

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO – UFES
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E ENGENHARIAS – CCAE
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS – PGCV**

CARLOS ALBERTO MOREIRA JÚNIOR

**SUPLEMENTAÇÃO COM DOSES CRESCENTES DE SELÊNIO
ASSOCIADO À VITAMINA E NO TRATAMENTO DE BOVINOS COM
HEMATÚRIA ENZOÓTICA**

ALEGRE

2023

CARLOS ALBERTO MOREIRA JÚNIOR

**SUPLEMENTAÇÃO COM DOSES CRESCENTES DE SELÊNIO
ASSOCIADO À VITAMINA E NO TRATAMENTO DE BOVINOS COM
HEMATÚRIA ENZOÓTICA**

Dissertação apresentada ao programa de pós-graduação em Ciências Veterinárias, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciências Veterinárias, linha de pesquisa em Biociência Aplicada à Produção e Saúde Animal.

Orientadora: Profa. Dra. Louisiane de Carvalho Nunes

ALEGRE

2023

Ficha catalográfica disponibilizada pelo Sistema Integrado de
Bibliotecas - SIBI/UFES e elaborada pelo autor

M835s Moreira Júnior, Carlos Alberto, 1993-
Suplementação com doses crescentes de selênio associado à
vitamina E no tratamento de bovinos com hematúria enzoótica /
Carlos Alberto Moreira Júnior. - 2023.
72 f. : il.

Orientadora: Louisiane de Carvalho Nunes.
Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) -
Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências
Agrárias e Engenharias.

1. Intoxicação. 2. Pteridium. 3. Selênio. 4. Monoamina
oxidase. I. Nunes, Louisiane de Carvalho. II. Universidade
Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências Agrárias e
Engenharias. III. Título.

CDU: 619

CARLOS ALBERTO MOREIRA JÚNIOR

**SUPLEMENTAÇÃO COM DOSES CRESCENTES DE SELÊNIO
ASSOCIADO À VITAMINA E NO TRATAMENTO DE BOVINOS
LEITEIROS ACOMETIDOS POR HEMATÚRIA ENZOÓTICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciências Veterinárias, linha de pesquisa Biociência Aplicada à Produção e Saúde Animal.

Aprovado em 10 de março de 2023.

COMISSÃO EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 LOUISIANE DE CARVALHO NUNES
Data: 29/05/2023 10:21:05-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof.(a) Dr (a). Louisiane de Carvalho Nunes. Orientadora
Universidade Federal do Espírito Santo
Presidente

Documento assinado digitalmente
 MARCO TULIO COSTA ALMEIDA
Data: 31/05/2023 12:51:44-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Marco Túlio Costa Almeida. Avaliador
Universidade Federal do Espírito Santo
Membro interno

Documento assinado digitalmente
 YURI BARBOSA GUERSON
Data: 29/05/2023 10:30:55-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dr. Yuri Barbosa Gerson. Avaliador
Serviço nacional de aprendizado rural
Membro externo

AGRADECIMENTOS.

A Deus, por todas as oportunidades, bênçãos e realizações em minha vida.

À minha orientadora Louisiane de Carvalho Nunes, pelo empenho, dedicação, incentivo, profissionalismo e leveza ao lidar com as intercorrências ao longo de todo o processo de mestrado. Meu muito obrigado.

À minha esposa Daniela Silva Amaral, por todo apoio, carinho, calma, incentivo e compreensão no decorrer da realização da pós-graduação.

Aos meus pais Carlos Alberto Moreira de Lima e Luciene Cândida de São José Ribeiro e minhas irmãs Gabriela F. Ribeiro e Daniella M. Ribeiro Lima, por toda positividade, apoio e palavras de incentivo ao longo de minha vida profissional.

Ao professor Herbert de Paula e toda sua equipe de laboratório. Obrigado pela disponibilidade e toda ajuda no desenvolvimento do projeto.

Ao professor Diego Lang Burak e toda sua equipe de laboratório pelo auxílio e apoio laboratorial ao longo do projeto.

Aos amigos de mestrado, pela companhia e conhecimentos compartilhados ao longo desses dois anos.

Aos professores do programa de pós-graduação em ciências veterinárias, pelo compromisso com o ensino público de qualidade e todos os ensinamentos e experiências transmitidas aos mestrandos.

À Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo pelo apoio financeiro ao projeto (Edital Universal 21/2018, TO 137/2019).

“Cada um de nós compõe a sua história e cada ser em si carrega o dom de ser capaz e ser feliz”.

Almir Sater e Renato Teixeira, 1990.

RESUMO

MOREIRA JÚNIOR, C. A. **Suplementação com doses crescentes de selênio associado à vitamina E no tratamento de bovinos com hematúria enzoótica.** Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Centro de Ciências Agrárias e Engenharias - CCAE, Universidade Federal do Espírito Santo - UFES, Alegre, ES, 2023. **RESUMO:** A hematúria enzoótica bovina (HEB) é uma forma clínica da intoxicação em bovinos causada pelo consumo de *Pteridium* sp. (samambaia). Esta doença possui alta prevalência no sul do estado do Espírito Santo e não possui tratamento. Contudo, a suplementação utilizando selênio (Se) e vitamina E tem se mostrado viável. Assim, objetivou-se avaliar os efeitos da suplementação com doses crescentes de selênio associado à vitamina E em bovinos com hematúria enzoótica, bem como, comparar os níveis de selênio em sangue total e soro sanguíneo e avaliar a atividade relativa da enzima monoamina oxidase (MAO) no soro destes animais. Foram analisadas 51 amostras de sangue total e 68 de soro provenientes de 18 bovinos com quadro clínico de HEB. O delineamento experimental foi delineamento inteiramente casualizado, sendo quatro grupos distribuídos, a saber: Grupo controle (soro fisiológico), Grupo tratamento 1 (0,05 mg/kg de Se), Grupo tratamento 2 (0,10 mg/kg de Se) e Grupo tratamento 3 (0,20 mg/kg de Se), todos os grupos receberam em associação 500mg/animal de vitamina E. A suplementação parenteral foi realizada por via intramuscular durante 13 semanas. Avaliações quinzenais foram feitas quanto à intensidade da hematúria e ganho de peso, hematócrito (Hct), proteínas plasmáticas totais (PPT), fibrinogênio plasmático (Fb), Se e atividade relativa da MAO. Utilizaram-se os testes Kruskal Wallis e Friedman com nível de significância de 5%, ambos seguidos do teste de comparação múltipla de Dunn. Verificou-se que não houve diferença significativa de peso entre os diferentes grupos, porém houve redução do peso em relação ao tempo, no grupo controle. Entretanto, houve diferença significativa na intensidade da hematúria no grupo tratamento 1 em relação ao grupo controle após três semanas de suplementação, no entanto, não houve diferença significativa para a intensidade da hematúria ao longo do tempo. Notou-se aumento significativo no hematócrito no grupo tratamento 1 em relação ao grupo controle após sete semanas de suplementação, porém não houve diferença em cada tratamento ao longo do tempo. Para PPT e Fb não foram observadas diferenças significativas nem entre os tratamentos e nem em relação ao tempo. Os níveis de Se foram maiores no grupo tratamento 1 atingindo a maior concentração no momento M8 do soro. A atividade relativa da MAO não diferiu entre os grupos, porém apresentou redução significativa ao longo do tempo em cada tratamento. A suplementação de bovinos leiteiros acometidos por HEB, utilizando a dose de 0,05 mg/kg selênio associado a vitamina E, melhorou o quadro clínico de hematúria e aumentou o hematócrito dos animais após três e sete semanas de suplementação, respectivamente. O soro revelou-se como melhor local para mensuração de Se e houve aumento na concentração deste elemento na oitava semana de suplementação. Além disso, houve redução da atividade de MAO que pode ser atribuída à suplementação com vitamina E, não havendo influência das diferentes doses de Se.

Palavras-chaves: Intoxicação, *Pteridium* sp., selenito de sódio, monoamina oxidase.

ABSTRACT

MOREIRA JÚNIOR, C. A. **Supplementation with increasing doses of selenium associated with vitamin E in the treatment of cattle with enzootic hematuria.** 2023. Dissertation (Master in Veterinary Science) - Centro de Ciências Agrárias e Engenharias - CCAE, Universidade Federal do Espírito Santo - UFES, Alegre, ES, Brazil, 2022. **ABSTRACT:** Enzootic bovine hematuria (EBH) is a clinical form of poisoning in cattle caused by the consumption of *Pteridium* sp. (bracken fern). This disease has a high prevalence in the south of the state of Espírito Santo, Brazil and has no treatment. However, supplementation using selenium (Se) and vitamin E has been shown to be viable. Thus, the aim of this work was to evaluate the effects of supplementation with increasing doses of selenium associated with vitamin E in cattle with enzootic hematuria, as well as to compare selenium levels in whole blood and blood serum and to evaluate the relative activity of the monoamine enzyme oxidase (MAO) in the serum of these animals. For this, 51 whole blood samples and 68 serum samples from 18 cattle with a clinical form of EBH were analyzed. The experimental design was a completely randomized design, with four groups distributed, namely: control group (saline solution), treatment group 1 (0.05 mg/Kg of Se), treatment group 2 (0.10 mg/kg of Se) and treatment group 3 (0.20 mg/Kg of Se), all groups received 500mg/animal of vitamin E in association. Parenteral supplementation was performed intramuscularly for 13 weeks. Biweekly evaluations were performed regarding the intensity of hematuria and weight gain, hematocrit, total plasma proteins (TPP), plasma fibrinogen, Se and relative MAO activity. For statistical analysis were used Kruskal Wallis and Friedman tests with a significance level of 5%, both followed by Dunn's multiple comparison test. It was found that there was no significant difference in weight between the different groups, but there was a reduction in weight over time in the control group. However, there was a significant difference in the intensity of hematuria in the treatment group 1 in relation to the control group after three weeks of supplementation, though, there was no significant difference in the intensity of hematuria over time. There was a significant increase in hematocrit in the treatment group 1 compared to the control group after seven weeks of supplementation, but there was no difference over time in each treatment. For PPT and Fb, no significant differences were observed either between treatments or in relation to time. Se levels were higher in treatment group 1, reaching the highest concentration at serum M8. Relative MAO activity did not differ between groups, but showed a significant reduction over time in each treatment. The supplementation of dairy cattle affected by EBH, using a dose of 0.05 mg/kg selenium associated with vitamin E, improved the clinical sign of hematuria and increased the hematocrit of the animals after three and seven weeks of supplementation, respectively. Serum proved to be the best place to measure Se and there was an increase in the concentration of this element in the eighth week of supplementation. In addition, there was a reduction in MAO activity that can be attributed to vitamin E supplementation, with no influence of different doses of Se.

Keywords: Intoxication, *Pteridium* sp., sodium selenite, monoamine oxidase.

LISTA DE QUADROS

	Página
Quadro 1 Identificação dos animais por propriedade, município e idade para a suplementação com doses crescentes de selênio associado a vitamina E em bovinos com hematúria enzoótica.....	43
Quadro 2 Grupos experimentais para a suplementação com doses crescentes de selênio associado a vitamina E em bovinos com hematúria enzoótica dos municípios de Ibitirama e Divino de São Lourenço, microrregião do Caparaó-ES,.....	44

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1 Intercorrências observadas com animais ao longo do protocolo experimental de suplementação de bovinos com HEB suplementados com doses crescentes de Se associado à vitamina E.....	48
Tabela 2 Pesos dos animais em quilogramas distribuídos em grupos experimentais em diferentes momentos submetidos à suplementação com doses crescentes de Se associado à vitamina E em bovinos com HEB.....	49
Tabela 3 Avaliação semi-quantitativa do grau de hematúria pela avaliação clínica da micção espontânea, classificado em escore variando de 1 a 4 (1= ausente, 2= discreta, 3= moderada e 4= intensa), em bovinos com HEB suplementados com doses crescentes de Se associado à vitamina E em diferentes momentos experimentais.....	52
Tabela 4 Avaliação do hematócrito de bovinos com HEB suplementados com doses crescentes de Se associado à vitamina E em diferentes momentos experimentais.....	54
Tabela 5 Avaliação da proteína plasmática total de bovinos com HEB suplementados com doses crescentes de Se associado à vitamina E em diferentes momentos experimentais.....	56
Tabela 6 Avaliação do fibrinogênio plasmático de bovinos com HEB suplementados com doses crescentes de Se associado à vitamina E em diferentes momentos experimentais.....	57
Tabela 7 Concentração de selênio ($\mu\text{g/L}$) em sangue total de bovinos com HEB suplementados com doses crescentes de Se associado à vitamina E em diferentes momentos experimentais.....	59

Tabela 8	Concentração de selênio ($\mu\text{g/L}$) em soro de bovinos com HEB suplementados com doses crescentes de Se associado à vitamina E em diferentes momentos experimentais.....	60
Tabela 9	Atividade relativa da enzima monoamina oxidase sérica em bovinos com HEB suplementados com doses crescentes de Se associado à vitamina E em diferentes momentos experimentais.....	62

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1 Planta da espécie <i>Pteridium</i> sp. em propriedade rural do município de Divino de São Lourenço, ES	20
Figura 2 Processamento das amostras de sangue total e soro para mensuração de Se em bovinos com HEB suplementados com doses crescentes de Se associado à vitamina E revelando em A) forno micro-ondas digestor Mras 6, CEM®. B) amostras de sangue total e soro digeridas em aquecimento a 70 °C; C) Amostras após adição de HCl; D) Aparelho de espectrometria por absorção atômica acoplado a gerador de hidretos, GBC®.	46
Figura 3 Ensaio de luminescência para avaliação de atividade de monoamina oxidase em amostras de soro de bovinos com HEB suplementados com doses crescentes de Se associado à vitamina E revelando em A) Kit MAO – Glo™; B) amostras de soro bovino; C) preparo das amostras para teste de luminescência; D) Aparelho GLOMAX® multi + detection system.....	47

LISTA DE ABREVIATURAS

AFS	Espectrometria de Fluorescência Atômica
GF AAS	Espectrometria de Absorção Atômica em Forno Grafite
HC AAS	Espectrometria de Absorção Atômica com Geração de hidretos
HEB	Hematúria Enzoótica Bovina
ICP MS	Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado
MAO	Monoamina Oxidase
MFS	Espectrometria de Fluorescência Molecular
NK	<i>Natural Killer</i>
Se	Selênio
SeCis	Seleniocisteína
SeMet	Seleniometionina
TAS	Trato Alimentar Superior
T3	Triiodotironina
T4	Tiroxina

SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO	16
2 REVISÃO DE LITERATURA	19
2.1 Intoxicação de bovinos por <i>Pteridium</i> sp.	19
2.1.1 <i>Pteridium</i> sp.	19
2.1.2 Princípios ativos	21
2.1.3 Quadros de intoxicação por <i>Pteridium</i> sp. em bovinos	21
2.1.4 Diagnóstico e tratamento	25
2.1.5 Controle e prevenção	26
2.2 Selênio	28
2.2.1 Importância do selênio para bovinos	29
2.2.2 Fontes de selênio	31
2.2.3 Deficiência de selênio	32
2.2.4 Intoxicação por selênio	33
2.2.5 Metabolismo do selênio do organismo animal	33
2.2.6 Disponibilidade de selênio no sangue total e no soro.....	35
2.2.7 Técnicas de dosagem de selênio.....	36
2.3 Vitamina E	37
2.4 Monoamina oxidase	38
3 OBJETIVOS	41
3.1 Objetivo geral	41
3.2 Objetivos específicos	41
4 MATERIAL E MÉTODOS	42
4.1 Comitê de Ética e uso dos animais – CEUA	42
4.2 Local de estudo	42
4.3 Material	42
4.4 Protocolo experimental	45
4.4.1 Mensuração do Se	45
4.4.2 Mensuração de monoamina oxidase.....	47
4.4.3 Análise estatística.....	47

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
5.1 Peso	49
5.2 Hematúria	51
5.3 Hematócrito, proteína plasmática total e fibrinogênio plasmático	53
5.4 Selênio.....	58
5.5. Atividade relativa de monoamina oxidase	61
6 CONCLUSÕES	64
7 REFERÊNCIAS	65

1. INTRODUÇÃO

Atualmente o Brasil possui o maior rebanho bovino comercial do mundo somando 224,6 milhões de cabeças. Destas, aproximadamente 15,9 milhões correspondem a vacas ordenhadas, que juntas somaram produção média anual de 35,3 bilhões de litros de leite no ano de 2021. Dentre as regiões produtoras de leite do Brasil, o Sudeste assume posição de destaque ocupando o segundo lugar do *ranking* nacional (IBGE, 2021).

Neste contexto, o estado do Espírito Santo contribuiu significativamente na produção leiteira no ano de 2019, totalizando a produção de 415 milhões de litros, sendo os municípios da região sul Espírito-Santense responsáveis pela produção de 39,5% do volume total do estado, produção essa que garante renda e emprego a toda região (IBGE, 2019; INCAPER, 2022).

Contudo, inúmeras enfermidades estão presentes no dia a dia da bovinocultura leiteira, representando risco a sustentabilidade e permanência dos produtores na atividade, dentre elas estão as intoxicações por plantas tóxicas. No estado do Espírito Santo os quadros de intoxicação mais comuns estão relacionados ao consumo de plantas pertencentes ao gênero *Pteridium*, conhecidas popularmente como samambaias. As formas clínicas da toxicose desenvolvidas em bovinos pelo consumo de *Pteridium* sp. são denominadas de síndrome hemorrágica aguda, hematúria enzoótica bovina (HEB) e neoplasias no trato alimentar superior (MÉNDEZ; RIET-CORREA, 2001).

Silva et al. (2009), demonstraram em levantamento realizado em propriedades leiteiras localizadas na microrregião do Caparaó, na região Sul do estado do Espírito Santo, alta prevalência de HEB, forma clínica esta responsável por acarretar sérios prejuízos econômicos aos produtores de leite da região.

Apesar da patogenia da HEB ser bastante conhecida, ainda não existe tratamento eficaz para os animais acometidos (TOKARNIA et al., 2012). Contudo, terapias envolvendo a suplementação com Se e vitamina E têm demonstrado resultados promissores em bovinos intoxicados por samambaias (LANNA NETA, 2018; LATORRE et al. 2011; LATORRE et al. 2014).

O selênio é considerado um micromineral de suma importância para o organismo dos bovinos, sendo relevante para o correto desenvolvimento corporal,

fertilidade e prevenção de doenças (SILVA, 2015). Entretanto, apresenta uma estreita faixa entre os níveis de exigência e os níveis tóxicos (GIERUS, 2007), o que torna essencial o monitoramento de suas concentrações no organismo animal em casos de suplementação terapêutica.

Um outro importante antioxidante do organismo animal que tem sua ação intimamente ligada ao Se é a vitamina E. Juntos atuam na proteção das membranas celulares frente a ação de radicais livres, além de serem fundamentais na manutenção na sanidade, reprodução e produção animal (LIMA; DOMINGUES, 2007).

No tocante ao monitoramento dos níveis de Se no organismo animal, o sangue é considerado importante meio de mensuração do microelemento, podendo ser avaliado em sangue total ou soro. Em estudo desenvolvido por Lanna Neta (2018), foi mensurado com êxito os níveis séricos de Se de bovinos, submetidos a tratamento com selênio e vitamina E, utilizando o soro sanguíneo. Entretanto, Herdt, Rumbelha e Braselton (2000) descreveram que apesar do sangue total e o soro serem meios valiosos de avaliar o estado nutricional de selênio, a mensuração em sangue total é preferível ao soro devido à maior estabilidade do microelemento proporcionando valores mais fidedignos em casos de ingestão a longo prazo.

Outrossim, uma importante enzima responsável por processos de catalisação de amins primárias que está presente organismo animal é, a monoamina oxidase (MAO). Esta pode ser encontrada no sistema nervoso central, sangue, rins e fígado. Em situações de elevada atividade da MAO pode ocorrer uma produção excessiva de espécimes reativas de radicais livres que representam riscos potenciais para o estresse oxidativo celular (PAZINE, 2013).

Frente a isso, estudos com a suplementação do micromineral selênio e vitamina E, ambos considerados importantes antioxidantes celulares, tem sido realizados no intuito de verificar a capacidade de inibição da ação deletéria da enzima MAO ao organismo animal (TANG; WANG; LIN, 2008; XU; LI; ZHANG, 2003).

Assim, na tentativa de se obter maiores esclarecimentos sobre a influência da suplementação com Se associado a vitamina E na redução do quadro de hematuria de bovinos acometidos por HEB e, ainda, por haver pouca literatura disponível sobre o melhor local de se mensurar os níveis do selênio em bovinos, seja em sangue total ou soro, objetivou-se avaliar os efeitos da suplementação com doses crescentes de selênio associado à vitamina E em bovinos com hematuria enzoótica, bem como, comparar os níveis de selênio em sangue total e soro sanguíneo e avaliar a atividade

relativa da enzima monoamina oxidase (MAO) no soro destes animais.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Intoxicação de bovinos por *Pteridium* sp.

2.1.1 *Pteridium* sp.

Pteridium se refere a um gênero de plantas pertencentes inicialmente à família Polypodiaceae, a qual era representada apenas por uma espécie, *Pteridium aquilinum*. Esta se dividia em duas subespécies, as quais possuíam diversas variedades (ALONSO- AMELOT, 1999). Entretanto, após estudos moleculares e morfométricos desenvolvidos por Thonson (2000), o gênero passou a pertencer à família Dennstaedtiaceae tendo o reconhecimento de espécies que anteriormente eram tidas como variedades de *Pteridium aquilinum*. Além disso, estudos recentes mostram a complexidade taxonômica da classificação do gênero devido à diversidade de exemplares existentes (SCHWARTSBURD; MORAES; LOPES-MATTOS, 2014).

As plantas do gênero *Pteridium* são consideradas cosmopolitas e estão presentes em todos os continentes, com exceção a regiões de clima excessivamente seco ou frio (TRYON, 1941; SCHARTSBURD; YAÑEZ; PRADO, 2018). Sua bem-sucedida disseminação pelo mundo relaciona-se ao processo de desmatamento, iniciado pelo homem na fase neolítica, com a abertura de áreas para a criação de animais, plantação de lavouras e outras atividades de subsistência (CRUZ; BRACARENSE, 2004).

As espécies de *Pteridium* descritas de ocorrência na América do Sul, de acordo com a classificação proposta por Der et al. (2009), são *Pteridium aracnoideum* (Kaulf) Maxon e *Pteridium caudatum* (L.) Maxon (YAÑEZ; MARQUEZ; MORBELLI, 2016). Há relatos também da ocorrência de *Pteridium sculentum* (SCHARTSBURD; YAÑEZ; PRADO, 2018). Exemplar da planta está representado na Figura 1.

Figura 1 – Planta da espécie *Pteridium* sp. em propriedade rural do município de Divino de São Lourenço, ES.



Fonte: Arquivo do Setor de Patologia Animal da UFES, 2019.

Em prol da capacidade de resistir a diversas condições climáticas, de se desenvolver em solos pobres, ácidos e de baixa fertilidade (OLIVEIRA et al., 2018), da resistência a ataque de insetos, associados a habilidade de propagação por esporos e de mitigação de plantas competitivas circunvizinhas (ALONSO-AMELOT; AVENDANO, 2002), as plantas do gênero *Pteridium* são descritas dentre as principais plantas daninhas do mundo, ocupando posição no *ranking* das plantas mais bem sucedidas do reino vegetal (ALONSO- AMELOT, 1999).

No Brasil, as plantas pertencentes ao gênero *Pteridium* são conhecidas popularmente como “samambaia”, “samambaia do campo”, “samambaia-das-taperas”, “pluma” e “feto” variando de uma região para outra (OLIVEIRA et al., 2018; TOKARNIA et al., 2012). Elas ocorrem em praticamente todos os estados e estão presentes em regiões montanhosas e serranas, que vão do sul da Bahia ao Rio Grande do Sul, incluindo o Espírito Santo (Silva et al., 2009), e regiões de clima quente e de topografia plana como a Amazônia (TOKARNIA et al., 2012).

Tendo em vista a extensa ocorrência das samambaias, frequentemente observa-se a presença destas plantas invadindo pastagens, em beiras de estradas, em clareiras de matas e em campos, além de áreas recém-abertas destinadas a atividades agropecuárias (OLIVEIRA et al., 2018).

Por conter em toda sua estrutura princípios ativos considerados tóxicos para animais e seres humanos, sendo o rizoma considerado a parte mais tóxica, seguido da brotação e plantas adultas, as samambaias representam potenciais riscos às atividades pecuárias (TOKARNIA et al., 2012) e à saúde pública (CRUZ; BACARENSE, 2004).

2.1.2 Princípios ativos da samambaia

Diversos compostos ativos estão presentes nas estruturas vegetativas da samambaia, como glicosídeos cianogênicos, antagonistas da tiamina, taninos, flavonoides, ácido químico, pterosinas e pterosídeos (TOURCHI-ROUDSARI, 2014). Dentre esses, os que se tem maior conhecimento da toxicidade em animais pecuários são ptaquilosídeo e tiaminase (TOKARNIA et al., 2012).

As intoxicações em ruminantes, sobretudo na espécie bovina, pelo composto bioativo norsesquiterpeno denominado ptaquilosídeo, são frequentes. Seus efeitos estão ligados a ações anti-hematopoéticas, ao desenvolvimento de neoplasias em diferentes sistemas do organismo (MÉNDEZ; RIET-CORREA, 2001), além de efeitos imunossupressores pela redução da citotoxicidade de células NK, pertencentes ao sistema imune inato, predispondo o organismo a infecções e neoplasias (LATORRE et al., 2011).

Por outro lado, as tiaminases presentes na samambaia são as tiaminases I e II (RIBEIRO; SOTO-BLANCO, 2020), as quais, por mecanismo de reações de hidrólise, têm a capacidade de promover a inibição da tiamina (vitamina B1) (HANES; KRAFT; BEGLEY, 2007). Diante disso, os quadros clínicos observados são relacionados ao sistema nervoso, ocorrendo principalmente em monogástricos como equinos e suínos. Os ruminantes, por possuírem microbiota ruminal capaz de produzir satisfatoriamente a tiamina, possuem baixa sensibilidade a este tipo de intoxicação (TOKARNIA et al., 2012).

2.1.3 Quadros de Intoxicação por *Pteridium* sp. em bovinos

As intoxicações por samambaia em bovinos são comumente relatadas após ingestão das plantas presentes nas pastagens, principalmente em situações de brotação após queimadas ou roçagem, condições de alta taxa de lotação animal e

escassez de forragem devido aos períodos de estiagem (MÉNDEZ; RIET-CORREA, 2001).

Inicialmente os bovinos ingerem a planta, devido à fome, porém mesmo quando interrompido a motivação inicial, alguns animais continuam a ingeri-la, sendo esse comportamento justificado pela possível deficiência de fibra na dieta do animal e também ao desenvolvimento do vício a ingestão da planta (MARÇAL et al., 2002; TOKARNIA,2012).

Em decorrência da quantidade de ingestão diária e do tempo de ingestão da samambaia, são observadas diferentes formas clínicas da intoxicação em bovinos jovens e adultos (OLIVEIRA et al.,2018). Segundo Méndez e Riet-correa (2001), é possível identificar o desenvolvimento de três formas da intoxicação pela planta; a saber: uma de curso agudo, denominada “síndrome hemorrágica aguda”, e duas de curso crônico, quais sejam, “hematúria enzoótica bovina” (HEB) e outra associada ao desenvolvimento de neoplasias no trato alimentar superior (TAS).

Estima-se que para o desenvolvimento da síndrome hemorrágica aguda a ingestão diária de samambaia supere a quantidade de 10 g/Kg de peso vivo no interstício de poucas semanas. Todavia, a ingestão de quantidades inferiores a 10 g/Kg de peso vivo de planta por dia, durante um ou mais anos, pode desencadear quadros hematúria enzoótica bovina. Ademais, nos quadros de neoplasias do trato digestivo superior acredita-se que a quantidade diária ingerida seja menor do que as que levam ao quadro de HEB, porém, por períodos mais longos, além da possível associação ao vírus da papilomatose bovina (TOKARNIA et al., 2012; DIAS et al.,2012; SOUSA et al., 2014).

Nos quadros de síndrome hemorrágica aguda, a média de idade dos bovinos acometidos é de dois anos, porém pode ocorrer em bezerros e animais com mais idade (FURLAN et al, 2014; MARÇAL et al., 2002; TOKARNIA et al., 2012). A intoxicação é caracterizada por apresentar alta mortalidade e letalidade (ANJOS et al., 2008). Como sinais clínicos são observados cansaço, letargia, fraqueza, febre alta (entre 41 a 42°C), mucosas hipocoradas, presença de petéquias em mucosas e pele, epistaxe (FURLAN et al., 2014), além de sangramentos espontâneos em pele decorrente a picadas de ectoparasitas (OLIVEIRA et al., 2018). Todavia, também são relatados distúrbios entéricos que cursam com diarreia sanguinolenta e, com a progressão do quadro, pode-se observar dispneia, taquicardia, evolução para decúbito e óbito de uma a duas semanas após o aparecimento dos sinais clínicos

(FURLAN et al., 2014; MARÇAL et al., 2002; MENDÉZ; RIET-CORREA, 2001).

Como achados laboratoriais podem ser observados distúrbios hematológicos como anemia normocítica normocrômica, leucopenia por neutropenia e trombocitopenia, além de aplasia medular (ANJOS et al., 2009). Na necropsia, a presença de coágulos e sangue livre na cavidade abdominal somados a presença petéquias e sufusões em pele, subcutâneo e serosa de diferentes órgãos internos, sendo essas alterações confirmadas na histopatologia (ANJOS et al., 2008).

A forma crônica da intoxicação por samambaia denominada hematúria enzoótica bovina caracteriza-se pela presença de sangue na urina dos bovinos, associada ou não a lesões neoplásicas na vesícula urinária (RIBEIRO; SOTO-BLANCO, 2020). A intoxicação atinge bovinos com faixa etária superior a 2 anos e não possui predisposição sexual (TOKARNIA et al., 2012). É frequentemente relatada em vacas de leite (SILVA et al., 2009; LANNA NETA, 2018, MÉNDEZ; RIET-CORREA, 2001) e apresenta letalidade de aproximadamente 100% (GAVA et al., 2002).

Segundo Tokarnia et al. (2012), a ação carcinogênica do ptaquilosídeo presente na samambaia é capaz de desenvolver nódulos na bexiga de diferentes diâmetros variando de milímetros a centímetros, podendo apresentar aspecto de couve-flor de coloração amarelada, esbranquiçada ou avermelhadas, sendo esses responsáveis pela hematúria. Por outro lado, em casos de origem não neoplásica observa-se associação da hematúria com proliferação capilar, ectasias e congestão presentes na vesícula urinária (SILVA, SOUSA, NUNES, 2012; SILVA et al., 2013).

Assim, o principal sinal clínico observado em casos de HEB é a hematúria, a qual, segundo Méndez e Riet-Correa (2001), pode apresentar-se de forma intermitente ou contínua. Com isso, a presença de hemácias na urina lhe confere uma coloração avermelhada, todavia, há a possibilidade de não haver alteração na coloração da urina macroscopicamente a despeito de, na avaliação microscópica, ser verificada a presença de hemácias, condição denominada de microhematúria (RIBEIRO; SOTO-BLANCO, 2020).

Com a evolução clínica da HEB, os bovinos podem apresentar outros sinais clínicos como emagrecimento progressivo, mucosas hipocoradas, redução do desempenho produtivo, anemia intensa e caquexia, podendo vir a óbito meses ou anos após o surgimento dos sinais clínicos (RADOSTITS et al., 2007; TOKARNIA et al., 2012).

Como achados laboratoriais, alterações hematológicas como linfocitose,

neutropenia, anemia progressiva, aumento de fragilidade eritrocitária, redução do hematócrito e do conteúdo de hemoglobina, são relatados (RIBEIRO; SOTO-BLANCO, 2020; SILVA et al., 2009). Além disso, Falbo et al. (2005) verificou azotemia em bovinos acometidos por HEB em decorrência da elevação dos níveis séricos de ureia e creatinina.

Na necropsia, as alterações macroscópicas observadas são palidez geral em vísceras, presença de conteúdo avermelhado e coágulos sanguíneos na vesícula urinária, além de parede espessada com presenças de hematomas (MENDÉZ, RIET-CORREA, 2001), nódulos firmes ou formações com aspecto papilomatoso com formas e tamanhos distintos (FALBO et al., 2005; SILVA et al., 2009).

No exame histopatológico, essas diferentes formações presentes na bexiga, tem sido diagnosticadas como diferentes tipos de processos neoplásicos de origem epitelial e mesenquimal, podendo ocorrer vários tipos no mesmo animal, além de reações inflamatórias e anaplasia (TOKARNIA et al., 2012, SILVA; SOUSA; NUNES, 2012).

O segundo quadro clínico de curso crônico da intoxicação por samambaia em bovinos está ligado à ocorrência de neoplasias no TAS em função dos efeitos carcinógenos de biocompostos da planta, além da possível associação com o vírus da papilomatose bovina (SOUTO et al., 2006; TOKARNIA et al., 2012). Este fato é sustentado pela alta incidência de neoplasias no TAS em bovinos criados em pastagens com elevada presença da planta, sendo a ocorrência desse tipo e localização de neoplasias bastante raras em animais criados em regiões livres da planta (LUCENA et al., 2011; TOKARNIA et al., 2012).

A forma de intoxicação com ocorrência de neoplasias no TAS pode ser observada o ano todo, ocorrendo em animais com idade mais avançada (MENDÉZ; RIET-CORREA, 2001), em torno de 3 a 13 anos (SOUTO et al., 2006). Segundo Tokarnia et al. (2012), a evolução clínica dos bovinos acometidos por esse quadro é crônica podendo levar de meses a anos, sendo a letalidade de 100% dos animais acometidos.

As manifestações clínicas dos quadros de neoplasias no TAS estão diretamente relacionadas ao local de desenvolvimento dos processos neoplásicos, sendo os mais frequentemente observados a tosse, o emagrecimento progressivo, dificuldade de deglutição, regurgitação, halitose, atonia ruminal, timpanismo crônico e diarreias em estágios avançados (MENDEZ; RIET-CORREA, 2001; OLIVEIRA et al.,

2018; SOUTO et al., 2006; TOKARNIA et al., 2012).

Na necropsia, os tumores do TAS são observados na cavidade oral, na base da língua, esôfago e entrada do rúmem, podendo ocorrer em mais de um lugar simultaneamente. Além disso, há a possibilidade de metástase para linfonodos regionais e outros órgãos (LUCENA et al., 2011). Macroscopicamente, apresentam-se em formas de massas infiltrativas, múltiplas de coloração amarelada a acinzentada, às vezes ulceradas, podendo estar associadas a papilomas (TOKARNIA et al., 2012). No exame histopatológico, a principal neoplasia observada são os carcinomas de células escamosas (LUCENA et al., 2011; PESSOA et al., 2019).

2.1.4 Diagnóstico e tratamento

Para o estabelecimento do diagnóstico da intoxicação por *Pteridium* sp., seja na forma aguda ou crônica, é necessário fundamentar-se nos aspectos epidemiológicos, clínicos, clínicos-laboratoriais e anatomopatológicos (ANJOS et al., 2008; CARVALHO, 2009; MENDEZ; RIET-CORREA, 2001; TOKARNIA; DÖBEREINER; CANELLA, 1967; TOKARNIA et al., 2012).

Contudo, é importante realizar o diagnóstico diferencial, com a exclusão de outras doenças que cursam com quadros clínicos semelhantes aos apresentados na intoxicação (TOKARNIA et al., 2012).

Em quadros da síndrome hemorrágica aguda são considerados diagnósticos diferenciais enfermidades que cursem com quadros de diáteses ou síndromes hemorrágicas, como por exemplo, a pasteurelose pneumônica e septicêmica (ANJOS et al., 2008), carbúnculo hemático, acidentes ofídicos botrópicos e envenenamentos cumarínicos (TOKARNIA et al., 2012). Em casos de HEB, doenças que manifestem hematúria ou mesmo hemoglobinúria como babesiose, leptospirose e hemoglobinúria bacilar são apontadas como importantes diagnósticos diferenciais (TOKARNIA; DÖBEREINER; CANELLA, 1967). Por fim, para o diagnóstico diferencial da forma clínica de neoplasias do TAS, devem-se levar em consideração enfermidades como actinobacilose e tuberculose além da presença de corpo estranho em região de faringe (TOKARNIA et al., 2012).

No que se refere ao tratamento dos casos de intoxicação por *Pteridium* sp., ainda não há terapias específicas descritas na literatura, sendo encontradas apenas terapias paliativas, que dependendo do estágio clínico do animal, cursam com o

insucesso (MENDEZ; RIET-CORREA, 2001).

Entretanto, em uma pesquisa recente realizada por Latorre et al., (2011), verificou-se por meio da co-administração ou suplementação com selênio em camundongos, a reversão total e prevenção dos efeitos tóxicos causados pela ingestão de *Pteridium*. Além disso, estes mesmos autores em estudos posteriores, mostraram aumento da atividade citotóxica de células NK de bovinos quando suplementados com selênio e vitamina E, comprovando os efeitos imunoestimulatórios da suplementação. Esse fato é sustentado devido ao papel central das células NK no combate a células infectadas e tumorais no organismo e na mediação de respostas imunes adaptativas. Com isso, sugere-se que bovinos suplementados com Se e vitamina E são menos susceptíveis à infecções e desenvolvimento de neoplasias (LATORRE et al., 2014).

2.1.5 Controle e prevenção

Devido aos elevados prejuízos acarretados a bovinocultura nacional associado a ausência de terapias clínicas totalmente eficientes, sabe-se que a melhor alternativa para evitar os danos gerados pela intoxicação por *Pteridium* sp. aos animais fundamenta-se na adoção de medidas de controle e profilaxia (PESSOA et al.,2019).

As samambaias são plantas altamente invasivas que se propagam muito facilmente em áreas de solos pobres, ácidos e pouco manejados, sendo facilmente encontrada invadindo pastagens (OLIVEIRA et al, 2018). Tendo em vista este comportamento, a adoção de práticas agrônômicas que visem a melhoria da fertilidade e acidez do solo como a aração e calagem, além da utilização de herbicidas em períodos estratégicos, são meios descritos que viabilizam a eliminação lenta das plantas nas pastagens (MÉNDEZ; RIET-CORREA, 2001; PESSOA et al.,2019).

Por outro lado, em locais onde não haja possibilidade de mecanização e de práticas de melhoramento de fertilidade de solo e formação de novas pastagens, recomenda-se o arrancamento da planta na época da rebrota ou até mesmo cercar áreas mais contaminadas, não permitindo o acesso dos animais (CARVALHO, 2009; MARÇAL et al., 2002).

Além disso, a retirada dos animais de pastagens amplamente infestadas por samambaia, conduzindo-os para pastagens livres da planta, é considerada uma medida de controle (PESSOA et al.,2019). Entretanto, Oliveira et al. (2018)

recomendaram que ao adotar essa prática os animais oriundos de pastagens contaminadas devem ser mantidos em locais reservados por três a cinco dias antes de serem introduzidos em novas pastagens. Esse isolamento é recomendado para reduzir os propágulos da samambaia presentes na superfície corporal e trato gastrointestinal dos animais, diminuindo assim a possibilidade de contaminação do novo pasto. Todavia, em algumas regiões, essas práticas se mostram economicamente inviáveis, não surtindo impactos positivos em animais que já apresentam sinais clínicos da intoxicação (GALVÃO et al., 2012).

Dessa forma, manter os animais bem nutridos com pastagens de boa qualidade e correta suplementação mineral são fatores fundamentais para manutenção da saúde e redução da possibilidade de intoxicação por plantas tóxicas, uma vez que frente a condições de fome e deficiências nutricionais a ingestão de plantas tóxicas é favorecida. Para isso, a formação e o correto manejo de pastagens, com corretas taxas de lotação animal por área aliados a cuidados culturais, devem ser instaurados (MARÇAL, 2003; TOKARNIA et al., 2012).

No tocante à formação de pastagens de qualidade, deve-se considerar o correto preparo do solo, a escolha de sementes com alto grau de pureza e livre de contaminação, além da limpeza de máquinas e implementos agrícolas aliados a utilização de espécies forrageiras que cubram mais rapidamente o solo e o aumento de taxa de semeadura no momento do plantio são pontos importantes para o estabelecimento das pastagens reduzindo o risco de infestações por plantas invasoras (OLIVEIRA et al., 2018).

Por outro lado, segundo os mesmos autores, práticas que levem a degradação de solo, como o superpastejo, realização de queimadas junto ao abandono de áreas agropecuárias e desmatamento, são altamente desaconselhadas por favorecerem a proliferação da samambaia e, conseqüentemente, o aumento do risco das intoxicações.

Na última década alguns estudos têm sido desenvolvidos no sentido de utilizar a suplementação alimentar, mineral e vitamínica na prevenção dos quadros tóxicos causados pelo ptaquilosídeo. Latorre et al, (2011) demonstraram que o ptaquilosídeo causa efeitos imunossupressivos e que o Se pode tanto prevenir como reverter estes efeitos. Por outro lado, a vitamina E quando associada ao Se age como importante oxidante na proteção da membrana celular contra a ação dos radicais livres (LIMA; DOMINGUES, 2007). Assim, o uso da suplementação mineral e vitamínica pode ser

uma alternativa viável na prevenção da HEB (OLIVEIRA, 2021).

2.2 Selênio

A descoberta do microelemento selênio é datada do ano de 1817 na Suécia, nas minas de Gripsholm, pelo químico Jons Jacob Berzelius. Ao utilizarem uma perita de ferro proveniente das minas de Falun, verificaram a ocorrência de um precipitado de cor avermelhada que nas primeiras análises químicas sugeriram presença do elemento Telúrio. Mais tarde, em novos testes laboratoriais, constatou-se que se tratava de um novo elemento (TROFAST, 2011). Pela semelhança ao telúrio, cujo nome origina do latim "Tellus" que significa terra, Berzelius nomeou o novo elemento de "selene" palavra grega cujo significado é lua (BERZELIUS, 1818).

O selênio é um componente natural da crosta terrestre, distribuído de forma desuniforme nos diversos tipos de solos. Suas concentrações variam de 0,01 – 2 mg/Kg e, alguns locais as concentrações ultrapassam 2 mg/Kg, o que faz com que existam solos ricos, moderados e pobres em relação a presença do microelemento em sua composição (PRAUCHNER, 2014).

Segundo este mesmo autor, o ciclo do elemento Se na natureza envolve a evaporação a partir dos mares, superfícies do solo e de plantas que o volatilizam. Posteriormente, o microelemento atinge a atmosfera e por meio de partículas sedimentadas transportadas por ventos ou chuva alcança novamente a superfície terrestre.

O selênio encontra-se biodisponível em condições naturais sob formas orgânicas e inorgânicas. Nos solos estão presentes quatro formas inorgânicas: selenato, selenito, selênio elementar e seleneto. As formas orgânicas de selênio como a seleniometionina (SeMet) e seleniocisteína (SeCis), são obtidas por meio de plantas que absorvem as formas inorgânicas do solo as convertendo em formas orgânicas, os selenioaminoácidos (GERIUS, 2007; PRAUCHNER, 2014).

No interstício de muitos anos, o interesse biológico e o conceito que predominavam sobre o selênio giravam em torno de sua toxidez. A partir do ano de 1957, com desenvolvimento de pesquisas nas quais foram observadas a prevenção de necrose hepática em ratas e de diátese exsudativa em frangos, por meio da suplementação com selênio, foi constatada a importância biológica do elemento para

os animais, tornando-se um importante e atrativo campo de pesquisa (UNDERWOOD; SUTTLE, 1999).

Contudo, o papel bioquímico e a importância da ingestão do selênio ficaram claros a partir de 1973, após constatarem que o microelemento era um importante componente estrutural da enzima antioxidante glutathione peroxidase (FLOHE; GUNZLER; SCHOCK, 1973), sendo esta responsável por reger um importante sistema de combate a radicais livres do organismo animal (UNDERWOOD; SUTTLE, 1999).

2.2.1 Importância do selênio para os bovinos

Os minerais de forma geral são considerados essenciais para a saúde, eficiência produtiva e reprodutiva dos animais, exercendo importantes papéis nas funções metabólicas do organismo. Estes encontram-se distribuídos no organismo em pequenas concentrações, variando entre um tecido e outro. Decorrente da necessidade e quantidade requerida pelo organismo, os minerais são classificados em macro e microminerais (SILVA; MARTINS; BORGES, 2017). Neste contexto, o selênio insere-se no grupo dos microminerais sendo considerado essencial para a saúde animal (LIMA; DOMINGUES, 2007).

Além de ser um micronutriente fundamental para o crescimento adequado, fertilidade e prevenção de doenças, o selênio atua protegendo as membranas celulares contra efeitos tóxicos de peróxidos lipídicos e radicais livres, por meio da glutathione peroxidase importante selenoproteína antioxidante que catalisa a oxidação da glutathione reduzida para a oxidada (CARDOZO et al., 2013; SILVA, 2015).

Por meio da selenoproteína iodotironina desidrogenase, o selênio exerce outra importante função no metabolismo basal do organismo junto à glândula tireoide. A enzima iodotironina desidrogenase atua na conversão do hormônio tiroxina (T4) em sua forma ativa triiodotironina (T3) (COMINETTI; DUART; COZZOLINO, 2017). O T3 estimula o metabolismo de carboidratos, proteínas e lipídios, além de promover o aumento de captação de glicose pelas células (AVANTE et al., 2019).

Evidenciando a importância metabólica do microelemento, em estudo desenvolvido por Reis et al. (2008), foi observado que a suplementação de bezerros com Se promoveu o aumento no ganho de peso 45,58% em animais suplementados em relação aos que não receberam o micromineral.

Ademais, efeitos positivos em relação à resposta imune da glândula mamária frente a mastites subclínicas, foram observadas por Paschoal, Zanetti e Cunha (2003). Neste estudo, realizou-se a suplementação com selênio associado a vitamina E em vacas holandesas no pré-parto, sendo possível observar a redução da contagem de células somáticas no leite desses animais após o parto. Corroborando com o descrito no estudo anterior, a redução de mastites clínicas em rebanhos leiteiros suplementados com Se no pré-parto também foi observado por Harrison, Hancock e Conrad (1984).

Outro importante papel do microelemento Se em bovinos está relacionado ao efeito imunomodulatório do sistema imune inato por meio de células de defesa, incluindo linfócitos e neutrófilos (ARTHUR; MCKENZIE; BECKETT, 2003). Latorre et al. (2014) verificaram o aumento da citotoxicidade de células *Natural killer* (NK) em touros da raça Nelore suplementados com selênio e vitamina E, evidenciando a importância do mineral para o sistema imunológico destes animais.

Além disso, propriedades antimutagênicas também têm sido atribuídas ao selênio devido a proteção das células contra o estresse oxidativo, por meio das selenoproteínas (ALMONDES et al., 2010). Em estudos recentes, evidenciou-se a melhora de quadros clínicos de bovinos leiteiros intoxicados cronicamente por *Pteridium* sp. com quadros de hematúria enzoótica bovina, pela suplementação parenteral, por via intramuscular, com doses de 0,05; 0,1 e 0,2 mg/Kg de selênio associado a vitamina E (OLIVEIRA, 2021; LANNA NETA, 2018).

No âmbito da reprodução animal, o selênio é relevante para diversos processos reprodutivos. Em touros, com sua ação antioxidante, protege os espermatozoides dos radicais livres. Por outro lado, de forma indireta, por meio dos hormônios da tireoide T4 e T3, pode conduzir à impotência sexual e perda da libido, em situações de excesso ou deficiência (AVANTE et al., 2019).

Em fêmeas bovinas com suplementação adequada de Se, observa-se a redução de cistos foliculares, metrites, retenção de placenta (HARRISON; HANCOCK; CONRAD, 1984), aumento das taxas de concepção, redução do número de serviços e intervalo entre partos (ALONSO et al., 1997). Além disso, a função antioxidante do Se é de extrema importância para a manutenção da saúde uterina (LIMA; DOMINGUES, 2007).

Apesar de seus inúmeros benefícios e essencialidade ao organismo animal, o Se é um microelemento que possui estreita margem entre os níveis de exigência e

toxicidade. Desta forma, valores abaixo que 0,1 mg/kg de matéria seca (MS) na dieta são considerados deficientes e, concentrações maiores 2 mg/kg de MS podem gerar toxicidade (GIERUS, 2007).

Há muitos anos, estudos vem buscando os níveis ideais de Se no sangue de bovinos. Lucci et al (1984), ao fazerem um levantamento dos níveis de Se no soro de bovinos no estado de São Paulo, consideraram níveis abaixo de 0,020 ppm como deficiência acentuada; de 0,021 a 0,040 ppm deficiência; de 0,041 a 0,060 ppm nível médio e acima de 0,060 ppm nível bom deste elemento. Villar et al. (2002), também relataram que níveis de selênio iguais a $9,7 \pm 7,2$ ppb em plasma e menores que 35 ppb em sangue total são considerados deficiência severa em bovinos leiteiros. Em estudos mais recentes, descreveu-se como nível adequado de Se no sangue de bovinos concentrações acima de 0,18 $\mu\text{g/L}$ em sangue total, e acima de 0,08 $\mu\text{g/L}$ no plasma (ARSHAD; EBEID; HASSAN, 2021).

Portanto, ao suplementar bovinos com Se, deve-se considerar a forma de administração do micromineral. Quando administrado por via oral, os níveis ideais de selênio estão entre 0,1ppm e 0,5ppm. Na suplementação parenteral por via intramuscular a dosagem recomendada é de 0,1 mg/Kg, sendo considerado tóxica doses a partir de 0,3 mg/Kg (GONZÁLEZ, 2000).

2.2.2 Fontes de selênio

O selênio está disponível para bovinos em suas formas orgânicas e inorgânicas. Conforme Lima e Domingues (2007), as formas de maior uso na suplementação para os animais são as inorgânicas, como selenito e selenato. Entretanto, as formas orgânicas como selenometionina e selenocisteína além de leveduras enriquecidas com selênio também são utilizadas na composição mineral da dieta dos animais.

Naturalmente, as formas orgânicas do selênio estão presentes em concentrações variadas em diversas plantas utilizadas na alimentação dos bovinos, sendo exemplos os alimentos volumosos como gramíneas e leguminosas forrageiras. Também estão presentes nos alimentos concentrados, como farelo de soja, milho moído e farelo de arroz. Todavia, a concentração do Se nesses alimentos é incapaz de atender à exigência nutricional dos bovinos, assim, é crucial o fornecimento de mistura mineral para cobrir o correto funcionamento das atividades que dependem do

microelemento (GIERUS, 2007).

Nas misturas minerais, disponíveis para a suplementação de bovinos, formas orgânicas e inorgânicas de selênio são encontradas. O selenito é descrito sendo a forma inorgânica mais abundante nas misturas, por outro lado o selênio orgânico na forma de selenometionina está presente por meio de leveduras enriquecidas com selênio (NRC, 2001; GIERUS, 2007; LIMA; DOMINGUES, 2007; COMINETTI, DUARTE; COZZOLINO, 2017).

Além das fontes de selênio presentes nos alimentos, o mineral também pode ser encontrado em apresentações farmacêuticas e na forma de soluções de selênio as quais podem ser administradas via parenteral (LANNA NETA, 2018; OLIVEIRA, 2021).

2.2.3 Deficiência de selênio

A deficiência de minerais na bovinocultura é responsável por acarretar diversos prejuízos à produção animal estando entre eles a baixa produção de leite, problemas de fertilidade, baixo rendimento de carcaça e desenvolvimento retardado dos animais (TOKARNIA; DOBEREINER; PEIXOTO, 2000).

Neste contexto, diferentes distúrbios físicos e metabólicos estão relacionados à deficiência de selênio nos animais, tendo destaque as desordens musculares, anemia, fraqueza, alterações cardíacas e rápido envelhecimento celular (LIMA; DOMINGUES, 2007).

Em bovinos jovens a deficiência de Se é responsável por causar a distrofia muscular conhecida como “doença do músculo branco” (TOKARNIA; DOBEREINER; PEIXOTO, 2000; RODRIGUEZ et al., 2018). Os sinais clínicos observados estão relacionados à musculatura acometida, incluindo faringe, laringe, língua, músculos respiratórios, cardíacos, musculatura de pescoço e membros. Em bezerras recém-nascidas, pode-se verificar a dificuldade de ingestão de leite e pneumonia por aspiração devido à flacidez da língua. Outros sinais clínicos como dispneia, andar rígido, fraqueza, tremores musculares, sopros e arritmias cardíacas incluindo morte súbita também são relatados na deficiência de selênio (GUARD, 2008).

Ademais, diversas desordens reprodutivas estão relacionadas à deficiência de selênio em ruminantes. Dentre elas encontram-se a alta mortalidade embrionária, infertilidade, nascimentos de crias prematuras e fracas (UNDERWOOD; SUTTLE,

1999), aumento de susceptibilidade a infecções como metrite e endometrite, retenção de placenta, ocorrência de ovários císticos (NRC, 2001; SCOTT; PENNY; MACRAE, 2011) além anormalidades na espermatogênese e infertilidade em touros (NICODEMO; SERENO; AMARAL, 2008).

2.2.4 Intoxicação por selênio

Nos animais, a intoxicação por selênio pode ocorrer de forma espontânea em bovinos, equinos, suínos e ovinos principalmente pela ingestão de plantas acumuladoras de selênio, as quais são denominadas plantas seleníferas por concentrarem altos níveis do mineral em sua estrutura. Contudo, também são descritos quadros de intoxicação oriundos da ingestão exacerbada do micromineral em decorrência de erros na formulação de dietas ou mistura ineficiente do núcleo mineral nas rações além do uso de aditivos nas rações com elevadas concentrações de selênio (GOMES et al., 2014).

Três apresentações clínicas são descritas na intoxicação por selênio, sendo uma de curso clínico aguda, e duas de curso crônico, também denominadas selenose. Na apresentação aguda, os animais intoxicados podem apresentar graves sinais de alterações gastrointestinais, falência de miocárdio, com rápida evolução dos sinais clínicos (NÉSPOLI et al., 2001). As outras duas formas consideradas crônicas da intoxicação por Se são descritas em inglês como *blind stagger* e *alkali disease*.

Nos quadros de manifestação crônica, pode-se observar sinais clínicos como o aparecimento súbito de alterações envolvendo o sistema nervoso central, observados na *alkali disease*, e sinais de emaciação, alteração dos anexos da pele como alterações em cascos, pelos sem vitalidades, perda de pelo em regiões de cauda e crina, além de anorexia, depressão e tremores musculares (OLIVEIRA et al., 2007).

2.2.5 Metabolismo do selênio no organismo animal

Após a ingestão do microelemento selênio, seja em sua forma orgânica ou inorgânica, diversos processos metabólicos ocorrem no organismo, que vão da absorção, anabolização, catabolização até excreção (PRAUCHNER, 2014).

Nos ruminantes, os microrganismos presentes no rúmen favorecem a redução das principais fontes de selênio inorgânicas utilizadas na ração, selenito e selenato,

reduzindo-os à selênio elementar. Tal fato reduz a disponibilidade do mineral para o organismo, pois o selênio elementar possui baixa solubilidade e é eliminado em grande quantidade pelas fezes (GIERUS, 2007).

Por outro lado, segundo este mesmo autor, os microrganismos ruminais também exercem a importante função de incorporar o Se inorgânico da dieta à proteína microbiana, principalmente nas formas de selenometionina e selenocisteína, fazendo com que o mineral possa ser absorvido na forma orgânica no intestino.

Entretanto, o pH do líquido ruminal também exerce influência sobre a disponibilidade do Se dietético. Quando mais ácido, menor a presença de formas oxidadas do mineral, assim, ocasiona a menor disponibilidade para aproveitamento (PRAUCHNER, 2014).

É importante destacar que a disponibilidade do selênio para os animais está intimamente relacionada a sua forma química, sendo que quanto mais reduzida, menor a biodisponibilidade (ORTOLANI, 2017).

Com isso devido as particularidades do ambiente ruminal, os ruminantes absorvem o selênio de maneira menos eficiente que os monogástricos (ORTOLANI, 2017). Assim, o selênio oriundo da dieta é absorvido via intestinal, em maior parte no duodeno e jejuno. As formas inorgânicas no metabolismo pós absorção são captadas por eritrócitos, em seguida reduzidas podendo ser acopladas ou não a albumina. Logo depois são transferidas para o plasma para, enfim, chegarem ao fígado (GIERUS, 2007). Por outro lado, os compostos orgânicos presentes na dieta, após a absorção, são direcionados ao fígado pela via porta (PRAUCHNER, 2014).

No fígado, as formas orgânicas do selênio (SeMet e SeCis) podem ser metabolizadas em aminoácidos e estes serem armazenados no músculo esquelético, com função de depósito do micromineral para o organismo, ou direcionada ao sistema circulatório, entrando no pool de aminoácidos por meio da proteólise. No entanto as formas inorgânicas como o selenato e o selenito sofrem metabolismo redutivo, principalmente nos hepatócitos, para a produção do seleneto de hidrogênio (H₂Se), metabólito central do selênio no organismo animal, o qual poderá ser catabolizado ou anabolizado conforme demanda do organismo (PRAUCHNER, 2014).

Todavia, para a incorporação do selênio às proteínas funcionais, tanto as formas orgânicas quanto as formas inorgânicas precisam ser inicialmente convertidas à seleneto de hidrogênio o qual, posteriormente, será metabolizado à SeCis (GIERUS, 2007).

Segundo Francesconi e Painnier (2004), em situações de excedentes de selênio no organismo, este é eliminado primordialmente pela urina em formas menos nocivas como trimetil-selenol, metil-selenol e selenoaçúcares. Ademais, frente a situações de altos níveis de selênio no organismo, a via respiratória pode ser ativada eliminando-o na forma metilada, sendo a principal o dimetilseleneto.

2.2.6 Disponibilidade selênio no sangue total e no soro

Sabe-se que o sangue é um importante reservatório e meio de transporte do microelemento selênio no organismo animal (HERDT; RUMBEIHA; BRASELTON, 2000). Segundo Gierus (2007), após a absorção intestinal de Se, ele é captado pelos eritrócitos, em seguida é reduzido e posteriormente transferido ao plasma para enfim chegar ao fígado onde sofrerá outros processos metabólicos.

Assim, o sangue é considerado um importante meio para mensurar os níveis de selênio no organismo animal, podendo ser obtido por meio de amostras de sangue total ou soro sanguíneo (LONGNECKER et al., 1996).

A concentração de selênio no sangue total é oriunda da somatória do microelemento presente nos eritrócitos e no soro. A representatividade do selênio eritrocitário em bovinos é cerca de 60% da concentração do selênio presente no sangue total, estando presente sob a forma da enzima glutathiona peroxidase, a qual é formada no processo de desenvolvimento eritrocitário. Nos bovinos, a meia vida média dos eritrócitos é de aproximadamente 157- 162 dias (ANJOS et al. 2009), portanto, mudanças no fornecimento de selênio nutricional não podem afetar a concentração do elemento nos eritrócitos circulantes antes que ocorra uma renovação dessas células. Dessa forma, a mensuração de selênio em sangue total é considerada mais estável refletindo os níveis de selênio em uma ingestão a longo prazo (HERDT; RUMBEIHA; BRASELTON, 2000).

Por outro lado, as concentrações do selênio no soro sanguíneo envolvem os processos metabólicos de carreamento do elemento oriundo da absorção intestinal para o fígado ou através da reciclagem do elemento no mesmo órgão, o qual direciona ao soro para excreção nas situações que excedam as necessidades fisiológicas. Entretanto, a cinética do microelemento no soro é considerada rápida, fluutuável e muito sensível frente a mudanças dietéticas no fornecimento de selênio, sendo, portanto, a mensuração sensível na detecção de mudanças nas concentrações

séricas de Se em curto prazo (LONGNECKER et al., 1996).

2.2.7 Técnicas de dosagem de selênio

Decorrente da estreita faixa entre demanda nutricional e toxicidade, a mensuração do selênio em diferentes tipos de amostras, incluindo biológicas, mostra-se fundamental para o correto equilíbrio do microelemento no organismo animal. Com isso tem sido empregada diferentes técnicas de mensuração de Se, como as espectroscópicas, cromatográficas e eletroanalíticas (FALANDYSY, 2013; MARTINS; NERY; SOUZA, 2019; SOUZA, 2017).

Entre as técnicas disponíveis para a mensuração de selênio, destacam-se as espectroscópicas, as quais apresentam alta sensibilidade e seletividade na detecção de baixas concentrações do elemento em diferentes tipos de amostras (GRECO, 2016). De acordo com Martins et al. (2017), no interstício de 2006 a 2016 as técnicas espectroscópicas representaram 66% das técnicas utilizadas por pesquisadores para mensuração de Se em publicações científicas.

Como exemplos de técnicas espectroscópicas utilizadas na mensuração de selênio, cita-se espectrometria de fluorescência atômica (AFS) ou molecular (MFS), espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) e espectrometria de absorção atômica em forno grafite (GF AAS) ou pela geração de hidretos (HG AAS) (COELHO; BACCAN, 2004; GRECO, 2016; MARTINS et al., 2017).

Nas técnicas de AAS GF ou AAS HG, o Se é mensurado pela quantidade de radiação eletromagnética liberada ou absorvida das amostras, as quais precisam passar por um processo prévio de atomização para poder gerar átomos e íons gasosos. O forno grafite e o tubo de quartzo são exemplos de atomizadores utilizados na mensuração do Se. Esses atomizadores são fornos que pelo aquecimento das amostras a temperaturas de 300 a 3000 °C promovem a conversão atômica do Se e, acoplados a uma lâmpada de cátodo oco, conseguem realizar a absorção da radiação emitida pelas formas atômicas do elemento mensurando assim sua concentração na amostra (MARTINS et al., 2017).

Contudo, segundo estes mesmos autores, antes de submeterem as amostras para análises na técnica de espectrometria de absorção atômica, é necessária uma prévia digestão para que ocorra a remoção de resíduos orgânicos para que seja

promovido aumento da sensibilidade e seletividade técnica.

A adoção da técnica de AAS para mensuração do Se em bovinos acometidos por HEB, tratados com suplementos de selênio e vitamina E, demonstra-se eficaz na determinação das concentrações do microelemento no organismo de bovinos conforme descrito por Lanna Neta (2018).

2.3 Vitamina E

A vitamina E foi descoberta por Evans e Bishop (1922), os quais, em estudo com vegetais de folhas verdes, atribuíram ao denominado “fator x” papel fundamental na reprodução de ratos (EVANS; BISHOP, 1922). Posteriormente, este fator foi designado como Vitamina E ou tocoferol.

Desta forma, o termo “vitamina E” é utilizado para designar um grupo de oito espécies naturais de tocoferóis e tocotrienóis. Em conjunto com as vitaminas A, D e K, constituem o grupo de vitaminas lipossolúveis caracterizadas por derivarem do núcleo isoprenóide, por serem solúveis em lipídeos e solventes orgânicos (SAYAGO, 2007).

A ação da vitamina E no organismo está intimamente associada ao elemento selênio, juntos atuam como importantes oxidantes na proteção da membrana celular contra a ação dos radicais livres (LIMA; DOMINGUES, 2007). Outras importantes participações da vitamina E no organismo estão associados a participação na produção de hormônios como o T4 e as gonadotrofinas (SERAFINI FILHO et al., 2014).

Diversos trabalhos demonstrando os efeitos benéficos da suplementação da vitamina E em associação com o Se tem sido descritos na literatura, dentre eles os efeitos positivos na redução de células somáticas no leite de vacas da raça holandesa suplementadas por via oral com 5 mg de selenito de sódio associado a 1.000 UI de vitamina E (PASCHOAL; ZANETTI; CUNHA, 2003), redução na incidência de mastite clínica através da suplementação oral com 2,5 mg de selenito de sódio e 1.000 UI de vitamina E (PASCHOAL; ZANETTI; CUNHA, 2005), aumento nas taxas de concepção e redução do intervalo entre partos (ALONSO et al., 1997), aumento da citotoxicidade de células *natural killer* do sistema imune inato de bovinos pela administração via oral de 2,5 mg associado a 500 UI/Kg de matéria seca (LATORRE et al., 2014) e redução do quadro de hematúria e aumento de peso de bovinos acometidos por HEB (LANNA

NETA, 2018).

Por outro lado, a deficiência de vitamina E e Se no organismo de bovinos são responsáveis por desordens musculares, reprodutivas e produtivas sendo responsáveis por impactar negativamente a produção animal (TOKARNIA; DOBEREINER; PEIXOTO, 2000; NICODEMO; SERENO; AMARAL, 2008).

Tem sido sugerido outra importante ação da suplementação de selênio e vitamina E no organismo animal, a qual está ligada a redução da atividade de uma enzima denominada monoamina oxidase, que em situações de alta atividade no organismo, é responsável por gerar grandes quantidades radicais livres atuando de forma deletéria em células de diversos sistemas do organismo principalmente o sistema nervoso central (PAZINI, 2013; TANG; WANG; LIN, 2008; XU; LI; ZHANG, 2003).

2.4 Monoamina oxidase

Monoamina oxidase (MAO) é uma enzima que contém em sua estrutura um dinucleotídeo flavina-adenina (FAD) e que está presente na membrana externa da mitocôndria celular do sistema nervoso central, além de outros tecidos periféricos como plaquetas, intestino e placenta de humanas, como também em rim, fígado e tireoide de bovinos (GRYNSBY et al., 1991). Suas funções estão ligadas a regulação dos níveis das aminas biogênicas teciduais por meio dos processos de catalisação e desaminação oxidativa de aminas endógenas ou exógenas (SHIH; CHEN; RIDD, 1999).

Segundo estes mesmos autores, são substratos da MAO as animas biogênicas como as monoaminas neurotransmissoras serotonina, norepinefrina e dopamina, o neuromodulador β -feniletilamina além de monoaminas bioativas exógenas como a tiramina.

MAO apresenta-se subdividida em duas isoformas, a monoamina oxidase A e B (MAO A, MAO B), as quais diferem-se funcionalmente em prol de sua seletividade a substratos inibidores e distribuição nos tecidos. Preferencialmente MAO A está envolvida nos processos metabólicos da serotonina, norepinefrina e dopamina, enquanto MAO B oxida β -feniletilamina, dopamina e benzilamina. (GAWESKA; FITSPATRICK, 2011).

Nos processos de catalização de aminas primárias, secundárias e terciárias,

envolvendo MAO, ocorre a geração de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) que normalmente é inativado por enzimas como glutathione peroxidase e catalases. Entretanto, em situações de alta expressão de MAO, o H_2O_2 em excesso pode ser convertidos em radicais hidroxilas, altamente reativos, que representam importante fonte de estresse oxidativo às células (PAZINI, 2013).

Sendo assim, a ação dos radicais livres em ácidos graxos e aminoácidos oxidáveis presentes nas membranas celulares, particularmente sensíveis ao estresse oxidativo, ocorre aumento da permeabilidade celular gerada pela peroxidação lipídica, que implica na interrupção do gradiente iônico e processos metabólicos celulares acarretando a perda da integridade da membrana celular e posteriormente morte celular (MASON; OLMSTEAD; JACOB, 2000).

Em alguns processos patológicos do sistema nervoso central de humanos, em especial a doença de *Alzheimer*, a atividade de MAO-B pode estar aumentada em até três vezes em algumas áreas cerebrais. Sendo assim, é sugerido que danos celulares nas áreas do sistema nervoso central relacionadas à doença, seja favorecida pela ação oxidativa de H_2O_2 e radicais livres provenientes do aumento de atividade da MAO-B na região, evidenciando a participação desta enzima em processos celulares degenerativos (HUANG et al. 2015).

Sabendo-se da atuação e participação de MAO em processos degenerativos celulares, diversos estudos são encontrados na literatura compartilhando do objetivo de avaliar drogas e substâncias com capacidade reduzir os efeitos deletérios da alta atividade da enzima no organismo. Estas substâncias são denominadas de inibidores de MAO (MASON; OLMSTEAD; JACOB, 2000; HUANG et al., 2015).

Neste ponto, um elemento que desempenha papel fundamental na defesa celular animal é o Se. Este mineral, por meio da enzima glutathione peroxidase, uma selenoproteína antioxidante, protege as células contra os efeitos tóxicos de peróxidos lipídicos e radicais livres (SILVA, 2015). Em estudo desenvolvido por Tang, Wang, Lin (2008), foi demonstrado que a suplementação de ratas com formas orgânicas e inorgânicas de selênio pode diminuir significativamente os efeitos da MAO-B nos cérebros desses animais, sendo esse feito atribuído a capacidade antioxidante do Se.

Desta forma, a vitamina E assume papel importante no organismo animal, por ser considerado um dos principais antioxidantes. Ao reagir com os radicais peroxil, metabólicos oriundos da oxidação primária de ácidos graxos, a vitamina E impede o processo da peroxidação lipídica e com isso os danos provocados por radicais livre

às membranas celulares, contribuindo, assim, para a manutenção da integridade da parede celular (LOBATO, 2009).

Em um estudo desenvolvido por Xu, Li e Zhang (2003) pela suplementação de ratas com baixas doses de vitamina E, foi observado aumento dos níveis de monoaminas (serotonina, noradrenalina e dopamina) em certas regiões do encéfalo. Com isso, concluíram que a suplementação com vitamina E provoca a melhora da memória de ratos submetidos a hipóxia crônica, demonstrando o importante papel exercido pela vitamina E como antioxidante celular.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivos gerais

O objetivo do presente trabalho foi avaliar os efeitos da suplementação com doses crescentes de selênio associado à vitamina E em bovinos com hematuria enzoótica, bem como, comparar os níveis de selênio em sangue total e soro sanguíneo e avaliar a atividade relativa da enzima monoamina oxidase no soro destes animais.

3.2 Objetivos específicos

- Determinar a melhor dose terapêutica do Se para suplementação parenteral de bovinos acometidos por HEB.
- Avaliar a implicação clínica das diferentes dosagens terapêuticas de Se e vitamina E frente aos graus de hematuria em bovinos com HEB.
- Comparar a suplementação de Se associado a vitamina E com o ganho de peso, os parâmetros hematológicos, o grau de hematuria e a atividade relativa da MAO.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Comitê de ética e uso dos animais – CEUA

O protocolo experimental foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso Animal da Universidade Federal do Espírito Santo (CEUA-UFES-Alegre), sob o número 03/2017 e 025/2020.

4.2 Local de estudo

O estudo foi realizado na Universidade Federal do Espírito Santo nos Centros de Ciências Agrárias e Engenharias (CCAUE-UFES) e Ciências Exatas, Naturais e da Saúde (CCENS). As análises foram desenvolvidas principalmente no Laboratório de Análises Químicas e Ambientais, do laboratório de Apoio à Pesquisa da Agronomia localizado na Área experimental (CCAUE), no Laboratório de Patologia Animal do Hospital Veterinário (CCAUE) e Laboratório de bioquímica (CCENS).

4.3 Material

Foram analisadas 51 amostras de sangue total e 68 de soro sanguíneo bovino para a mensuração da concentração do microelemento selênio, além da determinação da atividade relativa da enzima antioxidante MAO.

As amostras foram provenientes de 18 bovinos, fêmeas, com idade variando de quatro a 12 anos, com quadros de hematuria enzoótica bovina (HEB) confirmados, avaliadas entre o período de agosto de 2019 e janeiro de 2020. Os animais eram oriundos de diferentes propriedades rurais dos municípios de Divino São Lourenço e Ibitirama, ambos pertencentes à microrregião do Caparaó, Sul do Espírito Santo. Em todas as propriedades foi constatada a presença de *Pteridium* sp. nas pastagens. A identificação dos animais foi feita por meio da aplicação de brincos na orelha direita contendo as informações de nome, letra V e número, conforme apresentado no Quadro 1.

Quadro 1 - Identificação dos animais por propriedade, município, identificação em brinco e idade.

Propriedade	Município	Identificação	Idade
Fazenda A	Ibitirama	V1	6 anos
Fazenda A	Ibitirama	V2	7 anos
Fazenda A	Ibitirama	V4	6 anos
Fazenda A	Ibitirama	V6	7 anos
Fazenda A	Ibitirama	V7	5 anos
Fazenda A	Ibitirama	V8	7 anos
Fazenda B	Ibitirama	V10	5 anos
Fazenda B	Ibitirama	V11	11 anos
Fazenda B	Ibitirama	V12	12 anos
Fazenda C	Divino São Lourenço	V14	4 anos
Fazenda C	Divino São Lourenço	V15	5 anos
Fazenda D	Divino São Lourenço	V16	10 anos
Fazenda D	Divino São Lourenço	V17	6 anos
Fazenda E	Divino São Lourenço	V18	12 anos
Fazenda E	Divino São Lourenço	V19	11 anos
Fazenda F	Ibitirama	V20	6 anos
Fazenda F	Ibitirama	V21	6 anos
Fazenda F	Ibitirama	V22	7 anos

Durante todo o período de experimentação os animais foram mantidos em seus locais de origem respeitando as condições de manejo da rotina normal das propriedades, tanto no aspecto nutricional quanto reprodutivo e produtivo. As avaliações semanais tiveram início em agosto de 2019 sendo finalizadas em janeiro de 2020. A alimentação de todos os animais foi baseada em cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*) picada e *Brachiaria* sp.

Para realizar as coletas de material biológico e aplicação de selênio e vitamina E, os animais foram direcionados às salas de ordenhas, as quais em todas as propriedades eram cobertas por telhado, e alojados em canzéis. Em cada animal foi realizada contenção física seguida da suplementação parenteral. Após esse procedimento, os animais eram soltos novamente nos piquetes.

O delineamento experimental foi o delineamento inteiramente casualizado (DIC), dividindo-se aleatoriamente os animais em quatro grupos, sendo separado por sorteio um animal de cada fazenda para ser o controle. Estes receberam suplementação parenteral, por via intramuscular, com diferentes doses de

FOSFOSAL^{®1} (suplemento contendo selenito de sódio, forma inorgânica de Se) associado a Vitamina E^{®2} (suplemento a base de vitamina E), com exceção para o grupo controle, o qual substituiu-se a dose de FOSFOSAL^{®1} pôr solução fisiológica, conforme apresentado no Quadro 2.

Quadro 2 - Grupos experimentais para a suplementação com doses crescentes de selênio associado a vitamina E em bovinos leiteiros com hematuria enzoótica.

Grupos experimentais	Número de animais	Fosfosal	Vitamina E
Controle	6	-	500 mg/ animal
Tratamento 1	4	0,05 mg/kg	500 mg/ animal
Tratamento 2	4	0,10 mg/kg	500 mg/ animal
Tratamento 3	4	0,20 mg/kg	500 mg/ animal

Os animais foram avaliados em 14 momentos semanais, que foram identificados pela letra “M” seguido do número do momento, em que M0 correspondeu ao momento inicial, seguidos dos momentos de suplementação M1 ao M13 e finalizando com o M14 que correspondeu ao último momento de avaliação ocorrido na uma semana após a última aplicação.

Amostras sanguíneas foram coletadas a cada 15 dias, correspondendo aos momentos M0, M2, M4, M6, M8, M10, M12 e M14. A coleta foi realizada por meio de punção da veia caudal utilizando tubos de 5 mL com anticoagulante (heparina e EDTA) e sem anticoagulante. Após identificadas e acondicionadas em caixas de isopor contendo gelo reciclado, as amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Patologia Animal do HOVET – UFES para análise de hematócrito, proteína sérica total, fibrinogênio plasmático, selênio e monoamina oxidase.

Em cada momento foi avaliado o peso dos animais por meio de fita de pesagem

¹ ® Fosfosal (Glicerofosfato de sódio 5.5H₂O -14g, Fosfato monossódico 2H₂O -20,1g, Cloreto de cobre 2H₂O -0,4g, Cloreto de potássio -0,6g, Cloreto de magnésio -2,5g, Selenito de sódio - 0,24g) Virbac do Brasil Indústria e comércio Ltda- Av. Queiroz Filho, 1560 - Vila Leopoldina, São Paulo - SP, 05317-000.

² ® Vitamina E (Acetato de alfa-tocoferol -2g) Labovet Produtos Veterinários, Avenida banco do nordeste-22, centro, centro industrial Subaé, Feira de Santana, Bahia CIS- Cep 4410-665, caixa postal 363.

própria para bovinos para calcular a dose do suplemento e também verificar o ganho de peso dos animais. Somado a isso, foi verificada a intensidade da presença de sangue na urina por meio da observação da micção espontânea por método semi-quantitativo subjetivo baseado em escore variando de 1 a 4 (1= ausente, 2= discreta, 3= moderada e 4=intensa) (LANNA NETA, 2018).

As amostras de sangue com heparina, foram transferidas para microtubos de 1,5 mL (tipo criotubos) e acondicionadas em freezer -80°C até o processamento. Para obtenção do soro sanguíneo, amostras de sangue sem anticoagulante foram centrifugadas a 3000 rotações por minuto durante 10 minutos em centrífuga de tubos. Logo após, o soro foi transferido para microtubos de 1,5 mL e armazenado em freezer – 80°C até o processamento.

Para a mensuração do selênio no sangue total e no soro sanguíneo, foram avaliadas amostras em diferentes momentos: inicial, intermediário e final, de modo semelhante ao descrito por Latorre et al. (2014). Para a avaliação da atividade relativa de MAO, amostras de soro de todos os momentos foram utilizadas.

4.4 Protocolo experimental para mensuração de Se e MAO

4.4.1 Mensuração do Se

Para a mensuração do Se, as amostras de sangue total e soro bovinos foram retiradas do armazenamento em freezer – 80°C e levadas ao Laboratório de Análises Químicas e Ambientais, do Setor de Apoio à Pesquisa da Agronomia localizado na Área Experimental de Rive, Alegre, ES (CCAIE). Neste, as amostras foram descongeladas à temperatura ambiente e submetidas à prévia digestão por micro-ondas e posteriormente submetidas à técnica de espectrometria por absorção atômica com geração de hidretos utilizando o aparelho HG3000.

A digestão das amostras de sangue total e soro foi realizada utilizando-se 2 mL de amostra (soro ou sangue total), adicionando-se 5 mL de ácido nítrico (HNO₃) e 2 mL de peróxido de hidrogênio (H₂O₂). Em seguida a mistura foi agitada suavemente por 15 segundos. As amostras foram digeridas utilizando o equipamento MARS 6 e embarcação Xpress.

Após digeridas, as amostras foram submetidas à técnica de espectrometria por absorção atômica por geração de hidretos para mensurar a concentração de Se. Para

isso, inicialmente acidificou-se as amostras utilizando ácido clorídrico (HCl) concentrado para obter 50% de solução e posteriormente aqueceu-se suavemente a 70° C por 30 minutos, aguardando posteriormente seu resfriamento em temperatura ambiente antes de iniciar a análise. Essa acidificação se fez necessária para a redução do selenito (Se_2O_3), em selenato (Se_2O_4), pois o selenito não pode ser detectado utilizando a técnica de hidreto. A Figura 2 ilustra a mensuração dos níveis de selênio.

Figura 2 – Processamento das amostras de sangue total e soro para mensuração de Se em bovinos com HEB suplementados com doses crescentes de Se associado a vitamina E revelando em A) forno micro-ondas digestor Mras 6, CEM®. B) amostras de sangue total e soro digeridas em aquecimento a 70 °C; C) Amostras após adição de HCl; D) Aparelho de espectrometria por absorção atômica acoplado a gerador de hidretos, GBC®.

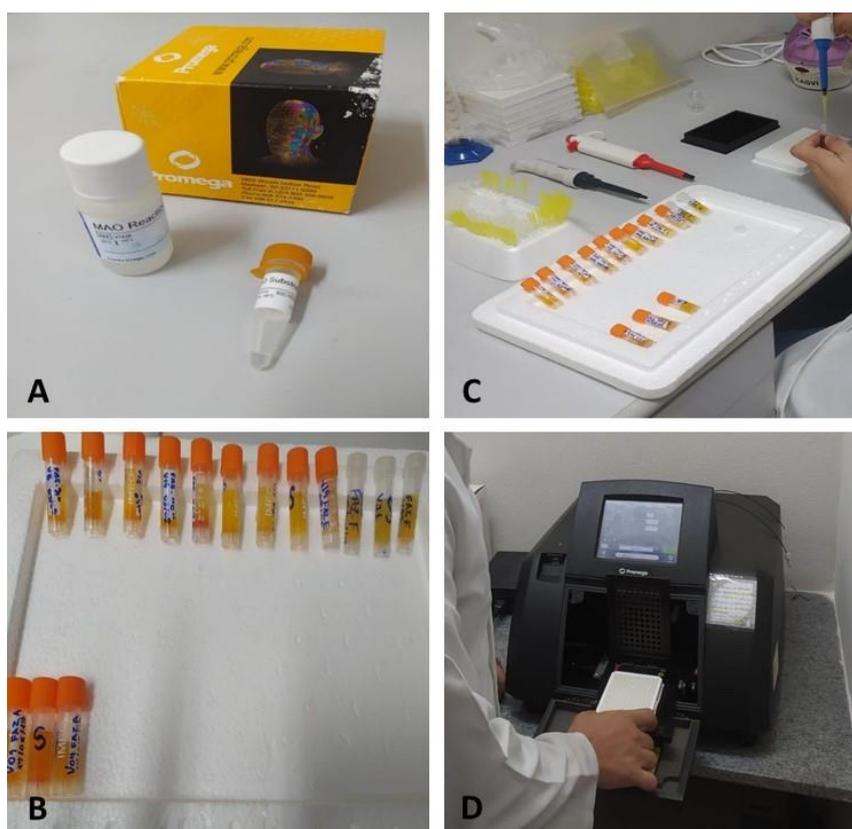


Fonte: MOREIRA JUNIOR, 2022.

4.4.2 Mensuração da MAO

Para a avaliação dos níveis da enzima MAO no soro, as amostras de soro bovino foram retiradas do armazenamento em freezer – 80°C e direcionadas ao Laboratório de bioquímica (CCENS). A avaliação da atividade relativa da enzima antioxidante MAO foi realizada pelo ensaio de luminescência, utilizando o kit MAO-Glo™ em aparelho luminômetro Glomax+ multi detection system (Figura 3).

Figura 3 – Ensaio de luminescência para avaliação de atividade de monoamina oxidase em amostras de soro de bovinos com HEB suplementados com doses crescentes de Se associado à vitamina E revelando em A) Kit MAO – Glo™; B) amostras de soro bovino; C) preparo das amostras para teste de luminescência; D) Aparelho GLOMAX® multi + detection system.



Fonte: MOREIRA JUNIOR, 2022.

4.4.3 Análise estatística

Para análise estatística de todas as variáveis estudadas, foi utilizado o programa estatístico Graphpad prism 9.0.0. Os testes estatísticos não paramétricos

de Kruskal-Wallis e Friedman foram aplicados, simultaneamente, com nível de significância de 5%. O primeiro para avaliar o efeito tratamento, o segundo para avaliar o efeito tempo dentro de cada tratamento. Ambos os testes foram seguidos pelo teste de comparação múltipla de Dunn.

Desta forma, as variáveis foram analisadas estatisticamente quanto ao efeito tratamento e efeito tempo. Para a análise do efeito tratamento, os dados obtidos de cada momento amostral foram comparados entre os diferentes grupos. Para avaliação do efeito tempo foram comparados dentro de cada grupo os dados dos diferentes tempos amostrais.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pelo fato dos animais deste estudo terem sido mantidos nas suas propriedades de origem, algumas intercorrências foram observadas, conforme demonstrado na Tabela 1, entretanto, estes fatores não interferiram nas condições do experimento.

Tabela 1 – Intercorrências observadas com animais ao longo do protocolo experimental de suplementação de bovinos com HEB suplementados com doses crescentes de Se associado à vitamina E.

Grupos	Nº de animais	Intercorrências observadas durante o período experimental
Controle	2	Prenhez positiva próximo ao término do experimento e mudança de pasto para nova área com as mesmas condições da anterior.
Trat. 1	1	Parto aproximadamente seis semanas após início do experimento e mudança de pasto para nova área com as mesmas condições da anterior.
Trat. 2	1	Mudança para nova área com as mesmas condições da anterior
Trat. 3	1	Prenhez positiva próximo ao término do experimento

5.1 Peso corporal

Considerando a variável peso corporal, não foram observadas diferenças significativas entre nenhum dos tratamentos. Entretanto, ao avaliar o efeito tempo, foi notada diferença significativa entre os momentos 2 e 8 nos animais do grupo controle. Revelando um peso corporal maior no momento 2 em relação ao momento 8 (Tabela 2).

Tabela 2 - Pesos dos animais em quilogramas distribuídos em grupos experimentais em diferentes momentos submetidos à suplementação com doses crescentes de Se associado à vitamina E em bovinos com HEB.

Peso dos animais				
Momento	Controle	Trat. 1	Trat. 2	Trat. 3
M0	434,0 ^{Aa} (326,3 - 506,0)	409,5 ^{Aa} (382,0 - 551,0)	405,5 ^{Aa} (332,5 - 499,5)	385,5 ^{Aa} (358,0 - 422,0)
M2	405,0 ^{Aab} (335,0 - 467,8)	388,5 ^{Aa} (361,0 - 503,8)	376,0 ^{Aa} (308,5 - 442,8)	379,5 ^{Aa} (309,3 - 422,0)
M4	385,5 ^{Aa} (330,3 - 460,5)	394,5 ^{Aa} (364,0 - 484,3)	370,0 ^{Aa} (301,0 - 436,0)	364,5 ^{Aa} (306,5 - 412,8)
M6	398,0 ^{Aa} (331,0 - 472,5)	367,0 ^{Aa} (362,5 - 472,0)	382,5 ^{Aa} (318,3 - 440,8)	367,0 ^{Aa} (311,5 - 453,3)
M8	378,5 ^{Aac} (330,3 - 449,0)	391,0 ^{Aa} (340,8 - 470,5)	382,0 ^{Aa} (319,8 - 430,0)	376,0 ^{Aa} (358,0 - 394,0)
M10	395 ^{Aa} (328,8 - 454,5)	373 ^{Aa} (358 - 443,5)	364 ^{Aa} (309,3 - 430)	361,5 ^{Aa} (317 - 394)
M12	394,0 ^{Aa} (333,8 - 456,0)	394,0 ^{Aa} (351,3 - 452,5)	357,0 ^{Aa} (314,8 - 428,5)	376,0 ^{Aa} (321,3 - 397,0)
M14	391,5 ^{Aa} (325,5 - 448,5)	379,0 ^{Aa} (361,0 - 489,0)	385,0 ^{Aa} (373,0 - 441,0)	367,0 ^{Aa} (348,3 - 400,8)

Medianas (1º quartil |-| 3º Quartil). As medianas seguidas pela mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si, pelo teste de Kruskal-Wallis. As medianas seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si, pelo teste de Friedman. Ambos os testes com nível de significância de 5%.

Sendo assim, no que tange aos diferentes tratamentos aplicados, os resultados obtidos neste trabalho diferem dos descritos por Lanna Neta (2018), em um estudo onde verificou-se o ganho de peso de vacas leiteiras acometidas por HEB suplementadas por igual período e vias de administração, utilizando Se inorgânico na forma de selenito sódico, nas doses de 0,05; 0,1 e 0,2 mg/kg associados a vitamina E. Esta diferença pode ser explicada pelo fato de se tratar de diferentes propriedades e animais, os quais podem possuir acesso a manejos nutricionais com diferentes níveis de Se. Além disso, Lanna Neta (2018), não descreveu o período de desenvolvimento do trabalho, o qual se realizado no período das chuvas, diferiria do trabalho atual, e proporcionaria uma maior disponibilidade e qualidade de alimento para os animais, o que justificaria o ganho de peso observado.

Sousa (2008) também observou um comportamento diferente a respeito do peso corporal ao avaliar as características físico-químicas e sensoriais da carne de bovinos Nelore. Por meio da suplementação com diferentes fontes de lipídeos e selênio, por via oral, foi possível observar maior ganho de peso em animais suplementados com selênio inorgânico.

Por outro lado, os resultados obtidos no presente estudo vão ao encontro ao observado por Lawler et al. (2004), que ao suplementar novilhos com diferentes fontes de selênio, não observaram relação entre o ganho de peso e eficiência alimentar.

Acredita-se que alguns fatores possam ter colaborado para tais resultados como o estresse das coletas e da administração parenteral do selênio. Mesmo não havendo fatores externos como retirada dos animais da propriedade e alterações de manejo alimentar, segundo Mobjiglia, Camilo e Fernandes (2014), práticas como a coleta de sangue repercutem na liberação imediata de cortisol na corrente sanguínea de bovinos, o que pode acarretar fadiga e perda de massa corporal. Assim, acredita-se que a rotina do experimento com a movimentação dos animais ao curral, contenção, coletas de amostras e administração do Se, sendo essas realizada em canzís, corroboraram para tais resultados.

Com relação às diferenças de pesos observados entre os momentos 2 e 8 no grupo controle, acredita-se que alguns fatores como período de desenvolvimento do estudo, o qual foi desenvolvido em sua maioria no período seco, a gestação de alguns animais e mudança de pasto podem ter influenciado no resultado. De acordo com Santos, Gomes e Fonseca (2014), alguns fatores climáticos restritivos observados no

inverno nos meses de julho, agosto e setembro, comprometem a produtividade e qualidade das forrageiras, principalmente, a disponibilidade de água, radiação solar e temperatura. Portanto, a diferença de peso observada pode ser justificada pelo fato das coletas terem iniciado no período da seca, cuja qualidade e oferta de alimento encontrava-se diminuída. Além disto, os animais prenhes também demandaram maior aporte nutricional, o que somado à condição alimentar citada pode ter contribuído para a diferença de peso observada entre os momentos do grupo controle em relação ao tempo.

5.2 Hematúria

Considerando os resultados obtidos a respeito do quadro clínico de hematúria, observou-se diferença significativa na redução da hematúria entre grupo controle e grupo tratamento 1, nos momentos 4, 6 e 14. No entanto, não foram observadas diferenças significativas ao analisar esta variável ao longo do tempo em nenhum dos tratamentos (Tabela 3).

Tabela 3 - Avaliação semi-quantitativa do grau de hematúria pela avaliação clínica da micção espontânea, classificado em escore variando de 1 a 4 (1= ausente, 2= discreta, 3= moderada e 4= intensa), em bovinos com HEB suplementados com doses crescentes de Se associado à vitamina E em diferentes momentos experimentais.

Momento	Hematúria			
	Controle	Trat. 1	Trat. 2	Trat. 3
M0	4,00 ^{Aa} (1,75 - 4,00)	1,50 ^{Aa} (1,00 - 3,50)	2,00 ^{Aa} (1,25 - 3,50)	3,00 ^{Aa} (2,00 - 4,00)
M4	3,00 ^{AaB} (1,75 - 4,00)	1,00 ^{AaC} (1,00 - 1,75)	1,50 ^{Aa} (1,00 - 3,50)	3,00 ^{Aa} (2,25 - 3,00)
M6	3,50 ^{AaD} (2,00 - 4,00)	1,00 ^{AaE} (1,00 - 1,00)	2,50 ^{Aa} (1,25 - 3,00)	2,00 ^{Aa} (1,25 - 3,50)
M8	3,50 ^{Aa} (2,00 - 4,00)	1,00 ^{Aa} (1,00 - 1,00)	1,00 ^{Aa} (1,00 - 3,25)	3,00 ^{Aa} (2,25 - 3,75)
M10	2,25 ^{Aa} (1,00 - 4,00)	1,00 ^{Aa} (1,00 - 1,00)	1,00 ^{Aa} (1,00 - 3,25)	3,00 ^{Aa} (2,25 - 3,00)
M12	2,25 ^{Aa} (1,75 - 4,00)	1,00 ^{Aa} (1,00 - 1,00)	1,00 ^{Aa} (1,00 - 3,25)	3,00 ^{Aa} (1,50 - 3,75)
M14	3,50 ^{AaF} (1,75 - 4,00)	1,00 ^{AaG} (1,00 - 1,75)	1,00 ^{Aa} (1,00 - 3,25)	4,00 ^{Aa} (2,50 - 4,00)

Medianas (1º quartil -| 3º Quartil). As medianas seguidas pela mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si, pelo teste de Kruskal-Wallis. As medianas seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si, pelo teste de Friedman. Ambos os testes com nível de significância de 5%. O momento 2 foi considerado como parcela perdida devido ao baixo número de amostras.

Esses resultados apontam para redução da hematúria após a terceira semana de suplementação utilizando-se a menor dose de Se. Tais resultados corroboram com os obtidos por Lanna Neta (2018), que ao suplementar vacas leiteiras acometidas por HEB utilizando Se e vitamina E, também verificou redução da hematúria nos grupos tratamentos em relação ao controle.

De acordo com Tokarnia et al. (2012) a hematúria é um dos principais sinais clínicos observados na HEB, sendo esta decorrente de lesões neoplásicas ou não neoplásicas presentes na bexiga. Em um trabalho desenvolvido por Silva, Sousa e Nunes (2012), na microrregião do Caparaó capixaba, ao avaliarem histopatologicamente bexigas de bovinos, oriundas de frigorífico, apresentando lesões macroscópicas e/ou hematúria, observaram lesões neoplásicas em 56,52% das

bexigas, sendo essas de origem epitelial como carcinoma, e de origem mesenquimal como hemangioma e hemangiossarcoma. Além disso, foram observadas lesões não neoplásicas em 100% das bexigas, dentre elas alterações vasculares como hemorragia, proliferação, ectasia, dilatação e espessamento vascular.

Diante do exposto, alguns estudos desenvolvidos em modelos animais e humanos evidenciam o envolvimento do estresse oxidativo em enfermidades envolvendo os vasos sanguíneos, como a aterogênese. Além disso, sugerem que o consumo de antioxidantes exerce efeito satisfatório na prevenção e tratamento de doenças cardiovasculares (THONSON et al., 2007).

Sendo assim, considerando o efeito antioxidante e protetor do Se sobre as membranas lipídicas celulares contra ação de radicais livre e peróxidos lipídicos, por meio da enzima glutathione peroxidase (SILVA, 2015), sugere-se que a suplementação com o mineral proporcione a proteção e manutenção da integridade do endotélio vascular além de inibir eventos inflamatórios (EVANGELISTA, 2010). Ademais, propriedades anticancerígenas, antimetastáticas e antiangiogênicas tem sido atribuída à suplementação de selênio em estudos envolvendo humanos e animais (LATORRE et al., 2011; LATORRE et al., 2014; YU-CHI; PRABHU; MOSTRA, 2013).

Desta forma, sugere-se que a redução da hematúria observada entre o grupo tratamento 1 e grupo controle possa ser justificada pelas propriedades do Se na regressão das lesões neoplásicas e não neoplásicas responsáveis pelo quadro clínico nos animais.

5.3 Hematócrito, proteína plasmática total e fibrinogênio plasmático.

Na análise estatística da variável hematócrito, ao comparar os diferentes tratamentos utilizados observou-se diferença significativa entre os grupos controle e tratamento 1, nos momentos 8 e 14, apresentando nítido aumento do hematócrito e, portanto, melhora no quadro de anemia. Contudo, ao analisar o efeito tempo, não foi observada diferença significativa entre os momentos ao longo de cada tratamento (Tabela 4).

Tabela 4 – Avaliação do hematócrito de bovinos com HEB suplementados com doses crescentes de Se associado à vitamina E em diferentes momentos experimentais

Hematócrito %				
Momento	Controle	Trat. 1	Trat. 2	Trat. 3
M0	20,50 ^{Aa} (17,25 - 24,50)	28,00 ^{Aa} (22,00 - 33,25)	24,00 ^{Aa} (21,75 - 27,00)	23,00 ^{Aa} (12,00 - 28,00)
M2	18,00 ^{Aa} (15,25 - 20,75)	26,50 ^{Aa} (13,75 - 33,25)	26,00 ^{Aa} (18,50 - 27,50)	19,25 ^{Aa} (11,63 - 23,5)
M4	22,25 ^{Aa} (17,25 - 24,00)	26,50 ^{Aa} (25,00 - 32,50)	24,50 ^{Aa} (21,50 - 29,75)	21,50 ^{Aa} (15,25 - 25,50)
M6	21,50 ^{Aa} (18,50 - 23,75)	24,50 ^{Aa} (23,25 - 31,00)	22,50 ^{Aa} (21,25 - 27,50)	23,00 ^{Aa} (17,50 - 26,25)
M8	20,00 ^{AaB} (16,75 - 23,25)	26,00 ^{AaC} (25,25 - 32,00)	23,00 ^{Aa} (22,00 - 27,75)	21,50 ^{Aa} (17,50 - 24,00)
M10	20,50 ^{Aa} (18,75 - 25,25)	26,00 ^{Aa} (24,25 - 30,00)	25,00 ^{Aa} (22,00 - 25,75)	20,00 ^{Aa} (10,50 - 27,25)
M12	20,00 ^{Aa} (17,75 - 21,25)	25,00 ^{Aa} (24,00 - 30,50)	23,50 ^{Aa} (20,00 - 25,50)	20,50 ^{Aa} (13,25 - 26,25)
M14	20,00 ^{AaD} (18,25 - 21,5)	26,00 ^{AaE} (23,50 - 31,50)	22,50 ^{Aa} (17,50 - 23,38)	17,00 ^{Aa} (12,25 - 24,75)

Medianas (1º quartil |-| 3º Quartil). As medianas seguidas pela mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si, pelo teste de Kruskal-Wallis. As medianas seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si, pelo teste de Friedman. Ambos os testes com nível de significância de 5%.

Em situações clínicas de progressão da HEB em animais acometidos, que não recebem nenhum tipo de tratamento, frequentemente observam-se sinais clínicos de anemia. Laboratorialmente pode ser notado redução do hematócrito para valores abaixo do limite para a espécie além de aumento de fragilidade eritrocitária e anemia progressiva (RADOSTITS et al., 2007; RIBEIRO-SOTO BLANCO, 2020; SILVA et al 2009). Todavia, ao observar os dados obtidos nesse estudo, nota-se o aumento do hematócrito no grupo tratamento 1 em relação ao controle, saindo de valores abaixo de 24%, limite para espécie, para valores dentro da normalidade entre 24 – 46% conforme Jain (1993). Estes resultados levam a inferir que a suplementação semanal de Se na menor dose após sete semanas promoveu reversão do quadro de anemia. Neste caso, Thrall (2015), descreve que uma das causas desencadeantes da anemia

é a perda de sangue decorrente de hemorragias. Sendo assim, acredita-se que o fato de ter sido observada melhora do quadro de hematúria houve conseqüentemente redução da anemia, como descrito por Jean - Blain, Gastellu e Bringuier (1987).

Por outro lado, sabe-se que apenas o aumento do hematócrito pode não levar à reversão completa da anemia. Isto posto, para descartar uma possível policitemia verdadeira devido à desidratação, recomenda-se a mensuração das proteínas plasmáticas totais, dentro das quais encontra-se o fibrinogênio, que podem estar aumentadas nestas condições (THRALL, 2015).

Ao avaliar as variáveis PPT e fibrinogênio plasmático neste estudo, verificou-se que as medianas dos grupos estavam em sua maioria dentro dos valores de normalidade para bovinos, confirmando que realmente houve melhora no quadro de anemia após a suplementação com selênio nos animais avaliados.

Ademais, verificou-se que as variáveis proteínas plasmáticas totais e fibrinogênio plasmático não apresentaram diferenças significativas em nenhum dos momentos dos tratamentos aplicados. Sendo o mesmo observado ao analisar o efeito tempo dentro de cada tratamento (Tabelas 5 e 6).

Tabela 5 – Avaliação da proteína plasmática total de bovinos com HEB suplementados com doses crescentes de Se associado à vitamina E em diferentes momentos experimentais.

Proteínas plasmáticas totais g/L				
Momento	Controle	Trat. 1	Trat. 2	Trat. 3
M0	6,95 ^{Aa} (6,30 - 7,55)	8,20 ^{Aa} (7,45 - 8,35)	7,90 ^{Aa} (7,20 - 8,15)	7,00 ^{Aa} (6,20 - 7,90)
M2	7,05 ^{Aa} (6,12 - 7,40)	7,90 ^{Aa} (6,22 - 8,60)	7,70 ^{Aa} (7,60 - 8,10)	7,05 ^{Aa} (6,50 - 7,35)
M4	6,90 ^{Aa} (5,90 - 7,35)	7,60 ^{Aa} (7,40 - 7,95)	7,40 ^{Aa} (6,75 - 8,05)	6,70 ^{Aa} (5,45 - 7,35)
M6	6,65 ^{Aa} (6,87 - 7,25)	7,65 ^{Aa} (7,05 - 8,02)	7,30 ^{Aa} (6,47 - 7,90)	6,85 ^{Aa} (5,82 - 7,35)
M8	7,00 ^{Aa} (6,25 - 7,60)	7,90 ^{Aa} (7,35 - 8,30)	7,50 ^{Aa} (6,80 - 7,90)	6,90 ^{Aa} (6,65 - 7,90)
M10	6,90 ^{Aa} (6,55 - 8,10)	7,40 ^{Aa} (7,20 - 8,50)	7,50 ^{Aa} (7,10 - 8,20)	6,80 ^{Aa} (6,30 - 8,20)
M12	6,80 ^{Aa} (6,25 - 7,10)	8,00 ^{Aa} (7,70 - 8,15)	7,30 ^{Aa} (7,00 - 8,00)	6,70 ^{Aa} (5,60 - 7,95)
M14	7,00 ^{Aa} (6,50 - 7,40)	8,00 ^{Aa} (7,70 - 8,15)	6,80 ^{Aa} (6,52 - 7,60)	6,70 ^{Aa} (5,65 - 7,75)

Medianas (1º quartil |-| 3º Quartil). As medianas seguidas por “*” na mesma linha, diferem entre si, pelo teste de Kruskal-Wallis. As medianas seguidas por “#” na mesma coluna diferem entre si, pelo teste de Friedman. Ambos os testes com nível de significância de 5%.

Tabela 6 – Avaliação do fibrinogênio plasmática de bovinos com HEB suplementados com doses crescentes de Se associado à vitamina E em diferentes momentos experimentais.

Fibrinogênio plasmático mg/dL				
Momento	Controle	Trat. 1	Trat. 2	Trat. 3
M0	600 ^{Aa} (350 - 800)	400 ^{Aa} (125 - 1050)	600 ^{Aa} (525 - 600)	600 ^{Aa} (100 - 800)
M2	450 ^{Aa} (275 - 900)	550 ^{Aa} (-875 - 100)	600 ^{Aa} (250 - 950)	150 ^{Aa} (25 - 650)
M4	400 ^{Aa} (275 - 450)	100 ^{Aa} (150 - 200)	200 ^{Aa} (100 - 500)	200 ^{Aa} (0 - 400)
M6	300 ^{Aa} (200 - 975)	600 ^{Aa} (425 - 850)	400 ^{Aa} (225 - 500)	200 ^{Aa} (25 - 750)
M8	400 ^{Aa} (200 - 1000)	400 ^{Aa} (250 - 400)	500 ^{Aa} (400 - 600)	400 ^{Aa} (250 - 550)
M10	600 ^{Aa} (350 - 825)	250 ^{Aa} (200 - 675)	400 ^{Aa} (325 - 850)	200 ^{Aa} (200 - 500)
M12	600 ^{Aa} (500 - 725)	500 ^{Aa} (400 - 600)	500 ^{Aa} (100 - 675)	300 ^{Aa} (225 - 375)
M14	350 ^{Aa} (200 - 400)	250 ^{Aa} (200 - 675)	250 ^{Aa} (50 - 375)	400 ^{Aa} (250 - 400)

Medianas (1º quartil |-| 3º Quartil). As medianas seguidas por “ * ” na mesma linha, diferem entre si, pelo teste de Kruskal-Wallis. As medianas seguidas por “#” na mesma coluna diferem entre si, pelo teste de Friedman. Ambos os testes com nível de significância de 5%.

Segundo Allison (2015), alterações nas concentrações de proteínas plasmáticas como aumento ou diminuição, são achados laboratoriais comumente observados em animais, sendo essas decorrentes de anormalidades no teor de albumina ou de globulina. Entretanto, este mesmo autor também descreve que nem sempre o aumento ou diminuição de albumina e globulina pode acarretar alterações detectáveis na PPT.

Ao avaliar a variável fibrinogênio plasmático, os dados obtidos no estudo estão semelhantes aos descritos por Oliveira (2021), o qual também não observou diferenças significativas desta variável em vacas leiteiras acometidas por HEB suplementadas com doses de 0,05, 0,1 e 0,2 mg/kg de peso vivo de selênio associado

a vitamina E.

Em outro estudo desenvolvido por Falbo et al. (2015) onde buscou-se as alterações clínico-laboratoriais em fêmeas bovinas, naturalmente intoxicadas por samambaia no estado do Paraná, também não foi verificado a ocorrência de hiperfibrinogemia nos animais.

Sabe-se que o fibrinogênio é uma proteína de fase aguda positiva, bastante utilizada na rotina de hemograma de bovinos. Nesta espécie a elevação de sua concentração é bastante sensível a processos inflamatórios mesmo não havendo um leucograma indicativo de inflamação. Além disso, seu aumento também pode estar associado a desidratação (ALLISON, 2015). Entretanto, neste estudo, apesar dos animais estarem acometidos por uma doença crônica envolvendo processos inflamatórios, o quadro clínico de HEB não desencadeou alterações acentuadas de hipoproteinemia, hiperproteinemia e hiperfibrinogenemia.

5.4 Selênio

As concentrações sanguíneas de Se em todos os bovinos do presente estudo permaneceram dentro dos níveis de normalidade durante o período de suplementação. Além disso, pode-se observar que os níveis séricos de Se no momento M0 do soro apontaram para concentrações entre 81 a 315 µg/L, evidenciando níveis bons do elemento no organismo dos animais no início do estudo.

De acordo com Villar et al. (2002), níveis de selênio iguais a $9,7 \pm 7,2$ µg/L em plasma e menores que 35 µg/L em sangue total são considerados deficiência severa em bovinos leiteiros. Por outro lado, Lucci et al. (1984), afirmaram que as concentrações de 60 µg/L representam níveis médios e concentrações acima de 60 µg/L como níveis bons de Se em soro de bovinos leiteiros. Esta informação corrobora os dados descritos por Arshad, Ebeid e Hassan (2021), os quais relataram níveis adequados de Se acima 180 µg/L em sangue total e 80 µg/L em plasma, para bovinos.

Assim, ao analisar as concentrações do Se no sangue total, verificou-se que não houve diferença significativa entre os diferentes tratamentos utilizados. O mesmo ocorreu ao analisar as concentrações do elemento ao longo de cada tratamento (Tabela 7).

Tabela 7 – Concentrações de selênio ($\mu\text{g/L}$) em sangue total de bovinos com HEB suplementados com doses crescentes de Se associado à vitamina E em diferentes momentos experimentais.

Momento	Concentração de selênio em sangue total $\mu\text{g/L}$			
	Controle	Trat. 1	Trat. 2	Trat. 3
M4	181,6 ^{Aa} (156,4 - 225,9)	186,7 ^{Aa} (170,8 - 199,2)	136,0 ^{Aa} (127,0 - 207,4)	258,9 ^{Aa} (128,2 - 259,7)
M8	168,6 ^{Aa} (155,4 - 199,9)	175,9 ^{Aa} (147,1 - 216,7)	203,4 ^{Aa} (174,8 - 273,5)	164,3 ^{Aa} (148,2 - 353,9)
M14	284,1 ^{Aa} (248,8 - 324,4)	235,3 ^{Aa} (194,0 - 307,0)	200,1 ^{Aa} (193,5 - 201,7)	234,0 ^{Aa} (213,4 - 256,5)

Medianas (1^o quartil |-| 3^o Quartil). As medianas seguidas pela mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si, pelo teste de Kruskal-Wallis. As medianas seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si, pelo teste de Friedman. Ambos os testes com nível de significância de 5%.

Entretanto, ao analisar as concentrações de Se no soro sanguíneo, verificou-se diferença significativa entre o grupo tratamento 1 e grupo tratamento 2 no momento M8, notando-se maior concentração de Se no grupo tratamento 1. Contudo, ao avaliar as concentrações do Se ao longo do tempo de cada tratamento, não foram verificadas diferenças significativas em nenhum dos tratamentos (Tabela 8).

Tabela 8 – Concentrações de selênio ($\mu\text{g/L}$) em soro de bovinos com HEB suplementados com doses crescentes de Se associado à vitamina E em diferentes momentos experimentais.

Concentração de selênio em soro				
Momento	Controle	Trat. 1	Trat. 2	Trat. 3
M0	117,6 ^{Aa} (97,04 - 203,6)	178,7 ^{Aa} (85,74 - 271,6)	200,0 ^{Aa} (115,9 - 249,4)	146,9 ^{Aa} (130,6 - 315,1)
M4	250,7 ^{Aa} (182,1 - 297,9)	260,9 ^{Aa} (151,1 - 344,7)	229,5 ^{Aa} (165,3 - 408,7)	188,4 ^{Aa} (101,8 - 357,9)
M8	219,2 ^{Aa} (186,4 - 237,8)	337,5 ^{AaB} (273,1 - 586,9)	192,0 ^{AaC} (107,6 - 213,5)	145,9 ^{Aa} (108,5 - 316,9)
M14	158,9 ^{Aa} (87,51 - 225,1)	176,1 ^{Aa} (99,99 - 250,5)	182,3 ^{Aa} (130,8 - 219,6)	140,5 ^{Aa} (98,12 - 230,5)

Medianas (1º quartil |-| 3º Quartil). As medianas seguidas pela mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si, pelo teste de Kruskal-Wallis. As medianas seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si, pelo teste de Friedman. Ambos os testes com nível de significância de 5%.

Os resultados deste estudo apontaram para um pico do selênio no momento M8 no grupo tratamento 1, o qual foi suplementado com a dose de 0,05mg/kg de Se. Neste mesmo grupo, conforme descrito anteriormente, verificou-se uma melhora no quadro clínico da hematúria após três semanas de suplementação, além da melhora do quadro de anemia com aumento do hematócrito no M8. Portanto, acredita-se que a progressão gradativa da concentração de Se no soro até o seu pico em M8, utilizando-se a dose de 0,05 mg/Kg, foi capaz de promover a melhora dos quadros de hematúria além de reverter a anemia nos animais.

Ressalta-se que em estudo anterior desenvolvido por nosso grupo de pesquisa, buscou-se comparar o maior nível de selênio com aumento da atividade da enzima glutathiona peroxidase (enzima antioxidante dependente de Se) no soro de bovinos leiteiros suplementados com diferentes doses de Se e vitamina E, porém não foi encontrada diferença significativa (OLIVEIRA, 2021). Apesar disto, Cardozo et al. (2013), demonstraram que vacas leiteiras suplementadas com selenito de sódio a 5 mg/ 100 Kg injetável, foi capaz de induzir o aumento na atividade da glutathiona peroxidase de 30 a 90 dias após a administração do Se.

Em relação ao local de mensuração do Se em sangue total e soro, as concentrações do elemento em soro foram maiores do que no sangue total. Assim, sugere-se que o melhor local para mensuração dos níveis de Se em bovinos leiteiros acometidos por HEB suplementados com doses crescentes de Se associado a vitamina E, seja o soro. Entretanto, Herdt, Rumbelha e Braselton (2000) ressaltam que ao trabalhar com o soro, deve-se evitar a ocorrência de hemólise, pois a presença desta pode influenciar diretamente no resultado.

Outro fator que deve ser considerado é que conforme Anjos et al. (2009) a concentração de selênio no sangue total é oriunda da somatória do microelemento presente nos eritrócitos e no soro, sendo que 60% do selênio é encontrado nos eritrócitos. Neste sentido deve-se ressaltar que o presente estudo foi desenvolvido em animais com quadro de intoxicação crônica por samambaia, que apresentavam hematúria e, conseqüentemente anemia. Isto significa que o quadro de anemia nestes animais é decorrente de perda de eritrócitos. Desta forma entende-se que a diminuição de eritrócitos pode justificar a menor concentração de Se encontrada no sangue total destes animais.

Outrossim, pode-se inferir que em animais com HEB, o melhor local para se mensurar o Se seja realmente o soro.

5.5 Atividade relativa de monoamina oxidase

Em relação à atividade relativa de MAO observou-se que não houve diferença significativa entre os diferentes tratamentos aplicados. Entretanto, em relação ao efeito tempo, notou-se diferença significativa em todos os tratamentos. No grupo controle, os momentos M2 e M10, M2 e M12 e M2 e M14, diferiram-se significativamente, ocorrendo expressão maior de MAO em M2 em relação aos demais. No grupo tratamento 1, houve diferença significativa entre os momentos M2 e M12 e M2 e M14, com maior atividade da enzimática em M2. No grupo tratamento 2 a diferença ocorreu entre os momentos M2 e M14, com maior atividade da enzima em M2. No grupo tratamento 3, a diferença apresentou-se entre os momentos M0 e M12 e momento M2 e M12, nestes a maior atividade da enzima ocorreu em M0 e M2.

Observou-se também que o comportamento da atividade enzimática foi semelhante ao longo de cada tratamento aplicado, incluindo o grupo controle. Estes,

inicialmente apresentaram alta atividade de MAO e ao finalizar o período de suplementação demonstraram redução expressiva da atividade enzimática (Tabela 9).

Tabela 9 – Atividade relativa da enzima monoamina oxidase sérica em bovinos com HEB suplementados com doses crescentes de Se associado à vitamina E em diferentes momentos experimentais.

Atividade relativa da MAO				
Momento	Controle	Trat. 1	Trat. 2	Trat. 3
M0	0,475 ^{Aa} (0,267 - 0,857)	0,535 ^{Aa} (0,330 - 0,762)	0,655 ^{Aa} (0,292 - 0,890)	0,770 ^{Aal} (0,630 - 1,000)
M2	0,475 ^{Aab} (0,267 - 0,857)	0,535 ^{Aaf} (0,330 - 0,762)	0,655 ^{Aai} (0,292 - 0,890)	0,770 ^{Aam} (0,630 - 1,000)
M4	0,620 ^{Aa} (0,565 - 0,665)	0,635 ^{Aa} (0,600 - 0,655)	0,650 ^{Aa} (0,575 - 1,018)	0,540 ^{Aa} (0,450 - 0,71)
M6	0,435 ^{Aa} (0,395 - 0,460)	0,465 ^{Aa} (0,435 - 0,480)	0,405 ^{Aa} (0,392 - 0,462)	0,380 ^{Aa} (0,380 - 0,520)
M8	0,440 ^{Aa} (0,390 - 0,460)	0,455 ^{Aa} (0,422 - 0,532)	0,450 ^{Aa} (0,440 - 0,542)	0,440 ^{Aa} (0,410 - 0,460)
M10	0,370 ^{Aac} (0,325 - 0,422)	0,420 ^{Aa} (0,395 - 0,437)	0,375 ^{Aa} (0,352 - 0,397)	0,350 ^{Aa} (0,290 - 0,410)
M12	0,335 ^{Aad} (0,312 - 0,347)	0,335 ^{Aag} (0,270 - 0,340)	0,330 ^{Aa} (0,297 - 0,340)	0,340 ^{Aan} (0,300 - 0,350)
M14	0,325 ^{Aae} (0,295 - 0,362)	0,300 ^{Aah} (0,295 - 0,315)	0,300 ^{Aaj} (0,290 - 0,317)	0,340 ^{Aa} (0,310 - 0,420)

Medianas (1º quartil |-| 3º Quartil). As medianas seguidas por “ * ” na mesma linha, diferem entre si, pelo teste de Kruskal-Wallis. As medianas seguidas por “#” na mesma coluna diferem entre si, pelo teste de Friedman. Ambos os testes com nível de significância de 5%.

O fato de não ser observado diferenças significativas em relação aos tratamentos utilizados, porém ser evidenciado redução da atividade enzimática ao longo do tempo, em cada tratamento, pode ser justificado pela ação da vitamina E. Neste estudo, todos os grupos receberam a mesma dose de vitamina E (500mg/kg) associada a diferentes doses de Se. Sendo assim, o fato do comportamento enzimático do grupo controle ter sido semelhante aos demais grupos, sugere que a

vitamina E associada ou não à diferentes doses de Se foi capaz de reduzir a atividade enzimática após a nona semana de suplementação.

A redução da atividade de MAO após administração de vitamina E também foi verificado por Xu, Li e Zhang (2003) em um estudo em que avaliou o efeito da suplementação de vitamina E na memória e no nível de neurotransmissores monoaminérgicos cerebrais em ratos com hipóxia episódica crônica. Estes mesmos autores, ao utilizarem a suplementação com vitamina E e verificaram o aumento das monoaminas norepinefrina, dopamina e 5- hidrocitriptamina em diferentes regiões cerebrais o que indica uma ação inibitória da vitamina E sobre a atividade de MAO.

Por outro lado, neste estudo não foi observado a influência do Se na redução da MAO. Sendo assim, este resultado difere do obtido por Tang, Wang e Lin, que ao suplementarem ratos com formas inorgânicas (selenito de sódio) e orgânicas (levedura enriquecidas com selênio) por via oral na dose de 2mg de Se/Kg de dieta, observaram redução significativa da atividade da isoenzima MAO-B no cérebro dos animais. Com isso, estes mesmos autores, concluíram que a suplementação utilizando Se orgânico ou inorgânico pode diminuir da atividade da enzima MAO-B cerebral em decorrência da capacidade antioxidante do Se.

Somado a isso, em estudo realizado anteriormente por Oliveira (2021), buscou-se correlacionar o efeito positivo da suplementação utilizando diferentes doses de Se e vitamina E em bovinos leiteiros acometidos HEB, com o aumento da concentração de antioxidantes totais. Entretanto este efeito não foi confirmado. Apesar disso, sugere-se que a suplementação com selênio e vitamina E poderia aumentar os níveis de antioxidantes totais contribuindo para na redução dos efeitos deletérios causados pela alta atividade de MAO no organismo.

6. CONCLUSÕES

Conclui-se que a suplementação parenteral de selênio na dose de 0,05mg/kg associado à vitamina E na dose de 500mg/kg, em bovinos com HEB, melhorou o quadro clínico de hematúria e aumentou o hematócrito dos animais após três e sete semanas de suplementação, respectivamente. A associação à vitamina E, reduziu a atividade de monoamina oxidase após nove semanas de suplementação, não sendo associado participação do Se na redução da atividade enzimática. Além disso, o soro foi o melhor local para mensuração de selênio aumentando a concentração do elemento na oitava semana de suplementação.

REFERÊNCIAS

- ARSHAD, M. A.; EBEID, H. M.; HASSAN, F. Revisiting the effects of different dietary sources of selenium on the health and performance of dairy animals: a review. **Biological Trace Element Research**, v. 199, p. 3319-3337, 2021.
- ALLISON, R. W. Avaliação laboratorial das proteínas do plasma e do soro sanguíneo. In: TRALL, A. M. et al. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. São Paulo: Editora Roca LTDA, 2015. p.1010.
- ALMONDES, K. G. S, et al. O papel das selenoproteínas no câncer. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 56, n. 4, p. 484-488, 2010.
- ALONSO-AMELOT, M. E. Helecho macho, salud animal y salud humana. **Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)**, v. 16, p. 528-541, 1999.
- ALONSO-AMELOT, M. E.; AVENDANO, M. Human carcinogenesis and bracken fern: a review of the evidence. **Current Medicinal Chemistry**, v. 9, n. 6, p. 675-686, 2002.
- ALONSO, M. L. et al. Glutathión peroxidasa (GSH-Px) en las patologías asociadas a deficiencias de selenio en ruminantes. **Archivos de Medicina Veterinaria**, v. 29, n. 2, p. 171-180, 1997.
- ANJOS, B. L. et al. Intoxicação aguda por samambaia (*Pteridium aquilinum*) em bovinos na Região Central do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 28, n. 10, p. 501-507, 2008.
- ANJOS, B. L. et al. Intoxicação experimental aguda por samambaia (*Pteridium aquilinum*) em bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 29, n. 9, p. 753-766, 2009.
- ARTHUR, J. R.; MCKENZIE, R. C.; BECKETT, G. J. Selenium in the immune system. **The Journal of Nutrition**, v. 133, n. 5, p. 1457S-1459S, 2003.
- AVANTE, M. G. et al. O selênio na alimentação de bovinos. **Vet. Zoot.**, p. 27-37, 2019.
- BERZELIUS, M. lettre da M. Berzelius à M. Berthollet sur deux métaux nouveaux. In: GAY-LUSSAC; ARAGO **Annales de Chimie et de Physique TOME VII**. Paris: Chez CROCHARD, 1818. p.199-209.
- CARDOZO, L. et al. Estabilidade oxidativa e perfil de ácidos graxos do leite de vacas suplementadas com óleo de linhaça na dieta associado ou não ao selenito de sódio injetável. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 65, p. 826-832, 2013.
- CARVALHO, G. D. Quadro clínico-patológico das intoxicações por Samambaia

(*Pteridium aquilinum*) em bovinos. **PUBVET**, v. 3, n. 4, p.1-15, 2009.

COELHO, N. M. M.; BACCAN, N. Determinação de ultratraços de selênio em urina por geração de hidretos e espectrometria de absorção atômica em fluxo. **Eclética Química**, v. 29, n. 1, p. 7-14, 2004.

COMINETTI, C.; DUART, G. B.S.; COZZOLINO, S. M. F. Selênio *In: Série de publicações ILSI Brasil: funções plenamente reconhecidas de nutrientes; v. 8.* São Paulo: ILSI Brasil, 2017. p. 1 a 40.

CRUZ, G. D.; BRACARENSE, A. P. F. R. L. Role of bracken fern (*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn) in animal and human health. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 25, n. 3, p. 249-258, 2004.

DER, J. P. et al. Global chloroplast phylogeny and biogeography of bracken (*Pteridium*; Dennstaedtiaceae). **American Journal of Botany**, v. 96, n. 5, p. 1041-1049, 2009.

DIAS, J. D. C. et al. Detecção do papilomavírus bovino tipo 2 em bexigas de bovinos com hematúria enzoótica pela técnica de reação em cadeia de polimerase no Sul do Espírito Santo, Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Medicine**, v. 34, n. 2, p. 146-151, 2012.

EVANS, H. M.; BISHOP, K. S. On the existence of a hitherto unrecognized dietary factor essential for reproduction. **Science**, v. 56, n. 1458, p. 650-651, 1922.

FALANDYSZ, J. On published data and methods for selenium in mushrooms. **Food Chemistry**, v. 138, n. 1, p. 242-250, 2013.

FALBO, M. K. et al. Alterações hematológicas, bioquímicas, urinárias e histopatológicas na intoxicação natural em bovinos pela samambaia *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 26, n. 4, p. 547-558, 2005.

FLOHE, L.; GUNZLER, W. A.; SCHOCK, H. H. Glutathione peroxidase: a selenoenzyme. **FEBS lett**, v. 32, n. 1, p. 132-134, 1973.

FRANCESCONI, K. A.; PANNIER, F. Selenium metabolites in urine: a critical overview of past work and current status. **Clinical Chemistry**, v. 50, n. 12, p. 2240-2253, 2004.

FURLAN, F. H. et al. Intoxicação aguda por *Pteridium arachnoideum* e *Pteridium caudatum* em bovinos e distribuição das plantas em Mato Grosso. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, n.4, p. 343-348, 2014.

GALVÃO, A. et al. Sobrevivência / viabilidade de bovinos com Hematúria Enzoótica após transferência para região livre de *Pteridium arachnoideum* **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 9, p. 887-902, 2012.

GAVA, A. et al. Bracken fern (*Pteridium aquilinum*) poisoning in cattle in southern Brazil. **Veterinary and Human Toxicology**, v. 44, n. 6, p. 362-365, 2002.

GAWESKA, H.; FITZPATRICK, P. F. Structures and mechanism of the monoamine oxidase family. 2011. **BioMol Concepts**, v. 2, p. 365-377, 2011.

GIERUS, M. Fontes orgânicas e inorgânicas de selênio na nutrição de vacas leiteiras: digestão, absorção, metabolismo e exigências. **Ciência Rural**, v. 37, n. 4, p. 1212-1220, 2007.

GOMES, D. C. et al. Intoxicação por selênio em suínos no Sul do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, n.12, p. 1203-1209, 2014.

GONZÁLEZ, F. H. D. Indicadores sanguíneos do metabolismo mineral em ruminantes. In: GONZÁLEZ, F. H. D., BARCELLOS, J. O., OSPINA, H., RIBEIRO, L. A. O. (Eds.) **Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais**. Porto Alegre, Brasil, Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2000. p. 31-51.

GRECO, A. S. **Desenvolvimento de método analítico para determinação de selênio em castanhas do cerrado por espectrometria de absorção atômica com geração de hidreto**. 2016. 63f. Dissertação (Mestrado em Química) – Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2016.

GRYMSBY, J. et al. Human monoamine oxidase A and B genes exhibit identical exon-intron organization. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.88, n. 9, p. 3637-3641, 1991.

GUARD. C. Musculoskeletal Disorders. In: DIVERS, T. j; PEEK. S. F. **Rebhun`s Diseases of Dairy Cattle**, 2 ed. Saint. Louis: SAUNDERS elsevier, 2008. P. 467-503.

HANES, J. W.; KRAFT, C. E.; BEAGLEY, T. P. An assay for thiaminase I in complex 43 biological samples. **Analytical Biochemistry**, v. 368, n. 1, p.33-38, 2007.

HARRISON, J. H.; HANCOCK, D. D.; CONRAD, H. R. Vitamin E and selenium for reproduction of the dairy cow. **Journal of Dairy Science**, v. 67, n. 1, p. 123-132, 1984.

HERDT, T. H.; RUMBEIHA, W.; BRASELTON, W. E. The use of blood analyses to evaluate mineral status in livestock. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 16, n. 3, p. 423-444, 2000.

HUANG, M. et al. Multifunctional coumarin derivatives: monoamine oxidase B (MAO-B) inhibition, anti- β -amyloid (A β) aggregation and metal chelation properties against Alzheimer's disease. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 25, n. 3, p. 508-513, 2015.

INCAPER. Instituto capixaba de pesquisa, assistência técnica e extensão rural. Disponível em: < <https://incaper.es.gov.br/pecuaria> > Acesso em: 20 de Ago. 2022.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA- IBGE. Pesquisa da

pecuária municipal - 2019. Disponível em: < [IBGE | Biblioteca | Detalhes | Produção da pecuária municipal](#) >. Acesso em: 05 de Ago. 2022.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA- IBGE. Pesquisa da pecuária municipal - 2021. Disponível em: < [IBGE | Biblioteca | Detalhes | Produção da pecuária municipal](#) >. Acesso em: 10 de Ago. 2022.

JAIN, N. C. **Essentials of Veterinary Haematology**. Pennsylvania: Lea & Febiger, 1993. 989p.

JEAN-BLAIN, C.; GASTELLU, J.; BRINGUIER, P. P. Hématurie chronique de bovins: étude clinique. **Le Point vétérinaire: revue d'enseignement post-universitaire et de formation permanente**, v. 19, n. 106, p. 317-323, 1987.

LANNA NETA, A. T. **Selênio como suplemento para bovinos intoxicados cronicamente por *Pteridium* sp. no Espírito Santo**. 2018. 41f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, 2018.

LATORRE, A. O. et al. Selenium reverses *Pteridium aquilinum*-induced immunotoxic effects. **Food and Chemical Toxicology**, v. 49, n. 2, p. 464-470, 2011.

LATORRE, A. O. et al. A dieta enriquecida com selênio e vitamina E aumenta a citotoxicidade celular NK no gado. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, p. 1141-1145, 2014.

LAWLER, T. L. et al. Efeito do selênio supranutricional e organicamente ligado sobre o desempenho, as características da carcaça e a distribuição de selênio em novilhos de carne bovina em terminação. **Revista de Ciência Animal**, v. 82, n. 5, p. 1488-1493, 2004.

LIMA, L. G.; DOMINGUES, J. L. Uso do selênio na produção de bovinos. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 4, n. 4, p. 462-474, 2007.

LOBATO, K. R. **Avaliação do efeito antidepressivo da vitamina E em modelos animais de depressão**. 2009. 108f. Dissertação (Mestrado em Neurociências) – Programa de Pós-Graduação em Neurociências, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2009.

LONGNECKER, M. P. et al. Use of selenium concentration in whole blood, serum, toenails, or urine as a surrogate measure of selenium intake. **Epidemiology**, v. 7, n. 4 p. 384-390, 1996.

LUCENA, R. B. et al. A retrospective study of 586 tumours in Brazilian cattle. **Journal of Comparative Pathology**, v. 145, n. 1, p. 20-24, 2011.

LUCCI, C.S et al. Selênio em bovinos leiteiros do estado de São Paulo. I. Níveis de Selênio em soros sanguíneos. **Revista Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo**, v. 21, n 01, p. 65-70, 1984.

- MARÇAL, W. S. et al. Intoxicação aguda pela samambaia (*Pteridium aquilinum*, L. Kuhn), em bovinos da raça Aberdeen angus. **Archives of Veterinary Science**, v. 7, n. 1, p. 77-81, 2002.
- MARÇAL, W. S. Bracken fern poisoning to cattle raised in Parana State, Brazil/A intoxicação por samambaia em bovinos criados no Estado do Paraná. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 24, n.1, p.197-208, 2003.
- MARTINS, F. C. et al. Compostos orgânicos e inorgânicos contendo selênio: Revisão de métodos analíticos e perspectivas para análises químicas. **Química Nova**, v. 40, n. 10, p. 1204-1214, 2017.
- MARTINS, F.C.O.L; NERY, J. F. S; SOUZA, D. Determinação eletroanalítica de selenito em alimentos in natura: Batata, Laranja, Espinafre, Maçã e Tomate. *In: Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica*. Uberlândia/ MG, 21-24 de julho, 2019. p 6.
- MÉNDEZ, M. C.; RIET-CORREA, F. Intoxicação por plantas e micotoxinas. *In: RIET-CORREA, F. Doenças de Ruminantes e Equinos*. 2 ed. Vol. II. São Paulo: Livraria Varela, 2001. p. 221-300.
- MASON, R. P.; OLMSTEAD JR, E. G.; JACOB, R. F. Antioxidant activity of the monoamine oxidase B inhibitor lazabemide. **Biochemical Pharmacology**, v. 60, n. 5, p. 709-716, 2000.
- MOBIGLIA, A. M.; CAMILO, F. R.; FERNANDES, J. J. R. Mensuração de metabólitos de cortisol nas fezes como um indicador de estresse em bovino de corte. **Archivos de Zootecnia**, v. 63, n. 241, p. 1-9, 2014.
- NÉSPOLI, P. B. et al. Aspectos clínico-patológicos da intoxicação experimental por selenito de sódio em equinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 21, n. 3, p. 109-116, 2001.
- NICODEMO, M. L. F.; SERENO, J. R. B.; AMARAL, T. B. **Minerais na eficiência reprodutiva de bovinos**. São Carlos: Embrapa pecuária sudeste, 2008. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CPPSE/18191/1/documentos-80.pdf> . Acesso em: 20 ago. 2022.
- NRC. NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Nutrient Requirements of Dairy Cattle, seventh revised ed. **National Academy Press**, Washington, DC, USA. 2001.
- OLIVEIRA, E. V. **Avaliação da suplementação com selênio associado a vitamina e em bovinos leiteiros com hematúria enzoótica**. 2021. 57f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, 2021.
- OLIVEIRA, V. M. et al. **Plantas tóxicas em pastagens: Samambaia-do-campo (*Pteridium esculentum* subsp. *arachnoideum* (Kaulf.) Thomson, Família Dennstaedtiaceae**. 1 ed. 33 Juiz de Fora: Embrapa, 2018, 21 p.

OLIVEIRA, K. D. et al. Enfermidades associadas à intoxicação por selênio em animais. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 27, n. 4, p. 125-136, 2007.

ORTOLANI, E. L. Macroelementos e microelementos. *In*: SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária**. 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan LTDA, 2017. 950 p.

PASCHOAL, J. J.; ZANETTI, M. A.; CUNHA, J. A. Supplementation of selenium and vitamin E on milk somatic cell count of Holstein cows. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, p. 2032-2039, 2003.

PASCHOAL, J. J.; ZANETTI, M. A.; CUNHA, J. A. Mastite clínica em vacas leiteiras suplementadas com selênio e vitamina E. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 10, p. 1043-1046, 2005.

PAZINI, A. M. **Selegilina reverte a piora da memória induzida por A β ₂₅₋₃₅ em camundongos: envolvimento da atividade da MAO-B**. 2013. 63f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) – Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2013.

PESSOA, G. A. et al. Intoxicação crônica por *Pteridium aquilinum* em bovinos no nordeste do estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 26, n. 1, p. 12-16, 2019.

PRAUCHNER, C. A. **A importância do selênio para a agropecuária e saúde humana**. Santa Maria: Editora da UFSM, 2014. 376p.

RADOSTITS, O. M. et al. **Veterinary Medicine**. A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats. 10.ed. London: Saunders, 2007, 2065 p.

REIS, L. S. L. S. et al. Selenium supplementation enhances weight gain in cattle. **Archivos de Zootecnia**, v. 57, n. 218, p. 271-274, 2008.

RIBEIRO, D. S. F; SOTO-BLANCO, B. Intoxicação por plantas do gênero *Pteridium* (Dennstaedtiaceae) em animais de produção. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 14, n. 1, p. 90-107, 2020.

RODRIGUEZ, A. M. et al. White muscle disease in three selenium deficient beef and dairy calves in Argentina and Uruguay. **Ciência Rural**, v. 48, n. 5, p. 1-6, 2018.

SCHWARTSBURD, P. B.; DE MORAES, P. L. R; LOPES-MATTOS, K. L. B. Recognition of two morpho-types in eastern South American bracken (*Pteridium*—Dennstaedtiaceae—Polypodiopsida). **Phytotaxa**, v. 170, n. 2, p. 103-117, 2014.

SCHWARTSBURD, P. B.; YAÑEZ, A.; PRADO, J. Formal recognition of six subordinate taxa within the South American bracken fern, *Pteridium esculentum* (*P. esculentum* subsp. *arachnoideum* sl-Dennstaedtiaceae), based on morphology and geography. **Phytotaxa**, v. 333, n. 1, p. 22-40, 2018.

SCOTT, P. R.; PENNY, C. D.; MACRAE, A. I. Trace elemento and vitamin

deficiências. *In: Cattle Medicine*. London: Manson Publishing Ltd., 2011. p. 258-265.

SERAFINI FILHO, A. et al. Interferência da nutrição de vitaminas na eficiência reprodutiva em ruminantes: Revisão. **Nucleus Animalium**, v. 6, n. 1, p. 6, 2014.

SHIH, J. C.; CHEN, K.; RIDD, M. J. Monoamine oxidase: from genes to behavior. **Annual review of neuroscience**, v. 22, n. 1, p. 197-2017, 1999.

SILVA, C. D.; MARTINS, T. L. T.; BORGES, I. Efeito de microminerais na alimentação de ruminantes. **Ciência Animal**, v. 27, n. 1, p. 75-98, 2017.

SILVA, J. F. Selênio, atividade biológica e sua relação com o câncer: uma revisão de literatura. **Nutrivisa**, v. 2, n. 1, p. 33-40, 2015.

SILVA, M. A. et al. Prevalência de hematúria enzoótica bovina em rebanhos leiteiros na microrregião do Caparaó, Sul do Espírito Santo, entre 2007 e 2008. **Ciência Rural**, v. 39, n.6, p. 1847-1850, 2009.

SILVA, M. A.; SOUSA, D. R.; NUNES, L. C. Caracterização histopatológica de bexigas associadas à hematúria enzoótica bovina. **Brazilian Journal of Veterinary Medicine**, v. 34, n. 4, p. 319-326, 2012.

SILVA, M. A. et al. Caracterização imunoistoquímica de neoplasias de bexigas associadas à hematúria enzoótica bovina. **Semina: Ciências Agrárias**, v.34, n. 1, p. 281-292, 2013.

SOUSA, A. A. A. **Características físico-químicas e sensoriais da carne de bovinos Nelore (*Bos taurus indicus*) alimentados com diferentes fontes de lipídeos e de selênio**. 2008. 71f. Dissertação (Mestrado em Medicina veterinária) Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2008.

SOUSA, D. R. et al. PCR Amplification of DNA Sequence of Bovine Papillomavirus Type 2 in Urinary Bladder of Cattle with Enzootic Hematuria in Espírito Santo, Brazil. **Brazilian Journal Veterinary Pathology**, p. 146-150, 2014.

SOUTO, M. A. M. et al. Neoplasias do trato alimentar superior de bovinos associadas ao consumo espontâneo de samambaia (*Pteridium aquilinum*). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 26, n. 2, p. 112-122, 2006.

SOUZA, J. R. **Desenvolvimento de métodos para determinação de Se total por ICP-MS e de suas espécies por HPLC-ICP-MS em suplemento alimentar e enriquecida isotopicamente**. 2017. 178f. Tese (Doutorado em Química) – Programa de Pós-Graduação em Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2017.

SAYAGO, A. et al. Vitamina ey aceites vegetales. **Grasas y Aceites**, v.58 n. 1, p. 74-86., 2007.

TANG, Y-L.; WANG, S-W.; LIN, S-M. Both inorganic and organic selenium

supplements can decrease brain monoamine oxidase B enzyme activity in adult rats. **British Journal of Nutrition**, v. 100, n. 3, p. 660-665, 2008.

TOURCHI-ROUDSARI, M. Multiple effects of bracken fern under in vivo and in vitro conditions. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**, v. 15, n. 18, p. 7505-7513, 2014.

TOKARNIA C. H. et al. **Plantas Tóxicas do Brasil**. 2 ed. Rio de Janeiro: Helianthus, 2012, p.566.

TOKARNIA, C. I.; DÖBEREINER, J.; CANELLA, C. F. C. Ocorrência da intoxicação aguda pela 'samambaia' (*Pteridium aquilinum* (L.) kuhn) em bovinos no Brasil'. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 2, p.329-336, 1967.

TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J.; PEIXOTO, P. V. Deficiências minerais em animais de fazenda, principalmente bovinos em regime de campo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 20, n. 3, p. 127-138, 2000.

THOMSON, J. A. Morphological and genomic diversity in the genus *Pteridium* (Dennstaedtiaceae). **Annals of Botany**, v. 85, n. supplement B, p. 77-99, 2000.

THOMSON, M. J.; PUNTMANN, V.; KASKI, JC. Atherosclerosis and oxidant stress: the end of the road for antioxidant vitamin treatment? **Cardiovascular Drugs and Therapy**, v. 21, p. 195-210, 2007.

TRALL, A. M. Classificação e abordagem diagnóstica da anemia. In: TRALL, A. M. et al. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. São Paulo: Editora Roca LTDA, 2015. p.1010.

TROFAST, J. Undersökning af en ny Mineral-kropp, funnen i de orenare sorterna af det vid Fahlun tillverkade svaflet. **Chemistry International - Newsmagazine for IUPAC**, v. 33, n. 5, p. 16-19, 2011.

TRYON, R. M. A revision of the genus *Pteridium*. **Contributions from the Gray Herbarium of Harvard University**, n. 134, p. 1-67, 1941.

UNDERWOOD, E. J.; SUTTLE, N. F. **The mineral nutrition of livestock 3rd edition**. New York: CABI Publishing, CAB international, 1999. 614p.

VILLAR, D. et al. Selenium status in cattle: Interpretation of laboratory results. **The Bovine Practitioner**, v 36, n 01, p. 73-80, 2002.

XU, Y.; LI, S.; ZHANG, J. vitamin E on memory and brain monoaminergic neurotransmitter in chronic episodic hypoxia rat. **Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao. Acta Academiae Medicinae Sinicae**, v. 25, n. 3, p. 333-336, 2003.

YAÑEZ, A.; MARQUEZ, G. J.; MORBELLI, M. A. Palynological analysis of Dennstaedtiaceae taxa from the Paranaense Phytogeographic Province that produce Trilete spores II: *Microlepia spelunca* and *Pteridium arachnoideum*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 88, n. 2, p. 877-890, 2016.