

**UFRRJ**  
**INSTITUTO DE VETERINÁRIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**  
**(PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS)**

**DISSERTAÇÃO**

**DESENVOLVIMENTO DE PROTOCOLO PARA COLETA DE**  
**AMOSTRAS DOS NÚCLEOS DA BASE DO CÉREBRO DE BOVINOS E**  
**EQUINOS, PARA EXAME HISTOPATOLÓGICO**

**ALINE ANDRADE GOMES**

**2022**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA  
(PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS)**

**DESENVOLVIMENTO DE PROTOCOLO PARA COLETA DE  
AMOSTRAS DOS NÚCLEOS DA BASE DO CÉREBRO DE BOVINOS E  
EQUINOS, PARA EXAME HISTOPATOLÓGICO**

**ALINE ANDRADE GOMES**

Sob a Orientação do Professor  
**Daniel Guimarães Ubiali**

Sob a co-orientação do Professor  
**Luciano da Silva Alonso**

Dissertação submetida como requisito para obtenção do grau de **Mestre em Medicina Veterinária**, no curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de concentração em Patologia e Ciências Clínicas.

**Seropédica, RJ  
Fevereiro de 2022.**

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

AG633d  
d Andrade Gomes, Aline, 1992-  
DESENVOLVIMENTO DE PROTOCOLO PARA COLETA DE  
AMOSTRAS DOS NÚCLEOS DA BASE DO CÉREBRO DE BOVINOS E  
EQUINOS, PARA EXAME HISTOPATOLÓGICO / Aline Andrade  
Gomes. - Seropédica, 2022.  
54 f.: il.

Orientador: Daniel Guimarães Ubiali.  
Coorientador: Luciano da Silva Alonso.  
Dissertação (Mestrado). -- Universidade Federal  
Rural do Rio de Janeiro, Medicina Veterinária -  
Patologia e Ciências Clínicas, 2022.

1. Neuropatologia. 2. Neurofisiologia. 3.  
Neuroanatomia. 4. Histopatologia. I. Guimarães  
Ubiali, Daniel, 1985-, orient. II. da Silva Alonso,  
Luciano, 1973-, coorient. III Universidade Federal  
Rural do Rio de Janeiro. Medicina Veterinária -  
Patologia e Ciências Clínicas. IV. Título.

Ativa  
Acesse

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

ALINE ANDRADE GOMES

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre**, no Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração em Patologia e Ciências Clínicas.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM: 24/02/2022

**Conforme deliberação número 001/2020 da PROPPG, de 30/06/2020**, tendo em vista a implementação de trabalho remoto e durante a vigência do período de suspensão das atividades acadêmicas presenciais, em virtude das medidas adotadas para reduzir a propagação da pandemia de Covid-19, nas versões finais das teses e dissertações as assinaturas originais dos membros da banca examinadora poderão ser substituídas por documento(s) com assinaturas eletrônicas. Estas devem ser feitas na própria folha de assinaturas, através do SIPAC.

---

Dr. LUCIANO DA SILVA ALONSO, UFRRJ.

(Orientador/ Presidente da Banca)

---

Dra. MARILENE DE FARIAS BRITO QUEIROZ, UFRRJ.

---

Dr. CARLOS AUGUSTO DOS SANTOS SOUSA, UFAC.



Emitido em 25/02/2020

TERMO Nº 606/2020 - PPGMV (12.28.01.00.00.00.51)

(Nº do Protocolo: NÃO PROTOCOLADO)

*(Assinado digitalmente em 26/02/2022 11:11 )*

LUCIANO DA SILVA ALONSO

PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR

Dept:Anat:AH (12.28.01.00.00.00.44)

Matricula: 1281417

*(Assinado digitalmente em 02/03/2022 15:45 )*

MARILENE DE FARIAS BRITO QUEIROZ

PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR

DESP (12.28.01.00.00.00.52)

Matricula: 6387102

*(Assinado digitalmente em 26/02/2022 09:02 )*

CARLOS AUGUSTO DOS SANTOS SOUSA

ASSINANTE EXTERNO

CPF: 113.489.707-31

Para verificar a autenticidade deste documento entre em <https://sipac.ufrrj.br/documentos/> informando seu número:  
**606**, ano: **2020**, tipo: **TERMO**, data de emissão: **26/02/2022** e o código de verificação: **a7008f48d5**

## AGRADECIMENTOS

Dedico este trabalho primeiramente a Deus que me permitiu mesmo diante a um período pandêmico de atribulações, conseguir finalizar este projeto de dissertação do Mestrado ciente que Ele é o maior Mestre da história.

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, e seu corpo docente, coordenação e administração que oportunizaram a janela que hoje vislumbro um horizonte superior, pelo crédito no mérito e ética aqui presentes.

Ao meu orientador, Dr. Luciano Alonso, sempre presente e paciente, por suas correções, orientações, compartilhamento profissional e sobretudo confiança no meu profissionalismo.

Agradeço a todos os professores por me proporcionarem o conhecimento não apenas racional, mas a manifestação do caráter e afetividade da educação no processo de formação profissional por tanto que se dedicaram a mim. Não poderia deixar de mencionar ao Prof. Dr. Carlos Augusto dos Santos Sousa que além de professor se tornou um grande amigo, e aos professores Dr. Daniel Guimarães Ubiali e Dr. Marcelo Abidu Figueiredo, sem a contribuição deles, este trabalho não existiria.

Agradeço á minha mãe Marilda, heroína que me deu apoio e amor incondicional, incentivo nas horas difíceis de desânimo e cansaço.

Ao meu pai José Daniel, que apesar de todas as tribulações experimentadas, a sua própria vida foi essencial para continuar esta trajetória com vigor!

Obrigada meus irmãos, que nos momentos de minha ausência dedicados aos estudos, sempre fizeram entender que o futuro é feito a partir da constante dedicação no presente!

Meus agradecimentos aos amigos de turma que mesmo sendo de forma EAD fizeram parte da minha formação e que vão continuar presentes em minha vida, em especial a Isabela Domingues e Camila Ferreira. Agradeço também de modo especial á minha prima Taís Guerra, que ouviu todas os meus descontentamentos e acreditou em mim mais do que eu mesma.

Agradeço á agência de fomento, Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro – FAPERJ, que financiaram o projeto de pesquisa através do programa “Bolsa Mestrado Nota 10 - 2021” (Processo SEI-260003/000028/2021).

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

## RESUMO

GOMES, Aline Andrade. **Desenvolvimento de protocolo para coleta de amostras dos núcleos da base do cérebro de bovinos e equinos, para exame histopatológico.** 2022. 54p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária - Patologia e Ciências Clínicas). Instituto de Veterinária, Departamento de Medicina e Cirurgia Veterinária. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2022.

Animais de produção acometidos por doenças que cursam com sintomatologia nervosa, devem ser necropsiados e fragmentos do sistema nervoso coletados para exame histopatológico. No que se refere à coleta de encéfalo, é importante a padronização de procedimentos e ao mesmo tempo a simplificação de protocolos. O presente trabalho justifica-se na importância em padronizar clivagens do cérebro na rotina em neuropatologia, maximizando a representatividade de estruturas subcorticais, com economia de processamento histológico. O objetivo foi descrever clivagens do cérebro para dois conjuntos de fragmentos de tecido nervoso obtidos em diferentes planos de secção, padronizando a localização dos núcleos constantes do corpo estriado, obtido através do corte transversal do telencéfalo ao nível do quiasma óptico; e outro conjunto, componentes do sistema límbico, obtido através do corte no plano dorsal do lobo piriforme. Foram utilizados 29 encéfalos de equinos e 11 encéfalos de bovinos constantes de amostra de conveniência de acervo laboratorial. Os encéfalos foram pesados formolizados e mensurados em seu comprimento e largura total, altura dos hemisférios direito e esquerdo ao nível do lobo piriforme e comprimento dos hemisférios direito e esquerdo. Após as mensurações, foram realizadas as clivagens e os fragmentos foram processados de acordo com a rotina histológica. As lâminas foram ilustrativas para a identificação microscópica das estruturas propostas. O peso médio dos encéfalos, cujo a concentração do formol era a 20%, foi de  $400,0 \pm 85,0$  gramas para bovinos e  $380,0 \pm 69,0$  gramas para equinos. Para os bovinos, os valores médios obtidos das mensurações foram: comprimento total do encéfalo (12,00 cm), comprimento do hemisfério direito (9,60 cm), comprimento do hemisfério esquerdo (9,50 cm), altura do hemisfério direito (6,20 cm), altura do hemisfério esquerdo (6,20 cm) e largura total do cérebro (9,10 cm). Para os equinos os valores médios foram: comprimento total do encéfalo (12,00 cm), comprimento do hemisfério direito (9,60 cm), comprimento do hemisfério esquerdo (9,60 cm), altura do hemisfério direito (6,00 cm), altura do hemisfério esquerdo (5,90 cm) e largura total do cérebro (8,52 cm). O corte transversal ao nível do quiasma óptico possibilitou o enquadramento das estruturas do corpo estriado em todas as amostras na posição vertical do cassete, à exceção do claustro nos fragmentos obtidos de cérebros de maior dimensão, em que a orientação dorsal acomodou o claustro. Para a amígdala cerebral, hipocampo e tálamo, o corte dorsal incidindo a parte caudal do sulco rinal lateral possibilitou a localização das referidas estruturas em todas as amostras. Imagens submacroscópicas das lâminas e as correlações com as peças clivadas auxiliaram na confirmação das identificações dos núcleos considerados neste trabalho. Conclui-se que os cortes adotados neste trabalho foram adequados para a clivagem visando a localização dos núcleos propostos, independente do peso e variáveis métricas do encéfalo consideradas neste estudo.

**Palavras-chave:** Neuroanatomia, neuropatologia, histopatologia.

## ABSTRACT

GOMES, Aline Andrade. **Development of a protocol for collecting samples from the basal ganglia of the brains of cattle and horses for histopathological examination.** 2022. 54p. Dissertation (Master's in Veterinary Medicine - Pathology and Clinical Sciences). Veterinary Institute, Department of Veterinary Medicine and Surgery. Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2022.

Production animals affected by diseases that present with nervous symptoms should be necropsied and fragments of the nervous system collected for histopathological examination. With regard to brain collection, it is important to standardize procedures and at the same time simplify protocols. The present work is justified by the importance of standardizing brain cleavages in the neuropathology routine, maximizing the representation of subcortical structures, with economy of histological processing. The objective was to describe brain cleavages for two sets of nervous tissue fragments obtained in different sectional planes, standardizing the location of the constant nuclei of the striatum, obtained through the transverse section of the telencephalon at the optic chiasm level; and another set, components of the limbic system, obtained through the cut in the dorsal plane of the piriform lobe. Twenty-nine equine brains and 11 bovine brains from a convenience sample from a laboratory collection were used. The brains were weighed with formalin and measured in terms of length and total width, height of the right and left hemispheres at the level of the piriform lobe, and length of the right and left hemispheres. After the measurements, cleavages were performed and the fragments were processed according to the histological routine. The slides were illustrative for the microscopic identification of the proposed structures. The average weight of the brains, whose formaldehyde concentration was 20%, was  $400.0 \pm 85.0$  grams for cattle and  $380.0 \pm 69.0$  grams for horses. For cattle, the mean values obtained from the measurements were: total brain length (12.00 cm), right hemisphere length (9.60 cm), left hemisphere length (9.50 cm), right hemisphere height (6.20 cm), left hemisphere height (6.20 cm) and total brain width (9.10 cm). For horses, the mean values were: total brain length (12.00 cm), right hemisphere length (9.60 cm), left hemisphere length (9.60 cm), right hemisphere height (6.00 cm), left hemisphere height (5.90 cm) and total brain width (8.52 cm). The cross section at the optic chiasm level made it possible to frame the structures of the striatum in all samples in the vertical position of the cassette, with the exception of the cloister in the fragments obtained from larger brains, in which the dorsal orientation accommodated the cloister. For the cerebral amygdala, hippocampus and thalamus, the dorsal cut incident on the caudal part of the lateral rhinal sulcus made it possible to locate these structures in all samples. Submacroscopic images of the blades and the correlations with the cleaved pieces helped to confirm the identifications of the cores considered in this work. It is concluded that the cuts adopted in this work were adequate for the cleavage aiming at the location of the proposed nuclei, regardless of the weight and metric variables of the brain considered in this study.

**Key words:** Neuroanatomy, neuropathology, histopathology.

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Média e desvio padrão das medidas em centímetros e os pesos em gramas dos encéfalos de Bovinos e Equinos mestiços.....	36
-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Fotomicrografia da vista dorsal do encéfalo de um bovino, sendo possível a visualização do telencéfalo, com giros e sulcos cerebrais; e mais caudalmente do cerebelo, com vérmis e hemisférios cerebelares apresentando folhas do cerebelo. Barra de escala = 2,0 cm ..... 16
- Figura 2:** Fotomicrografia dos recipientes com encéfalos de equinos e de bovinos seccionados transversalmente em segmentos de 5mm de espessura após a troca da primeira solução, e submergidos na solução de formalina a 20%. Barra de escala= 5,0 cm..... 29
- Figura 3:** Fotomicrografia da vista dorsal do encéfalo. Pesagem do encéfalo de um bovino. Barra de escala= 3,0 cm..... 29
- Figura 4:** Fotomicrografia dos encéfalos sendo mensurados em largura, comprimento e altura, sendo representadas por **A** e **B** vista dorsal e **C** vista lateral, respectivamente. Barra de Escala= 4,5 cm..... 30
- Figura 5:** Fotomicrografia do cassete adaptado para ilustrar o enquadramento das estruturas pretendidas. Barra de escala= 1,0 cm. .... 31
- Figura 6:** **A)** Fotomicrografia da vista lateral do encéfalo: separação do telencéfalo e diencefalo do conjunto do cerebelo e tronco encefálico, por secção ao nível do mesencéfalo. Barra de escala= 4,0 cm. **B)** Fotomicrografia da vista ventral demonstrando o cerebelo e tronco encefálico separados do cérebro. Barra de escala= 3,0 cm ..... 31
- Figura 7:** **A)** Fotomicrografia da vista ventral do Telencéfalo seccionado transversalmente, tangenciando rostralmente o quiasma óptico. Barra de escala= 3,0 cm. **B)** Fotomicrografia do corte transversal dos blocos de tecidos telencefálicos que seguirão para os cassetes histológicos após clivagem sob as medidas do cassete. Barra de escala= 3,0 cm..... 32
- Figura 8:** Fotomicrografia do corte transversal no enquadramento das estruturas no cassete histológico. Barra de Escala= 1,0 cm. **A)** Posição vertical e **B)** Posição horizontal. .... 33
- Figura 9:** **A)** Fotomicrografia da vista lateral do corte dorsal com inserção da lâmina na porção caudal do sulco rinal lateral e uma incisão perpendicular na porção caudal do lobo piriforme. Barra de escala= 2,5 cm **B)** Fotomicrografia dos blocos resultantes ao corte dorsal formando material para o processamento histológico. Barra de escala= 2,5 cm..... 33
- Figura 10:** **A)** Fotomicrografia dos blocos encefálicos, formados a partir do corte dorsal, com cassete na posição horizontal. Barra de escala= 2,5 cm. **B)** Fotomicrografia da posição vertical sobre o mesmo plano de clivagem. Barra de escala= 2,5 cm. .... 34
- Figura 11:** Fotomicrografia dos planos transversal e dorsal dos tecidos clivados e posicionado nos cassetes para posterior confecção das lâminas. Barra de escala= 1,0..... 35
- Figura 12:** Fotomicrografia da clivagem realizada em Equino, macho, com peso do cérebro de 574,7 gramas e 15 anos de idade. Barra de escala= 1,0 cm. **A)** Clivagem no plano transversal com a posição do cassete na vertical enquadrando as estruturas do NC= Núcleo Caudado, NL= Núcleo Lentiforme, CI= Cápsula Interna e HIP= hipotálamo. **B)** Clivagem no plano transversal com a posição do cassete na horizontal enquadrando as estruturas NC= Núcleo Caudado, NL= Lentiforme, CT= Claustro, HIP= Hipotálamo e CI= Cápsula Interna. **C)** Clivagem no plano dorsal com a posição do cassete na vertical enquadrando as estruturas AM= Amígdala, HC= Hipocampo e parte do TL= Tálamo. **D)** Clivagem no plano dorsal com a posição do cassete na horizontal enquadrando as estruturas AM= Amígdala, HC= Hipocampo e uma quantidade maior do TL= Tálamo..... 38
- Figura 13:** Fotomicrografia da clivagem realizada em um bovino com peso do cérebro de 271,2 gramas de 1 mês de idade. Barra de escala= 1,0 cm. **A)** Clivagem no plano transversal com a posição do cassete na vertical enquadrando as estruturas do GC= Giro do Cíngulo,

NC= Núcleo Caudado, NL= Núcleo Lentiforme, HIP= Hipotálamo, CI= Cápsula Interna e CT = Claustro **B)** Clivagem no plano transversal com a posição do cassete na horizontal enquadrando as estruturas do GC= Giro do Cíngulo, NC= Núcleo Caudado, NL= Núcleo Lentiforme, HIP= Hipotálamo, CI= Cápsula Interna e CT = Claustro. **C)** Clivagem no plano dorsal com a posição do cassete na vertical enquadrando as estruturas AM= Amígdala, HC= Hipocampo e TL= Tálamo. **D)** Clivagem no plano dorsal com a posição do cassete na horizontal enquadrando as estruturas AM= Amígdala, HC= Hipocampo e TL= Tálamo. ....39

**Figura 14:** Espécime bovina. **A)** Fotomicrografia da vista ventral ao plano transversal do telencéfalo. Barra de escala= 4,5 cm. **B)** Fotomicrografia do cassete adaptado (sem grade) ao corte transversal demonstrando as estruturas enquadradas: GC = giro do cíngulo; NC = núcleo caudado; NL = núcleo lentiforme; HIP = hipotálamo. Barra de escala= 3,0 cm. ....40

**Figura 15:** Espécime bovina. **A)** Fotomicrografia da vista lateral ao plano dorsal na altura do sulco rinal lateral. Barra de escala= 4,0 cm. **B)** Fotomicrografia ao plano dorsal da demonstração das estruturas enquadradas. HC= hipocampo, AM= Amígdala, TL= Tálamo e VL= Ventrículo Lateral. Barra de escala= 1,5 cm.....41

**Figura 16:** Fotomicrografia de um espécime Bovino Macho, 3 anos de idade, com 445,7 gramas de peso encefálico. **A)** Corte no plano transversal, realizado tangenciando o quiasma óptico na posição vertical com o cassete adaptado (sem grade) com as identificações das estruturas enquadradas: GC = Giro do Cíngulo; NC = Núcleo Caudado; NL = Núcleo Lentiforme; HIP = Hipotálamo, CI= Cápsula Interna; HIP=Hipotálamo e CT= Claustro. Barra de escala= 1,0 cm. **B)** Após a remoção da estrutura para o cassete histológico respeitando as margens de segurança do processamento de fixação, a imagem submacroscópica da lâmina e as correlações com a peça clivada auxiliam na confirmação das estruturas citadas na Figura A. Barra de escala= 1,0 cm.....42

**Figura 17:** Fotomicrografia de um espécime Bovino Macho, 3 anos de idade, com 445,7 gramas de peso encefálico. **A)** Corte dorsal ao nível do sulco rinal lateral do lobo piriforme, na posição vertical onde o cassete adaptado (sem grade, com identificação das estruturas no enquadramento: HC= Hipocampo, AM= Amígdala e TL= Tálamo. Barra de escala= 1,0 cm. **B)** Após a remoção da estrutura para o cassete histológico respeitando as margens de segurança do processamento de fixação, as imagens submacroscópicas das lâminas e as correlações com as peças clivadas auxiliam na confirmação das estruturas citadas na Figura A. Barra de escala= 1,0 cm.....43

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	12
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	14
	2.1 Neuroanatomia Macroscópica Encefálica .....	14
	2.1.1 Telencéfalo .....	14
	2.1.2 Diencéfalo .....	16
	2.1.3 Mesencéfalo .....	17
	2.1.4 Mielencéfalo .....	17
	2.1.5 Metencéfalo .....	18
	2.1.6 Núcleos da Base do Cérebro .....	19
	2.1.7 Histologia Encefálica Básica .....	21
	2.2 Neuropatologias .....	22
	2.2.1 Principais Neuropatias em Bovinos .....	22
	2.2.2 Principais Neuropatias em Equinos .....	24
	2.3 Coleta do Material Neuropatológico .....	26
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	28
	3.1 Coleta dos Encéfalos .....	28
	3.2 Processamento Macroscópico .....	29
	3.3 Clivagens dos Telencéfalos .....	30
	3.4 Processamento Histológico .....	34
	3.5 Análise Estatística .....	35
<b>4</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	36
	4.1 Morfometria dos Cérebros .....	36
	4.2 Aspectos morfológicos das secções de cérebros de bovinos e equinos com ênfase em núcleos da base .....	37
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	44
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	48
<b>7</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	49

## 1 INTRODUÇÃO

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) possui protocolos para coleta de material do sistema nervoso para casos suspeitos de raiva em herbívoros em geral, e especificamente para encefalopatia espongiforme transmissível, em bovinos. Animais da espécie equina e bovina que morrem com sinais neurológicos no curso da doença, devem ter os fragmentos do sistema nervoso coletados e enviados para exame pós-morte (MAPA/OPAS, 2010). Para propiciar outros diagnósticos diferenciais na análise histopatológica do material coletado, recomenda-se identificar as estruturas na ocasião das leituras das lâminas para o diagnóstico.

Rissi e colaboradores (2010) ressaltam a pertinência das informações nos manuais do MAPA para orientar o diagnóstico de patologias relevantes sobre as doenças do Sistema Nervoso Central (SNC) de ruminantes e equinos, com auxílios do laboratório de referência do Programa Nacional de Vigilância das Encefalopatias Espongiformes Transmissíveis e do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).

Estudos recentes presentes na literatura, têm demonstrado que em neurologia veterinária há muitas lacunas a serem preenchidas, sobretudo pela possibilidade de métodos de diagnóstico por imagem, como tomografia axial computadorizada e ressonância magnética funcional, métodos esses que vêm sendo cada vez mais usados como ferramentas de diagnóstico na Medicina Veterinária; esses estudos também têm impulsionando o diagnóstico morfológico em necropsias. Esta realidade tecnológica revigorou os estudos em diagnóstico morfológico nos níveis macroscópico, microscópico e ultraestrutural (MACKEY et al., 2008; GOUVEIA et al., 2016; BITSCHI et al., 2020).

As principais enfermidades neurológicas que acometem o SNC dos animais domésticos, abrangem, além das doenças infecciosas e inflamatórias, as doenças metabólicas, traumas, abscessos, nutricionais ou genéticas, intoxicações e neoplasias (SUMMERS et al., 1995; STOKOL et al., 2009).

Na rotina de trabalho das fazendas, profissionais a campo que se deparam com animais suspeitos de adoecimento relacionado à patologias neurológicas, devem estar familiarizados com a técnica de coleta e envio de material para exame laboratorial (MAPA,2010). Portanto, objetivo deste estudo foi descrever clivagens do cérebro para dois conjuntos de fragmentos de regiões específicas do sistema nervoso para padronização da

clivagem histológica, a fim de facilitar o reconhecimento das estruturas corpo estriado e componentes do sistema límbico, e assim contribuir para o diagnóstico das diversas encefalopatias dos bovinos e equinos.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Neuroanatomia Macroscópica Encefálica

O sistema nervoso é dividido em Sistema Nervoso Central (SNC) e Sistema Nervoso Periférico (SNP). O SNC inclui o encéfalo e a medula espinhal, e o SNP é composto de nervos cranianos e espinhais, terminações nervosas e gânglios (LIEBICH; FORSTENPOINTNER; KONIG, 2011).

O encéfalo é a porção do sistema nervoso central localizada na cavidade craniana. Deriva de três vesículas embrionárias primitivas: prosencéfalo, mesencéfalo e rombencéfalo. O encéfalo compõe-se de cérebro, cerebelo e tronco encefálico. O cérebro deriva do prosencéfalo e é composto pelo telencéfalo e pelo diencéfalo. O tronco encefálico deriva do mesencéfalo e do rombencéfalo e se constitui de mesencéfalo, ponte e bulbo. O cerebelo deriva do metencéfalo, porção do rombencéfalo que também origina a ponte (PRADA, 2014). Na estrutura do sistema nervoso central constam neurônios, células da glia, epêndima, vasos sanguíneos e meninges, que são passíveis de observação em coloração de rotina para processamento histológico em hematoxilina e eosina (SISSON, 1986; ZACHARY, 2013; PRADA, 2014; MACHADO, 2014).

O encéfalo é delimitado pela cavidade craniana e se divide em porção rostral e porção caudal, onde a maior quantidade de massa cerebral corresponde ao cérebro e menor para o cerebelo e tronco encefálico. É envolto por três camadas meníngeas, denominadas dura-máter, aracnóide e pia-máter. No espaço subaracnóideo circula o líquido cefalorraquidiano ou líquido, produzido nos plexos coróides (KONIG; LIEBICH; CERVENY, 2011).

#### 2.1.1 Telencéfalo

O telencéfalo consiste em dois hemisférios cerebrais, direito e esquerdo, os quais são separados por uma fissura longitudinal cerebral, onde se encaixa a foice do cérebro, que é uma prega de dura-máter. Os hemisférios, em suas superfícies, possuem faixas elevadas denominadas giros e são separadas por sulcos. (KONIG; LIEBICH; CERVENY, 2011).

O hemisfério cerebral apresenta uma subdivisão de acordo com o osso que o recobre em quatro lobos: frontal, parietal, temporal e occipital (Figura 1) (DONE et al., 2010a). A

parte ventral do lobo temporal é arredondada à semelhança do contorno de uma pera e é por isso denominada lobo piriforme.

Os hemisférios telencefálicos são revestidos de uma única de células endimárias recobertas por mesênquima vascularizado, o qual compõe o plexo coroide ao nível dos ventrículos encefálicos. O crescimento contínuo dos hemisférios cerebrais nos sentidos anterior, dorsal e inferior, resulta na formação dos lobos frontal, temporal e occipital, respectivamente. No entanto, à medida que diminui o crescimento da região sobrejacente ao corpo estriado, a área entre os lobos frontal e temporal formam uma depressão conhecida como ínsula. No final do desenvolvimento fetal, a superfície dos hemisférios cerebrais cresce rapidamente e aparecem muitas circunvoluções (giros) separados por fissuras e sulcos (SADLER, 2019).

As estruturas límbicas também se localizam nesta região do telencéfalo, hipocampo, amígdala e fórnice, comissura habenular, comissura posterior e comissura anterior (MENESES, 2011).

O trato olfatório lateral prossegue caudalmente na forma do lobo piriforme (*lobus piriformis*) e forma uma grande protuberância situada lateralmente ao hipotálamo. Medialmente, esse lobo é contínuo com o hipocampo. Sob o lobo piriforme encontra-se o corpo amigdalóide (*corpus amygdaloideum*), o qual é composto por vários núcleos (KONIG; GEORG, 2016).

O sistema límbico se aplica a um conjunto de estruturas encefálicas envolvidas no comportamento emocional. Ele compõe-se de elementos corticais e subcorticais, além de estruturas diencefálicas e do tronco encefálico. A parte cortical compreende estruturas telencefálicas interconectadas nas faces medial e basal dos hemisférios, a saber: o giro do cíngulo, o lobo piriforme, o hipocampo e o córtex pré-frontal. A parte subcortical inclui componentes do diencefalo (habênula, hipotálamo, tálamo), mesencéfalo (núcleos interpedunculares e tegmentais) e o corpo amigdalóide, este último sendo uma estrutura telencefálica (KONIG; GEORG, 2016).

O sistema límbico recebe impulsos olfativos do lobo piriforme, o qual dá início à maioria das atividades motoras viscerais, mas também desencadeia comportamento emocional, como medo, agressão e prazer aparente (KONIG; GEORG, 2016).



**Figura 1:** Fotomacrografia da vista dorsal do encéfalo de um bovino, sendo possível a visualização do telencéfalo, com giros e sulcos cerebrais; e mais caudalmente do cerebelo, com vérmis e hemisférios cerebelares apresentando folhas do cerebelo. Barra de escala = 2,0 cm

### 2.1.2 Diencéfalo

O diencéfalo é a área encefálica onde se encontram o hipotálamo, tálamo epitálamo, metatálamo, e o subtálamo (DYCE; SACK; WENSING, 2010).

O hipotálamo forma o assoalho e a parede do 3º ventrículo. Em vista ventral do cérebro, o hipotálamo é constituído pelo quiasma óptico rostralmente, pelo túber cinéreo no centro e pelo corpo mamilar caudalmente. No túber cinéreo localiza-se o infundíbulo que sustenta a hipófise (DYCE; SACK; WENSING, 2010).

O tálamo é a maior parte do diencéfalo e é a principal região de aferências sensoriais. Pode ser dividido em tálamo dorsal e ventral. O tálamo dorsal é composto de núcleos cujas funções são sensoriais a partir de órgãos gustativos, ópticos, acústicos e vestibulares (exceto olfativos) (KONIG; LIEBICH; CERVENY, 2011).

O epitálamo compreende a glândula pineal e a habênula formada por tratos e núcleos. A glândula pineal, é uma glândula endócrina que secreta hormônios reguladores das

atividades biológicas, tais como o sono e o ciclo reprodutivo de algumas espécies (DYCE; SACK; WENSING, 2010).

O metatálamo compreende os corpos geniculados lateral e medial e contém os núcleos responsáveis por integrar informações visuais e acústicas, respectivamente. (DYCE; SACK; WENSING, 2010).

O subtálamo contém os núcleos subtalâmicos envolvidos na via motora extrapiramidal (DYCE; SACK; WENSING, 2010).

### **2.1.3 Mesencéfalo**

O mesencéfalo é uma porção curta encoberta dorsalmente pelos hemisférios cerebrais e pelo cerebelo. Divide-se em teto, tegmento mesencefálico e pedúnculos cerebrais (KONIG; LIEBICH; CERVENY, 2011).

O tegmento, localizado no centro do mesencéfalo, é composto pela formação reticular, pelos núcleos motor e parassimpático do nervo oculomotor e pelos núcleos trocleares e o núcleo rubro. A substância negra é uma lâmina proeminente de coloração mais escura, sob o núcleo rubro (DYCE; SACK; WENSING, 2011).

Os pedúnculos cerebrais, visíveis na base ventral do encéfalo caudal ao trato óptico, são formados por tratos de fibras descendentes do telencéfalo. Situam-se de cada lado da fossa interpeduncular, que faz sintopia com a região diencefálica, representada pelo corpo mamilar, o infundíbulo hipofisário e a hipófise. Os nervos oculomotor (III) e troclear (IV) emergem do mesencéfalo (KONIG; LIEBICH; CERVENY, 2011).

### **2.1.4 Mielencéfalo**

O mielencéfalo corresponde ao bulbo ou medula oblonga e envolve a parte caudal do quarto ventrículo, cujo assoalho é a fossa romboide. Sua superfície ventral é marcada por uma fissura mediana contínua à da medula e por cristas longitudinais bilaterais, as pirâmides bulbares. O corpo trapezoide é uma elevação transversal menor localizado nessa região. O nervo abducente (VI) e hipoglosso (XII) surgem das pirâmides. Os nervos facial (VII) e vestibulococlear (VIII) aparecem como continuação do corpo trapezoide. Os nervos glossofaríngeo (IX), vago (X) e acessório (XI) emergem do bulbo (DYCE; SACK; WENSING, 2010; KONIG, LIEBICH; CERVENY, 2011).

Sua parte rostral é alargada como resultado de um acúmulo de núcleos, e o canal central da medula espinal se abre no 4º ventrículo. Conseqüentemente, a organização característica da substância cinzenta na medula espinal se perde, e as colunas são afastadas para o lado e divididas em núcleos singulares de formato cilíndrico ou esférico. Os núcleos sensoriais se posicionam mais distantes lateralmente, os núcleos motores mais próximos do meio e os núcleos parassimpáticos vegetativos entre eles. Ela também compreende os núcleos do centro respiratório e circulatório, localizados próximos ao 4º ventrículo na formação reticular. A maioria das fibras atravessa a linha média para formar a decussação das pirâmides (*decussatio pyramidum*) na junção espinomedular. Na extremidade rostral das pirâmides há uma faixa plana de fibras transversas, o corpo trapezoide (*corpus trapezoideum*), que pertence ontogeneticamente à ponte (KONIG; LIEBICH, 2016).

### **2.1.5 Metencéfalo**

Na região do metencéfalo a ponte consiste em uma parte ventral e a outra dorsal (tegmento da ponte). É onde se origina o nervo trigêmeo (V) e localiza-se o núcleo motor (DYCE; SACK; WENSING, 2010). Vários outros núcleos se situam na ponte e são responsáveis pelo controle das funções motoras do corpo. De forma semelhante à medula oblonga, os núcleos e as fibras nervosas da formação reticular ocupam até metade da ponte em sua secção transversa. A ponte também possui uma grande quantidade de tratos nervosos ascendentes e descendentes, os quais se direcionam para o cerebelo na forma do pedúnculo cerebelar médio (KONIG; LIEBICH, 2016).

O cerebelo situa-se acima da ponte e do bulbo e se divide em duas metades simétricas, os hemisférios laterais e uma parte mediana, o vérmis. É separado dos hemisférios cerebrais pelo tentório membranoso do cerebelo. A substância branca corresponde ao corpo medular do cerebelo, nessa região há acúmulos de substância cinzenta onde se encontram os núcleos cerebelares (fastigial, interposto e cerebelar lateral) (DYCE; SACK; WENSING, 2010).

As funções do cerebelo se referem ao equilíbrio e à coordenação dos músculos esqueléticos com relação à postura e à locomoção. As funções de equilíbrio são executadas na região do lobo floclonodular. O lobo caudal controla a função motora, o lobo rostral recebe as informações proprioceptivas. *Déficits* na função cerebelar resultam em ataxia cerebelar, que aparecem clinicamente como perda de equilíbrio e de coordenação (KONIG; LIEBICH, 2016).

Os véus medulares rostral e caudal (*velum medullare rostrale et caudale*) são membranas medulares delgadas que se prolongam entre a fossa romboide e o cerebelo como uma tenda. Juntamente com o cerebelo, eles formam o teto sobre o 4<sup>o</sup> ventrículo. A tela corioide do 4<sup>o</sup> ventrículo está intimamente relacionada ao véu medular caudal (KONIG; LIEBICH, 2016).

A formação reticular é um sistema de núcleos e tratos que se estende da medula espinhal e ocupa grande parte do bulbo, ponte e mesencéfalo (DYCE; SACK; WENSING, 2010).

### **2.1.6 Núcleos da Base do Cérebro**

Os núcleos da base do cérebro constituem formações de substância cinzenta subcorticais, que integram circuitos complexos do sistema nervoso relacionados a funções sensoriais, motoras, de expressão do comportamento e de mecanismos de *feedback* que regulam as funções cerebrais (EKMAN, 2000).

Os núcleos da base são massas densas de substância cinzenta constituídos principalmente por corpos de neurônios, células gliais e fibras nervosas amielínicas. São compostos pelo núcleo caudado, putâmen, globo pálido, claustrum, corpo amigdalóide, núcleo basal de Meynert, e o núcleo accumbens, sendo que, o núcleo caudado, putâmen e o globo pálido juntos formam o corpo estriado, a união do putâmen e o globo pálido apenas, também é conhecido como núcleo lentiforme (MACHADO, 2006).

O corpo estriado apresenta uma pequena divisão ventral conectada ao sistema límbico, o núcleo accumbens. É representado por uma faixa de substância cinzenta que une o putame ao núcleo caudado. O núcleo accumbens tem função comportamental (CARNEIRO, 2004).

O núcleo amigdalóide se localiza de acordo com a sua anatomia topográfica imediatamente justaposto à cauda do núcleo caudado (HEIMER; VAN HOESEN, 2006). Quanto ao papel relevante da amígdala em relação às emoções e ao comportamento, é importante ressaltar que a sua parte centromedial não se projeta para o striatum, e sim, para o hipotálamo e tronco encefálico. Através dessas aferências, toda a amígdala estendida exerce as suas influências sobre as áreas neurais que geram os componentes autonômicos, endócrinos e somatomotores das experiências emocionais (BARRETO; SILVA, 2010).

A raiva, assim como o medo, é uma emoção relacionada às funções da amígdala, em decorrência de conexões com o hipotálamo e outras estruturas (BEAR; CONNORS;

PARADISO, 2008). Em outras espécies, como o gato e o macaco, a indução e a percepção de estímulos elétricos no hipotálamo e amígdala foram claramente correlacionados com alterações de comportamento (GOUVEIA; ORGE; CARVALHO, 2016) macacos adultos com alterações no núcleo amígdaloide demonstram menos medo, porém apresentam uma maior agressividade quando se depara a uma possível ameaça (RAPER et al., 2013) uma reação semelhante acontece nos humanos, em que sugere-se que as amígdalas menores têm sido consideradas o fator mais comum nos indivíduos que praticaram crimes violentos (GOUVEIA; ORGE; CARVALHO, 2016).

O núcleo basilar (Basal de Meynert) é também referido como núcleo da base constituído de neurônios colinérgicos grandes. Esse núcleo encontra-se entre o globo pálido e o córtex cerebral da face ventral, e conecta áreas do sistema límbico de praticamente todas as áreas (CARNEIRO, 2004).

O núcleo caudado e o putâmen, apesar de separados pela cápsula interna, formam um único núcleo por apresentarem a mesma estrutura histológica. O globo pálido é dividido em segmentos interno e externo, sendo sua porção ventral denominada pálido ventral. O núcleo lentiforme, formado pelo putâmen e pelo globo pálido, é implicado com acúmulos de manganês em humanos e em cães, cuja imagem em ressonância magnética apresenta aumento de densidade (MORTERA-BALSA, 2015; NELSON, 1993), o que pode acontecer em decorrência de *shunt* porto-sistêmico, descrito em cães, ou no caso de humanos em cirrose hepática e também por ingestão crônica de manganês.

Adicionalmente a esses agrupamentos neuronais de origem telencefálica, o núcleo subtalâmico e a substância negra também são considerados como núcleos da base. O núcleo subtalâmico está localizado no diencéfalo e a substância negra, no mesencéfalo (MELLO, 1997).

A substância negra, designada assim pela coloração de suas células é dividida em compacta e reticular. A parte compacta fornece dopamina essencial para o estriado, a parte reticular e a parte interna do globo pálido são as vias de saída do sistema dos gânglios da base. Embora o funcionamento dos núcleos da base seja vital para os movimentos normais, eles não têm conexões diretas com os neurônios motores inferiores. A influência sobre a área motora suplementar do córtex cerebral é indireta, por meio do tálamo. Um circuito importante dos gânglios da base conecta as áreas motoras do córtex ao putâmen, e este aos núcleos de saída por via direta ou indireta; e os núcleos de saída ao tálamo motor, sendo que o tálamo motor excita as áreas do córtex cerebral (EKMAN, 2000).

O claustró é uma lâmina estreita de substância cinzenta que é separada da face lateral do núcleo lentiforme pela cápsula externa. Lateral ao claustró está a substância branca subcortical da ínsula, denominada cápsula extrema. A função do claustró é até então pouco conhecida, entretanto pesquisas sugerem que o claustró possa estar implicado em uma gama de processos cognitivos e sensoriais. Acredita-se que ele detecte e module as informações direcionadas ao córtex cerebral juntando estímulos individuais capaz de reconhecer um objeto como um todo em vez de experimentar cada estímulo como uma entidade sensorial separada (MARTHUR, 2014) através da percepção unificada de uma multiplicidade de estímulos sensoriais proveniente do ambiente, percepções conscientes (CRICK; KOCH, 2005).

### **2.1.7 Histologia Encefálica Básica**

O sistema nervoso tem como função receber e transmitir impulsos elétricos. Ele é dividido, anatomicamente, em sistema nervoso central (SNC), formado pelo encéfalo, constituintes neurais do sistema fotorreceptor e medula espinhal; e sistema nervoso periférico (SNP), constituído por nervos e gânglios (JUNQUEIRA.; CARNEIRO, 2008).

A movimentação de determinado órgão, a produção de secreção por determinada glândula e tantas outras funções essenciais para o funcionamento adequado do corpo também são desempenhadas pelo tecido nervoso, além de ter papel fundamental nas funções cognitivas relacionadas com a aprendizagem, o pensamento, a memória (GITIRANA, 2019).

Na estrutura do sistema nervoso central constam neurônios, células da glia, epêndima, vasos sanguíneos e meninges, que são passíveis de observação em coloração de rotina para processamento histológico em hematoxilina e eosina (SISSON, 1986; ZACHARY, 2013; PRADA, 2014; MACHADO, 2014; THOMSON, 2012).

O tecido nervoso é formado pela substância cinzenta composta de corpos celulares dos neurônios, na qual forma o córtex cerebral e cerebelar. Os acúmulos de substância cinzenta formam os núcleos basais do encéfalo (DONE et al., 2010a). A substância branca (corpo medular) inclui os tratos nervosos que conectam os núcleos do SNC às áreas periféricas. Seu aspecto branco deve-se à presença de bainhas de mielina ao redor dos axônios (LIEBICH; FORSTENPOINTNER; KONIG, 2011).

A matriz extracelular deve constituir 10 a 20% do volume do encéfalo. Não há fibras, mas há glicosaminoglicanos (ácido hialurônico, sulfato de condroitina e sulfato de heparana),

que conferem uma estrutura de gel ao líquido tissular, permitindo a difusão entre capilares e células (HAM.; CORMACK, 1983).

O tecido nervoso é composto principalmente por: neurônios, células geralmente com longos prolongamentos, e vários tipos de células da glia ou neuroglias, que sustentam os neurônios e participam de outras funções (JUNQUEIRA.; CARNEIRO, 2008).

Tanto os neurônios quanto as células da glia têm origem a partir das células que constituem o tubo neural, neuroepitélio. Nas colorações rotineiras, como na coloração pela hematoxilina e eosina (HE), é possível observar apenas o núcleo e o citoplasma perinuclear das células nervosas. Em relação às células da glia, praticamente somente os núcleos são visualizados, sendo difícil identificar o tipo de célula da glia (GITIRANA, 2019).

No SNC, há uma segregação entre os corpos celulares dos neurônios e os seus prolongamentos, de modo que duas porções distintas sejam reconhecidas macroscopicamente: a substância cinzenta, onde se situam os corpos celulares dos neurônios e parte dos seus prolongamentos e as células da glia, e a substância branca, que contém somente os prolongamentos dos neurônios e as células da glia. A presença da mielina, um material lipídico esbranquiçado que envolve o axônio, é responsável pela coloração branca. (JUNQUEIRA.; CARNEIRO, 2013)

Em certas regiões do SNC, agregados de substância cinzenta são circundados totalmente por substância branca, sendo esses agregados denominados de núcleos. Na substância cinzenta se localizam os pericários de neurônios, os astrócitos protoplasmáticos, os oligodendrócitos e a microglia, havendo predomínio das fibras amielínicas. Na substância branca são observados os prolongamentos dos neurônios (dendritos e axônios), os oligodendrócitos, os astrócitos fibrosos, a microglia, além do predomínio das fibras nervosas mielínicas. (GITIRANA, 2019).

As neuroglias possuem diversas funções, tais como: Fagocitose de resíduos, como é o caso das micróglias; isolamento elétrico dos axônios, feito por oligodendrócitos; e nutrição e suporte (sustentação e proteção), como é o caso dos astrócitos. Estes últimos ligam os neurônios aos capilares sanguíneos e à pia-máter (JUNQUEIRA.; CARNEIRO, 2008).

## **2.2 Neuropatologias**

### **2.2.1 Principais Neuropatias em Bovinos**

As principais enfermidades que afetam direta ou indiretamente o sistema nervoso de bovinos no Brasil são brevemente revisadas para orientar o diagnóstico diferencial. As instruções para o processamento e exame histológico levam em conta o material recebido em formol pelo laboratório, conforme consta no manual para coleta do encéfalo (MAPA/SDA/DDA, 2003).

Entre os seguintes grupos de agentes etiológicos, tais como bactérias, protozoários, infecções virais, toxinas, distúrbios metabólicos, traumas e neoplasias, existe uma enorme variedade de enfermidades que pode afetar o Sistema Nervoso Central (SNC) da espécie bovina (STOKOL et al., 2009).

Em 2009, Barros realizou um estudo em 655 bovinos no sul do Brasil, e identificou as principais encefalopatias específicas dessa espécie; de modo sucinto listou raiva, encefalopatia hepática, meningoencefalite por herpesvírus bovino tipo 5, meningoencefalite não supurativa inespecífica, babesiose cerebral, intoxicação por *Solanum fastigiatum*, febre catarral maligna, polioencefalomalácia, abscessos, traumas, tétano, doenças hereditárias, botulismo e listeriose.

A Encefalopatia Espongiforme Bovina (BSE) é uma enfermidade causada por proteínas que sofreram transformações em sua conformação e possuem características biológicas e físico-químicas que diferem expressivamente dos demais agentes infecciosos. Na fase terminal da doença, a proteína *prion* pode ser encontrada na medula espinal, retina, íleo, glândulas suprarrenais, amígdalas, medula óssea, nervos periféricos, raiz dorsal, gânglio trigeminal e gânglios torácicos (MUHAMMAD & MAHMOOD, 2011).

Outra enfermidade relevante é polioencefalomalácia, que é uma patologia cerebral multifatorial degenerativa/necrotizante de ruminantes. Segundo a literatura internacional um dos fundamentais agentes é a intoxicação por enxofre, mas também é relatada relacionada à deficiência de tiamina, cloreto de sódio na carência de água, chumbo, melão, plantas ricas em tiaminases. Possui terminologia indicada para necrose laminar da massa cinzenta do córtex (CUNHA et al., 2011).

Uma virose notória para pecuária e para saúde pública no Brasil é a raiva. Em geral, os sinais clínicos da raiva não são superiores a 10 dias e incluem febre, diminuição do apetite, parestesia, ataxia, atividade mental alterada, paralisia, coma e morte (CALLAN & METRE, 2004). Suas lesões microscópicas são restritas ao SNC, compreendendo meningoencefalite, meningomielite não-supurativas com ganglioneurite dos gânglios e nervos cranianos e espinhais, podendo ocorrer neuromiofagia de neurônios individuais, malácia e hemorragia

macroscópica. As inclusões acidofílicas intracitoplasmáticas, chamadas corpúsculos de Negri, são particularidades dessa enfermidade (LANGOHR et al., 2003).

Na listeriose encefalítica ocorre encefalite ou meningite em cérebro e tronco. Os sinais clínicos são caracterizados por múltiplos *déficits* de nervos cranianos unilaterais e depressão (MORIN, 2004). Nos bovinos, a romboencefalite é a mais relatada (SANCHES et al., 2000). Histologicamente apresenta necrose focal, pequenos abscessos, manguitos perivasculares e gliose com presença de macrófagos e / ou neutrófilos (CAMPERO et al., 2002).

### **2.2.2 Principais Neuropatias em Equinos**

Dentre as principais encefalopatias com especificidade equina encontra-se a raiva, as infecções por Alfavírus, Flavivírus, Herpes-vírus equino tipo 1 e 4 (Encefalomielite equina) e Herpes-vírus suíno tipo 1 (SHV-1), agente causador da doença de Aujeszky (SUMMERS et al., 1995).

No Brasil, apesar de o vírus da raiva ser o principal agente causador de encefalite em equinos, um crescente número de casos de encefalomielite associados ao Herpesvírus equino tipo 1 (EHV-1) tem sido diagnosticado (COSTA et al., 2009), inclusive com estudos evidenciando marcadores de neuropatogenicidade isolados no país (MORI et al., 2011).

O EHV-1 causa aborto, doença neonatal, doença respiratória (rinopneumonia) e doença neurológica, enquanto o EHV-4 causa doença respiratória e aborto, mas acredita-se que ambas as formas possam causar doença neurológica, apesar do EHV-1 ser claramente a causa mais comum para esta forma (REED & TORIBIO, 2004). Algumas alterações clínicas precedem os sinais nervosos, como febre, edema de membros e escroto ou doença respiratória (HENNINGER et al., 2007). São descritos ainda, andar arrastando as pinças, relutância em se movimentar, paralisia da cauda, diminuição do tônus anal e incontinência urinária. (STUDDERT et al., 2003). Na análise macroscópica do SNC podem ser encontrados focos hemorrágicos distribuídos pelo encéfalo, mas predominantemente na medula espinhal, tanto na substância branca como na cinzenta, onde a lesão pode apresentar padrão linear, irradiando a partir das meninges, conforme a distribuição dos vasos sanguíneos (STUDDERT et al., 2003).

A leucoencefalomalacia acomete animais de várias idades alimentados com milho mofado. Ocorre usualmente nos meses mais frios e úmidos, principalmente de junho a setembro. Os principais sinais clínicos são anorexia, incoordenação, depressão, andar em

círculos, pressão da cabeça contra objetos, cegueira, hiperexcitação, queda e movimento de pedalagem. As características neuropatológicas macroscópicas são áreas multifocais ou focalmente extensas de amolecimento e amarelamento da substância branca subcortical do telencéfalo e tronco encefálico, a microscopia é visto tumefação endotelial, com áreas hemorrágica e/ou edema perivascular e necrose do parênquima com infiltração de células *gitter* (RISSI et al., 2010).

A Raiva é uma encefalite altamente fatal (HUDSON et al., 1996), que afeta todos os animais de sangue quente, incluindo o homem (PIMENTEL, 2009). Quando comparado a bovinos, a raiva equina tem baixa incidência (PEIXOTO et al., 2000). Em equinos os sinais clínicos são extremamente variáveis uma vez que estes sinais estão relacionados com a localização das lesões, que podem estar associados ao cérebro, cerebelo, tronco encefálico e/ou medula (LIMA et al., 2005). Os achados histopatológicos incluem encefalomielite linfoplasmocítica (não supurativa), possivelmente com ganglioneurite e meningite cranio-espinhal (FERNANDES & RIET-CORREA, 2007).

Animais submetidos a processos invasivos (principalmente castração e parto) e com feridas perfurantes (principalmente na sola do casco), são as formas de transmissão mais comuns do tétano. Hiperexcitabilidade, posição de cavalete e prolapso de terceira pálpebra são os principais sinais clínicos. Usualmente não há alterações macroscópicas ou histológicas, mas em alguns cavalos podem desenvolver hemorragia no músculo psoas (RISSI et al., 2010).

A doença de Aujeszky é uma doença infectocontagiosa que causa graves prejuízos econômicos. É causada por herpesvírus, sendo o suíno reservatório natural e única espécie em que o vírus estabelece infecção latente. O Aujeszky pode acometer fatalmente outros animais domésticos, embora o equino e os seres humanos sejam apenas refratário, e animais silvestres. A patogenia depende da idade, dose viral infectante e via de transmissão. Os sinais clínicos variam de febre, apatia, salivação, excitação e convulsões. A doença não possuem características macroscópicas típicas, os achados de necropsia encontrados são congestão das meninges, o aumento de volume do líquido cefalorraquidiano, hemorragias, congestão ou focos de necrose na amígdala, edema ou consolidação pulmonar e focos de necrose no fígado (MEGID, J; RIBEIRO, M.G; PAES, A. C, 2016).

### 2.3 Coleta do Material Neuropatológico

As doenças do sistema nervoso central (SNC) frequentemente não apresentam lesões óbvias à necropsia. Por isso, o patologista que examina o material no laboratório depende de um histórico e de observações clínicas confiáveis para orientação sobre a natureza da doença neurológica (RIET-CORREA; RIET-CORREA; SCHILD, 2002).

Rissi e colaboradores (2010) ressaltam a pertinência das informações nos manuais do MAPA para orientar o diagnóstico de patologias relevantes sobre as doenças do Sistema Nervoso Central (SNC) de ruminantes e equinos, com auxílios do laboratório de referência do Programa Nacional de Vigilância das Encefalopatias Espongiformes Transmissíveis e do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).

Portanto, durante a investigação, o veterinário responsável pela coleta do material deverá observar os aspectos clínicos e epidemiológicos da ocorrência, para fundamentar a suspeita e os procedimentos a serem adotados e, sempre que possível, devem ser colhidas amostras para o diagnóstico laboratorial (MAPA/OPAS, 2010).

A remoção e coleta de amostras do sistema nervoso requerem tempo e esforço. É, portanto, necessário estabelecer critérios para realização dessas tarefas. Se não houver sinais clínicos e histórico sugestivos de doença neurológica, é pouco provável que o exame do sistema nervoso revele lesões significativas. Nos casos em que não há histórico clínico ou ele é pouco preciso ou quando a morte do animal ocorreu sem sinais premonitórios, recomenda-se o exame neuropatológico (MAPA, 2003).

Tanto quanto possível, o exame macroscópico sistemático do encéfalo deve ser feito no órgão fixado, pois a fixação endurece os tecidos. Isso facilita a seleção de áreas apropriadas para o diagnóstico de doenças específicas e permite que se determine a distribuição das lesões. A distribuição das lesões no sistema nervoso (bilaterais, simétricas, focais, multifocais, na substância branca, na substância cinzenta) é característica para várias doenças e deve ser anotada. Muitas vezes o encéfalo não pode ser fixado inteiro, como seria o ideal, pois há necessidade de conservar partes do órgão não fixadas para exames virológicos e bacteriológicos (MAPA, 2003).

Para cada suspeita clínica existe uma área anatômica específica para fazer a coleta do material. Quando a suspeita é a raiva, os fragmentos do cérebro analisados são o hipocampo, cerebelo, córtex e medula. Assim como para suspeita de Encefalopatias Espongiformes Transmissíveis - EET as partes anatômicas são, tronco encefálico íntegro (do óbex aos

colículos), fragmentos de cérebro, cerebelo e o segmento da dura-máter no assoalho da cavidade craniana, contendo a hipófise, a rede admirável e os gânglios trigeminiais (MAPA/OPAS, 2010).

O material para exames virológicos e bacteriológicos deve ser colhido antes da fixação do encéfalo. Por outro lado, o congelamento torna o encéfalo inadequado para o exame histológico. Como muitos casos necessitam da realização dos três tipos de exame, um meio-termo deve ser alcançado (MAPA, 2003).

As principais enfermidades que afetam direta ou indiretamente o sistema nervoso de bovinos no Brasil são brevemente revisadas para orientar o diagnóstico diferencial. As instruções para o processamento e exame histológico levam em conta o material recebido em formol pelo laboratório, conforme consta no manual para coleta do encéfalo (MAPA/SDA/DDA, 2003).

A correta avaliação e descrição das alterações pelo veterinário são importantes, pois algumas lesões podem desaparecer após a fixação no formol e assim passarão despercebidas pelo patologista. Após uma completa descrição do caso, a avaliação histológica será mais facilmente interpretada e os exames adicionais serão direcionados de uma forma mais precisa, principalmente em casos em que não se observam achados típicos que poderiam ser utilizados como ferramenta no diagnóstico final de uma determinada doença (inclusões virais, o próprio agente etiológico etc. (RISSI et al., 2010).

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

Foram utilizados 29 encéfalos de equinos e 11 de bovinos, totalizando 40 espécimes amostrais, sem distinção de sexo, idade e raças, que morreram por razões não relacionadas ao sistema nervoso e que foram necropsiados no Setor de Anatomia Patológica (DESP/IV) ou no Laboratório de Ensino, Pesquisa e Extensão em Anatomia Comparada dos Vertebrados (DAAH/ICBS). Nenhum animal foi eutanasiado para atender este projeto. Por se tratar de estudo com cadáveres que morreram por situações alheias ao presente estudo, este projeto não necessita de registro junto à CEUA.

#### **3.1 Coleta dos Encéfalos**

Todos os espécimes que foram utilizados constam de rotina de necropsias para fins de diagnóstico. Também foram utilizados aqueles que morreram naturalmente e o proprietário optou por doar o cadáver à Universidade para fins de estudo, com Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Além dos espécimes coletados no período de desenvolvimento deste trabalho (durante o ano de 2021), espécimes coletados anteriormente foram utilizados, como amostragem de conveniência (TRIOLA, 2005), constante da rotina laboratorial. Foram excluídos do estudo aqueles espécimes com artefatos de coleta que interferissem na obtenção das medidas do encéfalo e do peso formolizado.

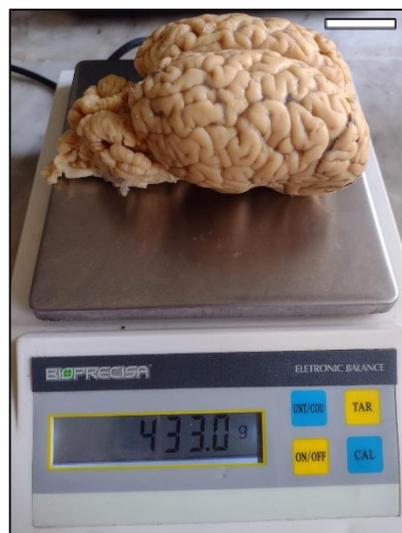
Para complementar o número de encéfalos utilizados neste estudo, foram coletados novos espécimes ao longo do ano de 2021, em rotina de ensino e extensão nos laboratórios da UFRRJ. Com o uso de serra e equipamentos usuais em necropsias, como facas, bisturi e tesouras cirúrgicas, os encéfalos foram removidos. Para tanto, realizou-se remoção da pele e músculos da superfície da cabeça, desde as órbitas oculares até as orelhas. Os ossos da parte dorsal do crânio foram removidos, desde o frontal até o occipital, para exposição do encéfalo envolvido pela dura-máter e demais meninges. A dura-máter foi seccionada com tesoura cirúrgica, incluindo a secção do tentório cerebelar. Cada crânio, após aberto e com a meninge cortada, foi posicionado com a parte dorsal recém-aberta para baixo, com movimentos suaves para que o encéfalo se distendesse, facilitando a secção de suas estruturas ventrais, incluindo bulbos olfatórios, nervos cranianos e, mais caudalmente, a medula espinhal. Após a remoção do encéfalo da cavidade craniana foi feita a imersão em solução de formol a 20% como ilustra

a. Após 24 horas, a solução foi trocada e o encéfalo foi processado a partir de 72 horas de sua coleta.



**Figura 2:** Fotomicrografia dos recipientes com encéfalos de equinos e de bovinos seccionados transversalmente em segmentos de 5mm de espessura após a troca da primeira solução, e submergidos na solução de formalina a 20%. Barra de escala= 5,0 cm.

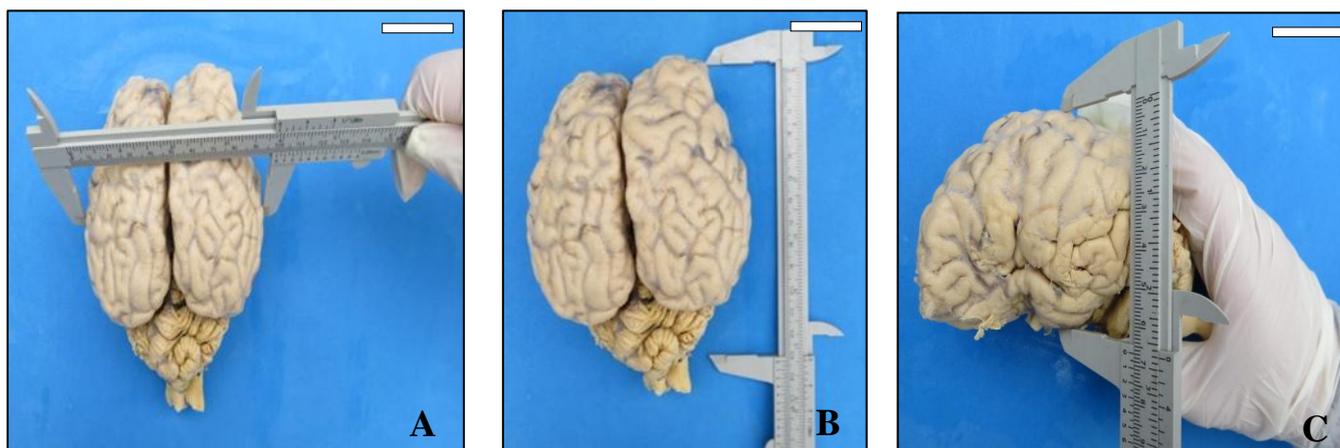
Os cérebros foram pesados usando uma balança de precisão da marca Bioprecisa, modelo JY50001, como mostra a (Figura 3):



**Figura 3:** Fotomicrografia da vista dorsal do encéfalo. Pesagem do encéfalo de um bovino. Barra de escala= 3,0 cm.

### 3.2 Processamento Macroscópico

Mensurações: Os encéfalos foram mensurados com o auxílio de um paquímetro para determinação do comprimento, largura e altura. Foram considerados comprimento total (dos bulbos olfatórios até a transição bulbo/medula espinhal) e largura, comprimento, e altura dos hemisférios direito e esquerdo, (Figura 4).



**Figura 4:** Fotomacrografia dos encéfalos sendo mensurados em largura, comprimento e altura, sendo representadas por **A** e **B** vista dorsal e **C** vista lateral, respectivamente. Barra de Escala= 4,5 cm.

### 3.3 Clivagens dos Telencéfalos

Para cada secção as estruturas anatômicas identificáveis no aspecto macroscópico foram descritas e as dimensões de conjuntos de estruturas possíveis de serem acondicionadas em um cassete foram anotadas para a criação do roteiro de coletas seletivas.

**Secções Transversais:** Dez cérebros de equinos e dez de bovinos (hemisférios esquerdos e direitos) foram seccionados transversalmente, com intervalos de corte de cinco milímetros (MAPA, 2003). Um corte padrão para o corpo estriado foi estabelecido ao nível do quiasma óptico, separando as estruturas em rostrais e caudais.

**Secções Dorsais:** Dez cérebros de equinos e dez de bovinos foram seccionados com intervalos de corte de cinco milímetros (MAPA, 2003), ao nível do sulco rinal lateral do lobo piriforme do cérebro, separando as porções em dorsal e ventral.

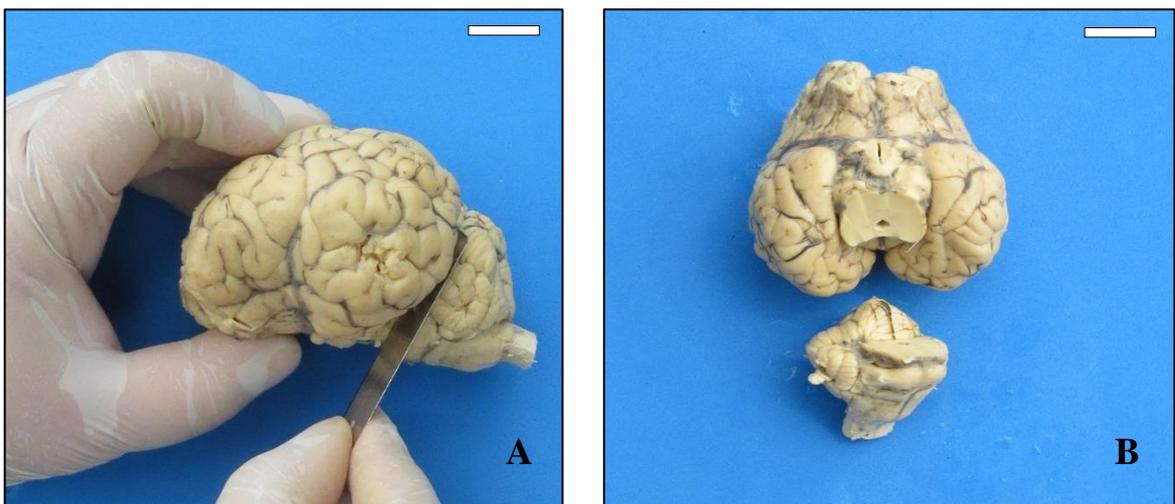
Toda nomenclatura adotada foi baseada no INTERNATIONAL COMMITTEE ON VETERINARY GROSS ANATOMICAL NOMENCLATURE (2017).

Para organizar a clivagem do tecido nas dimensões do cassete histológico, utilizou-se cassete plástico de rotina. A grade do fundo do cassete foi removida com lâmina de bisturi e arestas aparadas (Figura 5).



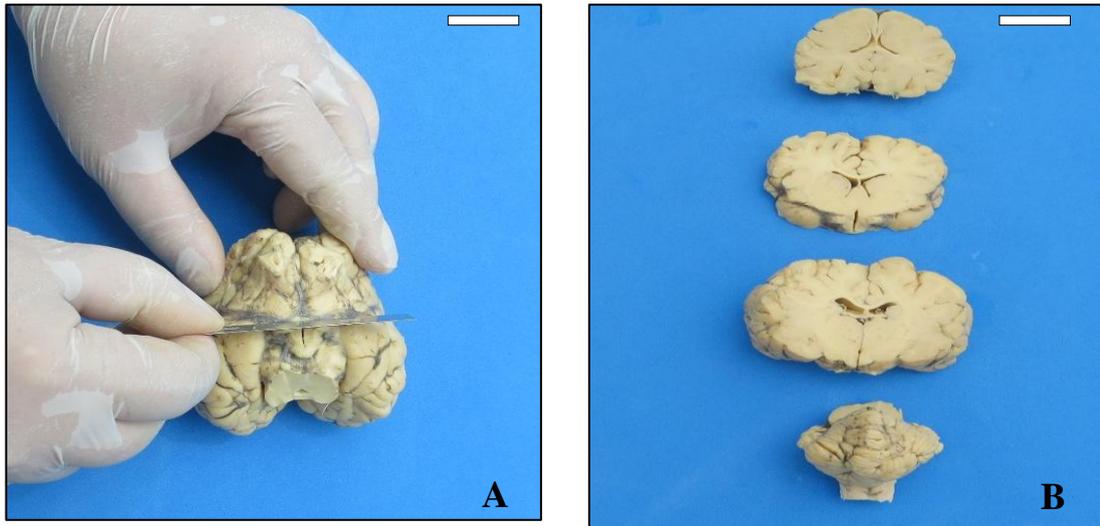
**Figura 5:** Fotomacrografia do cassete adaptado para ilustrar o enquadramento das estruturas pretendidas. Barra de escala= 1,0 cm.

Inicialmente o conjunto do cerebelo e tronco encefálico foi separado dos telencéfalos, por secção ao nível do mesencéfalo (Figura 6).



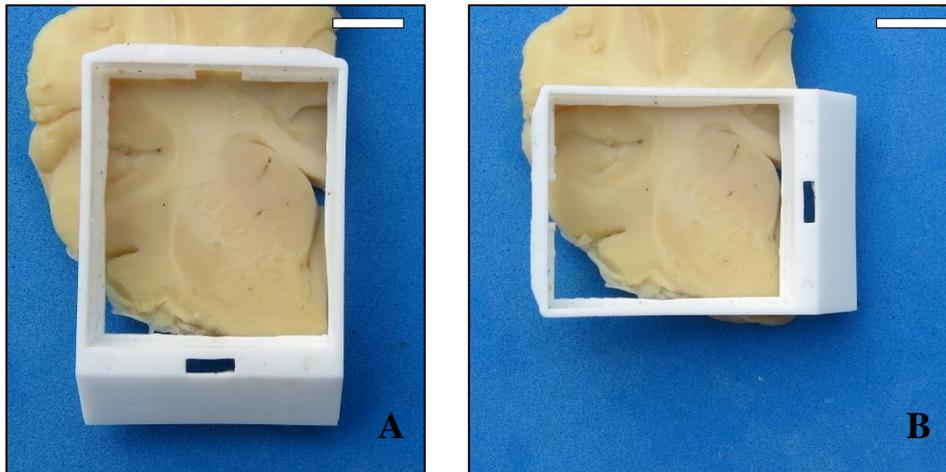
**Figura 6:** **A)** Fotomacrografia da vista lateral do encéfalo: separação do telencéfalo e diencefalo do conjunto do cerebelo e tronco encefálico, por secção ao nível do mesencéfalo. Barra de escala= 4,0 cm. **B)** Fotomacrografia da vista ventral demonstrando o cerebelo e tronco encefálico separados do cérebro. Barra de escala= 3,0 cm .

Após essa etapa, os telencéfalos são seccionados transversalmente em dois níveis: A) Tangenciando rostralmente o quiasma óptico e B) na altura do terço rostral do corpo mamilar, gerando blocos de tecido telencefálico que seguirão para as clivagens de amostras para os cassetes histológicos (Figura 7). É importante enfatizar que esses dois cortes descritos se somam aos cortes previstos no protocolo oficial de clivagens transversais a cada 5 mm.



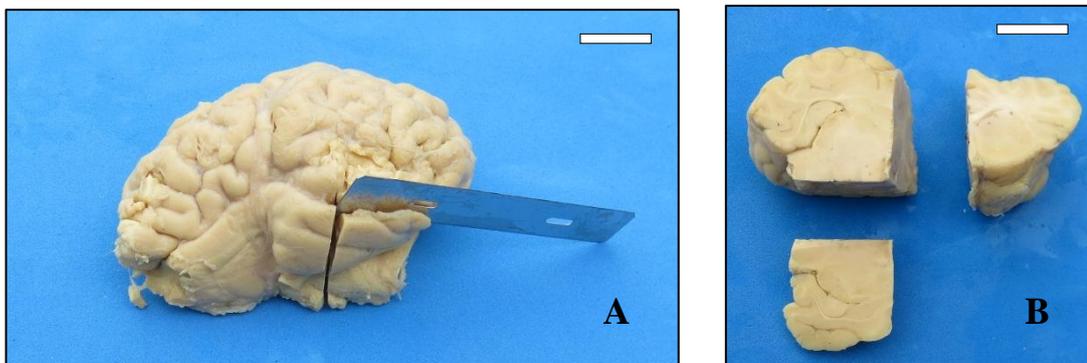
**Figura 7:**A) Fotomacrografia da vista ventral do Telencéfalo seccionado transversalmente, tangenciando rostralmente o quiasma óptico. Barra de escala= 3,0 cm. B) Fotomacrografia do corte transversal dos blocos de tecidos telencefálicos que seguirão para os cassetes histológicos após clivagem sob as medidas do cassete. Barra de escala= 3,0 cm.

Em seguida ao corte transversal ao nível do quiasma óptico, formam-se os blocos dos telencéfalos com as estruturas do corpo estriado visíveis para enquadramento no cassete histológico. Ficando a critério do técnico patologista a escolha das posições do cassete: A) Em posição vertical; e B) Em posição horizontal, visando maior representatividade de estruturas, de acordo com as dimensões da amostra. (Figura 8).



**Figura 8:** Fotomicrografia do corte transversal no enquadramento das estruturas no cassete histológico. Barra de Escala= 1,0 cm. **A)** Posição vertical e **B)** Posição horizontal.

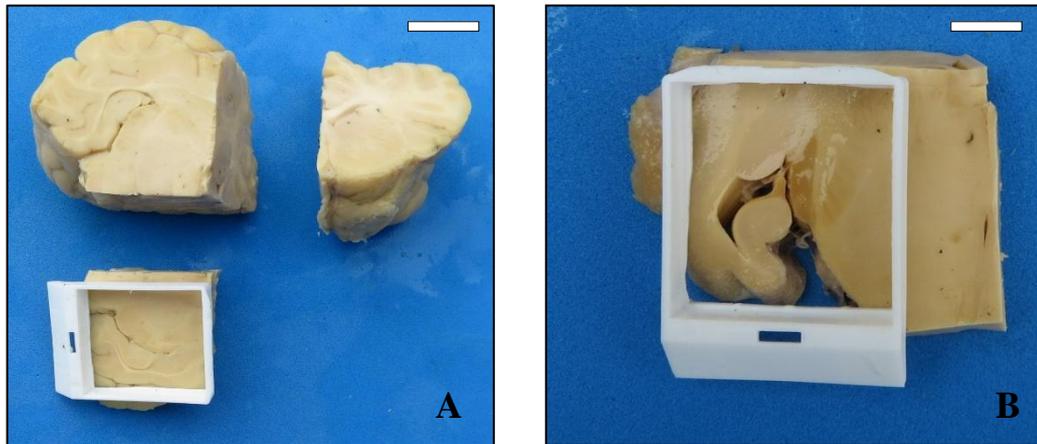
Para a realização da clivagem ao plano dorsal, o conjunto do cerebelo e tronco encefálico já foram separados dos hemisférios, e a inserção do corte se dá através da inserção da lâmina na porção caudal do sulco rinal lateral e uma incisão perpendicular na porção caudal do lobo piriforme formando uma “janela” para acessar as estruturas desejadas, formando blocos com amígdala, hipocampo e tálamo, para o enquadramento no cassete histológico (Figura 9).



**Figura 9:** **A)** Fotomicrografia da vista lateral do corte dorsal com inserção da lâmina na porção caudal do sulco rinal lateral e uma incisão perpendicular na porção caudal do lobo piriforme. Barra de escala= 2,5 cm **B)** Fotomicrografia dos blocos resultantes ao corte dorsal formando material para o processamento histológico. Barra de escala= 2,5 cm.

Em seguida ao corte dorsal ao nível do sulco rinal lateral, fica a critério do técnico patologista a escolha das posições do cassete: **A)** Em posição horizontal, e **B)** Em posição

vertical, visando maior representatividade de estruturas, de acordo com as dimensões da amostra, (Figura 10).

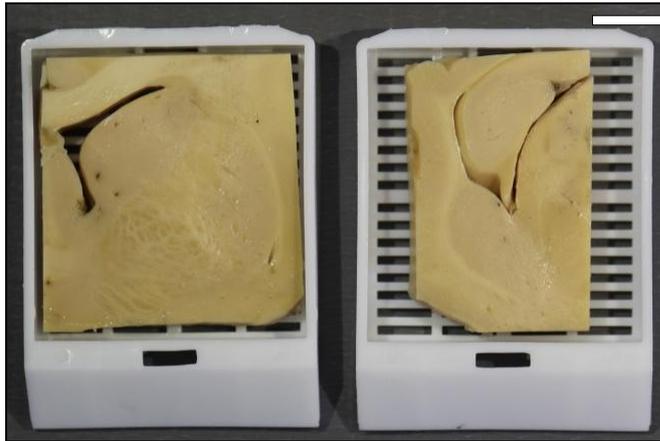


**Figura 10:** A) Fotomicrografia dos blocos encefálicos, formados a partir do corte dorsal, com cassete na posição horizontal. Barra de escala= 2,5 cm. B) Fotomicrografia da posição vertical sobre o mesmo plano de clivagem. Barra de escala= 2,5 cm.

### 3.4 Processamento Histológico

Após clivagem (transversal e dorsal) foram selecionadas a posição vertical e a posição horizontal para o seguimento do processamento. O material foi acondicionado em cassetes histológicos identificando-os. No processamento histológico de rotina, o material passou pelas etapas de desidratação em álcool etílico, clarificação em xilol, impregnação e inclusão em parafina e posterior corte em micrótomo a 5  $\mu$ m de espessura. Os fragmentos foram corados pela hematoxilina de Harris e eosina – loxina.

As lâminas foram fotografadas para gerar imagens submacroscópicas correspondentes às amostras de tecido de onde se originaram, possibilitando a correlação das imagens de tecido clivado, com a respectiva lâmina pronta (Figura 11).



**Figura 11:** Fotomacrografia dos planos transversal e dorsal dos tecidos clivados e posicionado nos cassetes para posterior confecção das lâminas. Barra de escala= 1,0

### 3.5 Análise Estatística

Foi utilizado o teste de Kolmogorov-Smirnof para analisar se os dados se encontram dentro da distribuição normal. Foram calculadas a média e o desvio padrão das medidas dos encéfalos e quando possível comparadas entre os antímeros através do teste *t* não pareado. Foi considerado o valor de  $p < 0,05$  como significativo. Os dados foram analisados no *software* Graphpad Prism 5.0.

O roteiro de clivagens e preparo dos cassetes histológicos foi realizado de forma descritiva, não tendo sido analisadas variáveis quantificáveis com finalidade de aplicação de testes estatísticos.

## 4 RESULTADOS

### 4.1 Morfometria dos Cérebros

A pesagem e mensuração dos encéfalos e suas partes dos bovinos e equinos (Tabela 1) teve como objetivo validar a amostragem no aspecto das medidas populacionais, que se confirmaram nos espécimes deste estudo. Não foi encontrado nenhum valor que indicasse anomalia do desenvolvimento ou má formação, que pudesse inviabilizar a amostra. Não houve diferença significativa entre os valores comparados ( $p > 0,05$ ).

**Tabela 1:** Média e desvio padrão das medidas em centímetros e os pesos em gramas dos encéfalos de Bovinos e Equinos mestiços.

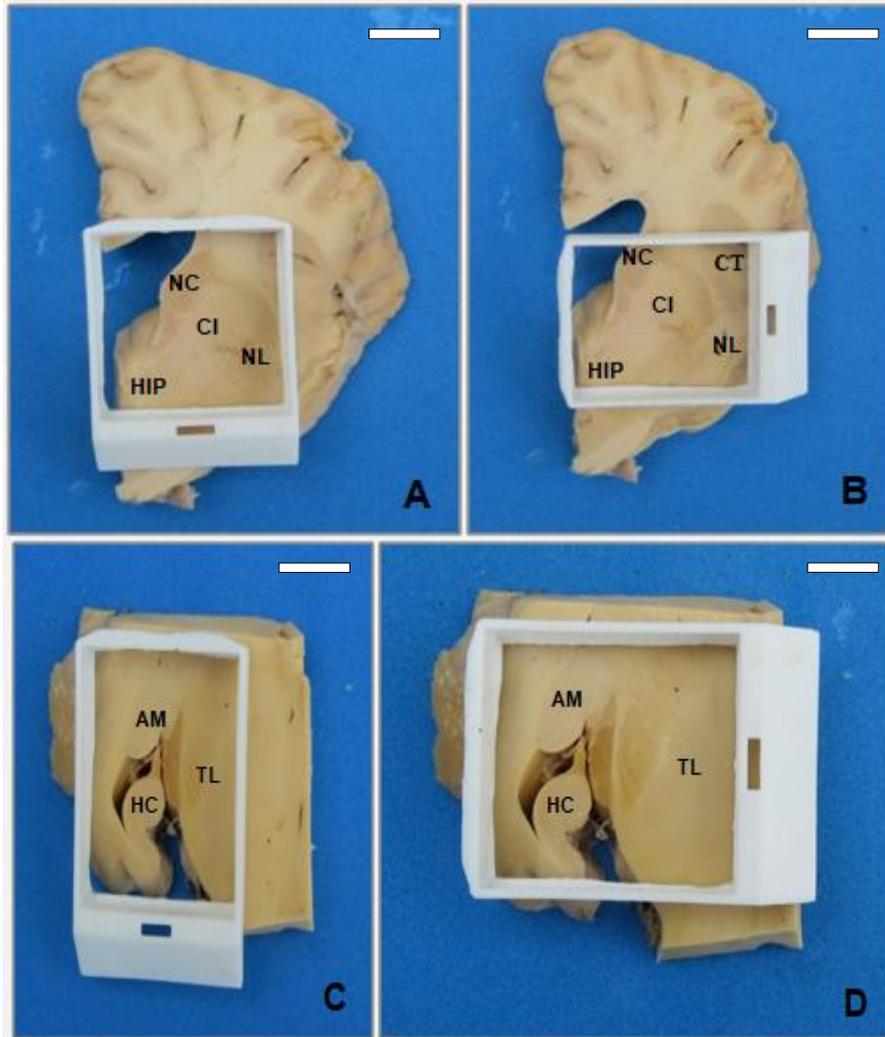
	<b>Bovinos</b>	<b>Equinos</b>
<b>Peso</b>	400 ± 85	380 ± 69
<b>Comprimento total do encéfalo</b>	12 ± 1,2	12 ± 0,93
<b>Comprimento do hemisfério direito</b>	9,6 ± 0,99	9,6 ± 0,86
<b>Comprimento do hemisfério esquerdo</b>	9,5 ± 0,90	9,6 ± 0,80
<b>Altura do hemisfério direito</b>	6,2 ± 0,73	6,0 ± 0,72
<b>Altura do hemisfério esquerdo</b>	6,2 ± 0,62	5,9 ± 0,49
<b>Largura total do encéfalo</b>	9,1 ± 0,64	8,52 ± 0,73

#### **4.2 Aspectos morfológicos das secções de cérebros de bovinos e equinos com ênfase em núcleos da base**

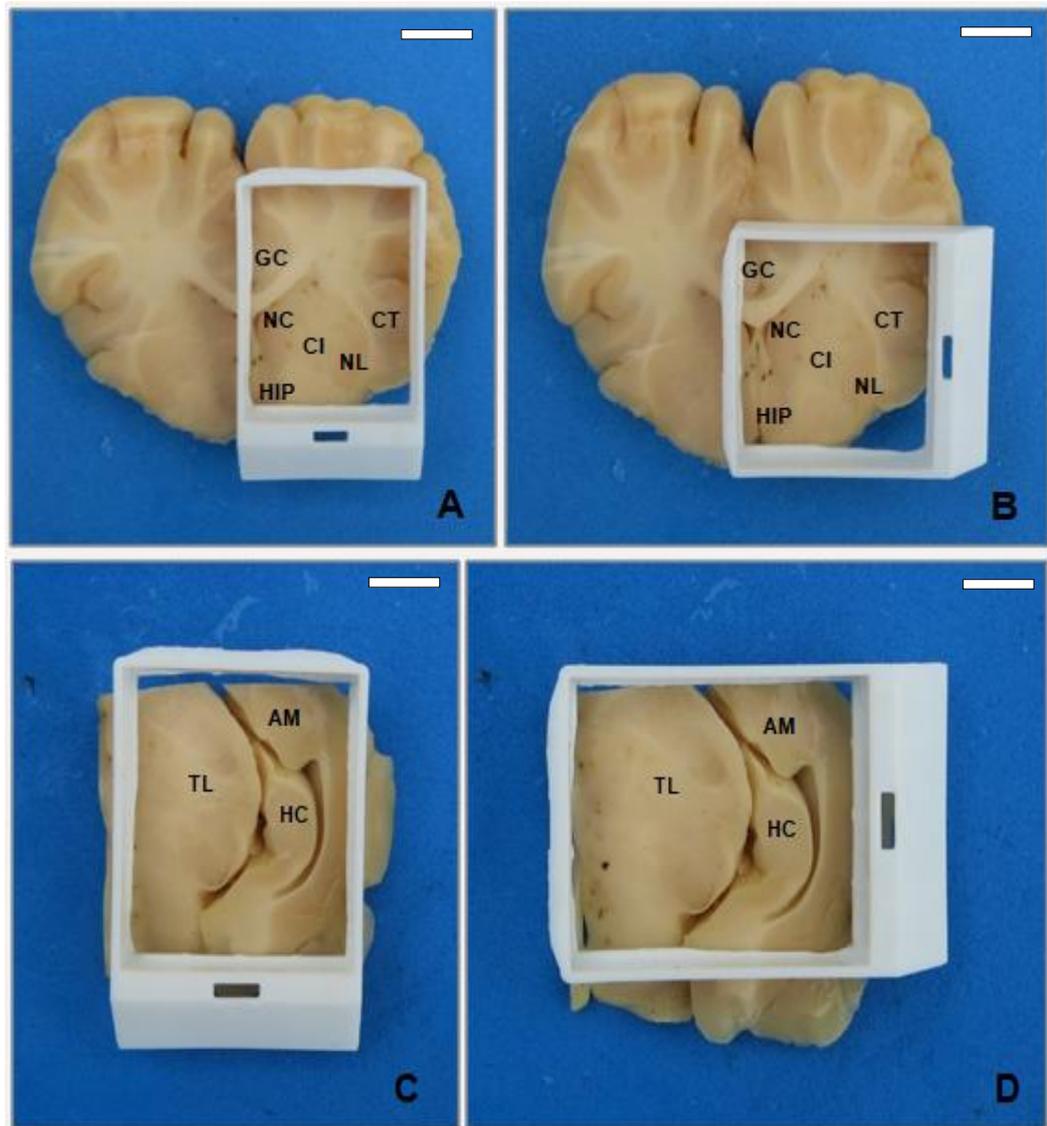
Dos 40 encéfalos, todos passaram pelas mensurações e pesagens. Destes, dez encéfalos de equinos e dez de bovinos foram escolhidos de acordo com o seu estado de conservação para serem seccionados dentro dos planos pretendidos.

A identificação das estruturas encefálicas bem como a correlação entre os cortes anatómicos seccionados, foram obtidas por meio de cortes transversal e dorsal do telencéfalo, apresentados no sentido rostrocaudal.

O contorno plástico do cassete adaptado possibilitou a escolha do melhor enquadramento para a clivagem. Cérebros de maior medida (largura e altura do telencéfalo) geram fragmentos maiores e a orientação do cassete (posição horizontal ou posição vertical) precisa ser avaliada pelo profissional na escolha da posição mais abrangente em estruturas para a clivagem (Figuras 12 e 13).

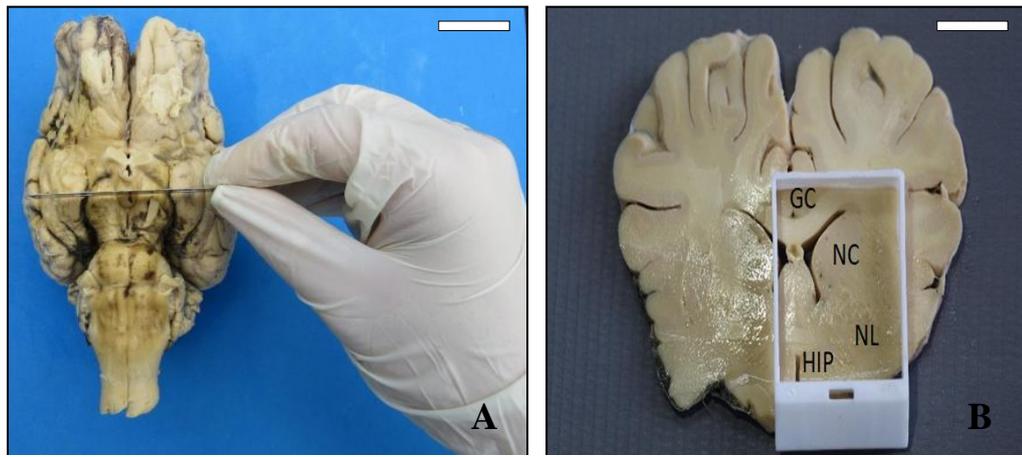


**Figura 12:** Fotomacrografia da clivagem realizada em Equino, macho, com peso do cérebro de 574,7 gramas e 15 anos de idade. Barra de escala= 1,0 cm. **A)** Clivagem no plano transversal com a posição do cassete na vertical enquadrando as estruturas do NC= Núcleo Caudado, NL= Núcleo Lentiforme, CI= Cápsula Interna e HIP= hipotálamo. **B)** Clivagem no plano transversal com a posição do cassete na horizontal enquadrando as estruturas NC= Núcleo Caudado, NL= Lentiforme, CT= Claustro, HIP= Hipotálamo e CI= Cápsula Interna. **C)** Clivagem no plano dorsal com a posição do cassete na vertical enquadrando as estruturas AM= Amígdala, HC= Hipocampo e parte do TL= Tálamo. **D)** Clivagem no plano dorsal com a posição do cassete na horizontal enquadrando as estruturas AM= Amígdala, HC= Hipocampo e uma quantidade maior do TL= Tálamo.



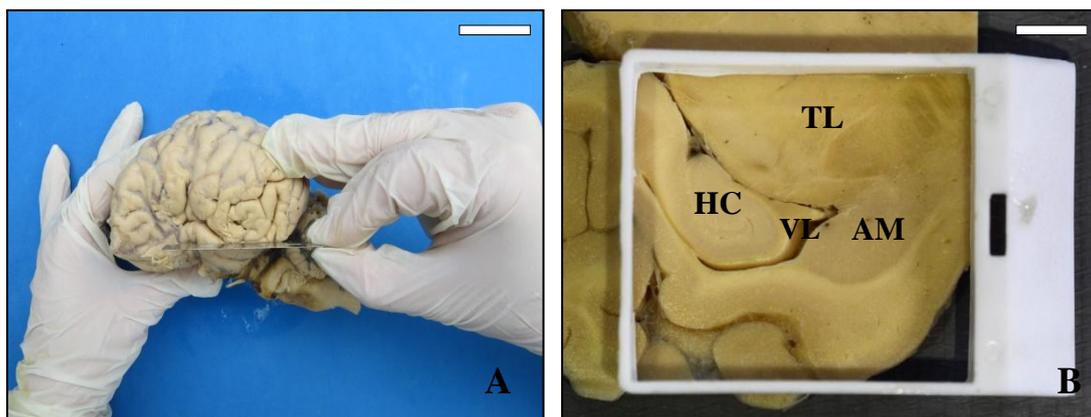
**Figura 13:** Fotomacrografia da clivagem realizada em um bovino com peso do cérebro de 271,2 gramas de 1 mês de idade. Barra de escala= 1,0 cm. **A)** Clivagem no plano transversal com a posição do cassete na vertical enquadrando as estruturas do GC= Giro do Cíngulo, NC= Núcleo Caudado, NL= Núcleo Lentiforme, HIP= Hipotálamo, CI= Cápsula Interna e CT = Claustro **B)** Clivagem no plano transversal com a posição do cassete na horizontal enquadrando as estruturas do GC= Giro do Cíngulo, NC= Núcleo Caudado, NL= Núcleo Lentiforme, HIP= Hipotálamo, CI= Cápsula Interna e CT = Claustro. **C)** Clivagem no plano dorsal com a posição do cassete na vertical enquadrando as estruturas AM= Amígdala, HC= Hipocampo e TL= Tálamo. **D)** Clivagem no plano dorsal com a posição do cassete na horizontal enquadrando as estruturas AM= Amígdala, HC= Hipocampo e TL= Tálamo.

Ao nível transversal, o corte realizado tangenciando o quiasma óptico foi o mais constante na presença das estruturas desejadas, onde a posição vertical possibilita um maior número de estruturas anatômicas enquadradas no mesmo cassete, aumentando as possibilidades de diagnóstico diferencial, contemplando e complementando a orientação feita por Barros (MAPA/SDA/DDA, 2003) para lesões específicas, como ilustra a (Figura 14), conflitando apenas com o tamanho do cérebro, que influenciará na escolha da posição vertical ou horizontal do cassete, em casos de dimensões encefálicas grandes.



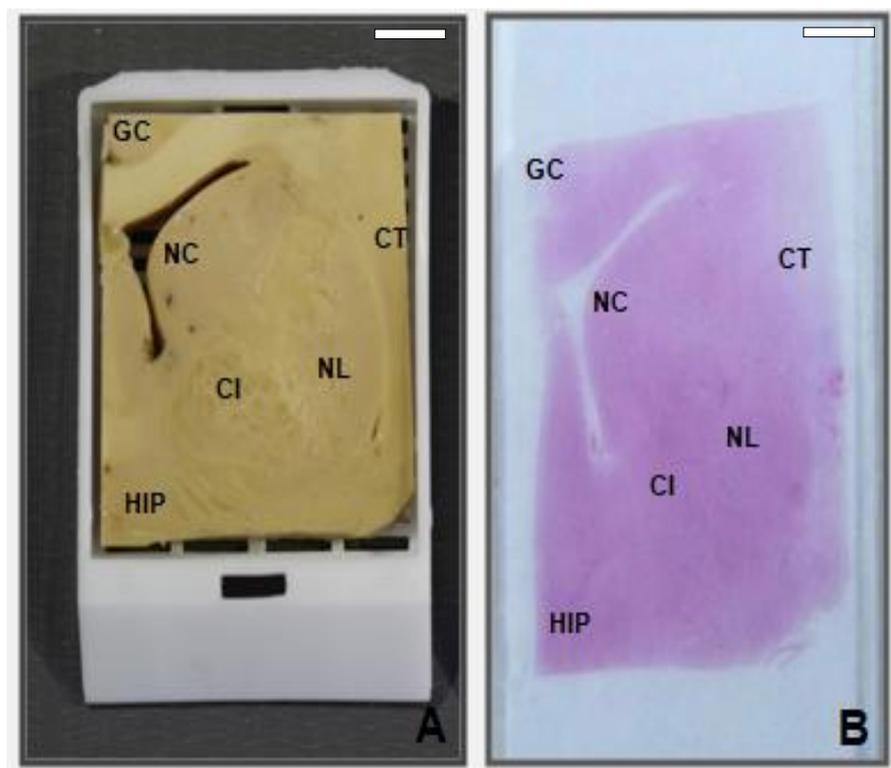
**Figura 14:** Espécime bovina. **A)** Fotomicrografia da vista ventral ao plano transversal do telencéfalo. Barra de escala= 4,5 cm. **B)** Fotomicrografia do cassete adaptado (sem grade) ao corte transversal demonstrando as estruturas enquadradas: GC = giro do cíngulo; NC = núcleo caudado; NL = núcleo lentiforme; HIP = hipotálamo. Barra de escala= 3,0 cm.

Ao plano dorsal ao nível do sulco rinal lateral do lobo piriforme do cérebro, com o cassete adaptado (sem grade) demonstrou o enquadramento do hipocampo (HC), ventrículo lateral (VL), da amígdala cerebral (AM) e TL= Tálamo, onde a posição horizontal possibilita melhor o enquadramento para estruturas desejadas (Figura 15), conflitando apenas com a dimensão do cérebro em si. Além disso, quando comparadas ao plano transversal, possibilitou uma menor quantidade de estruturas e com visualizações de estruturas anatômicas distintas, independentes da posição do cassete.



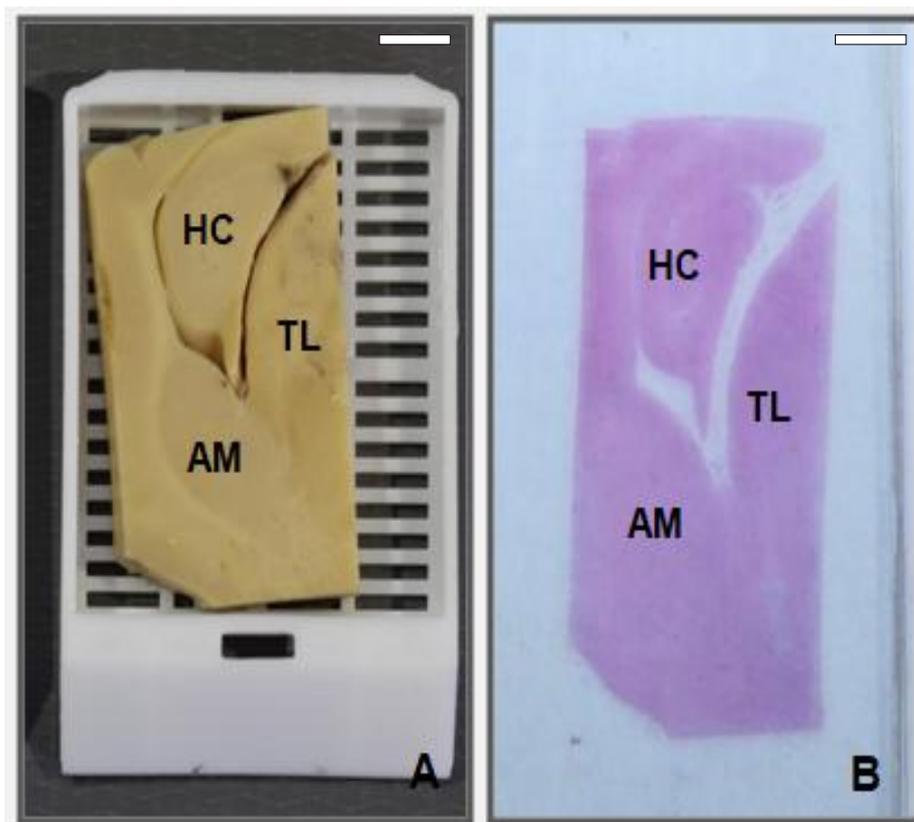
**Figura 15:** Espécime bovina. **A)** Fotomacrografia da vista lateral ao plano dorsal na altura do sulco rinal lateral. Barra de escala= 4,0 cm. **B)** Fotomacrografia ao plano dorsal da demonstração das estruturas enquadradas. HC= hipocampo, AM= Amígdala, TL= Tálamo e VL= Ventrículo Lateral. Barra de escala= 1,5 cm.

Para as imagens de cortes submacroscópicos foram selecionadas as principais regiões anatômicas do corpo estriado dos núcleos caudado, cápsula interna, núcleo lentiforme, claustrum, giro do cíngulo e hipotálamo. Para cada corte foi apresentada a referência da superfície ventral do telencéfalo em que incidiu o corte e as estruturas subcorticais correspondentes, com as respectivas legendas, (Figura 16).



**Figura 16:** Fotomacrografia de um espécime Bovino Macho, 3 anos de idade, com 445,7 gramas de peso encefálico. **A)** Cortes no plano transversal, realizado tangenciando o quiasma óptico na posição vertical com o cassete adaptado (sem grade) com as identificações das estruturas enquadradas: GC = Giro do Cíngulo; NC = Núcleo Caudado; NL = Núcleo Lentiforme; HIP = Hipotálamo, CI= Cápsula Interna; HIP=Hipotálamo e CT= Claustro. Barra de escala= 1,0 cm. **B)** Após a remoção da estrutura para o cassete histológico respeitando as margens de segurança do processamento de fixação, a imagem submacroscópica da lâmina e as correlações com a peça clivada auxiliam na confirmação das estruturas citadas na Figura A. Barra de escala= 1,0 cm.

Para as imagens de cortes submacroscópicos foram selecionadas as principais regiões anatômicas do sistema límbico, tálamo, hipocampo e amígdala cerebral. Para cada corte foi apresentada a referência da superfície ventral do telencéfalo em que incidiu o corte e as estruturas subcorticais correspondentes, com as respectivas legendas, (Figura 17).



**Figura 17:** Fotomacrografia de um espécime Bovino Macho, 3 anos de idade, com 445,7 gramas de peso encefálico. **A)** Corte dorsal ao nível do sulco rinal lateral do lobo piriforme, na posição vertical onde o cassete adaptado (sem grade, com identificação das estruturas no enquadramento: HC= Hipocampo, AM= Amígdala e TL= Tálamo. Barra de escala= 1,0 cm. **B)** Após a remoção da estrutura para o cassete histológico respeitando as margens de segurança do processamento de fixação, as imagens submacroscópicas das lâminas e as correlações com as peças clivadas auxiliam na confirmação das estruturas citadas na Figura A. Barra de escala= 1,0 cm.

## 5 DISCUSSÃO

Ressalta-se a importância deste estudo na aplicação de interpretações clínico-patológicas associadas a áreas de lesões em bovinos e equinos com diagnóstico de enfermidades neurológicas. Os núcleos da base são importantes estruturas principalmente para as funções motoras e de expressão do comportamento. Alguns espécimes não contavam com informações de idade e sexo e a variância nas medidas se deu em função de encéfalos de animais jovens, não completamente desenvolvidos em suas medidas e aqueles já completamente desenvolvidos dos adultos para a mesma espécie. Em se tratando de amostragem de conveniência é esperado encontrar essa variação. As raças também não foram consideradas na tabulação dos dados.

Em um estudo realizado sobre o quociente de encefalização (EQ) em comparação com o peso corporal do cérebro do *Bos Taurus* doméstico, Ballarin et al. (2016) concluíram que o peso médio do cérebro mostra um grau relativamente baixo de variabilidade, com variações mínimas entre as classes de idades dentre os grupos estudados, ou seja, que nem a idade nem a raça bovina afetou o peso do cérebro, devido a uma consequência do alto grau de padronização da pecuária bovina. Entretanto, o peso médio do encéfalo em dois grupos de bovinos de raças distintas, touro Brava de Lide e touro de corte, foi menor em proporção ao peso do encéfalo com o peso corporal (GOUVEIA et al., 2016).

Dentro do nosso grupo amostral de bovinos, as amostras não puderam ser divididas pelo sexo devido ao pequeno número de espécimes machos; uma das hipóteses reflete sobre a tendência da produção atual, na qual poucos machos são selecionados a sobreviver além da puberdade. Vacas de maior idade acabam gerando uma população de animais com maior frequência de afecções diversas e morte, ocasião em que o proprietário opta por solicitar diagnóstico, em muitos casos. No que se refere ao peso encefálico, Ballarin et al. (2016), em estudo realizado com bovinos, encontraram na comparação encefálica entre os sexos, fêmeas com corpos e cérebros mais pesados que os machos.

Também foram descritas as estruturas encefálicas em sua morfometria anatômica, em que o comprimento e a largura total do encéfalo, comprimento e altura do telencéfalo direito e esquerdo, não mostraram diferenças significativas. Peters et al. (1998) diz que a morfometria é o estudo científico das dimensões de estruturas anatômicas macroscópicas dos indivíduos, e essas medidas são muitas vezes feitas por medições diretas em amostras fixadas em solução

de formaldeído, especialmente no cérebro, motivo pelo qual há variação na precisão dos resultados morfométricos.

Dentro do grupo amostral dos equídeos quando comparados os antimeros direito e esquerdo em relação ao comprimento e alturas dos hemisférios não houve diferença significativa, algumas das hipóteses levantadas aos resultados encontrado do aumento do desvio padrão é devido ao baixo n amostral e animais em fases da vida diferentes, apresentando variações em suas dimensões encefálicas. No entanto, nesta amostra foram calculados a média e o desvio padrão de todo o conjunto dos espécimes, não sendo possível separar a espécie por sexo, porém neste grupo existem 12 machos e 17 fêmeas. Todavia, Moraes et al. (2014) observaram que as fêmeas apresentaram os maiores valores de largura dos hemisferios cerebrais direito e esquerdo e também o comprimento do cerebelo, em um estudo realizado sobre a morfometria do encéfalo de equinos mestiços de ambos os sexos.

Para os bovinos, os resultados encontrados foram semelhantes aos de equinos, não tendo diferença significativa quando comparados os antimeros direito e esquerdo em relação ao comprimento e alturas dos hemisférios. As hipóteses consideradas à espécie equina também foram consideradas para os bovinos uma vez que estudos morfométricos encefálicos na espécie bovina são bem escassos. No entanto, nesta amostra foram calculados a média e o desvio padrão de todo o conjunto dos espécimes, não sendo possível separar a espécie por sexo, porém neste grupo existem 3 machos e 8 fêmeas.

No entanto, a padronização de variáveis é um requisito fundamental que garante resultados reprodutíveis em experimentos científicos (PERUFFO; COZZI, 2014).

No exame macroscópico, o estado, a preservação e as alterações macroscópicas dos cérebros foram avaliadas e selecionadas pelo seu estado de conservação. As orientações dos cortes propostos neste trabalho apresentaram resultados homogêneos, de acordo com o plano de secção. A pré-localização através da clivagem poderá permitir a visualização no *post mortem* da lesão ou área de interesse se os pontos de referência externos predefinidos estiverem identificados e guiados anatomicamente quanto ao modo de acessá-los, independente das espécies.

Naturalmente, o tamanho do cérebro tem um efeito na amostragem subsequente para histologia. Cada instituição irá definir as suas regiões de interesse de acordo com seus equipamentos, como micrótomos, cassetes e lâminas de vidro com lamínulas (BITSCHI et al., 2020). A aplicação deste roteiro de imagens também permitirá a seleção remota de regiões de interesse por especialistas externos que também estão cientes do procedimento, diminuindo o

número de lâminas feitas e refletindo no aproveitamento do tempo. Consequentemente, investigadores menos experientes também poderão facilmente coletar amostras de fragmentos cerebrais triados por especialistas e transmiti-los para fins diagnósticos e científicos.

Empiricamente, as pessoas tendem a usar cortes transversais como planos tradicionais, o que pode impedir a avaliação concisa e a histomorfometria de regiões que se apresentam em cortes tangenciais, como aspectos principais do hipocampo e córtex motor ou aquelas com planaridade peculiar, como o córtex cerebelar (BITSCHI et al. 2020). Entretanto, na presente pesquisa, ao nível transversal, o corte realizado tangenciando o quiasma óptico foi o mais constante na presença das estruturas do corpo estriado. Considerando que há autores que descrevem lesões no corpo estriado como sendo o conjunto dos núcleos da base do cérebro, considera-se adequada a descrição específica da localização de possíveis lesões. Este trabalho apresenta um roteiro simplificado para identificar núcleo caudado, cápsula interna, núcleo lentiforme e claustró, favorecendo diagnósticos menos generalistas e mais precisos.

No que se refere ao núcleo lentiforme (conjunto formado por putâmen e globo pálido), em cães e em humanos é descrito que o mesmo acumula manganês, seja por encefalopatia produzida por *shunt* porto-sistêmico, seja por ingestão de manganês decorrente de causas diversas. Esses achados são normalmente obtidos por ressonância magnética. Como em equinos e bovinos não há rotina até o momento para esse suporte diagnóstico de imagens cerebrais, é importante ser considerado pela patologia o exame detalhado do núcleo lentiforme no diagnóstico histopatológico (NELSON, 1993; MORTERA-BALSA, 2015).

No plano dorsal, ao nível do sulco rinal lateral do lobo piriforme do cérebro, com o cassete adaptado, demonstrou-se o enquadramento do hipocampo, ventrículo lateral, da amígdala cerebral e do tálamo. O núcleo amigdalóide se localiza, de acordo com a sua anatomia topográfica, imediatamente justaposto à cauda do núcleo caudado, segundo HEIMER; VAN HOESEN, (2006). No corte dorsal do lobo piriforme, o núcleo amigdalóide é uma concentração de núcleos de substância cinzenta ligeiramente projetada para o ventrículo lateral, próximo ao corno ventral do hipocampo, conforme demonstrado neste trabalho. Quanto ao papel relevante da amígdala em relação às emoções e ao comportamento, é importante ressaltar que a sua parte centro medial não se projeta para o striatum, e sim, para o hipotálamo e tronco encefálico. Através dessas aferências, toda a amígdala estendida exerce as suas influências sobre as áreas neurais que geram os componentes autonômicos, endócrinos e somatomotores das experiências emocionais (BARRETO; SILVA, 2010) e incluir na rotina da histopatologia a leitura da amígdala acrescenta novas possibilidades aos estudos do

comportamento animal. É importante enfatizar a necessidade de histórico detalhado do caso clínico, visando a correlação apropriada dos achados com os sinais descritos na anamnese. Em casos de animais com histórico de agressividade e lucidez alterada, a amígdala deve ser analisada com mais critério, inclusive com o preparo de mais lâminas histológicas, visando contemplar planos anatômicos mais abrangentes do tecido.

A raiva, assim como o medo, é uma emoção relacionada às funções da amígdala, em decorrência de conexões com o hipotálamo e outras estruturas (BEAR; CONNORS; PARADISO, 2008). Em outras espécies, como felinos e primatas não humanos, a indução e a percepção de estímulos elétricos no hipotálamo e amígdala foram claramente correlacionadas com alterações de comportamento (GOUVEIA et al, 2016) macacos adultos com alterações no núcleo amígdaloide demonstram menos medo, porém apresentam uma maior agressividade quando se depara a uma possível ameaça (RAPER et al., 2013).

Estudos dos núcleos que compõem a amígdala cerebral, o tipo de neurotransmissores e a expressão de receptores serão necessários para aprofundar a avaliação do papel desta estrutura neuroanatômica (GOUVEIA et al., 2016) e o acesso à amígdala precisa ser conhecido, tanto pelo corte convencional no plano transversal, como em cortes alternativos. Gouveia et al. (2016) trabalharam com encéfalos oriundos de uma amostra homogênea e a indicação pelo corte transversal 1cm caudal ao quiasma óptico foi suficiente para mensurar altura e largura da amígdala em um plano bidimensional. O corte dorsal ao nível do sulco rinal lateral propicia a mensuração da largura e do comprimento da amígdala, além de visualizar no mesmo campo o tálamo e o hipocampo, com a referência do ventrículo lateral.

A amostragem de conveniência permitiu a realização deste trabalho, com um nível seguro para as descrições morfológicas que foram o objetivo do presente estudo. Todavia, sugere-se a ampliação do n amostral em futuros trabalhos, visando a caracterização populacional das medidas morfométricas realizadas, incluindo variáveis de ordem mesoscópica e microscópica, não consideradas aqui. Quanto aos valores das medidas de comprimento e largura do telencéfalo, é preciso avaliar a necessidade de coletar duas amostras de tecidos nos cérebros mais altos ou mais largos, condição esta que implica maior afastamento entre os núcleos e com isto determina que alguns fiquem de fora na amostra que vai ao cassete. Essa condição acontece principalmente no claustro (corte transversal ao nível do quiasma óptico) e no tálamo (corte horizontal ao nível do sulco rinal lateral). O manuseio do cassete sobre a amostra a ser clivada permite a constatação da necessidade de se coletar um segundo fragmento para maior abrangência das áreas a serem analisadas à microscopia.

## 6 CONCLUSÕES

Conclui-se que ao nível transversal, o corte realizado tangenciando o quiasma óptico foi o mais constante na presença dos núcleos da base em bovinos e equinos. Para a amígdala cerebral, hipocampo e tálamo, o corte dorsal incidindo a parte caudal do sulco rinal lateral apresentou precisão no enquadramento das estruturas nas espécies estudadas, com a referência do ventrículo lateral.

As imagens submacroscópicas das lâminas e as correlações com as peças clivadas auxiliam na confirmação das identificações dos núcleos considerados neste trabalho.

O peso e as variáveis métricas do encéfalo não interferiram na clivagem e nem na localização das estruturas propostas.

É importante incluir na rotina da anamnese e da histopatologia a leitura da amígdala cerebral, visando a correlação apropriada com os sinais de agressividade e lucidez alterada, o que acrescenta novas possibilidades diagnósticas e do estudo do comportamento dessas espécies.

Os métodos utilizados nesse estudo se mostraram úteis para a realização de clivagem do cérebro de bovinos e equinos que facilitam o exame histopatológico de rotina, no que diz respeito à localização dos núcleos da base do cérebro e a investigação de lesões nessa região, conforme o quadro clínico de pacientes com síndromes neurológicas que afetam principalmente as funções motoras e de expressão do comportamento

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BALLARIN, C.; POVINELLI, M.; GRANATO, A.; PANIN, M.; CORAIN, LI.; PERUFFO, A.; COZZI, B. The Brain of the Domestic *Bos taurus*: Weight, Encephalization and Cerebellar Quotients, and Comparison with Other Domestic and Wild Cetartiodactyla. **Journal Pone**. v.10. n.1317. 2016.
- BARRETO, J. E. F.; SILVA, LUCIANE, P. Sistema límbico e as emoções – uma revisão anatômica. **Rev Neurocienc**. v.18, n.3, p.386-394. 2010.
- BARROS, C. S. L. Neuropatias Bovinas Emergentes. **Ciência Animal brasileira**. V.1, n.10, p.1006,2009.
- BARROS, C. S. L; MARQUES, G. H. F. **Procedimentos para o diagnóstico das doenças do sistema nervoso central de bovinos**. -- Brasília: MAPA/SDA/DDA, 2003. 50 p.
- BEAR, M.F.; CONNORS, B.W.; PARADISO, M. A. **Neurociências: desvendando o sistema nervoso**. 3ª. ed. Porto Alegre: Artmed, 2008, 857p.
- BITSCHI, MAYA-LENA; BAGÓ, Z; ROSATI, M; REES, S; GOEHRING, L. S; MATIASEK, K. A Systematic Approach to Dissection of the Equine Brain–Evaluation of a Species-Adapted Protocol for Beginners and Experts. **Frontiers in Neuroanatomic**. v. 14, p.614929, 2020.
- CALLAN, R. J.; METRE, D. C.V. Viral diseases of the ruminant nervous System. **Vet Clin Food Anim**. v.20, p.327–362, 2004.
- CAMPERO, C. M.; ODEON, A. C.; CIPOLLA, A. L.; MOORE, D. P; POSO, M. A.; ODRIOZOLA, E. Demonstration of *Listeria monocytogenes* by Immunohistochemistry in Formalin-Fixed Brain Tissues from Natural Cases of Ovine and Bovine Encephalitis. **J. Vet. Med. B**. v.49, p. 379–383, 2002.
- CARNEIRO, M. A. **Atlas e texto de neuroanatomia**. 2º ed. Barueri, SP: Manole, 2004.
- COSTA, E.A.; VASCONCELOS, A.C.; BOMFIM, M.R.Q. et al. Epidemiological and clinical aspects of equine Herpesvirus encephalitis infection in horses that died with neurological signs from Minas Gerais state, Brazil. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, v.46, p.262- 272, 2009.
- CRICK, F.C.; KOCH, C. What is the function of the claustrum?. **Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci**. p.1271–1279, 2005.

CUNHA, P. H. J.; BADIAL, P. R.; CAGNINI, D. Q.; FILHO, J. P. O.; MOARES, L. F.; TAKAHIRA, R. K.; AMORIM, R.; BORGES, A. S. Polioencefalomalácia experimental em bovinos induzida por toxicose por enxofre. **Pesq. Vet. Bras.** v.31, n.1, p. 41-52, 2011.

DONE, S. H.; GODOY, P. C.; EVANS, S. A.; STICKLAND, N. C. O gato: aspectos comparativos. In: DONE, S. H. **Atlas de anatomia veterinária do cão e do gato**. 2. ed. Rio de Janeiro, Elsevier, 2010b. p. 9-106.

DONE, S.H.; GODOY, P.C.; EVANS, S.A.; STICKLAND, N.C. A cabeça. In: **Atlas colorido de anatomia veterinária do cão e do gato**. 2. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010a. p. 9-106.

DYCE, K. M.; SACK, W. O.; WENSING, C. J. G. O sistema nervoso. In: **Tratado de anatomia veterinária**. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. p. 268--331.

EKMAN, L. L. **Neurociência: fundamentos para a reabilitação**. Guanabara Koogan S. A. Rio de Janeiro. 2000.

FERNANDES, C.G. & RIET-CORREA, F. 2007. In: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A.L.; LEMOS, R.A.A. & BORGES, J.R.J. (ed.) **Doenças de Ruminantes e Equinos**. Pallotti, Santa Maria: Pallotti.v. 1, p.722, 2007.

FERREIRA, D. F. Estatística descritiva. In: \_\_\_\_\_. Estatística básica. 2. ed. Lavras: Editora UFLA, 2009. p. 5-56.

GITIRANA, L. B. **Coleção Conhecendo: Histologia dos Tecidos / Lycia de Brito Gitirana** Rio de Janeiro: Publit, 2019. 380p.

GOUVEIA, A. J.; ORGE, L.; CARVALHO, P. A dimensão da amígdala cerebral e a agressividade no touro de lide. **Arch. Zootec.** V. 65, n.249, p.59-65, 2016.

GREEN, S.L.; SMITH, L.L.; VERNAU, W. & BEACOCK, S.M. Rabies in horses: 21 cases (1970-1990). **Journal of the American Veterinary Medical Association**. v. 200, p. 1133-1137, 1992.

HAM, A. W.; CORMACK, D. H. **Histologia**. 8.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1983. p. 485.

HEIMER, L.; VAN HOESEN. G.W. The limbic lobe and its output channels: implications for emotional functions and adaptive behavior. **Neurosci Biobehav Rev.** New York. v.30, p.126-47, 2006.

HENNINGER, R.W.; REED, S.M.; SAVILLE, W.J.; ALLEN, G.P.; HASS, G.F.; KOHN, C.W. & SOFALY, C. Outbreak of neurologic disease caused by equine herpesvirus-1 at a university equestrian center. **Journal of Veterinary Internal Medical**. v. 21, p. 157-165, 2007.

HUDSON, L.C.; WEISNTOCK, D. & JORDAN, T. Clinical features of experimentally induced rabies in cattle and sheep. **Journal of Veterinary Medicine B**. v. 43, n.2, p. 85-95, 1996.

JUNQUEIRA, L.C.U. & CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 11ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 524p.

JUNQUEIRA, L.C.U. & CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 12ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013. 556p.

KLEIN, B.G.; CUNNINGHAM, J.G. **Tratado de fisiologia veterinária**. Saunders, Elsevier, 4º edição, 2008, pág.710.

KONIG, H. E.; GEORG. **Anatomia dos animais domésticos: Texto e Atlas colorido**. 6º ed, Porto Alegre. Artmed, 2016.

KONIG, H. E.; LIEBICH, H. G.; CERVENY, C. Sistema nervoso. In: LIEBICH, H. G.; KONIG, H. E. **Anatomia dos animais domésticos- texto e atlas colorido**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2011. p. 510-580.

KÜCHLER, L; RÜFLI, I; KOCH, M. C; HIERWEGER, M. M; KAUER, R. V; BOUJON, C. L; HILBE, M; OEVERMANN, A; ZANOLARI, P; SEUBERLICH, T; GURTNER, C. Case Report Astrovirus-Associated Polioencephalomyelitis in an Alpaca 1 **Viruses**. v.13, p.50, 2021.

LANGOHR, I. M.; IRIGOYEN, L. F.; LEMOS, R. A. A.; BARROS, C. S. L. Aspectos epidemiológicos, clínicos e distribuição das lesões histológicas no encéfalo de bovinos com raiva. **Ciência Rural**. v.33, n.1, p.125-131, 2003.

LIEBICH, H. G. FORSTENPOINTNER, G.; KONIG, H. E. Introdução e anatomia geral. In: LIEBICH, H. G.; KONIG, H. E. **Anatomia dos animais domésticos- texto e atlas colorido**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2011. p. 21-68.

LIMA, E. F.; RIET-CORREA, F.; CASTRO, R. S., GOMES, A. A. B. & LIMA, F. S. Sinais clínicos, distribuição das lesões no sistema nervoso e epidemiologia da raiva em herbívoros na região Nordeste do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 25, n. 4, p. 250-264, 2005.

MACHADO, A. Estrutura e função dos núcleos da base e do centro branco medular do cérebro. In: MACHADO, A. **Neuroanatomia funcional**. 2º edição. São Paulo-SP: Atheneu, 2006. p. 249-56

MACHADO, A.; HAERTEL, L. M. **Neuroanatomia Funcional**. 3ª Ed. São Paulo. Ed. Atheneu. 2014. p-344.

MACKAY, E.B.; HERNANDEZ-DIVERS, S.J.; HOLLAND, M.; FRANK, P. Clinical Technique: Application of Computed Tomography in Zoological Medicine. **Journal of Exotic Pet Medicine**. v. 17, n. 3, p. 198–209, 2008.

**Manual Veterinário de Colheita e Envio de Amostras**. Mapa/OPAS, 2010.

MARTHUR, B. N. The claustrum in review. **Frontiers in Systems Neuroscience**. v.8, p.7-15, 2014.

MELLO, L.E.; VILLARES, J. Neuroanatomy of the basal ganglia. **Psychiatr Clin North Am**. v.20, n.4, p.691-704, 1997.

MEGID, J.; RIBEIRO, M.G.; PAES, A. C. **Doenças infecciosas em animais de produção e de companhia**. 1º edição. Rio de Janeiro. Roca. 2016. 1294 p.

MENESES, M. S. **Neuroanatomia aplicada**. São Paulo: Grupo Gen- Guanabara Koogan. 2011. 351p.

MORAES S. O. S.; GOMES, M. S.; SCHERER, P. O.; ABIDUFIGUEIREDO, M. Morfometria do encéfalo e formação do circuito arterial em equinos mestiços. **Ciência Animal Brasileira (Online)**. v. 15, p. 330-338, 2014.

MORI, E.; BORGES, A.S; DELFIOL, D.J, et al. First detection of the equine herpesvirus 1 neuropathogenic variant in Brazil. **Rev. Sci. Tech**. v.30, p.949-954, 2011.

MORIN, D. E. Brainstem and cranial nerve abnormalities: listeriosis, otitis media/interna, and pituitary abscess syndrome. **Vet Clin Food Anim**. v.20, p.243–273,2004.

MORTERA-BALSA, V.; PENDERIS, J.; WESSMANN, A.; GONÇALVES, R.; LOWRIES, M.; GUTIERRES-QUINTANA, R. Magnetic resonance imaging of the lentiform nuclei in dogs with portosystemic shunts. **Journal of Small Animal Practice**. v. 56. P. 307-311. 2015.

MUHAMMAD, I.; MAHMOOD, S. An overview of animal prion diseases. **Virol Jour**. v.8, n.493, 2011.

NELSON, K.; GOLNICK, J.; KOM, T. Manganese encephalopathy: utility of early magnetic resonance imaging. **British Journal of Internal Medicine**. 50. 510-513. 1993.

**NOMINA ANATÔMICA VETERINÁRIA**. 6º edição. 2017.

PEIXOTO, Z. M. P; CUNHA, E. M. S. & SACRAMENTO, D. Rabies laboratory diagnosis: Peculiar features of samples from equine origin. **Braz. J. Microbiol**. v.31 p.72-75. 2000.

PERUFFO, A; COZZI, B. The Brain of the Domestic Bos taurus: Weight, Encephalization and Cerebellar Quotients, and Comparison with Other Domestic and Wild Cetartiodactyla. **PLoS ONE**. v.11, p. 4, 2014.

PETERS, M.; JANCKE, L; HELANG, Y.; STEINMETZ, H.; SCHLAUS, G; STAIGER, J. F. Unsolved problems of comparing brain sizes in *homo sapiens*. **Brain and Cognition**. v.37, n.254, p. 85, 1998.

PIMENTEL, L. A. **Doenças do sistema nervoso de equídeos no semi-árido**. Patos: UFCG, 2009. 88 p. Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande, Patos, 2009.

PRADA, I. **Neuroanatomia funcional em Medicina Veterinária com correlações clínicas**. 1ª Ed. Terra Molhada. Jaboticabal. 2014. 586 p

Procedimentos para o diagnóstico das doenças de Sistema Nervoso Central de Bovinos- EEB. **MAPA**. Brasília-DF, 2003.

**Procedimentos para o diagnóstico das doenças do sistema nervoso central de bovinos**. Brasília: MAPA/SDA/DDA, v.50, 2003.

Procedimentos para vigilância de doenças nervosas em ruminantes a campo raiva e encefalopatias espongiiformes transmissíveis – EET. **MAPA**. 2007.

RAPER, J.; WILSON, M.; SÁNCHEZ, M.; MACHADO, C.J. AND BACHEVALIER, J. Pervasive alterations of emotional and neuroendocrine responses to an acute stressor after neonatal amygdala lesions in rhesus monkeys. **Psychoneuroendocrinology**. v.38, p.1021-1035, p. 2013.

REED, S.M.; TORIBIO, R.E. Equine herpesvirus 1 and 4. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**. v. 2, p.631-642, 2004.

RIET-CORREA, F; RIET-CORREA, G; SCHILD, A.L. Importância do exame clínico para o diagnóstico das enfermidades do sistema nervoso em ruminantes e eqüídeos. **Pesq Vet Bras**. v.22, p.161-168, 2002.

RISSI, D, R.; PIEREZAN, F.; OLIVEIRA-FILHO, J.C.; LUCENA, R. B.; CARMO, P.M.S.; BARROS, C.S.L. Abordagem diagnóstica das principais doenças do sistema nervoso de ruminantes e equinos no Brasil. **Vet. Bras**. v. 30, n 11, p.958-967, 2010.

Sadler, T. W. **Langman, embriologia médica**. 13a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2019.

SANCHES, A.W.D., LANGOHR, I.M., STIGGER, A.L., BARROS, C.S.L. Diseases of the central nervous system in cattle of southern Brazil. **Pesq Vet Bras**. v.20, p.113–118, 2000.

SIEGEL, A.; VICTOROFF, J. Understanding human aggression: New insights from neuroscience. **Int J. Law Psychiat**. V.32, p. 209-215, 2009.

SILVA, MARIA LUANA C.R.; RIET-CORREA, FRANKLIN; GLAUCO J.N. GALIZA, AZEVEDO, SÉRGIO.; AFONSO, JOSÉ A.B. E GOMES, ALBÉRIO A.B. Distribuição do vírus rábico no sistema nervoso central em ruminantes naturalmente infectados. **Pesq. Vet. Bras**. v.30, n.11, p940-944, 2010.

SISSON, S. & J.D. GROSSMAN. **Anatomia dos Animais Domésticos**. 5ª Ed, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, v 1 e 2. 1986.

STOKOL, T.; DIVERS, T. J.; ARRIGAN, J. W.; MCDONOUGH, S. P. Cerebrospinal fluid findings in cattle with central nervous system disorders: a retrospective study of 102 cases (1990–2008). **Vet Clin Pathol**. v.38, n.1, p.103–112, 2009.

STUDDERT, M.J.; HARTLEY, C.A.; DYNON, K.; SANDY, J.R., SLOCOMB, R.F.; CHARLES, J.A.; MILNE, M.E.; CLARKE, A.F. & EL-HAGE, C. Outbreak of equine herpesvirus type 1 myeloencephalitis: new insights from virus identification by PCR and the application of an EHV-1 -specific antibody detection ELISA. **Veterinary Record**. v. 153, p. 417-423, 2003.

SUMMERS, B.A.; CUMMINGS, J.F.; DE LAHUNTA, A. **Veterinary Neuropathology**. St. Louis: Mosby-Year Book, 1<sup>o</sup> edição. 1995. p.527.

THOMSON, C., HAHN, C. **Veterinary Neuroanatomy. A Clinical Approach**. Ed. Saunders Elsevier. 2012. 178p.

TRIOLA, M. F. **Introdução à Estatística**. LTC. 656 p. 9 ed. Rio de Janeiro. 2005.

WISNER E. R.; POLLARD, R. E. Trends in veterinary cancer imaging. **Veterinary and Comparative Oncology, Chichester**. v. 2, n. 2, p. 49-74, 2004.

ZACHARY, J. F.; MCGAVIN, M. D. **Bases da patologia veterinária**. 5<sup>a</sup> Ed. 2013. p.1323.