

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**MIOPATIA DORSAL CRANIAL EM FRANGOS DE CORTE: CARACTERIZAÇÃO  
ANATOMOPATOLÓGICA, COLHEITA E ANÁLISE DE DADOS**

**Autora: Francieli Cordeiro Zimmermann**

**PORTO ALEGRE  
2008**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**MIOPATIA DORSAL CRANIAL EM FRANGOS DE CORTE: CARACTERIZAÇÃO  
ANATOMOPATOLÓGICA, COLHEITA E ANÁLISE DE DADOS**

**Autora: Francielli Cordeiro Zimmermann**

**Dissertação apresentada como requisito parcial  
para obtenção do grau de Mestre em Ciências  
Veterinárias na área de Sanidade Avícola.**

**Orientador: Vladimir Pinheiro do Nascimento**

**Co-orientador: Luiz Cesar Bello Fallavena**

**PORTO ALEGRE  
2008**

Francielli Cordeiro Zimmermann

MIOPATIA DORSAL CRANIAL EM FRANGOS DE CORTE: CARACTERIZAÇÃO  
ANATOMOPATOLÓGICA, COLHEITA E ANÁLISE DE DADOS

Aprovada em 13/10/2008

APROVADO POR:

---

Prof. Dr. Vladimir Pinheiro do Nascimento  
Orientador e Presidente da Comissão

---

Prof. Dr. Elci Lotar Dickel  
Membro da Comissão

---

Prof. Dr. Guiomar Pedro Bergmann  
Membro da Comissão

---

Prof. Dra. Luciana Ruschel dos Santos  
Membro da Comissão

## **AGRADECIMENTOS**

**A Deus pela proteção e luz em mais uma etapa desta caminhada.**

**Aos meus pais e irmãos pelo eterno carinho.**

**Ao Marcos pela presença constante, companheirismo, ajuda pessoal e profissional.**

**Ao professor Fallavena pela orientação nesse trabalho, pela generosidade nos ensinamentos de patologia aviária, pela paciência e amizade.**

**Aos professores Hamilton e Tadeu pelos preciosos ensinamentos e conselhos.**

**Ao professor Vladimir pelas oportunidades, confiança e liberdade na escolha do tema desse trabalho.**

**A Dani e a Nádia pela amizade acolhedora e convívio em “família”.**

**Aos amigos, funcionários e colegas do CDPA pela contribuição nesse trabalho e no meu amadurecimento pessoal e profissional.**

**Ao professor David Driemeier pelas oportunidades de aprendizado em patologia veterinária e disponibilidade de ajuda nesse trabalho.**

**Ao professor Rui Campos e sua equipe pelo trabalho no setor de Anatomia.**

**Ao professor Aldo Gava pela base em patologia e ajuda nas reflexões desse trabalho.**

**Ao Dr. Ricardo Soncini pela disponibilidade de ajuda desde o início do presente trabalho.**

**A UFRGS pela pós-graduação de excelente qualidade.**

**A CAPES pela bolsa de estudos.**

**A todos, meu muito obrigada!**

## RESUMO

A miopatia dorsal cranial (MDC) acomete frangos de corte e é verificada a partir dos 33 dias de vida, quase exclusivamente nas linhas de abate e em diferentes matadouros-frigoríficos dos três estados do sul do Brasil, aonde vem causando prejuízos com condenações parciais e totais, gerando crescente preocupação, já que é um problema completamente desconhecido e faz parte de um alimento consumido em todo o mundo. O objetivo desta pesquisa foi fazer uma caracterização anatomopatológica da MDC, através da colheita e análise de dados relacionados ao problema em uma empresa avícola do sul do país. A caracterização foi realizada através de um estudo anatômico, avaliações macroscópicas e microscópicas do músculo envolvido e avaliação de outros músculos e vísceras de carcaças com lesão dorsal na busca de informações que pudessem indicar alguma etiologia conhecida. A colheita e análise de dados foi realizada em uma empresa com 0,5% ao mês de condenação por MDC. Pesquisou-se a idade de início da lesão nos frangos, a presença de possíveis problemas nutricionais e/ou miotóxicos e análise do banco de dados da condenação para alguns parâmetros zootécnicos. Pode-se verificar no estudo anatômico que na carcaça com MDC a vascularização local não estava evidente. A lesão macroscópica no músculo *Anterior Latissimus Dorsi* (ALD) foi 89% bilateral (de 110 carcaças avaliadas). A pele do local apresentou coloração amarelada, aumento de volume subcutâneo e ao corte, presença de fluido gelatinoso amarelo citrino e inodoro. Os músculos ALD lesionados apresentavam as superfícies inferiores e/ou superiores hemorrágicas, aumento da consistência, palidez e aderência aos músculos adjacentes e ao corte, aumento da espessura quando comparado a músculos sem alteração. Microscopicamente a lesão foi caracterizada como multifásica com presença de algumas fibras ainda viáveis, fibras em degeneração hialina, necrose flocular, outras em regeneração e extensa proliferação de tecido conjuntivo fibroso além de tecido fibro-adiposo. Tecido de granulação altamente vascularizado na periferia da lesão necrótica e envolvendo todo o músculo foi freqüentemente observado com grande quantidade de células inflamatórias mononucleares. Granulócitos foram verificados em alguns cortes do ALD macroscopicamente alterado. O ALD e demais músculos, sem lesão macroscópica, apresentaram lesões microscópicas de leves a muito intensas, sendo hialinização e necrose flocular as lesões predominantes em todos os outros músculos. Lesão microscópica foi encontrada tão cedo quanto 23 dias de vida. Nos corações, não foram encontradas alterações significativas. Nas moelas verificou-se picnose difusa nos miócitos. Os rins e as bursas de Fabricius apresentaram lesões, como severa necrose tubular e intensa depleção linfóide (>70%), respectivamente. Erros de dosagem do *premix* (vitamina E, selênio e ionóforos) na ração de frangos com MDC foram encontrados. Já sementes de *Senna occidentalis* não foram encontradas no alimento das mesmas. Machos, de linhagens pesadas, apresentando maiores médias de peso e idade ao abate apresentaram os maiores percentuais de condenação por MDC ( $P<0,01$ ). Conclui-se que a MDC é multifásica, ocorrendo a partir de diferentes momentos de insulto e acomete com maior freqüência frangos pesados e de crescimento rápido. Deficiência de vitamina E e selênio ou níveis tóxicos de ionóforos podem estar contribuindo na indução desta “nova” miopatia.

**PALAVRAS CHAVE:** miopatia dorsal cranial, músculo *anterior latissimus dorsi*, frango de corte e condenações parciais de carcaças.

## ABSTRACT

“*Miopatía dorsal cranial*” (MDC) or dorsal cranial myopathy affects broiler chickens as early as their 33rd day of life, occurring almost exclusively on slaughter lines and in different slaughterhouses in the three southern states of Brazil where it has been causing economical losses, due to the resulting condemnation or downgrading of carcasses. It is cause for great concern as it is a completely unknown problem and chicken is an important food product consumed worldwide. The objective of this study was to conduct an anatomical and pathological characterization through the acquisition and analysis of data related to this problem in a poultry industry. This characterization was carried out through an anatomical study, histological evaluation of the damaged muscle and evaluation of other muscles and organs of carcasses presenting back injury, in the search for information that would reveal any known etiology. The data acquisition and analysis was carried out in a company with 0.5% of carcasses downgraded per month due to this disease. The age at which the lesion starts, the presence of possible nutritional and/or toxic myopathies, and the analysis of the condemnation database for some zootechnical parameters were carried out. It was found in an anatomical study that damaged muscle vascularization with MDC was not evident. Macroscopic lesions in the *Anterior Latissimus Dorsi* muscle (ALD) were 89% bilateral (in 110 carcasses evaluated). Skin on the lesion was yellowish, with a subcutaneous volume increase, and after cutting the skin was odorless with the presence of an edematous and gel-like yellow-citrine fluid. ALD muscle was hemorrhagic on the lower and/or upper surface, showing increased consistency and pallor and adherence to the adjacent muscles, and after cutting increased thickness was verified when compared to muscles without lesions. Microscopically the lesion was characterized as polyphasic with some viable muscle fibers, hyaline degenerated fibers, floccular necrosis, regenerating muscle fibers and extensive fibrosis and fibro-adipose tissue. Highly vascular granulation tissue at the border of the necrotic muscle was found with large amounts of inflammatory mononuclear cells. Some ALD macroscopically damaged muscle had granulocytes cells. ALD and other muscles, without macroscopic injury, showed from mild to intense microscopic lesions, fiber degeneration (hyaline) and floccular necrosis being the major lesions in the former muscles. Microscopic lesions were found as early as the 23rd day of life. There were no significant changes observed in the hearts, but there was a diffuse pyknosis of myocytes in the gizzards. The kidneys and the bursa of Fabricius had injuries such as severe tubular necrosis and severe lymphoid depletion (>70%), respectively. Errors in the mineral and vitamin dosage in the premix (vitamin E, selenium and ionophores) fed to the chickens with MDC were found. However, seeds of *Senna occidentalis* were not found in the feed. Males of heavy strains, having higher average weight and older age at slaughter had the highest percentage of downgrading due to MDC ( $P<0.01$ ). Therefore, MDC is polyphasic and occurs at different times of insult, affecting most frequently heavy and fast-growing chickens. Deficiency of vitamin E/selenium or toxic levels of ionophores may be contributing to the induction of this recently observed type of myopathy.

**KEYWORDS:** dorsal cranial myopathy, *anterior latissimus dorsi muscle*, broiler chicken and downgrading of carcasses.

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 01: Localização do músculo ALD.....	16
FIGURA 02: Irrigação do músculo ALD de carcaça normal (lado direito) .....	43
FIGURA 03: Irrigação do músculo ALD de carcaça normal (lado esquerdo) .....	43
FIGURA 04: Músculo ALD de carcaça com MDC (lado direito) .....	44
FIGURA 05: Infiltrado inflamatório mononuclear (A) em músculo ALD macroscopicamente normal. Lesão leve ou grau 1. H & E, 200x.....	45
FIGURA 06: Infiltrado inflamatório predominantemente mononuclear circundando fibra muscular em degeneração hialina (A). Corte de Músculo ALD macroscopicamente normal. Lesões leves ou grau 1. H & E, 200 x .....	45
FIGURA 07: Necrose de fibra muscular com infiltrado inflamatório predominantemente mononuclear (círculo) em músculo ALD macroscopicamente normal. Inflamação moderada ou de grau 2. Degeneração e necrose leves ou de grau 1.H & E, 100x.....	45
FIGURA 08 (Ampliação da Figura 07): Necrose de fibra do músculo ALD (A) macroscopicamente normal, com infiltrado inflamatório predominantemente mononuclear (B). H & E, 400x.....	45
FIGURA 09: Infiltrado inflamatório predominantemente mononuclear (A) em músculo ALD macroscopicamente normal. Lesão leve ou de grau 1. H & E, 200x.....	46
FIGURA 10: Erros de dosagem do <i>premix</i> na ração inicial de frangos de corte.....	47

FIGURA 11: Região dorsal cranial de carcaça com MDC. Pele da região apresentando coloração amarelada e aumento de volume subcutâneo (seta).....	50
FIGURA 12: Região dorsal cranial de carcaça sem MDC. Pele da região apresentando aspecto normal.....	50
FIGURA 13: Região dorsal cranial de carcaça com MDC. Corte da pele da região. Músculo ALD (setas), apresentando hemorragias superficiais, palidez, conteúdo de aspecto gelatinoso nas adjacências.....	50
FIGURA 14: Região dorsal cranial de carcaça sem MDC. Músculo ALD apresentando aspecto macroscopicamente normal.....	50
FIGURA 15: Região dorsal cranial de carcaça com MDC. Músculo ALD exibindo aumento de volume.....	51
FIGURA 16: Região dorsal cranial de carcaça sem MDC. Músculo ALD apresentando aspecto macroscopicamente normal .....	51
FIGURA 17: Hipereosinofilia, aumento de volume e homogeneização sarcoplasmática - degeneração hialina (A). Fibras exibindo necrose flocular (B), presença de infiltrado inflamatório predominantemente mononuclear (C), tecido conjuntivo fibroso (D) e tecido fibro-adiposo (E) em músculo ALD de frango com MDC na macroscopia, colhido no matadouro-frigorífico (entre 35 e 45 dias de vida). Degeneração, necrose e fibrose intensas (grau 3) e inflamação leve (grau 1). H & E, 100x.....	54
FIGURA 18: Perda do padrão poliédrico das fibras, hipereosinofilia, aumento de volume e homogeneização sarcoplasmática - degeneração hialina (A), necrose flocular (B) e presença abundante de tecido conjuntivo fibroso (C) em músculo ALD de frango com MDC na macroscopia, colhido no matadouro-frigorífico (entre 35 e 45 dias de vida). Degeneração, necrose e fibrose intensas (grau 3). H & E, 100x.....	55



FIGURA 19: Hipereosinofilia, aumento de volume e homogeneização sarcoplasmática - degeneração hialina (A), fibras em regeneração (B), presença abundante de tecido conjuntivo fibroso (C) em músculo ALD de frango com MDC na macroscopia, colhido no matadouro-frigorífico (entre 35 e 45 dias de vida). Degeneração, necrose e fibrose intensas (grau 3). Inflamação e regeneração leves (grau 1). H & E, 100x..... 56

FIGURA 20 (Ampliação da Figura 19): Fibra de aspecto normal (A) e fibras em regeneração (B) em músculo ALD de frango com MDC na macroscopia, colhido no matadouro-frigorífico (entre 35 e 45 dias de vida). H & E, 400x..... 57

FIGURA 21: Tecido de granulação revascularizado (A), infiltrado inflamatório mononuclear (B), material eosinofílico compatível com fibrina (C) na periferia do músculo ALD de frango com MDC na macroscopia, colhido no matadouro-frigorífico (entre 35 e 45 dias de vida). Hipereosinofilia, aumento de volume e homogeneização sarcoplasmática - degeneração hialina (D), necrose flocular (E). Degeneração, necrose e fibrose intensas (grau 3). H & E, 100x..... 58

FIGURA 22: Hipereosinofilia, aumento de volume e homogeneização sarcoplasmática - degeneração hialina (A), presença abundante de células inflamatórias mononucleares (B) em músculo ALD de frango sem MDC na macroscopia (35 dias de vida). Inflamação intensa (grau 3). Degeneração e necrose moderadas (grau 2). H & E, 100x.....59

FIGURA 23 (Corte transversal do músculo referido na Figura 22): Hipereosinofilia, aumento de volume e homogeneização sarcoplasmática - degeneração hialina (A), presença abundante de células inflamatórias mononucleares (B) em músculo ALD de frango sem MDC na macroscopia (35 dias de vida). H & E, 100x..... 60

FIGURA 24: Músculo <i>pectoralis thoracicus</i> sem alterações macroscópicas. Fibras em processo de degeneração hialina e necrose flocular. (A). Lesões leves (grau 1). H & E, 200x.....	64
FIGURA 25: Músculo <i>pectoralis thoracicus</i> sem alterações macroscópicas. Perda do padrão poliédrico, degeneração hialina e necrose de miofibras (A). H & E, 100x.....	64
FIGURA 26: Músculo <i>supracoracoideus</i> sem alterações macroscópicas. Presença de fibras em processo de degeneração hialina e necrose flocular (A). Lesões leves (grau 1). H & E, 200x. ....	65
FIGURA 27: Músculo <i>supracoracoideus</i> sem alterações macroscópicas. Perda do padrão poliédrico, degeneração hialina (A) e necrose flocular (B). H & E, 200x.....	65
FIGURA 28: Músculo <i>rhomboideus superficialis</i> com alterações macroscópicas. Degeneração e necrose flocular (A). Lesões leves, (grau 1). H&E, 200x.....	65
FIGURA 29: Músculo <i>rhomboideus superficialis</i> com alterações macroscópicas. Necrose flocular e presença de densa camada superficial de tecido conjuntivo fibroso.....	65

## LISTA DE TABELAS

TABELA 01: Critérios adotados para avaliar a intensidade das lesões musculares.....	40
TABELA 02: Percentual de condenação por MDC em algumas categorias de produção de frangos de corte.....	49
TABELA 03: Intensidade de lesões microscópicas em músculos ALD com (+) e sem (-) MDC.....	53
TABELA 04: Intensidade de lesões microscópicas em outros músculos de carcaças com MDC.....	63

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	13
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	15
<b>2.1 Descrição anatômica, composição e metabolismo do músculo afetado</b> .....	15
2.1.1 Anatomia .....	15
2.1.2 Composição e metabolismo do músculo <i>anterior latissimus dorsi</i> .....	17
<b>2.2 Patologias musculares</b> .....	22
<b>2.2.1 Miopatias provocadas por exercício</b> .....	23
<b>2.2.2 Deficiência de vitamina E e selênio</b> .....	25
<b>2.2.3 Intoxicação por ionóforos</b> .....	27
<b>2.2.4 Intoxicação por <i>Senna occidentalis</i> (“fedegoso”)</b> .....	29
<b>2.2.5 Bronquite infecciosa e miopatia peitoral profunda</b> .....	31
<b>2.2.6 Miopatias provocadas por trauma</b> .....	32
<b>3 MATERIAL E MÉTODO</b> .....	34
<b>3.1 Locais do estudo</b> .....	34
<b>3.2 Estudo anatômico da irrigação do músculo ALD de carcaças com e sem MDC</b> .....	35
<b>3.3 Colheita e análise de dados relacionados à condenação por MDC em uma empresa avícola do sul do país</b> .....	36
3.3.1 Pesquisa da idade de início da lesão em frangos de corte.....	36
3.3.2 Análise da dosagem de ionóforos, vitamina E e selênio no alimento .....	37
3.3.3 Pesquisa da presença de <i>Senna occidentalis</i> no alimento .....	38
3.3.4 Análise de alguns dados de produção referentes à condenação por MDC .....	38
<b>3.4 Avaliação macroscópica e microscópica de músculos ALD afetados e aparentemente normais</b> .....	39
<b>3.5 Avaliação da associação da MDC com lesões em outros grupos musculares</b> .....	41
<b>3.6 Avaliação de alterações viscerais em carcaças com MDC</b> .....	42
<b>4 RESULTADOS</b> .....	43
<b>5 DISCUSSÃO</b> .....	68
<b>6 CONCLUSÕES</b> .....	75
REFERÊNCIAS .....	76

## 1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior exportador e terceiro maior produtor mundial de frangos de corte. Dados preliminares publicados pela Associação Brasileira de Produtores e Exportadores de Frangos (ABEF) demonstraram que no ano de 2007 o Brasil produziu 10.246 mil toneladas de carne de frango, menos apenas que os EUA (16.211 mil toneladas) e a China (11.500 mil toneladas). No ano de 2004 o Brasil passou a ser o maior exportador mundial desse produto, na frente dos EUA e mantém esta posição até o presente momento. Nesse contexto, a região sul do país é responsável por mais de 75% das exportações nacionais (ABEF, 2007).

Sendo assim, toda fonte de prejuízo, quando somada aos demais problemas da cadeia avícola, contribui para a formação de perdas significativas, com reflexos, inclusive, para a economia de toda uma região. Dentre esses motivos, as condenações parciais e totais de carcaças são uns dos principais responsáveis por tais prejuízos. Junto às diversas causas de condenações, pode-se citar algumas causadas por alterações musculares, como a miopatia peitoral profunda (MPP). Há também outra lesão observada mais recentemente, que ocorre na região dorsal de frangos de corte e é responsável por um número significativo de condenações em matadouros-frigoríficos do sul do país. Esta lesão foi intitulada no presente trabalho como Miopatia Dorsal Cranial (MDC) e é tema do presente estudo.

Essa miopatia, localizada na porção cranial do dorso de frangos de corte (no músculo *anterior latissimus dorsi*), vem sendo observada por funcionários do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento - MAPA - em matadouros-frigoríficos do sul do Brasil e desde 2002 (BRASIL, 2002)<sup>1</sup>. A lesão também já foi verificada em aves do Nordeste do país (informação verbal)<sup>2</sup>. O problema, de causa desconhecida, foi detectado em pelo menos cinco matadouros-frigoríficos do sul do país, contribuindo imensamente para o descarte de um número significativo de carcaças. Por ser uma lesão atípica, de características patológicas desconhecidas, os veterinários da inspeção do MAPA optavam,

---

<sup>1</sup> Registros nosográficos do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, 2002.

<sup>2</sup> Dr. Luiz Cesar Bello Fallavena – comunicação baseada em diagnósticos histopatológicos a partir de amostras para exame provenientes da região nordeste do país, no ano de 2004.

até maio de 2006, por condenar totalmente as carcaças acometidas. Entretanto, após esse período, constatou-se em visitas a frigoríficos, que algumas carcaças eram condenadas parcialmente. Nesses casos de condenação parcial na linha de abate são retirados o músculo afetado e seus adjacentes, assim como uma parte da asa e uma porção do peito de frangos retirada junto com a asa. Segundo registros nosográficos do MAPA, a quantidade de carne perdida por carcaça é aproximadamente 180 g da asa e 4 g do peito (BRASIL, 2006).

Uma empresa avícola com o problema revelou que, no ano de 2006, aproximadamente 0,55% do total de frangos abatidos ao mês eram condenados pela referida lesão. Com esse dado, um cálculo aproximado de perdas econômicas pôde ser realizado. Considerando-se como exemplo um abate mensal de 4.700.000 frangos, 25.850 seriam condenados, representando uma perda de mais de 4,7 toneladas de carne, somente em um mês (considerando-se apenas as perdas de partes da asa e do peito dos frangos). Se for considerado um custo marginal de produção de R\$ 1,75/kg da asa e R\$ 2,50/kg do peito, estima-se uma perda de R\$ 8.142,75/mês ou R\$ 97.713,00/ano. É importante ressaltar também, que além destas perdas existem ainda gastos operacionais. Para este mesmo exemplo, as perdas com condenações totais seriam de R\$ 77.550,00 ao mês considerando um peso médio do frango ao abate de 2,4 kg e um custo de produção R\$ 1,25/kg da carne de frango, ou seja, uma redução na receita de R\$ 930.600,00/ano com essa condenação, em apenas um dentre os vários matadouros-frigoríficos de frangos existentes no país.

Portanto, a partir desse levantamento, pode-se afirmar que a miopatia dorsal cranial (MDC) é uma patologia que vem ocorrendo em um número significativo de frangos de corte e provocando grandes prejuízos econômicos à avicultura industrial brasileira. No entanto, não há publicações referentes a essa lesão na literatura nacional e, na literatura internacional, existe apenas um pequeno relato no *Diagnostic Diary* Canadense, feito por Coates (2003), que descreve uma lesão dorsal semelhante.

Devido à importância econômica dessa lesão e pelo envolvimento de um dos produtos de origem animal mais consumidos em todo o mundo, a demanda e mesmo a busca por informações que venham a esclarecê-la está aumentando. Muitas são as dúvidas envolvendo essa lesão, o que impossibilita a tomada de ações seguras quanto ao correto destino das carcaças acometidas, bem como a adoção de medidas preventivas e de controle

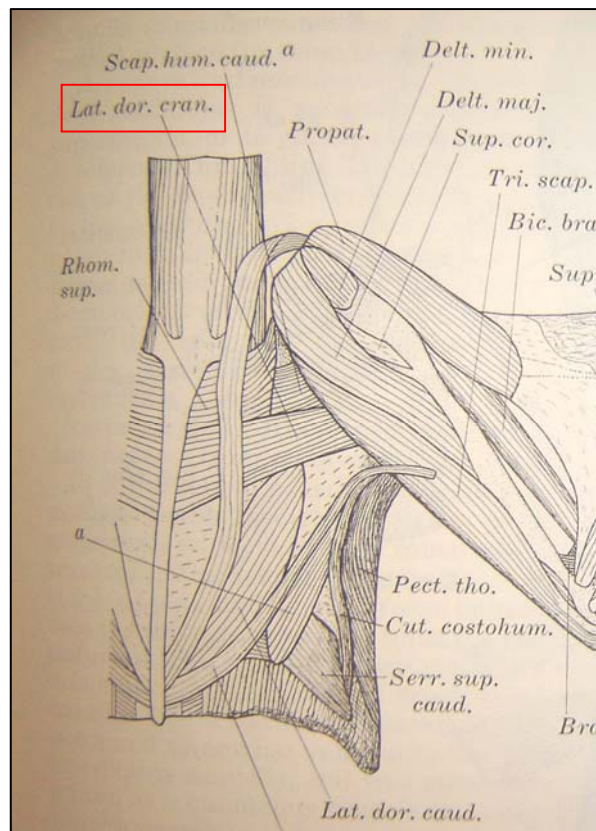
desse problema. No presente trabalho, os exames realizados não ficaram restritos apenas ao músculo responsável pela condenação, mas também envolveram outros músculos e vísceras, na tentativa de direcionar a pesquisa e associar a alteração com alguma causa de lesão muscular já conhecida e descrita na literatura. Mesmo que esses estudos não possam esclarecer a etiologia da lesão, o presente trabalho deverá contribuir para o esclarecimento de algumas dúvidas existentes em relação a essa miopatia e servir de base para trabalhos futuros de pesquisa etiológica. O objetivo geral do presente trabalho foi realizar a caracterização anatomopatológica da MDC a fim de buscar subsídios para esclarecer a etiologia desta lesão. Os objetivos específicos foram: 1- avaliar a irrigação do local lesionado; 2- pesquisar a idade de início da lesão; 3- verificar a dosagem de ionóforos, vitamina E e selênio no alimento; 4- verificar a presença de *Senna occidentalis* no alimento; 5- realizar a análise de alguns dados de produção relacionados à condenação por MDC; 6- avaliar macroscopicamente e microscopicamente músculos ALD afetados e compará-los aos aparentemente normais; 7- verificar a possível concomitância de lesões em outros grupos musculares e vísceras.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 Descrição anatômica, composição e metabolismo das fibras do músculo afetado**

#### **2.1.1 Anatomia**

O músculo *latissimus dorsi* ou grande dorsal é um músculo superficial, bilateral, localizado na região dorsal dos frangos, entre as asas. Apresenta duas porções independentes, a cranial chamada de *latissimus dorsi cranialis*, *Anterior Latissimus Dorsi* (ALD) ou grande dorsal cranial e a porção caudal chamada de *latissimus dorsi caudalis* ou *Posterior Latissimus Dorsi* (PLD) (Figura 01) (VANDEN BERGE, 1975).



**Figura 01:** Localização do músculo ALD.  
 Fonte: Vanden Berge, 1975.

O músculo ALD tem origem nos processos espinhosos de um número variável de vértebras cervicais e das primeiras vértebras torácicas verdadeiras. Ele se insere na face caudal do úmero entre as porções escapular e umeral do tríceps braquial. Em galináceos, não há um ponto específico de inserção no úmero.

A função do ALD é tracionar a asa caudalmente, flexionando e elevando o úmero; governa os movimentos do úmero durante a contração dos músculos do vôo (*pectoralis thoracicus* e *supracoracoideus*).

Ambos *latissimus dorsi* são relativamente finos e achatados, especialmente o ALD. O ALD está situado dorsalmente no tronco, coberto apenas pela pele. Abaixo dele encontra-se o músculo *rhomboideus superficialis*.

O nervo *latissimus dorsi* (cordão dorsal do plexo braquial) inerva o respectivo músculo. Hodges (1974) descreve diferenças quanto ao tipo de inervação entre as porções



cranial e caudal do músculo *latissimus dorsi*. Cada fibra do ALD é multiplamente inervada por delicados nervos (terminal *en grappe*), enquanto as fibras do PLD são focalmente inervadas por nervos robustos (terminal *en plaque*). Segundo Hodges (1974), o músculo ALD é mais irrigado que o PLD. Não se encontrou na literatura consultada, qual(is) artéria(as) irriga(m) especificamente o músculo ALD. Entretanto, através das descrições da *nomina anatomica avium* (BAUMEL, 1993), suspeita-se que as artérias que irrigam o músculo ALD sejam ramos da *arteria subclavia*. Um deles emergindo a partir da *arteria subclavia* como *arteria axillaris* inserindo-se látero-medialmente na face ventral do músculo ALD como *arteria subscapularis*. O outro, partindo da *arteria subclavia* como *truncus pectoralis*, com diversas artérias, uma delas chamadas de *arteria infrascapularis* que se insere na face medial do músculo ALD, mais lateralmente que a *arteria subscapularis*.

### **2.1.2 Composição e metabolismo do músculo *anterior latissimus dorsi***

As fibras musculares dos mamíferos são classificadas de acordo com suas propriedades contráteis e suas principais características fisiológicas. Essa classificação tem como base a velocidade de contração; a velocidade de fadiga (rápidas ou lentas) e o tipo de metabolismo (oxidativo, glicolítico ou ambos). Com isso, é possível diferenciar as fibras por histoquímica enzimática onde são chamadas também de fibras do tipo I, do tipo IIA e do tipo IIB. As fibras do tipo I são ricas em mitocôndrias, apresentam metabolismo oxidativo, contração e fatigabilidade lentas, como é o caso dos músculos posturais ou de sustentação. As fibras do tipo II são pobres em mitocôndrias, apresentam metabolismo glicolítico, contração rápida e são facilmente fatigáveis. A diferença entre fibras IIA e IIB reside no fato de que as IIA apresentam metabolismo oxidativo e glicolítico, contração rápida e fatigabilidade lenta, sendo ainda chamadas de fibras intermediárias nome este justificado também pela concentração intermediária de mitocôndrias, glicogênio e gordura (VALENTINE e McGAVIN, 2007).

Poucos são os músculos compostos por um único tipo de fibra. A maioria dos músculos contém os três tipos de fibras, sendo que o percentual de cada tipo varia de

músculo para músculo, também entre espécies de acordo com a utilização dos mesmos. Em atletas, verifica-se uma modificação de fibras do tipo IIB para IIA. Um exemplo de músculo composto por um único tipo de fibra é o músculo *vastus intermedius* dos ovinos, que é composto por fibras do tipo I (VALENTINE e McGAVIN, 2007). Nas aves, o músculo *latissimus dorsi* apresenta porção anterior (ALD) composta apenas de fibras “lentas ou vermelhas” (tipo I), enquanto que a porção posterior (PLD) é composta quase que inteiramente de fibras “rápidas ou brancas” (tipo II) (HODGES, 1974). Hodges (1974) menciona também que, conforme as propriedades histoquímicas, alguns músculos das aves apresentam quase puramente *fibrillenstruktur* (“rápidos”), como é o caso dos músculos *pectoralis thoracicus* e do PLD. Outros apresentam *fibrillenstruktur* e *felderstruktur* (*sartorius*, por exemplo) e o único que apresenta *felderstruktur* pura (exclusivamente “lento”) é o ALD. O autor cita ainda algumas diferenças morfológicas entre ALD e PLD. O ALD apresenta suas linhas Z em zigue-zague, enquanto que o PLD apresenta linhas Z retas; o túbulo T é raramente encontrado, sendo de forma irregular e aberrante no ALD; também, o retículo sarcoplasmático é menos abundante do que no PLD, e as fibrilas são mais próximas umas das outras do que as do PLD, que são regularmente separadas.

Hodges (1974) também descreve outras diferenças entre as fibras vermelhas e as brancas, mencionando que as vermelhas são mais irrigadas, apresentam múltiplas inervações por fibra, menor diâmetro, são ricas em mitocôndrias, em mioglobina e em lipase, além de apresentarem metabolismo oxidativo, contração e fatigabilidade lentas. As fibras “brancas” são menos irrigadas, apresentam inervação focal por fibra, maior diâmetro, são pobres em mitocôndrias, em mioglobina e em lipase, mas são ricas em fosforilase e em glicogênio, além de apresentarem metabolismo glicolítico, contração rápida e serem facilmente fatigáveis.

Essas diferenças vão além da capacidade fisiológica de um e de outro tipo de fibra muscular e conferem às mesmas, inclusive, maior ou menor suscetibilidade a certas injúrias. As fibras brancas (músculo peitoral, por exemplo) são mais sensíveis à deficiência de vitamina E do que as fibras vermelhas (KLASING, 2008) e também mais predispostas à injúrias exercionais (PAGE, 1995). Em contrapartida, as fibras vermelhas são mais sensíveis a alterações nos níveis de oxigênio (principalmente a hipóxia seguida de reperfusão) do que as fibras brancas (JENNISCHE et al., 1979; CARMO-ARAÚJO et al.,

2007). Isso, pois necessitam de oxigênio para seu metabolismo, enquanto as fibras brancas apresentam metabolismo glicolítico. Vários trabalhos confirmam que as fibras musculares são muito resistentes a longos períodos de hipóxia. Porém, nesses casos, após o restabelecimento da circulação há formação dos radicais livres dependentes do oxigênio, que quando formados em excesso e/ou na falta dos mecanismos de proteção (vitamina E –  $\alpha$ -tocoferol, glutathione peroxidase, superóxido dismutase e catalase), levam a lesão muscular também identificada como estresse oxidativo. As lesões por isquemia e reperfusão variam de acordo com alguns fatores como duração da isquemia e da reperfusão, tipo de fibra muscular e origem do insulto (CARMO-ARAÚJO et al., 2007). Carmo-Araújo et al. (2007) testaram a isquemia seguida de reperfusão em um músculo composto na sua maioria por fibras vermelhas, o *soleus*, em camundongos, avaliando o efeito do tempo de reperfusão após 4 h de isquemia. Os tempos de reperfusão avaliados foram 1 h, 24 h e 72 h e os autores constataram correlação positiva entre a lesão e o tempo de restabelecimento da circulação. Com 1 h, o músculo apresentou edema e hiper-contracção das fibras, além de eosinofilia e arredondamento das mesmas; com 24 h, as lesões foram mais pronunciadas, com edema menos intenso, porém com presença de infiltrado inflamatório e necrose. Já com 72 h, o músculo apresentou inflamação menos acentuada e fibras basofílicas contendo núcleos centrais, indicando regeneração.

Uma maneira de reproduzir lesão no músculo ALD de codornas adultas foi com sobrecarga crônica, colocando pesos nas asas das aves, correspondentes à 10% do seu peso corporal. Com isso, Winchester e Gonyea (1992) conseguiram produzir lesão regional no músculo ALD, da região medial para a distal do músculo, o qual apresentou infiltrado de células fagocíticas, fibras em degeneração e em regeneração.

Segundo Ishimoto et al. (1988), o músculo *latissimus dorsi* (ALD e PLD) de frangos de uma linhagem chamada pelos autores de distrófica e outra normal foi analisado quanto ao tipo de fibra e atividade enzimática, não havendo diferenças entre o ALD de frango normal e de frango considerado distrófico. O PLD, porém, apresentou aumento da atividade enzimática e incompleta diferenciação dos tipos de fibra, demonstrando um processo patológico inicial desse músculo nos frangos distróficos.

Ashmore e Addis, 1971 (apud SAMS e JANKY, 1990) classificam as fibras de maneira semelhante às citadas acima, de acordo com sua contracção ( $\alpha$  para rápidas e  $\beta$  para

lentas) e seu metabolismo (R para vermelhas e aeróbicas e W para brancas e anaeróbicas). Sams e Janky (1990) utilizaram esta classificação para caracterizar quatro músculos de aves através de uma única prova de histoquímica enzimática. Os músculos caracterizados foram o *Anterior Latissimus Dorsi* (ALD), o *Posterior Latissimus Dorsi* (PLD), o *Sartorius* (SAR) e o *Pectoralis Thoracicus* (PT). Segundo os autores, o ALD e o PT são compostos praticamente por um só tipo de fibra. O ALD, composto de  $\beta$ -R (ou na classificação anterior, tipo I) e o PT de  $\alpha$ -W (tipo IIB), ambos contendo um resquício de fibras  $\alpha$ -R (tipo IIA ou intermediárias). O SAR e o PLD foram bastante heterogêneos, contendo os três tipos de fibras.

Geyikoglu et al. (2005), estudando o músculo ALD de frangos de corte, identificaram duas variedades de fibras, porém ambas de contração lenta, denominadas no trabalho de tipos III A e III B, sendo o tipo III B com moderada capacidade glicolítica e presença abundante de lipídeos. Os autores verificaram também diferenças de diâmetro entre esses dois tipos de fibra, sendo que a III B é significativamente menor que a III A, assim como uma maior quantidade da fibra III A (média 72,27%) em relação a III B (média de 27,86%). Esses autores verificaram um aumento quantitativo de fibras do tipo III A em frangos que ingeriram 500 mg/kg de cobre, (médias de 72,27% para 86,76%) com redução do tipo III B (médias de 27,86% para 12,64%), sugerindo que a proliferação da primeira ocorreu em resposta à atrofia da segunda (III B). À microscopia eletrônica, essas fibras apresentaram também uma degeneração das miofibrilas e das membranas mitocondriais. Os autores remetem ao trabalho de Shear e Goldspink (1971), que verificaram que o músculo ALD, na fase embrionária é de contração rápida, diferenciando-se em músculo de contração lenta no primeiro mês após a eclosão.

Nesse aspecto de produção de carne, a avicultura apresentou extraordinários avanços nas últimas décadas. Em 1930, um frango levava 105 dias para atingir 1,5 kg e apresentava uma conversão alimentar de 3,5 (UBA, 2005). Em 1957, a conversão alimentar era 1,91 enquanto que, em 2001, já era de 1,62 (HAVENSTEN et al., 2003). Juntamente com a melhoria na conversão alimentar, os programas de seleção fenotípica têm selecionado frangos para rendimento de carne, resultando em linhagens de rápido crescimento. Também pode ser mencionado que essas linhagens apresentam alguns músculos formados por até o dobro do número de fibras musculares em comparação com

linhagens comuns. O músculo do peito é sempre o principal alvo nos programas de seleção e, junto com o peito, outros músculos acabam por ter seu número de fibras aumentado, como citado por Remignon et al. (1994, 1995) que observaram que linhagens de frango de crescimento rápido tiveram até 20% mais fibras no músculo ALD, assim como um aumento no tamanho das fibras (área transversal) quando comparado com frangos de crescimento mais lento. Segundo Scheuermann (2008), o aumento na espessura das fibras possivelmente acabe limitando o suprimento de energia e oxigênio, devido à redução da densidade capilar. O autor também menciona a provável ocorrência de uma maior dificuldade na eliminação de resíduos do metabolismo como CO<sub>2</sub> e lactato. A hiperplasia e a hipertrofia do ALD foram, também, citadas por Sola et al. (1973) em frangos cujas asas foram submetidas a sobrecarga de peso. Snyder e Coelho (1989) mencionam que, apesar de haver um aumento no número de capilares por fibra de músculo ALD forçadamente hipertrofiado, a quantidade de locais de troca, por área seccional, permanece constante. A dieta também pode influenciar no peso do músculo ALD, como demonstrado por Timson et al. (1983), os quais mencionam que, apesar do número de fibras não ter sido diferente entre os tratamentos, aves que ingeriram 18% de proteína na dieta apresentaram peso seco do músculo ALD 59,6% maior do que nas aves que ingeriram 14% de proteína na dieta.

Remignon et al. (1995) também verificaram que, mesmo com o aumento no número de fibras do músculo ALD, sua composição não foi modificada pela seleção genética em frangos de corte. Tal afirmativa pode ser reforçada ao verificar-se que o ALD já era descrito como sendo um músculo inteiramente “lento” por Hodges (1974), sendo essa descrição ainda é mantida em trabalhos atuais, como o de Geyikoglu et al. (2005). Como se pode observar, o metabolismo do ALD era dependente de oxigênio tanto na década de 70 quanto nos anos 2000. Porém, a capacidade de fornecimento de oxigênio é que foi extremamente reduzida nesse período, já que o aparato cardíaco-respiratório tornou-se insuficiente para suprir toda a demanda de oxigênio do organismo dessas aves “pesadas” (GONZALES e MACARI, 2000). Aliado a isso, condições ambientais e nutricionais favoreceram o aumento na prevalência de problemas já bastante conhecidos como a síndrome ascítica ou síndrome da hipertensão pulmonar e síndrome da morte súbita (GONZALES e MACARI, 2000). Outros problemas conhecidos em frangos de corte pesados são a discondroplasia tibial e a miopatia peitoral profunda.

## 2.2 Patologias musculares

Valentine e McGavin (2007) apresentam uma classificação geral para as doenças musculares. Segundo os autores, elas podem ser divididas em: 1) degenerativas (isquêmicas, nutricionais, tóxicas, exercionais e traumáticas); 2) inflamatórias (bacterianas, virais, parasitárias e imuno-mediadas); 3) congênitas e/ou inerentes (defeitos anatômicos, distrofias musculares, miopatias congênitas, miotonias, doenças metabólicas e hipertermia maligna); 4) endócrinas (hipotireoidismo e hipercortisolismo); 6) eletrolíticas (hipocalemia, hipernatremia); 7) neuropatias (periféricas e motoras); 8) desordens de junções neuromusculares (miastenia grave e botulismo) e 9) neoplasias.

Na avicultura, os ciclos de criação são muito curtos em comparação com outras espécies de produção de carne, o que permitiu que a genética evoluísse muito rapidamente nas últimas décadas, com especial enfoque no melhoramento (rendimento) muscular. Por esse motivo, estudos de doenças musculares em frangos de corte devem levar em consideração o melhoramento genético ocorrido. A presente revisão abordará ainda algumas causas dentre as mais estudadas em patologia muscular de aves e que estão, segundo a classificação acima, incluídas basicamente nas doenças degenerativas.

Para a avicultura, as condenações representam uma das maiores causas de prejuízo econômico, pois toneladas de “produto acabado” são diariamente descartadas por diversos motivos, dentre eles as lesões musculares. Nesse contexto, cita-se a miopatia peitoral profunda (MPP) ou “doença do músculo verde”, que teve sua etiologia e patogenia esclarecida, já no final da década de 70 (SILLER et al., 1979a). Mais recentemente (a partir de 2002), pode-se observar o aparecimento de uma “nova” lesão muscular que leva à condenação em matadouros-frigoríficos do sul do país, uma miopatia dorsal localizada cranialmente em frangos de corte e denominada, no presente trabalho, de miopatia dorsal cranial (MDC).

A MDC foi relatada pela primeira e única vez por Coates (2003) que, apesar de não ter incluído no relato a identificação exata do músculo lesado, descreveu-a como uma lesão muscular degenerativa incomum em frangos de aproximadamente cinco semanas de idade.

Conforme o autor, o músculo dorsal envolvido seria uma versão reduzida do trapézio, tendo origem nas vértebras torácicas e inserindo-se na escápula. Essa descrição de Coates (2003) assemelha-se muito com a MDC abordada no presente trabalho, que ocorre no músculo grande dorsal cranial ou *anterior latissimus dorsi* (ALD) (VANDEN BERGE, 1975). Coates (2003) cita também a presença de severa degeneração nesse músculo, edema subcutâneo, miosite moderada (secundária à degeneração) e grande quantidade de tecido conjuntivo fibroso, com lesões microscópicas leves nos músculos adjacentes. Citou ainda, o isolamento de uma pequena população mista de bactérias a partir da lesão, dentre elas *Staphylococcus* sp. não hemolítico.

Coates (2003) mencionou possíveis causas para a ocorrência da lesão, tais como miopatia por exercício (excessivo bater de asas), considerando também uma possível deficiência de vitamina E e selênio e/ou níveis tóxicos de ionóforos no alimento, predisposição genética ou ainda envolvimento de algum estímulo irritante. Outras possíveis causas de alterações musculares descritas na literatura são: intoxicação por *Senna occidentalis* (SIMPSON et al., 1971; GRAZIANO et al., 1983; GONZALES et al., 1994; CALORE et al., 1997; CAVALIERE et al., 1997; HARAGUCHI et al., 1998) e infecção pelo vírus da Bronquite Infecciosa (GOUGH et al., 1992, RAJ e JONES, 1996, BRENTANO et al., 2005, TREVISOL et al., 2006). A MDC é uma miopatia relativamente recente, e os fatores envolvidos na produção da lesão são ainda desconhecidos. Assim, é de utilidade que sejam investigadas todas as possíveis causas anteriormente mencionadas. Nesse sentido, cada uma passa a ser tratada mais pormenorizadamente na presente revisão.

### **2.2.1 Miopatias provocadas por exercício**

Miopatias provocadas por exercício normalmente estão ligadas a algum distúrbio físico e/ou iônico os quais, quando associados à contração muscular, predispõem à necrose das fibras musculares. Dentre as miopatias tipicamente provocadas por exercício pode-se citar a “miopatia da captura”, em animais selvagens e a “doença da segunda-feira” em eqüinos (VALENTINE e McGAVIN, 2007). Já a miopatia peitoral profunda de perus e frangos de corte foi reproduzida com exercício forçado, em que as aves foram induzidas a

bater asas (SILLER et al., 1979a). Nesse caso, apesar de ser uma lesão induzida por exercício, sua origem é isquêmica. As causas mais comuns de miopatias isquêmicas são oclusão vascular (de um vaso principal), pressão externa sobre a musculatura; síndrome de compartimento; vasculites e/ou vasculopatias (VALENTINE e McGAVIN, 2007).

A miopatia peitoral profunda é a patologia muscular mais conhecida na avicultura. É também chamada de “doença do músculo verde” ou ainda *Oregon disease* em homenagem à cidade em que foi descrita pela primeira vez, com ocorrência em perus (DICKSON et al., 1968). É considerada uma síndrome de compartimento (RANDALL e REECE, 1996), nomenclatura também usada para uma degeneração muscular isquêmica de humanos (*March gangrene*) no músculo *anterior tibialis* (WIGHT et al., 1981a). Em ambos os casos, os músculos se localizam entre um osso e sua resistente fáscia, e a miopatia desenvolve-se após exercício e ausência de espaço físico para adequada expansão o que, no caso das aves, ocorre com maior frequência nas linhagens mais pesadas (WIGHT e SILLER, 1980; BIANCHI et al., 2006). Essa patogenia foi comprovada em estudos em que os autores realizaram fasciotomia em um dos lados do músculo *supracoracoideus*, deixando o outro lado intacto. Após recuperação cirúrgica, as aves foram submetidas a exercício forçado. Nesse experimento, a MPP ocorreu apenas no lado intacto. (SILLER et al., 1979b). Na MPP, a alteração macroscópica pode ser observada no nono dia após estímulo (WIGHT et al., 1981b), sendo que a lesão tem início na porção medial do músculo supracoracóide (peitoral profundo), a qual apresenta-se necrótica, seca, de coloração rosada ou esverdeada e com características histológicas de necrose isquêmica, traduzidas por degeneração discóide, ausência de núcleo sarcolemal, eosinofilia das fibras atingidas, infiltrado lipídico e fibrose (WIGHT et al., 1981a). Lesões de parede vascular também foram verificadas em vasos da porção de transição entre a área muscular necrótica e a área normal (WIGHT et al., 1981b).

Sendo a MPP uma lesão muscular altamente localizada, de aves de crescimento rápido, características essas encontradas nas observações da MDC, descritas a seguir, buscou-se o conhecimento existente na literatura sobre essa miopatia, para ser usado como comparativo com a MDC e também na tentativa de encontrar uma possível associação entre essas lesões.



### 2.2.2 Deficiência de vitamina E e selênio

A vitamina E é um antioxidante que atua inibindo a peroxidação lipídica evitando danos à membrana da fibra muscular. Segundo Klasing (2008), o músculo peitoral superficial que apresenta fibras do tipo II (fibras brancas, de contração rápida e metabolismo glicolítico) é mais susceptível a deficiência de vitamina E.

É importante ressaltar que muitos fabricantes de ração têm como base o *nutrient requirements of poultry* do *National Research Council - NRC - (1994)* para suas formulações, onde a dosagem de vitamina E recomendada para frangos de corte varia entre 30 – 50 UI/kg. Essas dosagens citadas no NRC de 1994 são baseadas em trabalhos de Combs e Scott (1974). Porém, no NRC, existe também uma recomendação (em nota de roda-pé) baseada em Machlin e Gordon (1962), indicando o uso de 60 UI/kg para evitar encefalomalácia, diátese exsudativa e distrofia muscular. Levando-se em consideração a imensa evolução da genética de frangos nos últimos anos, questiona-se o uso desses níveis de vitamina E, bem como de outros nutrientes, se não estariam abaixo do necessário para manutenção da integridade das fibras musculares.

O selênio é um componente vital do sistema glutathiona peroxidase, que é um dos responsáveis pela proteção à injúria muscular oxidativa. Esse mineral age na redução do  $H_2O_2$  em  $H_2O + O_2$  (AVANZO et al., 2001), evitando, dessa maneira, os danos celulares. Buergelt et al. (1996) relataram dois casos de miodegeneração escapular dorsal localizada no músculo serrátil ventral de novilhas que apresentaram concomitância de baixos níveis de selênio nos órgãos (rins e fígado) e no soro sanguíneo, assim como níveis muito altos de creatina fosfoquinase (CPK). Essa lesão em bovinos é chamada de *flying scapula* (HANNAM et al., 1994, BUERGELT et al., 1996 e MEARNNS e LEWIS, 2007) e foi descrita também em cervos por David e Winterbottom (1996). Means e Lewis (2007) associam os níveis marginais encontrados de selênio com hiperexcitabilidade e excesso de exercício no desencadeamento da lesão. Em humanos ocorre um problema parecido chamado de *winging scapula* que é relacionado à lesão nervosa e também a sobrecarga de exercício (MARTIN e FISH, 2008).

As miofibras esqueléticas e cardíacas são particularmente sensíveis à perda de seus mecanismos antioxidantes de defesa. Dentre esses mecanismos há a participação direta da vitamina E e do selênio como inibidores dos ROS (*reactive oxygen species*). Esses catabólitos estão envolvidos na produção de doenças degenerativas como doença de Alzheimer, doença de Parkinson, diabetes mellitus, doença isquêmica do coração e doenças mitocondriais. Em medicina veterinária, miopatias nutricionais são mais comuns em animais de produção como bovinos, ovinos e caprinos, sendo a deficiência de selênio a principal causa de degeneração muscular (VALENTINE e McGAVIN, 2007).

Em aves, os sinais clínicos provocados pela deficiência normalmente combinada da vitamina E e do Se, estão ligados às lesões de encefalomalácia, diátese exsudativa e distrofia muscular. Também pode haver redução da incubabilidade dos ovos provenientes de aves deficientemente alimentadas, mortalidade embrionária, degeneração testicular (AUSTIC e SCOTT, 1991) e depleção linfóide da bursa de Fabricius e do timo (RIDDELL, 1996). Sinais clínicos podem estar ausentes em aves que ingerem níveis baixos de vitamina E por longos períodos. Na encefalomalácia as aves apresentam ataxia, paresia e incoordenação. A presença de ácidos graxos poliinsaturados na dieta aumenta a severidade desse problema. A idade mais comum de aparecimento dos sinais é entre 15 e 30 dias de vida. Todo o cérebro pode apresentar-se inchado, com presença de malácia, hemorragias e meninge edematosa, mas o cerebelo é a porção mais afetada. Na histopatologia observa-se necrose isquêmica no SNC, desmielinização, degeneração neuronal especialmente das células de Purkinje e neurônios motores que também podem apresentar cromatólise periférica. A diátese exsudativa é caracterizada por edema no tecido subcutâneo e está associada à permeabilidade capilar anormal provocada pela ação dos peróxidos nos vasos. A distrofia muscular ocorre em frangos, patos e perus especialmente quando a deficiência de vitamina E é acompanhada da deficiência de aminoácidos sulfurados. Em frangos o músculo do peito é o mais afetado com lesão, que é caracterizada pela presença de estrias brancas. A quarta semana de vida é a idade mais comum de ocorrência. Em patos, a lesão é comumente encontrada em vários músculos. Microscopicamente, observa-se degeneração hialina das fibras, regeneração e fibrose. Severa degeneração da musculatura da moela e cardíaca também ocorre em frangos e especialmente em perus (AUSTIC e SCOTT, 1991).

Nos estudos de campo da MDC, buscaram-se informações sobre a ocorrência de problemas de dosagem desses componentes nas rações de frango de corte, bem como de relatos de sinais clínicos e lesões compatíveis com deficiência de vitamina E e selênio nos lotes com MDC. A colheita de outros músculos esqueléticos, coração e moela, além de outras vísceras, objetivou a detecção de lesões que pudessem levar a uma associação da MDC com essa deficiência e estão descritas no decorrer deste trabalho (itens 3.6 e 4.5).

### 2.2.3 Intoxicação por ionóforos

Ionóforos são compostos poliésteres usados comumente na indústria avícola como anticoccidianos. Esses compostos têm uma estreita margem de segurança e podem causar efeitos tóxicos com sinais clínicos como incoordenação, fraqueza nas pernas, anorexia, depressão e diarreia. A incoordenação e a fraqueza ocorrem por lesões nos músculos esqueléticos. Lesões na musculatura cardíaca também ocorrem (DOWLING, 1992). Segundo Sandercock e Mitchell (2003), o mecanismo indutor da lesão muscular é comum para casos de insultos tóxicos, de deficiências nutricionais, assim como de miopatias associadas ao crescimento e resultantes de estresse. Esse mecanismo comum é o excessivo aumento de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular livre. Esse  $\text{Ca}^{2+}$  livre promove a ativação da fosfolipase  $\text{A}_2$  e o subsequente início da cascata inflamatória promovendo a geração de radicais livres derivados do oxigênio (ROS) que promovem a peroxidação da membrana celular (sarcolema) alterando sua integridade e liberando enzimas como a creatina quinase (SANDERCOCK e MITCHELL, 2003).

Os ionóforos usados comumente na avicultura são monensina, salinomicina, narasina e lasolacida, cujos erros de superdosagens superiores a 20% ou dependendo do anticoccidiano, superiores a 50% causam efeitos tóxicos. Entre as espécies de aves, os perus são mais sensíveis que os frangos, não tolerando muitas vezes a dose terapêutica usada para frangos. E entre os frangos, os adultos são mais sensíveis (DOWLING, 1992). A monensina é produzida pela fermentação do *Streptomyces cinnamonensis*. Barros (2001) cita que a DL50 de monensina para frangos é de 200mg/kg, porém, doses subcrônicas (18 mg/kg de peso por dia) seriam capazes de provocar lesões cardíacas (WAGNER et al.,

1983). Este anticoccidiano apresenta efeitos de interação com alguns medicamentos como tiamulina, cloranfenicol, oleandomicina, eritromicina, potencializando seus efeitos tóxicos (DOWLING, 1992). Nesses casos de interação observa-se a ocorrência de lesão seletiva aos músculos do pescoço e da perna sem concomitância de lesão cardíaca e peitoral (UMEMURA et al., 1984). As lesões gerais encontradas em frangos por essa toxicidade incluem emaciação, congestão visceral, palidez e dilatação cardíaca com hidropericárdio e ascite (HANRAHAN et al., 1981). Ocasionalmente, no exame pós-morte, não são encontradas lesões significativas além de emaciação (DOWLING, 1992).

Histologicamente encontra-se degeneração de fibras musculares esqueléticas e necrose do miocárdio (RIDDELL, 1996). Hanrahan et al. (1981) verificaram a ação seletiva da monensina em fibras musculares vermelhas ou aeróbicas, encontrando lesões severas em fibras vermelhas do miocárdio e do músculo sartório, lesão moderada (infiltrado lipídico intermiofibrilar) no músculo *anterior latissimus dorsi*, que o autor considerou como fibras intermediárias e lesão leve ou ausente no músculo peitoral superficial que é composto por fibras brancas. Dowling (1992) descreve em sua revisão sobre toxicidade de ionóforos em aves, lesões microscópicas caracterizadas por necrose das miofibras, fragmentação, hialinização e formação de massas granulares eosinofílicas no sarcoplasma. Além de infiltrado de gordura intermiofibrilar, infiltrado de macrófagos e heterófilos no sarcoplasma e no interstício, degeneração mitocondrial e miocárdio hiper celular, vacuolizado e granular. O autor menciona ainda o efeito miotóxico da lasolacida e da salinomicina (miopatia aguda em músculo *adductor* de perus). Calcificação é também demonstrada no interior das miofibras de perus intoxicados com ionóforos (RANDALL e REECE, 1996).

Os ionóforos são amplamente utilizados misturados à alimentação dos frangos de corte e erros de dosagem e/ou de mistura desses anticoccidianos podem levar a problemas musculares nas aves, especialmente em músculos vermelhos (HANRAHAN et al., 1981), que é o caso do músculo envolvido na lesão foco do presente estudo. Por esse motivo, nos estudos de campo da MDC, buscaram-se informações a respeito de erros de dosagem desses ingredientes bem como de relatos de sinais clínicos e lesões compatíveis com intoxicação por ionóforos, na tentativa de associar com a MDC.

#### **2.2.4 Intoxicação por *Senna occidentalis* (“fedegoso”)**

*Senna occidentalis* (*Cassia occidentalis*) é uma planta tóxica encontrada na região sul do Brasil (RS, oeste de SC e oeste do PR), conhecida como “fedegoso” ou “manjerioba”. Esta planta tem como *habitat* solos férteis, crescendo com muita facilidade junto às lavouras de milho e sorgo podendo ser colhida junto a essas culturas e adicionada à ração animal. A intoxicação por fedegoso tem sido relatada no Brasil e em outros países como Estados Unidos, França e Austrália e em várias espécies como bovinos, suínos e frangos (TOKARNIA et al., 2000). Mamíferos intoxicados apresentam sinais clínicos de apatia, anorexia, dificuldade de locomoção, diarreia, mioglobínúria e morte (TOKARNIA et al., 2000).

Em aves, os sinais clínicos são anorexia, andar cambaleante e atrofia muscular (CAVALIERE et al., 1997; CALORE et al., 1998). A atrofia muscular foi verificada especialmente no músculo *pectoralis thoracicus* (HARAGUCHI et al., 1998). Fraqueza muscular e significativa perda de peso em aves intoxicadas experimentalmente foram descritas por Graziano et al. (1983). Perda de peso foi também descrita por Haraguchi et al. (1998) e por Gonzales et al. (1994) que relataram 400 g de diferença de peso entre grupo intoxicado e grupo controle. Altas mortalidades foram descritas por Simpson et al. (1971) que registraram 65% de mortalidade em aves intoxicadas com 4% de sementes na ração. Já Gonzales et al. (1994), utilizando a mesma quantidade de sementes, registraram 100% de mortalidade e 84% quando usaram níveis de 2%. Outros sinais como diarreia esverdeada, tremores, torcicolo foram descritos por Gonzales et al. (1994) quando testaram um percentual de inclusão de 2% da semente na ração - já quando os níveis foram iguais ou inferiores a 0,5%, as aves não apresentaram sinais clínicos, mortalidade e nem alterações macroscópicas significativas.

Lesões como palidez renal e hepática também são descritas em mamíferos, porém as lesões musculares esqueléticas e cardíacas (palidez) são as alterações mais comuns (TOKARNIA et al., 2000). As lesões macroscópicas verificadas nos frangos do experimento de Gonzales et al. (1994) foram alterações na musculatura peitoral e cardíaca, rins pálidos, fígado congesto, hipertrofia da vesícula biliar, e retenção do saco vitelino. As aves que ingeriram níveis iguais ou inferiores a 0,5% de fedegoso não apresentaram lesões macroscópicas; porém, microscopicamente, as alterações encontradas foram degeneração

de fibras musculares cardíacas e esqueléticas com presença de infiltrados inflamatórios mononucleares; degeneração e necrose de coagulação hepática e pancreática; degeneração do epitélio tubular renal com acúmulo de cilindros hialinos e hipotrofia do epitélio intestinal.

Nos demais trabalhos, as alterações microscópicas encontradas foram atrofia (HARAGUCHI et al., 1998), fragmentação e necrose de miofibras esqueléticas (SIMPSON et al. 1971), degeneração da musculatura esquelética, cardíaca e vacuolização de hepatócitos (GRAZIANO et al., 1983). Na microscopia eletrônica e na histoquímica enzimática as alterações encontradas na intoxicação experimental por *Senna occidentalis* são de miopatia mitocondrial (CALORE et al., 1997; CAVALIERE et al., 1997). As miopatias mitocondriais são comumente descritas em seres humanos e caracterizam-se por desordens na cadeia respiratória celular afetando principalmente os músculos esqueléticos. Nos seres humanos, as alterações ocorrem devido à mutação no DNA mitocondrial ou no DNA nuclear, estando também associadas à deficiência de coenzima Q10 (DIMAURO, 2006). Na histoquímica enzimática, a miopatia mitocondrial caracteriza-se pela presença de fibras vermelhas “esfarrapadas”, COX negativas, com leve atividade de fosfatase ácida e acúmulo lipídico. O acúmulo lipídico é explicado pela deficiência no metabolismo oxidativo (CALORE et al., 1997). No trabalho de Calore et al. (1997), a maior proporção de fibras COX negativas foi verificada em fibras vermelhas, ou seja, de metabolismo oxidativo. Na microscopia eletrônica, observa-se degeneração do sarcoplasma e ruptura da crista mitocondrial (CAVALIERE et al., 1997). Degeneração axonal foi encontrada na microscopia eletrônica do nervo ciático de aves experimentalmente intoxicadas pela semente de fedegoso (CALORE et al., 1998).

Como a MDC foi relatada, até o momento, apenas na região sul do país, região em que está descrita a presença dessa planta e que também é altamente produtora e fornecedora de grãos para as agroindústrias locais, não se pode descartar o possível envolvimento desse tipo de intoxicação nos frangos. Por esse motivo, o estudo de campo da presença da semente de fedegoso no alimento foi feito bem como a busca pela associação da MDC com esse problema.

### 2.2.5 Bronquite infecciosa e miopatia peitoral profunda

A bronquite infecciosa (BI) é uma doença respiratória aguda, altamente contagiosa, facilmente transmissível e de ocorrência mundial. É causada por um RNA vírus, o *Coronavirus*, que é altamente mutagênico tendo múltiplos sorotipos que dificultam a imunização das aves e, além disso, apresentam tropismo por diferentes órgãos, como traquéia, rins e oviduto (CAVANAGH e NAQI, 2003). As lesões encontradas nos casos de BI são basicamente respiratórias, renais e reprodutivas, provocando grandes prejuízos para a avicultura, devido à queda na produção e qualidade dos ovos, queda no desempenho de frangos de corte além de contribuir com o aumento nos índices de condenação de carcaças, já que é precursora de agentes bacterianos secundários que provocam lesões como aerossaculites.

Uma das cepas do *Coronavirus*, a 793/B, foi citada por Gough et al. (1992), causando lesões clássicas de BI em aves domésticas que também apresentaram lesões macroscópicas e microscópicas no músculo peitoral profundo (*supracoracoideus*). Após este trabalho de Gough et al. (1992), outros experimentos foram feitos na tentativa de reproduzir a miopatia peitoral profunda a partir do vírus da BI. Raj e Jones (1996), inocularam experimentalmente a cepa 793/B do vírus da BI em aves, porém, não conseguiram isolar o vírus a partir do músculo, assim como não encontraram alterações histopatológicas nos mesmos, apesar de terem observado alterações macroscópicas descritas pelos autores como “brandas”, quando comparadas com alterações descritas por Gough et al. (1992). Brentano et al. (2005), apesar de terem encontrado *Coronavirus* por RT-PCR e isolamento viral em aves com miopatia peitoral profunda, não conseguiram reproduzir a lesão muscular através da inoculação da mesma cepa em outras aves. Brentano et al. (2006) sequenciaram o vírus de um surto de BI com concomitância de miopatia peitoral profunda e identificaram a existência de duas cepas variantes no Brasil, a 8471 e a 212/04, que diferiram na análise filogenética da cepa 793/B, citada por Gough et al. (1992). Trevisol et al. (2006), nesta mesma linha de pesquisa, também não conseguiram reproduzir a lesão. Até o presente momento, a MPP não foi reproduzida a partir do vírus da BI e, na revisão de RAJ e Jones (1996), os mesmos sugerem um possível envolvimento indireto do

vírus da BI na patogenia da MPP, através da formação de imunocomplexos nos vasos da musculatura peitoral, que pudessem induzir a lesão isquêmica.

Não existem trabalhos na literatura que relacionem a miopatia dorsal com o vírus da BI. Também não foram feitas pesquisas para verificar a presença dessa miopatia em lotes com BI. A possível associação dessa virose com a miopatia dorsal foi considerada, no presente estudo, em função da possível associação entre as mesmas mencionada pelos autores anteriormente referidos, assim como pelo caráter politrópico do vírus.

### **2.2.6 Miopatias provocadas por trauma**

Existe uma série de causas traumáticas que podem atingir os frangos de corte desde o seu nascimento até o final da criação. Dentre essas causas podem ser citadas as injeções (vacinas) realizadas tanto em embriões, quanto em pintinhos de um dia. Nesses casos, além da lesão de perfuração propriamente dita, há a possibilidade de indução de dano a partir dos componentes da vacina ou, ainda, pela presença de agentes contaminantes na mesma. Segundo McGavin (1998), o processo de regeneração de músculos lesionados depende, muitas vezes, da extensão da lesão. O autor menciona que os miotubos são capazes de refazer rupturas de 2 a 4 mm, promovendo regeneração por brotamento mas, qualquer lesão mais extensa seria reparada por fibrose. Portanto, uma lesão muscular causada por injeção estaria possivelmente mais relacionada às substâncias injetadas (princípio ativo, veículo, diluentes, adjuvantes, corantes) do que ao trauma em si.

Bodine-Fowler (1994) em revisão, concluiu que os fatores importantes da regeneração muscular após trauma ou doença são reinervação, revascularização e presença de células satélites viáveis. George et al. (1995) verificaram o efeito de injeções intramusculares de vitamina A/D, de vacinas contra *Clostridium* (*C. chauvoei*, *C. septicum*, *C. novyi*, *C. sordellii*, e *C. perfringens* tipos B, C) e da oxitetraciclina de longa ação em bovinos e encontraram lesões severas nos locais de inoculação de 7,5 a 12 meses após a administração das injeções. As lesões consistiam de densa camada de tecido conjuntivo, e presença de fibras musculares entremeadas por tecido adiposo além de fibras em degeneração e infiltrado inflamatório mononuclear. George et al. (1995) também realizaram



um trabalho de colheita de carne bovina com presença de lesões provocadas por injeção em matadouros-frigoríficos e supermercados e verificaram que a lesão histológica no local da inoculação era presença maciça de colágeno envolto por tecido adiposo maduro e tecido fibroso a uma distância de 2,54 cm e presença de fibras musculares parcialmente degeneradas junto a tecido adiposo e fibroso a uma distância de até 5,08 cm do local da injeção.

Na avicultura comercial, todas as aves são obrigatoriamente vacinadas contra a doença de Marek no primeiro dia de vida, na região do pescoço, ou aos 18 dias do estágio embrionário (vacina “in ovo”). Em frangos de corte, usualmente, a vacina de Marek é a única vacina utilizada via intramuscular, sendo em alguns casos associada à vacina de boubá aviária (*Avipoxvirus*). Essa vacina é diluída e acrescida de um corante, sendo ambos normalmente fornecidos pelo mesmo fabricante. Entretanto, sabe-se, através de relatos verbais, que algumas agroindústrias fabricam seus próprios diluentes. Não foram encontrados trabalhos na literatura avaliando o efeito dessas vacinas, nem de seus diluentes e/ou corantes sobre a indução de lesão muscular nas aves. Sendo a MDC localizada na região dorsal, próxima ao local de vacinação nos pintinhos de um dia, considerou-se também esta possibilidade etiológica. E devido a isso, buscou-se verificar se a lesão acometeria apenas um lado ou se é bilateral, já que a vacina é fornecida apenas de um dos lados do pescoço. Os dados referentes a essa verificação, bem como as demais características patológicas da MDC estão descritos nos resultados.

Outros tipos de traumas poderiam estar relacionados a lesões musculares como, por exemplo, contusões ocorridas especialmente no momento das pesagens, ou lesões causadas por atitudes como tentativas, por parte dos frangos, de atravessar as cercas divisórias existentes no interior dos aviários ou, ainda, traumas no momento da apanha dos frangos para o abate. No presente trabalho, os estudos realizados foram baseados em lesões musculares já conhecidas e descritas, que serviram de comparativo para a MDC, visando-se um direcionamento para os trabalhos futuros de pesquisa etiológica.

### 3. MATERIAL E MÉTODO

#### 3.1 Locais do estudo:

A lesão dorsal foi estudada por meio de inspeção visual e por microscopia, bem como através de análises do banco de dados de condenações de uma empresa com histórico de MDC. Nessa mesma empresa foram feitas, também, algumas investigações para a identificação de fontes potenciais de problemas que poderiam induzir a lesões musculares. Dentre essas possíveis fontes averiguou-se a presença de erros de dosagem de vitamina E, selênio e ionóforos, através de análises do banco de dados da fábrica de rações (item 3.3.2). Também foi averiguada a possível presença de sementes de *Senna occidentalis* em todas as cargas de milho adquiridas pela empresa em um período de três meses (item 3.3.3). Além dessas pesquisas de possíveis fontes de problemas nutricionais e tóxicos, também foi realizado um estudo com intuito de detectar a idade de início da lesão (item 3.3.1). A empresa também possibilitou análise no banco de dados de condenações, em que constava o percentual de condenação por MDC de cada lote abatido em um período de seis meses. Além dos dados quantitativos obtidos nessa análise, foi também possível analisar categorias como sexo, linhagem, idade e peso de abate (item 3.3.4).

Um trabalho para verificar como ocorre a irrigação no músculo ALD de uma carcaça condenada e de outra não condenada pela miopatia dorsal foi realizado no laboratório de anatomia veterinária da UFRGS. A metodologia utilizada para evidenciar as artérias foi de injeção de látex colorido (item 3.2).

Além dos estudos realizados em uma empresa, as observações macroscópicas foram feitas em algumas visitas a linhas de inspeção veterinária de matadouros-frigoríficos e em carcaças com MDC recebidas para exames no Centro de Diagnóstico e Pesquisa em Patologia Aviária – CDPA – da UFRGS. Essas visitas possibilitaram o registro de algumas características como lado de ocorrência, associação macroscópica com a miopatia peitoral profunda e verificação da presença/ausência de odor atípico nas carcaças condenadas pela MDC. Para os exames microscópicos, foram colhidos fragmentos do músculo ALD, foco do estudo, de carcaças com e sem MDC em idade de abate variando entre 35 e 45 dias. Outros músculos também foram avaliados macroscopicamente e microscopicamente, como

apresentado no item (3.5). Carcaças com MDC enviadas ao CDPA-UFRGS, também foram utilizadas para compor os estudos microscópicos. Dessas carcaças foram colhidas vísceras com o objetivo de pesquisar a ocorrência de lesões compatíveis com outros quadros de miopatias, como as de origem nutricional e tóxica, já descritas na literatura, em que se encontram, por exemplo, miodegenerações na moela e no coração (item 3.6). As amostras para exame microscópico foram fixadas em solução de formalina a 10%. Após a fixação, as amostras de músculo foram cortadas longitudinal e transversalmente, com a finalidade de obtenção de maior área de observação. Os órgãos foram desidratados, clarificados em xileno, impregnados com parafina, cortados a uma espessura de 4  $\mu$ m e corados com hematoxilina e eosina, segundo Luna (1968). O processamento histológico foi realizado no CDPA-UFRGS.

### **3.2 Estudo anatômico da irrigação do músculo ALD de carcaças com e sem MDC**

O objetivo nesse estudo foi analisar as possíveis diferenças de irrigação entre uma carcaça condenada pela lesão dorsal e uma carcaça sem a lesão, buscando também possíveis pontos de estenose arterial, especialmente na carcaça condenada. Para esse estudo foram utilizados dois frangos de corte, em idade inferior a 60 dias. O frango que apresentava a MDC era proveniente da linha de pré-inspeção de um matadouro-frigorífico. O frango saudável utilizado como controle, foi doado por outro matadouro-frigorífico momentos antes do abate e foi eutanasiado no laboratório de anatomia da Faculdade de Veterinária da UFRGS, através de deslocamento cervical. Ambos foram submetidos à injeção de látex arterial colorido, receberam injeções intramusculares de formol a 30% e permaneceram submersos em tanques com formol (30%) por uma semana. Após esse período, as carcaças puderam ser examinadas. Para tal, o músculo ALD foi dissecado bilateralmente, visando a melhor visualização arterial e a possível presença de um ponto de estenose.

### **3.3 Colheita e análise de dados referentes à condenação por MDC em uma empresa avícola do sul do país**

Algumas investigações relacionadas às condenações por MDC foram realizadas através de colheita e análise de dados uma empresa avícola do sul país com a ocorrência da miopatia. Os dados colhidos nessa empresa são abordados a seguir (itens 3.3.1 – 3.3.4).

#### **3.3.1 Pesquisa da idade de início da lesão em frangos de corte**

A MDC é uma lesão encontrada na maioria das vezes apenas no matadouro-frigorífico. Isso por que os frangos não apresentam sinais clínicos significativos e nas necropsias rotineiras dificilmente se avalia a região dorsal dos mesmos. Dessa forma, a condenação acaba sendo uma desagradável surpresa para o produtor e para o veterinário responsável. Dessa maneira, a lesão é verificada praticamente apenas na linha de abate e questiona-se muitas vezes se a origem da mesma seria durante o período de criação ou no matadouro-frigorífico. A resposta para essa questão é de grande importância especialmente para os produtores que são financeiramente penalizados por condenações originadas no aviário. A pesquisa da idade de início da lesão pretendeu responder essa dúvida e contribuir para o entendimento dessa miopatia.

Nesse estudo, oito lotes foram acompanhados nas três primeiras semanas de vida, até a detecção do problema por inspeção visual ou exame microscópico. Semanalmente, cinco frangos de cada lote foram submetidos à eutanásia e à necropsia. Durante o sacrifício, os mesmos foram contidos entre as mãos até pararem de se debater, para evitar o excessivo bater de asas; após, foram observadas e relatadas as alterações macroscópicas e microscópicas presentes no músculo ALD. Para avaliação microscópica, um fragmento desse músculo foi colhido de cada frango, sempre do lado esquerdo, acondicionado em frasco identificado com o número do lote e contendo solução de formalina a 10%, o qual foi a seguir enviado ao laboratório. No laboratório, os fragmentos do músculo foram processados para exame histopatológico conforme a técnica rotineira (LUNA, 1968). Os

lotes usados na pesquisa foram avaliados posteriormente quanto ao percentual de condenação por MDC no matadouro-frigorífico.

### **3.3.2 Análise das dosagens de ionóforo, vitamina E e selênio no alimento**

Com base na literatura, os problemas musculares mais comuns em frangos de corte estão relacionados a deficiências nutricionais (vitamina E e selênio) ou a ingestão de agentes miotóxicos, dentre eles, a monensina, que é um anticoccidiano amplamente utilizado na avicultura, cuja margem terapêutica é bastante estreita e erros de dosagem superiores a 20% em relação à dose recomendada, provocam sinais de intoxicação, dentre eles os indicativos de lesões musculares. Como será descrito no item (3.4), a MDC é uma lesão multifásica, sugerindo a ocorrência de indução por insultos continuados. Nesse tipo de lesão, insultos via alimentar são fortemente sugeridos.

Na empresa em que essas “pesquisas de campo” foram realizadas, a ração é fabricada para consumo interno. Na fábrica de rações da mesma, existe um banco de dados com o registro de todas as dosagens. Nesse banco de dados, há também o valor da dosagem programada e o valor da dosagem efetivada. Com esses valores, calculou-se o percentual de erro de cada dosagem em relação a dose programada. Esses dados são armazenados diariamente, possibilitando análises retrospectivas. Para o presente trabalho, foram disponibilizados dados do período de março a agosto de 2006, período este, com presença concomitante da lesão no respectivo matadouro-frigorífico. A empresa tinha critério próprio para determinação do limite superior (LSE) e limite inferior (LIE) de erros de dosagem em relação a dosagem programada, sendo que na dosagem dos ingredientes do *premix* (inclui-se vitamina E, selênio e monensina) esse limite foi de 2%, enquanto para dosagem do *premix* na ração (a que é consumida pelos frangos), o limite foi de 5%.

### **3.3.3 Pesquisa da presença de sementes de *S. occidentalis* (“fedegoso”) no alimento**

A ingestão de níveis tão baixos quanto 0,5% de sementes de fedegoso no alimento podem provocar diversas lesões em frangos de corte, dentre elas, miopatia (GONZALES, et al., 1994). Essa planta está difundida por praticamente toda a região sul do país e pode ser colhida junto ao milho e outras culturas, sendo acidentalmente incorporada à ração animal e dessa maneira, desencadeando intoxicação nesses animais. Como a “pesquisa de campo” foi realizada em uma empresa da região sul do país, achou-se pertinente a investigação da presença dessa semente junto ao milho, matéria-prima originária da própria região de produção dos frangos de corte.

A empresa em questão possui um setor responsável pelo controle de qualidade dos cereais e outros insumos a serem utilizados na produção das rações. Essa avaliação e classificação dos cereais é realizada em todas as cargas que chegam à empresa, antes da efetivação da compra. Com essa possibilidade de análise qualitativa, delimitou-se um período de controle de três meses, período esse em que houve registros da presença da lesão no matadouro-frigorífico, para análise da presença de sementes de fedegoso nessas cargas. Essa verificação foi realizada pelo funcionário responsável pela análise das amostras de milho, através do registro da presença ou ausência de sementes nas amostras analisadas durante o período de monitoramento estabelecido.

### **3.3.4 Análise de dados de produção referentes à condenação por MDC**

A empresa em estudo apresentava um banco de dados referente às condenações, sendo que cada dado representa a média da ocorrência do problema em um lote. Nesse banco de dados, havia a possibilidade de análise de cada condenação dentro de diversas categorias (sexo, idade, peso de abate, linhagem, região, conversão alimentar, etc) e subcategorias (machos e fêmeas, jovens e velhas, leves e pesadas, etc). Com isso foi possível realizar retrospectivas diárias da condenação em cada lote ou dentro de uma categoria sendo esta, uma importante ferramenta de auxílio no diagnóstico (e inclusive no

controle) de problemas populacionais como os que afetam frangos de corte. Dessa forma foi possível saber se o problema selecionava um só sexo, ou uma linhagem, ou uma categoria de peso de abate, etc.

Foram realizadas pesquisas correspondentes à MDC no banco de dados da empresa em questão num período de seis meses, de maio a outubro de 2006, período em que 2415 lotes apresentaram a condenação por MDC. As categorias selecionadas para análise foram sexo (machos e fêmeas), médias de peso e idade de abate (analisadas juntas: 2,1 kg e 38 dias; 2,9 kg e 45 dias) e linhagem (A, B, C e D). Assim, pode-se verificar o percentual de condenação por MDC dentro de cada uma dessas subcategorias. Análises estatísticas foram realizadas (análise de variância e comparação entre médias – GLM – pelo programa estatístico MINITAB®) para saber se haviam diferenças significativas, no percentual de condenação por MDC, dentro dessas subcategorias considerando uma confiança de 95 %.

### **3.4 Avaliação macroscópica e microscópica de músculos ALD afetados e aparentemente normais**

Este estudo teve como objetivo a caracterização patológica da MDC, realizada a partir de avaliações macroscópicas e microscópicas da lesão. Na avaliação macroscópica, foram analisadas 140 carcaças, sendo 110 condenadas e 30 não condenadas por essa miopatia. Nessas carcaças a lesão foi qualificada em uni ou bilateral; foram verificadas presença ou ausência de odor atípico, bem como descritas as características da lesão, como aspecto, cor e consistência do músculo afetado e músculos adjacentes. Presença de alterações de pele e tecido subcutâneo também foram pesquisadas. Microscopicamente, foram avaliadas 20 das 140 carcaças referidas anteriormente, sendo 10 com e 10 sem lesões macroscópicas. Os fragmentos musculares foram mantidos em solução salina 0,85% por 12-24 h (4 °C) para evitar artefatos de fixação por hiper-contração, após, fixados em solução tamponada de formalina a 10% e submetidos ao processamento histológico rotineiro de desidratação, inclusão em parafina e coloração por hematoxilina e eosina (H & E), segundo Luna (1968). Nas avaliações microscópicas de músculos com e sem alterações macroscópicas, alguns critérios foram adotados para quantificar as principais lesões em

graus que variaram de zero (ausentes) a três (intensas), critérios esses adaptados do trabalho de Mallia et al. (2000), conforme apresentados na Tabela 01. Cada músculo foi avaliado em corte longitudinal e transversal e a intensidade das lesões determinada a partir de contagem das fibras lesadas em corte longitudinal e em menor aumento (40x) no microscópio óptico (Olympus CX40<sup>®</sup>). Em alguns casos necessitou-se da visualização em maiores aumentos, dentro do campo delimitado pelo menor aumento, para determinar o tipo de lesão. Para avaliar a diferença dos graus de lesões microscópicas entre músculos ALD com e sem alterações macroscópicas foi realizado o teste *Mann Whitney* para dados não paramétricos pelo programa estatístico SPSS8.0<sup>®</sup> considerando uma confiança de 95%.

**Tabela 01:** Critérios adotados para avaliar a intensidade das lesões musculares.

<i>Lesão e intensidade*</i>	<i>Descrição da lesão</i>
<b>Degeneração e necrose flocular</b>	
0	ausência de lesão
1	<10 fibras / campo com degeneração e necrose**
2	10-30 fibras / campo com degeneração e necrose**
3	>30 fibras / campo com degeneração e necrose**
<b>Regeneração</b>	
0	ausência de lesão
1	< 10 fibras / campo em regeneração**
2	10-30 fibras / campo em regeneração**
3	>30 fibras / campo em regeneração**
<b>Fibrose</b>	
0	ausência de lesão
1	< 10% de fibrose / total de fibras em todo corte
2	10-30% de fibrose / total de fibras em todo corte
3	>30% de fibrose / total de fibras em todo corte
<b>Inflamação</b>	
0	ausência de lesão
1	Inflamação difusa ou focal – presença de nenhum ou um foco inflamatório por campo**
2	Inflamação difusa ou focal – presença de dois focos inflamatórios*** por campo**
3	Inflamação difusa ou focal – presença de três ou mais focos inflamatórios*** por campo**

\* Graus: 0 = ausência de lesão; 1 = leve; 2 = moderada; 3 = intensa.

\*\* Dois campos avaliados / corte por músculo em aumento de 40X no microscópio óptico.

\*\*\* Foco inflamatório = mais de 100 leucócitos.



### 3.5 Avaliação da associação da MDC com lesões em outros grupos musculares

Esta avaliação foi realizada com o objetivo de verificar a possível associação da MDC com a miopatia peitoral profunda (MPP). Também foi pesquisada a presença de lesões em outros grupos musculares de carcaças afetadas pela MDC, em busca de alterações mais generalizadas, como as descritas em miopatias nutricionais ou tóxicas, na tentativa de encontrar um direcionamento conciso aos estudos futuros de pesquisa etiológica.

Para esse estudo foram usadas as mesmas 110 carcaças com MDC e 30 sem MDC, mencionadas no item anterior 3.4. Essas tiveram outros músculos, além do *Anterior latissimus dorsi* (ALD), macroscopicamente avaliados. Foram eles:

- *Pectoralis thoracicus* (PT) – peitoral superficial.
- *Supracoracoideus* (SP) – peitoral profundo.
- *Rhomboideus superficialis* (RS) – músculo localizado no dorso. Apresenta relação direta com o ALD (Figura 01).
- *Scapulohumeralis caudalis* (SHC) - músculo localizado no dorso. Apresenta relação direta com o ALD (Figura 01).
- *Sartorius* (S) – músculo localizado na perna.
- *Triceps brachii* (TB) – localizado na asa. Apresenta duas porções, a *scapularis* e a *humeralis* que se relacionam diretamente com o ALD, no seu ponto de inserção ao úmero (Figura 01).

Fragments dos músculos citados acima oriundos de 10 carcaças com MDC foram colhidos, mantidos em solução salina 0,85% por 12-24 h (4 °C), após, fixados em solução tamponada de formalina a 10% e submetidos ao processamento histológico rotineiro de desidratação, inclusão em parafina e coloração por hematoxilina e eosina (H & E), segundo Luna (1968). Para a avaliação microscópica desses outros músculos foram usados os mesmos critérios adotados na avaliação do ALD, conforme apresentado na Tabela 01.

Outro estudo foi realizado para verificar a concomitância entre a MDC e a MPP. Nesse estudo, 35 carcaças foram avaliadas macroscopicamente e o dorso foi avaliado apenas quando as carcaças apresentavam lesão peitoral.

### 3.6 Avaliação de alterações viscerais em carcaças com MDC

Esse estudo foi realizado em dez carcaças provenientes de um matadouro-frigorífico do RS, as quais foram condenadas na pré-inspeção veterinária e remetidas ao laboratório do CDPA-UFRGS para avaliação da MDC. Após a condenação, as carcaças foram enviadas fechadas ao laboratório. Com isso, houve a possibilidade de colheita de algumas vísceras, com especial interesse àquelas em que alterações por miopatias conhecidas são descritas (como coração e moela, lesionados nas miopatias nutricionais e tóxicas).

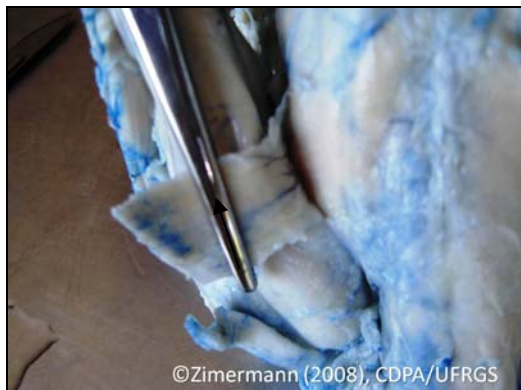
As carcaças foram remetidas em caixa isotérmica refrigerada, chegando ao laboratório aproximadamente 8 h após o abate. Primeiramente as vísceras foram avaliadas macroscopicamente e após, colhidos fragmentos do esôfago, proventrículo, moela, intestino delgado, intestino grosso, fígado, pâncreas, timo e bursa de Fabricius, traquéia, pulmão, rins, coração, cérebro, cerebelo, nervo ciático e a pele que recobre o músculo ALD. Todas as vísceras foram acondicionadas em frascos identificados conforme o número da carcaça (de um a dez). Após a colheita das vísceras das dez carcaças, que apresentavam MDC bilateral, foram colhidos os músculos ALD lesionados para compor a caracterização microscópica da lesão (item 3.4) bem como outros músculos já citados no item 3.5 para o estudo das alterações em outros grupos musculares. Nessas colheitas o ALD foi dissecado bilateralmente e dividido em três porções (uma próxima à origem, que foi denominada de porção anterior = a, outra medial = m e outra mais próxima à inserção do músculo ao úmero, denominada de distal = d) para avaliar a possível diferença de gravidade da lesão entre os lados e em cada lado, entre as porções do músculo, que pudessem indicar o local em que o mesmo foi mais fortemente atingido, ou talvez, em que porção a lesão iniciou.

As colheitas dos músculos e vísceras essencialmente musculares (coração e moela) foram feitas no final do período de *rigor mortis* (entre 12 e 24 h após abate), para evitar artefatos de fixação. As carcaças permaneceram sob refrigeração até o momento da colheita. Cada fragmento muscular foi identificado com o número da carcaça, sigla do músculo, lado e porção e acondicionados separadamente. Todas as amostras desse estudo foram fixadas em solução tamponada de formalina a 10%, processadas e coradas através de técnicas histológicas rotineiras, de acordo com Luna (1968).

## 4. RESULTADOS

### 4.1 Estudo anatômico da irrigação do músculo ALD de carcaças com e sem MDC

A partir das observações anatômicas nas carcaças injetadas com látex pode-se constatar que os ramos da artéria subclávia, que irrigam o músculo ALD, imergem na região axilar, inserindo-se na face inferior do músculo. Isto foi observado na carcaça que não apresentava MDC (Figuras 02 e 03). Na carcaça acometida pela MDC, o músculo estava fortemente aderido aos músculos inferiores, fato não observado na carcaça sem lesão. Após a dissecação e rebatimento desse músculo lesado, em direção médio-lateral, não foi possível observar as artérias (Figura 04). Nesse caso, pode-se constatar que a irrigação do ALD de uma carcaça acometida pela MDC estava comprometida. Não se pode afirmar, entretanto, se essa aparente ausência de irrigação é causa ou consequência da MDC.



**Figura 02:** Irrigação do músculo ALD (seta) de carcaça normal (lado direito).



**Figura 03:** Irrigação do músculo ALD (seta) de carcaça normal (lado esquerdo).

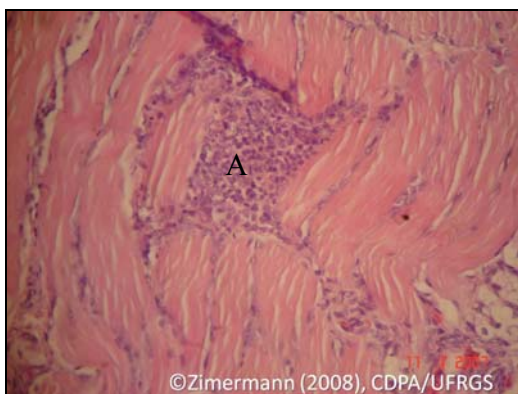


**Figura 04:** Músculo ALD de carcaça com MDC (lado direito).

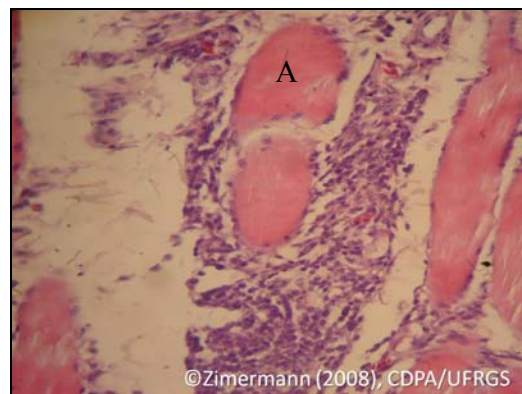
## **4.2 Colheita e análise de dados referentes à condenação por MDC em uma empresa avícola do sul do país**

### **4.2.1 Pesquisa da idade de início da lesão em frangos de corte**

Na pesquisa da idade de início da lesão não foram observadas alterações macroscópicas significativas. Porém, lesões histológicas foram encontradas em frangos de dois diferentes avicultores, aos 23 dias de idade. As lesões encontradas foram de moderadas a intensas com presença de infiltrado inflamatório predominantemente mononuclear entre fibras normais (Figuras 05 e 09) e circundando segmentos de fibra em degeneração hialina (caracterizada por hipereosinofilia, perda da estriação transversal e homogeneização do sarcoplasma) e necrose (Figuras 06-08).



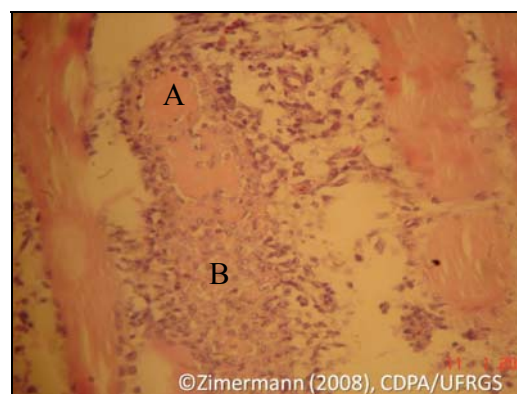
**Figura 05:** Infiltrado inflamatório mononuclear (A) em músculo ALD macroscopicamente normal. Lesão leve ou grau 1. H & E, 200x.



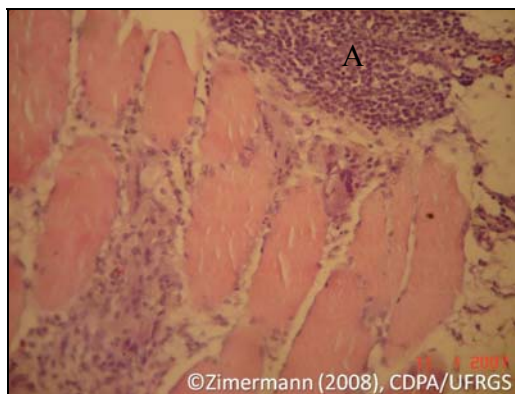
**Figura 06:** Infiltrado inflamatório predominantemente mononuclear circundando fibra muscular em degeneração hialina (A). Corte de Músculo ALD macroscopicamente normal. Lesões leves ou grau 1. H & E, 200 x.



**Figura 07:** Necrose de fibra muscular com infiltrado inflamatório predominantemente mononuclear (círculo) em músculo ALD macroscopicamente normal. Inflamação moderada ou de grau 2. Degeneração e necrose leves ou de grau 1. H & E, 100x.



**Figura 08 (Ampliação da Figura 07):** Necrose de fibra do músculo ALD (A) macroscopicamente normal, com infiltrado inflamatório predominantemente mononuclear (B). H & E, 400x.



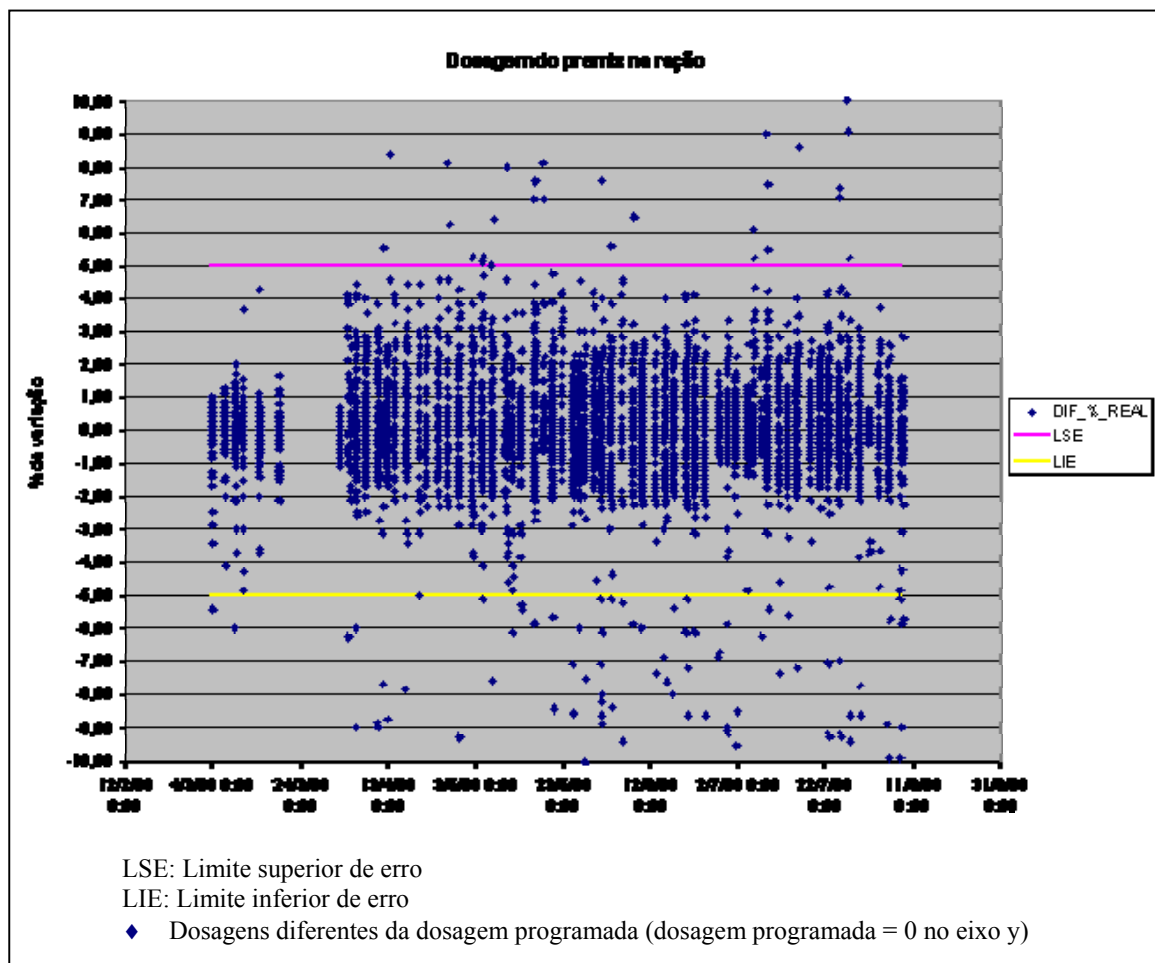
**Figura 09:** Infiltrado inflamatório predominantemente mononuclear (A) em músculo ALD macroscopicamente normal. Lesão leve ou de grau 1. H & E, 200x.

Os lotes usados na pesquisa foram avaliados posteriormente quanto ao percentual de condenação por MDC no matadouro-frigorífico. Dos oito lotes avaliados, somente três apresentaram condenações por MDC. Dentre esses, um dos que continham frangos apresentando lesões microscópicas apresentou 0,08% de condenação por MDC (sobre o total de frangos abatidos). O outro lote em que havia lesão microscópica não sofreu condenações por MDC. Nos outros dois lotes que apresentaram condenação pela MDC não foram encontradas lesões microscópicas nas carcaças analisadas. A presença de MDC nesses dois lotes foi, respectivamente, 0,05% e 0,14%.

#### 4.2.2 Análise das dosagens de ionóforos, vitamina E e selênio no alimento

Essas avaliações foram feitas nas rações de frangos de corte (desde a ração inicial até a final) e em um período com presença da lesão no matadouro-frigorífico. Na avaliação da dosagem dos componentes do *premix*, levou-se em consideração a margem em que os erros eram considerados aceitáveis, margem esta determinada pelos nutricionistas da empresa, que era de  $\pm 2\%$  em relação à dose programada. Nessa fábrica os componentes do *premix* (ionóforos, vitamina E e selênio, entre outros) eram dosados manualmente. Os erros apresentados no banco de dados das dosagens desses ingredientes foram inferiores a 2%.

Na avaliação da dosagem do *premix* na ração, em que a margem de erros aceitáveis pela empresa era de  $\pm 5\%$ , erros de dosagem foram encontrados. Esses erros, tanto de superdosagem quanto de subdosagem, foram freqüentemente encontrados em todos os tipos de rações analisadas (Figura 10).



**Figura 10:** Erros de dosagem do *premix* na ração inicial de frangos de corte.

Fonte: Arquivo de cheque de dosagem do banco de dados de uma empresa apresentando condenações por MDC no período analisado.

#### **4.2.3 Pesquisa da presença de sementes de *Senna occidentalis* (“fedegoso”) no alimento**

Foram analisadas amostras de todas as cargas de milho que chegaram à fábrica de rações, num total de 2438 amostras, por um período de três meses. Em nenhuma foi observada a presença de sementes compatíveis com sementes de fedegoso.

#### **4.2.4 Análise de alguns dados de produção referentes à condenação por MDC**

Foram realizadas pesquisas no banco de dados da empresa correspondentes à condenação. As categorias avaliadas foram sexo, peso e idade de abate e linhagem. Os resultados da Tabela 01 indicam que a condenação por MDC ocorre em ambos os sexos, nos diferentes pesos e idades de abate e em todas as linhagens avaliadas. Quanto ao sexo, a lesão foi mais freqüente em machos ( $P<0,01$ ), porém, o número de machos na pesquisa foi muito maior quando comparado com o de fêmeas. Diferença altamente significativa ( $P<0,01$ ) também ocorreu quando foram avaliados peso e idade de abate, nesse caso com N praticamente equivalente, a condenação foi 27% mais alta nos frangos mais pesados e mais velhos. Na avaliação de linhagem, observou-se que as três linhagens mais pesadas não diferiram entre si, porém apresentaram percentuais maiores de condenação quando comparadas a linhagem considerada mais leves ( $P<0,01$ ).



**Tabela 02:** Percentual de condenação por MDC em algumas categorias de produção de frangos de corte.

<b>Categorias</b>	<b>Subcategorias</b>	<b>N**</b>	<b>Condenação (%)</b>	<b>Significância (P)</b>
Sexo	Macho	2116	0,55a	0,01
	Fêmea	299	0,27b	
Peso e idade de abate	2,1 kg* e 38 dias	1150	0,39a	0,01
	2,9 kg* e 45 dias	1265	0,66b	
Linhagens	A	1204	0,60a	0,01
	B	60	0,55a	
	C	426	0,53a	
	D	394	0,29b	

\* Peso médio; \*\* N: número de lotes; a ≠ b: diferença estatística significativa.

### **4.3 Avaliação macroscópica e microscópica de músculos ALD afetados e aparentemente normais**

#### **4.3.1 Macroscopia**

A MDC é constatada na linha de inspeção pela alteração no aspecto da pele que recobre o músculo ALD. Essa porção de pele apresenta coloração amarelada, ocorrendo também um aumento no volume subcutâneo (Figura 11) quando comparada à carcaça sem lesão (Figura 12). Ao corte da pele, observou-se a presença de fluido de coloração amarelo citrino e aspecto gelatinoso nas adjacências do músculo ALD (Figura 13). O músculo encontrava-se aderido aos adjacentes, apresentando coloração pálida, hemorragia superficial (Figura 13) e consistência firme, quando comparado a carcaças sem lesão (Figura 14). Ao corte, o músculo afetado apresentava aumento de volume e áreas de hemorragia envolvendo a face inferior do mesmo e a superfície do músculo *rhomboideus superficialis* (localizado abaixo do ALD) (Figura 15), alterações não encontradas em carcaças sem MDC (Figura 16). Hemorragias entre as fibras foram pouco encontradas.

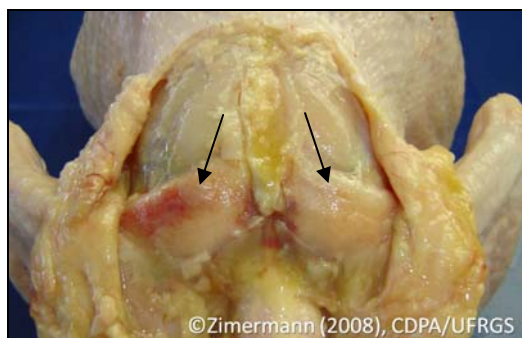
Odor atípico não foi verificado em nenhuma carcaça. Lesão bilateral foi encontrada com maior frequência (89%) do que unilateral observando-se, algumas vezes, diferenças entre os lados acometidos quanto à presença ou ausência de hemorragias (Figura 13), consistência e coloração. Essa diferença entre os lados sugere que a MDC possa ter início em períodos diferentes de um lado em relação ao lado oposto, mesmo quando a lesão é bilateral.



**Figura 11:** Região dorsal cranial de carcaça com MDC. Pele da região apresentando coloração amarelada e aumento de volume subcutâneo (seta).



**Figura 12:** Região dorsal cranial de carcaça sem MDC. Pele da região apresentando aspecto normal.



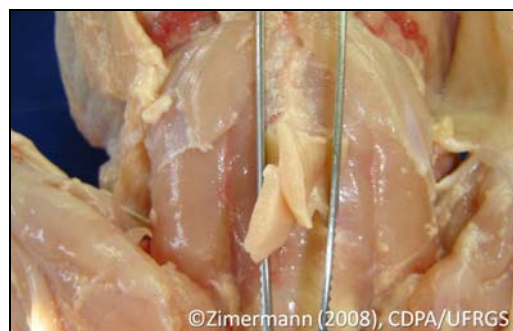
**Figura 13:** Região dorsal cranial de carcaça com MDC. Corte da pele da região. Músculo ALD (setas), apresentando hemorragias superficiais, palidez, conteúdo de aspecto gelatinoso nas adjacências.



**Figura 14:** Região dorsal cranial de carcaça sem MDC. Músculo ALD apresentando aspecto macroscopicamente normal.



**Figura 15:** Região dorsal cranial de carcaça com MDC. Músculo ALD exibindo aumento de volume.



**Figura 16:** Região dorsal cranial de carcaça sem MDC. Músculo ALD apresentando aspecto macroscópico normal.

#### 4.3.2 Microscopia

Microscopicamente foram observadas fibras e/ou segmentos de fibras com perda da estriação transversal, aumento da afinidade pela eosina (hipereosinofilia) e homogeneização sarcoplasmática, caracterizando uma degeneração hialina (Figura 17). Pode-se observar, nos cortes transversais, fibras arredondadas (perda do padrão poliédrico), com aumento de volume e algumas com sarcoplasma flocular - necrose flocular (Figura 18). Algumas fibras normais próximas a fibras em degeneração, em necrose e outras já em regeneração foram encontradas, além de tecido conjuntivo fibroso e tecido fibro-adiposo envolvendo as fibras lesionadas com grande quantidade de células inflamatórias predominantemente mononucleares (Figura 17) e, em alguns cortes, granulócitos esparsos especialmente sobre o tecido conjuntivo fibroso. Uma densa camada de tecido conjuntivo envolvendo todo o músculo foi observada com tecido de granulação altamente vascularizado (Figura 21), vários pontos hemorrágicos sendo muitas vezes encontrado apenas o núcleo das hemácias, indicando hemólise, junto a hemácias normais. Também foi observada, superficialmente, a presença de material eosinofílico amorfo compatível com fibrina (Figura 21). Esses diferentes estágios de lesão e regeneração em um mesmo corte histológico caracterizam uma lesão multifásica (Figuras 19 e 20) em que as fibras em regeneração são basofílicas e apresentam núcleos enfileirados (Figura 20).

Não foram encontradas diferenças marcantes entre os lados (direito e esquerdo) nem entre os segmentos (anterior, medial e distal) do ALD das 10 carcaças com MDC submetidas à análise histopatológica detalhada. Independentemente do lado ou da porção, nessa fase em que a lesão é comumente encontrada, nos frigoríficos, as alterações foram semelhantes (como descritas acima). Após essa análise geral, optou-se por fazer a avaliação da intensidade das principais lesões encontradas nos fragmentos de músculos ALD com MDC (degeneração, necrose, regeneração, fibrose e inflamação) através da classificação em graus de intensidade (0-3, ou seja, ausência de lesão até lesão muito intensa) conforme descrito na Tabela 01. O mesmo foi feito para fragmentos do músculo ALD sem alteração macroscópica. Para essa avaliação foram utilizados os fragmentos das porções mediais do lado direito, já que não foram verificadas alterações marcantes entre os lados ou segmentos do músculo ALD. Como pode ser observado na Tabela 03, todos os fragmentos do músculo ALD com e sem alterações macroscópicas tiveram alterações microscópicas bastante significativas (Figuras 22 e 23). Apesar da presença de lesões microscópicas em ambos os grupos, as lesões foram muito mais intensas nos fragmentos de ALD de carcaças com MDC, especialmente degeneração, necrose, fibrose e regeneração ( $P < 0,0001$ ). Entretanto, a intensidade da alteração inflamatória foi similar em ambos os grupos ( $P > 0,4$ ), sendo que somente o grupo com MDC apresentou infiltrados granulocíticos.

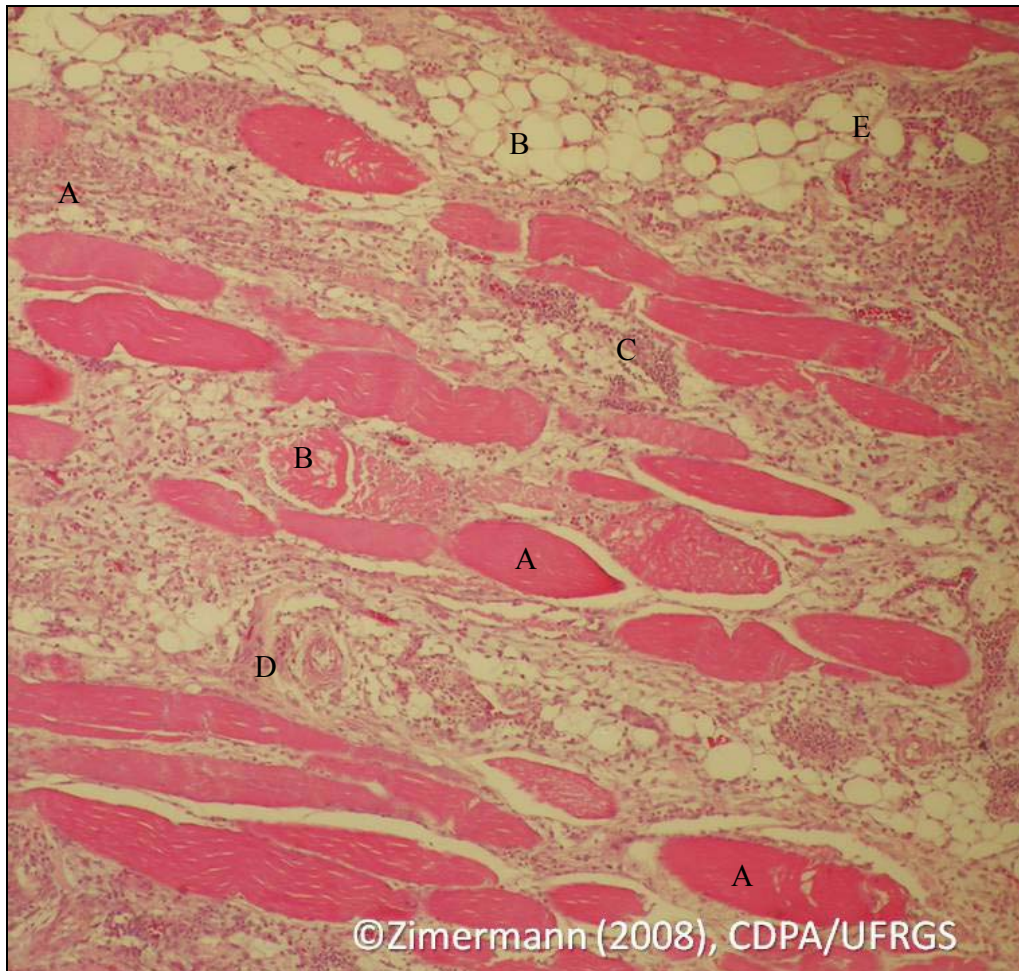
**Tabela 03:** Intensidade de lesões microscópicas em músculos ALD com (+) e sem (-) MDC.

N	Degeneração e necrose flocular (*)		Regeneração (*)		Fibrose (*)		Inflamação (**)			
	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	M		G	
	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)
1	3	2	1	0	3	1	1	3	1	0
2	3	2	1	0	3	1	1	1	1	0
3	3	2	1	0	3	1	1	2	0	0
4	3	2	1	0	3	0	1	1	0	0
5	3	2	1	0	3	1	2	1	1	0
6	3	2	1	0	3	1	1	1	0	0
7	3	2	1	0	3	1	1	1	0	0
8	3	2	1	0	3	1	1	1	0	0
9	3	2	1	0	3	1	1	1	0	0
10	3	2	2	0	3	1	1	2	1	0

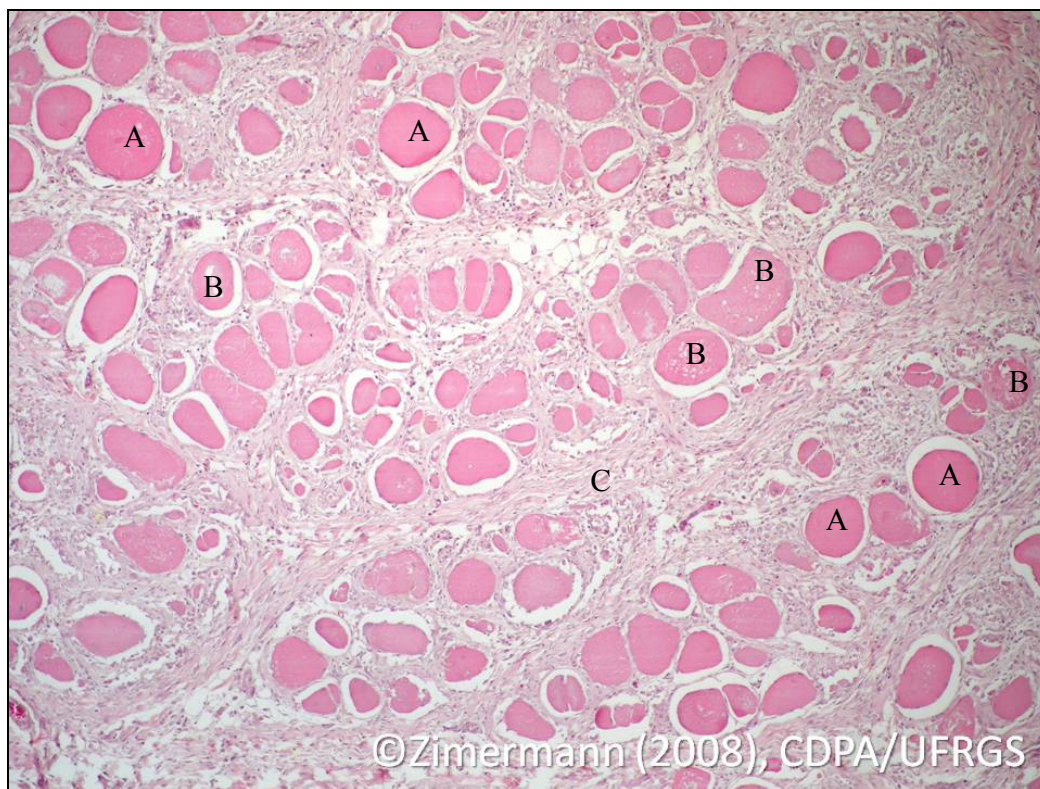
\* $P < 0,0001$     \*\* $P > 0,4$

0 = ausente; 1 = leve; 2 = moderada; 3 = intensa (conforme detalhado na Tabela 01)

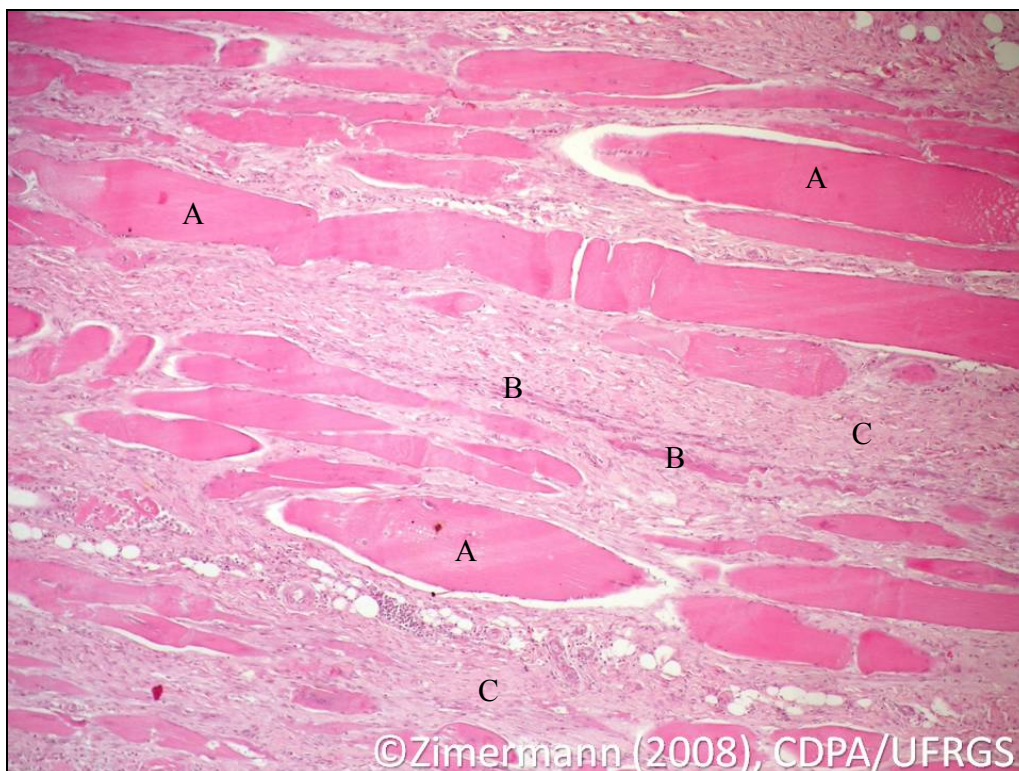
N = número de carcaças; M = mononucleares; G = granulócitos



**Figura 17:** Hipereosinofilia, aumento de volume e homogeneização sarcoplasmática - degeneração hialina (A). Fibras exibindo necrose flocular (B), presença de infiltrado inflamatório predominantemente mononuclear (C), tecido conjuntivo fibroso (D) e tecido fibro-adiposo (E) em músculo ALD de frango com MDC na macroscopia, colhido no matadouro-frigorífico (entre 35 e 45 dias de vida). Degeneração, necrose e fibrose intensas (grau 3) e inflamação leve (grau 1). H & E, 100x.

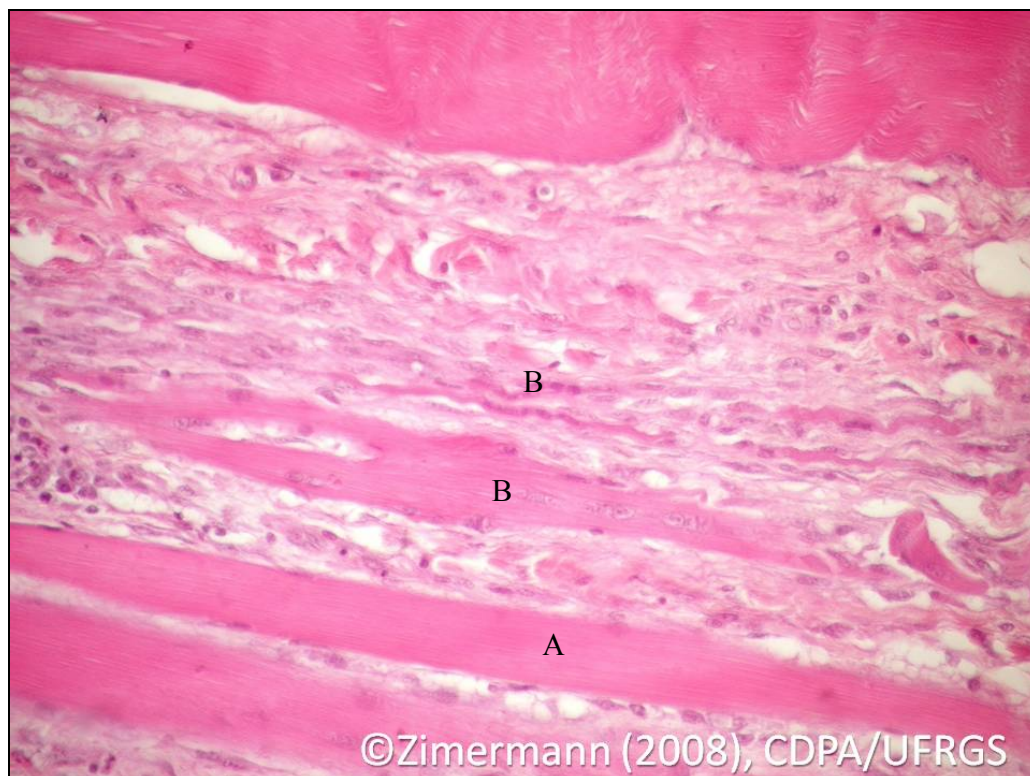


**Figura 18:** Perda do padrão poliédrico das fibras, hipereosinofilia, aumento de volume e homogeneização sarcoplasmática - degeneração hialina (A), necrose flocular (B) e presença abundante de tecido conjuntivo fibroso (C) em músculo ALD de frango com MDC na macroscopia, colhido no matadouro-frigorífico (entre 35 e 45 dias de vida). Degeneração, necrose e fibrose intensas (grau 3). H & E, 100x.

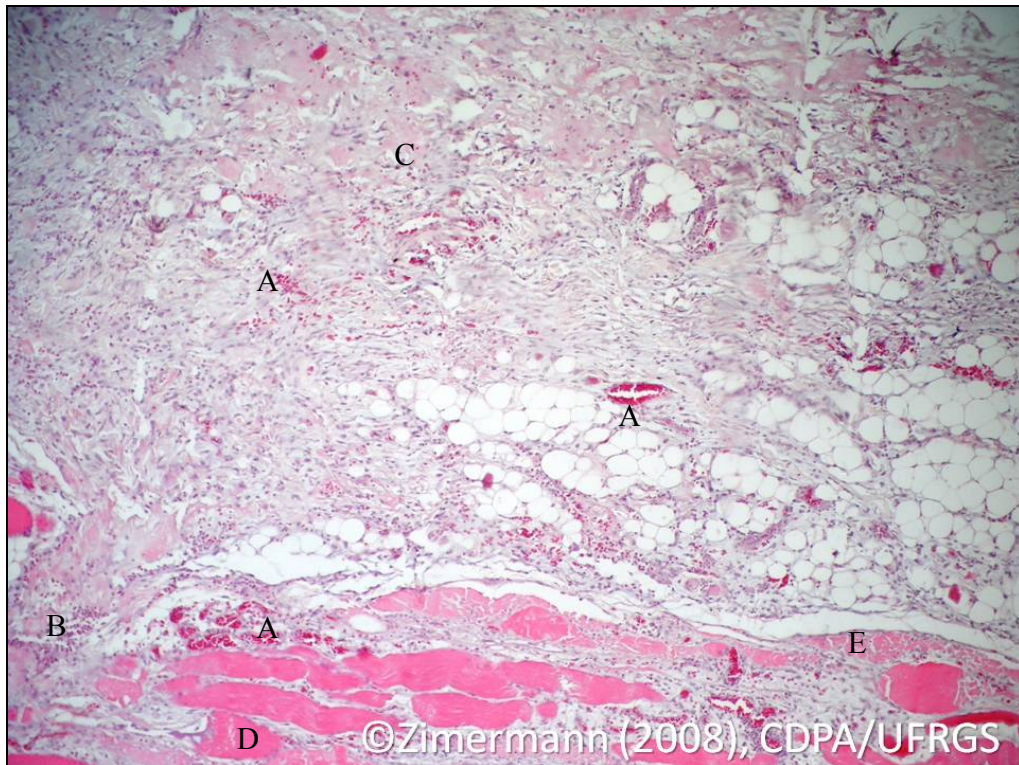


**Figura 19:** Hipereosinofilia, aumento de volume e homogeneização sarcoplasmática - degeneração hialina (A), fibras em regeneração (B), presença abundante de tecido conjuntivo fibroso (C) em músculo ALD de frango com MDC na macroscopia, colhido no matadouro-frigorífico (entre 35 e 45 dias de vida). Degeneração, necrose e fibrose intensas (grau 3). Inflamação e regeneração leves (grau 1). H & E, 100x.

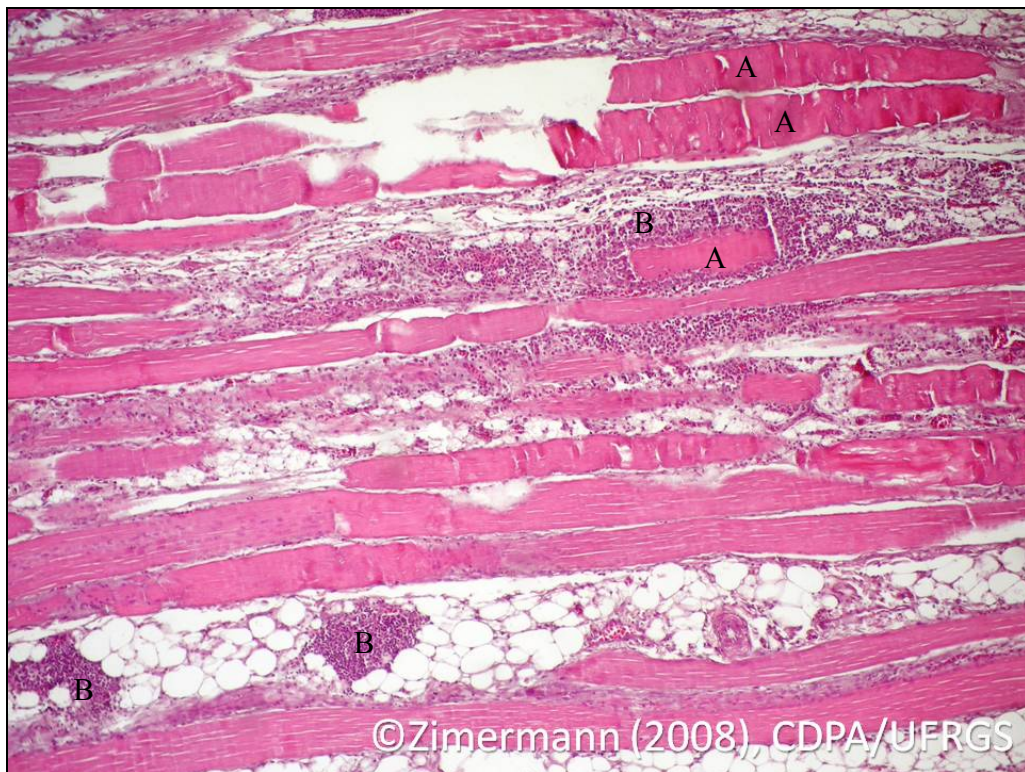




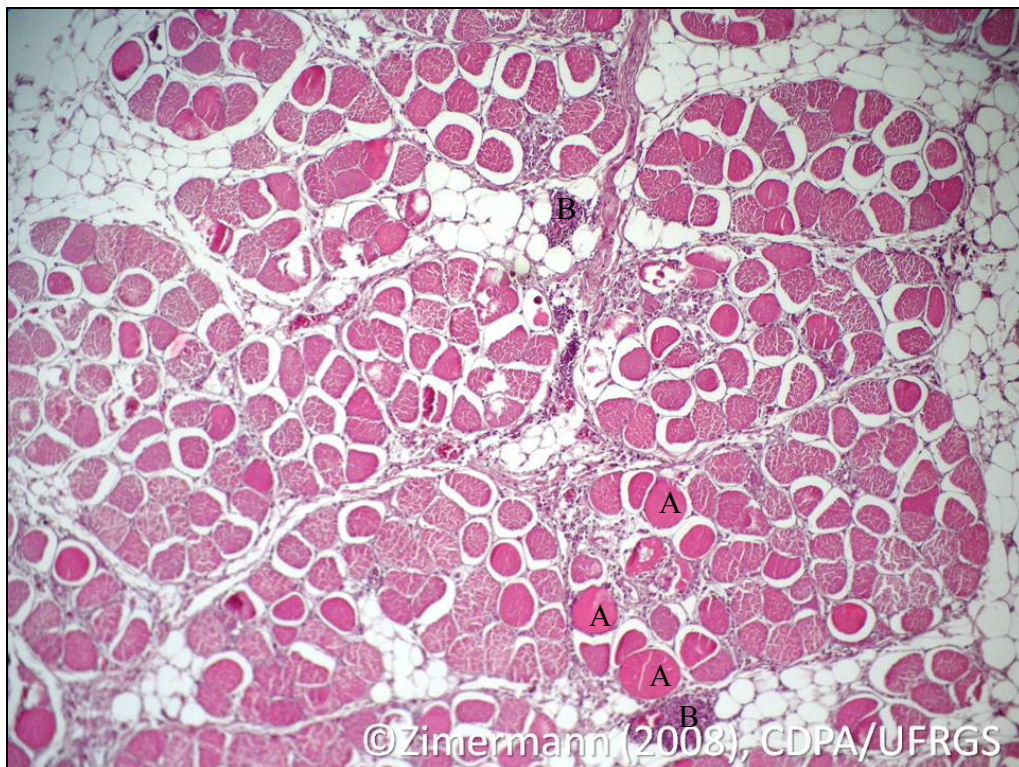
**Figura 20 (Ampliação da Figura 19):** Fibra de aspecto normal (A) e fibras em regeneração (B) em músculo ALD de frango com MDC na macroscopia, colhido no matadouro-frigorífico (entre 35 e 45 dias de vida). H & E, 400x.



**Figura 21:** Tecido de granulação revascularizado (A), infiltrado inflamatório mononuclear (B), material eosinofílico compatível com fibrina (C) na periferia do músculo ALD de frango com MDC na macroscopia, colhido no matadouro-frigorífico (entre 35 e 45 dias de vida). Hipereosinofilia, aumento de volume e homogeneização sarcoplasmática - degeneração hialina (D), necrose focular (E). Degeneração, necrose e fibrose intensas (grau 3). H & E, 100x.



**Figura 22:** Hipereosinofilia, aumento de volume e homogeneização sarcoplasmática - degeneração hialina (A), presença abundante de células inflamatórias mononucleares (B) em músculo ALD de frango sem MDC na macroscopia (35 dias de vida). Inflamação intensa (grau 3). Degeneração e necrose moderadas (grau 2). H & E, 100x.



**Figura 23 (Corte transversal do músculo referido na Figura 22):** Hipereosinofilia, aumento de volume e homogeneização sarcoplasmática - degeneração hialina (A), presença abundante de células inflamatórias mononucleares (B) em músculo ALD de frango sem MDC na macroscopia (35 dias de vida). H & E, 100x.

As alterações microscópicas observadas permitem classificar a lesão como multifásica, o que sugere que as agressões que dão origem à lesão ocorram em mais de um momento. Além desse aspecto multifásico, pode-se pensar também, em um insulto altamente miotóxico devido à intensa substituição de fibras musculares por tecido conjuntivo fibroso (mais de 50% de fibrose nos músculos lesados). Esse tipo de evolução ocorre quando há destruição sarcolemal e com isso, perda da capacidade regenerativa (McGAVIN, 1998). Algumas fibras do mesmo músculo, no entanto, foram menos intensamente insultadas e estão em plena regeneração.

Nos estágios em que a lesão foi estudada, mesmo quando foi apenas microscópica, não se pode concluir sobre a origem da lesão. Mesmo no estudo da idade de início da lesão em que as primeiras alterações microscópicas (degeneração e inflamação) foram verificadas aos 23 dias de vida e também em músculos ALD sem alterações macroscópicas, não é sabido se as lesões microscópicas transformar-se-iam na alteração macroscópica causadora da condenação no matadouro-frigorífico, foco do presente estudo. Dessa forma, os resultados não permitem afirmar se a MDC é uma alteração primariamente degenerativa ou inflamatória. A possibilidade de que a mesma tenha uma origem degenerativa parece mais adequada, uma vez que as alterações inflamatórias foram, na maioria dos casos, menos intensas do que a degeneração e a fibrose observadas. Além disso, as lesões verificadas nos demais músculos examinados, conforme será abordado no item 4.4 foram sempre de caráter degenerativo em grau moderado a intenso, e a inflamação foi observada somente naqueles músculos mais gravemente lesionados.

#### **4.4 Avaliação da associação da MDC com lesões em outros grupos musculares**

As mesmas carcaças com MDC usadas para a caracterização macroscópica e microscópica tiveram também alguns outros músculos avaliados, além do ALD. Foram eles o *Sartorius* (S), o *Pectoralis Thoracicus* (PT), *Supracoracoideus* (SP), *Rhomboideus Superficialis* (RS), *Scapulohumeralis Caudalis* (SHC) e o *Triceps Brachii* (TB). Macroscopicamente, além das lesões presentes no ALD em todas as 110 carcaças, uma carcaça apresentou também lesões de miopatia peitoral profunda concomitantemente à lesão dorsal. Os músculos localizados ventralmente ao ALD, o RS e o SHC, apresentaram hemorragias superficiais (dado não quantificado). Os demais músculos não apresentaram alterações significativas. As 30 carcaças sem lesão no ALD também não apresentaram alterações macroscópicas nos outros músculos. Histologicamente, entretanto, foram encontradas lesões em todos os outros músculos das carcaças condenadas por MDC, como demonstrado na Tabela 04.

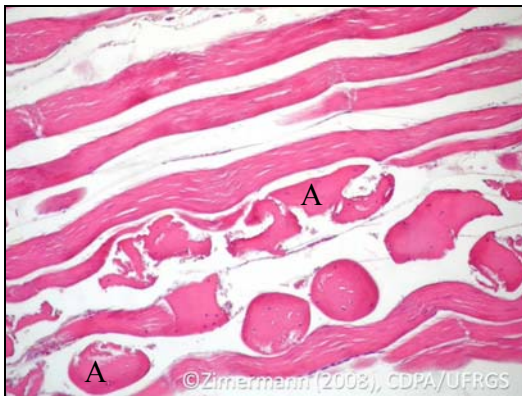
**Tabela 04:** Intensidade de lesões microscópicas em outros músculos de carcaças com MDC.

CARCAÇAS										
<i>Sartorius</i>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<b>Degeneração e necrose flocular</b>	1	1	1	0	0	1	1	1	1	2
<b>Regeneração</b>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>Fibrose</b>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>Inflamação</b>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Supracoracoideus</i>										
<b>Degeneração e necrose flocular</b>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
<b>Regeneração</b>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>Fibrose</b>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>Inflamação</b>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
<i>Pectoralis thoracicus</i>										
<b>Degeneração e necrose flocular</b>	2	3	2	2	3	1	2	1	2	1
<b>Regeneração</b>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>Fibrose</b>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>Inflamação</b>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Rhomboideus superficialis e scapulohumeralis caudalis</i>										
<b>Degeneração e necrose flocular</b>	2	1	2	2	3	2	2	3	3	2
<b>Regeneração</b>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>Fibrose</b>	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
<b>Inflamação</b>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
<i>Triceps braquii (pars scapularis)</i>										
<b>Degeneração e necrose flocular</b>	2	2	2	2	3	3	2	3	3	3
<b>Regeneração</b>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>Fibrose</b>	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1
<b>Inflamação</b>	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1

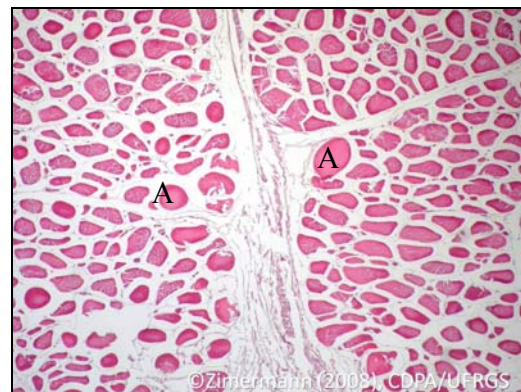
Graus de lesão: 0 = ausente; 1 = leve; 2 = moderada; 3 = intensa.

As principais lesões nos outros músculos de carcaças com MDC foram degeneração e necrose leves nos músculos *sartorius* e *supracoracoideus* (70% e 100% das carcaças, respectivamente). Nesses músculos, degeneração e necrose foram praticamente as únicas

lesões encontradas e não foram verificadas alterações intensas ou de grau 3. Entretanto, nos músculos *rhomboideus superficialis*, *scapulohumeralis caudalis* e *triceps brachii* (*pars scapularis*) as alterações foram mais intensas, com 50% a 60% das carcaças apresentando degeneração e necrose moderadas e 30% a 50% apresentando degeneração e necrose intensas. Em 70% a 100% das carcaças, os mesmos músculos apresentaram inflamação mononuclear leve. Fibrose leve e superficial foi verificada em 80% dos *triceps brachii* (*pars scapularis*) e moderada em 100% dos *rhomboideus superficialis* e *scapulohumeralis caudalis*. No músculo *Pectoralis thoracicus*, as lesões mais marcantes foram degeneração e necrose moderadas, observadas em 50% das carcaças.

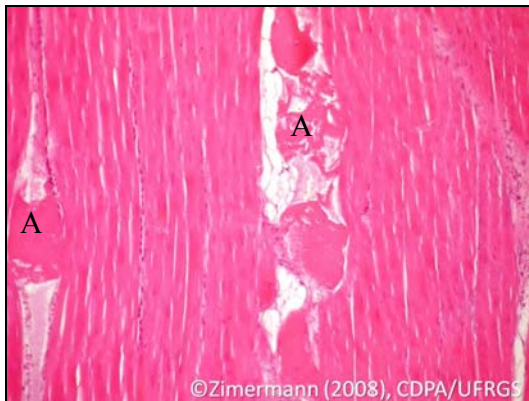


**Figura 24:** Músculo *pectoralis thoracicus* sem alterações macroscópicas. Fibras em processo de degeneração hialina e necrose flocular. (A). Lesões moderadas (grau 1). H & E, 200x.

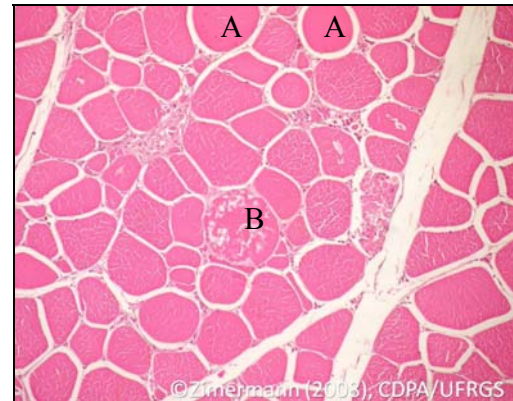


**Figura 25:** Músculo *pectoralis thoracicus* sem alterações macroscópicas. Perda do padrão poliédrico, degeneração hialina e necrose de miofibras (A). H & E, 100x.

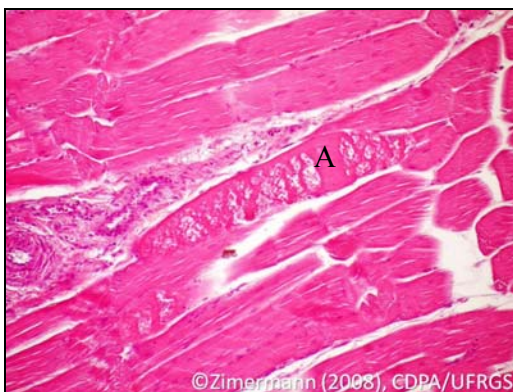




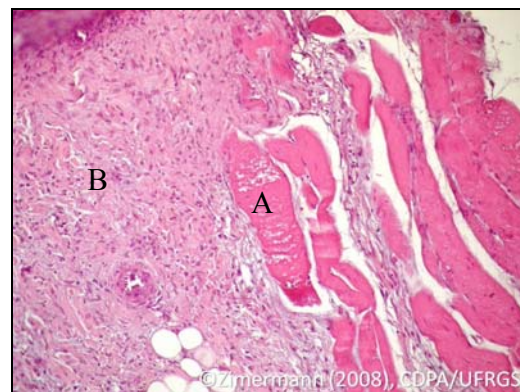
**Figura 26:** Músculo *supracoracoideus* sem alterações macroscópicas. Presença de fibras em processo de degeneração hialina e necrose flocular (A). Lesões moderadas (grau 1). H & E, 200x.



**Figura 27:** Músculo *supracoracoideus* sem alterações macroscópicas. Perda do padrão poliédrico, degeneração hialina (A) e necrose flocular (B). H & E, 200x.



**Figura 28:** Músculo *rhomboideus superficialis* com alterações macroscópicas. Degeneração e necrose flocular (A). Lesões moderadas, (grau 1). H & E, 200x.



**Figura 29:** Músculo *rhomboideus superficialis* com alterações macroscópicas. Moderada necrose flocular (A). Lesões moderadas (grau 1). Presença de densa camada superficial de tecido conjuntivo fibroso. Lesões intensas (grau 2). Presença de tecido fibro-adiposo (B). H & E, 200x.

Essas lesões nos outros músculos de carcaças com MDC sugerem também um problema multifocal, porém primariamente dorsal. Tal aspecto precisa ser melhor estudado, pois, ainda não se pode afirmar que tenham a mesma origem. As lesões nos outros músculos, apesar de intensas são aparentemente mais recentes.

Um outro estudo foi realizado para verificar a concomitância entre a MDC e a miopatia peitoral profunda (MPP). Nesse estudo, as avaliações foram apenas macroscópicas e só foi avaliado o dorso quando a carcaça apresentava lesão peitoral. Das trinta e cinco carcaças condenadas por lesão peitoral, 11 (35,4%) apresentaram MDC, sendo nove dessas 11 classificadas em grau 3, grau mais avançado de miopatia peitoral<sup>3</sup> (músculo *supracoracoideus* já apresentando coloração esverdeada).

#### 4.5 Avaliação de alterações viscerais em carcaças com MDC

Macroscopicamente, todas as carcaças apresentaram bursas de Fabricius diminuídas, fígados moderadamente pálidos e com leve aumento de volume, além de hiperemia da mucosa intestinal, com descamação e evidenciação das placas de *Peyer*. Três carcaças apresentavam leve hiperemia da mucosa da traquéia e pulmão, enquanto que duas apresentavam hidropericárdio e dilatação da musculatura cardíaca. Hemorragias do tipo petequial e sufusões foram achados freqüentes na gordura da coxa (8 das 10 carcaças avaliadas). Nos demais órgãos as alterações foram pouco freqüentes ou pouco significativas.

---

<sup>3</sup> Classificação usada pelo matadouro-frigorífico, onde as colheitas foram realizadas:

Grau 1 - Estágio inicial: lesões hemorrágicas no terço médio do músculo *supracoracoideus*. Lesões podem ser uni ou bilaterais, músculo de consistência diminuída e coloração rosada.

Grau 2 - Estágio médio: lesões hemorrágicas podem se estender ao longo do músculo *supracoracoideus* unilateralmente ou bilateralmente. A região afetada, no terço médio, pode apresentar depressão (atrofia muscular) e a coloração variando entre amarelo pálido a esverdeado podendo apresentar aspecto seco. O músculo *pectoralis thoracicus* pode estar afetado neste estágio.

Grau 3 - Estágio avançado da miopatia peitoral profunda: coloração do músculo *supracoracoideus* esverdeada. A lesão pode se estender em parte ou em todo o músculo. O músculo apresenta-se seco e fibroso. O músculo *pectoralis thoracicus* pode estar afetado neste estágio.

Microscopicamente, pode-se observar intensa depleção linfóide (superior a 70% de depleção) com necrose centro-folicular em todas as 10 bursas de Fabricius avaliadas. Em seis dos dez fígados examinados havia leve hiperplasia de ductos biliares e colangite granulocítica, enquanto que em dois destes observou-se vacuolização dos hepatócitos. No intestino pode-se observar hiperplasia do epitélio dos vilos, descamação superficial, com presença de infiltrado inflamatório mononuclear, infiltrado granulocítico leve na lâmina própria e bactérias na luz do órgão junto ao epitélio descamado. Nas tonsilas cecais também havia depleção linfóide. Nas traquéias das dez carcaças observou-se completa ausência de epitélio com reação inflamatória moderada na lâmina própria e congestão dos vasos da submucosa. Nos pulmões, congestão moderada e presença de infiltrado mononuclear e granulocítico em alguns parabrônquios. Na derme das porções de pele que recobriam o músculo ALD encontrou-se infiltrado inflamatório predominantemente mononuclear em quantidades moderadas em todas as carcaças e algumas vezes perivasculares na camada de tecido adiposo entre a derme e a camada muscular. Essa camada muscular ligada à pele apresentou várias fibras musculares em degeneração. O mesmo tipo de degeneração foi encontrado na camadas musculares que envolviam as traquéias, mas em todos os casos, sem inflamação, fibrose ou outras alterações significativas, que pudessem indicar lesão de continuidade com a MDC. No coração não foram observadas alterações microscópicas significativas. Já na moela em seis das 10 carcaças pode-se observar picnose nuclear difusa nas células da camada muscular. Nos rins de todas as carcaças encontrou-se severa e difusa degeneração do epitélio tubular e infiltrados intersticiais focais de células mononucleares. Nos demais órgãos as alterações foram pouco significativas ou ausentes.

## 5. DISCUSSÃO

Sendo a MDC uma lesão muscular que, ao contrário da maioria das miopatias, está localizada em apenas um músculo (ALD), ao menos macroscopicamente, tornou-se muito importante o estudo anatômico e a revisão bibliográfica feita no presente trabalho quanto à composição e ao metabolismo desse músculo. Com isso, ficaram sendo conhecidas algumas particularidades do mesmo que o diferenciam do outro também alvo de lesão localizada em frangos e perus: o músculo *supracoracoideus*, o qual é afetado na miopatia peitoral profunda (MPP) ou síndrome de compartimento.

No presente trabalho, a partir da revisão de literatura sobre a anatomia do ALD e também do estudo anatômico nas carcaças, pode-se observar que o ALD, diferentemente do *supracoracoideus*, não se localiza em um “compartimento”, ou seja, entre um osso e uma fâscia altamente resistente, e sim está localizado logo abaixo da pele do dorso, acima de outros músculos. Dessa forma, o único ponto em que o ALD poderia sofrer compressão parece ser no seu local de inserção, entre as duas porções do *triceps brachii*. Por esse motivo, não parece possível que a patogenia da lesão em estudo seja semelhante à patogenia da MPP. Em todas as carcaças estudadas procurou-se verificar se havia concomitância da lesão dorsal com a peitoral e observou-se que, das 110 carcaças condenadas por MDC, somente uma apresentou MPP. Entretanto, quando o inverso foi considerado, ou seja, quando 35 carcaças condenadas por lesão peitoral tiveram o dorso averiguado, 11 apresentaram lesão dorsal concomitante. Tal fato sugere que há um aumento na frequência da MDC em frangos com MPP, o que poderia dever-se ao fato de que a irrigação de ambos os músculos é originária da mesma artéria, a subclávia. Sendo assim, a hipóxia por compressão que ocorre na MPP poderia também afetar a região dorsal. No entanto, apesar da possibilidade da ocorrência concomitante de ambas as miopatias, as mesmas também apareceram independentemente, ao menos à inspeção visual, e a explicação que parece viável estaria nas diferentes localizações anatômicas e no tipo de fibra componente dos músculos mencionados.

Quanto ao tipo de fibra, o ALD é composto inteiramente por fibras vermelhas, enquanto que o *supracoracoideus* apresenta os três tipos de fibras (vermelhas, intermediárias e brancas) em quantidades semelhantes (HODGES, 1974). Essa

característica determina diferenças inclusive quanto à susceptibilidade às agressões, já que os músculos vermelhos são mais sensíveis a hipóxia do que os brancos (JENNISCHE et al., 1979; CARMO-ARAÚJO et al., 2007). Dessa forma, é importante considerar essa característica particular do músculo ALD, assim como que tipo de agente afetaria esse músculo com maior intensidade, já que a lesão macroscópica é altamente localizada.

A caracterização da lesão, denominada no presente trabalho de miopatia dorsal cranial ou MDC, permitiu maior conhecimento a respeito desse “novo problema”. Pode-se constatar que a MDC é uma lesão severa que acomete todo o músculo ALD, desde sua origem até sua inserção. Além disso, a MDC é na maioria das vezes bilateral e histologicamente foi considerada uma lesão multifásica. Essa última característica embasa-se no fato de que, no mesmo músculo, encontram-se fibras em degeneração e necrose em meio a algumas fibras aparentemente viáveis, além de fibras em processo de regeneração e intensa fibrose quando a regeneração não teria sido possível devido à intensidade do insulto. A MDC pode ser diagnosticada através da constatação da lesão macroscópica, mas a presença de alterações microscópicas no ALD “normal” à macroscopia, não permitiu a confirmação da MDC nesses casos, já que outros músculos considerados normais na macroscopia apresentaram lesões microscópicas semelhantes (apesar de mais brandas). Nesse sentido, também não foi possível caracterizar a lesão em sua fase inicial. Mesmo na pesquisa da idade de início da lesão, apesar de um dos lotes estudados ter apresentado a lesão microscópica aos 23 dias e também a condenação posteriormente no frigorífico, não se pode afirmar que a lesão microscópica encontrada representaria a fase inicial da MDC macroscópica.

Nas “investigações de campo” de uma empresa com condenações por MDC, pode-se constatar que a MDC foi mais prevalente em frangos de corte de crescimento rápido já que as maiores taxas de condenação foram em linhagens mais pesadas, em machos, com maiores médias de peso e idade de abate. Com essas constatações, suspeita-se que a MDC possa ser mais um problema ocasionado pela excessiva melhoria genética em que as condições ambientais (alimentação, manejo) podem não estar adequadas às necessidades desses animais. Nesse aspecto, pode-se verificar ainda no “estudo de campo” que o fornecimento de substâncias protetoras como vitamina E e selênio não foi sempre regular, com erros freqüentes tanto de subdosagem como de superdosagem, os quais poderiam

representar um fator agravante na produção da lesão. Nos casos de subdosagem ficariam baixos os níveis de vitamina E e Se, enquanto que, na superdosagem, poderia ocorrer a ingestão de níveis tóxicos de ionóforos. Entretanto, parece pouco provável que uma dessas causas isoladamente possa causar a MDC, o mesmo também sendo verdadeiro no caso da intoxicação por fedegoso. Mesmo assim, o envolvimento desses fatores não pode ser comprovado ou descartado até presente momento. É necessária, então, a realização de experimentos para verificar se esses fatores são capazes de provocar a MDC isoladamente ou combinados. Em experimentos publicados na literatura em que foram testadas a deficiência de vitamina E e selênio ou a intoxicação por ionóforos e fedegoso, o músculo ALD não foi examinado, com exceção de um estudo realizado por Hanrahan et al. (1981) em que foram utilizados níveis tóxicos de monensina, e a lesão nesse músculo foi descrita como moderada (apresentando apenas infiltração lipídica), não sendo detectada macroscopicamente.

No presente trabalho, quando foram examinados outros músculos de carcaças portadoras de MDC, verificou-se que lesões microscópicas ocorreram em todos os pesquisados (*pectoralis thoracicus*, *supracoracoideus*, *rhomboideus superficialis*, *scapulohumeralis caudalis*, *triceps brachii - pars scapularis* - e *sartorius*), não tendo sido observadas alterações macroscópicas em nenhum dos casos (com exceção de um caso de MPP). Como pode ser observado nas Tabelas 03 e 04 e nas Figuras 24-29, as alterações microscópicas foram consideradas mais discretas do que as alterações verificadas no músculo ALD macroscopicamente alterado, especialmente quanto à fibrose e regeneração, porém, parecidas com as alterações no ALD aparentemente normal. Sendo fibrose verificada apenas nos músculos que apresentam relação direta com o ALD, sugerindo uma possível lesão de continuidade entre esses músculos, provavelmente em consequência da forte lesão no ALD. Nos músculos mais distantes do ALD as lesões foram mais discretas. Segundo Li e Huard (2002), miofibroblastos (células que darão origem ao tecido conjuntivo fibroso) podem ser encontradas em tecidos lesados cerca de uma a duas semanas após a injúria. Com isso acredita-se que a MDC tenha início a aproximadamente duas semanas antes do abate, coincidindo com a lesão microscópica encontrada aos 23 dias de vida das aves. Li e Huars (2002) também observam que a perda dos miócitos e a substituição destes por tecido conjuntivo fibroso pode ser devida à redução na reinervação dos novos miócitos

em regeneração. No presente trabalho, lesões como degeneração e necrose foram de moderadas a intensas nos músculos que anatomicamente se relacionam com o ALD (*rhomboideus superficialis*, *scapulohumeralis caudalis*, *triceps brachii - pars scapularis*). Esses últimos músculos apresentaram também, em alguns casos, fibrose superficial com inflamação mononuclear e presença de material eosinofílico amorfo compatível com fibrina, o que explicaria a aderência dos mesmos ao ALD. Os músculos distantes ao ALD (*satorius*, *supracoracoideus* e *pectoralis thoracicus*) apresentam lesões mais brandas que os demais e não foi verificada fibrose. Regeneração não foi observada em nenhum dos outros músculos. O encontro de lesões microscópicas em músculos aparentemente normais é digno de nota. É possível que essas lesões microscópicas estejam presentes, em maior ou menor intensidade, em carcaças liberadas para o consumo, como também verificaram Mallia et al. (2000). O significado e a importância dessas alterações é desconhecido, e uma investigação a esse respeito estaria plenamente justificada. Não se pode afirmar, no entanto, que a(s) causa(s) dessas lesões seja(m) a(s) mesma(s) para todos os grupos musculares. Assim, parece que a MDC é uma lesão primariamente localizada no músculo ALD e que as lesões nos músculos adjacentes a este são uma conseqüência da injúria intensa no mesmo. Quanto às lesões em outros músculos distantes do ALD, suspeita-se que sejam causadas por um insulto diferente, ou que a necrose esteja ocorrendo primeiramente nas fibras vermelhas (como é o caso do ALD, que é inteiramente vermelho) já que esses outros músculos são compostos por vários tipos de fibras (brancas, vermelhas e mistas). Essa suspeita fundamenta-se no fato de ser o frango pesado um animal constantemente “hipóxico”, o que, aliado às condições ambientais e condições oscilatórias de fornecimento de nutrientes protetores, bem como dos elementos tóxicos verificadas nos estudos de campo, poderiam resultar nas lesões observadas.

Uma das formas de hipóxia em frangos de corte é a que ocorre em locais de altitude elevada. Nesse caso, todo o organismo é cronicamente afetado e, por esse motivo, consegue adaptar-se aumentando o número de capilares (PANISELLO et al., 2008). Mesmo com essa característica de adaptação, McGuire et al. (2003) observaram um aumento na fadigabilidade do músculo vermelho avaliado. Os autores sugerem também a possível existência de alterações patofisiológicas nesse músculo, quando o mesmo é submetido a um período longo de hipóxia. Obviamente, tal adaptação não seria possível em episódios de

hipóxia aguda, como ocorre em casos de estenose ou de oclusão arterial. Em frangos de crescimento rápido, como é o caso dos frangos mais freqüentemente condenados por MDC, parece possível que um tipo de oclusão semelhante pudesse acontecer em decorrência de exercício (bater de asas), práticas de manejo usuais tais como as pesagens semanais, em que os frangos são contidos muitas vezes pelas asas, o que poderia produzir momentos de isquemia seguidos de reperfusão. O próprio aumento de peso da musculatura da asa poderia ser um fator que dificultaria a chegada de sangue, pois a artéria que irriga o ALD, como verificado no estudo anatômico, é um ramo da subclávia que imerge na região axilar, inserindo-se na face ventral do músculo e, dessa forma, o fluxo sanguíneo ocorre contra a força da gravidade, dificultando ainda mais a sua irrigação. Essa dificuldade de irrigação poderia ainda ser potencializada em frangos com déficit cárdio-respiratório. Como pareceu possível no caso dos dois frangos (de dez que tiveram suas vísceras avaliadas no presente trabalho) que apresentaram hidropericárdio, dilatação cardíaca e MDC concomitantemente. Assim, é necessária a produção de eventos de hipóxia nos estudos a respeito da etiologia de MDC bem como a pesquisa da associação da MDC com a síndrome ascítica. O estudo anatômico em um maior número de carcaças com e sem MDC também se faz necessário, já que não se pode afirmar que falta de irrigação aparente no músculo ALD seja causa ou consequência da lesão.

À análise das vísceras das carcaças com MDC esperava-se encontrar lesões severas nos músculos da moela e cardíacos. Entretanto, lesões macroscópicas indicativas de necrose não foram encontradas. Microscopicamente, o miocárdio também não apresentou alterações significativas. Já nas moelas observou-se picnose difusa de miócitos, sendo que esse tipo de alteração é descrito em casos de deficiência de vitamina E e selênio (AUSTIC e SCOTT, 1991). Estas lesões verificadas nas moelas são insuficientes para comprovar o envolvimento direto da deficiência de vitamina E e selênio, na produção da MDC, mas não afasta a hipótese da participação destes insultos em quadros subclínicos. Riddell (1996) menciona depleção linfóide (de bursa de Fabricius, timo e baço) como lesão de frangos sofrendo de deficiência combinada de vitamina E e selênio. No presente trabalho, severa depleção linfóide (>70%) foi verificada nas bursas, o timo, porém, foi desconsiderado dos resultados, pois apresentou inúmeros artefatos de processamento que dificultaram sua análise. Um maior número de órgãos de carcaças com MDC precisa ser examinado para



averiguar a possível existência de repetibilidade das lesões viscerais encontradas e suas possíveis associações com problemas carenciais e/ou tóxicos. De qualquer forma, também não foram encontradas lesões no SNC que justificassem o envolvimento da vitamina E (encefalomalácia) nem há informações sobre a ocorrência de sinais clínicos relativos a essa deficiência no campo. Entretanto, um problema nutricional subclínico não pode ser descartado.

A intensa lesão das bursas de Fabricius (>70%) provenientes de todas as 10 carcaças indicou um quadro de severa imunodepressão, que por sua vez explica a enterite e mesmo a colangite verificada nos respectivos órgãos de carcaças com MDC. Além da colangite, também observou-se moderada proliferação de ductos biliares e vacuolização de hepatócitos em alguns dos fragmentos de fígado examinados. Esse tipo de alteração hepática, aliado a severa depleção linfóide da bursa de Fabricius e às hemorragias observadas no tecido adiposo das pernas dos mesmos frangos, sugeriria um possível envolvimento de micotoxinas como mais um fator a agir nesses frangos. Tais lesões podem ou não ser coincidentes com a lesão muscular dorsal, mas devem ser levadas em conta, pois, a repetibilidade das mesmas em estudos futuros necessita ser averiguada.

As lesões na traquéia, pulmão e rins, por sua vez, poderiam indicar um possível envolvimento do vírus da BI, suspeito de envolvimento na MPP. Porém, a interpretação das alterações nas traquéias foi prejudicada pela completa perda de epitélio em todas as carcaças avaliadas. Essa ausência de epitélio não parecia decorrente de alguma doença, já que nenhum resquício do mesmo foi encontrado na luz do órgão. Parece possível que essa alteração represente um artefato de coleta, ou seja, conseqüência da escaldagem no matadouro-frigorífico. Lesões musculares induzidas por vírus podem ser secundárias a infartos oriundos de vasculites ou ocorrem por efeito direto do vírus nas miofibras causando necrose multifocal (VALENTINE e McGAVIN, 2007). Os mesmos autores também citam que as miopatias virais muitas vezes não são visíveis e, quando presentes, são normalmente discretas e focais. Entretanto, poucas são as miopatias de etiologia viral. Um vírus da família *Reoviridae* causa a doença da “língua azul” em ovinos, produzindo infarto caracterizado por hemorragia, necrose, calcificação, regeneração e fibrose. Já um outro vírus da família *Picornaviridae*, na febre aftosa, também causa miopatia caracterizada por necrose segmentar e intensa presença de linfócitos e neutrófilos. Existe ainda uma

miopatia causada também por um coronavírus, na encefalomielite suína, caracterizada por necrose multifocal, infiltrado de linfócitos e macrófagos intersticial e perivascular (VALENTINE e McGAVIN, 2007). O envolvimento do vírus da BI das galinhas (também coronavírus) em miopatias não foi comprovado até o momento. As lesões respiratórias e renais encontradas nas dez carcaças com MDC são mais discretas do que as verificadas em casos clássicos de BI. Os dados obtidos até o presente momento não permitem descartar nem confirmar o envolvimento do vírus da BI na MDC e sugere-se que pesquisas sejam feitas nesse sentido.

As lesões renais severas de necrose tubular talvez estejam relacionadas com o quadro geral de miopatia dos frangos com MDC, que certamente culminam com a circulação de mioglobina, substância liberada pela destruição muscular e que é altamente nefrotóxica (VALENTINE e McGAVIN, 2007). Gonzales et al. (1994) encontraram degeneração do epitélio tubular renal em frangos apresentando miopatia por intoxicação experimental com sementes de *Senna occidentalis*. É pertinente mencionar a existência de micotoxinas nefrotóxicas como a ocratoxina e a citrinina (RIDDELL, 1996).

As pesquisas realizadas até o presente momento foram relevantes, pois permitiram a caracterização dessa doença, bem como a obtenção de algumas informações pertinentes, como por exemplo, de que a MDC, ao menos na empresa estudada, não está relacionada ao sexo ou à linhagem, mas é mais freqüente, ou mais facilmente identificada, nas linhagens mais pesadas, nos frangos machos abatidos em idade mais avançada e com peso mais elevado. Nesse aspecto é importante a realização de trabalhos de pesquisa utilizando esse tipo de frango, de crescimento rápido, do sexo masculino, com alimentação *ad libitum*, e em simulações de situações de campo com falhas no fornecimento de substâncias mioprotetoras e presença de agentes agressores em quantidades suficientes para indução de quadros subclínicos, juntando ainda, eventos de hipóxia, isquemia e reperfusão na tentativa de reproduzir a MDC.

## 6. CONCLUSÕES

A MDC é multifásica, ocorrendo a partir de diferentes momentos de insulto e acomete com maior frequência frangos pesados e de crescimento rápido. Deficiência de vitamina E e selênio ou níveis tóxicos de ionóforos podem estar contribuindo na indução desta “nova” miopatia.

Há a possibilidade de que a MDC seja mais uma das síndromes metabólicas dos frangos de corte, em que se aliam as características fisiológicas do próprio músculo aos déficits de oxigenação advindos do melhoramento genético, também à questão ambiental (altitude e manejo), presença de níveis inadequados de substâncias de proteção muscular e, ainda, à presença de substâncias miotóxicas. Os resultados obtidos indicam a necessidade de verificar a possível associação entre a MDC e a síndrome ascítica.

As lesões microscópicas observadas em todos os músculos aparentemente normais, inclusive no ALD, indicam a presença de um problema em potencial. Pesquisas diretas com cada uma das possíveis causas sugeridas no presente trabalho também precisam ser realizadas, isoladamente e em diferentes combinações, usando animais de crescimento rápido na tentativa de reprodução da lesão.

## REFERÊNCIAS

- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS PRODUTORES E EXPORTADORES DE FRANGO. **Relatórios Anuais 2007/2008**. Disponível em: <[http://www.abef.com.br/portal/\\_clientes/abef/cat/Relat%F3rio%202007-08\\_9952.pdf](http://www.abef.com.br/portal/_clientes/abef/cat/Relat%F3rio%202007-08_9952.pdf)>. Acesso em: 15 de julho de 2008.
- AUSTIC, R.E.; SCOTT, M.L. Nutritional diseases. In: CALNEK, B.W. et al. **Diseases of Poultry**. 9<sup>th</sup> ed. Iowa: Iowa State University Press, 1991. 2, p. 45-71.
- AVANZO, J.L. et al. Effect of vitamin E and Selenium on resistance to oxidative stress in chicken superficial pectoralis muscle. **Comparative Biochemistry and Physiology - Part C**, n. 129, p. 163-173, 17 Apr. 2001.
- BARROS, C.S.L. Intoxicação por antibióticos ionóforos. In: RIET-CORREA, F. et al. **Doenças de Ruminantes e Eqüinos**. 2.ed, v. 2, São Paulo: Varela, 2001. 2, p. 186-190.
- BAUMEL, J.J. et al. (Ed). **Handbook of Avian Anatomy**: nomina anatomica avium. 2<sup>th</sup> ed. Cambridge: Nuttal Ornithological Club, 1993. 778p.
- BIANCHI, M. et al. The occurrence of deep pectoral myopathy in roaster chickens. **Poultry Science**, v. 85, p. 1843-1846, Oct. 2006.
- BODINE-FOWLER, S. Skeletal muscle regeneration after injury: an overview. **Journal of Voice**, v. 8, n. 1, p. 53-62, Mar. 1994.
- BRADFORD, A., McGUIRE, M., O'HALLORAN, K.D. Does episodic hypoxia affect upper airway dilator muscle function? Implications for the pathophysiology of obstructive sleep apnoea. **Respiratory Physiology & Neurobiology**, v. 147, p. 223-234, July 2005.
- BRENTANO, L.; KLEIN, T.A.P.; JAENISCH, F.R.F.; BACK, A.; CASTRO, A.G.M. de. Isolamento do vírus de Bronquite Infecciosa das aves de surtos da doença associada a lesões atípicas de miopatia de músculo peitoral. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLA, 2005, Santos, SP. **Anais...** Campinas: FACTA, 2005. p. 232. Trabalhos de Pesquisa.

BRENTANO, L. et al. Sequenciamento do gene S1 de vírus de bronquite infecciosa (IBV) isolados de surtos da doença associada a lesões de miopatia peitoral. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, Suplemento 8, p. 241, 2006.

BUERGELT et al. Nutritional myodegeneration associated with dorsal scapular displacement in beef heifers. **Journal of Comparative Pathology**, v. 114, n. 4, p. 445-450, May 1996.

CALORE, E.E. et al. Experimental mitochondrial myopathy induced by chronic intoxication by *Senna occidentalis* seeds. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 146, p. 1-6, Feb.1997.

CALORE, E.E. et al. Toxic peripheral neuropathy of chicks fed *Senna occidentalis* seeds. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 39, p. 27-30, Jan. 1998.

CARMO-ARAÚJO, E.M. et al. Ischaemia and reperfusion effects on skeletal muscle tissue: morphological and histochemical studies. **International Journal of Experimental Pathology**, v. 88, p. 147-154, Mar. 2007.

CAVALIERE, M.J. et al. Mitochondrial myopathy in *Senna occidentalis*-seed-fed chicken. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 37, p. 181-185, July 1997.

CAVANAGH, D., NAQI, S.A., Infectious bronchitis. In: SAIF, Y. M. et al. **Diseases of Poultry**. 11<sup>th</sup> ed. Iowa: Iowa State University Press, 2003. 3, p. 101-120.

COATES, J. An unusual degenerative muscle lesion (myopathy) in broilers. **Diagnostic Diary**, v. 13, n. 2, Aug. 2003.

DAVID, G.P., WINTERBOTTOM, A.J. Flying scapula in a red deer (*Cervus elaphus*). **Veterinary Record**, v. 139, n. 1, p. 20-20, 21 July 1996.

DiMAURO, S. Mitochondrial myopathies. **Current Opinion in Rheumatology**, v. 18, p. 636-641, Nov. 2006.

DOWLING, L. Ionophore toxicity in chickens - A review of pathology and diagnosis. **Avian Pathology**, v. 21, n. 3, p. 355-368, Sept. 1992.

GEYIKOGLU, F., VURALER, O., TEMELLI, A. The histochemical and ultrastructural structures of avian latissimus dorsi muscle fiber types and changes in them caused by water copper level. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**, Ankara, v. 29, p. 131-138, 2005.

GEORGE, M.H. et al. Injection-site lesions in carcasses of cattle receiving injections at branding and at weaning. **Journal of Animal Science**, v. 73, p. 3235-3240, 1995.

GOUGH, R.E. et al. A new strain of infectious bronchitis virus infecting domestic fowl in Great Britain. **Veterinary Record**, London, v. 130, n. 11, p. 493-494, 30 May 1992.

GONZALES, E. et al. Toxicidade de sementes de fedegoso (*Cassia occidentalis* L.) para frangos de corte. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 51, n. 1, p. 168-174, Jan./Apr. 1994.

GONZALES, E.; MACARI, M. Enfermidades metabólicas em frangos de corte. **Doenças das Aves**. Campinas: FACTA, 2000. 9, p. 449-464.

GRAZIANO, J.M. et al. Effects of a *Cassia occidentalis* extract in the domestic chicken (*Gallus domesticus*). **American Journal of Veterinary Research**, v. 44, p. 1238-1244, 1983.

HANNAM, D.A.R. et al. Flying scapula of cattle. **Veterinary Record**, v. 134, n. 14, p. 356-356, 2 Apr. 1994.

HANRAHAN, L.A. Monensin toxicosis in broiler chickens. **Veterinary Pathology**, v. 18, p. 665-671, 1981.

HARAGUCHI et al. Muscle atrophy induced in broiler chicks by parts of *Senna occidentalis* seeds. **Veterinary Research Communications**, v. 22, p. 265-271, June 1998.

HAVENSTEIN, G.B., FERKET, P.R., QURESHI, M.A. Growth, livability, and feed conversion of 1957 versus 2001 broilers when fed representative 1957 and 2001 broiler diets. **Poultry Science**, v. 82, n. 10, p. 1500-1508, 2003.

HODGES, R.D. The muscular and skeletal systems. In: HODGES, R.D. **The Histology of The Fowl**. New York: Academic Press Inc, 1974. 5, p. 243-299.

ISHIMOTO, S., GOTO, I., KUROIWA, Y. Early morphological changes in the striated muscles in normal and dystrophic chickens. **Journal of Comparative Pathology**, v. 98, n. 1, p. 69-79, 1988.

JENNISCHE, E., AMUNDSON, B., HALJAMAE, H. Metabolic responses in feline 'red' and 'white' skeletal muscle to shock and ischemia. **Acta Physiologica Scandinavica**, v. 106, n. 1, p. 39-45, May 1979.

KLASING, K.C. (2008). Nutritional diseases. In: SAIF, Y.M., FADLY, A.M., GLISSON, J.R., MCDOUGALD, L.R., NOLAN, L.K., SWAYNE, D.E. **Diseases of Poultry**. 12<sup>th</sup> ed. Ames: Blackwell Publishing Professional, 2008. 29, p. 1121-1148.

LI, Y., HUARD, J. Differentiation of muscle-derived cells into myofibroblasts in injured skeletal muscle. **American Journal of Pathology**, v. 161, n. 3, p. 895-907, Sept. 2002.

LUNA, L.G. **Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology**. 13th ed. New York: McGraw-Hill, 1968. 258 p.

MACHLIN, L.J., GORDON, R.S. Etiology of exudative diathesis, encephalomalacia, and muscular degeneration in the chicken. **Poultry Science**, v. 41, p. 473-477, 1962.

MALLIA, J.G. Bacteriological and histological profile of turkeys condemned for cyanosis. **Poultry Science**, v. 79, p. 1194-1199, 2000.

MARTIN, R.M., FISH D.E. Scapular winging: anatomical review, diagnosis, and treatments. **Current Reviews in Musculoskeletal Medicine**, v. 1, p. 1-11, 2008.

McGAVIN, M.D. Músculos. In: CARLTON, W.W. e McGAVIN, M.D. **Patologia Veterinária Especial de Thomson**. 2.ed. Porto Alegre: Atmed, 1998. 9, p. 417-447.

McGUIRE, M., DERMOTT, M.M., BRADFORD, A. Effects of chronic intermittent asphyxia on rat diaphragm and limb muscle contractility. **Chest**, v. 123, p. 875-881, Mar 2003.

MEARNS, R., LEWIS, H. 'Flying scapula' in cattle. **Veterinary Record**, v. 161, n. 3, p. 107-108, 21 July 2007.

NUTRIENT REQUIREMENTS OF POULTRY. **National Research Council (NRC)**. Washington: National Academy Press, 1994. 155 p.

PANISELLO, P. et al. Capillary supply, Wbre types and Wbre morphometry in rat tibialis anterior and diaphragm muscles after intermittent exposure to hypobaric hypoxia. **European Journal of Applied Physiology**, v. 103, n. 2, p. 203-213, 2008.

PAGE, P. Pathophysiology of acute exercise-induced muscular injury: clinical implications. **Journal of Athletic Training**. v. 30, n. 1, p.29-34, 1995.

RAJ, G.D., JONES, R.C. Immunopathogenesis of infection in SPF chicks and commercial broiler chickens of a variant infectious bronchitis virus of economic importance. **Avian Pathology**, v. 25, n. 3, p. 481-501, Sept. 1996.

RANDALL, C.J.; REECE, R.L. Muscular system. In: RANDALL, C.J.; REECE, R.L. **Color Atlas of Avian Histopathology**. London: Mosby-Wolfe, 1996. 10, p. 187-198.

REMIGNON, H. et al. Effects of divergent selection for body weight on three skeletal muscles characteristics in the chicken. **British Poultry Science**, v. 35, n. 1, p. 65-76, 1994.

REMIGNON, H. et al. Selection for rapid growth increases the number and the size of muscle fibres without changing their typing in chickens. **Journal of Muscle Research and Cell Motility**, v. 16, n. 2, p. 95-102, Apr. 1995.

RIDDELL, C. **Avian Histopathology**. 2<sup>th</sup> ed. Pennsylvania: American Association of Avian Pathologists, 1996. 234 p.

SAMS, A.R. e JANKY, D.M. Research note: Simultaneous histochemical determination of three fiber types in single sections of broiler skeletal muscles. **Poultry Science**, v. 69, p. 1433-1436, Aug. 1990.

SANDERCOCK, D.A.; MITCHELL, M.A. Myopathy in broiler chickens: a role for Ca<sup>2+</sup> - activated phospholipase A<sub>2</sub>? **Poultry Science**, v. 82, p. 1307-1312, 2003.



SCHEUERMANN, G.N. **Alteração na quantidade e qualidade da carne de aves através da manipulação das fibras musculares**. São Paulo: Mundo Agro Editora Ltda, 2008. Disponível em: <<http://www.avisite.com.br/cet/trabalhos.asp?codigo=69>>. Acesso em: 25 de maio de 2008.

SHEAR, C.R.; GOLDSPIK, G. Structural and physiological changes associated with the growth of avian fast and slow muscle. **Journal of Morphology**, v. 135, n. 3, p. 351-372, 1971.

SILLER, W.G.; MARTINDALE, L.; WIGHT, P.A.L. Exercise-induced deep pectoral myopathy in broiler fowls and turkeys. **Veterinary Science Communications**, v. 2, p. 331-336, 1978/1979a.

SILLER, W.G.; MARTINDALE, L.; WIGHT, P.A.L. Prevention of experimental deep pectoral myopathy of the fowl by fasciotomy. **Avian Pathology**, v. 8, n. 3, p. 301-307, 1979b.

SIMPSON, C. F., DAMRON, B.L. HARMS, R.H. Toxic myopathy of chicks fed *Cassia occidentalis* seeds. **Avian Diseases**, v. 15, p. 284-290, Apr.-June 1971.

SNYDER, G.K.; COELHO, J.R. Microvascular development in chick anterior *latissimus dorsi* following hypertrophy. **Journal of Anatomy**. v. 162, p. 215-224, Feb. 1989.

SOLA, O.M., CHRISTENSEN, D.L., MARTIN, A.W. Hypertrophy and hyperplasia of adult chicken *anterior latissimus dorsi* muscles following stretch with and without denervation. **Experimental Neurology**, v. 41, n. 1, p. 76-100, 1973.

TOKARNIA, C.H., DÖBEREINER, J. PEIXOTO, P.V. Plantas que causam degeneração e necrose musculares. In: TOKARNIA, C.H., DÖBEREINER, J. PEIXOTO, P.V. **Plantas Tóxicas do Brasil**. Rio de Janeiro: Helianthus, 2000. p. 145-150.

TIMSON, B.F., CHI, M.S., BOWLIN, B.K. The effect of reduced dietary protein on the anterior *latissimus dorsi* muscle fibers in the single comb white leghorn pullet. **Poultry Science**, v. 62, n. 11, p. 2230-2233, 1983.

TREVISOL, I.M et al. Teste de proteção vacinal para uma amostra de bronquite infecciosa isolada de um caso de miopatia frente a amostra de vacina comercial H120. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Suplemento 8. 2006.

UNIÃO BRASILEIRA DE AVICULTURA. **Relatório Anual 2005/2006**. Disponível em: <[http://www.uba.org.br/ubanews\\_files/rel\\_uba\\_2005\\_06.pdf](http://www.uba.org.br/ubanews_files/rel_uba_2005_06.pdf)>. Acesso em: 25 de maio de 2008.

UMEMURA, T. et al. Histopathology of monensin-tiamulin myopathy in broiler chicks. **Avian Pathology**, v. 13, p. 459-467, 1984.

VALENTINE, B.A. & MCGAVIN, M.D. Skeletal Muscle. In: MCGAVIN, M.D. & ZACHARY, J.F. **Pathologic Basis of Veterinary Disease**. 4<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Mosby Elsevier, 2007, p. 996-1039.

VANDEN BERGE, J.C. Myology. In: GETTY, R. **Sisson/Grossman The Anatomy of the Domestic Animals**. 5<sup>th</sup> ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1975, v. 2, 59, 61, p. 1802-1848.

WAGNER, D.D., FURROW, R.D. BRADLEY, B.D. Subchronic toxicity of monensina in broiler chickens. **Veterinary Pathology**, v. 20, n. 3, p. 353-359, 1983.

WIGHT, P.A.L., et al. The induction by muscle stimulation of deep pectoral myopathy in fowl. **Avian Pathology**, v. 8, p. 115-121, 1979.

WIGHT, P.A.L.; SILLER, W.G. Pathology of deep pectoral myopathy of broilers. **Veterinary Pathology**, v. 17, p. 29-39, 1980.

WIGHT, P.A.L., SILLER, W.G., MARTINDALE, L. March gangrene: deep pectoral myopathy, Oregon disease, green muscle disease. Animal model of human disease. **The American Journal of Pathology**, v. 113, n. 1, 1 Apr.1981a.

WIGHT, P.A.L.; SILLER, W.G.; MARTINDALE, L. The sequence of pathological events in deep pectoral myopathy of Broilers. **Avian Pathology**, v. 10, n. 1, p. 57-76, Jan. 1981b.

WINCHESTER, P.K.; GONYEA, W.J. Regional injury and the terminal differentiation of satellite cells in stretched avian slow tonic muscle. **Developmental Biology**, v. 151, n. 2, p. 459-472, 1992.

XU, W. et al. Increased oxidative stress is associated with chronic intermittent hypoxia-mediated brain cortical neuronal cell apoptosis in a mouse model of sleep apnea. **Neuroscience**, v. 126, p. 313-323, May 2004.