



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE ANIMAL

INTOXICAÇÃO NATURAL E EXPERIMENTAL DE EQUINOS POR *Leucaena leucocephala*

MIRNA RIBEIRO PORTO

TESE DE DOUTORADO EM SAÚDE ANIMAL

BRASÍLIA/DF
NOVEMBRO/2016



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE ANIMAL

INTOXICAÇÃO NATURAL E EXPERIMENTAL DE EQUINOS POR *Leucaena leucocephala*

MIRNA RIBEIRO PORTO

ORIENTADOR: MÁRCIO BOTELHO DE CASTRO

TESE DE DOUTORADO EM SAÚDE ANIMAL

BRASÍLIA/DF
NOVEMBRO/2016

Universidade de Brasília

INTOXICAÇÃO NATURAL E EXPERIMENTAL
POR *Leucaena leucocephala* EM EQUINOS.

MIRNA RIBEIRO PORTO

TESE DE DOUTORADO SUBMETIDA AO
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM
SAÚDE ANIMAL, COMO PARTE DE
REQUISITOS NECESSÁRIOS À OBTENÇÃO DO
GRAU DE DOUTOR EM SAÚDE ANIMAL.

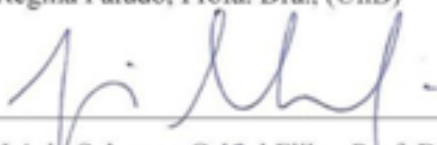
APROVADO POR:



Márcio Botelho de Castro, Prof. Dr., (UnB)



Giane Regina Paludo, Profa. Dra., (UnB)



Sérgio Lúcio Salomon Cabral Filho, Prof. Dr., (UnB)



Juliana Targino Silva Almeida e Macêdo, Profa. Dra., (UnB)



Vanessa da Silva Mustafa, Profa. Dra., (FACIPLAC)

Brasília, 16 de novembro de 2016

REFERÊNCIAL TEÓRICO

PORTO, M. R. Intoxicação natural e experimental por *Leucaena leucocephala* em equinos. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2016, 31p. Tese de Doutorado.

Documento formal, autorizando reprodução desta tese de doutorado para empréstimo ou comercialização, exclusivamente para fins acadêmicos, foi passado pelo autor à Universidade de Brasília e acha-se arquivado na Secretaria do Programa. O autor reserva para si os outros direitos autorais, de publicação. Nenhuma parte desta tese de doutorado pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor. Citações são estimuladas, desde que citada a fonte.

FICHA CATALOGRÁFICA

Porto, Mirna Ribeiro

Intoxicação natural e experimental por *Leucaena leucocephala* em equinos. / Mirna Ribeiro Porto orientação de Márcio Botelho de Castro – Brasília, 2016. 31p. il.

Tese de Doutorado (D) - Universidade de Brasília / Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária.

1. *Leucaena leucocephala*. 2. Intoxicação. 3. Hormônios tireoidianos. 4. Equino. I. Castro, M.B. II. Título.

CDU
Agris/FAO

DEDICATÓRIA

As pessoas que amo e me apoiam, minha família e amigos, em
especial à minha mãe e irmã.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente eu agradeço a Deus pela vida e aos amigos espirituais pela proteção. Agradeço a minha mãe por sempre me incentivar a alcançar cada vez mais e ser minha companhia mais presente. Te amo macaquinha! A minha irmã Marina, meu oposito tão amado. A minha família: tias Marley, Elisa, Vera, Viena e Vani; primos: Kaká, Istanley, Emília, Thaty, Ítalo, Dedé, Jana, Juliano, Pablo e, especialmente, Marcelo (parceiro de infância pelas cervejas); sobrinhos: Pedro, Enzo, Luiza (o pequeno grande amor da minha vida), Lucas (chegue logo!), Lis e Alexandre. Ao Paizão, Mãezona, Carol, Xande e tia Karminha pelo carinho, adoção e amor. Obrigado por serem meu alicerce!

Amigos são a família que nos permitem escolher. E a minha é grande!!! Sem vocês meu mundo seria apagado, sem cor. Obrigada por serem sempre presentes em minha vida: Gugú, Pati, Vini, Anderson, Lucas, Mari, BJ, Pri, Henrique, Silvânia, Andressa, Poli, Marcelo, Thiago, Quati, Marlon, Renato, Filipe, Milena, Stefânia, Aline, Pati, Diogo, Romulo e Lú. Anahi, Fernanda, Tati, Bibiola obrigada pelas risadas, conselhos e discussões de casos digitais e Karlinha, além disso tudo, obrigada pelo apoio técnico. Xú e Amanda pela presença constante, força e palavras extremamente sensatas. Lídia e Wanderson, por sempre acolherem a mim e minha mãe com carinho. Carol Jacob por me cuidar. Binho por ser meu parceiro confiante, desculpe a distância. Carol e Vanessa, irmãs de alma...presentes de Deus! A vocês duas meu muito obrigada por me incentivarem a ser sempre melhor humana e profissionalmente; pela certeza da bronca, conselhos e colo a qualquer hora e lugar; por me aceitarem e amar o que sou.

À minha aluna Daniele e ao Antônio que tanto me ajudaram no projeto. Sem vocês seria muito mais difícil.

Ao meu orientador Márcio, obrigada por acreditar, guiar e ser o responsável direto por essa conquista.

EPÍGRAFE

*“As pessoas costumam dizer que a motivação não dura sempre.
Bem, nem o efeito do banho, por isso recomenda-se diariamente”.*

(Zig Ziglar)

*“Se A é o sucesso, então A é igual a X mais Y mais Z.
O trabalho é X; Y é o lazer; e Z é manter a boca fechada”.*

(Albert Einstein)

*“A Vida é uma peça de teatro que não permite ensaios... Por isso,
cante, ria, dance, chore e viva intensamente cada momento de sua vida... Antes
que a cortina se feche e a peça termine sem aplausos. Um dia sem risada é um
dia desperdiçado”.*

(Charlie Chaplin)

RESUMO

Leucaena leucocephala (leucena) é uma leguminosa de alta qualidade e importância forrageira para a produção animal nos trópicos, apesar da presença do princípio tóxico mimosina nas folhas. Este aminoácido não-protéico tóxico tem o potencial de causar alopecia, emagrecimento, infertilidade, hiperplasia tireoidiana, hipotireoidismo e morte. Sua ação tóxica é descrita desde a década de 50, principalmente em ruminantes, e em 1980, a bactéria ruminal *Synergistes jonesii* foi descoberta e posteriormente distribuída em alguns países como um inóculo oral para superar esses efeitos tóxicos. No entanto, nos últimos tempos, uma série de fatores, incluindo: inquéritos sobre o estado da toxicidade em todo o mundo; melhor compreensão da química; modo de ação das toxinas; taxonomia e ecologia do filo de *Synergistes*; melhores métodos de inoculação e melhores soluções de manejo, além de atividades de extensão de conscientização têm elucidado dúvidas sobre ocorrência e importância da toxicidade em muitos países do mundo. Pesquisas em andamento são vitais para o sucesso futuro dos sistemas de alimentação de leucena. Este trabalho investigou as principais alterações clínicas e dermatopatológicas de equinos intoxicados natural e experimentalmente por *Leucaena leucocephala*. Os surtos ocorreram nos estados de SP e GO, onde seis cavalos após a ingestão de casca e/ ou folhas da planta apresentaram alopecia, principalmente na crina e cauda. Nesses animais o diagnóstico foi baseado na observação da ingestão da planta e dos sinais clínicos. Oito animais foram intoxicados experimentalmente, e neles foram realizados exames clínico, biópsias da pele das regiões de crina, dorso e cauda e feita a dosagem sérica de tri-iodotironina (T3) e tiroxina (T4). Alopecia da crina e cauda foi o principal sinal clínico observado, acompanhado de anorexia, emagrecimento e apatia em todos os animais. Os níveis de T3 e T4 total apresentaram queda significativa ($p \leq 0,05$) na terceira semana de ingestão da leucena quando comparado aos níveis basais. As alterações histológicas observadas nas biópsias de pele demonstram acentuada telogenização dos folículos pilosos ao final dos experimentos. Os achados clínico-patológicos em equinos intoxicados são semelhantes aos observados em ruminantes. A intoxicação experimental de equinos pela planta evidenciou o acentuado declínio dos níveis dos hormônios tireoideanos, sugerindo efeito bociogênico da mimosina e seus compostos derivados, com hipotireoidismo transitório e alopecia devido à acentuada redução da atividade folicular.

Palavras chave: Intoxicação, leucena, alopecia, hipotireoidismo, T3, T4, equino.

ABSTRACT

Leucaena leucocephala (leucaena) is a high quality legumes and forage value for livestock production in the tropics, despite the presence of mimosine the leaves. This non-toxic amino acid protein has the potential to cause alopecia, weight loss, infertility, thyroid hyperplasia, hypothyroidism and death. Its toxic action is described since the 50s, especially in ruminants, and in 80s, ruminal bacteria *Synergistes jonesii* was discovered and subsequently distributed in some countries as an oral inoculum to overcome these toxic effects. However, in recent times, a number of factors, including: survey of the state of toxicity throughout the world; better understanding of chemistry; mode of action of toxins; taxonomy and ecology of synergistetes phylum; best inoculation methods and best management solutions, and awareness outreach activities have clarified doubts about the occurrence and importance of toxicity in many countries. Ongoing research is vital to the future success of leucaena supply systems. This paper investigated the main clinical changes of horses natural and experimentally intoxicated by *Leucaena leucocephala*. Outbreaks occurred in the SP and GO States, where six horses after eating bark and/ or leaves of the plant presented alopecia mainly in mane and tail. In these animals, the diagnosis was based on the observation of plant intake and clinical signs. Eight animals were experimentally intoxicated, clinical examination was performed and skin biopsies taken from mane, back and tail regions and triiodothyronine (T3) and thyroxine (T4) serum levels assayed. Alopecia in the mane and tail was the main clinical signs observed, accompanied by anorexia, weight loss and lethargy in all animals. T3 and total T4 showed significant decrease in the serum levels ($p \leq 0.05$) in the third week of intake of leucaena compared to baseline levels. Marked telogenization of hair follicles at the end of the experiments were observed in skin biopsies. The clinical and pathological findings in intoxicated horses are similar to those observed in ruminant animals. Experimental poisoning of horses by the plant highlights the marked decline in levels of thyroid hormones, suggesting goitrogenic effect of mimosine and its derived compounds, with transient hypothyroidism and alopecia due to accentuated reduction in follicular activity.

Keywords: Poisoning, *Leucaena leucocephala*, alopecia, hypothyroidism, T3, T4, equine.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Capítulo 1.

Figura - 1: <i>Leucaena leucocephala</i>	3
Figura - 2: Mimosina e seus isômeros metabolizados	4
Figura - 3: Metabolismo tireoidiano	6
Figura - 4: Ciclo de crescimento do folículo piloso	8
Figura - 5: Alopecia em ovino e caprino	9
Figura - 6: Alopecia em ponta de cauda bovina	11

Capítulo 2.

Figura - 1: Caule de <i>Leucaena leucocephala</i> e rarefação pilosa de cauda de um equino intoxicado naturalmente	27
Figura - 2: Alopecia de crina e cauda em equino experimentalmente intoxicado por <i>Leucaena leucocephala</i>	27
Figura - 3: Atividades séricas médias e erro padrão da média de T3 e T4 em equinos experimentalmente intoxicados por <i>Leucaena leucocephala</i>	30
Figura - 4: Corte transversal e longitudinal de pele no início e ao final do experimento	31

LISTA DE TABELAS, QUADROS E GRÁFICOS

Quadro 1: Principais sinais clínicos em equinos com ingestão experimental	28
Quadro 2: Avaliação histopatológica da fase pilosa em biópsias de pele de equinos durante o período experimental	29

LISTA DE ABREVIATURAS E ACRÔNIMOS

Cu - cobre

DHP - dihidroxi piridina

Fe - ferro

HPLC - cromatografia líquida de alta eficiência

m - metro

RNA – ácido ribonucleico

RNA_m - RNA mensageiro

T3 - triiodotironina

T4 - tiroxina

TRH – hormônio liberador da tireotrofina

TSH - hormônio tireoestimulante

Zn - zinco

SUMÁRIO

CAPITULO 1

INTOXICAÇÃO POR <i>Leucaena leucocephala</i> NOS ANIMAIS DOMÉSTICOS	
INTRODUÇÃO	2
<i>Leucaena leucocephala</i>	2
PRINCIPIO TÓXICO	4
ASPECTOS FISIOPATOLÓGICOS DA TIREÓIDE	5
CICLO PILOSO	7
ESPÉDIES SUSCEPTÍVEIS	8
SINAIS CLÍNICOS	8
DIAGNÓSTICO E DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL	9
TRATAMENTO E PROFILAXIA	10
CONCLUSÃO	12
HIPÓTESE	13
JUSTIFICATIVA	13
OBJETIVO	14
GERAL	14
ESPECÍFICO	14
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	15

CAPITULO 2

INTOXICAÇÃO NATURAL E EXPERIMENTAL POR <i>Leucaena leucocephala</i> EM EQUINOS	
RESUMO	17
INTRODUÇÃO	18
MATERIA E MÉTODOS	18
RESULTADOS	20
DISCUSSÃO	21
CONCLUSÕES	24
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	25

CAPITULO 1

INTOXICAÇÃO POR *Leucaena leucocephala* NOS ANIMAIS DOMÉSTICOS: REVISÃO

INTRODUÇÃO

Na produção animal, as maiores preocupações são o estado sanitário e a alimentação. Na época da seca, o nível proteico das pastagens baixa substancialmente, tanto pela maturação das gramíneas, quanto pelo desaparecimento das leguminosas nativas (Lima & Evangelista 2001). Esta deficiência pode ser suprida por concentrados proteicos, fonte de nitrogênio não-proteico, como ureia, e leguminosas. Os concentrados, em geral, têm alto custo e o nitrogênio não-proteico, quando fornecido sem boa fonte energética ou sem adaptação adequada apresenta resultado controverso. Já as leguminosas entram como uma alternativa economicamente viável, principalmente porque podem ser produzidas ou estarem consorciadas com as gramíneas do pasto ou em áreas isoladas, como bancos de proteína, na propriedade (Lima & Evangelista. 2001, Santana et al. 2015)

Leucaena leucocephala, conhecida comumente por leucena, é uma leguminosa arbórea, da família Leguminosae, sub-família Mimosoideae, originária da América Central e atualmente disseminada por toda região tropical devido as suas inúmeras utilidades (forragem, produção de madeira, carvão vegetal, melhoramento do solo, sombreamento, cerca-viva e outras) (Oliveira et al. 2009). Essa planta tem se mostrado uma das leguminosas mais promissoras para suplementação protéica por apresentar perenidade, baixa exigência quanto ao solo, rápida dispersão, excelente palatabilidade e digestibilidade, elevada produtividade e qualidade (Sá 1997, Lima & Evangelista 2001, Almeida et al. 2006, Oliveira Jr. et al. 2009), além de ser resistente à geada (Tokarnia et al. 2012).

Porém, a leucena pode provocar intoxicação quando consumida exageradamente (> 30% da dieta) (Halliday et al. 2013). O uso limitado como forrageira exclusiva na alimentação animal ocorre devido pela presença da substância mimosina na planta, um aminoácido não-proteico com potencial poder alopécico, principalmente nas regiões da cabeça, pescoço e inserção da cauda e por causar, menos frequentemente, sinais clínicos como catarata, atrofia de gengiva, ulcerações na língua e esôfago, bócio, infertilidade, aborto e perda de peso. Microscopicamente observa-se

acentuada telogenização (fase de repouso) e atrofia dos folículos pilosos (Tokarnia et al. 2012, Almeida et al. 2006, Oliveira Jr. et al. 2009, Halliday et al. 2013).

Mecanismos patogênicos ainda estão obscuros, mas sabe-se que os efeitos adversos são atribuídos aos metabólitos desta toxina após sua degradação ruminal, sendo a forma mais tóxica o metabólito denominado 3,4 dihidroxi-piridina (DHP), que se atribuiu o efeito bociogênico, e a forma menos tóxica o composto 2,3 DHP. A molécula da mimosina é morfologicamente análoga à tirosina, que reduz a biossíntese de metionina em cistina durante a fase anágena do folículo piloso, causando alopecia (Hylin 1969).

No Brasil a intoxicação natural por *Leucaena leucocephala* foi descrita em ovinos na Paraíba, em caprinos no Rio de Janeiro e em um equino no Espírito Santo, e experimentalmente em ovinos e coelhos (Riet-Correa et al. 2004, Peixoto et al. 2008, Oliveira Jr. et al. 2009, Tokarnia et al. 2012). Em outros países, surtos foram descritos em bovinos, ovinos, suínos e equinos, e reproduzidos em bovinos, ovinos, caprinos, ratos, camundongos, aves, coelhos e suínos (Tokarnia et al. 2012).

Leucaena leucocephala

A leucena (*Leucaena leucocephala*) (Fig. 1) é um arbusto ou árvore com altura de 5 a 18m com grande diversidade de uso e que tem recebido atenção como opção para plantio nos trópicos. Tem origem na América Central, com algumas variedades arbustivas utilizadas especialmente para produção de forragem e adubação verde. São encontradas, também outras variedades que são mais adequadas para produção de lenha, carvão, celulose e madeira. Ambos os grupos de variedades formam simbiose eficiente com bactérias do gênero *Rhizobium* em nódulos produzidos nas raízes, podendo utilizar o nitrogênio contido na atmosfera reduzindo, dessa forma, a necessidade de adubação nitrogenada (Lima & Evandelista 2001, Barreto et al. 2010).

As leucenas diferem grandemente em porte, sendo conhecidas mais de cem variedades que são agrupadas em três tipos. O tipo Havaii (Acapulco ou Comum) é arbustivo e usado como pastagem ou cortado para forragem; o tipo Perú é arbóreo, bem ramificado na base e também usado para pastagem; o tipo Salvador, também arbóreo, porém mais alto e com tronco pouco ramificado, é aproveitado para obtenção de lenha e polpa, e com manejo adequado pode ser utilizado como forrageira (Lima & Evandelista 2001, Tokarnia et al. 2012).

Essa leguminosa é uma das forrageiras mais promissoras para regiões tropicais, principalmente pela capacidade de rebrota mesmo durante a época seca, pela ótima adaptação às condições de solo e clima e pela excelente aceitação pelos animais. A leucena consegue manter-se verde na estação seca, perdendo somente os folíolos em secas muito prolongadas ou com geadas fortes (Santana et al. 2015). É uma espécie exigente em relação à adubação com fósforo, molibdênio e zinco e apresenta crescimento limitado em altitudes acima de 500m. (Lima & Evandelista 2001).



Fig. 1. Árvore de *Leucaena leucocephala*. Vargem Bonita, Brasília, 2016.

É uma planta de alto valor nutritivo, com alto índice protéico, boa digestibilidade, perenidade e palabilidade, apresentando características semelhante à alfafa, considerada a melhor forrageira do mundo. O teor de proteína bruta na fração folhas mais vagens situa-se entre 21% e 23% e nas hastes finas varia de 8% a 10%. A proteína da leucena possui alto valor nutricional, pois os aminoácidos encontram-se em proporções adequadamente balanceadas. É rica em beta caroteno precursor da vitamina A, o que tem vital importância na época seca, quando o pasto geralmente está seco e a leucena apresenta-se verde, além de possuir altos teores de riboflavina e vitamina K. Mantém alto valor nutritivo, tanto sob a forma de forragem verde quanto na forma de silagem ou feno, tendo até 25,9% de proteína bruta, 2,36% de cálcio e 0,23% de fósforo (Barreto et al. 2010).

Para a alimentação animal a leucena pode ser fornecida em cocho com corte das hastes finas,

folhas e vagens; para pastagem, formando faixas do arbusto, não ultrapassando 30% quando consorciada com a forrageira do piquete; ou sob pastejo controlado e estratégico em áreas cultivadas exclusivamente com leguminosas (bancos de proteína). Ela ainda pode ser fornecida como silagem ou feno (Lima & Evangelista 2001).

Seu valor como forrageira, entretanto, tem sido limitado devido à presença de mimosina, substância tóxica para ruminantes e, especialmente, não ruminantes, tendo ação alopecica (Tokarnia et al. 2012). A introdução da leucena como ração para ruminantes deve ser gradativa, não devendo ultrapassar 30% da dieta (Lima & Evangelista 2001) ou 0,015% do peso do animal (Halliday et al. 2013). Este problema pode ser facilmente resolvido retirando-a da dieta dos animais.

PRINCÍPIO TÓXICO

A mimosina (β -[N-(3-hidroxi-4-oxopiridil)]- α -ácido aminopropiônico) (Fig. 2) é uma substância não bociogênica, mas com efeito depilatório (Jones 1895) e anti-mitótico que inibe a síntese de DNA, principalmente de células de rápida divisão, e, por isso, pode causar lesão em órgãos internos (Halliday et al. 2013). Estruturalmente, a mimosina é um análogo da tirosina (Hegarty et al. 1964), capaz de inibir a ação das enzimas tirosina-decarboxilase e tirosinase (Crouse et al. 1962). A inibição destas enzimas nos bulbos foliculares, juntamente com a incorporação de mimosina em proteínas biologicamente vitais (Tsai & Ling 1971), pode resultar em perda de pelos em crescimento ativo. A mimosina também é um potente inibidor de cistationina sintase e cistationase, enzimas importantes na biosíntese da metionina em cistina. A diminuição da síntese de proteínas pilosas a partir da cistina pode reduzir ou cessar o crescimento dos pelos (Hylin 1969). Segundo Jones (1985), esse aminoácido ocorre em todas as partes de planta, variando de 8 - 10% nas pontas dos brotos e menos de 1% em folhas e favas secas.

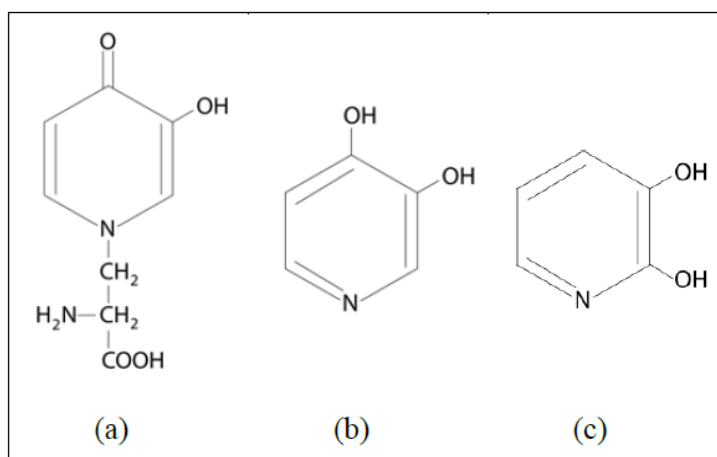


Fig. 2. Mimosina (a) e seus isômeros metabolizados no rúmen 3,4-DHP (b) e 2,3-DHP (c) (Halliday et al. 2013).

Os sinais clínicos (alopecia, lesões oroesofágicas, abortos, infertilidade e, até, morte) associados à intoxicação por leucena são causados tanto pela mimosina, como por seus metabólitos primários: 3,4-di-hidro-piridina (DHP) e 2,3-DHP (Fig. 2). Em ruminantes, a mastigação com saliva alcalina, e especialmente a incubação no rúmen, levam à degradação da mimosina para 3,4-DHP (Hegarty et al. 1976, Megarrity & Jones 1983), que, na presença de certos microrganismos ruminais, pode ser ainda convertido para o seu isômero 2,3- DHP (Megarrity & Jones 1983, Allison et al. 1989). Mesmo tendo estruturas similares, essas toxinas são responsáveis pelas diferentes apresentações clínicas e subclínicas da intoxicação (Hegarty et al. 1976, Halliday et al. 2013).

O DHP é considerado o responsável pela ação bociogênica em animais que se alimentam da planta (Hegarty et al. 1976; Holmes et al. 1981; Halliday et al. 2013). A ação bociogênica é devido a sua atividade antiperoxidase. Ao inibir a peroxidase essencial e reações catalisadas pela enzima lactoperoxidase, a iodação da tirosina na etapa de ligação na tireóide é inibida. Este passo é crucial para a síntese de hormônios da tireóide, tais como a triiodotironina (T3) e tiroxina (T4), resultando em níveis reduzidos de T4, levando à hiperplasia da tireóide (bócio). Estudos mostraram também que administrações de DHP intravenoso aumenta a absorção de iodo na tireóide hiperplásica, confirmando os efeitos antitireóide de DHP. A redução de T3 e T4 sérico causa diminuição de apetite, e, conseqüentemente, perda de peso (Halliday et al. 2013). Em herbívoros não-ruminantes, até o momento, não se conhece a formação de 3,4-DHP no ceco a partir da ingestão de mimosina (Malafaia et al, 1994).

ASPECTOS FISIOLÓGICOS DA TIREÓIDE

A regulação da função tireoidiana é por *feedback* negativo do hormônio tireoestimulante (TSH) e do hormônio liberador da tireotrofina (TRH) (Figura 3). Quando há aumento da concentração plasmática de T3 e T4, inibe-se a liberação de TSH pela hipófise. O TRH, produzido pelo hipotálamo, tem a função de liberar o TSH através da ação do eixo mastócito-hipotálamo-hipófise anterior-tireóide. O excesso de lípedes, principalmente o colesterol, estimula a degranulação dos mastócitos, que ao liberarem histamina (e outros agentes), desencadeiam a liberação de TRH através do sistema venoso portal hipotálamo-hipófise, estimulando a adeno-hipófise a liberar o TSH. O TSH estimula a captação do iodeto plasmático pela bomba de iodeto (da membrana basal dos folículos tireoidianos) que será oxidado (tirosina) e com a ação da peroxidase (nas células foliculares) é convertida em tireoglobulina, sendo armazenada no colóide folicular. Novamente nas células foliculares, a tireoglobulina sofre hidrólise pelas enzimas lisossomais, liberando T3 e T4 no sangue. Na célula de ação a T3 tem alta afinidade pelo receptor nuclear, ligando-se logo a ele e a T4 passa por uma deiodação prévia pela ação da enzima tiroxina-deiodase, localizada na membrana

celular, quebrando-a em T3. No núcleo a T3 se liga ao elemento responsivo da tireóide (TRE), ocorrendo a síntese de RNA mensageiro (RNAm), que determinará a síntese e liberação de proteínas pela célula alvo. Através destes mecanismos gerais expressa-se um número grande de ações, afetando todo o organismo, agindo desde o metabolismo basal, pela variação no consumo de oxigênio, até na pele e pelos, alterando seu espessamento e resistência (Figura 3) (Douglas & Douglas 2006, Breuhaus 2009).

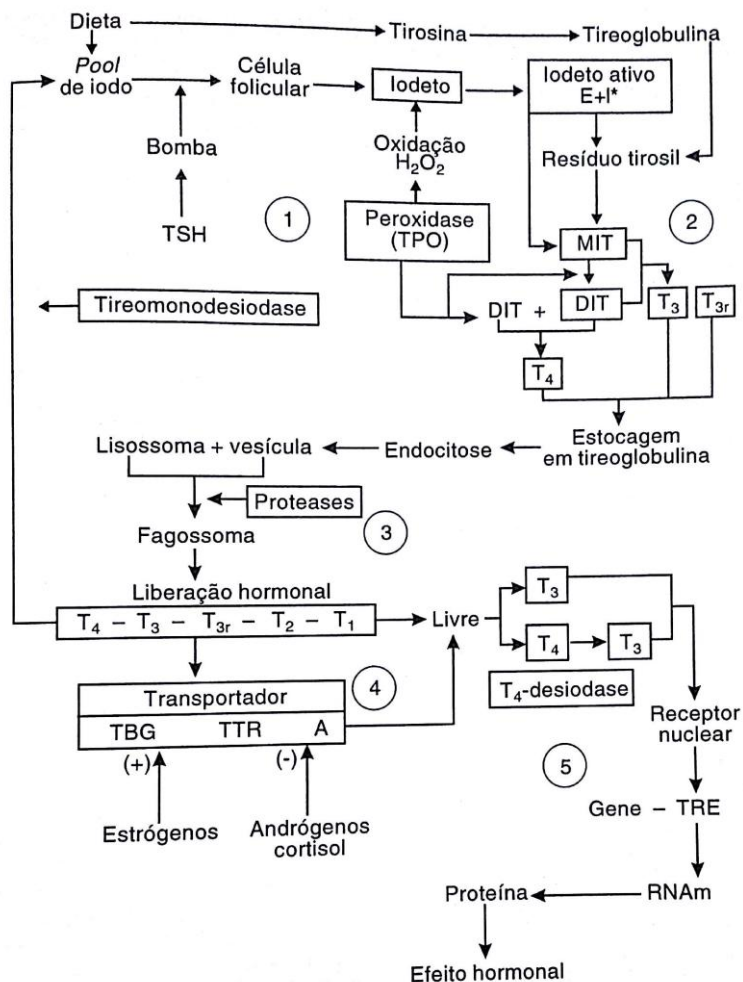


Fig. 3. Metabolismo tireoidiano. Mecanismos desde o influxo de iodo até a expressão fenotípica de T3 e T4. MIT: monoiodotirosina; DIT: diiodotirosina; TGB: globulina ligante de tiroxina; TTR: transtirretina; TRE: elemento de resposta do hormônio tireoidiano (Douglas & Douglas 2006).

Quando há carência ou inibição da peroxidação de iodo há redução na produção dos hormônios tireoidianos (hipotireoidismo), levando a um aumento compensatório da secreção de TSH, que estimula a glândula tireóide com hiperplasia das células foliculares, provocando surgimento do bócio (Jubb et al. 2007). Estudos com intoxicação por *L. leucocephala* demonstraram que o DHP, além de bociogênico, também afeta a produção de T3 e T4 em ovinos (Little & Hamilton 1971), bovinos (Jones et al. 1978, Holmes 1981, Holmes et al. 1981) e em

camundongos (Hegarty et al. 1976). O decréscimo de iodo devido à DHP afeta a capacidade de acúmulo de saliva nas glândulas salivares, causando sialorreia após exposição prolongada à leucena (Jones et al, 1978).

Ambos os isômeros (3,4 e 2,3-DHP) também se ligam fortemente aos íons de zinco (Zn), cobre (Cu) e ferro (Fe) principalmente, levando à maior excreção e depleção destes minerais. A deficiência de Zn leva ao surgimento de lesões cutâneas, aumento da salivação, crescimento anormal do cabelo e pode ser responsável pela inibição da replicação de DNA, afetando adversamente a espermatogênese (Perry et al. 2005). A quelação de minerais essenciais é um importante efeito tóxico de DHP. A presença de deficiências nutricionais pode acelerar e agravar a manifestação dos sinais clínicos na intoxicação por *L. leucocephala* (Halliday et al. 2013).

Na Indonésia e no Haváí não há ocorrência de intoxicação em bovinos que consomem leucena. Na década de 1980 foi descoberta uma bactéria específica gram-negativa, *Synergistes jonesii*, presente nos pré-estômagos de ruminantes dessas regiões, sugerindo metabolização completa do DHP (Jones et al. 1985). Posteriormente, estirpes dessa bactéria foram distribuídas na Austrália como um inóculo por via oral para superar esses efeitos tóxicos (Hammond 1995). Porém, estudos recentes demonstraram incapacidade de degradação do DHP pela transferência da bactéria em vacas e cabras em um período de 10 dias (Graham et al. 2013, Halliday et al. 2013). Estas descobertas recentes contrastam com trabalhos anteriores, em que transferência de fluido ruminal resultou em degradação completa do DHP no prazo de 5 dias na Indonésia (Jones & Lowry 1984) e dentro de 3 dias na Tailândia (Palmer et al. 2010).

Outra situação altamente anômala é que ruminantes de regiões tropicais consomem cronicamente grandes quantidades de leucena e excretam altas concentrações de DHP na urina sem quaisquer sintomas clínicos aparentes de toxicidade (Halliday et al. 2013), incluindo nenhuma indicação de bócio (Palmer et al. 2010). As razões para isso não são compreendidas, mas podem ser devido à conjugação química das toxinas, reduzindo a sua toxicidade (Halliday et al 2013).

CICLO PILOSO

O ciclo de crescimento (Fig. 4) de um pelo consiste em três fases sucessivas: a fase de crescimento (anágena), a fase de transição (catágena) e a fase de repouso (telógena). Na anágena as bainhas radiculares interna e externa se apresentam completamente desenvolvidas, sem sinais de apoptose na bainha radicular externa. A catágena apresenta espessamento da membrana basal ou células apoptóticas ao nível da bainha radicular externa e a telógena há enrugamento da bainha

radicular interna e queratinização do canal do pelo (Mulinari-Brenner et al. 2006). Microscopicamente, a intoxicação por leucena leva à telogenização dos folículos, impedindo a renovação pilosa (Malafaia et al. 1994, Riet-Correa et al. 2004, Almeida et al. 2006).

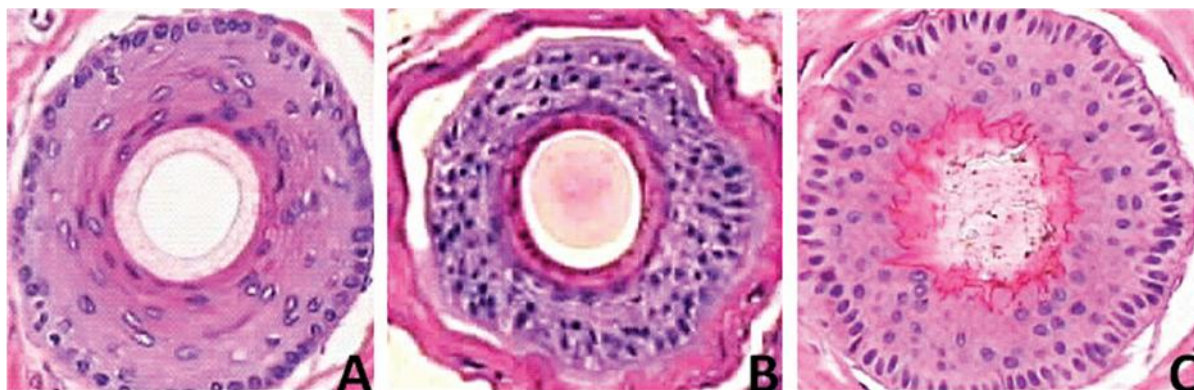


Fig. 4. Fases foliculares. **A**- Fase anágena. **B**- Fase catágena. **C**- Fase telógena (Mulinari-Brenner et al. 2006).

ESPÉCIES SUSCEPTÍVEIS

No Brasil a intoxicação natural por *Leucaena leucocephala* foi descrita em um ovino na Paraíba (Riet-Correa et al. 2004), em um caprino no Rio de Janeiro (Peixoto et al. 2008). Experimentos foram realizados com ovinos (Almeida et al. 2006) e coelhos (Malafaia et al. 1994). Em outros países, surtos foram descritos em bovinos, ovinos e suínos (Mullenax 1963). E reproduzidos em bovinos (Holmes 1981), ovinos, caprinos, ratos, camundongos, aves, coelhos e suínos (Tokarnia et al. 2012). A intoxicação por leucena em equinos é praticamente desconhecida em todo o mundo (Mullenax 1957). No Brasil o único relato foi baseado nos sinais clínicos em um equino no Espírito Santo (Oliveira Jr. et al. 2009).

SINAIS CLÍNICOS

A alopecia é o sinal clínico mais comumente relatado na intoxicação por leucena, tanto em ruminantes como em não ruminantes. Em não ruminantes, altos níveis de leucena na dieta resultam em anorexia, emagrecimento, baixa fertilidade, abortos, desprendimento dos cascos e morte. Em ruminantes o quadro clínico se caracteriza por anorexia, salivação excessiva, ataxia, hiperplasia da tireóide, hipotireoidismo, úlceras na língua e no esôfago, fertilidade reduzida, neonatos pequenos e com bócio (Almeida et al. 2006, Oliveira Jr. et al. 2009, Tokarnia et al. 2012).

Em cavalos há queda de pelos principalmente na crina e na cauda (Tokarnia et al. 2012).

Bovinos intoxicados por *L. leucocephala* apresentaram principais áreas alopécicas no prepúcio, na cauda e na cernelha (Jones et al. 1978). Em ovinos com a toxicose, a alopecia é marcante na cabeça, pescoço (Fig. 5A) e parte anterior do corpo (Riet-Correa et al. 2004, Almeida et al. 2006), em caprinos, na região lateral do corpo (Fig. 5B) (Reis et al. 1998) e em coelhos, afeta a região inguinal, cauda e abdômen (Malafaia et al. 1994).

A perda de pelos ocorre com 3 a 20 dias de ingestão da leguminosa (Riet-Correa et al. 2004, Almeida et al. 2006, Oliveira Jr. et al. 2009), mas os efeitos são irregulares e reversíveis (Lima & Evangelista, 2001). O restabelecimento do crescimento dos pelos é mais rápido quanto mais cedo for interrompido o consumo da planta, mas a literatura descreve a recuperação de pelagem entre 15 (Oliveira et al, 2009) e 17 dias após a retirada da planta (Almeida et al, 2006). Nenhuma das bibliografias consultadas descrevem a razão na variação entre os principais locais de alopecia nas espécies intoxicadas por *L. leucocephala*.

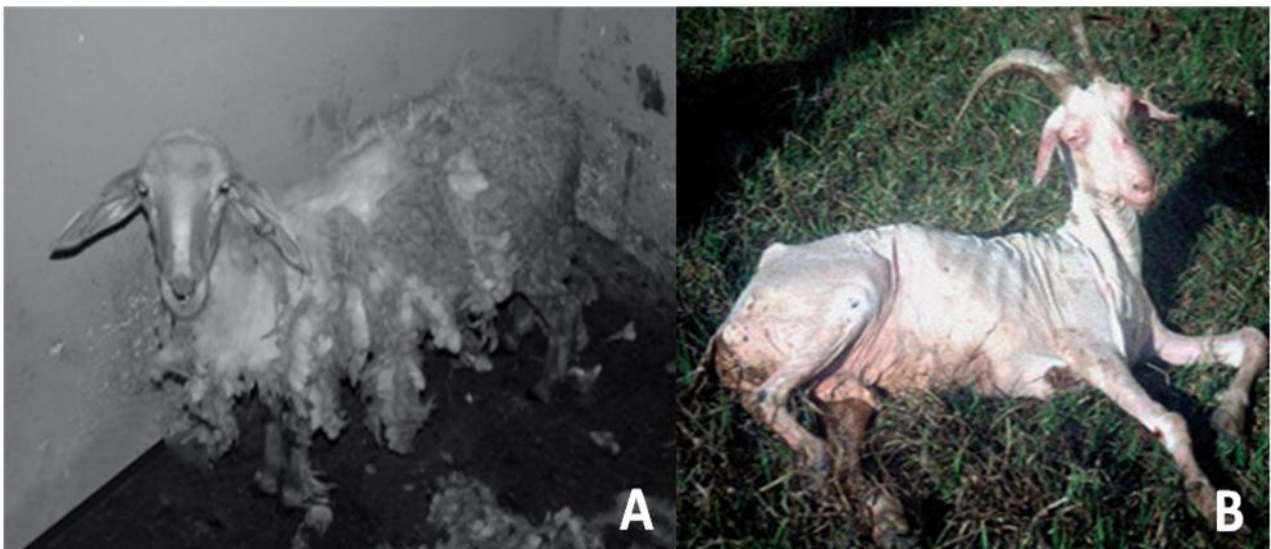


Fig. 5- A. Ovino. Áreas de alopecia na região do pescoço e dorso por intoxicação experimental (Almeida et al 2006). B. Caprino. Marcada alopecia e emaciação por ingestão espontânea de *L. leucocephala* (Reis, et al. 1999).

DIAGNÓSTICO E DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

O histórico de alopecia em animais que ingerem leucena é o dado mais importante em qualquer espécie. Em regiões onde os ruminantes não têm a bactéria que degrada o DHP, altos níveis desta substância são encontrados na urina, enquanto que níveis séricos de tiroxina estão reduzidos (Riet-Correa et al. 2004, Tokarnia et al. 2012).

Entender a toxicidade do DHP e utilizar métodos eficazes para detectar intoxicação subclínica é vital para a gestão produtiva de animais alimentados com leucena. Existem várias

abordagens possíveis para detecção de toxicidade, porém o método mais eficaz é ensaio de urina para DHP (Phaikaew et al. 2012). A análise por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) de urina é atualmente o método mais preciso para medir a toxicidade da DHP, porém a necessidade de amostragem de muitos animais para análise torna o ensaio economicamente inviável (Dalzell et al. 2012).

Outra alternativa é usar a dosagem sérica de T4 e T3 como um indicador de toxicidade do DHP (Ghosh et al. 2007). As alterações nos níveis de tiroxina ocorrem após exposição crônica, com considerável variação entre os animais. Do mesmo modo, o desenvolvimento do bócio em resposta à depressão dos hormônios tireoidianos é também um efeito cumulativo de longo prazo. Por conseguinte, estes métodos não são um indicador viável de toxicidade aguda (Halliday et al. 2013).

É importante diferenciar a intoxicação pela leguminosa de outras dermatoses alopécicas nas espécies acometidas, como nos casos de intoxicação por *Ramaria flavo-brunnescens* (Fig. 6), intoxicação por selênio, hipotireoidismo por deficiência ou intoxicação crônica por iodo, eflúvio piloso, reações imunológicas (atopia, alopecia areata, reações à drogas, etc), doenças infecciosas (dermatofilose e dermatofitose) e parasitárias (Jubb et al. 2007).

TRATAMENTO E PROFILAXIA

Em geral, a intoxicação por *L. leucocephala* não tem necessidade de tratamento. As manifestações clínico-patológicas são reversíveis, desde que suspensa a ingestão da planta (Tokarnia et al. 2012). Animais com aumento da tireóide não apresentam melhora do quadro com a suplementação de iodo, pois o DHP interfere na ligação orgânica desse íon e não no mecanismo de absorção de iodo na glândula (Jones et al. 1978, Tokarnia et al. 2012). Assim como a administração de tiroxina não neutraliza os demais efeitos tóxicos em ruminantes, pois a ação bociogênica do DHP é responsável por parte na toxicidade da leucena (Megarrity & Jones 1983).

A fim de evitar os efeitos adversos da intoxicação recomenda-se suplementar com o máximo de 10% de leucena na dieta de suínos e aves (Jones et al. 1985). Dietas com até 30% da planta para consumo crônico e com 40-50% até três meses de ingestão são seguras para ruminantes na Austrália (Jones & Hegarty 1986, Jones et al. 1985). Já na Índia e no Havaí dietas com até 100% de leucena e suplementação mineral não causam problemas importantes em ruminantes, pois o rebanho tem uma bactéria, *Synergistes jonesii*, que degrada completamente o DHP (Jones et al. 1985, Jones & Megarrity 1986).

A inoculação dessa bactéria em ruminantes susceptíveis, mesmo apresentando menor efeito protetivo em estudos recentes (Graham et al. 2013, Halliday et al. 2013), pode prevenir o hipotireoidismo e os outros sinais associados à toxicose pela leucena (Hammond et al. 1989, Allison et al. 1990, Megarrity & Jones 1983, Jones & Megarrity 1986).

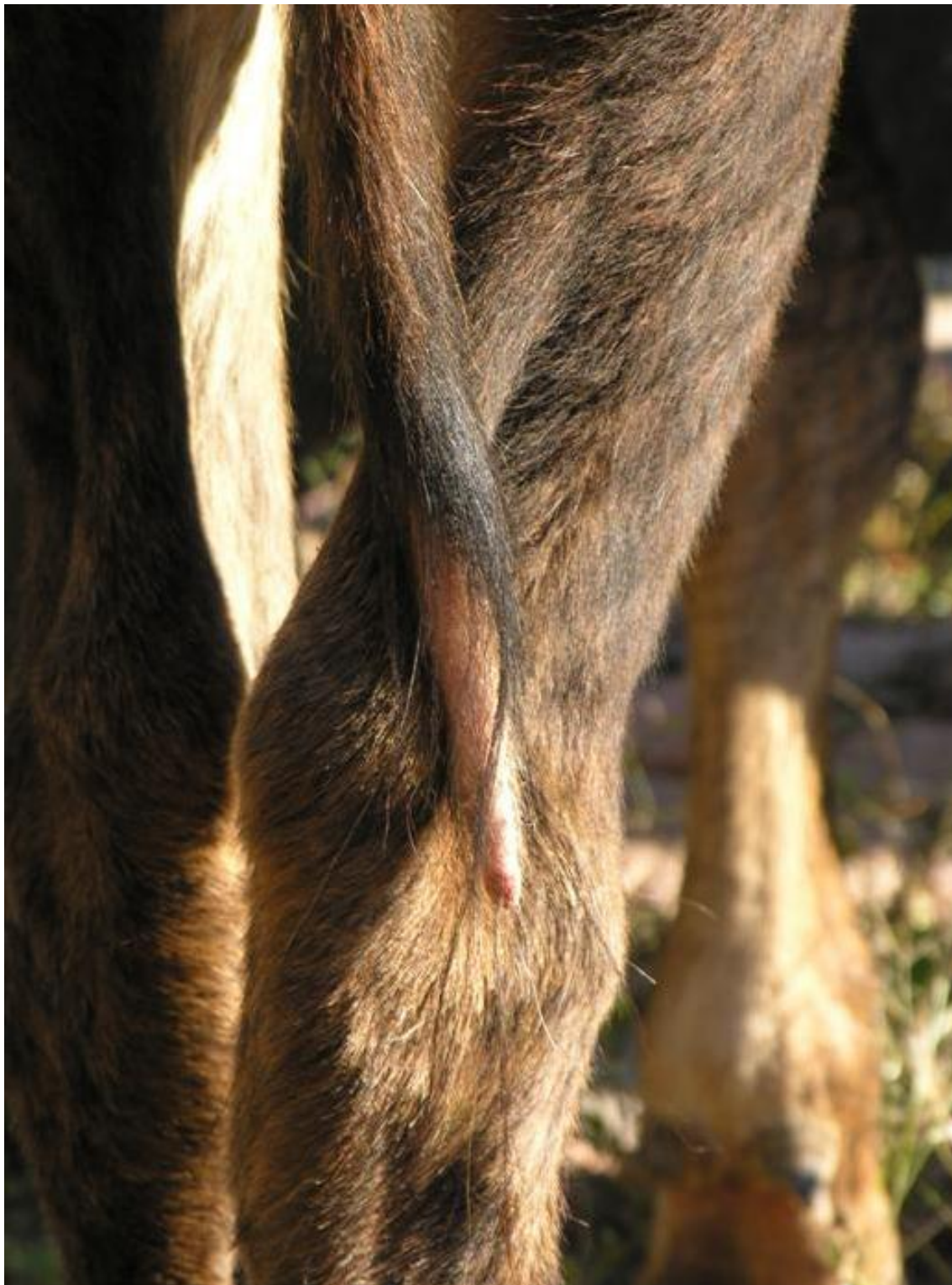


Fig. 6- Bovino. Alopecia da ponta da cauda em intoxicação experimental pelo cogumelo *Ramaria flavo-brunnescens*. Lesão alopécica semelhante à intoxicação por *Leucaena leucocephala* em bovinos (Barros et al. 2006).

CONCLUSÃO

Leucaena leucocephala tem potencial tóxico para bovinos, ovinos, caprinos, suínos, aves, roedores e equinos. Porém, a variação na severidade, tempo de início e apresentação dos sinais clínicos para cada espécie não é muito bem elucidada. Alopecia com marcada telogenização dos folículos pilosos é a alteração comum à todas as espécies de animais domésticos. Este fato é associado tanto à ação direta da mimosina, como, também, à toxicidade do seu metabólito DHP. A degradação da mimosina em 3,4-DHP pelas bactérias ruminais é associada ao efeito bociogênico e hipotireoidiano na intoxicação crônica em ruminantes pela leucena. Até o presente, não há estudo dessa degradação no ceco de herbívoros monogástricos e, tão pouco, se há alteração tireoidiana nessas espécies.

Para pleno aproveitamento das vantagens da leucena como forrageira, há necessidade de um conhecimento mais profundo do seu potencial tóxico e das condições em que ocorre a intoxicação, além de obter meios eficientes de detoxicação e/ou adaptação no intuito de otimizar a produção animal e eliminar o efeito prejudicial da intoxicação.

HIPÓTESE

Apesar de estudos realizados com ruminantes (Almeida et al. 2006, Riet-Correa et al. 2001) e coelhos (Malafaia et al. 1994), em equinos não há descrição de estudo experimental de intoxicação por leucena, somente relato de intoxicação natural em um animal (Oliveira Jr. et al. 2009). Visando contribuir com as informações na literatura, o objetivo desse projeto é induzir e caracterizar melhor a intoxicação por *Leucaena leucocephala* em equinos.

JUSTIFICATIVA

Leucaena leucocephala é uma leguminosa de ampla distribuição nacional, muito utilizada na alimentação de ruminantes nas regiões tropicais e subtropicais (Riet-Correa et al. 2004, Halliday et al. 2013). É uma planta de alto valor nutritivo, com alto índice protéico, de boa digestibilidade, perenidade e palabilidade, porém seu consumo exagerado pode levar a um quadro de intoxicação, acarretando prejuízos econômicos devido à redução na produtividade ou morte dos animais pela presença da mimosina em sua composição (Jones et al. 1978, Almeida et al. 2006). O estudo da toxicose pela leucena em equinos possibilitará melhor compreensão da sua patogênese a partir da caracterização dos aspectos clínicos, dermatopatológicos e níveis T4 e T3 na intoxicação experimental de equinos por *Leucaena leucocephala* e da descrição de surtos de intoxicação natural na espécie.

OBJETIVOS

Geral

O objetivo deste trabalho consiste em caracterizar as alterações clínicas, dermatopatológicas e dos níveis séricos dos hormônios tireoideanos em equinos intoxicados natural e experimentalmente por *Leucaena leucocephala*.

Específico

- Comparar a intoxicação natural e experimental de *Leucaena leucocephala* em equinos;
- Avaliar as alterações clínicas associadas à toxicidade da leucena em equinos;
- Verificar níveis de T3, T4 total e T4 livre séricos em equinos intoxicados por *L. leucocephala*;
- Avaliar os efeitos tóxicos da ingestão de *L. leucocephala* na pele de equinos;

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Allison, M.J., Hammond, A.C., Jones, R. J. 1990. Detection of ruminal bacteria that degrade toxic dihydroxy-pyridine compounds produced from mimosine. *Appl. Environ. Microbiol.* 56: 590-594.
- Almeida, A.P.M.G., Kommers, G. D., Nogueira, A. P. A., Júnior, L. G. B., Prado Marques, B. M. F., Lemos, R. A. A. 2006. Avaliação do efeito tóxico de *Leucaena leucocephala* (Leg. Mimosoideae) em ovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 26(3): 190-194.
- Barreto, M.L.J., et al. 2010. Utilização da Leucena (*Leucaena Leucocephala*) na Alimentação Ruminantes. *Rev. Verde Agroecol Des Sust* 5: 7-16.
- Barros, R.R., Irigoyen, L.F., Kommers, G.D., Rech, R.R., Fighera, R.A., Barros, C.S.L. 2006. Intoxicação por *Ramaria flavo-brunnescens* (Clavariaceae) em bovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 26:87-96.
- Breuhau, B.A. 2009. Thyroid glands, p. 1347-1351. In Smith, B.P. (ed.) *Large Animal Internal Medicine*. Mosby Elsevier, St. Louis. 1821p.
- Crouse, R.G., Maxwell, J.D., Blank, H. 1962. Inhibition of growth of hair by mimosine. *Nature* 194:694-695.
- Dalzell, S.A., Burnett D.J., Dowsett J.E., Forbes V.E., Shelton H M. 2012. Prevalence of mimosine and DHP toxicity in cattle grazing *Leucaena leucocephala* pastures in Queensland. *Anim. Prod. Sci.* 52:365-372.
- Douglas, N.A. & Douglas, C. R. 2006. Fisiologia da glândula tireóide in *Trat. Fisiol. Aplic. Ciên. Méd. Rio de Janeiro:Guanabara Koogan.* 6:1043-1061.
- Ghosh, M. K., Samiran B. 2007. Mimosine toxicity – a problem of *Leucaena* feeding in ruminants. *Asian J. Anim. Vet. Adv.* 2: 63-73.
- Graham, S.R., Dalzell, S.A., Nguyen, T.N., Davis, C.K., Greenway, D., McSweeney, C.S., Shelton, H.M. 2013. Efficacy, per-sistence and presence of *Synergistes jonesii* inoculum in cattle grazing leucaena in Queensland: On-farm observations pre- and post-inoculation. *Anim. Prod. Sci.* 53 (10) 1065-1074.
- Halliday, M.J., Padmanabha, J., Mcsweeney, C., Kerven, G., Shelton, H.M. 2013. Leucena toxicity: a new perspective on the most widely used forage tree legume. *Trop.Grassl.-Forraj. Trop.* 1:1-11.
- Hammond, A.C., Allison, M.J., Williams, M.J., Prine, G.M. and Bates, D.B. 1989. Prevention of leucaena toxicosis of cattle in Florida by ruminal inoculation with 3-hydroxy-4-(1H)-pyridone-degrading bacteria, *Am. J. Vet. Res.* 50: 2176-2180
- Hammond, A.C. 1995. Leucaena toxicosis and its control in ruminants. *J. of Anim.Sci.* 73:1487-1492.
- Hegarty, M.P., Schinkel, P.G., Court, R.D. 1964. Reaction of sheep to consumption of *Leucaena glauca* Benth. And to its toxic principle. *Aust. J. agric. Res.* 15: 153.
- Hegarty, M.P., Court, R.D., Christie, G.S., Lee, C.P. 1976. Mimosine in *Leucaena leucocephala* is metabolized to a goitrogen in ruminants. *Aust. Vet. J.* 52:490.
- Holmes, J.H.G. 1981. Toxicity of *Leucaena leucocephala* for steers in the wet tropics. *Trop. Anim. Health Prod.* 13:94-100.
- Holmes, J.H.G., Humphrey, J.D., Walton, E.A., O’Shea, J.D. 1981. Caracts, goitre and infertility in cattle on an exclusive diet of *Leucaena leucocephala*. *Aust. Vet. J.* 57: 257-261.

- Hylin, J.W. 1969. Toxic peptides and amino acids in foods and feeds. *J. Agr. Food Chem.* 17(3):492-496.
- Jones, R.J., Blunt, C.G., Nurnberg, B.I. 1978. Toxicity of *Leucaena leucocephala* – effect of iodine and mineral supplements on penned steers fed a sole diet of leucaena. *Aust. Vet. J.* 54:387–392.
- Jones R.J., Lowry J.B. 1984. Australian goats detoxify the goitrogen 3-hydroxy-4(1H) pyridone (DHP) after rumen infusion from an Indonesian goat. *Experientia* 40:1435–1436.
- Jones R.J.; Lowry J.B.; Megarrity R.G. 1985. Transfer of DHP-degrading bacteria from adapted to unadapted ruminants. *Leuc Res Rep* 6:5–6.
- Jubb, K.V.F., Kennedy, P.C., Palmer's. 2007. Thyroid gland in Pathology of Domestic Animals. Saunders Elsevier. 3:389-391.
- Lima, J.A., Evangelista, A.R. 2001. In: *Leucena (Leucaena leucocephala)*. Lavras: UFLA, 34p.
- Little, D.A. & Hamilton, R.I. 1971. *Leucaena leucocephala* and thyroid function of newborn Lambs. *Aust. Vet. J.* 47:457-458.
- Malafaia, P., Armien, A.G., Peixoto, P.F.V. 1994. Intoxicação por *Leucaena leucocephala* (Leg. Mimosoideae) em coelhos. *Pesq. Vet. Bras.* 14:105-109.
- Megarrity R.G., Jones R.J. 1983. Toxicity of *Leucaena leucocephala* in ruminants – the effect of supplemental thyroxine on goats fed on a sole diet of leucaena. *Aust. J. Agric. Res.* 34:791-798.
- Mulinari-Brenner, K., Neto, J.F., Souza, F.H.M., Torres, L.F.B. 2006. Avaliação quantitativa em cortes histológicos transversais do couro cabeludo. *An Bras Dermatol.* 81(3):227-32.
- Mullenax, C.H. 1957. A dietary cause of hair loss in Bahamian livestock. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 131(6):302.
- Mullenax, C.H. 1963. Observations on *Leucaena glauca*. *Aust. Vet. J.* 39:88–91.
- Oliveira Jr, L.A.T., Fregona, M.G., Souza, V.R.C., Fernandes, W.R., Coelho, C.S. 2009. Intoxicação natural por leucena (*Leucaena leucocephala*) em um equino. *Ciênc. Vet. Tróp.* 12:55-59.
- Palmer, B., Jones, R.J., Poathong, S., Chobtang, J. 2010. The value of *Leucaena leucocephala* bark in leucaena-grass hay diets for Thai goats. *Trop Anim Health Prod.* 42: 1731-1735.
- Peixoto, P.V., França, T.F., Cunha, B.M. 2008. Intoxicação espontânea por *Leucaena leucocephala* em uma cabra, no Rio de Janeiro, Brasil. *Ciênc. Rural.* 38(2):551-555.
- Perry C., Sastry R., Nasrallah I.M., Stover P.J. 2005. Mimosine attenuates serine hydroxymethyltransferase transcription by chelating zinc – Implications for inhibition of DNA replication. *J. Biol. Chem.* 280:396–400.
- Phaikaew C., Suksaran W., Ted-Arsen J., Nakamane G., Saichuer A., Seejundee S., Kotprom N., Shelton H.M. 2012. Incidence of subclinical toxicity in goats and dairy cows consuming leucaena (*Leucaena leucocephala*) in Thailand. *Anim. Prod. Sci.* 52:283–286.
- Reis, P.J., Puchala, R., Sahlu, T., Goetsch, A.L. 1999. Effects of mimosine and 2,3-dihydropyridine on fiber shedding in Angora goats. *J. Anim. Sci.* 77:1224–1229.
- Riet-Correa, F., Barros, S.S., Araújo, J.A.S. 2004. Intoxicação por *Leucaena leucocephala* em ovinos na Paraíba. *Pesq. Vet. Bras.* 24:52.
- Sá, J.P.G. 1997. *Leucena: utilização na alimentação animal*. Londrina: IAPAR, 27p.
- Tsai, W.C., Ling, K.H. 1971. Toxic action of mimosine – 1. Inhibition of mitosis and DNA synthesis of H.Ep-2 cell by mimosine and 3,4-dihydropyridine. *Toxicon* 9:241–247.
- Tokarnia, C.H., Brito, M.F., Barbosa, J.D., Peixoto, P.V., Döbereiner, J. 2012. Plantas que afetam a pele e anexos in *Plantas tóxicas do Brasil*. Rio de Janeiro: Helianthus: 402-408.

Capítulo 2

Intoxicação natural e experimental por *Leucaena leucocephala* em equinos¹.

Mirna R. Porto² e Márcio B. de Castro^{2*}

ABSTRACT.- Porto M. R. & Castro M.B. 2016. Intoxicação natural e experimental por *Leucaena leucocephala* em equinos. [Natural and experimental *Leucaena leucocephala* equine poisoning]. Pesquisa Veterinária Brasileira 00(0):00-00. Laboratório de Patologia Veterinária, Faculdade de Agronomia e Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília - DF, Brasil. Av. L4 Norte, Asa Norte, Brasília, DF 95320-000, Brasil. *Autor para correspondência: mbcastro@unb.br

This paper investigated the main clinical changes of horses natural and experimentally intoxicated by *Leucaena leucocephala*. Outbreaks occurred in the SP and GO States, where six horses after eating bark and/ or leaves of the plant presented alopecia mainly in mane and tail. In these animals, the diagnosis was based on the observation of plant intake and clinical signs. In animals experimentally intoxicated, clinical examination was performed and skin biopsies taken from mane, back and tail regions and triiodothyronine (T3) and thyroxine (T4) serum levels assayed. Alopecia in the mane and tail was the main clinical signs observed, accompanied by anorexia, weight loss and lethargy in all animals. T3 and total T4 showed significant decrease in the serum levels ($p \leq 0.05$) in the third week of intake of leucaena compared to baseline levels. Marked telogenization of hair follicles at the end of the experiments were observed in skin biopsies. The clinical and pathological findings in intoxicated horses are similar to those observed in ruminant animals. Experimental poisoning of horses by the plant highlights the marked decline in levels of thyroid hormones, suggesting goitrogenic effect of mimosine and its derived compounds, with transient hypothyroidism and alopecia due to accentuated reduction in follicular activity.

INDEX TERMS: Poisoning, *Leucaena leucocephala*, alopecia, hypothyroidism, T3, T4, equine.

RESUMO- Este trabalho investigou as principais alterações clínicas e dermatopatológicas de equinos intoxicados natural e experimentalmente por *Leucaena leucocephala*. Os surtos ocorreram nos estados de SP e GO, onde seis cavalos após a ingestão de casca e/ ou folhas da planta apresentaram alopecia, principalmente na crina e cauda. Nesses animais o diagnóstico foi baseado na observação da ingestão da planta e dos sinais clínicos. Nos animais intoxicados experimentalmente, foi realizado o exame clínico, biópsias da pele das regiões de crina, dorso e cauda e feita a dosagem sérica de tri-iodotironina (T3) e tiroxina (T4). Alopecia da crina e cauda foi o principal sinal clínico observado, seguido de anorexia, emagrecimento e apatia em todos os animais. Os níveis de T3 e T4 total apresentaram redução significativa ($p \leq 0,05$) na terceira semana de ingestão da leucena quando comparado aos níveis basais. As alterações histológicas observadas nas biópsias de pele demonstram acentuada telogenização dos folículos pilosos ao final dos experimentos. Os achados clínico-patológicos em equinos intoxicados são semelhantes aos observados em ruminantes. A intoxicação experimental de equinos pela planta evidenciou o acentuado declínio dos níveis dos hormônios tireoideanos, sugerindo efeito bociogênico da mimosina e seus compostos derivados, com hipotireoidismo transitório e alopecia devido à acentuada redução da atividade folicular.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Intoxicação, leucena, alopecia, hipotireoidismo, T3, T4, equino.

INTRODUÇÃO

Leucena leucocephala é uma leguminosa arbórea de ampla distribuição muito utilizada na alimentação de ruminantes nas regiões tropicais e subtropicais (Riet-Correa et al. 2004, Halliday et al. 2013). É uma planta de alto valor nutritivo, com alto índice protéico, de boa digestibilidade, perenidade e palabilidade, porém seu consumo exagerado pode levar a um quadro de intoxicação, acarretando em prejuízos econômicos pela redução na produtividade ou pela morte dos animais (Jones et al. 1978, Almeida et al. 2006).

A intoxicação pela leucena ocorre quando seu consumo ultrapassa 30% da alimentação diária (Holmes 1981, Halliday et al. 2013). O princípio ativo da *L. leucocephala* é o aminoácido não protéico denominado mimosina (Riet-Correa et al. 2004). A mimosina e seus metabólitos principais, a 3,4-dihidroxi piridona (DHP) e a 2,3-DHP, impedem a peroxidação do iodo (iodação) na tireóide, diminuindo a síntese de T3 (tri-iodotironina) e T4 (tiroxina) (Jones et al. 1978, Halliday et al. 2013). O hipotireoidismo secundário à intoxicação reduz o metabolismo e a função de inúmeros sistemas, sendo a causa das apresentações clínicas (Jones et al. 1978).

A principal lesão associada à ingestão excessiva de leucena é a alopecia. Mas efeitos tóxicos menos frequentes como catarata, atrofia de gengiva, ulcerações da língua e esôfago, sialorreia, bócio, infertilidade, emagrecimento e até morte também podem ocorrer (Jones et al. 1978, Luo et al. 2000, Riet-Correa et al. 2004, Almeida et al. 2006, Oliveira Jr. et al. 2009). Microscopicamente a derme apresenta-se atrofiada, com acantose e hiperqueratose. Os folículos pilosos apresentam número e tamanho reduzido, a maioria desses em fase de regressão (catágena) e repouso (telógena) (Luo et al. 2000, Riet-Correa et al. 2004, Almeida et al. 2006).

Ovinos, bovinos, caprinos são susceptíveis à intoxicação e correspondem pela maioria dos estudos e relatos (Riet-Correa et al. 2004, Almeida et al. 2006, Peixoto et al. 2008, Oliveira Jr. et al. 2009, Halliday et al. 2013). Em equinos, a intoxicação por *L. leucocephala* é praticamente desconhecida em todo o mundo, apenas com a descrição clínica de um caso de toxicidade natural pela planta em um animal no Brasil (Mullenau 1957; Oliveira Jr. et al. 2009). O objetivo desse trabalho foi caracterizar os aspectos clínicos, dermatopatológicos e níveis de T3 e T4 na intoxicação experimental de equinos por *L. leucocephala* e descrever surtos de intoxicação natural na espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

Esse trabalho consiste na investigação de surtos de intoxicações por *L. leucocephala* e na descrição de intoxicações experimentais em equinos pela planta.

Três surtos de intoxicação por leucena em equinos foram investigados, sendo dois no estado

de São Paulo (SP) e um no estado de Goiás (GO). Nesses casos o diagnóstico baseou-se na observação da ingestão da planta e no registro dos sinais clínicos observados.

Os dois surtos em SP ocorreram em duas propriedades distintas nos municípios de Santa Cruz do Rio Pardo e Ourinhos respectivamente. No primeiro deles, dois cavalos adultos, machos castrados, foram soltos em um piquete de *L. leucocephala*, cultivada com espaçamento de 1 metro entre fileiras e de 30 centímetros entre as covas, consorciada com *Brachiaria humidicola* (Lima & Evangelista, 2001). Na segunda propriedade em SP, a intoxicação ocorreu em um equino, adulto, macho castrado, devido à mudança de cerca, quando então, árvores de leucena que encontravam-se próximas a divisa do piquete, passaram a se localizar no interior do pasto de *B. decumbens*. O surto na cidade de Valparaíso de Goiás (GO) envolveu três equinos adultos (um macho e duas éguas), mantidos em área sem pasto formado e com muitas árvores de leucena.

Em uma segunda fase, foram realizados dois experimentos de intoxicação pela planta em equinos. O primeiro experimento foi realizado entre fevereiro e março de 2007, no Hospital Veterinário de Grandes Animais da Universidade de Brasília (HVetão-UnB), com duração de vinte e um dias. Três cavalos, sem raça definida, machos castrados, adultos (A₁, A₂ e A₃), foram mantidos em baias de alvenaria com fornecimento controlado de folhas de leucena (55g/kg) divididos em dois fornecimentos ao dia e água à vontade. Os sinais clínicos (alopecia, apatia, anorexia e emagrecimento) foram registrados diariamente e as biópsias de pele foram coletadas antes do início (semana 0) e ao final do experimento (semana 3), com a utilização de saca-bocado (punch) de 5 mm de espessura, fixadas em solução de formol 10% tamponado pH 7.0, processadas rotineiramente para inclusão em parafina e coradas por hematoxilina e eosina para avaliação em microscopia de luz.

O segundo experimento ocorreu entre abril e maio de 2016, na Fazenda Água Limpa-UnB, com duração de 45 dias. Cinco equinos (B₁, B₂, B₃, B₄ e B₅) mantidos em piquete formado exclusivamente por *L. leucocephala*, cv. Cunningham e ingestão à vontade da planta. Antes de iniciar o experimento, foram colhidas amostras de sangue por venopunção jugular para dosagem dos níveis séricos de T3, T4 total e T4 livre pelo ensaio não-radioativo de quimiluminescência (Singh et al 1997), e durante o experimento, mensurados semanalmente. Os animais foram submetidos ao exame clínico duas vezes por semana, com os mesmos parâmetros avaliados nos equinos do experimento 1.

Nesse experimento, as biópsias de pele foram realizadas no período pré-experimental em cada um dos animais nas regiões da crina (N), dorso (D) e cauda (C) e há cada 15 dias durante a ingestão da planta, obtendo-se quatro coletas de pele. As amostras histológicas foram processadas de forma similar ao experimento 1. Após a introdução dos equinos no piquete exclusivo de leucena, receberam água *ad libitum* e 1,5kg/animal/dia de ração comercial para equinos. A avaliação

microscópica das biópsias de pele visou determinar as fases de desenvolvimento dos folículos pilosos, presença de acantose e descamação da epiderme (Riet-Correa et al, 2004, Almeida et al, 2006). Foi realizada contagem total dos folículos e a proporção das fases do ciclo piloso em cada uma das regiões, para avaliar a prevalência no decorrer do experimento.

A comparação das médias da atividade enzimática hormonal de T3, T4 livre e T4 total semanais foram determinadas com o método ANOVA e teste de Dunnett, realizada com o programa PrismGraph 6.01.

RESULTADOS

Nas intoxicações naturais de equinos no estado de São Paulo foi constatada ávida ingestão de folhas e de casca de árvores de *Leucaena leucocephala* (Fig. 1A) pelos animais, mesmo em condições de boa disponibilidade de pastagem (capim braquiária). Em Goiás, os equinos se alimentavam avidamente de folhas da planta, pois havia escassez de forragem no piquete onde eram mantidos. Em todos os surtos de intoxicação pela leguminosa houve queda e rarefação dos pelos na crina, dorso e cauda (Figura 1B), aproximadamente após um mês da introdução dos animais nos piquetes contendo a planta.

As alterações clínicas observadas nos experimentos 1 e 2 encontra-se no Quadro 1. Nos três animais do primeiro experimento foi observado início de alopecia no 6º dia de ingestão de leucena e essa queda se acentuou no 9º dia, principalmente crina (Fig. 2A) e cauda que apresentou aspecto de "cauda de rato" (Fig. 2B). O animal A3 apresentou inapetência no 5º dia de experimento e os animais A1 e A2 no 10º dia.

No experimento 2, a queda de pelos foi observada primeiramente nos animais B3 e B5 na segunda semana, principalmente na crina. Na terceira semana a alopecia se intensificou na crina e cauda dos animais B3, B4 e B5. Os animais B1 e B2 tiveram início de queda dos pelos na quarta semana do experimento, evoluindo para alopecia severa na quinta semana. Na sexta semana, todos os cinco animais apresentavam alopecia, com descamação da epiderme na crina e na cauda.

Nas biópsias de pele as alterações foliculares foram observadas em todos os animais experimentados (Quadro 2). Todas as biópsias controle apresentaram a maioria dos folículos na fase anágena, alguns na catágena e ausência da fase telógena. Já ao final dos experimentos observou-se prevalência de folículos telógenos, principalmente em crina e cauda, e raros em catágeno nas biópsias do dorso. A quantidade de folículo foi variável nas regiões. No dorso os folículos são menores e em maior número (aproximadamente 50), e na crina e cauda, maiores e em quantidade moderada (aproximadamente 30).

Ao final do experimento todos os animais apresentaram folículos nas fases catágena e

telógena na crina e na cauda, e na região dorsal havia também folículos na fase anágena.

No experimento 2, após seis semanas de ingestão de folhas de leucena, todos os animais apresentaram folículos nas fases catágenas e telógenas, somente (Figura 4). Os animais B1 e B2 tiveram início de telogenização folicular a partir da quarta semana de ingestão da planta. Já nos animais B3, B4 e B5 essa fase foi observada desde a segunda semana. Em ambos experimentos a fase telogênica, predominante na maioria dos folículos havia acentuado enrugamento da bainha radicular interna, queratinização do canal piloso e moderada atrofia folicular.

Os níveis séricos de T3 (Figura 3A) e T4 total (Figura 3B) tiveram queda significativa ($p \leq 0,05$) na terceira semana de ingestão da leucena quando comparado aos níveis basais. A mensuração do T4 livre apresentou elevação dos níveis a partir da quinta semana ao final do experimento (Fig. 3).

DISCUSSÃO

A ingestão natural e experimentalmente de *Leucaena leucocephala* demonstrou ser tóxica para equinos. O consumo de leucena pelos grupos experimentais resultou em anorexia, emagrecimento e apatia na maioria dos animais, de forma semelhante ao observado em ruminantes que ingeriram experimentalmente grandes quantidades da planta (Holmes 1981, Hammond 1995, Anderson et al. 2001, e Almeida et al. 2006). Outros sinais relacionados à intoxicação por ingestão de leucena como, sialorreia, úlcera de língua e esôfago, catarata, bócio e morte (Jones et al. 1978, Holmes 1981, Riet-Correa et al. 2004, Almeida et al. 2006, Oliveira Jr. et al. 2009) não foram observados nos animais avaliados nesse experimento. A razão para o surgimento dessas alterações clínicas são ainda desconhecidas, mas sugere-se que a anorexia possa ocorrer pela depleção dos hormônios tireoidianos ou devido às ulcerações de esôfago (Jones et al. 1978).

A alopecia foi o sinal clínico mais evidente da intoxicação por *L. leucocephala* em equinos, se manifestando de forma mais acentuada na crina e na cauda. O surgimento de alopecia variou entre 6 e 20 dias nos grupos experimentais, e após um mês de consumo de leucena nos casos de intoxicação natural. Esses achados nos equinos são similares aos observados em ovinos experimental e naturalmente intoxicados pela planta (Riet-Correa et al. 2004; Almeida et al. 2006). No primeiro relato da intoxicação espontânea de um equino no Brasil, o animal apresentou alopecia após 15 dias da ingestão da planta, em um período de escassez de pastagens e com ávida ingestão de folhas (Oliveira Jr. et al 2009). Os animais nos surtos de intoxicação natural estudados demoram mais tempo para apresentar alopecia, possivelmente devido à ingestão de menores quantidades da planta, seja pela menor oferta, menor toxidez entre variantes da leucena, melhores condições das pastagens ou disponibilidade de outras plantas.

A queda de pelos na crina e na cauda de equinos é considerada uma alteração característica da toxicose pela planta na espécie (Mullenau 1957; Oliveira Jr. et al. 2009; Tokarnia et al. 2012). Bovinos intoxicados por *L. leucocephala* apresentaram como principais áreas alopécicas, o prepúcio, a cauda e a cernelha (Jones et al. 1978). Em ovinos com a toxicose, a alopecia é marcante na cabeça, pescoço e parte anterior do corpo (Riet-Correa et al. 2004, Almeida et al. 2006), em caprinos, na região lateral do corpo (Reis et al. 1998) e em coelhos, afeta a região inguinal, cauda e abdômen (Malafaia et al. 1994). Até o momento, é desconhecida a razão na variação entre os principais locais de alopecia nas espécies intoxicadas por *L. leucocephala*.

A mimosina é considerada o princípio tóxico da planta, porém a patogenia do efeito alopécico ainda não é bem definida. Essa substância tóxica da leucena é um aminoácido não protéico (β -[N-(3-hidroxi-4-oxopiridil)] α -ácido aminopropiônico), com efeito depilatório, não bociogênica e considerada responsável pelos sinais clínicos nos animais intoxicados (Tokarnia et al. 2012). A ação antimetabólica da mimosina é capaz de inibir a síntese de DNA e de cisteína, afetando os folículos ativos e o crescimento de pelos pré-formados (Malafaia et al. 1994, Luo et al. 2000, Halliday et al. 2013). O efeito depilatório da leguminosa é evidente quando os níveis de mimosina na dieta são maiores que 0,015% do peso do animal (Halliday et al. 2013). Os achados nos equinos experimentalmente intoxicados reforçam essas observações, onde os animais ingeriram quase exclusivamente a planta, diferentemente dos surtos onde o consumo da leguminosa era menor e associado à outras forragens.

Em ruminantes, a mastigação com saliva alcalina, e especialmente a incubação no rúmen, levam à degradação da mimosina para 3-hidroxi-4(1H)-piridina (3,4-DHP) (Hegarty et al. 1976, Megarrity & Jones 1983), que, na presença de certos microrganismos ruminais, pode ser ainda convertido para o seu isômero 2,3-di-hidroxipiridina (2,3-DHP) (Megarrity & Jones 1983, Allison et al. 1989). Esse metabólito da mimosina é considerado o responsável pela ação bociogênica em animais que se alimentaram com a planta (Hegarty & Christie 1976; Holmes et al. 1981; Halliday et al. 2013). Em herbívoros não-ruminantes, até o momento, não se conhece a formação de 3,4-DHP no ceco a partir da ingestão de mimosina. Entretanto, é possível especular que haja a transformação desse composto a partir da mastigação da planta e sua mistura com saliva, ou ainda, a formação em algum local do sistema digestório ainda não determinada (Malafaia et al. 1994).

Uma das alterações mais marcantes, e demonstrada de forma inédita, na intoxicação experimental de equinos por *L. Leucocephala* cv. Cunninham (experimento 2), foi a queda significativa dos níveis séricos de T3 e T4 total na terceira semana de ingestão da planta. O período de maior redução desses hormônios ocorreu concomitantemente com a intensificação da queda de pelos. O 2,3-DHP é capaz de afetar a produção de T4 devido ao seu efeito bociogênico em ovinos (Little & Hamilton 1971), bovinos (Jones et al. 1978, Holmes 1981) e camundongos (Hegarty &

Christie 1976). Entretanto, a ingestão prolongada e exclusiva de leucena por bovinos causou o aumento da tiroxina, que poderia estar relacionado às flutuações da concentração de mimosina na planta nas diferentes estações do ano. (Holmes et al. 1981). Nos equinos, frente aos sinais clínicos observados, assim como em ruminantes, provavelmente ocorreu a formação do 2,3-DHP em algum local no trato digestório, que desencadeou as alterações hormonais, características da intoxicação por *L. leucocephala* nas outras espécies.

O metabólito primário da mimosina (3,4-DHP) atua devido à sua atividade antiperoxidase, inibindo a iodação da tirosina na etapa de ligação na tiróide. Este passo é crucial para a síntese de hormônios da tiróide (T3 e T4), resultando em redução sérica de níveis de T3 e T4 (hipotireoidismo), e assim, estimulando e aumentando os folículos tireoidianos (ação bociogênica) (Halliday et al. 2013). A carência ou inibição persistente da peroxidação de iodo e redução na produção dos hormônios tireoidianos, desencadeia o aumento compensatório da secreção de TSH, com hiperplasia das células foliculares da glândula tireóide e o surgimento do bócio coloidal (Jubb et al. 2007).

Entre as alterações cutâneas observadas nas biópsias de pele dos equinos intoxicados pela planta no experimento 2, se destaca a marcada telogenização dos folículos pilosos e o desaparecimento de folículos em fase anagênica, caracterizam a ação depilatória da mimosina nesses animais. A infusão endovenosa de mimosina em caprinos de lã produziu acentuada diminuição da atividade folicular, com alopecia abrupta e temporária (Reis et al. 1998, Luo et al. 2000). Em ovinos experimentalmente intoxicados por *L. leucocephala* houve alteração folicular em cordeiros caracterizada por acentuada telogenização, mas não nas ovelhas (Almeida et al. 2006). Coelho alimentados exclusivamente com brotos frescos da planta apresentaram atrofia com hiperqueratinização de numerosos folículos, assim como, a presença de folículos em fase telógena (Malafaia et al. 1994). As alterações foliculares observadas nos equinos experimentalmente intoxicados pela leguminosa demonstraram similaridade ao observado em outras espécies e possivelmente tenham a mesma gênese.

A patogênese da alopecia na intoxicação pela planta não é bem elucidada, porém suspeita-se que a mimosina atue na fase anágena do folículo piloso e também iniba a enzima tirosina carboxilase, interferindo no crescimento folicular (Crouse et al. 1962). A mimosina pode reduzir a biossíntese de metionina em cistina durante a fase anágena do folículo piloso, resultando na parada crescimento folicular (Hylín 1969). É importante também ser considerado que os equinos experimentalmente intoxicados por *L. leucocephala* apresentaram acentuada redução sérica de hormônios tireoideanos, que poderia indicar hipotireoidismo transitório, que afeta diretamente a atividades metabólica e mitótica de folículos em fase de crescimento ativo folicular (Douglas & Douglas 2006).

O conjunto de experimentos e surtos de intoxicação natural por *L. leucocephala* em equinos, demonstra a susceptibilidade da espécie e reforçam a importância dessa toxicose no diagnóstico diferencial com outras enfermidades que causam alopecia. É importante diferenciar a intoxicação pela leguminosa de outras dermatoses alopécicas equinas como intoxicação por selênio, eflúvio piloso, reações imunológicas (atopia, alopecia areata, reações à drogas, etc), doenças infecciosas (dermatofilose e dermatofitose) e parasitárias.

CONCLUSÕES

O estudo da intoxicação por *L. leucocephala* em equinos demonstrou que a ingestão natural e experimental da planta produz sinais clínicos nessa espécie, caracterizados principalmente pela alopecia no dorso, e mais acentuada na crina e cauda. Experimentalmente, a ingestão excessiva da planta resulta no surgimento dos sinais clínicos mais precocemente e intensos que em casos naturais da toxicose.

Cavalos intoxicados pela planta apresentaram redução nos níveis séricos de T3 e T4 total, porém variação discreta nos valores de T4 livre. Os níveis menores desses hormônios foram observados na terceira semana de ingestão da leguminosa, coincidindo com o aumento na queda de pelos. Esses achados sugerem interferência no metabolismo tireoideano e efeito bociogênico similar ao observado em ruminates.

As principais alterações histológicas na pele de cavalos intoxicados pela *L. leucocephala* são a telogenização folicular e o desaparecimento dos folículos em fase anágena. Essas manifestações patológicas justificam a acentuada queda de pelos proporcionadas pela ingestão da planta.

Novos estudos com a intoxicação pela leguminosa em equinos precisam ser realizados para melhor elucidar os mecanismos fisiopatológicos envolvidos na alopecia, na redução de hormônios tireoideanos e na formação do princípio tóxico 3,4-DHP em herbívoros monogástricos.

Agradecimentos

À Secretaria de Agricultura do DF, por ter doado os equinos, ao Antônio e à Daniela pela ajuda prestada no manejo e cuidado com os animais, ao prof. Gilberto Gonçalves Leite pelo incentivo e apoio ao projeto, ao Leandro pela confecção das biópsias e ao Laboratório Santè pela execução dos exames laboratoriais.

REFERÊNCIAS

- Allison, M.J., A.C. Hammond, and R. J. Jones. 1990. Detection of ruminal bacteria that degrade toxic dihydroxy-pyridine compounds produced from mimosine. *Appl. Environ. Microbiol.* 56: 590-594.
- Almeida, A.P.M.G., Kommers, G. D., Nogueira, A. P. A., Júnior, L. G. B., Prado Marques, B. M. F., Lemos, R. A. A. 2006. Avaliação do efeito tóxico de *Leucaena leucocephala* (Leg. Mimosoideae) em ovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 26(3): 190-194.
- Crouse, R.G., Maxwell, J.D., Blank, H. 1962. Inhibition of growth of hair by mimosine. *Nature* 194:694-695.
- Douglas, N.A. & Douglas, C. R. 2006. Fisiologia da glândula tireóide in *Trat. Fisiol. Aplic. Ciên. Méd. Rio de Janeiro:Guanabara Koogan.* 6:1043-1061.
- Ghosh, M. K., Samiran B. 2007. Mimosine toxicity – a problem of *Leucaena* feeding in ruminants. *Asian J. Anim. Vet. Adv.* 2: 63-73.
- Halliday, M.J., Padmanabha, J., Mcsweney, C., Kerven, G., Shelton, H.M. 2013. Leucaena toxicity: a new perspective on the most widely used forage tree legume. *Trop. Grassl. - Forraj. Tropical.* 1:1-11.
- Hammond, A.C. 1995. Leucaena toxicosis and its control in ruminants. *J. of Anim. Sci.* 73:1487-1492.
- Hegarty, M.P., Court, R.D., Christie, G.S., Lee, C.P. 1976. Mimosine in *Leucaena leucocephala* is metabolized to a goitrogen in ruminants. *Aust. Vet. J.* 52:490.
- Holmes, J.H.G. 1981. Toxicity of *Leucaena leucocephala* for steers in the wet tropics. *Trop. Anim. Health Prod.* 13:94-100.
- Holmes, J.H.G., Humphrey, J.D., Walton, E.A., O’Shea, J.D. 1981. Caracts, goitre and infertility in cattle on an exclusive diet of *Leucaena leucocephala*. *Aust. Vet. J.* 57: 257-261.
- Hylin, J.W. 1969. Toxic peptides and amino acids in foods and feeds. *J. Agr. Food Chem.* 17(3):492-496.
- Jones, R.J., Blunt, C.G., Nurnberg, B.I. 1978. Toxicity of *Leucaena leucocephala* – effect of iodine and mineral supplements on penned steers fed a sole diet of leucaena. *Aust. Vet. J.* 54:387-392.
- Jones, R.J. 1981. Does ruminal metabolism of mimosine explain the absence of *Leucaena* toxicity in Hawaii. *Aust. Vet. J.* 57:55.
- Jones, R.J. & Hegarty, R.G. 1986. Successful transfer of DHP-degrading bacteria from Hawaiian goats to Australian ruminants to overcome the toxicity of *Leucaena*. *Aust. Vet. J.* 63(8):259-62 (Resumo).
- Jubb, K.V.F., Kennedy, P.C., Palmer’s. 2007. Thyroid gland in *Pathology of Domestic Animals.* Saunders Elsevier. 3:389-391.
- Little, D.A. & Hamilton, R.I. 1971. *Leucaena leucocephala* and thyroid function of newborn Lambs. *Aust. Vet. J.* 47:457-458.
- Lima, J.A., Evangelista, A.R. 2001. *Leucaena (Leucaena leucocephala)*. Lavras: UFLA, 34p.
- Luo, J., Litherland, A.J., Sahlu, T., Puchala, R., Lachica, M., Goetsh. 2000. Effects of mimosine on fiber shedding, follicle activity, and fiber regrowth in Spanish goats. *J. Anim. Sci.* 78:1551-1555.
- Malafaia, P., Armien, A.G., Peixoto, P.F.V. 1994. Intoxicação por *Leucaena leucocephala* (Leg. Mimosoideae) em coelhos. *Pesq. Vet. Bras.* 14:105-109.
- Megarrity R.G., Jones R.J. 1983. Toxicity of *Leucaena leucocephala* in ruminants – the effect of supplemental thyroxine on goats fed on a sole diet of leucaena. *Aust. J. Agric. Res.* 34:791-798.
- Mullenax, C.H. 1957. A dietary cause of hair loss in Bahamian livestock. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 131(6):302.
- Mulinari-Brenner, K., Neto, J.F., Souza, F.H.M., Torres, L.F.B. 2006. Avaliação quantitativa em cortes histológicos transversais do couro cabeludo. *An Bras Dermatol.* 81(3):227-32.

- Oliveira Jr, L.A.T., Fregona, M.G., Souza, V.R.C., Fernandes, W.R., Coelho, C.S. 2009. Intoxicação natural por leucena (*Leucaena leucocephala*) em um equino. *Ciênc. Vet. Tróp.* 12:55-59.
- Paul, S.S. 2000. Detoxification of mimosine and dihydroxy-pyridone: a review. *Agric. Rev.* 21: 104–109.
- Peixoto, P.V., França, T.F., Cunha, B.M. 2008. Intoxicação espontânea por *Leucaena leucocephala* em uma cabra, no Rio de Janeiro, Brasil. *Ciênc. Rural.* 38(2):551-555.
- Perry C., Sastry R., Nasrallah I.M., Stover P.J. 2005. Mimosine attenuates serine hydroxymethyltransferase transcription by chelating zinc – Implications for inhibition of DNA replication. *J. Biol. Chem.* 280:396–400.
- Phaikaew C., Suksaran W., Ted-Arsen J., Nakamanee G., Saichuer A., Seejundee S., Kotprom N., Shelton H.M. 2012. Incidence of subclinical toxicity in goats and dairy cows consuming leucaena (*Leucaena leucocephala*) in Thailand. *Anim. Prod. Sci.* 52:283–286.
- Riet-Correa, F., Barros, S.S., Araújo, J.A.S. 2004. Intoxicação por *Leucaena leucocephala* em ovinos na Paraíba. *Pesq. Vet. Bras.* 24:52.
- Reis, P.J., Puchala, R., Sahl, T., Goetsch, A.L. 1999. Effects of mimosine and 2,3-dihydroxypyridine on fiber shedding in Angora goats. *J. Anim. Sci.* 77:1224–1229.
- SÁ, J.P.G. 1997. Leucena: utilização na alimentação animal. Londrina: IAPAR, 27p.
- Singh, A.K., Jiang, Y., White, T., Spassova, D. 1997. Validation of nonradioactive chemiluminescent immunoassay methods for the analysis of thyroxine and cortisol in blood samples obtained from dogs, cats, and horses. *J Vet Diagn Invest* 9:261-268.
- Tokarnia, C.H., Brito, M.F., Barbosa, J.D., Peixoto, P.V, Döbereiner, J. 2012. Plantas que afetam a pele e anexos in *Plantas tóxicas do Brasil*. Rio de Janeiro: Helianthus, p.402-408.



Fig.1. A- *Leucaena leucocephala*, caule. Área recém removida da casca por equinos em surto de intoxicação natural em SP (cabeça de seta). B- Equino, cauda. Rarefação pilosa (cabeça de seta) após um mês de ingestão de folhas e casca de *Leucaena leucocephala*.



Fig.2. A- Equino, crina. Alopecia acentuada (cabeça de seta) em animal após 20 dias alimentado exclusivamente com *Leucaena leucocephala*. B- Equino, cauda. Marcada alopecia (cabeça de seta) em animal após 20 dias de alimentação exclusiva com *L. Leucocephala* (Tokarnia et al. 2012).

Quadro 1: Principais sinais clínicos em equinos com ingestão controlada (grupo A) e ingestão livre (grupo B) de Leucena durante o período experimental.

EQUINO	SINAIS CLÍNICOS					
	APATIA	EMAGRECIMENTO	ANOREXIA	A. CRINA	A. DORSO	A. CAUDA
A 1	+	+	+	+	+	+
A 2	+	+	+	+	+	+
A 3	+	+	+	+	+	+
B 1	-	+	-	+	+	+
B 2	-	+	-	+	+	+
B 3	+	+	+	+	+	+
B 4	+	+	+	+	+	+
B 5	+	+	+	+	+	+

Sinais Clínicos - APT: apatia; EMG: emagrecimento; ANX: anorexia; ACR: alopecia de crina; ADR: alopecia de dorso; ACD: alopecia de cauda Interpretação: - Ausência; + Presença.

Quadro 2: Avaliação histopatológica da fase pilosa em biópsias de pele com ingestão controlada (equinos A) e ingestão livre (equinos B) de leucena durante o período experimental.

Animal	COLETA 1									COLETA 2									COLETA 4								
	ANG %			CTG %			TLG %			ANG %			CTG %			TLG %			ANG %			CTG %			TLG %		
	N	D	C	N	D	C	N	D	C	N	D	C	N	D	C	N	D	C	N	D	C	N	D	C	N	D	C
A 1	68,9	68,8	57,6	20,3	24,1	27,5	10,8	7,1	14,9	14,8	12,2	2,5	37,0	39,4	46,3	48,2	48,4	51,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A 2	67,5	64,7	60,0	22,8	26,0	23,2	9,7	9,3	16,8	5,2	12,2	11,7	33,3	39,0	26,5	61,5	48,8	61,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A 3	73,6	70,0	53,6	19,0	23,4	27,0	7,4	6,6	19,4	12,0	18,4	10,0	32,0	31,6	15,0	56,0	50,0	75,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B 1	73,7	63,2	50,0	17,4	26,3	29,2	8,8	10,3	20,8	12,7	9,1	8,0	51,1	45,5	52,0	36,2	45,4	40,0	11,8	11,1	16,7	29,4	33,3	37,5	58,8	55,6	45,8
B 2	70,4	76,5	50,0	18,5	14,7	35,0	11,1	8,8	15,0	0,0	11,8	41,8	61,5	47,1	57,1	38,5	41,2	38,1	5,3	6,4	4,8	36,8	38,7	57,1	57,9	54,9	38,1
B 3	62,5	66,7	57,2	25,0	26,7	19,0	12,5	6,6	23,8	4,8	2,9	7,1	66,7	45,7	53,6	28,5	51,4	39,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B 4	66,7	73,3	57,1	25,0	20,0	28,6	8,3	6,7	14,3	10,4	16,7	19,2	51,7	58,3	46,2	37,9	25,0	34,6	5,3	8,3	0,0	47,3	37,0	42,8	47,4	54,7	57,1
B 5	73,5	54,3	65,6	20,6	31,4	21,9	5,9	14,3	12,5	3,7	14,3	0,0	55,6	43,0	28,6	40,7	42,7	71,4	0,0	16,7	0,0	40,0	38,9	40,7	60,0	44,4	59,3

Interpretação: - não examinado; ANG: anágeno; CTG: catágeno; TLG: telógeno; N: pescoço; D: dorso; C: cauda.

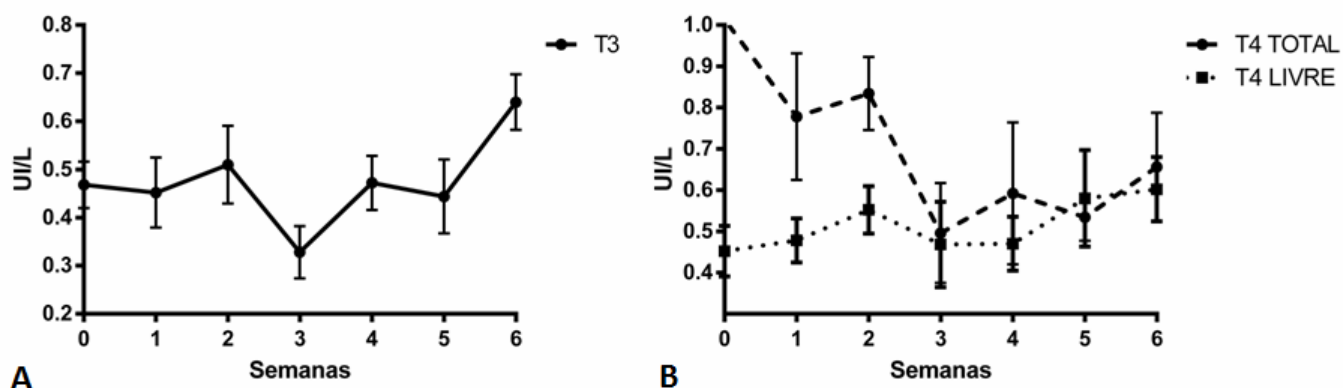


Fig.3. A- Atividades séricas médias e erro padrão da média de T3 em equinos experimentalmente intoxicados por *Leucaena leucocephala*. Brasília, 2016. (HE). **B-** Atividades séricas médias e erro padrão da média de T4 total e T4 livre em equinos experimentalmente intoxicados por *Leucaena leucocephala*. Brasília, 2016.

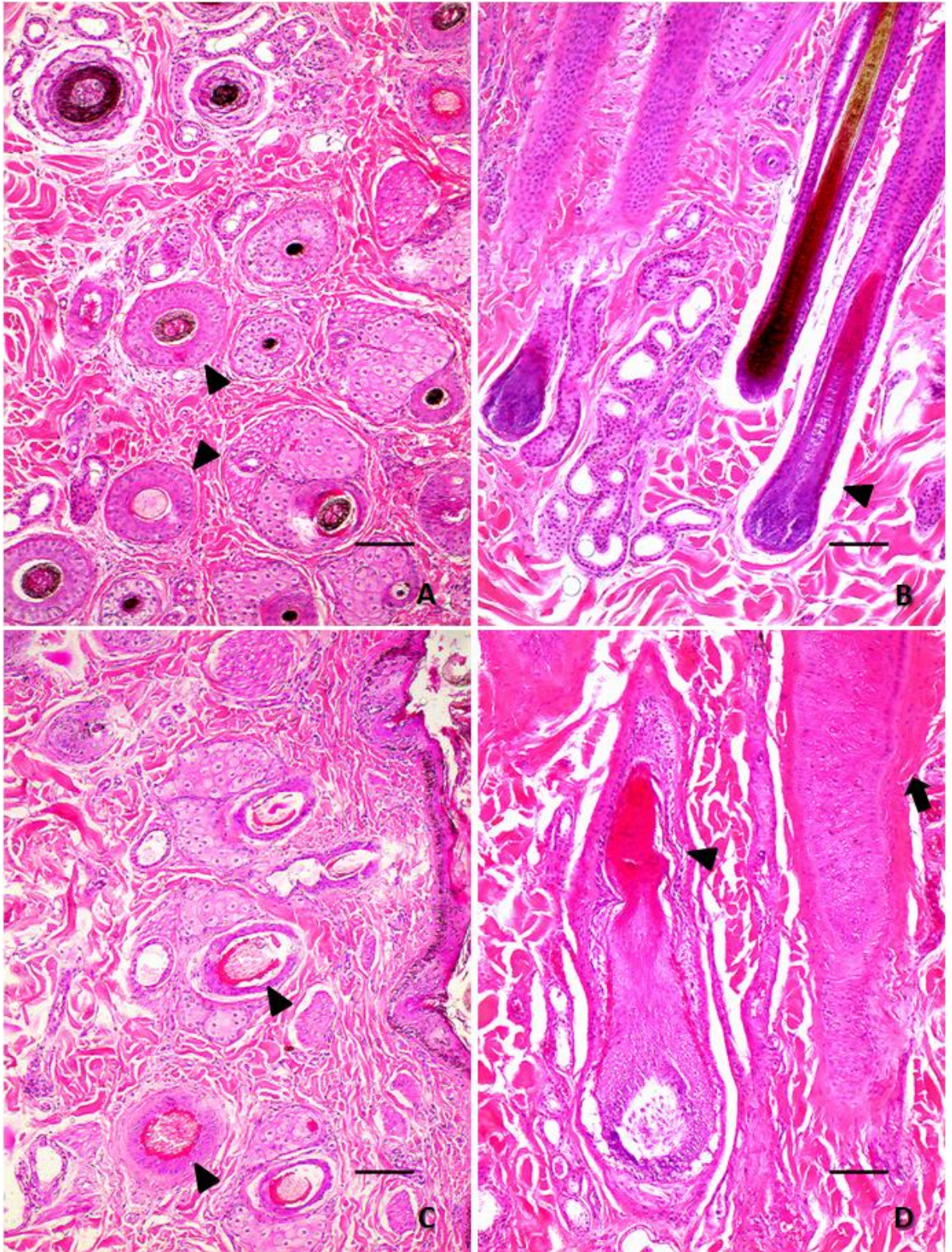


Fig.4. **A-** Equino, pele, pré-experimento. Corte transversal de folículos pilosos em fase anágena (cabeça de seta). **B-** Equino, pele, pré-experimento. Corte longitudinal de folículo piloso em fase anágena (cabeça de seta). **C-** Equino, pele, fase experimental, 6 semanas. Corte transversal de folículos pilosos com acentuada telogenização, enrugamento da bainha radicular interna (cabeça de seta) e moderada atrofia folicular. **D-** Equino, pele, fase experimental, 6 semanas. Corte longitudinal de folículos pilosos com acentuada telogenização (cabeça de seta) e espessamento da membrana basal (seta). Coloração HE, barra 100µm.
