

UFSM

Dissertação de Mestrado

**ENCEFALOMALACIA FOCAL SIMÉTRICA EM SUÍNOS
CAUSADA POR INGESTÃO DE SEMENTES DE
*Aeschynomene indica***

Fabiano Nunes de Oliveira

PPGMV

Santa Maria, RS, Brasil

2005

**ENCEFALOMALACIA FOCAL SIMÉTRICA EM SUÍNOS
CAUSADA POR INGESTÃO DE SEMENTES DE
*Aeschynomene indica***

por

Fabiano Nunes de Oliveira

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado
do Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária,
Área de Concentração em Patologia Veterinária, da
Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS),
como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Medicina Veterinária

PPGMV

Santa Maria, RS, Brasil

2005

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

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

ENCEFALOMALACIA FOCAL SIMÉTRICA EM SUÍNOS
CAUSADA POR INGESTÃO DE SEMENTES DE
Aeschynomene indica

elaborada por

Fabiano Nunes de Oliveira

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

COMISSÃO EXAMINADORA:

Claudio Severo Lombardo de Barros
(Presidente/Orientador)

Ana Lucia Pereira Schild

David Driemeier

Santa Maria, 24 de fevereiro de 2005.

AGRADECIMENTOS

Ao meu irmão Luciano que sempre me incentivou e me apoiou em minha vida. Hoje em dia não presente fisicamente ao meu lado, mas que me acompanha e me orienta no lado espiritual. Sei que é somente uma questão de tempo até nos encontrarmos e nos abraçarmos. A você meu irmão, que sempre amei, dedico essa importante conquista em minha vida.

À minha família, peça fundamental e essencial em todas as minhas conquistas. Sempre se fizeram presentes ao meu lado através do amor que emanam de São Paulo.

Ao professor Claudio Barros, peça chave na minha formação como patologista veterinário através dos ensinamentos e do contagiante entusiasmo à profissão. Tenho muita gratidão pela ajuda dada no início do meu mestrado e por todos os conselhos passados e que, sem dúvida, foram fundamentais na minha carreira.

Aos amigos Adamas e Raquel, pela amizade e por me aturarem muitas vezes. Levo comigo as melhores lembranças que tenho desses últimos 8 anos e que com certeza vocês estão presentes.

Aos amigos, colegas e professores do Laboratório de Patologia Veterinária da UFSM, que fizeram dos 6 anos que o frequentei época inesquecível em minha vida, por todos os ótimos momentos que presenciei com vocês.

À Corrie Brown, pessoa formidável e que me ajudou muito em minhas conquistas nos Estados Unidos.

À CAPES e ao CNPq pelas bolsas de estudo.

A Deus.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS.....	iv
LISTA DE TABELAS.....	vi
LISTA DE FIGURAS.....	vii
RESUMO.....	xii
ABSTRACT.....	xv
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1 A planta.....	3
2.2 Definição de termos.....	6
2.3 Doença do edema.....	12
2.4 Encefalomalacia focal simétrica.....	14
2.5 Poliomiomalacia focal simétrica.....	17
2.6 Encefalomalacia nigropálida em eqüinos.....	20
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	25
4. RESULTADOS.....	27
5. DISCUSSÃO.....	42
6. CONCLUSÕES.....	47
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	48

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Intoxicação pelas sementes de <i>Aeschynomene indica</i> em suínos. Delineamento experimental.....	25
TABELA 2. Encefalomalacia focal simétrica em suínos causada por ingestão de sementes de <i>Aeschynomene indica</i> . Tipo e localização das lesões em seis suínos intoxicados experimentalmente (A-F) e num suíno do surto espontâneo (SE).....	38

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1. Espécime de *Aeschynomene indica*. Fonte: Kissman & Groth, 1997..... 04
- FIGURA 2. Células *gitter* com citoplasma vacuolado e núcleo periférico. Essas células derivadas da micróglia e de monócitos do sangue, são macrófagos que fagocitaram restos necróticos e desenvolveram citoplasma espumoso..... 07
- FIGURA 3. Lesão residual. Por causa da sobrevivência de parte do tecido mesenquimal, incluindo o arcabouço vascular, a área de malacia se transforma numa cavidade que geralmente contém uma teia de tecido conjuntivo e vasos e algumas células *gitter* (*setas*)..... 09
- FIGURA 4. Encefalomalacia focal simétrica em ovino. Essa lesão é produzida pela toxina de *Clostridium perfringens* tipo D e tem distribuição focal, simétrica e bilateral (*setas*) (*Cortesia Prof. Stuart Young*)..... 15
- FIGURA 5. Encefalomalacia nigropálida em equino causada pela ingestão de *Centaurea solstitialis*. Nessa intoxicação, há necrose de áreas específicas como a substância negra (*seta*) e o globo pálido (*Cortesia Prof. Stuart Young*)..... 22
- FIGURA 6. Encefalomalacia focal simétrica em suínos causada por ingestão de sementes

de *Aeschynomene indica*. Quirera de arroz contaminada com sementes de *A. indica*..... 27

FIGURA 7. Encefalomalacia focal simétrica em suínos causada por ingestão de sementes de *Aeschynomene indica*. Suíno A. O animal afetado assumia uma posição com a parte ventral roçando o chão e os membros pélvicos bem afastados uns dos outros para facilitar a propulsão..... 28

FIGURA 8. Encefalomalacia focal simétrica em suínos causada por ingestão de sementes de *Aeschynomene indica*. Suíno B. Decúbito esternal, membros pélvicos afastados e dificuldade em levantar..... 29

FIGURA 9. Encefalomalacia focal simétrica em suínos causada por ingestão de sementes de *Aeschynomene indica*. Suíno F. Porca em posição de cão sentado..... 31

FIGURA 10. Encefalomalacia focal simétrica em suínos causada por ingestão de sementes de *Aeschynomene indica*. Suíno F. Hiperemia das leptomeninges. Esse é um achado de necropsia consistente..... 32

FIGURA 11. Encefalomalacia focal simétrica em suínos causada por ingestão de sementes de *Aeschynomene indica*. Suíno F. Hiperemia das leptomeninges. Maior aproximação da Figura 10..... 32

FIGURA 12. Encefalomalacia focal simétrica em suínos causada por ingestão de

sementes de *Aeschynomene indica*. Suíno F. **A.** Secção coronal do cerebelo passando pelos pedúnculos cerebelares e ponte. Focos de hemorragia são evidentes na altura dos núcleos cerebelares fastigial, interposto e lateral. No lado esquerdo hemorragias puntiformes podem ser observadas nas imediações dos núcleos vestibulares. **B.** Histologia do mesmo local mostrado em A. O foco vermelho corresponde a uma área de edema e hemorragia e degeneração neuronal no núcleo cerebelar fastigial. Quarto ventrículo (IV), córtex cerebelar (C). Hematoxilina e eosina..... 33

FIGURA 13. Encefalomalacia focal simétrica em suínos causada por ingestão de sementes de *Aeschynomene indica*. Suíno F. Córtex telencefálico. Hiperemia leptomeníngea acentuada. Hematoxilina e eosina..... 34

FIGURA 14. Encefalomalacia focal simétrica em suínos causada por ingestão de sementes de *Aeschynomene indica*. Suíno F. Núcleo vermelho. Congestão..... 34

FIGURA 15. Encefalomalacia focal simétrica em suínos causada por ingestão de sementes de *Aeschynomene indica*. Suíno C. Núcleo vestibular medial. Acentuado edema perivascular. Hematoxilina e eosina..... 35

FIGURA 16. Encefalomalacia focal simétrica em suínos causada por ingestão de sementes de *Aeschynomene indica*. Suíno F. Núcleo cerebelar. Há tumefação acentuada das células endoteliais e edema com rarefação da neurópila. À esquerda, um neurônio encontra-se comprimido pelo edema. Hematoxilina e eosina..... 35

FIGURA 17. Encefalomalacia focal simétrica em suínos causada por ingestão de sementes de <i>Aeschynomene indica</i> . Suíno F. Núcleo cerebelar. Observa-se tumefação acentuada das células endoteliais nos três vasos que aparecem na foto. O edema da neurópila é mais extenso que o da figura anterior e há um esferóide axonal indicando degeneração/morte de neurônios. Hematoxilina e eosina.....	36
FIGURA 18. Encefalomalacia focal simétrica em suínos causada por ingestão de sementes de <i>Aeschynomene indica</i> . Suíno F. Pedúnculo cerebelar. Hemorragia perivascular. Há edema da neurópila adjacente. Hematoxilina e eosina.....	36
FIGURA 19. Encefalomalacia focal simétrica em suínos causada por ingestão de sementes de <i>Aeschynomene indica</i> . Suíno D. Pedúnculo cerebelar. Edema (substância rósea) e hemorragia perivascular. Hematoxilina e eosina.....	37
FIGURA 20. Encefalomalacia focal simétrica em suínos causada por ingestão de sementes de <i>Aeschynomene indica</i> . Suíno F. Núcleo cerebelar fastigial. Extensa hemorragia e distensão das bainhas de mielina. Hematoxilina e eosina.....	37
FIGURA 21. Encefalomalacia focal simétrica em suínos causada por ingestão de sementes de <i>Aeschynomene indica</i> . Suíno B. Putâmen. Áreas de desmielinização com câmaras de digestão e astrocitose. Hematoxilina e eosina.....	39

FIGURA 22. Encefalomalacia focal simétrica em suínos causada por ingestão de sementes de *Aeschynomene indica*. Suíno B. Núcleo mesencefálico oculomotor. Um grande número de células mesodérmicas (células *gitter*) afluiu para o foco de lesão e define a área de malacia através de fagocitose. Hematoxilina e eosina..... 40

FIGURA 23. Encefalomalacia focal simétrica em suínos causada por ingestão de sementes de *Aeschynomene indica*. Suíno B. Foco de malacia no núcleo vestibular lateral. A arquitetura da neurópila é obliterada por numerosas células *gitter* estreitamente agrupadas e alguns vasos sanguíneos com células endoteliais tumefeitas. Hematoxilina e eosina..... 40

FIGURA 24. Encefalomalacia focal simétrica em suínos causada por ingestão de sementes de *Aeschynomene indica*. Suíno B. Aspecto submacroscópico do cerebelo. As áreas pálidas são focos de malacia nos núcleos cerebelares fastigial (1), interposto (2) e lateral (3) e nos núcleos vestibulares medial (4) e lateral (5). Hematoxilina e eosina..... 41

FIGURA 25. Encefalomalacia focal simétrica em suínos causada por ingestão de sementes de *Aeschynomene indica*. Suíno B. Aspecto submacroscópico dos focos de malacia bilaterais e simétricos no núcleo oculomotor. Hematoxilina e eosina..... 41

RESUMO

Dissertação de Mestrado

Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária

Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil

ENCEFALOMALACIA FOCAL SIMÉTRICA EM SUÍNOS CAUSADA POR INGESTÃO DE SEMENTES DE *Aeschynomene indica*

AUTOR: FABIANO NUNES DE OLIVEIRA

ORIENTADOR: CLAUDIO S. L. BARROS

Data e local da defesa: Santa Maria, 24 de fevereiro de 2005.

Relata-se um surto espontâneo de intoxicação em suínos pela ingestão de sementes de *Aeschynomene indica* e a reprodução da doença nessa espécie animal. O surto espontâneo ocorreu numa propriedade de criação de suínos localizada na região central do Rio Grande do Sul. Nessa propriedade havia 100 suínos (20 matrizes e 80 suínos jovens de várias categorias). Os suínos eram alimentados com uma ração feita na propriedade pela mistura de 50% farelo de milho, 25% de farelo de soja, 5% de um suplemento vitamínico mineral de origem comercial e 20% quirera de arroz contaminada por 40% de sementes de *A. indica*. Embora aparentemente todos os 100 suínos tenham recebido a mesma ração, apenas os suínos de 45 dias de idade foram afetados; as taxas de morbidade, mortalidade e letalidade foram respectivamente 25%-40%, 8,5%-20% e 25%-66%. Os sinais clínicos apareceram \cong 24 horas após o início da administração da ração contendo sementes de *A.*

indica e incluíam vários graus de incoordenação no andar, quedas, decúbito esternal com membros pélvicos posicionados afastados entre si, decúbito lateral e morte. Não foi possível determinar quantos suínos se recuperaram e quanto tempo levou a recuperação. Um suíno foi necropsiado na propriedade. A doença foi reproduzida em 5 suínos jovens (A-E) alimentados com uma ração contendo 10% (Suíno A), 15% (Suíno B) e 20% (Suínos C-E) de sementes de *A. indica* e em um suíno adulto (Suíno F) que recebeu uma ração com 16,5% das sementes de *A. indica*. Os sinais clínicos foram semelhantes aos observados nos suínos do surto espontâneo. Os Suínos A, B e F foram submetidos à eutanásia e os Suínos C-E morreram de uma doença aguda respectivamente 16, 21 e 24 horas após o início do experimento. Os achados de necropsia incluíam acentuada hiperemia das leptomeninges em todos os suínos, grandes quantidades de sementes de *A. indica* no estômago e intestino delgado dos Suínos C-E e avermelhamento transmural da parede do intestino e conteúdo intestinal sanguinolento. Um hematoma foi observado no pulmão do Suíno C. Os achados histopatológicos no encéfalo dos suínos alimentados com as maiores concentrações (20%) de sementes de *A. indica* (C-E) consistiram de congestão, edema, hemorragia e tumefação dos endotélios capilares em diversos núcleos e no córtex telencefálico. No Suíno F que recebeu uma ração com 16,5% de sementes, as lesões foram semelhantes em distribuição, porém mais intensas. Nos suínos alimentados com concentrações menores (10% e 15%) das sementes de *A. indica*, as alterações histológicas no encéfalo consistiam de áreas bem definidas de malacia focal simétrica; nessas áreas a neurópila normal era obliterada por numerosos macrófagos espumosos dispostos em aposição estreita, astrocitose e capilares com endotélios tumefeitos. Os focos de malacia focal simétrica em suínos intoxicados com sementes de *A. indica* afetavam os núcleos cerebelar e vestibular, a substância negra, o putâmen e os núcleos mesencefálicos, oculomotor e núcleo vermelho. Esses dados indicam

que ingestão de sementes de *A. indica* é responsável por essa condição neurológica em suínos e que o desenlace clínico e as alterações patológicas são dependentes da dose.

ABSTRACT

MS Dissertation

Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária

Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brazil

**FOCAL SYMMETRICAL ENCEPHALOMALACIA IN SWINE FROM THE
INGESTION OF *Aeschynomene indica* SEEDS**

AUTHOR: FABIANO NUNES DE OLIVEIRA

ADVISER: CLAUDIO S. L. BARROS

Santa Maria, February 24, 2005

A spontaneous outbreak of a neurological disease in swine caused by the ingestion of *Aeschynomene indica* seeds and the reproduction of the disease in the same animal species are reported. The natural outbreak occurred in a pig-raising facility in the central region of the state of Rio Grande do Sul, Brazil. On the premises there were 100 pigs (20 breeding sows and 80 young weaned pigs from several categories) that were fed a ration made by mixing 50% of corn bran, 25% of soy bean bran, 5% commercial premix with minerals and vitamins and 20% of broken rice contaminated with 40% of *A. indica* seeds. Although all 100 pigs apparently ingested the same ration only 45-day-old pigs were affected; morbidity, mortality and lethality rates were respectively 25%-40%, 8,5%-20%; and 25%-66%. Clinical signs appeared \cong 24 hours after the start of the feeding of *A. indica* seeds

contaminated ration and included variable degrees of incoordinated gait, falls, sternal recumbency with the hind limbs in a wide base stance, lateral recumbency and death. It was not possible to ascertain how many pigs recovered nor the time frame of recovery. One pig was necropsied in the premises. The intoxication was reproduced in 5 young pigs (A-E) which were fed a ration containing 10% (Pig A), 15% (Pig B) and 20% (Pig C-E) of *A. indica* seeds and in one adult pig (Pig F) which was fed a ration with 16.5% of *A. indica* seeds. Pigs A, B and F were euthanatized and Pigs C-E died of an acute disease respectively 16, 21 and 24 hours after the start of the experiment. Clinical signs were similar to those observed in pigs of the spontaneous outbreak. Necropsy findings included marked hyperemia of encephalic leptomeninges of all pigs, large amounts of *A. indica* seeds in the stomach and small intestine of Pigs C-E and, reddening of the intestinal wall and bloody intestinal content. A hematoma was observed in the lungs of Pig C. The histopathological findings in the brain of pigs fed rations with larger concentrations (20%) of *A. indica* seeds (C-E) included congestion edema and hemorrhage and swollen capillary endothelia in several nuclei and in the telencephalic cortex. In the Pig F, fed a ration with 16.5% of *A. indica* seeds the lesions were similar in distribution but more severe. In swine fed rations containing 10% and 15% of *A. indica* in the ration, histopathological changes in the brain consisted of discreet focal symmetrical areas of malacia in which closely packed gitter cells and astrocytosis, and capillaries with swollen endothelium obliterated the normal neuropil. The symmetrical malacic foci from the ingestion of *A. indica* seeds in swine affected cerebellar and vestibular nuclei, putamen, and the mesencephalic oculomotor and red nuclei. This indicates that the *A. indica* seeds ingestion is responsible for this neurological condition in swine and that the clinical outcome and pathological changes are dose-dependent.

1 INTRODUÇÃO

Aeschynomene indica L. (Fabaceae, Leguminosae) é uma planta encontrada principalmente na Índia e Malásia e, com menor frequência, na Austrália, ilhas do Pacífico, África e costa sul dos Estados Unidos. No Brasil, é descrita como inço de lavouras de arroz irrigado no Rio Grande do Sul (Kissmann & Groth, 1997). As épocas da produção de sementes pelo arroz e por *A. indica* coincidem e as sementes das duas plantas podem ser colhidas juntas. No processamento do arroz, as sementes de *A. indica* são refugadas junto com a quirera (grãos de arroz quebrados), um subproduto largamente utilizado na alimentação de suínos no Rio Grande do Sul.

Uma condição neurológica em suínos associada ao consumo de quirera de arroz contaminada por sementes de *A. indica* e caracterizada por degeneração focal simétrica nos núcleos cerebelares e vestibulares foi descrita no Rio Grande do Sul (Timm *et al.*, 1996; Timm, 1996; Riet-Correa *et al.*, 2003); embora os distúrbios neurológicos fossem marcantes, todos os suínos afetados se recuperaram. Além disso, a doença ocorreu apenas em animais jovens, ao redor de 45 dias de idade.

Em março de 2001, um surto espontâneo da intoxicação por sementes de *A. indica* ocorreu numa propriedade de criação de suínos localizada na região central do Rio Grande do Sul. Ao contrário do que fora anteriormente relatado, esse surto foi associado a alta mortalidade e, mais uma vez, afetou suínos jovens, embora a população sob risco incluísse vários suínos adultos.

O objetivo deste estudo foi responder a quatro perguntas relacionadas à intoxicação por sementes de *A. indica* em suínos:

1. A intoxicação pode provocar mortalidade em suínos ou é sempre uma doença reversível como indicam os primeiros trabalhos?
2. Os suínos adultos são resistentes à intoxicação? (Essa dúvida se originou do fato de que os poucos relatos existentes descrevem a doença apenas em suínos jovens)
3. Uma vez que, segundo os relatos iniciais (Timm *et al.*, 1996; Timm, 1996; Riet-Correa *et al.*, 2003), a distribuição das lesões degenerativas simétricas é apenas nos

núcleos cerebelares e vestibulares nos suínos que se recuperaram, qual verdadeira distribuição das lesões em casos mais graves ou fatais da intoxicação?

4. Qual a patogênese das lesões causadas pela ação tóxica das sementes de *A. indica*?

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A planta

As características adicionais de *Aeschynomene indica* L., como sinonímia, descrição botânica, *habitat*, tipo de solo em que vegeta, distribuição e usos, fornecidas a seguir, foram traduzidas e adaptadas de Houérou *et al.*, 2004.

Esses autores empregam três sinônimos para *A. indica*: *A. cachemiriana* Camb., *A. glaberrima* Poir. e *A. pumila* L. *A. indica* é um subarbusto ereto, geralmente anual, mas ocasionalmente perene com 0,3 a 2,5 m de altura (Figura 1). Os caules são delgados (cerca de 5 mm na base), mas ocasionalmente podem ser mais espessos (até 2,5 cm), esponjosos e pubescentes. Possuem pêlos bastante esparsos, ocasionalmente glandulares, com base tubercular. Possuem 16 a 50 (às vezes 70) folhas foliadas, às vezes sensitivas. Os folíolos são decíduos, glabros, oblongos ou lineares, finamente serrilhados com 0,3 a 1,3 cm de comprimento e 1 a 3 mm de largura, mucronados no ápice e obliquamente arredondados na base. As estípulas são decíduas, elíptico-lanceoladas, retas, espinhosas, com 0,3 a 1,5 cm de comprimento, 1 a 3,5 mm espessura. Folhas de inflorescências são opostas ou axilares, uma a seis florescidas. O raque (eixo da inflorescência) tem de 1 a 2 cm de comprimento. O pedicelo é de 0,8 a 2 cm. Os cálices são glabros, duplamente labiados, com 4-6 mm de comprimento; são amarelos ou brancos, na maior parte revestidos ou manchados de vermelho na parte externa; alternativamente podem ser elípticos, púrpura, com 0,7 a 1 cm de comprimento e 4 a 7 mm largura. As aletas das pétalas e as carenas não são laciniadas. As vagens arranjam-se em grupos de 5-13, são lineares, retas ou levemente encurvadas, com 2,4 a 4,8 cm de

comprimento, excluindo o estipe de 5 a 9 mm, possuem uma das suturas mais reta e a outra levemente arranjada entre os artículos. Os artículos são oblongos, com parte central elevada, com 3 a 5 mm de comprimento, com as mesmas medidas de largura, comprimidos e com pêlos esparsos com base tubercular. As sementes são preto-azeitona ou marrons, oblongas, reniformes, com 2,8 x 2,55 mm no comprimento e 1,3 a 1,8 mm de espessura.

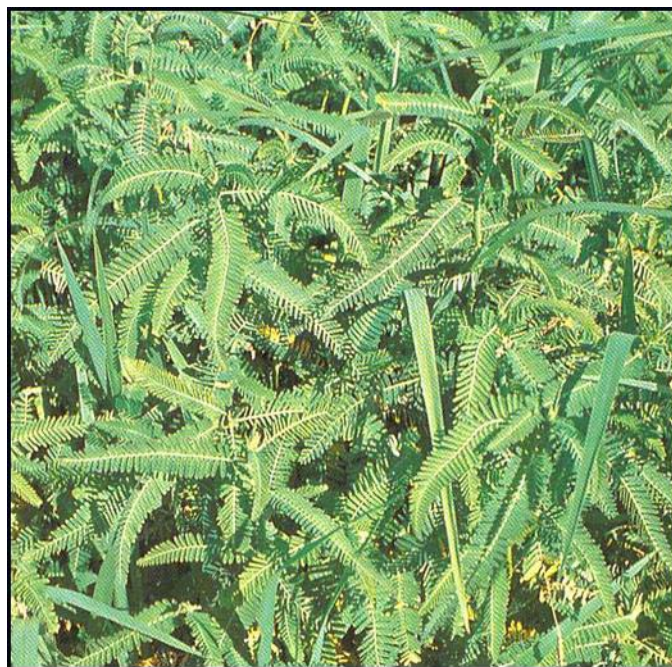


FIGURA 1. Espécime de *Aeschynomene indica*. Fonte: Kissmann & Groth, 1997.

A. indica é principalmente encontrada em locais úmidos e pantanosos, em pântanos estacionais e ao redor das margens de pântanos mais permanentes. Geralmente cresce junto com plantas *Sesbania* spp. e *Acacia nilotica* subsp. *tomentosa*. Ocorre desde o nível do mar até 1.500 m de altitude.

A distribuição é disseminada na África tropical desde o Senegal até a Etiópia e do norte da Somália em direção ao sul até o Transvaal e a Namíbia, por toda as ecozonas

do Sahelesa meridional (a zona árida no flanco sul do deserto do Sahara que se estende por cinco países desde o Senegal até o Chad) e sudanesa; e também até São Tomé e Madagáscar. É disseminada nas partes tropicais e subtropicais da Ásia, Austrália e América do Norte. Na Austrália, ocorre para o norte até New South Wales, em partes dos “Flinders Ranges” e nas porções setentrionais do Sul da Austrália. No Brasil, é descrita como inço de lavouras de arroz (*Oryza sativa*) irrigado no Rio Grande do Sul (Kissmann & Groth, 1997), pois ocorre principalmente em solos barrentos sujeitos a alagamentos e represamento de água (Houérou *et al.*, 2004).

A planta, às vezes, é utilizada como adubo verde e pode ser utilizada como forragem em rotação com o cultivo de arroz. Tem palatabilidade moderada, não é facilmente ingerida pelos animais, mas é considerada uma leguminosa útil em muitos lugares onde ocorre. Os autores (Houérou *et al.*, 2004) mencionam que há fortes evidências de campo indicando a toxicidade da planta em Queensland setentrional, na Austrália e que mortes de animais implicando a ingestão de *A. indica* têm sido relatadas em Malawi e Papua Nova-Guiné, mas os efeitos e quais espécies são afetadas não foram mencionados. Usos medicinais como espermicida são descritos. No Brasil, uma condição neurológica em suínos associada ao consumo de quirera de arroz contaminada por sementes de *A. indica* e caracterizada por degeneração focal simétrica em núcleos cerebelares e vestibulares foi descrita no Rio Grande do Sul (Timm *et al.*, 1996; Timm, 1996; Wentz *et al.*, 2001; Riet-Correa *et al.*, 2003).

A medula retirada dos talos (tronco) são leves e flutuantes e por isso usados como bóias para linhas e redes de pescar e outros objetos. É usada também como carvão para uso medicinal e para pólvora.

O princípio ativo de *A. indica* não foi ainda determinado, mas experimentos realizados com a administração de várias frações químicas de sementes da planta a camundongos indicaram que o princípio ativo está no resíduo etil-acetato e que camundongos podem ser usados para testar os efeitos tóxicos das sementes de *A. indica* (Haraguchi *et al.*, 2003).

2.2 Definição de termos

A lesão básica da enfermidade de suínos a ser descrita neste trabalho é a *malacia* com distribuição focal e simétrica em núcleos do encéfalo. É necessário, então, definir alguns termos que serão usados ao longo da dissertação e revisar algumas intoxicações e toxinfecções de animais de produção que apresentam lesões semelhantes; essas são: doença do edema, encefalomalacia focal simétrica, poliomiélomalacia focal simétrica e encefalomalacia nigropálida dos eqüinos. A localização e distribuição dos focos de malacia são importantes no estabelecimento da etiologia dessas doenças quando consideradas junto com outros dados (por ex., a espécie afetada). É interessante que essas doenças caracterizadas por focos de malacia simétricos parecem ter uma patogenia comum e serão comparadas com a doença causada pela intoxicação por sementes de *Aeschynomene indica*, o foco primário desta dissertação.

Malacia (do grego *malakós* = amolecimento) significa simplesmente amolecimento do parênquima do sistema nervoso central, e o termo é empregado em neuropatologia para indicar necrose de todas as células neuroectodérmicas com manutenção das células mesenquimais (i.é, micróglia, células de vasos) que sobrevivem e participam do processo de malacia (Innes & Saunders, 1962). Nos focos de necrose, a micróglia torna-

se ativada, fagocita e remove tecido necrosado, tornando-se conspícua, com citoplasma vacuolado e núcleo periférico (Figura 2). Essas células que, em outro lugar do organismo, receberiam o nome de macrófagos espumosos, recebem, no jargão neuropatológico, a denominação de “células *gitter*”, do alemão *Gitterzellen* (= células com aspecto reticular). Com o passar do tempo, as células *gitter* removem o tecido nervoso morto e causam liquefação da área afetada; ao final dessa fagocitose restam apenas “estruturas vasculares flutuando num mar de células *gitter*” (Summers *et al.*, 1995) e o foco de malacia evolui para um de defeito tecidual cavitário que lembra um cisto (Innes & Saunders, 1962). A necrose cortical laminar isquêmica de neurônios (neurônios vermelhos) é, por vezes, erroneamente, referida como malacia; uma das razões para isso é que, essa alteração (neurônios vermelhos) freqüentemente evolui para malacia, e os termos tendem então a ser usados como sinônimos.

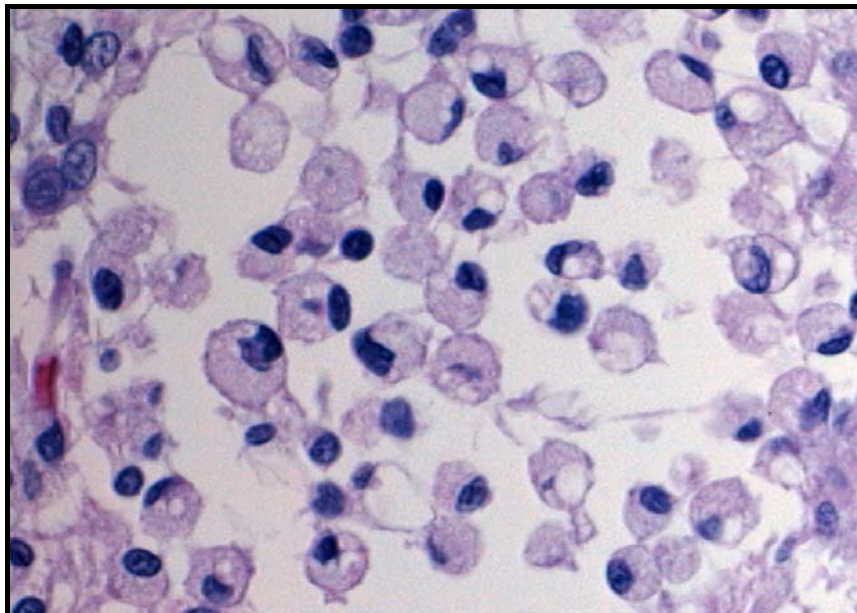


FIGURA 2. Células *gitter* com citoplasma vacuolado e núcleo periférico. Essas células derivadas da micróglia e de monócitos do sangue, são macrófagos que fagocitaram restos necróticos e desenvolveram citoplasma espumoso.

Usos específicos do termo malacia indicam a localização das lesões; polioencefalomalacia (na substância cinzenta do encéfalo), leucoencefalomalacia (na substância branca do encéfalo), mielomalacia (malacia da medula espinhal), poliomielomalacia (malacia da substância cinzenta da medula espinhal), leucomielomalacia (malacia da substância branca da medula espinhal), malacia focal simétrica (que ocorre em múltiplos focos, mas que são bilaterais e simétricos, como se as lesões fossem imagens de espelho umas das outras). As causas da malacia incluem isquemia (defeitos circulatórios), intoxicações, toxinfecções, infecções e deficiências nutricionais (Innes & Saunders, 1962; Storts, 1998).

Os aspectos macroscópicos e microscópicos e a evolução da malacia foram descritos em detalhe (Innes & Saunders, 1962; Storts, 1998), e as descrições desses autores serão resumidas aqui. O amolecimento recente (lesão aguda) do tecido nervoso é difícil de ser percebido pelo exame macroscópico antes de 12-14 horas do insulto; após esse período, a área de malacia torna-se tumefeita, mais macia e, desse modo, demarcada do tecido adjacente normal. Se há hemorragia associada, as áreas de malacia são mais fáceis de perceber como áreas amolecidas, protuberantes e vermelhas. A tumefação do tecido nervoso necrosado atinge o pico em 4-6 dias; após 8-14 dias, a tumefação decresce e o tecido torna-se cremoso ou friável e amarelado e, dependendo do tamanho da área de malacia, a fase cística é alcançada em 2-4 meses. Em razão da sobrevivência de parte do tecido mesenquimal, incluindo o arcabouço vascular, o cisto geralmente contém uma espécie de “teia de aranha” formada por tecido conjuntivo e vasos (Figura 3), os únicos elementos remanescentes. A possibilidade de que esses “cistos” sejam preenchidos por tecido cicatricial é inexistente (Storts, 1998). Em

cérebros imaturos (embora os autores [Innes & Saunders, 1962] não definam em termos de idade o significado de “imaturo”), a cavidade cística pode ocorrer em apenas dois dias após o insulto.

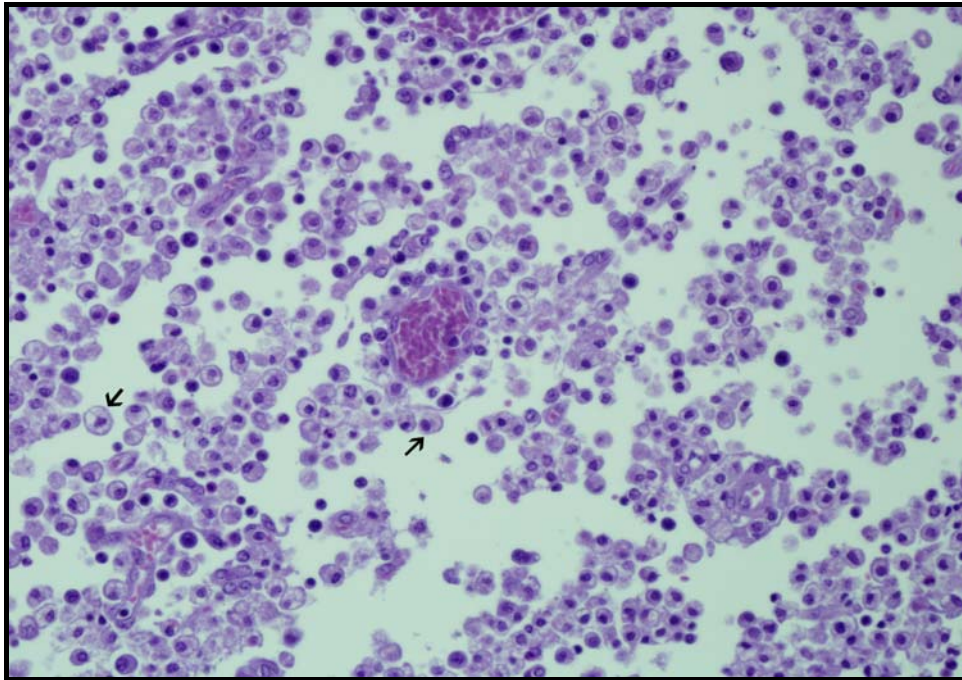


FIGURA 3. Lesão residual. Por causa da sobrevivência de parte do tecido mesenquimal, incluindo o arcabouço vascular, a área de malacia se transforma numa cavidade que geralmente contém uma teia de tecido conjuntivo e vasos e algumas células *gitter* (setas).

A seletividade de certas áreas do sistema nervoso para susceptibilidade aos vários insultos é reconhecida há tempo, e o termo “patóclise” foi aplicado a esse fenômeno (Innes & Saunders, 1962). Esses autores citam exemplos de doenças de seres humanos, como a degeneração hepatolenticular de Wilson, que afeta o corpo estriado de forma bilateral e simétrica e a intoxicação por álcool metílico, que afeta, da mesma forma, o putâmen. Adicionalmente, é mencionado que, além da maior susceptibilidade de certos grupos de neurônios à necrose (por ex., neurônios motores que necessitam maior

energia [Summers *et al.*, 1995]), a vasculatura de certas regiões é mais suscetível à compressão e ao aumento da permeabilidade (Innes & Saunders, 1962).

Um esquema cronológico para o desenvolvimento dos eventos do processo de malacia foi estabelecido, usando o infarto cerebral (necrose isquêmica) como exemplo (Storts, 1998): imediatamente (segundos) após o evento isquêmico (AEI), há parada do fluxo do sangue (isquemia e acúmulo de produtos de degradação celular). Alguns minutos AEI ocorre necrose de coagulação e edema, associados a hemorragia, principalmente se a lesão for na substância cinzenta. Se a fixação for feita por perfusão, em vinte minutos podem-se perceber as primeiras evidências microscópicas de injúria neuronal. Uma a duas horas AEI, as primeiras evidências microscópicas de injúria neuronal são perceptíveis, mesmo se a fixação for feita por imersão. Duas horas AEI pode-se observar, na microscopia de luz, uma coloração pálida da área de infarto, tumefação do endotélio dos capilares e aumento de volume do núcleo de astrócitos. Em 3-5 horas AEI, há alteração celular isquêmica na maioria dos neurônios (neurônios vermelhos); ocorre tumefação de oligodendrócitos e astrócitos e início da clasmotodendrose astrocitária. De 6-24 horas AEI, inicia a infiltração neutrofílica e a alteração da mielina (coloração pálida); ocorre degeneração e diminuição do número de oligodendrócitos, tumefação de astrócitos com fragmentação e retração dos processos astrocitários (clasmotodendrose) e degeneração. O citoplasma dos astrócitos torna-se visível, e há degeneração vascular e deposição de fibrina. Nove horas AEI, inicia a proliferação endotelial na margem do infarto. De 8 a 24 horas AEI, pode-se detectar macroscopicamente a área de necrose, a não ser que exista hemorragia, quando se torna perceptível bem antes, pela cor avermelhada; a área necrosada está tumefeita, macia,

pálida ou hemorrágica e bem demarcada. Um a dois dias AEI, ocorre tumefação de axônios e das bainhas de mielina e infiltração acentuada de polimorfonucleares neutrófilos; ao final do segundo dia, observa-se perda acentuada de células neuroectodérmicas, proliferação continuada de células endoteliais, redução no número de neutrófilos e início do incremento de monócitos (células *gitter*). Três a cinco dias AEI, há numerosas células *gitter*, desaparecimento de neutrófilos e proliferação continuada de células endoteliais. O número de capilares parece aumentado, e inicia a proliferação de astrócitos. Cinco a sete dias AEI, a tumefação da área de necrose (aspecto macroscópico) atinge o pico. Oito a dez dias AEI, reduz-se a tumefação macroscópica da área de necrose, e o tecido necrosado torna-se liquefeito. As células *gitter* são numerosas. Continua a proliferação de células endoteliais, e inicia a atividade fibroblástica, com formação de colágeno que é variável, porém mais acentuada no tecido nervoso adjacente às meninges. Em 5-13 dias AEI inicia o aumento de produção de fibras de astrócitos. Em 3 semanas a 6 meses após o AEI, há diminuição no número de células mononucleares e aumento na densidade das fibras de astrócitos (especialmente nas margens das lesões) e proliferação reduzida de astrócitos que retomam suas características morfológicas originais. Em 2-4 meses, a área de necrose atinge seu estágio cístico, e uma trama vascular pode ocorrer dentro do cisto; há decréscimo na proliferação de células endoteliais.

As doenças apresentadas nesta revisão parecem ter uma base vascular na sua patogênese e ser precedidas por edema da região afetada. Edema no sistema nervoso central pode ser 1) *vasogênico*, com aumento extracelular de líquido devido ao incremento da permeabilidade vascular; 2) *citotóxico*, caracterizado por um aumento do

líquido intracelular, com a permeabilidade capilar intacta; 3) *hidrostático* (intersticial), associado a aumento da pressão hidrostática (por exemplo, resultante de hidrocefalia) e 4) *osmótico*, resultante de hipoproteinemia (Storts, 1998).

2.3 Doença do edema

A doença do edema foi descrita pela primeira vez na Irlanda (Shanks, 1938) e ocorre em suínos pós o desmame que recebem rações nutritivas ou sofrem mudança de ração. A idade dos animais afetados é 4-8 semanas e os sinais clínicos, às vezes precedidos (1-2 dias) por diarreia, são principalmente neurológicos (Yoshikawa *et al.*, 1978). A maioria dos suínos afetados morre após um curso clínico de 24 horas, mas os que sobrevivem por vários dias desenvolvem lesões características de malacia do sistema nervoso central. Edema subcutâneo das pálpebras e da testa são características clínicas.

Na necropsia observa-se edema gelatinoso, especialmente no tecido subcutâneo da cabeça, submucosa do estômago, mesocólon (alça espiral do cólon), linfonodos mesentéricos, pulmão, laringe, tórax e saco pericárdico. Hiperemia e, às vezes, hemorragias podem ocorrer. As lesões do sistema nervoso central são focos de malacia bilateralmente simétricos observados melhor na superfície de corte do tronco encefálico, mas que, eventualmente, estendem-se até o núcleo caudado. Os focos de malacia são cinza-amarelados e levemente deprimidos. Em alguns animais, a malacia pode ser contínua ininterrupta desde o bulbo até o núcleo caudado, as lesões afetam somente partes do tronco encefálico (Kurtz *et al.*, 1969; Kurtz & Quast, 1982).

A lesão microscópica primária é uma angiopatia degenerativa cerebrosespinal (Harding, 1966; Nakamura *et al.*, 1982) que afeta pequenas artérias e arteríolas, mais

acentuada no tronco encefálico e nas meninges do cérebro e cerebelo e menos freqüente no cérebro, medula espinhal e cerebelo (Kurtz *et al.*, 1969; Kurtz & Quast, 1982). Estudos experimentais (Clugston *et al.*, 1974; Bertschinger & Pohlenz, 1974; Imberechts *et al.*, 1992) estabeleceram uma cronologia para o desenvolvimento das lesões: inicialmente ocorre edema (vasogênico) perivascular resultante da lesão vascular primária, seguido por necrose fibrinóide de pequenas artérias e arteríolas e acumulação de células inflamatórias (macrófagos, linfócitos) na túnica adventícia (Kurtz & Short, 1976). Há tumefação endotelial, mas sem ruptura dessa camada, o que provavelmente explica a ausência de trombose.

Escherichia coli é implicada na etiologia da doença do edema. Há evidências de que essa condição seja uma colibacilose enterotoxêmica pós-desmame, na qual certas cepas β-hemolíticas de *E. coli* (principalmente as cepas 139, 141, 0139:K82, 157:H7 [Kurtz & Short, 1976; Summers *et al.*, 1995]), localizadas no intestino, liberam uma substância biologicamente ativa (conhecida como princípio da doença do edema [PDE]), que é absorvida para a circulação e age como uma angiotoxina em outros locais do organismo, lesando pequenas artérias e arteríolas. Sabe-se hoje que essa substância tem íntima semelhança com a toxina produzida por *Shigella dysintariae* e tem sido especificamente designada como “toxina shiga-símile” variante tipo II ou SLT-IIv (MacLeod *et al.*, 1991; Imberechts *et al.* 1992). Estudos experimentais (Francis *et al.*, 1989) demonstraram que leitões gnotobiotas, inoculados com uma cepa de *E. coli* (0157:H7) que produzia SLT-IIv, desenvolviam lesões encefálicas semelhantes às encontradas em casos espontâneos da doença do edema. A perda da capacidade de produzir SLT-IIv por essas cepas resulta em perda da capacidade de produzir essas lesões encefálicas. Alguns

autores sugerem que a acidose metabólica e intestinal que se desenvolve no período pós-desmame facilita a absorção de macromoléculas, aumentando o influxo de SLT-IIv para a circulação e predispondo os suínos à doença do edema (Nabuurs *et al.*, 2001).

Recentemente, colicinas (uma classe de bacteriocinas produzidas por *E. coli* que atua contra certas cepas de *E. coli*) têm sido usadas como inibidoras de cepas patogênicas de *E. coli* (Stahl, 2004) e constituem uma promessa na prevenção da doença do edema e na diarreia pós-desmame dos suínos.

2.4 Encefalomalacia focal simétrica

Encefalomalacia focal simétrica (EFS) é uma doença que afeta principalmente ovinos jovens (Hartley, 1956; Barlow, 1958), mas que tem sido também relatada esporadicamente em bezerros (Munday *et al.*, 1973; Munday *et al.*, 1976; Buxton *et al.*, 1981). É uma manifestação neurológica subaguda produzida pela toxina épsilon de *Clostridium perfringens* tipo D (Griner, 1961; Griner & Carlson, 1961; Buxton & Morgan, 1976; Finnie, 1984; Worthington *et al.*, 1973), portanto uma manifestação de enterotoxemia.

A doença afeta geralmente cordeiros de 2-8 semanas de idade (Hartley, 1956), mas borregos de até 6 meses podem ser afetados (Hartley & Kater, 1962). O curso clínico é ao redor de uma semana e os sinais clínicos incluem depressão acentuada, ataxia, andar a esmo e, ocasionalmente, cegueira e convulsões (Summers *et al.*, 1995).

Na enterotoxemia clássica produzida por *C. perfringens* tipo D, também conhecida como “doença do rim polposo” dos cordeiros (Barlow, 1958), o curso clínico é mais agudo, a toxina é abundante no intestino e as lesões cerebrais são, na maioria das vezes,

microscópicas, mas obedecem a uma distribuição semelhante às da EFS (Buxton *et al.*, 1978). Na EFS, as lesões cerebrais podem ser observadas macroscopicamente como focos bilaterais e simétricos de malacia localizados na cápsula interna e nos núcleos basais adjacentes (Figura 4), no tálamo, no mesencéfalo e nos pedúnculos cerebelares (Hartley, 1956; Barlow, 1958). Em casos de EFS, a presença da toxina no intestino é mais rara. Parece evidente, portanto, que a EFS e a enterotoxemia são manifestações cronológicas diferentes de uma mesma condição, i.é, a toxinfecção por *C. perfringens* tipo D na sua forma clássica manifesta-se por doença clínica aguda ou superaguda (enterotoxemia, doença do rim polposo) ou, mais raramente, na forma subaguda, com encefalomalacia focal simétrica.

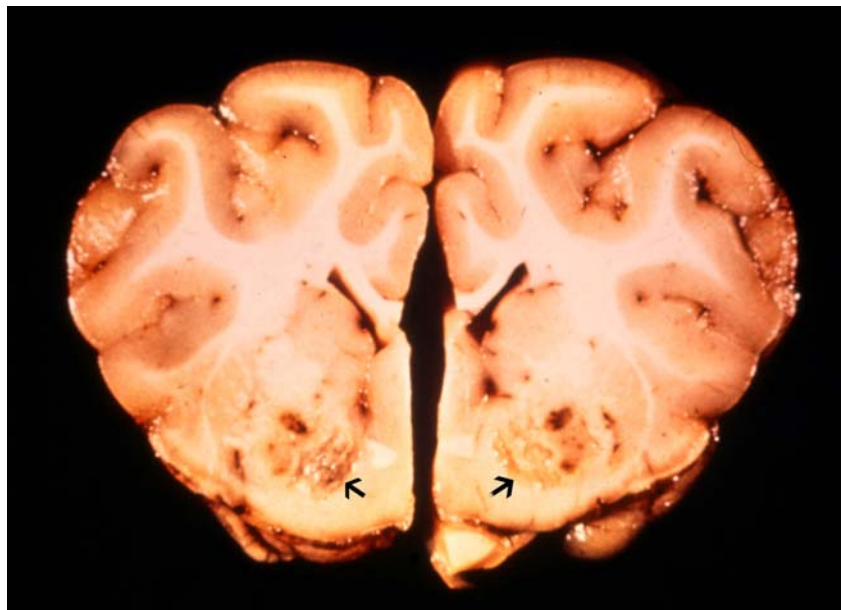


FIGURA 4. Encefalomalacia focal simétrica em ovino. Essa lesão é produzida pela toxina de *Clostridium perfringens* tipo D e tem distribuição focal, simétrica e bilateral (setas). (Cortesia Prof. Stuart Young)

Macroscopicamente, os focos de malacia observados no cérebro de cordeiros que sucumbiram à EFS vão desde áreas circunscritas róseas ou de aspecto hemorrágico até

focos de amolecimento, cinza-amarelados. Microscopicamente há áreas bem demarcadas de malacia e hemorragia. As primeiras células a aparecer nos focos de necrose são os neutrófilos, mas, à medida que a lesão progride, células *gitter* aparecem, e a lesão termina como um espaço vazio preenchido apenas por algumas dessas células e vasos (Summers *et al.*, 1995).

A patogênese das lesões de malacia no encéfalo dos cordeiros parece ser por lesão vascular com aumento da permeabilidade (edema vasogênico) à exemplo do que ocorre na doença do edema dos suínos. Estudos experimentais em cordeiros e camundongos (Griner 1961; Griner & Carlson, 1961) demonstram aumento da permeabilidade vascular no cérebro algumas horas após a administração da toxina épsilon. A ultra-estrutura do encéfalo de cordeiros (Buxton & Morgan, 1976) e camundongos (Finnie, 1984) na reprodução experimental da doença pela inoculação da toxina épsilon, revelou que ocorre tumefação e degeneração dos podócitos terminais dos astrócitos, aumento da densidade das células endoteliais e aumento da permeabilidade vascular. Acredita-se que alguns cordeiros desenvolvam a forma subaguda de (EFS) ao invés da forma aguda ou superaguda tradicional em razão de baixa dose da toxina ou maior resistência imune do animal (Summers *et al.*, 1995).

Embora a enterotoxemia clássica seja bem reconhecida em cabras e ocasionalmente provoque lesões agudas no encéfalo (Colodel *et al.*, 2003), a forma subaguda com EFS não tem sido relatada nessa espécie.

2.5 Poliomiélomalacia focal simétrica

Sob essa denominação são descritas doenças que têm como característica comum a

necrose focal simétrica da substância cinzenta das intumescências cervical e lombar da medula espinhal. Em algumas dessas condições, núcleos do tronco encefálico são também afetados, mas as lesões medulares prevalecem. A causa não foi totalmente esclarecida para todas essas condições, mas é sugerido que a via patogénica comum seja a privação de energia.

Em suínos jovens pós-desmame (3-4 meses de idade) nos estados da Geórgia (Harrison *et al.*, 1983), Pensilvânia (Wilson & Drake, 1982; Wilson *et al.*, 1983) e Iowa (Casteel *et al.*, 1985) nos Estados Unidos, e na Austrália (O'Sullivan & Blakemore, 1978) tem sido descrita uma condição aguda caracterizada clinicamente por paresia e paralisia flácida. A doença é afebril, os suínos afetados estão em decúbito esternal ou lateral, gritam quando perturbados e estão razoavelmente alerta. A maioria é tetraplégica, mas alguns tentam caminhar arrastando os membros pélvicos que mostram paralisia flácida. Quando de pé, os suínos alternam o peso sobre os membros pélvicos e utilizam o focinho para apoio a fim de reduzir o peso sobre os membros pélvicos doloridos; observa-se separação da parte córnea dos cascos dos membros pélvicos, desprendimento dos cascos e lesões de pele (Casteel *et al.*, 1985). Se alimento e água são oferecidos, os suínos comem e bebem normalmente e a micção e defecação não são alteradas (O'Sullivan & Blakemore, 1978; O'Sullivan & Blakemore, 1980; Wilson & Drake 1982; Harrison *et al.*, 1983; Wilson *et al.*, 1983; Casteel *et al.*, 1985).

Na necropsia, as lesões características são focos de malacia bilaterais e simétricos que ocorrem no corno ventral da substância cinzenta das intumescências cervical e lombar da medula espinhal. Histologicamente ocorre necrose e cavitação da substância cinzenta, com acentuada degeneração e perda de neurônios motores (Casteel *et al.*,

1985; O'sullivan & Blakemore, 1980). Uma cronologia dos achados microscópicos foi estabelecida (Summers *et al.*, 1995). Inicialmente ocorre vacuolização da neurópila, degeneração e necrose das células da glia e tumefação reacional do endotélio vascular. A necrose e cavitação são acompanhadas de cromatólise dos neurônios motores. Ocorre proliferação vascular em meio à neurópila afetada, e há aparecimento de células *gitter*. A lesão final consiste de uma cavidade em meio à qual se observam numerosas células *gitter* e alguns remanescentes dos vasos (Wilson *et al.*, 1982)

A etiologia dessa enfermidade tem sido atribuída à intoxicação por selênio, e a enfermidade foi reproduzida pela administração de alimento com excesso de selênio (Wilson *et al.*, 1983; Harrison *et al.*, 1983; Casteel *et al.*, 1985). Lesões dos cascos e de pele observadas nesses suínos são geralmente associadas à intoxicação por selênio em animais (Néspoli *et al.*, 2001). No Brasil, a administração de selenito de sódio a equinos produziu quadros com evoluções superaguda, aguda, subaguda e crônica, e alguns equinos desenvolveram sinais clínicos neurológicos. Na necropsia, havia achatamento das circunvoluções cerebrais e, na histopatologia, lise e necrose de neurônios do córtex, edema de astrócitos, ativação endotelial e gliose, mas malacia não é mencionada. A patogênese das alterações degenerativas observadas no sistema nervoso central, aparentemente foi causada por edema vasogênico em razão do aumento da permeabilidade vascular causada pelo selenito de sódio (Néspoli *et al.*, 2001).

Uma etiologia alternativa para a enfermidade descrita nos suínos e associada a poliomalacia implica a substância química 6-aminonicotinamida. (O'Sullivan & Blakemore, 1978). A ingestão de 6-aminonicotinamida induz deficiência de nicotinamida, que é a amida da niacina, uma proteína do complexo B. Focos de malacia

bilaterais e simétricos na medula espinhal, semelhantes aos que ocorrem na doença espontânea, foram reproduzidos em suínos pela administração de 6-aminonicotinamida (O'Sullivan & Blakemore, 1978). Essas teorias etiológicas não são necessariamente excludentes, pois foi sugerido que o selênio possa induzir deficiência de nicotinamidaniacina (Wilson *et al.*, 1989). Enfermidades com sinais clínicos e lesões macro e microscópicas semelhantes têm sido descritas ocasionalmente em outras espécies. No início da década de 1950, no Quênia, uma poliomalacia espinhal foi diagnosticada em ovelhas com paralisia (Innes & Plowright, 1955). A doença apresentava aparecimento súbito, e a paralisia envolvia somente os membros torácicos ou os membros torácicos e pélvicos.

Doença semelhante foi observada em ovinos em Gana (Bonniwell & Barlow, 1985). As lesões encontradas eram focos de malacia bilaterais e simétricos nos cornos ventral da substância cinzenta da intumescência cervical e, ocasionalmente, da intumescência lombar da medula espinhal. Ovinos adultos eram afetados, e a mortalidade chegava a 72% do rebanho. Edema que evoluía para malacia era também observado no tronco encefálico e cerebelo. Essa condição foi referida como poliomalacia cerebrospinhal bilateral. A causa não foi determinada.

Seis casos de encefalomiomalacia foram descritos em cabras de leite (Cordy *et al.*, 1984.) de 3½ a 4 anos de idade. Os sinais neurológicos tinham aparecimento abrupto e passavam rapidamente de ataxia para paralisia. Os seis caprinos afetados foram submetidos a eutanásia após um curso clínico de 6-10 dias. As lesões encontradas eram de focos de malacia que afetavam a substância cinzenta das duas intumescências medulares e, em menor escala, em alguns núcleos do tronco encefálico (principalmente

colículos caudais). Os focos de malacia bilaterais eram restritos à substância cinzenta ventral e intermediária. A causa não foi determinada.

Casos de poliomalacia e encefalomalacia multifocal simétrica multifocal com aspectos semelhantes são descritos em bezerros da raça Ayrshire (Palmer *et al.*, 1986) e da raça Simmental (Frank *et al.*, 1992). A lesão descrita em terneiros Simmental estava associada com altos índices de alumínio e baixos índices de cobre nos tecidos.

2.6 Encefalomalacia nigropálida em eqüinos

A encefalomalacia nigropálida é uma doença de eqüinos caracterizada por sinais neurológicos produzidos por focos de malacia, geralmente simétricos, no encéfalo e associada ao consumo de espécies de plantas do gênero *Centaurea* (*C. solstitialis* e *C. repens*), subarbustos da família Asteraceae (Cordy, 1954; Fowler, 1965; Larson & Young, 1970; Young *et al.* 1970a,b; Cordy, 1978). Como nos primeiros relatos, os focos de malacia foram observados nos núcleos encefálicos *globo pálido* e *substância negra*, a enfermidade foi denominada como encefalomalacia nigropálida dos eqüinos.

Além de nos Estados Unidos (Cordy, 1954; Fowler, 1965; Larson & Young, 1970; Young *et al.*, 1970a; Young *et al.*, 1970b; Cordy, 1978), essa intoxicação foi relatada na Austrália (Gard & Sarem, 1973), no Uruguai, (Perdomo & De Freitas, 1978) e na Argentina (Selfero *et al.*, 1989). A intoxicação espontânea ocorre apenas em eqüinos, e experimentalmente ratos, camundongos e macacos morreram após a administração de extratos da planta (Mettler & Stern, 1963). Casos de encefalomalacia nigropálida podem ocorrer em várias épocas do ano (Cordy, 1954; Young *et al.*, 1970a; Larson & Young, 1970) e afetam vários animais de um grupo ou poucos indivíduos em uma manada

(Cordy, 1954). Grandes quantidades da planta são necessárias para desenvolver a intoxicação (Fowler, 1965; Young *et al.*, 1970a,b).

A intoxicação ocorre principalmente no verão a outono durante períodos secos (Young *et al.*, 1970a), em eqüinos de qualquer idade, desde quatro meses até 18 anos, porém animais jovens são mais suscetíveis (Fowler, 1965; Cordy, 1978). Os sinais clínicos aparecem subitamente após os eqüinos terem consumido grandes quantidades da planta, geralmente um mês ou mais após o início da ingestão (Fowler, 1965) e incluem movimentos mastigatórios contínuos, déficits na capacidade de apreensão de alimentos e água e déficits nos movimentos mastigatórios e de deglutição (Cordy, 1954; Fowler, 1965). Ocorre hipertonia dos músculos faciais, movimentos rítmicos dos lábios, boca entreaberta e protusão da língua em forma de canoa (Cordy, 1954; Fowler, 1965; Gard & Sarem, 1973). Há períodos de inatividade em que os eqüinos ficam estáticos e com a cabeça baixa (Cordy, 1954; Fowler, 1965); caso haja apreensão de algum tipo de forragem, podem ficar horas com o alimento na boca sem conseguir mastigar ou engolir. Pode haver pneumonia gangrenosa por falsa via (Fowler, 1965). Os lábios ficam elevados por ação dos músculos elevadores nasolabiais ou são postos entre os dentes, podendo haver ulcerações quando o animal tenta mastigar (Fowler, 1965). Pode ser observada também expressão facial fixa (Cordy, 1954; Fowler, 1965). O curso clínico pode durar de dois dias a algumas semanas (Cordy, 1954) e, na grande maioria das vezes, termina com depressão e morte pela intensa desidratação e desnutrição (Fowler, 1965). Alguns casos incipientes, se alimentados e retirados do contato com a planta podem se recuperar (Fowler, 1965). Apesar de a doença não ser caracterizada por incoordenação motora, alguns eqüinos desenvolvem instabilidade ao andar ou lentidão

de movimentos, mas esses sinais são provavelmente causados pela fraqueza na qual o animal se encontra (Cordy, 1954).

As lesões desenvolvidas em eqüinos intoxicados pelas sementes de *Centaurea* spp envolvem as áreas correspondentes ao globo pálido e à substância negra e são caracterizadas por focos de malacia, freqüentemente bilaterais e simétricos (Figura 5). Inicialmente esses focos de necrose são bem distintos, amarelos e gelatinosos; a partir de uma a duas semanas, as lesões se tornam pálidas, bem mais demarcadas e amolecidas; após três semanas restam somente cavidades com conteúdo semi-líquido (Cordy, 1954; Cordy, 1978). Eventualmente pode ocorrer hemorragia nas áreas afetadas (Cordy, 1954; Fowler, 1965).

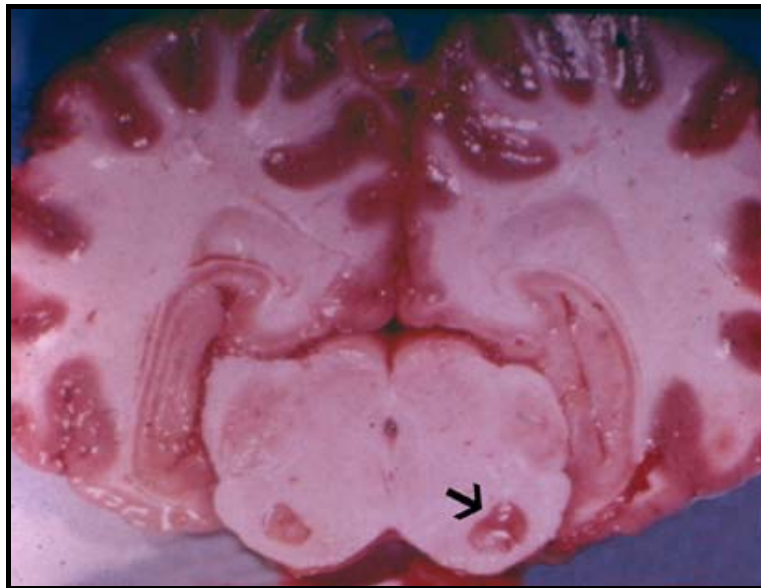


FIGURA 5. Encefalomalacia nigropálida em eqüino causada pela ingestão de *Centaurea solstitialis*. Nessa intoxicação, há necrose de áreas específicas como a substância negra (*seta*) e o globo pálido (Cortesia Prof. Stuart Young)

Na intoxicação por *C. repens*, além dos focos de necrose no globo pálido e na substância negra, foram observadas áreas de malacia no núcleo dos colículos caudais, nos núcleo mesencefálico do nervo trigêmeo, e no núcleo dentado (Young *et al.*,

1970b). Lesões extraneurais secundárias a traumatismos, como úlceras na língua e nos lábios (Cordy, 1954), traumatismos na cabeça ou em outras partes do corpo (Fowler, 1965), atrofia dos músculos masseteres (Larson & Young, 1970), desidratação e caquexia (Young *et al.*, 1970a; Perdomo & De Freitas, 1978) podem ser observadas.

Microscopicamente, os focos de malacia vistos no encéfalo consistem de áreas de necrose bem definidas que variam de aspecto e composição conforme a fase evolutiva da lesão (Cordy, 1954; Cordy, 1978; Burrows & Tyrl, 2001). Esses achados são idênticos em todos os animais; no início, a lesão é constituída por neurônios picnóticos e cromatólíticos e neurópila pouco corada. Nessa fase há discreta gliose ao redor da lesão. Alguns dias depois, ocorre acentuada desintegração tecidual, e são observadas células com citoplasma granular e carregado de material fagocitado (células *gitter*). A partir da terceira semana, há intensa gliose perifocal, os capilares estão conspícuos no interior da lesão e há grande quantidade de células com citoplasma granular. Frequentemente é observada hemorragia nas áreas de malacia (Cordy, 1954).

O globo pálido e a substância negra são estruturas, que juntamente com os núcleos caudato e putâmen, compõem os núcleos basais (Maia *et al.*, 1999). A especificidade das lesões associadas ao consumo de *Centaurea* spp desperta grande interesse em medicina humana, pois são muito semelhantes aos achados de doenças associadas a distúrbios dopaminérgicos, como Parkinson e Huntington, Síndrome de Tourette, Coreia de Sydenham e outras síndromes obsessivo-compulsivas (Harrinson, 1995; Maia *et al.*, 1999). As dificuldades na reprodução experimental da doença comprometem o estudo da patogenia desse tipo de intoxicação nos animais (Mettler & Stern, 1960). Existem vários relatos de substâncias isoladas de extratos de *Centaurea* spp (Cheng *et*

al.; 1992; Roy *et al.*; 1995; Robles *et al.*; 1997), porém os princípios encontrados em maior concentração e com maior frequência nos extratos da planta são repina, subluteolida, janerina, cinaropicrina, acroptilina e solstitialina (Burrows & Tyrl, 2001).

3. MATERIAL E MÉTODOS

Dados epidemiológicos e clínicos do surto espontâneo foram obtidos junto ao proprietário de uma criação semi-industrial de suínos, situada na região central do Rio Grande do Sul. Um suíno dessa propriedade foi necropsiado.

Para reprodução experimental da intoxicação, seis suínos, identificados pelas letras A-F, foram alimentados com ração composta de farelo de milho misturado a diferentes proporções de quirera de arroz contaminada com sementes de *A. indica* (Tabela 1). O Suíno A era macho, todos os outros eram fêmeas. Além da ração, os suínos do experimento recebiam água a vontade. Todos os suínos do experimento foram necropsiados.

TABELA 1. Intoxicação pelas sementes de *Aeschynomene indica* em suínos. Delineamento experimental.

Animal	Idade	Peso (Kg)	Concentração de sementes na ração(%)	Tempo de ingestão (horas)
A	45 dias	17	10	36
B	55 dias	28	15	12
C	50 dias	19	20	6
D	55 dias	20	20	6
E	55 dias	29	20	6
F	3 anos	245	16,5	24

Cinco suínos (A-E) eram jovens (idades entre 45 e 55 dias) e o suíno F era uma porca de 245 kg e 3 anos de idade. A inclusão de um suíno adulto no experimento objetivou verificar se os adultos são resistentes aos efeitos tóxicos das sementes de *A. indica*, uma vez que nenhum adulto apresentou a doença no surto espontâneo.

O encéfalo e fragmentos de fígado, rim e pulmão do suíno do surto espontâneo e dos seis suínos do experimento, foram fixados em formol a 10% e processados rotineiramente para histologia. O encéfalo inteiro foi fixado em 1,5 litros de formol a 10% por duas semanas e então seccionado coronalmente a intervalos de 0,5 cm para exame macroscópico. Cinco regiões do cérebro foram consistentemente processadas para histologia: (1) bulbo na altura do óbex, (2) cerebelo e pedúnculos cerebelares, (3) mesencéfalo na altura dos colículos caudais, (4) córtex parietal e tálamo e (5) córtex frontal com núcleos da base.

4 RESULTADOS

Na propriedade onde ocorreram os surtos espontâneos havia aproximadamente 100 suínos (20 matrizes e 80 suínos jovens desmamados de várias categorias). Os suínos eram alimentados com uma ração feita de 50% farelo de milho, 25% de farelo de soja, 5% de um suplemento vitamínico mineral de origem comercial e 20% quirera de arroz.

Na quirera, que era misturada à ração, havia 40% de sementes de *Aeschynomene indica* (Figura 6).



FIGURA 6. Encefalomalacia focal simétrica em suínos causada por ingestão de sementes de *Aeschynomene indica*. Quirera de arroz contaminada com sementes de *A. indica*.

A doença foi vista somente em suínos jovens de aproximadamente 45 dias, embora todos os suínos tivessem, aparentemente, acesso à mesma ração. Em cada pocilga, onde havia 10-12 suínos dessa idade, 3-4 suínos adoeceram e 1-2 morreram, indicando taxas

de morbidade, mortalidade e letalidade respectivamente de 25%-40%; 8,5%-20%; e 25%-66%. Os sinais clínicos apareciam ao redor de 24 horas após o início do consumo da ração contaminada (RC) e incluíam graus variáveis de andar incoordenado e quedas que evoluíam para decúbito esternal com os membros pélvicos abertos e incapacidade de se levantar. Frequentemente o suíno afetado assumia uma posição com a parte ventral do corpo roçando o chão e com os membros pélvicos bem afastados um do outro para facilitar a propulsão (Figura 7); depois sobrevinha decúbito lateral e a morte ocorria em média 36 horas após o início da ingestão da RC. Alguns suínos doentes se recuperaram, mas o proprietário não soube informar em quanto tempo e quantos animais se recuperaram. Lesões macroscópicas restringiam-se à acentuada hiperemia das leptomeninges.



FIGURA 7. Encefalomalacia focal simétrica em suínos causada por ingestão de sementes de *Aeschynomene indica*. Suíno A. O animal afetado assumia uma posição com a parte ventral roçando o chão e os membros pélvicos bem afastados um do outro para facilitar a propulsão.

Os suínos jovens do experimento (A-E) consumiram voluntariamente ao redor de 1 kg da RC antes de mostrar os primeiros sinais clínicos, quando então a RC era retirada e substituída por farelo de milho. Os suínos A e B foram submetidos à eutanásia respectivamente 36 e 72 horas após o início do experimento. Esses suínos entraram em decúbito esternal e ficaram incapacitados de levantar (Figura 8) 36 e 12 horas, respectivamente, após ter recebido a RC; os membros posteriores eram posicionados abertos. Os Suínos C-E morreram após um quadro clínico agudo respectivamente 16, 21 e 24 horas após o início do experimento.



FIGURA 8. Encefalomalacia focal simétrica em suínos causada por ingestão de sementes de *Aeschynomene indica*. Suíno B. Decúbito esternal, membros pélvicos afastados e dificuldade em levantar.

O Suíno F ingeriu, no primeiro dia do experimento, pela manhã, 3 kg de ração contaminada com 16,5% de sementes de *A. indica* (495 g de sementes de *A. indica* ou 2,02 g/kg). Cerca 6-7 horas após ingerir a primeira dose da ração, mostrou inquietação, decúbito, tremores musculares leves e contínuos, porém mais acentuados no membro anterior direito, e dificuldade de levantar (Figura 9). Nessa mesma hora, ingeriu mais 0,5 kg RC (83,3g de sementes de *A. indica* ou 0,34g/kg). A partir desse momento, apresentou anorexia total, decúbito constante e piora de estado corporal. Refugava o alimento e por motivos humanitários foi submetido à eutanásia no quarto dia após o início do experimento.

Em todos os suínos do experimento observou-se acentuado avermelhamento das leptomeninges (Figuras 10 e 11). Nos Suínos C-E havia grande quantidade de sementes de *A. indica* não digeridas no estômago e intestino delgado, avermelhamento transmural do intestino delgado e conteúdo intestinal sanguinolento. Um hematoma de 4x4x5 cm foi observado no lobo apical do pulmão direito do Suíno C. Na região dos núcleos cerebelares e vestibulares dos Suínos D-F, foram observadas hemorragias multifocais e simétricas em regiões correspondentes aos núcleos cerebelares ou vestibulares (Figura 12). Achados incidentais de necropsia (pericardite fibrinosa organizada no Suíno C e filamentos de fibrina no saco pericárdico do Suíno D) ocorreram ocasionalmente.

Microscopicamente, os achados significativos restringiram-se ao encéfalo. Em todos os fragmentos, confirmou-se a hiperemia das leptomeninges (Figura 13) observada macroscopicamente. Basicamente os achados foram classificados como distúrbios circulatórios, incluindo congestão (Figura 14), edema (Figuras 15-17) e hemorragia (Figuras 12B, 18-20). Essas lesões eram quase sempre acompanhadas de tumefação do

endotélio dos vasos. Parecia evidente que as lesões vasculares causavam aumento da permeabilidade vascular, edema e hemorragia. Essas lesões eram focais e de intensidade variável. Além do edema, nas lesões mais avançadas, observava-se distensão da bainha de mielina (Figura 20) e esferóides axonais em meio à lesão (Figura 17). Esse tipo de alteração mais aguda foi observada nos suínos C-F e afetava os núcleos cerebelares (fastigial, interposto e lateral), os núcleos vestibulares (medial e lateral), a substância negra, os núcleos da base e a cápsula interna, o trato vestibular espinhal e o córtex telencefálico (Tabela 2).



FIGURA 9. Encefalomalacia focal simétrica em suínos causada por ingestão de sementes de *Aeschynomene indica*. Suíno F. Dificuldade em levantar.

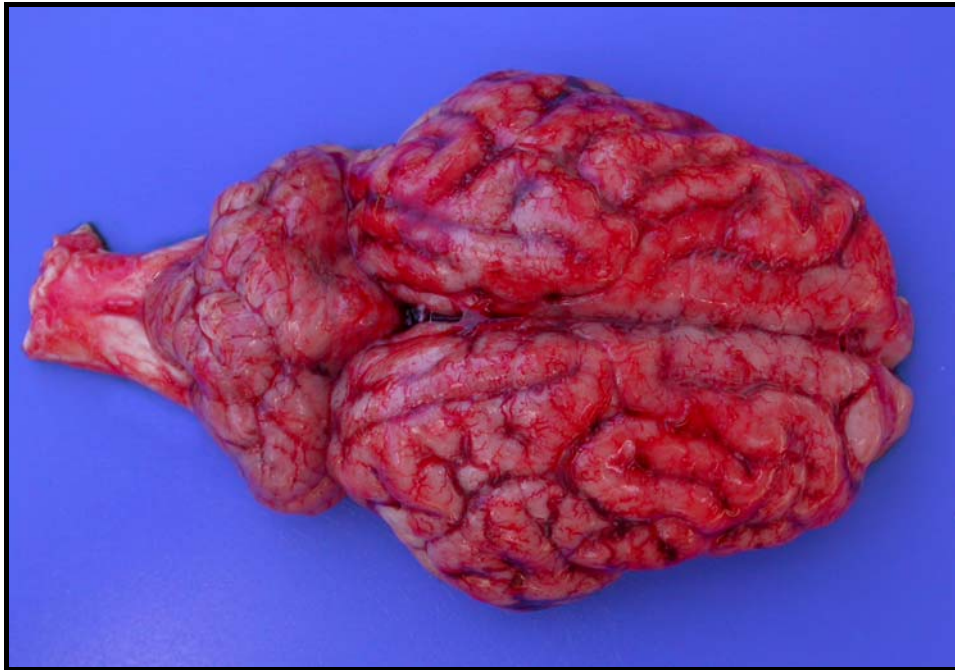


FIGURA 10. Encefalomalacia focal simétrica em suínos causada por ingestão de sementes de *Aeschynomene indica*. Suíno F. Hiperemia das leptomeninges. Esse é um achado de necropsia consistente.

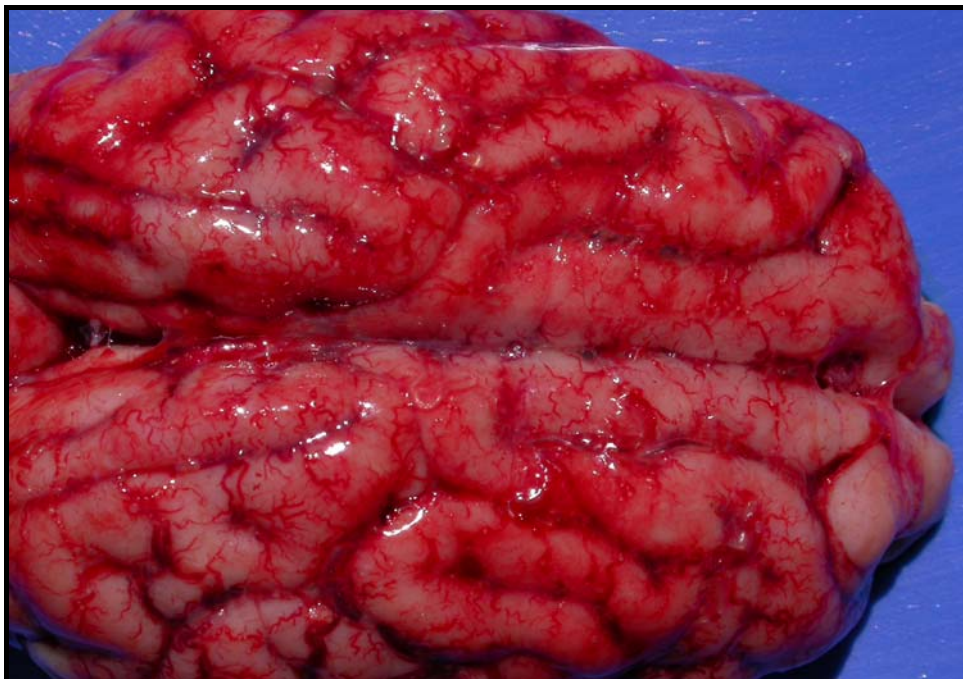


FIGURA 11. Encefalomalacia focal simétrica em suínos causada por ingestão de sementes de *Aeschynomene indica*. Suíno F. Hiperemia das leptomeninges. Maior aproximação da Figura 10.

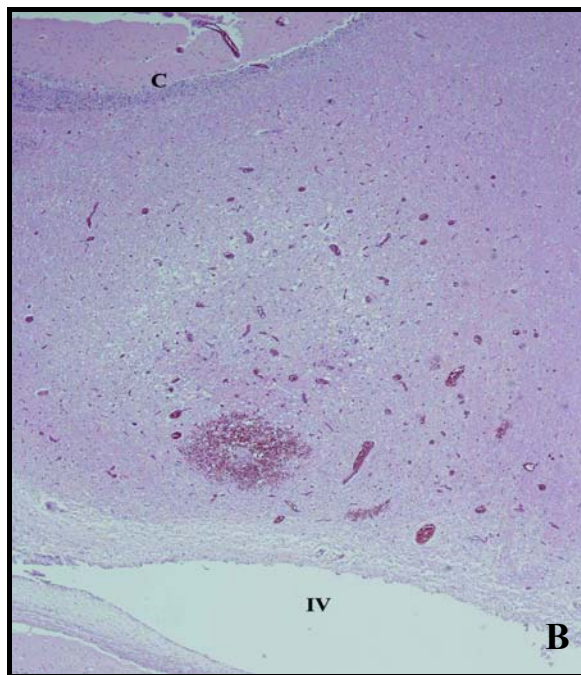
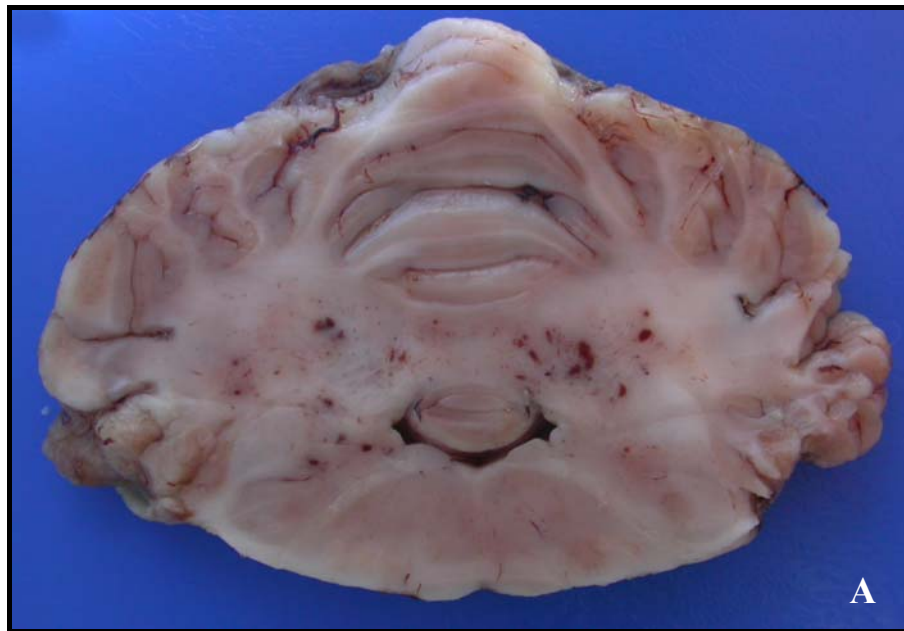


FIGURA 12. Encefalomalacia focal simétrica em suínos causada por ingestão de sementes de *Aeschynomene indica*. Suíno F. **A.** Secção coronal do cerebelo passando pelos pedúnculos cerebelares e ponte. Focos de hemorragia são evidentes na altura dos núcleos cerebelares fastigial, interposto e lateral. No lado esquerdo hemorragias puntiformes podem ser observadas nas imediações dos núcleos vestibulares. **B.** Histologia do mesmo local mostrado em A. O foco vermelho corresponde a uma área de edema e hemorragia e degeneração neuronal no núcleo cerebelar fastigial. Quarto ventrículo (IV), córtex cerebelar (C). Hematoxilina e eosina.

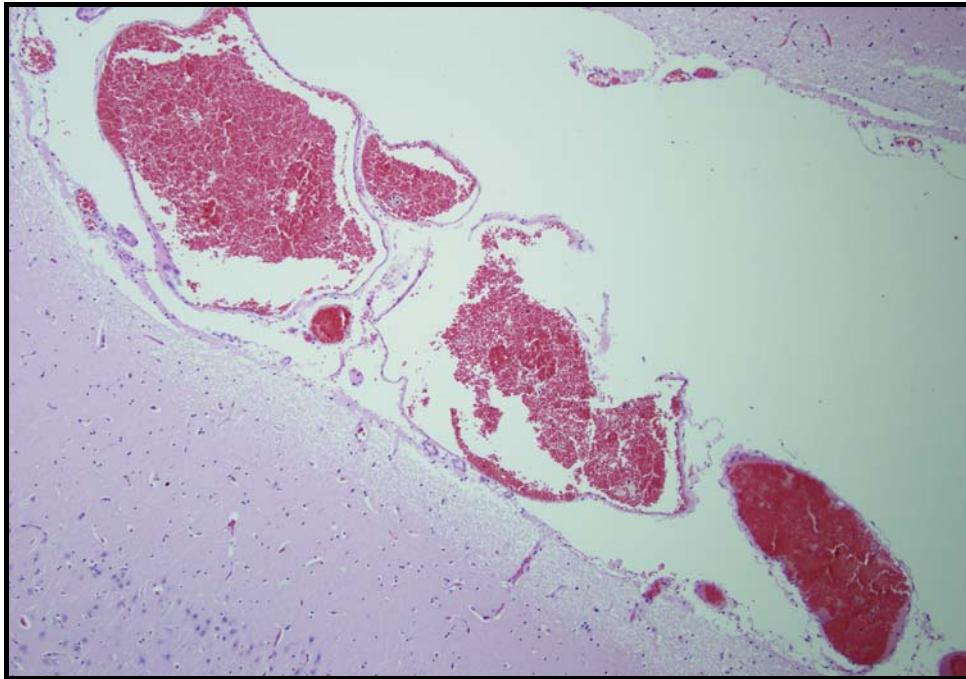


FIGURA 13. Encefalomalacia focal simétrica em suínos causada por ingestão de sementes de *Aeschynomene indica*. Suíno F. Córtex telencefálico. Hiperemia leptomeníngea acentuada. Hematoxilina e eosina.

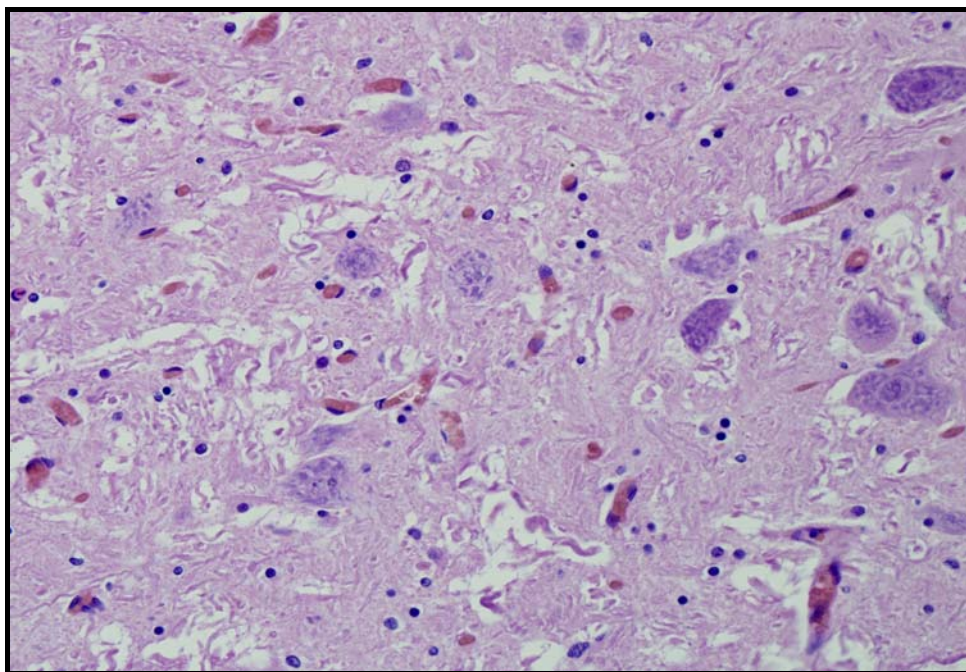


FIGURA 14. Encefalomalacia focal simétrica em suínos causada por ingestão de sementes de *Aeschynomene indica*. Suíno F. Núcleo vermelho. Congestão.

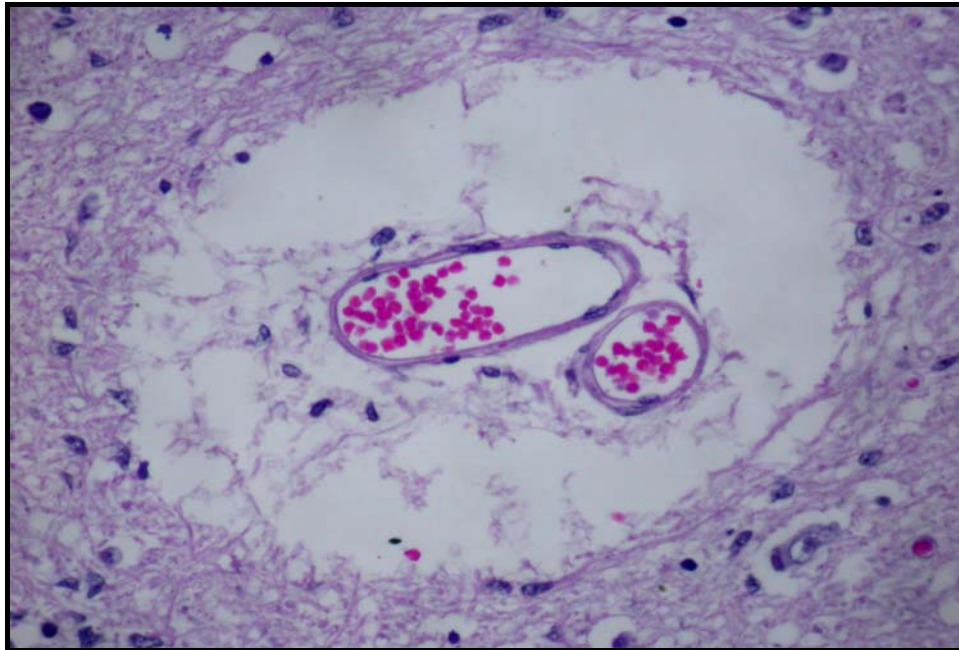


FIGURA 15. Encefalomalacia focal simétrica em suínos causada por ingestão de sementes de *Aeschynomene indica*. Suíno C. Núcleo vestibular medial. Acentuado edema perivascular. Hematoxilina e eosina.

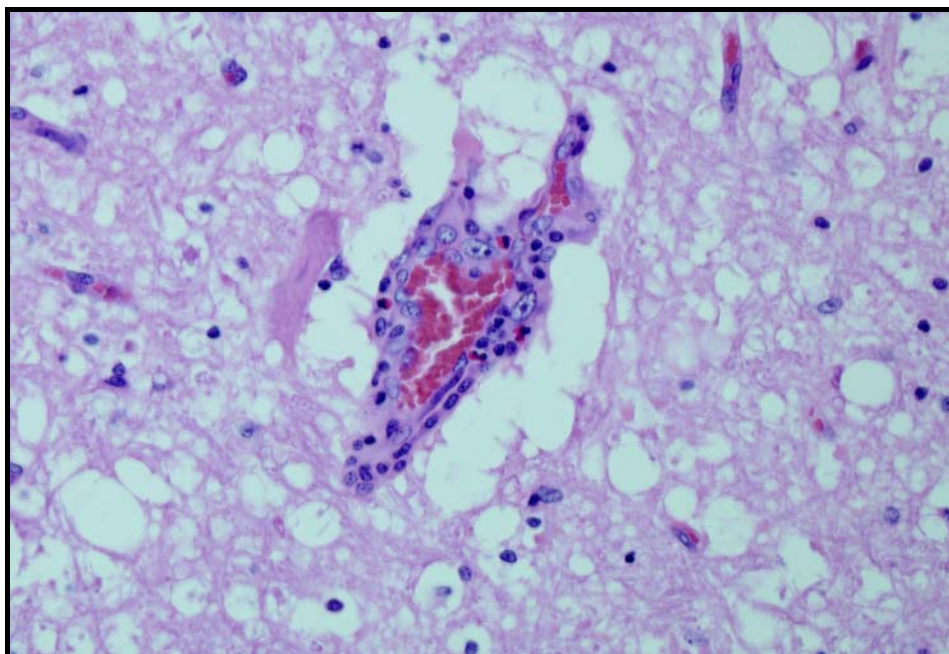


FIGURA 16. Encefalomalacia focal simétrica em suínos causada por ingestão de sementes de *Aeschynomene indica*. Suíno F. Núcleo cerebelar. Há tumefação acentuada das células endoteliais e edema com rarefação da neurópila. À esquerda, um neurônio encontra-se comprimido pelo edema. Hematoxilina e eosina.

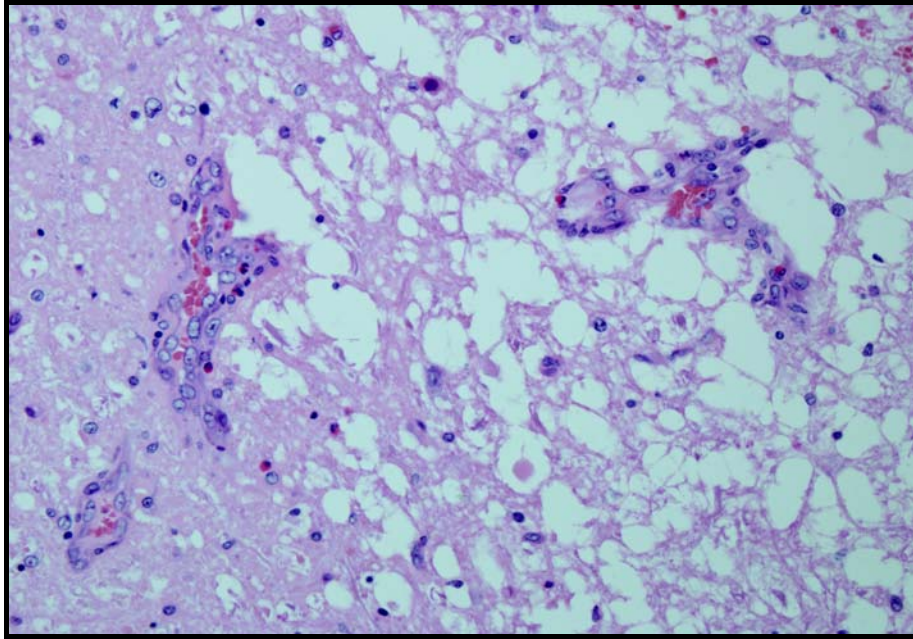


FIGURA 17. Encefalomalacia focal simétrica em suínos causada por ingestão de sementes de *Aeschynomene indica*. Suíno F. Núcleo cerebelar. Observa-se tumefação acentuada das células endoteliais nos três vasos que aparecem na foto. O edema da neurópila é mais extenso que o da figura anterior e há um esferóide axonal indicando degeneração/morte de neurônios. Hematoxilina e eosina.

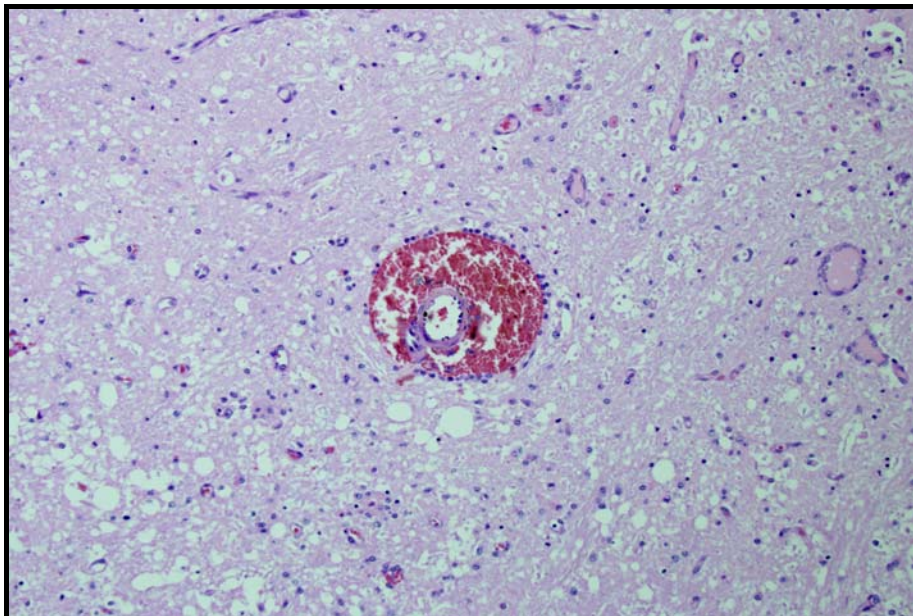


FIGURA 18. Encefalomalacia focal simétrica em suínos causada por ingestão de sementes de *Aeschynomene indica*. Suíno F. Pedúnculo cerebelar. Hemorragia perivascular. Há edema da neurópila adjacente. Hematoxilina e eosina.

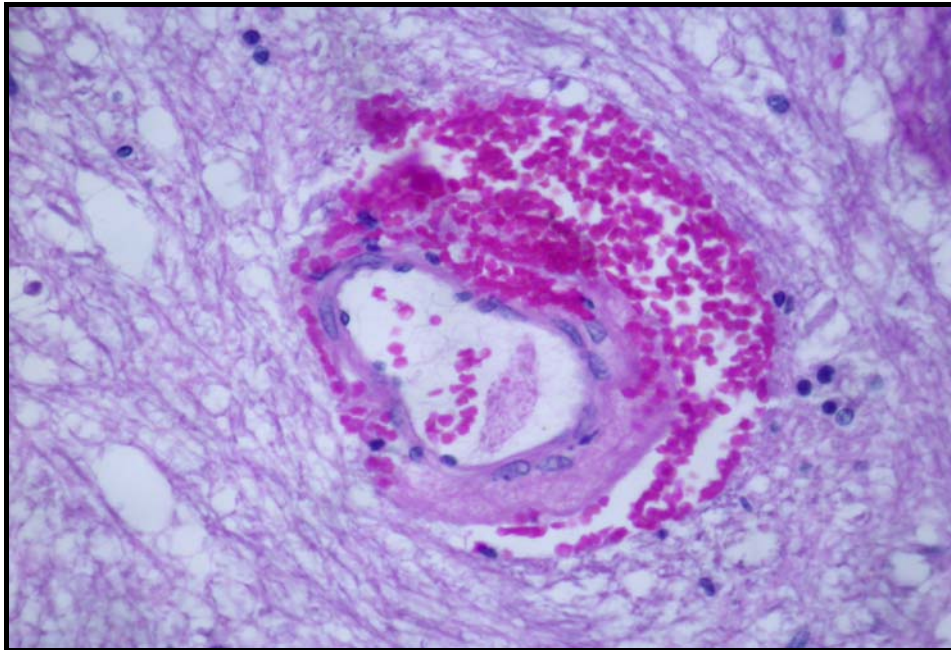


FIGURA 19. Encefalomalacia focal simétrica em suínos causada por ingestão de sementes de *Aeschynomene indica*. Suíno D. Pedúnculo cerebelar. Edema (substância rósea) e hemorragia perivasculares. Hematoxilina e eosina.

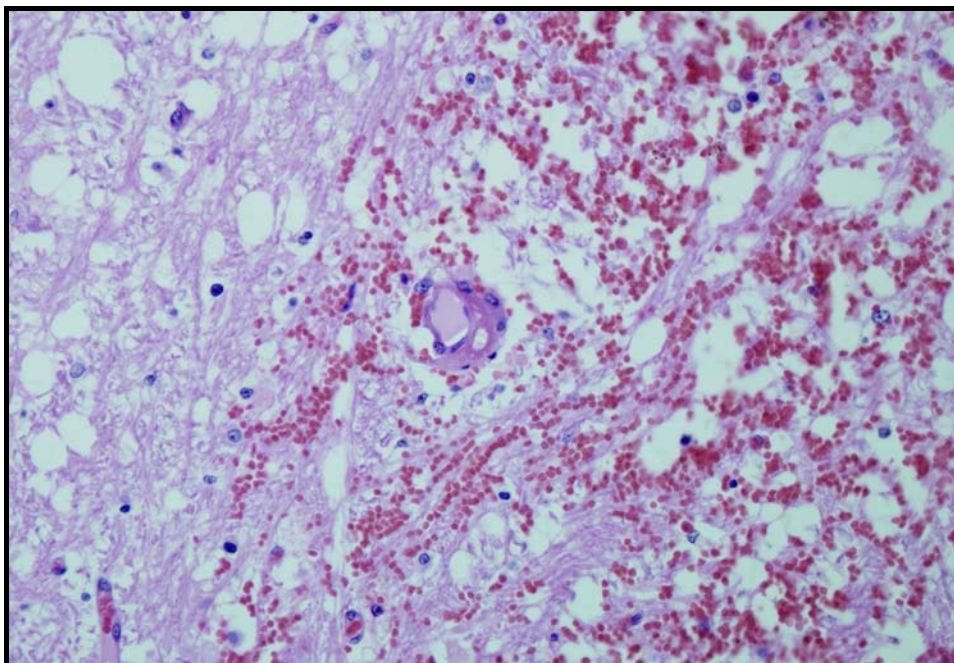


FIGURA 20. Encefalomalacia focal simétrica em suínos causada por ingestão de sementes de *Aeschynomene indica*. Suíno F. Núcleo cerebelar fastigial. Extensa hemorragia e distensão das bainhas de mielina. Hematoxilina e eosina.

TABELA 2. Encefalomalacia focal simétrica em suínos causada por ingestão de sementes de *Aeschynomene indica*. Tipo e localização das lesões em seis suínos intoxicados experimentalmente (A-F) e num suíno do surto espontâneo (SE).

Suíno	Tipo de lesão	Localização da lesão
SE	Malacia focal simétrica.	Núcleos cerebelares e vestibulares*
A	Malacia focal simétrica	Núcleos cerebelares e vestibulares
B	Malacia focal simétrica	Núcleos cerebelares e vestibulares, núcleo oculomotor, núcleo vermelho, putâmen
C	Congestão, edema perineuronal e perivascular, TNCEs**	Núcleos cerebelares e vestibulares, substância negra, córtex telencefálico, núcleos da base, cápsula interna.
D	Congestão, edema perineuronal e perivascular, TNCEs, hemorragia perivascular bilateral simétrica acentuada	Núcleos cerebelares e vestibulares, córtex telencefálico, núcleos da base, cápsula interna.
E	Congestão, edema perineuronal e perivascular, TNCEs, hemorragia perivascular bilateral simétrica acentuada, neurópila “laceado” e rarefeito	Núcleos cerebelares e vestibulares, trato vestibular espinhal
F	Hemorragia perivascular bilateral simétrica associada a TNCEs edema perivascular e perineuronal, congestão e hemorragia submeníngea. Congestão, edema perineuronal e perivascular. Distensão da bainha de mielina, esferóides axonais	Núcleos cerebelares e vestibulares

*Todos os suínos apresentavam congestão acentuada das leptomeninges. Os núcleos cerebelares mencionados na tabela incluem os núcleos fastigial, interposto e lateral e os núcleos vestibulares incluem os núcleos vestibular medial e vestibular lateral. **TNCEs = tumefação do núcleo das células endoteliais.

As lesões microscópicas encontradas no suíno afetado espontaneamente na propriedade e dos suínos A e B do experimento foram idênticas quanto ao tipo e estadiamento. Essas lesões eram mais crônicas (ou menos agudas) que as descritas anteriormente (Suínos C-F) e consistiam de focos de malacia bem definidos e simétricos, onde a neurópila era substituída por aglomerados de macrófagos espumosos em estreita aposição, esferóides axonais e áreas de desmielinização com câmaras de digestão. Nessas áreas havia desaparecimento de neurônios e astrocitose. Tipicamente, no interior das áreas de necrose e na sua periferia, os vasos exibiam tumefação dos núcleos das células endoteliais (Figuras 21-23). Áreas de malacia como as descritas acima tinham distribuição multifocal e bilateralmente simétrica e foram observadas nos núcleos cerebelares fastigial, interposto e lateral e nos núcleos vestibulares medial e lateral nos suínos A (Figura 24), B e no suíno do surto espontâneo; e nos núcleos mesencefálicos oculomotor (Fig 25) e núcleo vermelho e no putâmen no suíno B (Tabela 2).

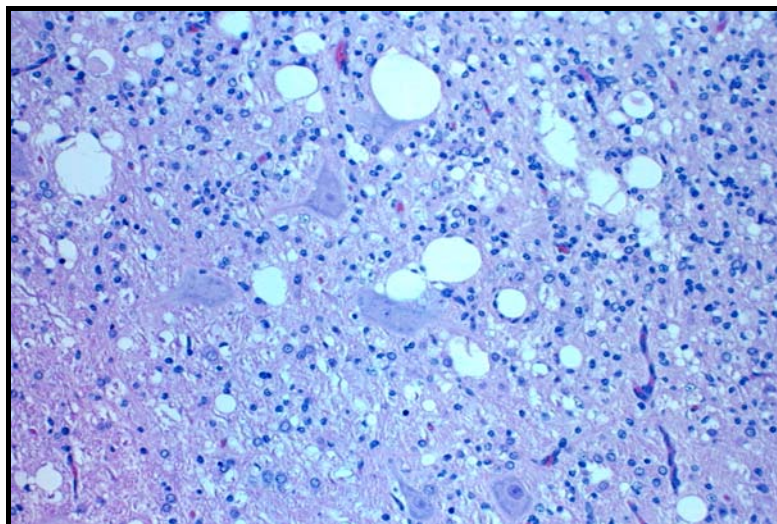


FIGURA 21. Encefalomalacia focal simétrica em suínos causada por ingestão de sementes de *Aeschynomene indica*. Suíno B. Putâmen. Áreas de desmielinização com câmaras de digestão e astrocitose. Hematoxilina e eosina.

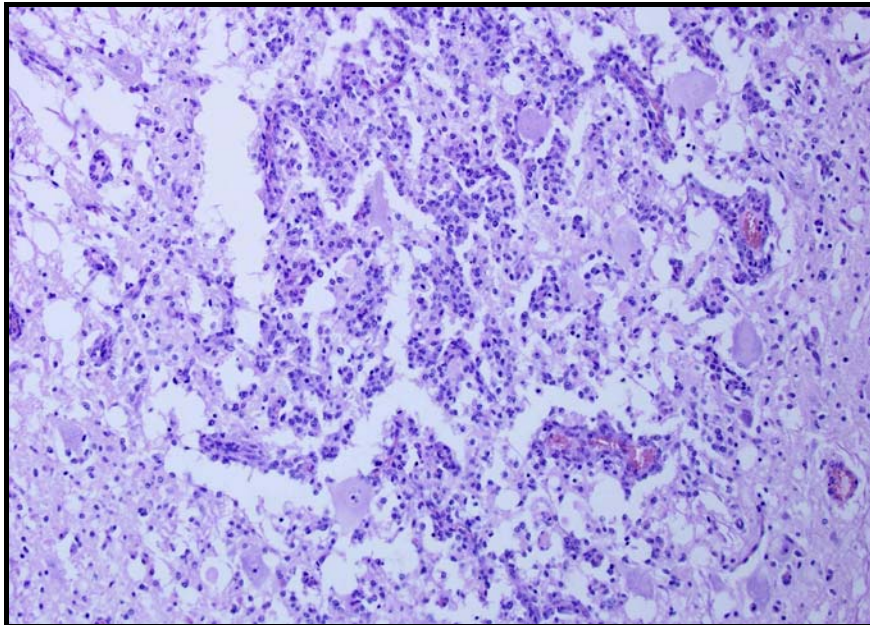


FIGURA 22. Encefalomalacia focal simétrica em suínos causada por ingestão de sementes de *Aeschynomene indica*. Suíno B. Núcleo mesencefálico oculomotor. Um grande número de células mesodérmicas (células *gitter*) afluiu para o foco de lesão e define a área de malacia através de fagocitose. Hematoxilina e eosina.

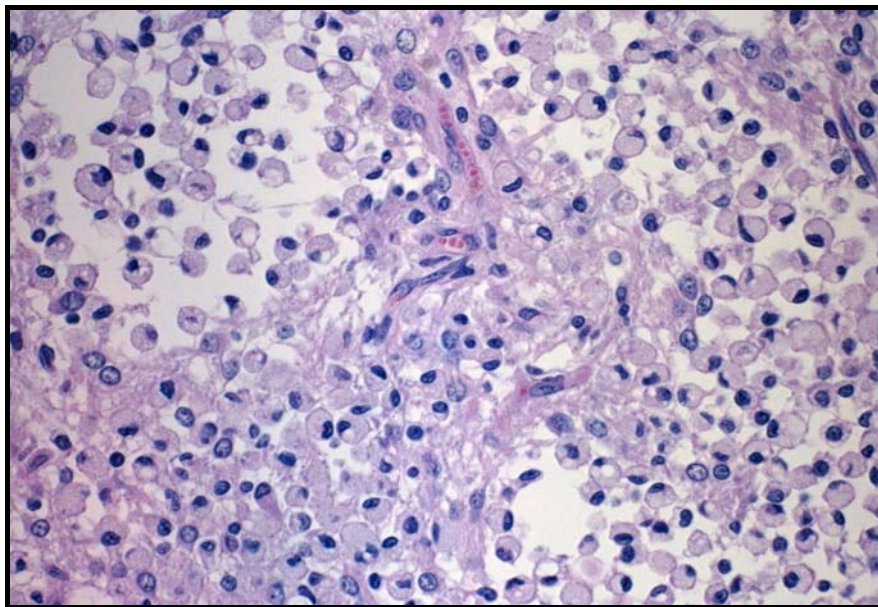


FIGURA 23. Encefalomalacia focal simétrica em suínos causada por ingestão de sementes de *Aeschynomene indica*. Suíno B. Foco de malacia no núcleo vestibular lateral. A arquitetura da neurópila é obliterada por numerosas células *gitter* estreitamente agrupadas e alguns vasos sanguíneos com células endoteliais tumefeitas. Hematoxilina e eosina.

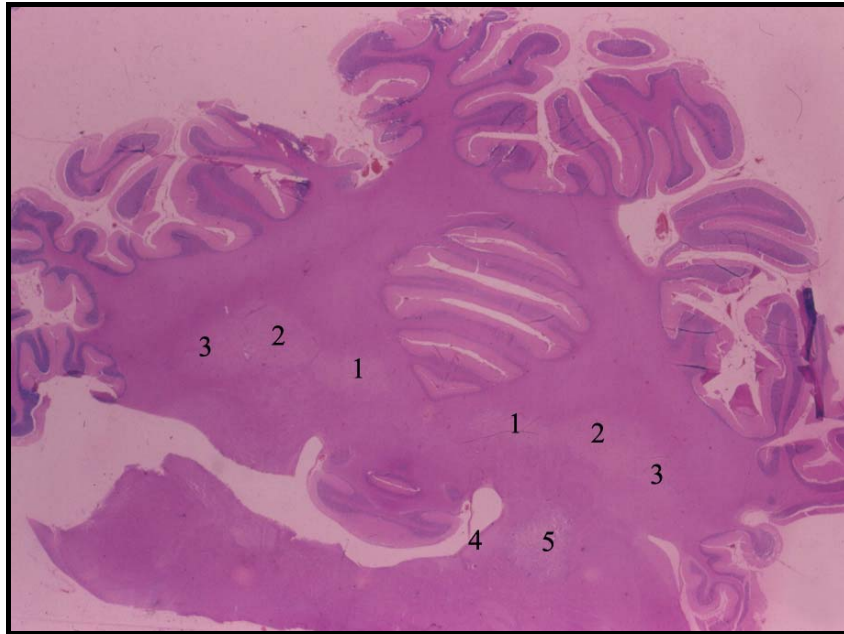


FIGURA 24. Encefalomalacia focal simétrica em suínos causada por ingestão de sementes de *Aeschynomene indica*. Suíno B. Aspecto submacroscópico do cerebelo. As áreas pálidas são focos de malacia nos núcleos cerebelares fastigial (1), interposto (2) e lateral (3) e nos núcleos vestibulares medial (4) e lateral (5). Hematoxilina e eosina.



FIGURA 25. Encefalomalacia focal simétrica em suínos causada por ingestão de sementes de *Aeschynomene indica*. Suíno B. Aspecto submacroscópico dos focos de malacia bilaterais e simétricos no núcleo oculomotor. Hematoxilina e eosina.

5 DISCUSSÃO

O diagnóstico de intoxicação por *Aeschynomene indica* neste estudo foi confirmado pelos dados epidemiológicos, sinais clínicos, achados patológicos, pela presença das sementes contaminantes na quirera de arroz e pela reprodução experimental da doença através da alimentação de suínos com ração contaminada (RC) por sementes de *A. indica*.

A descrição original dessa forma de intoxicação (Timm, 1996; Riet-Correa *et al.*, 2003) relata que, dos suínos que ingeriram 3%, 6%, e 13% de RC por sementes de *A. indica*, somente os do último grupo adoeceram e todos os suínos afetados se recuperaram. No surto deste relato, no entanto, ocorreram taxas de mortalidade e letalidade respectivamente de 8,5%-20% e 25%-66%. Essa diferença nas observações certamente está relacionada à dose das sementes tóxicas na ração. Neste estudo, a ingestão de RCs com 20% sementes de *A. indica* foram fatais para suínos, mas não com RCs com 10%, 15% e 16,5% de sementes de *A. indica*. Os três suínos que morreram ingeriram a RCs com 20% sementes de *A. indica* voluntária e rapidamente, o que pode perfeitamente ocorrer em situações de intoxicação acidental e portanto, a ocorrência de surtos espontâneos desta intoxicação com mortalidade alta talvez seja mais comum do que se pensava até aqui.

Neste estudo, o consumo de aproximadamente 1 kg de RC com 20% de sementes de *A. indica* causou a morte de 3 suínos com 19, 20 e 29 kg de peso corporal. Isso indica uma dose letal entre 6,6 e 10 g/kg. Esses suínos consumiram menor quantidade de sementes por dia do que suínos de um experimento anterior (Riet-Correa *et al.*, 2003),

que consumiram um total de 20 g/kg de sementes de *A. indica*, porém ao longo de 6 dias (média de 3,3 g/kg/dia); como já havia sido notado (Riet-Correa *et al.*, 2003), suínos que ingerem a RC sofregamente, desenvolvem os sinais clínicos em menos tempo.

A julgar pela informação fornecida pelo proprietário, os suínos afetados na propriedade descrita neste relato recebiam uma RC com 8% de sementes de *A. indica*; como os suínos afetados tinham ao redor de 45 dias, estima-se que tivessem cerca de 10-15 kg. Se esses suínos ingerissem cerca de 500 a 1000 g de RC por dia – o que é estimado para suínos dessa faixa etária e peso (Driemeier, 2004)¹ teriam ingerido entre 4 e 8 g/kg/dia de sementes. Portanto, suínos dessa propriedade que tivessem ingerido sofregamente um kg da RC em um dia poderiam ter desenvolvido a doença com desenlace fatal, uma vez que teriam ingerido acima da dose tóxica letal.

O animal adulto (uma fêmea de 3 anos) incluído no experimento mostrou sinais clínicos e lesões comparáveis às dos animais jovens, após ter ingerido cerca de 2,3 g/kg/peso corporal. Isso sugere que suínos adultos são igualmente susceptíveis à intoxicação. É incerto se esse suíno teria se recuperado caso não tivesse sido eutanasiado. No momento da eutanásia, essa porca não se alimentava mais.

Neste estudo, o consumo de sementes de *A. indica* causou lesões nos núcleos cerebelares e vestibulares, como já havia sido descrito (Riet-Correa *et al.*, 2003), mas adicionalmente causou lesões simétricas de malacia em outras regiões específicas do encéfalo como núcleos da base e núcleos mesencefálicos. Sugere-se assim, que a

¹ Driemeier, David. Comunicação Pessoal. Departamento de Patologia Clínica Veterinária, Setor de Patologia Clínica Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Av. Bento Gonçalves, 9090, Cx. Postal 15094. 91540-000 Porto Alegre, RS. davetpat@ufrgs.br

denominação “encefalomalacia focal simétrica em suínos” seja mais adequada para descrever a enfermidade.

A natureza da toxina presente nas sementes de *A. indica* é desconhecida, embora experimentos realizados com a administração de várias frações químicas de sementes da planta a camundongos tenham avançado um pouco o conhecimento nessa área (Haraguchi *et al.*, 2003). As alterações histológicas observadas nos suínos afetados indicam que o princípio ativo das sementes de *A. indica* seja uma angiotoxina que causa lesão às células do revestimento vascular (endotélio). Isso é sugerido pela tumefação endotelial, edema e hemorragia que ocorrem nos casos mais agudos. Uma patogênese semelhante é descrita para a doença do edema de suínos (Kurtz *et al.*, 1969; Kurtz & Quast, 1982; Nakamura *et al.*, 1982; Francis *et al.*, 1989; Storts, 1998; Summers *et al.*, 1995) e para a encefalomalacia focal simétrica dos cordeiros (EFS) (Griner, 1961; Griner & Carlson, 1961; Worthington *et al.*, 1973; Buxton & Morgan, 1976; Finnie, 1984). No primeiro caso, a angiotoxina é uma substância produzida por certas cepas β -hemolíticas de *Escherichia coli*, conhecida como princípio da doença do edema “toxina shiga-símile” variante tipo II ou SLT-IIv (MacLeod *et al.*, 1991; Francis *et al.*, 1989; Imberechts *et al.*, 1992). No segundo (EFS), a causa é a substância angiotóxica — toxina épsilon — produzida por *Clostridium perfringens* tipo D (Worthington *et al.*, 1973; Buxton & Morgan, 1976; Finnie, 1984). O que é notavelmente semelhante entre as lesões e possível patogênese dessas duas doenças e a intoxicação por sementes de *A. indica* em suínos é que as lesões causadas por doses altas produzem uma morte rápida com lesões vasculares agudas (edema e hemorragia); animais que recebem doses subletais ou que permitam uma sobrevida maior, desenvolvem focos de malacia no

encéfalo. Na enterotoxemia clássica pela toxina de *C. perfringens* tipo D, o curso clínico é agudo ou superagudo, a toxina é abundante no intestino e as lesões cerebrais são, na maioria das vezes, microscópicas, mas obedecem a uma distribuição semelhante às encontradas no EFS; nessa última condição as lesões cerebrais podem ser observadas macroscopicamente como focos bilaterais e simétricos de malacia localizados na cápsula interna e nos núcleos basais adjacentes, no tálamo, no mesencéfalo e nos pedúnculos cerebelares (Hartley, 1956; Barlow, 1958). De forma semelhante, doença aguda fatal nos suínos intoxicados com sementes de *A. indica*, as lesões macroscópicas são de lesões vasculares como hiperemia, edema e hemorragia, mas os animais que sobrevivem desenvolvem focos de malacia simétricos e bilaterais e conspícuos.

Desse modo, é proposto que a patogênese da intoxicação por *A. indica* inicia por lesão vascular com tumefação de células endoteliais, edema vasogênico (aumento da permeabilidade) e hemorragia. Com o passar do tempo, essa lesão evolui para distensão da bainha de mielina e morte neuronal por hipóxia. Os monócitos do sangue e a micróglia residual fagocitam o tecido necrótico formando um número grande de células “gitter” que caracteriza os focos de necrose. A susceptibilidade de certos locais do cérebro para malacia é bastante conhecida (Innes & Saunders, 1962; Storts, 1998; Summers *et al.*, 1995).

Além das duas doenças acima mencionadas, lesões de necrose focal simétrica em áreas específicas do encéfalo, como as descritas nos casos deste relato, ocorrem em outras doenças de animais domésticos associadas a intoxicações. A ingestão de plantas do gênero *Centaurea* causa necrose do globo pálido e substância negra em equinos (Cordy, 1954; Fowler, 1965; Larson & Young, 1970; Young *et al.* 1970a,b; Gard &

Sarem, 1973; Cordy, 1978; Perdomo & De Freitas, 1978; Selfero *et al.*, 1989) e a intoxicação por selênio causa, em suínos, malacia focal simétrica da substância cinzenta dos cornos ventrais nas intumescências cervical e lombar da medula espinhal (Wilson & Drake, 1981; Harrison *et al.*, 1983; Wilson *et al.*, 1983; Casteel *et al.*, 1985).

É interessante notar que a intoxicação por selênio, que causa somente lesões na medula espinhal, apresenta sinais clínicos muito semelhantes aos da intoxicação por sementes de *A indica*, o que deve ser de interesse para o diagnóstico diferencial, uma vez que o exame neurológico detalhado em suínos é bastante difícil. Embora não se tenha colhido a medula espinhal de qualquer dos animais necropsiados neste estudo, sugere-se que isso deva ser realizado em casos de suspeita da intoxicação por sementes de *A indica* no futuro.

A velocidade com que se desenvolvem os focos de malacia na intoxicação por sementes de *A indica* em suínos é também incomum. Tradicionalmente é aceito que estágios bem desenvolvidos de malacia ocorram por volta de duas semanas ou mais após o insulto (Innes & Saunderts 1962; Storts 1998). No entanto, os Suínos A e B foram submetidos à eutanásia respectivamente 36 e 72 horas após o início do experimento e mostravam áreas de malacia completamente desenvolvidas.

Todos os sete suínos necropsiados neste estudo mostravam acentuada hiperemia das leptomeninges, indicando que isso não é uma lesão fortuita e que deve ser útil na formulação do diagnóstico, quando considerada junto com outros fatores.

6 CONCLUSÕES

1. A ingestão de sementes de *Aeschynomene indica* pode provocar intoxicação letal em suínos quando ingerida em doses elevadas durante um curto período de tempo.

2. Suínos adultos e jovens são igualmente sensíveis à intoxicação.

3. A intoxicação não provoca malacia apenas nos núcleos cerebelares e vestibulares, mas também em diversos núcleos importantes como oculomotor, núcleo vermelho, substância negra, putâmen, com distribuição focal e simétrica.

4. O mecanismo patogênico das lesões degenerativas e focais do encéfalo é mediado por lesão vascular, aumento de permeabilidade, edema e hemorragia da neurópila e, finalmente, malacia. A patogênese das lesões é semelhante à da doença do edema em suínos e à da encefalomalacia focal simétrica em cordeiros.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARLOW, R. Focal symmetrical encephalomalacia in lambs. **The Veterinary Record**, v. 70, p. 884, 1958.

BERTSCHINGER, H.U.; POHLENZ, J. Cerebrospinale Angiopathie bei Ferkeln mit experimenteller Coli-Enterotoxämie. **Schweizer Archiv für Tierheilkunde**, v. 116, p. 543-554, 1974.

BONNIWELL, M.A.; BARLOW, R.M. Ataxia/paresis syndrome of sheep in West Africa associated with bilateral multifocal cerebrospinal poliomalacia. **The Veterinary Record**, v. 116, p. 94-97, 1985.

BURROWS G.E.; TYRL R.J. **Toxic plants of North America**. Iowa State University Press. Cap. 13. 2001. p. 147-254. 1342p.

BUXTON, D.; LINKLATER, K.A.; DYSON D.A. Pulpy kidney disease and its diagnosis by histological examination. **The Veterinary Record**, v. 102, p. 241, 1978.

BUXTON, D.; MacLEOD N.S.M.; NICOLSON, T.B. Focal symmetrical encephalomalacia in young cattle. **The Veterinary Record**, v. 108, p. 459, 1981.

BUXTON, D.; MORGAN, K.T. Studies of lesions produced in the brains of colostrum

deprived lambs by *Clostridium welchii* (*Cl. perfringens*) type D toxin. **Journal of Comparative Pathology**, v. 86, p. 435-447, 1976.

CASTEEL, S.W.; OSWEILER, G.D.; COOK, W.O. *et al.* Selenium toxicosis in swine. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 186, p. 1084-1085, 1985.

CHENG, C.H.K.; COSTALL, B.; HAMBURGER, M. *et al.* Toxic effects of solstitialin A 13-acetate and cynaropicrin from *Centaurea solstitialis* L. (*Asteraceae*) in cell cultures of foetal rat brain. **Neuropharmacology**, v. 31, p. 271-277, 1992.

CLUGSTON, R.E.; NIELSEN, N.O.; SMITH, D.L.T. Experimental edema disease of swine (*E. coli* enterotoxemia): III. Pathology and pathogenesis. **Canadian Journal of Comparative Medicine**, v. 38, p. 34-43, 1974.

COLODEL, E.M.; DRIEMEIER, D.; SCHIMITZ, M. *et al.* Enterotoxemia em caprinos no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 23, p. 173-178, 2003.

CORDY, D.R. *Centaurea* species and equine nigropallidal encephalomalacia. In: KEELER, R.F.; VAN KAMPEN K.R.; JAMES, L.F. **Effects of poisonous plants on livestock**, New York, Academic Press, 1978, p. 327-336.

CORDY, D.R. Nigropallidal encephalomalacia in horses associated with ingestion of

yellow star thistle. **Journal of Neuropathology and Experimental Neurology**, v. 13. p. 330-342, 1954.

CORDY, D.R.; EAST, N.E.; LOWENSTINE, U. Caprine encephalomyelomalacia. **Veterinary Pathology**, v. 21, p. 269-273, 1984.

FINNIE, J.W. Histopathological changes in the brain of mice given *Clostridium perfringens* type D epsilon toxin. **Journal of Comparative Pathology**, v. 94, p. 363-370, 1984.

FOWLER, M.E. Nigropallidal encephalomalacia in the horse. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.15, p. 607-616, 1965.

FRANCIS, D.H.; MOXLEY, R.A.; ANDRAOS, C.Y. Edema disease-like brain lesions in gnotobiotic piglets infected with *Escherichia coli* serotype 0157:H7. **Infection and Immunity**, v. 57, p. 1339-1342, 1989.

FRANK A.A.; HEDSTROM O.R.; BRASELTON W.E. *et al.* Multifocal polioencephalomalacia in Simmental calves with elevated tissue aluminum and decreased tissue copper and manganese. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 4, p. 353-355, 1992.

GARD, G.P.; SAREM, W.G. Nigropallidal encephalomalacia in horses in New South

Wales. **Australian Veterinary Journal**, v. 49, p. 107-108, 1973.

GRINER, L.A. Enterotoxemia of sheep: I, effects of *Clostridium perfringens* type D toxin on the brains of sheep and mice. **American Journal of Veterinary Research**, v. 22, p. 429-442, 1961.

GRINER, L.A.; CARLSON, W.D. Enterotoxemia of sheep: II, distribution of iodine 131 radioiodinated serum albumin in brains of *Clostridium perfringens* type D intoxicated lambs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 22, p. 443-446, 1961.

HARAGUCHI, M.; GÓRNIAK, S.L., BAILARDI, C.E.G. *et al.* Neurotoxicity to pigs and rodents from different fractions of *Aeschynomene indica* seeds. **Veterinary and Human Toxicology**, v. 45, p. 177-179, 2003.

HARDING, J.D.J. A cerebrospinal angiopathy in pigs. **Pathologia Veterinaria**, v. 3, p. 83-88, 1966.

HARRINSON, P.J. On the neuropathology of schizophrenia and its dementia: neurodevelopmental, neurodegenerative, or both? **Neurodegeneration**, v. 4, p. 1-12, 1995.

HARRISON, L.H.; COLVIN, B.M.; STUART, B.P. *et al.* Paralysis in swine due to

focal symmetrical poliomalacia: possible selenium toxicosis. **Veterinary Pathology**, v. 20, p. 265-273, 1983.

HARTLEY, W.J. A focal symmetrical encephalomalacia of lambs. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 4, p. 129-135, 1956.

HARTLEY, W.J.; KATER, J.C. Observations on diseases of the central nervous system of sheep in New Zealand. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 10, p.128-142, 1962.

HOUÉROU, H. L.; RIVEROS, F.; SKERMAN, P.J. *Aeschynomene indica* L. Capturado em 7 dez. 2004. Online. Disponível na Internet <http://www.fao.org/WAICENT/FAOINFO/AGRICULT/AGP/AGPC/doc/GBASE/Data/Pf000003.HTM> 1.html.

IMBERECHTS, H; DE GREVE, H.; LINTERMANS. P. The pathogenesis of edema disease in pigs. A review. **Veterinary microbiology**, v. 31, p. 221-233, 1992.

INNES, J.R.M.; PLOWRIGHT, W. Focal symmetrical poliomalacia of sheep in Kenya. **Journal of Pathology and Experimental Neurology**, v. 14, p. 185-197, 1955.

INNES, J.R.M. & SAUNDERS L.Z. Encephalomalacia and myelomalacia. In: _____. **Comparative Neuropathology**. New York : Academic Press, 1962. 839 p. Cap. 15, p. 607-609.

KISSMANN, K.G.; GROTH, D. **Plantas infestantes e nocivas**. São Paulo : BASF Brasileira S.A., 1997. v. 2, p. 683-685.

KURTZ, H.J.; BERGELAND, M.E.; BARNES, D.M. Pathologic changes in edema disease of swine. **American Journal of Veterinary Research**, v. 30, p. 791-806, 1969.

KURTZ, H.J.; QUAST, J. Effects of continuous intravenous infusion of *Escherichia coli* endotoxin into swine. **American Journal of Veterinary Research**, v. 43, p. 262-268, 1982.

KURTZ, H.J.; SHORT, E.C. Pathogenesis of edema disease in swine: Pathological effects of hemolysin, autolysate, and endotoxin of *Escherichia coli* (O141). **American Journal of Veterinary Research**, v. 37, p. 15-24, 1976.

LARSON, K.A.; YOUNG, S. Nigropallidal encephalomalacia in horses in Colorado. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 1, p. 626-628, 1970.

MacLEOD, D.L.; GYLES, CL; WILCOCK, B.P. Reproduction of edema disease of swine with purified Shiga-like toxin-II variant. **Veterinary Pathology**, v. 28, p. 66-7, 1991.

MAIA, A.S.S.F.; BARBOSA, E.R.; MENEZES, P.R. *et al.* Relationship between obsessive-compulsive disorders and diseases affecting primarily the basal ganglia.

Revista do Hospital de Clínicas da Faculdade de Medicina. São Paulo, v. 54, p. 213-221, 1999.

METTLER, F.A.; STERN, G.M. Observations on the toxic effects of yellow star thistle. **Journal of Neuropathology and Experimental Neurology**, v. 22, p. 164-169, 1963.

MUNDAY, B.L.; MASON, R.W.; CUMMING, R. Observations on diseases of the central nervous system of cattle in Tasmania. **Australian Veterinary Journal**, v. 49, p. 451-455, 1973.

MUNDAY, B.L.; MASON, R.W.; HARTLEY, W.J. Encephalopathies in cattle in Tasmania. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 52, p. 92-96, 1976.

NABUURS, M.J.A.; VAN DE WEIJGERT, A.F.; GROOTENDORST, A.F. *et al.* Edema disease is associated with metabolic acidosis and small intestinal acidosis. **Research in Veterinary Science**, v. 70, p. 247-253, 2001.

NAKAMURA, K.; KUBO, M.; SHOYA, S. *et al.* Swine cerebrospinal angiopathy with demyelination and malacia. **Veterinary Pathology**, v. 19, p. 140-149, 1982.

NÉSPOLI, P.B.; DUARTE, M.D.; BEZERRA Jr., P.S. *et al.* Aspectos clínico-patológicos da intoxicação experimental por selenito de sódio em equinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 21, p. 109-116, 2001.

O'SULLIVAN B.M.; BLAKEMORE, W.F. Acute nicotinamide deficiency in pigs. **The Veterinary Record**, v. 103, p. 543-544, 1978.

O'SULLIVAN B.M.; BLAKEMORE, W.F. Acute nicotinamide deficiency in the pig induced by 6-aminonicotinamide. **Veterinary Pathology**, v. 17, p. 748-758, 1980.

PALMER A.C.; LAMONT M.H.; WALLACE, M.E. Focal symmetrical poliomalacia of the spinal cord in Ayrshire calves. **Veterinary Pathology**, v. 23, p. 506-509, 1986.

PERDOMO, E.; DE FREITAS, A. Intoxicación em eqüinos por *Centaurea solstitialis*. **Veterinária**, Uruguai, v. 14, p. 137-140, 1978.

RIET-CORREA, F.; TIMM C.D.; BARROS, S.S. *et al.* Symmetric focal degeneration in the cerebellar and vestibular nuclei in swine caused by ingestion of *Aeschynomene indica* seeds. **Veterinary Pathology**, v. 40, p. 311-316, 2003.

ROBLES, M.; WANG, N.; KIM, R. *et al.* Cytotoxic effects of repin, a principal sesquiterpene lactone of Russian knapweed. **Journal of Neuroscience Research**, v. 47, p. 90-97, 1997.

ROY, D.N.; PEYTON, D.H.; SPENCER, P.S. Isolation and identification of two potent neurotoxins, aspartic acid and glutamic acid, from yellow star thistle (*Centaurea solstitialis*). **Natural Toxins**, v. 3, p. 174-180, 1995.

SELFERO, N.A.; MERLASSINO, J.L.; ANDISIO, S. Intoxicación por abrepúños (*Centaurea solstitialis*). Evolución terapéutica. *Therios*, v. 13, p. 42-44, 1989.

SHANKS, P.L. An unusual condition affecting the digestive organs of the pig. **The Veterinary Record**, v. 50, p. 356-358, 1938.

STAHL, C.H.; CALLAWAY, T.R.; LINCOLN, L.M. *et al.* Inhibitory activities of colicins against *Escherichia coli* strains responsible for postweaning diarrhea and edema disease in swine. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 48, p. 3119-3121, 2004.

STORTS, R.W. O sistema nervoso. In: McGAVIN, M.D.; CARLTON, W.W. **Patologia Especial de Thomson**. ArtMed : Porto Alegre, 2 ed. 1998, 672p, p. 353-416.

SUMMERS, B.A.; CUMMINGS, J. F.; de LAHUNTA, A. Degenerative diseases of the central nervous system. In: _____. **Veterinary Neuropathology**. St. Louis : Mosby, 1995. Cap. 5. 527p, p. 208-350.

TIMM, C.D. Intoxicação por *Aeschynomene* sp. em suínos. Tese de Mestrado. Universidade Federal de Pelotas, 27 p. 1996.

TIMM, C.D.; FERREIRA, A.P.S.; GRECCO F.B. *et al.* Intoxicação por sementes de *Aeschynomene* sp. em suínos. **Boletim do Laboratório Regional de Diagnóstico**. UFPel. n. 16, p. 39-42, 1996. 108p.

WENTZ I.; OLIVEIRA, F.N.; SALLIS, E.S.V. *et al.* Intoxicação por sementes de *Aeschynomene* sp. em suínos no RS. **X Encontro Nacional de Patologia Veterinária**, Pirassununga-SP, p. 2001. p.

WILSON T.M.; CRAMER P.G.; OWEN R.L., *et al.* Porcine focal symmetrical poliomyelomalacia: test for an interaction between dietary selenium and niacin. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 53, p. 454-461, 1989.

WILSON, T.M.; DRAKE, T.R. Porcine focal symmetrical poliomyelomalacia. **Canadian Journal of Comparative Medicine**, v. 46, p. 218-220, 1982.

WILSON, T.M.; SCHOLZ, R.W.; DRAKE T.R. Selenium toxicity and porcine focal symmetrical poliomyelomalacia: description of a field outbreak and experimental reproduction. **Canadian Journal of Comparative Medicine**, v. 47, p. 412-421, 1983.

WORTHINGTON, R.W.; MÜLDERS, M.S.G.; VAN RENSBURG, J.J. Enzymatic activation of *Clostridium perfringens* epsilon protoxin and some biological properties of activated toxin. **Onderstepoort Journal of Veterinary Research**, v. 40, p. 153-156, 1973.

YOSHIKAWA, T.; HIRUMA, M.; TSUBAKI, S. An epizootic outbreak of "cerebrospinal angiopathy" in swine. **Japanese Journal of Veterinary Science**, v. 40, p. 97-102, 1978.

YOUNG, S.; BROWN, W.W.; KLINGER, B. Nigropallidal encephalomalacia in horses caused by ingestion of weeds of the genus *Centaurea*. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 157, p. 1602-1605, 1970a.

YOUNG, S.; BROWN, W.W.; KLINGER, B. Nigropallidal encephalomalacia in horses fed Russian knapweed (*Centaurea repens* L.). **American Journal of Veterinary Research**, v. 31, p. 1393-1404, 1970b.