefrogênico mesmo no homem (MURPHY et al., 1994).

Carcinoma trabecular com diferenciação em células de Paneth, adenocarcinoma e adenoma mesonefróides, carcinoma com estroma fusocelular, adenocarcinoma "signet ring" (anel de sinete), carcinoma plasmocitóide, carcinoma de células cromófobas e carcinoma transicional tipo ninhado, embora raros em nosso estudo, ainda não haviam sido descritos na bexiga de bovinos com HEB.

Com relação aos tumores mesenquimais, verificamos elevado número de neoplasias vasculares (84,7%, sendo 25,4% **hemangiossarcomas** e 59,3% **hemangiomas**), fato também observado na Austrália (84,1% - McKENZIE, 1978). Em bovinos com HEB, na Turquia, esses índices foram mais baixos (56,1% - PAMUKÇU et al., 1976). No Japão angiomas (87,8%) foram verificados com maior frequência (MAEDA, 1978a).

A coexistência de tumores com elementos de origem epitelial e mesenquimal, bem como a concomitância de dois ou mais tipos neoplásicos de mesma origem, em um só animal, também complica a tentativa de levantar-se a frequência das neoplasias que ocorrem na HEB. PAMUKÇU et al. (1976) verificaram a ocorrência simultânea de tumores mesenquimais e epiteliais em 54% dos casos de HEB, enquanto nós a encontramos em 30,5% dos casos e McKENZIE (1978) em 15,7%. MAEDA (1978a) observou 2 ou mais tipos tumorais em 54,5% dos bovinos. Parte dessa discrepância pode ser decorrente dos critérios de classificação ou da metodologia utilizada. Por exemplo, nós fizemos o cálculo sobre o total de animais com HEB (59), porém 13 deles

(22%) só apresentaram alterações não-neoplásicas. Se o cálculo fosse feito só sobre os animais com neoplasias, como parece ser o método utilizado pelos autores acima citados, essa percentagem, em nosso estudo subiria para 39,1%.

Dentro dos casos de HEB com neoplasias puramente epiteliais (incluindo-se aqui casos com duas ou mais neoplasias epiteliais) encontramos percentagem de 33,8% (ou 42,5%, retirando-se do cálculo as alterações não-neoplásicas), contra 35% (PAMUKÇU et al., 1976) e 15,7% (McKENZIE, 1978).

No que se refere aos tumores mesenquimais, percentagens de 9% (PAMUKÇU et al., 1976) e 15,2% (nosso estudo) novamente contrastam com os 68,4% encontrados por McKENZIE (1978). Embora seja apenas uma hipótese, pode ser que essas discrepâncias sejam decorrentes do fato de que, os surtos de HEB descritos nesse último trabalho foram determinados pela ingestão de *Pteridium esculentum* (3 propriedades) ou *Cheilantes sieberi* (4 propriedades), que poderiam conter carcinógenos com atividade/intensidade diferente das de *P. aquilinum*.

Realmente, o comportamento biológico das alterações que ocorrem na bexiga de animais com HEB é, para nós, de difícil compreensão. Por exemplo: neoplasias com marcada anaplasia e evidente potencial infiltrativo (infiltração no músculo detrusor e até na serosa), muitas vezes com invasão vascular, raramente são capazes de metastizar para linfonodos regionais e outros órgãos. Em humanos, metástases de carcinoma transicional geralmente estão associadas à invasão tumoral na parede muscular e, até mesmo, têm sido observadas em linfonodos regionais de 14% dos pacientes com neoplasias superficiais (MURPHY et al., 1994). Esse ponto já havia sido abordado ligeiramente por TOKARNIA et al. (2000).

A resposta mais lógica para essa questão, seria a de que a reação imunológica local, impediria a disseminação da neoplasia.

De fato, a exemplo de muitos autores (ROSENBERGER & HEESCHEN, 1960; DÖBEREINER et al., 1967; TOKARNIA et al., 1969; SMITH & BEATSON, 1970), também observamos infiltração inflamatória, predominantemente linfocítica, difusa ou focal, com variáveis graus de intensidade. Essa inflamação acompanhava vários tipos de tumores benignos e malignos, porém era mais freqüente e intensa em neoplasias mais agressivas.

Por outro lado, infiltração linfocítica difusa e formação de focos linfóides também ocorreram em bexigas sem processos neoplásicos. Dessa forma esses achados não permitem uma **correlação simples** entre esse tipo de inflamação com alguma alteração metaplásica ou neoplásica específica ou com proteção específica contra infiltração tecidual da neoplasia ou metástases. Ademais, registramos casos com inequívoca presença de células neoplásicas dentro de vasos, sem sinais de metástases distantes. O esclarecimento da (s) causa (s) dessa “barreira à metástase” e suas relações com a carcinogênese química induzida pelo ptaquilosídeo talvez possa ser de interesse em futuros estudos que visem combater o câncer no homem e nos animais.

Eosinófilos também foram vistos acompanhando neoplasias, principalmente carcinomas de células escamosas ou áreas de diferenciação escamosa, corroborando assim com a afirmação de MURPHY et al. (1994) em humanos, de acordo com esse autor, a presença dessas células está correlacionada com a antigenicidade da queratina presente nesses tumores. Em um caso, observamos infiltração eosinofílica em um hemangioma e também sob o urotélio e junto à infiltração linfocítica (29279); não sabemos a que atribuir, em relação a esse animal, a presença dos eosinófilos.

No que concerne à nomenclatura ou mesmo à classificação de fenômenos dentro da patologia geral, de forma geral e não apenas nos trabalhos aqui levantados sobre neoplasias de bexiga, o termo **metaplasia** vem sendo utilizado para tumores malignos

(NIELSEN & MOULTON 1990, ORDÓNEZ & ROSAI, 1996), entretanto como essa palavra define a transição de um tecido morfologicamente normal em outro, não nos parece lógico utilizá-lo para proliferações neoplásicas; a palavra diferenciação nos parece mais adequada.

Por outro lado, pequenas variações entre as diversas classificações em nomenclatura, por vezes refletem apenas uma questão de preferência por um ou por outro termo. Por exemplo, a alteração por nós denominada de carcinoma "in situ" é classificada, por alguns autores, como displasia grau IV. Optamos pela primeira, em função da marcada anaplasia presente nessas alterações. Também preferimos utilizar o termo carcinoma transicional ou escamoso com áreas de diferenciação pseudoglandular, à de carcinoma de células transicionais com lúmen semelhante à glândula utilizada pela AFIP (MURPHY et al., 1994), pois observamos esta alteração em carcinomas transicionais e escamosos enquanto, MURPHY et al. (1994), mencionam-na apenas para carcinomas transicionais, nos quais os espaços "glandulares" são envolvidos por epitélio com aparência de pseudoestratificado e as células superficiais se diferenciam em epitélio transicional. Em nossos casos, as estruturas "glandulares" são formadas a partir de necrose de células tumorais **transicionais e escamosas**.

Além da metaplasia intestinal observada em parte dos ninhos de Brunn, que caracteriza a denominada "cistite intestinal" ou "glandular", verificamos também, em número reduzido de casos, metaplasias escamosa, mesonefróide e mesonefróide tipo células cromóforas nessas estruturas, lesões ainda não descritas em medicina veterinária. Ainda com relação a processos metaplásicos também encontramos focos de metaplasia intestinal, em áreas de epitélio transicional hiperplásico (caso 24581), próximas a carcinomas.

Havia também coexistência ou fases intermediárias entre os vários tipos de metaplasia. Observou-se uma fase intermediária entre metaplasia intestinal e mesonefróide (caso 24496), caracterizada por processo metaplásico biestratificado, regular, com núcleos polares basais, cilíndricos ou com núcleos basais perpendiculares uns aos outros de camada para camada.

Em vários casos, as alterações displásicas ocorreram em sítios diferentes, ao mesmo tempo. Ademais verificamos que parte dos carcinomas "in situ" estava associada à formação de neoplasias epiteliais multicêntricas. Estes dados corroboram com a afirmação de NIELSEN & MOULTON (1990) de que a ocorrência das lesões estariam associadas à exposição, de diversas áreas, aos carcinógenos.

Notamos ainda que parte dos carcinomas transicionais com estroma fusocelular e com diferenciação pseudoglandular, guardavam marcada semelhança com os carcinomas do útero de vacas. Tivemos dificuldade na diferenciação entre carcinoma sarcomatóide, carcinossarcoma e carcinoma com estroma fusocelular, já que a porção fusiforme dessas neoplasias se assemelha bastante. A determinação exata, ao nosso ver, só é possível através da imunohistoquímica e/ou microscopia eletrônica, o que poderá ser realizado em estudos futuros.

Não adotamos o termo carcinoma misto, uma vez que acreditamos que os diferentes tipos histológicos epiteliais observados simultaneamente ou são tumores diferentes ou apenas pequenas áreas de diferenciação de uma mesma neoplasia. O termo carcinoma misto deve ser utilizado quando a tumoração é constituída por dois tipos de células epiteliais diferentes em uma mesma área.

Em dois casos, encontramos neoplasias contíguas, sendo que no primeiro (caso 24581), uma neoplasia de crescimento mais invasivo (carcinoma transicional) invadia a outra (hemangioma cavernoso), de crescimento mais expansivo. No outro caso (V-274-

90) observou-se uma carcinoma escamoso infiltrando um hemangiossarcoma; ambos caracterizando a assim chamada “**colisão de tumores**”.

Verificou-se também malignização de tumores benignos como transformação de hemangiomas em hemangiossarcomas. Não encontramos menção desse fenômeno em bexiga de animais.

A proliferação bem diferenciada de vasos sanguíneos na própria, difusa ou localizada, em maior ou menor grau, foi observada em todos os animais. Em alguns animais esse processo apresentava-se acompanhado de displasia e hiperplasia dos vasos do estroma e dos vasos da musculatura da bexiga, além de alterações metaplásicas do tecido conjuntivo que circundava esses vasos, em tecido conjuntivo mixomatoso (casos 24582 e 28231).

Importante lembrar que estas alterações ocorreram, em maior escala, no tecido conjuntivo da própria, sem associação com vasos. Outros processos também foram encontrados no interior de alguns vasos, tais como proliferação de células endoteliais da íntima de artérias, formando pequenas “papilas” na luz vascular ou até mesmo da média, com marcado espessamento da musculatura vascular (casos 24582 e V-276-90). NIELSEN & MOULTON (1990) se referem a ocorrência de endarterite obliterante e destacamento do endotélio vascular.

6. CONCLUSÕES

As alterações histológicas de bexiga de bovinos com HEB, em função da grande variabilidade e simultaneidade, diferem bastante das lesões neoplásicas e pré-neoplásicas, que ocorrem nesse órgão em outros animais domésticos, porém praticamente se equivalem, qualitativamente, àquelas descritas em seres humanos.

Os tumores carcinoma trabecular com diferenciação em células de Paneth, adenoma e adenocarcinoma mesonefróides, carcinoma com estroma fusocelular, adenocarcinoma "signet ring" (anel de sinete), carcinoma plasmocitóide, carcinoma de células cromóforas e carcinoma transicional tipo ninhado, embora raros em nosso estudo, ainda não haviam sido descritos em animais.

Alterações não-neoplásicas como metaplasia mesonefróide e em células tipo cromóforas, bem como, pseudotumor inflamatório e estroma mixomatoso também não haviam sido descritas em animais.

Aprofundamento de estudos visando uma melhor compreensão da carcinogênese química induzida pelo ptaquilosídeo pode ser de grande valia, no que se refere a "barreira a metástases" verificadas nos tumores causados por *Pteridium aquilinum*.

O conhecimento das principais neoplasias que ocorrem em bovinos com HEB pode ser útil para Medicina Humana, uma vez que sabe-se que o princípio tóxico mantém-se no leite de vacas intoxicadas e pode ser ingerido por humanos.

7. BIBLIOGRAFIA

- ALMOND, N. Fern poisoning. *J. Comp. Pathol. Therapeut.*, 7:165-167, 1894. (Cit. FENWICK, 1988).
- ALONSO-AMELOT, M.E. & AVENDANO, M. Human carcinogenesis and bracken fern: review of the evidence. *Curr. Med. Chem.*, Mar.,9(6):675-86, 2002.
- ANGELOFF, S. Über ein im Rhodopegebirge vorkommendes Blutharnem der Rinder. *Arch. f. wiss. u. prakt. Tierheilkde*, 36:670, 1910. (Cit. HEESCHEN, 1959).
- BARBER, G.D. Mutagenic and other radiomimetic properties of bracken. 1969. Thesis(Ph.D) - University of Wales, Bangor, 1969. (Cit. EVANS, 1970).
- BRETZINGER, H. Untersuchungen über die haematuria vesicalis bovis im badischen Schwarzwald. 1957. Diss. - Giessen, 1957. (Cit. HEESCHEN, 1959).
- BROBST, D.F. & OLSON, C. Neoplastic and proliferative lesions of the bovine urinary bladder. *Am. J. Vet. Res.*, 24:105-111, 1963.
- BROBST, D.F. & OLSON, C. Histopathology of urinary bladder tumors induced by bovine cutaneous papilloma agent. *Cancer Res.*, 25:12-19, 1965.
- BULL, L.B.; DICKISON, C.G. & DAMM, A.T. Enzootic haematuria of cattle in South Australia. Council for Scientific and Industrial Research. Pamphlet 33, Melbourne, 1932. (Cit. HEESCHEN, 1959).
- BUTOZAN, V. Chronische Haematurie bei den Rindern in der Vrabaska banovina. *Jugoslav. Vet. Glasnik*, 15:225-233, 1935. (Cit. HEESCHEN, 1959).
- CAMPO, M.S. & JARRETT, W.F.H. Papillomavirus infection in cattle: viral and chemical cofactors in naturally occurring and experimentally induced tumours. In: EVERED, D & CLARK, S. (eds.), *Papillomavirus*. Ciba Found. Symp., 120, 1986. p.117-131. (Cit. MOURA, 1989).
- CELAN, B. Cercetari preliminare asupra etiologici haematuriei esentiale a bovidelor, 1941. (Cit. HEESCHEN, 1959).
- CRAIG, J.F. Chronic haematuria of cattle. *Vet. Rec.*, 1:68-71, 1930. (Cit. HEESCHEN, 1959).
- CULPEPER, N. In "The English Physician, or an Astrologo-Physical discourse of the vulgar herbs of this nation", London, 1652. (Cit. EVANS, I.A. 1984).
- CURIAL, O. Hematúria enzoótica dos bovinos. Observações anatomopatológicas. 1964. 46p. Tese (Mestrado) - Univ. Fed. Paraná, Curitiba, 1964.
- DATTA, S.C.A. The etiology of enzootic bovine haematuria. *Indian. J. Vet. Sci.*, 4:431-461, 1934. (Cit. NANDI, 1954).

DATTA, S.C.A. Chronic bovine haematuria. *Ind. J. Vet. Sci.*, 29:187-209, 1952. (Cit. NANDI, 1954).

DÖBEREINER, J.; TOKARNIA, C.H. & CANELLA, C.F.C. Ocorrência da hematuria enzoótica e de carcinomas epidermóides no trato digestivo superior em bovinos no Brasil. *Pesq. Agropec. Bras., Seção Vet.*, 2:489-504, 1967.

DODD, D.C. Adenocarcinoma of the small intestine of sheep. *N.Z. Vet. J.*, 8(6):109-112, 1960.

DUMAS, L. Étude de la cystite chronique hémorragique. 1934. Diss. - Lyon, 1934. (Cit. HEESCHEN, 1959).

ERTÜRK, E.; PAMUKÇU, A.M. & BRYAN, G.T. Altered urinary and intestinal carcinogenic activity of bracken fern (*Pteris aquilina*) in albino rats by concurrent administration of bicarbonate, nitrate and nitrite in drinking water. *Abstr. XI th Int. Cancer Congr.*, 2:41-42, 1974.

EVANS, W.C. & EVANS, E.T.R. The effects of the inclusion of bracken (*Pteris aquilina*) in the diet of rats, and the problem of bracken poisoning in farm animals. *Brit. Vet. J.*, 105:175-186, 1949.

EVANS, W.C.; EVANS, E.T.R. & HUGHES, L.E. Studies on bracken poisoning in cattle - Part I. *Brit. Vet. J.*, 110(8):295-306, 1954a.

EVANS, W.C.; EVANS, E.T.R. & HUGHES, L.E. Studies on bracken poisoning in cattle - Part II. *Brit. Vet. J.*, 110(9):365-380, 1954b.

EVANS, W.C.; EVANS, E.T.R. & HUGHES, L.E. Studies on bracken poisoning in cattle - Part III. *Brit. Vet. J.*, 110(10):426-442, 1954c.

EVANS, W.C.; EVANS, I.A.; THOMAS, A.J.; WATKINS, J.E. & CHAMBERLAIN, A.G. Studies on bracken poisoning in cattle - Part IV. *Brit. Vet. J.*, 114(5):180-198, 1958a.

EVANS, I.A.; THOMAS, A.J.; EVANS, W.C. & EDWARDS, C.M. Studies on bracken poisoning in cattle - Part V. *Brit. Vet. J.*, 114(7):253-267, 1958b.

EVANS, W.C. & EVANS, I.A. Studies on bracken poisoning in cattle. Part VII. - The toxicity of bracken rhizomes. *Vet. Record*, 73(35):852-853, 1961.

EVANS, I.A.; HUMPHREYS, D.J.; GOULDEN, L.; THOMAS, A.J. & EVANS, W.C. Effects of bracken rhizomes on the pig. *J. Comp. Pathol. Therap.*, 73(3):229-243, 1963.

EVANS, W.C. Bracken poisoning of farm animals. *Vet. Record*, 76:365-372, 1964.

EVANS, I.A. & MASON, J. Carcinogenic activity of bracken. *Nature (Lond)*, 208:913-914, 1965.

- EVANS, I.A. & WIDDOP, B. Carcinogenic activity of bracken. Rep. Br. Emp. Cancer Campn., p.377, 1966. (Cit. EVANS, I.A. 1982).
- EVANS, I.A. The radiomimetic nature of bracken toxin. Cancer Res., 28:2252-2261, 1968.
- EVANS, I.A. Naturally occurring chemical carcinogens: Bracken fern toxin. In: X Int. Cancer Congr., Houston, 1970. p. 27.
- EVANS, I.A.; WIDDOP, B.; JONES, R.S.; BARBER, G.D.; LEACH, H.; JONES, D.L. & MAINWARING-BURTON, R. The possible human hazard of the naturally occurring bracken carcinogen. Biochem. J., 124(2):28-29, 1971.
- EVANS, I.A.; JONES, R.S. & MAINWARING-BURTON, R. Nature, 237(5350):107-108, 1972.
- EVANS, I.A. & OSMAN, M.A. Carcinogenicity of bracken and shikimic acid. Nature (London), 250(5464):348-349, 1974.
- EVANS, W.C. Bracken thiaminase-mediated neurotoxic syndromes. Bot. J. Linnean Soc., 73:113-131, 1976.
- EVANS, I.A. Bracken carcinogenicity. Res. Vet. Sci., 26(3):339-348, 1979.
- EVANS, I.A.; PROROK, J.H.; COLE, R.C.; AL-SALMANI, M.H.; AL-SAMARRAI, A.M.H.; PATEL, M.C. & SMITH, R.M.M. The carcinogenic, mutagenic and teratogenic toxicity of bracken. Proceedings of the Royal Society of Edinburgh, 81B:65-77, 1982.
- EVANS, I.A. Bracken carcinogenicity. In: SEARLE, C.E. (ed.). Chemical Carcinogens. ACS Monograph 182. American Chemical Society, Washington, DC. 1984. p. 1171-1204.
- EVANS, I.A. Bracken carcinogenicity. In: JAMES, G.V. (ed.). Reviews on Environmental Health. Int. Quart. Scient. Reviews. Tel. Aviv: Freund Publ. House, 1987. v.7, p. 161-199.
- FENWICK, G.R. Bracken (*Pteridium aquilinum*) – Toxic effects and to constituents. J. Sci. Food Agric., 46:147-173, 1988.
- FERNALD, M.L. & KINSEY, A.C. Edible Wild Plants of Eastern North America, Cornwall-on-Hudson, N.Y.: Idlewild Press, 1943, 71p. (Cit. PAMUKÇU et al., 1970).
- GELDMACHER, W. Untersuchungen über die Haematuria vesicalis bovis. Fütterungsversuche mit Farnkrautpulver. 1942. Diss.- Hannover, 1942. (Cit. HEESCHEN, 1959).
- GEORGIEV, R.; VRIGASOV, A.; ANTONOV, S. & DIMITROV, A. Versuche zur Feststellung der Anwesenheit Kanzerogener Stoffe im Harn der mit Heu aus

Hämaturiegebieten gefütterten Kühe. Wiener Tierärztliche Monatsschrift, 50:589-595, 1963. (Cit. EVANS, 1968).

GEORGISSON, G & VIGFUSSON, H. Carcinoma of the small intestine of sheep in Iceland. A pathological and epizootiological study. Acta Vet. Scand., 14(3):392-409, 1973.

GLÖCKNER. Haematurie bei Rindern. Vet. Ber. Sachsen, 1913, 95, 1913. (Cit. HEESCHEN, 1959).

GOTTARDI, G. Malattia da carenza nelle bovine da latte (Ematuria cronica). Profilassi, 8:25-26, 1935. (Cit. HEESCHEN, 1959).

GÖTZE, R. Über das chronische Blutharnen des Rindes. Dtsch. Tierärztl. Wschr., 50, 57-61, 1942. (Cit. HEESCHEN, 1959).

GROUNDS, R. Ferns. Pelham Books, London, p. 235-237, 1974. (Cit. FENWICK, 1988).

HADWEN, S. Bovine haematuria. J. Amer. Vet. Med. Ass., 51:822, 1918. (Cit. HEESCHEN, 1959).

HARBUTT, P.R. & LEAVER, D.D. Carcinoma of the bladder of sheep. Austr. Vet. J., 45:473-475, 1969.

HARRINGTON, H.D. "Edible native plants of the Rocky Mountains". The University of New Mexico Press, 122-125, 1967. (Cit. EVANS, 1970).

HEAD, K.W. Bull. Wld. Hlth. Org., 53:145, 1976. (Cit. McCREA & HEAD, 1978).

HEß, P.F. Untersuchungen über das chronische Blutharnen des Rindes. 1950. Diss. Bern., 1950.

HEESCHEN, W. Die haematuria vesicalis bovis chronica. Dtsch. Tierärztl. Wschr., 66(22):622-626 e (24):678-682, 1959.

HICKMAN, A.J. N.Z. J. Agric., 1:215, 1910. (Cit. SUNDERMAN, 1987).

HIRONO, I.; SHIBUYA, C.; FUSHIMI, K. & HAGA, M. Studies on carcinogenic properties of bracken, *Pteridium aquilinum*. J. Natn. Cancer Inst., 45:179-188, 1970.

HIRONO, I.; SHIBUYA, C.; SHIMIZU, M. & FUSHIMI, K. Carcinogenic activity of processed bracken used as human food. J. Nat. Cancer Inst., 48:1245-1250, 1972.

HIRONO, I.; SASAOKA, I.; SHIBUYA, C.; SHIMIZU, M.; FUSHIMI, K.; MORI, H.; KATO, K. & HAGA, M. Natural carcinogenic products of plant origin. Gann Monogr. on Cancer Res., 17:205-217, 1975.

HIRONO, I.; FUSHIMI, K. & MATSUBARA, N. Carcinogenicity test of shikimic acid in rats. Toxicol. Lett., 1:9-10, 1977.

HIRONO, I.; UENO, I.; HOSAKA, S.; TAKANASHI, H.; MATSUSHIMA, T.; SUGIMURA, T. & NATORI, S. Carcinogenicity examination of quercetin and rutin in ACI rats. *Cancer Lett.*, 12:15-18, 1981.

HIRONO, I.; AISO, S.; YAMAJI, T.; MORI, H.; YAMADA, K.; NIWA, H.; OJIKI, M.; WAKAMATSU, K.; KIGOSHI, H.; NIYAMA, K. & UOSAKI, Y. Carcinogenicity in rats of ptaquiloside isolated from bracken. *Gann.*, 75:833-836, 1984a.

HIRONO, I.; KONO, Y.; TAKAHASHI, K.; YAMADA, K.; NIWA, H.; OJIKI, M.; KIGOSHI, H.; NUYAMA, K. & UOSAKI, Y. Reproduction of acute bracken poisoning in a calf with ptaquiloside, a bracken constituent. *Vet. Rec.*, 115(15):375-378, 1984b.

HUTYRA, F.; MAREK, J. & MANNINGER, R. *Spezielle Pathologie und Therapie der Haustiere*. 10 Aufl. Gustav Fischer, Jena, 1954.

IARC – Bracken fern (*Pteridium aquilinum*) and some of its constituents. In: *Int. Agcy. Res. Canc. Monographs on evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans*. Lyon, 1986, v. 40, p. 47-67. (Cit. MOURA, J.W. 1989).

JARRETT, W.F.H. Transformation of warts to malignancy in alimentary carcinoma in cattle. *Bull. Cancer*, 65:191-194, 1978.

JARRETT, W.F.H.; MURPHY, J.; O'NEIL, B.W. & LAIRD, H.M. Virus-induced papillomas of the alimentary tract of cattle. *J. Cancer*, 22:323-328, 1978a.

JARRETT, W.F.H.; MCNEIL, P.E.; GRIMSHAW, W.T.R.; SELMAN, I.E. & McINTYRE, W.I.M. High incidence area of cattle cancer with possible interaction between an environmental carcinogen and a papilloma virus. *Nature*, 274:215-217, 1978b.

JONES, R.S. Bracken Carcinogenesis. 1974. Thesis(Ph.D), Univ. of Wales, Bangor, 1974. (Cit. EVANS, 1987).

KAWAI, T.; TAKANISHI, H.; NAKAYAMA, M.; MORI, H. & HIRONO, I. Effect of storage on carcinogenic activity of bracken fern. *Cancer Lett.*, 12:29-35, 1981.

KINGSBURY, J.M. *Poisonous plants of the United States and Canada*. New Jersey:Prentice-Hall, 1964. 626p.

KLAESSEN, G. *Untersuchungen über die Haematuria vesicalis bovis. Fütterungsversuche mit Farnkraut (II. Versuchsreihe)*. 1942. Diss. - Hannover, 1942. (Cit. HEESCHEN, 1959).

LEE, J.M.; ANDRADE, S.O.; CAMARGO, W.V.A.; SAAD, A.D. & FERREIRA, A.E. Hematúria em bovinos no estado de São Paulo. *Arqs. Inst. Biol.*, S. Paulo, 33(2):27-37, 1966.

- LIENER, I.E. Toxic Constituents of Plant Foodstuffs. Second Edition. New York:Academic Press, 1980.
- LUQUE, F.G. La cistitis crónica hemorrágica o hematuria esencial de los bovinos en Colombia. Ver. Fac. Med. Vet. Zootec., XXIII(120)629-646, 1960.
- MAEDA, T.; TSUMURA, I.; OTAKE, O. & TAKAHASHI, M. Studies on Chronic bovine Hematuria Vesicalis Due to Tumors II: Occurrence in Japanese Indigenous cattle in the Northern Mountain us District of Okayama Prefecture. Bull. Fac. Agric., Tottori Univ., 27:749-752, 1974.
- MAEDA, T. Fundamental studies on the etiology of haematuria vesicalis bovis I: The induction of carcinomas and haemorrhages of the urinary bladder in Guinea Pigs by feeding bracken fern (*Pteridium aquilinum*), Bull. Agric., Tottori Univ., 1975.
- MAEDA, T.; YAMANE, O.; TSUMURA, I.; & SASAKI, HIROICHI. Studies on chronic bovine vesicalis due to tumors III: Endoscopic findings of the bladder mucous membrane. Bull. Agric., Tottori Univ., 29:80-88, 1977.
- MAEDA, T. Studies on chronic bovine hematuria vesicalis due to tumours IV: Histopathology of urocytic tumors. Bull. Agric., Tottori Univ.,31:78-83, 1978a.
- MAEDA, T. Studies on chronic bovine hematuria vesicalis due to tumours V: Etiological investigation. Bull. Agric., Tottori Univ.,31:277-282, 1978b.
- MAXIE, M.G. 1993. The urinary system. Enzootic hematuria. In: Jubb, K.V.F.; Kennedy, P.C. & Palmer, N. (ed.) Pathology of Domestic Animals. 4 th. San Diego:Academic Press, 1993, vol. 2, p. 534-536.
- MARRERO, E.; BULNES, C.; SANCHEZ, L.M.; PALENZUELA, I.; STUART, R.; JACOBS, F. & ROMERO, J. *Pteridium aquilinum* (bracken fern) toxicity in cattle in the humid Chaco of Tarija, Bolivia. Vet. Hum. Toxicol., Jun., 43(3):156-8, 2001.
- McCREA, C.T. & HEAD, K.W. Sheep tumours in North East Yorkshire. I. Prevalence on seven Moorland Farms. Brit. Vet. J., 134:454-461, 1978.
- McCREA, C.T. & HEAD, K.W. Sheep tumours in Northeast Yorkshire. II. Experimental production of tumours. Brit. Vet. J., 137:21-30, 1981.
- McDONALD, J.W. & LEAVER, D.D. Adenocarcinoma of the small intestine of Merino Sheep. Austr. Vet. J., 41:269-271, 1965.
- McKENZIE, R.A. Bovine enzootic haematuria in Queensland. Aust. Vet. J., 54:61-64, 1978.
- MIYAMOTO, T. Urocystitis haemorrhagica of native cattle in Formosa. Trans. for East Assoc. Trop. Med., 3:667-685, 1929. (Cit. HEESCHEN, 1959).
- MOON, F.E. & RAAFAT, M.A. The experimental production of bracken "poisoning" in sheep. J. Comp. Path., 61:88-100, 1951.

- MORINO, K.; MATSUKURA, N.; KAWACHI, T.; OHGAKI, H.; SUGIMURA, T. & HIRONO, I. Carcinogenicity test of quercetin and rutin in golden hamster by oral administration. *Carcinogenesis*, 3:93-95, 1982.
- MOURA, J.W. Aberrações cromossômicas em bovinos intoxicados crônica e naturalmente pela samambaia *Pteridium aquilinum*. 1989. 49p. Tese (Mestrado) – Inst. Biociências, Univ. São Paulo, São Paulo, 1989.
- MUGERA, G.M. & NERITE, P. Tumours of the urinary bladder and liver associated with enzootic haematuria in Kenyan cattle. *Vet. Rec.*, 83:457-458, 1968.
- MULLER, S.B.K.; MADUREIRA, F.R.; ALENCAR FILHO, R.A.; RIBEIRO, L.O.C. & SOUZA, J.A. Tentativa de reprodução experimental da hematúria enzoótica em bovinos pela administração de samambaia. *Ars. Inst. Biológico, S. Paulo*, 42:203-212, 1975.
- MURPHY, W.M, BECKWITH, J.B. & FARROW, G.M. Atlas of Tumor Pathology: Tumors of the Kidney, Bladder, and Related Urinary Structures. Third Series. Fascículo 11. Washington, DC: AFIP. 1994. 326p.
- NAFTALIN, J.M. & CUSHNIE, G.H. Pathology of bracken poisoning. *Vet. Record*, 63:332, 1951.
- NAFTALIN, J.M. & CUSHNIE, G.H. Pathology of bracken poisoning in cattle. *J. Comp. Pathol. Therap.*, 64:54-74, 1954.
- NANDI, S.N. An investigation into bovine haematuria in Kalimpong (District Darjeeling), India. *Brit. Vet. J.*, 110:354-358, 1954.
- NIELSEN, S.W. & MOULTON, J.E. Tumors of the Urinary System. In: Tumors in Domestic Animals. 3 th. Berkeley and Los Angeles, California: University of California Press. 1990. Cap.10. p.458-478. 672p.
- OLSON, C.; PAMUKÇU, A.M.; BROST, D.F.; SATTER, E.J. & PRICE, J.M. A urinary bladder tumor unduced by a bovine cutaneous papillomatosis. *Amer. J. Path.*, 35:672, 1959a.
- OLSON, C.; PAMUKÇU, A.M.; BROBST, D.F.; KOWALCZYK, T.; SATTER, E.J. & PRICE, J.M. A urinary bladder tumor induced by a bovine cutaneous papilloma agent. *Cancer Res.*, 19(7):779-782, 1959b.
- OLSON, C.; PAMUKÇU, A.M. & BROBST, D.F. Papilloma-like virus from bovine urinary bladder tumors. *Cancer Res.*, 25:840-849, 1965.
- OLSON, C.; GORDON, D.E.; ROBL, M.G. & LEE, K.P. Oncogenicity of bovine papilloma virus. *Arch. Environ. Health*, 19: 827-837, 1969.
- ORDÓNEZ, N.G. & ROSAL, J. Urinary tract: Kidney, renal pelvis, and ureter: Bladder and male urethra. In: ROSAL, J. *Ackerman's Surgical Pathology*. 8 th. St. Louis: Mosby, 1996, v.1, cap. 17, p.1059-1220. 2732p

OSHIMA, D. & ONO, H. Pathological study on a case of bladder carcinoma accompanied by chronic cystitis in cow. Jap. J. Vet. Sc., 5:19, 1957. (Cit. HEESCHEN, 1959).

PAMUKÇU, A.M. Investigations on pathology of enzootic bovine haematuria in Turkey. Zentbl. Vet. Med., 2:409-429, 1955.

PAMUKÇU, A.M. Epidemiologic studies on urinary bladder tumors in turkish cattle. Ann. N.Y. Acad. Sci., 180:938-947, 1963.

PAMUKÇU, A.M.; GÖKSOY, S.K. & PRICE, J.M. Urinary bladder neoplasms induced by feeding bracken fern (*Pteris aquilina*) to cows. Cancer research, 27(1):917-924, 1967.

PAMUKÇU, A.M. & PRICE, J.M. Induction of intestinal and urinary bladder cancer in rats by feeding bracken fern (*Pteris aquilina*). J. Natn. Cancer Inst., 43(1):275-281, 1969.

PAMUKÇU, A.M.; YALCINER, S.; PRICE, J.M. & BRYAN, G.T. Effects of co-administration of thiamine on the incidence of urinary bladder carcinomas in rats fed bracken fern. Cancer Res., 30:2671-2674, 1970.

PAMUKÇU, A.M.; WATTENBERG, L.W.; PRICE, J.M. & BRYAN, G.T. Phenothiazine inhibition of intestinal and urinary bladder tumours induced in rats by bracken fern. J. Natl. Cancer Inst., 47:155-159, 1971.

PAMUKÇU, A.M.; ETÜRK, E.; PRICE, J.M. & BRYAN, G.T. Lymphatic leukemia and pulmonary tumors in female swiss mice fed bracken (*Pteris aquilina*). Cancer Res., 32:1442-1445, 1972.

PAMUKÇU, A.M. Tumors of the Urinary Bladder. Bull. Wld. Hlth. Org. Genève:WHO. 1974. v.50. n.12. p.43-52

PAMUKÇU, A.M.; PRICE, J.M. & BRYAN, G.T. Naturally occurring and Bracken-fern-induced bovine urinary bladder tumors. Vet. Path., 13:110-122, 1976.

PAMUKÇU, A.M. & BRYAN, G.T. Pathology of the bovine urinary bladder tumors. Firat. Üniv. Vet. Derg., 3(3):27-44, 1976.

PAMUKÇU, A.M.; ERTÜRK, E. & BRYAN, G.T. Induction of urinary bladder and intestinal tumors in mice by feeding bracken fern. Ankara Univ. Vet. Fak. Derg., 24:28-34, 1977a.

PAMUKÇU, A.M.; YALCINER, S. & BRYAN, G.T. Inhibition of carcinogenic effect of bracken fern (*Pteridium aquilinum*) by various chemicals. Cancer, 40:2450-2454, 1977b. (Cit. FENWICK, 1988).

PAMUKÇU, A.M.; ERTÜRK, E.; YALCINER, S.; MILLI, U. & BRYAN, G.T. Carcinogenic and mutagenic activities of milk from cows fed bracken fern (*Pteridium aquilinum*). Cancer Res., 38: 1556-1560, 1978.

PAMUKÇU, A.M. & BRYAN, G.T. Bracken fern, a natural urinary bladder and intestinal carcinogen. In: Naturally-Occurring Carcinogens, Mutagens and Modulators of Carcinogenesis, eds MILLER, E.C.; MILLER, J.A.; HIRONO, I.; SUGIMURA, T. & TAKAYAMA, S. Japan Scientific Societies Press, Tokyo, 89-99, 1979. (Cit. FENWICK, G.R. 1988).

PAMUKÇU, A.M.; YALCINER, S.; HATCHER, J.F. & BRYAN, G.T. Quercetin, a rat intestinal and bladder carcinogen present in bracken fern (*Pteridium aquilinum*). *Cancer Res.*, 40:3468-3472, 1980a.

PAMUKÇU, A.M.; WANG, C.Y.; HATCHER, J. & BRYAN, G.T. Carcinogenicity of tannin and tannin-free extracts of bracken fern (*Pteridium aquilinum*) in rats. *J. Natl. Cancer Inst.*, 65:131-136, 1980b.

PARKER, W.H. & McCREA, C.T. Bracken (*Pteris aquilina*) poisoning of sheep in the North York Moors. *Vet. Record*, 77(30):861-865, 1965.

PENBERTHY, J. Vegetable poisoning (?) simulating anthrax in cattle. *J. Comp. Pathol. Therap.*, 6:266-275, 1893. (Cit. FENWICK, G.R. 1988).

PIRIE, H.M. Unusual occurrence of squamous carcinoma of the upper alimentary tract in cattle in Britain. *Res. Vet. Sci.*, 15:135-138, 1973.

PLOWRIGHT, W. Malignant neoplasia of the oesophagus e rumen of cattle in Kenya. *J. Comp. Pathol. Therap.*, 65:108-114, 1955.

PLOWRIGHT, W.; LINSELL, C.A. & PEERS, F.G. A focus of rumenal cancer in Kenyan cattle. *Brit. J. Cancer*, 25:72-80, 1971.

PRICE, J.M. & PAMUKÇU, A.M. The induction of neoplasms of the urinary bladder of the cow and the small intestine of the rat by feeding bracken fern (*Pteris aquilina*). *Cancer Res.*, 28:2247-2251, 1968.

RAVE, V.G.; SÁNCHEZ, F.O. & LUQUE, F.E. Estudio clinicopatológico de la hematuria vesical bovina. *Rev. ICA Bogotá (Colombia)*, XIII(4):671-679, 1978.

ROSENBERGER, G. & HEESCHEN, W. Adlerfarn (*Pteris aquilina*) – die Ursache des sog. Stallrottes der Rinder (Haematuria vesicalis bovis chronica). *Dtsch. Tierärztl. Wschr.*, 67(8):201-208, 1960.

ROSENBERGER, G. Längere Aufnahme von Adlerfarn (*Pteris aquilina*) – die Ursache der chronischen vesikalen haematurie des Rindes. *Wiener Tierärztl. Mschr.*, 52(5):415-421, 1965.

ROSS, A.D. Small intestinal carcinoma in sheep. *Austr. Vet. J.*, 56:25-28, 1980.

RYMER, L. The history and ethnobotany of bracken. *Bot. J. Linnean Soc.*, 73:151-176, 1976.

- SAITO, D.; SHIRAI, A.; MATSUSHIMA, T.; SURGIMURA, T. & HIRONO, I. Test of carcinogenicity of quercetin, a widely distributed mutagen in food. *Teratog. Carcinog. Mutagen.*, 1:213-217, 1980. (Cit. MOURA, J.W. 1989).
- SANTOS, R.C.; HOJO, E.S.; BRASILEIRO FILHO, G. Studies on the possible carcinogenicity of bracken fern (*Pteridium aquilinum*) from Ouro Preto, MG, Brazil. *Cienc. Tecnol. Aliment.*; 6(1):93-98, 1986.
- SCHLEGEL, M. Die Stallrotkrankheit des Rindes (haematuria chronica bovis). *Münch. Tierärztl. Wschr.*, 365-371, 388-393, 404-408, 416-421, 1934.
- SCHOENTAL, R. & BENSTED, J.P.M. The effects of whole body irradiation and of partial hepatectomy on the liver lesions induced in rats by a single dose of retrorsine, a pyrrolizidine (*Senecio*) alkaloid. *Brit. J. Cancer*, 17:242-251, 1963. (Cit. EVANS. & MASON 1965).
- SCHROEDER, H.A. & MITCHENER, M. Selenium and tellurium in rats: effect on growth, survival and tumors, *J. Nutr.*, 101:1531-1540, 1971. (Cit. SIMPSON, 1972b).
- SIEBER, D. Über den Zusammenhang zwischen dem Blutharnern der Rinder un Antineurin-Faktore. 1950. Diss. Bern, 1950. (Cit. HEESCHEN, 1959).
- SIMPSON, B.H. The geographic distribution of carcinomas of the small intestine in New Zealand sheep. *N.Z. Vet. J.*, 20(3):24-28, 1972a.
- SIMPSON, B.H. The possible relationship of selenium and superphosphate to the frequency of occurrence of intestinal carcinomas in sheep. *N.Z. Vet. J.*, 20(11):224, 1972b.
- SINGH, A.K.; JOSHI, H.C. & RAY, S.N. Studies on bovine haematuria. I Haematological and biochemical observations on the blood of cattle suffering from haematuria. *Indian J. Anim. Sci.*, 43(4):296-299, 1973.
- SIPPEL, L. Bracken fern poisoning. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 121:9-13, 1952.
- SMITH, B.L. & BEATSON, N.S. Bovine enzootic haematuria in New Zealand. *New Zealand Vet. J.*, 18(6):115-120, 1970.
- SOUZA, M.V. & GRAÇA, D.L. Intoxicação crônica por *P. aquilinum* (L.) Kuhn (Polypodiaceae) em bovinos. *Ciência Rural, Santa Maria*, 23(2):203-207, 1993.
- STAMATOVIC, S.; BRATANOVIC, U. & SOFRENOVIC, D. Das klinische Bild der durch Verfütterung von Adlerfarn (*Pteris aquilina*) experimentell hervorgerufenen Haematuria vesicalis der Rinder. *Wiener Tierärztl. Mschr.*, 52(6):589-596, 1965.
- STÖBER, M. Adlerfarn (*Pteridium aquilinum*). In: Rosenberger, G. (ed.) *Krankheiten des Rindes*. Paul Parey, Berlin, 1970, p.1260-1265.
- STORRAR, D.M. Cases of vegetable poisoning in cattle. *J. Comp. Pathol. Therap.*, 6:276-279, 1893. (Cit. FENWICK, 1988).

- SUNDERMAN, F.M. Bracken poisoning in sheep. *Aust. Vet. J.*, 64(1):25-26, 1987.
- THOMAS, B. & WALKER, H.F. The inactivation of thiamine by bracken (*Pteris aquilina*). *J. Soc. Chem. Ind.*, 68:6-9, 1949. (Cit. EVANS, 1976).
- TOKARNIA, C.H.; DÖBEREINER, J. & CANELLA, C.F.C. Ocorrência da intoxicação aguda pela "samambaia" (*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn) em bovinos no Brasil. *Pesq. Agropec. Bras.*, Seção Vet., 2:329-336, 1967.
- TOKARNIA, C.H.; DÖBEREINER, J. & CANELLA, C.F.C. Ocorrência da hematuria enzoótica e de carcinomas epidermóides no trato digestivo superior em bovinos no Brasil. II. Estudos complementares. *Pesq. Agropec. Bras.*, Seção Vet., 4:209-224, 1969.
- TOKARNIA, C.H.; DÖBEREINER, J. & PEIXOTO, P.V. Plantas tóxicas do Brasil. Rio de Janeiro: Ed. Helianthus, 2000. 320p.
- TSUMURA, I.; YAMANE, O.; MAEDA, T.; SASAKI, H.; SAKO, S. & HAYASHI, T. Clinicopathologic studies on tumefacient haematuria in cattle. *Bull. Agric., Tottori Univ.*, 25:275-280, 1972.
- TUSTIN, R.C.; ADELAAR, T.F. & MELDAL-JOHNSEN, C.M. Bracken poisoning in cattle in the Natal Midlands. *Jl. S. Afr. vet. med. Ass.*, 39(3):91-99, 1968.
- VILLALOBOS-SALAZAR, J. Carcinogenicidad del *Pteridium aquilinum* y alta incidencia del cancer gastrico en Costa Rica. *Rev. Costa Rica Cienc. Med.*, 6:131-139, 1985.
- WANG, C.Y.; CHIU, C.W.; PAMUKÇU, A.M. & BRYAN, G.T. Identification of carcinogenic tannin isolated from bracken fern (*Pteridium aquilinum*) in rats. *J. Nat. Cancer Inst.*, 56:33-36, 1976a.
- WANG, C.Y.; PAMUKÇU, A.M. & BRYAN, G.T. Bracken fern, a naturally occurring carcinogen. *Medicine Biologie Environnement*, 4:565-572, 1976b.
- WEDDERBURN, J.F. Selenium and cancer. *N. Z. Vet. J.*, 20(11):224, 1972. (Cit. SIMPSON, 1972b).
- WESWIG, P.H.; FREED, A.M. & HAAG, J.R. Antithiamine activity of plant materials. *J. Biol. Chem.*, 165:737-738, 1946.
- WIDDOP, B. Separation and characterisation of various toxicological components of bracken. 1967. Thesis (PhD) - Univ. of Wales, Bangor, 1967. (Cit. EVANS, 1982).
- XU, L. Na epizootical survey on bovine hematuria vesicalis due to tumours in China. *J. Ghizhou Agric. Coll.*, 24-31, 1986. (in Chinese) (Cit. FENWICK, 1988).
- ZADERYI, J.J. & MECHTCHENKO, V.M. A propos de l'étiologie de l'hématurie des bovidés en Russie transcarpathique. *Rec. Med. Vet.*, 9:581, 1953. (Cit. HEESCHEN, 1959).

ANEXOS

Anexo I - Caracterização microscópica das neoplasias epiteliais

Neoplasias epiteliais benignas

Papiloma de células transicionais

Refere-se a formações papilares sustentadas por delicado estroma fibrovascular. As papilas constituem-se de camadas de células transicionais, uniformes, bem diferenciadas, com núcleos normocromáticos, orientados com seu maior eixo perpendicularmente à superfície e à base da célula e com citoplasma homogêneo, acidofílico ou anfofílico e bordos distintos. As células tumorais apresentam figuras de mitose normais e não há evidência de invasão em tecidos adjacentes. Alguns papilomas têm áreas de diferenciação escamosa.

Adenoma de células transicionais

Tumoração formada predominantemente por estruturas tubulares ou acinares, revestidas, em geral, por uma simples camada de células colunares, com núcleos ovóides ou alongados, normocromáticos e citoplasma moderadamente eosinofílico ou azulado, contendo quantidade inconstante de mucina em seu interior e separadas por variável quantidade de tecido conjuntivo. Em alguns casos observa-se pequena quantidade de mucina, observável apenas no lúmen glandular, em outros esta é marcada no citoplasma celular formando as chamadas células do tipo globóide. Com frequência alguns túbulos apresentam-se distendidos, formando espaços císticos preenchidos por mucina e algumas células epiteliais descamadas. As células que constituem as estruturas glandulares são uniformes, com figuras mitóticas raras e não invadem a camada muscular da parede da bexiga.

Adenoma nefrogênico

Proliferação neoplásica constituída por pequenos túbulos, que lembram túbulos coletores renais, delineados por células cuboidais ou “tipo tacha de sapateiro” (hobnail). As células neoplásicas apresentam pequenos núcleos arredondados, normocromáticos e citoplasma uniforme, levemente eosinofílico ou pálido. As figuras de mitoses são raras e normais e o tumor não apresenta carácter infiltrativo.

Neoplasias epiteliais malignas

Carcinoma de células de transição (baixo grau)

Os tumores classificados dessa forma apresentam-se bem diferenciados, em geral compostos por pequenas células transicionais uniformemente arranjadas com delicado estroma fibrovascular. As células apresentam bordos indistintos e escasso citoplasma claro ou anfofílico. Em consequência da alta celularidade, em alguns locais, as células apresentam-se densamente “empacotadas”, porém com distribuição uniforme. Os núcleos das células neoplásicas têm orientação semelhante à da célula normal, porém são arredondados ou levemente pleomórficos, com bordos irregulares, cromatina dispersa, finamente granular e com nucléolos pouco proeminentes. Figuras mitóticas são ocasionais. Alguns autores classificam esse tumor como papiloma atípico.

Carcinoma de células transicionais, médio grau

Utilizamos esta denominação quando a neoplasia apresenta características intermediárias entre o carcinoma transicional de baixo e alto grau, e apresenta um número maior de camadas celulares, núcleos grandes e hipercromáticos e mais do que ocasionais figuras de mitose.

Carcinoma de células transicionais, alto grau (WHO: graus II e III)

As neoplasias moderada a pobremente diferenciadas compostas por células freqüentemente arranjadas em nódulos foram classificadas desta forma e constituíam a maior parte dos carcinomas de células transicionais por nós observados. Estas lesões são, muitas vezes, multifocais e associadas a áreas isoladas de carcinoma "in situ" no urotélio. As células tumorais, arranjam-se em mantos, ninhos ou cordões, apresentam núcleos bastante pleomórficos, cromatina irregular e dispersa e grandes nucléolos, citoplasma, em geral, eosinofílico e abundante; em parte dos casos, as células têm bordos bem definidos, todavia em outros estes são indistintos. Degeneração e vacuolização citoplasmática, infiltração das células tumorais no músculo detrusor, assim como alta taxa mitótica, com mitoses atípicas e presença de células "bizarras", são comumente observadas, todavia verifica-se com menor freqüência, infiltração na serosa e em vasos sanguíneos e linfáticos.

Variantes do carcinoma de células transicionais

Carcinoma transicional tipo ninhado

Neoplasia formada por células transicionais, com pequenos núcleos redondos ou ovóides hipercromáticos e volumoso citoplasma pálido, inaparente ou finamente vacuolizado, com limites pouco evidentes, formando pequenos ninhos celulares, que lembram proliferações "floridas" de ninhos de Brunn sem lúmen, porém diferindo desta alteração pela anaplasia e desorganização celulares e pelo carácter infiltrativo.

Carcinoma transicional tipo sarcomatóide

Tumoração composta predominantemente por células epiteliais malignas, fusiformes, que envolvem pequenas ilhas de carcinoma de células transicionais típico; em contraste com o carcinoma de células transicionais com estroma fusocelular abundante, essas células fusiformes são epiteliais e malignas. A tumoração apresenta pleomorfismo e carácter infiltrativo marcados. Esses tumores também são chamados carcinoma fusocelular ou carcinossarcoma.

Carcinoma transicional com estroma fusocelular

A íntima associação de numerosas células estromais reativas com carcinoma de células transicionais distingue essa neoplasia. Em muitos casos, as células estromais reativas se assemelham em muito com células neoplásicas. Geralmente, a fibroplasia está associada a neoplasias agressivas. Carcinoma de células transicionais com estroma fusocelular é também conhecido como carcinoma esquirroso.

Carcinoma transicional trabecular

Tumoração constituída por células uroteliais, pobremente diferenciadas, arredondadas ou poligonais, com núcleos redondos ou bizarros, vesiculares, com nucléolos evidentes e citoplasma anfófilico ou eosiofílico, distribuídas em trabéculas ou cordões formados por 1-2 ou mais camadas celulares.

Carcinoma “in situ”

Neoplasia intra-epitelial, não-invasiva, composta por células transicionais de alto grau histológico (relação citoplasma/núcleo alta, citoplasma anfofilico, bordas indistintas, pleomorfismo nuclear marcado, nucleólos proeminentes). Com frequência, esta neoplasia está associada à hiperplasia ou até mesmo a ninhos de Brunn. As células anaplásicas podem ser observadas em todas as camadas do urotélio. Os carcinomas “in situ” verificados são, usualmente, multifocais e associados ou não a carcinomas de células transicionais de alto grau.

Carcinoma de células escamosas

Este tipo de neoplasia é constituído por grandes células epiteliais queratinizadas, arredondadas ou poligonais, com bordos bem definidos e citoplasma eosinofílico, por vezes anfofilico, separadas, em geral, por pontes intercelulares, frequentemente arranjadas em ninhos, que em parte sofrem queratinização central. Seus núcleos são pleomórficos, vesiculares ou, por vezes, bizarros, com cromatina distribuída irregularmente e nucleólos proeminentes. Outras características desse tipo tumoral são disqueratose (degeneração celular), áreas de necrose, infiltração por eosinófilos e mitoses atípicas e/ou frequentes. Os carcinomas epidermóides com frequência apresentam marcada fibroplasia (esquiritosos) e acentuado carácter infiltrativo.

Carcinoma pobremente diferenciado

Pela classificação da AFIP esta tumoração assemelha-se ao carcinoma de pequenas células do pulmão, entretanto os tumores assim por nós denominados caracterizam-se microscopicamente pela presença de marcada atipia celular, com células poligonais ou levemente alongadas, com núcleos arredondados, ovais ou bizarros, em geral hipercromáticos, com nucleólos evidentes e citoplasma ora abundante e eosinofílico, ora escasso e pálido. Estes tumores apresentam crescimento predominantemente sólido. Necrose e infiltração no músculo detrusor são comuns, bem como presença de grandes células isoladas, por vezes binucleadas.

Adenocarcinoma “intestinal”

Tumoração formada principalmente por estruturas glandulares, delineadas por células cuboidais ou colunares, em grande parte secretoras de muco, assemelhando-se ao epitélio do cólon. As células apresentam núcleos polares ovóides ou arredondados, com volumoso citoplasma anfofilico ou basofílico, formando túbulos que, em parte dos casos, contém secreção mucóide azulada central. Cistite cística e cistite glandular associadas a este tipo de tumor são observadas com frequência.

Neoplasias epiteliais malignas raras

Carcinoma tipo “signet ring” (anel de sinete)

Tumoração composta por células isoladas, com citoplasma rico em mucina, armazenada sob a forma de vacúolos citoplasmáticos ou como grânulos de mucina (semelhante à célula globóide); o núcleo, hipercromático, ovóide, por vezes em forma de vírgula, apresenta-se posicionado na periferia da célula. Acompanhando o processo há marcada proliferação fibroblástica estromal.

Carcinoma mesonefróide

Neoplasma caracterizado por uma mistura de túbulos, papilas, cistos e áreas sólidas. Células tipo “tacha de sapateiro” (hobnail) e citoplasma rico em glicogênio são encontrados com comumentes. Menos frequentemente observam-se lâminas, lençóis ou

camadas finas de células claras. Em alguns casos, esta tumoração apresenta marcado pleomorfismo, atividade mitótica alta, bem como proliferação estromal acentuada.

Carcinoma de células cromóforas

Proliferação tumoral homogênea formada por células com bordos bem definidos (com aparência de células vegetais) e abundante citoplasma que varia de pálido ou transparente, a eosinofílico e finamente granular. Os núcleos são redondos e regulares, por vezes circundados por uma zona transparente perinuclear, e exibem, às vezes, um pequeno nucléolo. Em muitos casos, o citoplasma é distendido por numerosas microvesículas. A mistura de células pálidas e eosinofílicas ocorre com frequência neste tumor.

Carcinossarcoma

Os carcinossarcomas englobam tumores com componentes epitelial e mesenquimal malignos. O carcinoma transicional é o componente epitelial mais comum; células fusiformes, pobremente diferenciadas, com diferenciação cartilaginosa são o componente estromal mais frequentemente observado.

Carcinoma plasmocitóide

Tumor formado por células epiteliais, muito semelhantes a plasmócitos, com núcleo hipercromático, redondo, excêntrico e citoplasma anfófilico ou basofílico, bem delimitado. Este tumor apresenta marcada característica infiltrativa e suas células, em parte, formam colunas.

Observação

Diferenciações

Foram denominadas dessa forma áreas tumorais que apresentavam características distintas das da tumoração predominante. Observam-se as seguintes diferenciações: *intestinal*, *mesonefróide*, *escamosa*, em *células cromóforas*, *pseudoglandular* e em *células de Paneth*. Merecem descrição mais detalhada apenas as duas últimas, uma vez que as outras são semelhantes morfológicamente com tipos neoplásicos mencionados anteriormente.

Diferenciação pseudoglandular caracteriza-se pela formação de pequenos lúmens inter ou intracelulares, envolvidos por células neoplásicas epiteliais. Alguns tumores apresentam grandes lúmens de proporção cística. Esses lúmens contêm material granular semelhante à mucina ou células necróticas, sugerindo assim uma etiologia degenerativa.

A *diferenciação em células de Paneth* distingui-se pela presença de células epiteliais arredondadas, com núcleos circulares, moderadamente cromáticos, por vezes excêntricos e com volumoso citoplasma preenchido por grânulos eosinofílicos.

Anexo II - Caracterização microscópica das neoplasias mesenquimais

Neoplasias mesenquimais benignas

Hemangioma capilar

Proliferação de estruturas vasculares do tamanho de capilares, revestidas por endotélio maduro aplanado, bem diferenciado e preenchidas por hemácias. Figuras de mitose são raras e de difícil visualização. Geralmente este tumor apresenta crescimento focal. Por vezes o estroma deste tipo tumoral encontra-se edemaciado, simulando tecido mixóide. Em parte dos casos há nítida transformação de hemangioma para hemangiossarcoma.

Hemangioma cavernoso

Tumoração constituída por grandes estruturas císticas dilatadas, preenchidas por sangue e revestidas por endotélio plano. Por vezes observa-se espessamento da parede destas estruturas por fibrose adventicial e deposição de colágeno. Frequentemente verifica-se a formação de trombos, que em alguns casos apresentam-se mineralizados.

Hemangioma venoso

Proliferação de células endoteliais que formam grandes estruturas císticas, revestidas por endotélio, com paredes grossas, apresentando tecido muscular entremeadado ao tecido conjuntivo adjacente. Neste tipo de tumor, a maior parte das paredes vasculares observadas são espessas. Há também formação de trombos semelhantes aos do hemangioma cavernoso.

Mixoma

Neoplasma constituído por pequena quantidade de fibroblastos em meio a abundante material mucóide e uma rede frouxa de fibras de reticulina. As células fusiformes têm núcleos pequenos, hipercromáticos e picnóticos, quase imperceptíveis, citoplasma pálido ou levemente azulado, com limites pouco evidentes, que se estende ao longo das fibras de reticulina, dando a célula um aspecto estrelado.

Neoplasias mesenquimais malignas

Hemangiossarcoma

Neoplasia constituída por células endoteliais, alongadas ou poligonais, com núcleos hipercromáticos e citoplasma eosinofílico, com limites pouco evidentes. Essas se dispõem formando crescimentos sólidos ou revestindo trabéculas constituídas por variáveis quantidades de colágeno maduro. Há hemácias por entre células neoplásicas ou em estruturas císticas tumorais. Os hemangiossarcomas em geral localizam-se logo abaixo do epitélio ou de tumores epiteliais malignos e benignos.

Anexo III - Caracterização microscópica das condições tumorais não-neoplásicas

Hiperplasia epitelial

Caracteriza-se pela proliferação focal ou difusa de células epiteliais transicionais, constituída por mais de 5 camadas celulares, bem diferenciadas. Em alguns casos, adicionalmente, há alterações metaplásicas e displásicas.

Displasia

Este termo diz respeito à alteração focal do urotélio caracterizada por proliferação células epiteliais transicionais, com núcleos hipercromáticos proeminentes e com volumoso citoplasma geralmente eosinofílico. Além dessas alterações, as células displásicas apresentam desorientação e compactação do núcleo, citoplasma mais homogêneo, cromatina finamente granular e dispersa, nucléolos pequenos ou ausentes, figuras mitóticas raras e, por vezes, grande pleomorfismo. A displasia foi dividida nos graus I, II e III, sendo que quanto maior o grau, mais marcadas e graves eram as alterações. A displasia grau IV, classificação utilizada por alguns autores, foi considerada como carcinoma "in situ".

Ninhos de Brunn, Cistite cística e Cistite glandular ou intestinal

A formação de grupos celulares, constituídos por proliferação de células da camada basal do epitélio transicional, localizados na lâmina própria, com ou sem conexão aparente com a superfície epitelial, caracteriza os *ninhos de Brunn*. Essas estruturas também dão origem a "glândulas" compostas por camadas de células uroteliais basais e intermediárias, revestidas por células transicionais superficiais (geralmente em forma colunar), que estocam e secretam pequenas quantidades de mucina, esta mucina, por vezes, acumula-se no centro dos ninhos de Brunn, originando um lúmen, distinguindo assim a *cistite cística*. Quando as células uroteliais desses ninhos sofrem metaplasia intestinal, o processo é classificado como *cistite glandular ou intestinal*.

Metaplasias

Metaplasia escamosa

Constitui-se na transformação do urotélio em epitélio escamoso estratificado (tipo epitélio vaginal), na qual as células, com limites celulares bem evidentes, apresentam núcleos arredondados, leve a moderadamente cromáticos, nucléolos evidentes e volumoso citoplasma leve a marcadamente eosinofílico; algumas células mostram-se queratinizadas.

Metaplasia intestinal (metaplasia glandular)

Modificação das células uroteliais em células epiteliais colunares ou ovóides, com citoplasma levemente azulado, rico em mucina e núcleos redondos normocromáticos e polares (semelhantes as células do intestino). As células arranjam-se em paliçada, formando uma ou mais camadas, tendo a aparência de epitélio cilíndrico ou de células globóides individualizadas, contendo mucina.

Metaplasia nefrogênica (adenoma nefrogênico)

Transformação de células transicionais em células do tipo "tacha de sapateiro" (hobnail) e células cuboidais, que revestem, por vezes, delicadas estruturas tubulares e papilares, na superfície urotelial.

Metaplasia mixomatosa do estroma (estroma mixomatoso)

Esta alteração ocorre principalmente ao redor da adventícia de alguns vasos ou em áreas da própria, caracterizando-se pela transformação do tecido conjuntivo, em tecido conjuntivo mixóide, de coloração levemente azulada.

Metaplasia em células claras cromóforas

Processo caracterizado pela transformação de células transitórias em células com limites bem definidos, com aparência de tecido vegetal, núcleos arredondados, moderadamente cromáticos e com citoplasma pálido e vacuolizado.

Cistos intra-epiteliais

Formações císticas intra-epiteliais, pequenas ou grandes, por vezes preenchidas por material eosinofílico ou substância mucóide, levemente azulada. Esse achado parece estar associado à ruptura de células epiteliais transitórias tumefeitas, com volumoso citoplasma pálido, granular ou vacuolizado e pequeno núcleo rechaçado para periferia. Acredita-se que o acúmulo de glicogênio intra-citoplasmático é a causa da tumefação celular; parte do glicogênio é removido durante o processamento de rotina, deixando espaços vazios no citoplasma.

Infiltração linfocítica

Alteração caracterizada pela presença de infiltração inflamatória difusa ou localmente extensiva linfocítica, localizada na lâmina própria da mucosa; em alguns casos esse processo estende-se para o músculo detrusor e para a serosa. Em parte dos casos, este tipo inflamatório, associa-se também a infiltrados eosinofílicos.

Focos linfóides

Proliferação focal de linfócitos na própria, geralmente localizada ao redor de um vaso sanguíneo. Em alguns animais, os focos são linfo-plasmocitários.

Proliferação e ectasia vascular

Lesão constituída por proliferação de vasos sanguíneos na própria, difusa ou localizada, bem diferenciada, por vezes acompanhada de edema do estroma. Essas proliferações são formadas por capilares, arteríolas ou vênulas ou associação dessas. Muitas vezes, esses vasos encontram-se dilatados. Mais raramente há também displasia e hiperplasia dos vasos do estroma e dos vasos da musculatura da bexiga, formando, por vezes, pequenas estruturas papilares na luz vascular.

Proliferação polipóide e micropolipóide

Alteração constituída por pequenas digitações exofíticas, formadas a partir da proliferação do estroma fibrovascular edemaciado ou mixóide, revestidas por epitélio transitório normal ou levemente hiperplásico. As proliferações micropolipóides, caracterizam-se apenas por projeções de papilas epiteliais, sem sustentação estromal.

Pseudotumor inflamatório (tumor fibromixóide pseudossarcomatoso)

Processo representado pela proliferação de células mesenquimais, que simulam em parte, crescimento sarcomatoso polipóide na bexiga, caracterizado por células fusiformes, bem diferenciadas, em uma base mixóide e inflamatória.

Reação estromal pseudossarcomatosa

Alterações deste tipo ocorrem no estroma de carcinomas de células transitórias, tendo aparência de uma fasciite nodular, onde os elementos estromais mimetizam células sarcomatosas.