Melanose talâmica em caprinos

Thalamic Melanosis in Goats

Yanca Góes dos Santos Soares¹, Draenne Micarla dos Santos Silva¹, Maria Jussara Rodrigues do Nascimento², Millena de Oliveira Firmino², Rodrigo Cruz Alves², Robério Gomes de Olinda², Antônio Flávio Medeiros Dantas² & Glauco José Nogueira de Galiza²

ABSTRACT

Background: Melanosis is a blackened pigmentation resulting from the accumulation of melanocytes in tissues that are not normally pigmented. This change in the color of the organs occurs due to the agglomeration of melanocytes originating from abnormal migration during embryogenesis and does not cause dysfunction to the affected organ. Although melanosis frequently occurs in several species and affects several organs such as the brain and spinal cord leptomeninges, involvement in the thalamus region is unusual. The objective of this work was to report 2 cases of thalamic melanosis in goats, determining the pathological and histochemical aspects that assist in the diagnosis of this condition.

Cases: Two cases of thalamic melanosis in goats were diagnosed. In both cases, the animals had no nervous history disease and clinical signs. The cause of death in cases 1 and 2 was established based on anatomopathological findings and clinical signs being diagnosed with mycoplasmosis and asphyxia, respectively. After fixing and making cross-sections of the brain, a focal lengthy blackened area was observed on the thalamus surface in both cases. Microscopically, lesions in the brain were similar in both cases and exclusively affected the thalamus. These cells had abundant cytoplasm, well delimited with brownish granular pigment. The nuclei were difficult to visualize and in some cells, it was rounded, well-defined, morphologically compatible with melanocytes. Melanocytes were mainly distributed around neurons and often distended the perivascular space of multiple blood vessels. In Fontana Masson staining, the granules in the cytoplasm of these cells stained strongly black. The Prussian Blue, Periodic Acid-Schiff's, Von Kossa, and Giemsa stains were negative, and the pigment remained brown. In the unstained slides, assembled after the deparaffinization and clarification process, it was observed the permanence of cells with blackish-brown pigment in the cytoplasm. In immunohistochemistry, strong immunostaining of pigmented cells with the Anti-MelanA antibodies was observed in both cases.

Discussion: The diagnosis of thalamic melanosis in goats was carried out based on the characteristic pathological findings, in which melanin pigments were demonstrated and identified through HE, Fontana-Masson staining, and unstained slides and confirmed by the IHC. The use of complementary histochemical techniques was fundamental for the classification of the pigment as melanin, demonstrating to be an accessible and reliable tool for the diagnosis of pathological processes that lead to the accumulation of pigments and or material in the tissues. The occurrence of melanin in the thalamus may be associated with a failure in the migration of melanoblasts, which would go to the optical pathways or to the thalamus. This erratic migration of melanoblasts can be explained by the fact that the forebrain is the embryogenic origin of the optic and diencephalon pathways. Macroscopically, thalamic melanosis must be differentiated mainly from neoplastic processes such as melanoma and hemangiosarcoma, pigmented fungus infections, *Phalaris angusta* poisoning, listeriosis, neurocutaneous melanosis, and neuromelanin. It was concluded that thalamic melanosis is an uncommon alteration in goats and although it has been diagnosed as an incidental necropsy finding, should be included in the differential diagnosis of diseases that affect the central nervous system, especially those that have a color change associated with the deposition of pigments in the tissues.

Keywords: melanin, necropsy findings, pigment, thalamus.

Descritores: melanina, achados de necropsia, pigmento, tálamo.

DOI: 10.22456/1679-9216.112905

Received: 15 June 2021

Accepted: 2 September 2021

Published: 5 November 2021

¹Programa de Residência Multiprofissional em Saúde, Hospital Veterinário (HV) & ²Programa de Pós-Graduação em Ciência e Saúde Animal, Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR), Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Patos, PB, Brazil. CORRESPONDENCE: Y.G.S. Soares [yancagoes@hotmail.com]. Av. Universitária s/n. CEP 58708-110 Patos, PB, Brazil.

INTRODUÇÃO

A melanose é uma pigmentação enegrecida resultante do acúmulo de melanócitos em tecidos que normalmente não são pigmentados, sem causar disfunção do órgão afetado [17]. Essa modificação na coloração dos órgãos ocorre devido a aglomeração de melanócitos, repletos de melanina, oriundos de migração anormal durante a embriogênese [16].

Embora a melanose ocorra frequentemente em diversas espécies e afeta vários órgãos como pulmão, coração, fígado, mucosas dos sistemas respiratórios e gastrointestinais, músculo esquelético, linfonodos, encéfalo, medula espinhal e leptomeninges [16,27], é incomum seu envolvimento na região do tálamo. A melanose talâmica é rara em animais com poucos relatos na literatura descrevendo essa alteração [2], entretanto estudos envolvendo as descrições anatomopatológicas e imuno-histoquímicas de tal condição são escassos.

O objetivo deste trabalho foi relatar 2 casos de melanose talâmica em caprinos, determinando os aspectos patológicos e histoquímicos que auxiliem no diagnóstico desta condição.

CASOS

Dois casos de melanose talâmica em caprinos foram diagnosticados no Laboratório de Patologia Animal da Universidade Federal de Campina Grande. Os animais não possuíam histórico e sinais clínicos de alteração neurológica que sugerissem envolvimento do sistema nervoso central (SNC).

Caso 1. Caprino, fêmea, raça Toggenburg com 2 anos de idade que apresentava anorexia e poliartrite.

Caso 2. Caprino, fêmea, sem raça definida, com 1 ano de idade, que foi encontrada morta no curral por enforcamento com cesta de comida.

A causa da morte dos casos 1 e 2 foi estabelecida com base nos achados anatomopatológicos e sinais clínicos sendo diagnosticada como micoplasmose e asfixia, respectivamente.

Após a fixação dos tecidos em formol a 10 % tamponado e realização de cortes transversais do encéfalo, foi observada área focalmente extensa enegrecida na superfície do tálamo em ambos os casos. No caso 1 restringia-se ao grupamento medial do tálamo esquerdo (Figura 1A e B), com área focal fortemente enegrecida, arredondada que media aproximadamente 0,8 x 0,5 cm de tamanho. No caso 2 observou-se área focalmente extensa, pouco delimitada que variava de

Figura 1. Melanose talâmica em caprinos. **Caso 1.** A- Tálamo esquerdo: área focal arredondada, bem delimitada e fortemente enegrecida. B- Imagem aproximada da área focal arredondada e enegrecida. **Caso 2.** C- Tálamo direito: área focalmente extensa e sem limites precisos levemente acinzentada no núcleo do grupamento lateral direito até o núcleo do grupamento medial esquerdo, passando pela aderência intertalâmica. D- Área focalmente extensa enegrecida que se estende e coalesce do grupamento lateral direito até o núcleo do grupamento medial esquerdo.

fortemente enegrecida ao centro e acinzentadas na periferia. A área iniciava no núcleo do grupamento lateral direito (Figura 1C) e se estendia até o núcleo do grupamento medial esquerdo, passando pela aderência intertalâmica (medindo aproximadamente 1,6 x 1,2 cm de tamanho), posteriormente até a região pulvinar do grupo posterior do tálamo e ventralmente até o hipotálamo (Figura 1D).

Fragmentos dos tecidos fixados foram processados rotineiramente para histopatologia. Seções de 3 µm, coradas pela hematoxilina (Histokit)¹ e eosina² (HE) e técnicas histoquímicas como Fontana Masson (FM), Azul da Prússia (AP), Ácido Periódico de Schiff (PAS) (Histokit)², Von Kossa (VK) e Giemsa (Histokit)², foram utilizadas para avaliar as características do pigmento e sua distribuição. Adicionalmente foram elaboradas lâminas sem coloração montadas após a desparafinização e clarificação. A imuno-histoquímica (IHQ) foi realizada com fragmentos de tálamo, dos dois casos, utilizando anticorpo Melan-A³ e revelado pelo cromógeno AEC (3-amino-9-etilcarbazonol)³.

Microscopicamente, no encéfalo as alterações eram semelhantes nos 2 casos, e afetaram exclusivamente o tálamo. As lesões caracterizavam-se por área focalmente extensa de acentuado infiltrado de células arredondadas a alongadas, que variavam entre 12 a 30 µm de tamanho, que frequentemente emitiam projeções (Figura 2A). Essas células apresentavam citoplasma abundante e bem delimitado com pigmento

Figura 2. Melanose talâmica em caprinos. A- Acentuado infiltrado de melanócitos com citoplasma repleto de grânulos de melanina [HE; Barra= 50 µm]. No detalhe observa-se pigmento marrom enegrecido. Lâmina não corada [Barra= 20 µm]. B- Múltiplos melanócitos no espaço perivascular e perineural [HE; Barra= 20 µm]. C- Numerosas células com grânulos fortemente corados em preto, correspondendo a melanócitos [Fontana-Masson; Barra= 50 µm]. D- Melanócitos fortemente positivos para anticorpo MelanA [IHQ, AEC; Barra= 50 µm].

granular amarronzado. Os núcleos eram de difícil visualização e em algumas células apresentavam-se arredondados, bem delimitados, morfológicamente compatíveis com melanócitos. Os melanócitos eram distribuídos principalmente ao redor dos neurônios e frequentemente distendendo o espaço perivascular de múltiplos vasos sanguíneos (Figura 2B).

Na coloração de Fontana Masson, os grânulos no citoplasma dessas células e nos prolongamentos coraram fortemente em preto (Figura 2C). As colorações de AP, PAS, VK e Giemsa foram negativas e o pigmento permaneceu amarronzado. Nas lâminas não coradas pela HE, montadas após o processo de desidratação e diafanização, observou-se permanência de células com pigmento marrom enegrecido (Figura 2A, detalhe). Na IHQ observou-se forte imunomarcagem das células pigmentadas com o anticorpo MelanA em ambos os casos (Figura 2D).

DISCUSSÃO

O diagnóstico de melanose talâmica em caprinos foi realizado com base nos achados patológicos macro e microscópicos característicos, no qual o pigmento de melanina foi demonstrado e identificado através da coloração HE e Fontana-Masson e confirmado pela IHQ. Na medicina veterinária as principais ferramentas utilizadas para o diagnóstico de melanose talâmica incluem a histopatologia e microscopia eletrônica [2,19]. A alteração exclusivamente na região de tálamo dos animais, sem envolvimento de pele e outros tecidos, associada a ausência de manifestação clínica auxiliaram no diagnóstico dessa condição.

Na melanose talâmica em caprinos, em todos os casos macroscopicamente observavam-se áreas enegrecidas no tálamo que correspondiam ao acúmulo de células com pigmento intracitoplasmático amarelo

acastanhados na adventícia de pequenos vasos sanguíneos e espaço perineuronal [19].

A utilização de métodos histoquímicos como a coloração de Fontana Masson, foi fundamental para a identificação do pigmento melanina. Outras colorações histoquímicas como Azul da Prússia, PAS, Von Kossa e Giemsa são importantes para descartar alterações associadas à deposição de pigmentos, materiais e agentes infecciosos que possam apresentar características semelhantes a melanina [3,9,13,15,22].

Embora a patogenia da melanose talâmica não seja totalmente elucidada, sugere-se que está associada a um desenvolvimento disontogenético caracterizado por migração errática dos melanoblastos que, migrariam para as vias ópticas, seguem para o tálamo, uma vez que a origem embriogênica das vias ópticas e do diencéfalo é a mesma [11]. Essa explicação pode ser entendida pelo fato de que o prosencéfalo está associado ao surgimento das vesículas ópticas que originará o telencéfalo (hemisférios cerebrais) e o diencéfalo (região do tálamo, hipotálamo, epitálamo e subtálamo) [4]. O diagnóstico diferencial de maior importância é o melanoma, visto que possui características macroscópicas e microscópicas semelhantes devido a presença de grânulos de melanina. Macroscopicamente, os melanomas localizados no SNC podem apresentar-se como nódulos enegrecidos e macios [6]. Microscopicamente, essas células neoplásicas são poligonais ou fusiformes, altamente pigmentadas, moderadamente pleomórficas e as figuras de mitose são frequentes [5]. No presente caso não foram observados nódulos, apenas área focalmente extensa e enegrecida e microscopicamente os melanócitos não apresentavam critérios de malignidade como infiltração e ou invasão tecidual, pleomorfismo celular e mitoses. Outra neoplasia de importância como diferencial é o hemangiossarcoma, devido à semelhança macroscópica na coloração do tecido afetado, no entanto microscopicamente observa-se proliferação de células endoteliais formando canais vasculares preenchidos por sangue [12].

Um caso de melanose neurocutânea (MN) foi descrito em uma *Macaca cynomolgus* [7]. A MN é descrita como uma facomatose rara, caracterizada pela proliferação de células produtoras de melanina na pele e no cérebro associadas a manifestação clínica neurológica [18,20]. Microscopicamente, é caracterizada por infiltração celular pigmentada focal, caracterizados por pequenos agrupamentos de células contendo melanina

em meninges e espaços Virchow-Robin e não foram observadas características histológicas de malignidade. [7]. Na melanose talâmica a lesão é semelhante, todavia é possível fazer a diferenciação pela lesão observada na pele, bem como os sinais clínicos neurológicos presentes na melanose neurocutânea.

No SNC de humanos ocorre uma condição denominada de neuromelanina, caracterizada pela pigmentação marrom escuro no interior de neurônios do mesencéfalo, esses grânulos se acumulam com a idade e estão associados à doença de Parkinson [25]. Animais comuns de laboratório não possuem neuromelanina, entretanto, a recente introdução de um modelo de roedores exibindo uma produção dependente de idade de neuromelanina semelhante à humana permitiu, pela primeira vez, que as consequências do acúmulo progressivo de neuromelanina fossem avaliados *in vivo* [25].

Na feohifomicose cerebral em cães e gatos, observa-se macroscopicamente coloração marrom-esverdeada na região do tálamo [8]. A lesão macroscópica é análoga a da melanose talâmica, pela coloração, porém na microscopia há infiltrado inflamatório piogranulomatoso com hifas septadas pigmentadas [8]. Outra enfermidade infecciosa capaz de cursar com alteração na coloração do SNC é a listeriose [10]. Entretanto, a sintomatologia neurológica e a inflamação mononuclear associada a microabscessos observada no neurópilo são alterações característica da forma neurológica da listeriose em ruminantes [21], não observadas na melanose talâmica.

Lesões macroscópicas semelhantes são observadas na intoxicação por *Phalaris angusta* em bovinos, podendo afetar o tálamo, mesencéfalo e medula oblonga associadas a sinais clínicos caracterizados por tremores generalizados, incoordenação motora, andar rígido e hipermetria [14,24]. Microscopicamente observa-se pigmento marrom-amarelado exclusivamente no citoplasma de neurônios [24], enquanto que na melanose talâmica o pigmento é restrito aos melanócitos que se acumulam em diversas regiões do encéfalo.

A hematina ácida fórmica, também chamada de pigmento de formol, é um pigmento que se origina da ação de ácido fórmico com a hemoglobina, resultando na deposição microscópica de material granular e enegrecido sobre os tecidos [26]. Macroscopicamente o pigmento do formol não é visível nos tecidos devido sua formação após a fixação [27]. Apesar da coloração semelhante na microscopia, os grânulos enegrecidos

da hematina ocorrem principalmente em amostras de tecidos com áreas de congestão e hemorragia e fixados em formol não tamponado [1] e são inertes as principais técnicas histoquímicas utilizadas para demonstração de pigmentos, deposição de materiais e agentes infecciosos [23].

Conclui-se que a melanose talâmica é uma alteração pouco comum em caprinos. Embora tenha sido diagnosticada como achado incidental de necropsia, deve ser incluída no diagnóstico diferencial de doenças

que afetam o sistema nervoso central, sobretudo nas que cursam com alteração na coloração, e que causam alterações anatomopatológicas associadas à deposição de pigmentos.

MANUFACTURERS

¹Erviegas Química Fina e Plásticos Ltda. Indaiatuba, SP, Brazil.

²Imbralab Química e Farmacêutica Ltda. Ribeirão Preto, SP, Brazil.

³Dako - Agilent Technologies Inc. Santa Clara, CA, USA.

Declaration of interest. The authors declare that there are no conflicts of interest. The authors are solely responsible for the content and writing of the article.

REFERENCES

- 1 **Barros C.S.L. 2016.** Fígado, vias biliares e pâncreas exócrino. In: Santos R.L. & Alessi A.C. (Eds). *Patologia Veterinária*. 2.ed. Rio de Janeiro: Roca, pp.181-265.
- 2 **Bestetti V.G., Fatzer R. & Frese K. 1980.** Histologische und ultrastrukturelle Untersuchungen zur Melanosis thalami beim Tier. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde*. 122: 637-652.
- 3 **Biava J.S., Gonçalves R.C., Biondo A.W & Telles J.E.Q. 2008.** Escore total de hemossiderófagos (THS) na Hemorragia Pulmonar Induzida por Exercício (EIPH) em Cavalos Quarto de Milha. *Revista Acadêmica de Ciências Agrárias e Ambientais*. 6(3): 335-340.
- 4 **Bizzi J.W.J. & Leão H.Z. 2017.** Embriologia do sistema nervoso. In: Jotz G.P., Marrone A.C.H., Stefani M.A., Bizzi J.J. & Aquini M.G. (Eds). *Neuroanatomia Clínica e Funcional: Anatomia, Fisiologia e Patologia*. Rio de Janeiro: Elsevier, pp.1-18.
- 5 **Bradley L.N & Brian P.W. 2013.** Orelha e olhos. In: McGavin M.D. & Zachary J.F. (Eds). *Bases da Patologia em Veterinária*. 5.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, pp.774-873.
- 6 **Busato E.M., Sousa R.S., Silva-Meirelles J.R., Castro M.L., Deconto I. & Dornbuschet P.T. 2017.** Compressão de medula espinhal ocasionada por melanoma em cavalo de pelagem castanha. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 69(5): 1346-1350.
- 7 **Chen Y., Deng W., Zhu H., Li J., Xu Y., Dai X., Jia C., Kong Q., Huang L., Liu Y., Ma C., Xiao C., Liu Y., Li Q., Bezard E. & Qinet C. 2009.** The pathologic features of neurocutaneous melanosis in a cynomolgus macaque. *Veterinary Pathology*. 46(4): 773-775.
- 8 **Dillehay D.L., Ribas J.L., Newton Junior J.C. & Kwapienet R.P. 1987.** Cerebral phaeohyphomycosis in two dogs and a cat. *Veterinary Pathology*. 24(2): 192-194.
- 9 **Doucet M.Y. & Viel L. 2002.** Alveolar Macrophage Graded Hemosiderin Score from Bronchoalveolar Lavage in Horses with Exercise-Induced Pulmonary Hemorrhage and Controls. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 16(3): 281-286.
- 10 **Ecco R., Viott A.M., Graça D.L & Alessi A.C. 2016.** Sistema Nervoso. In: Santos R.L. & Alessi A.C. (Eds). *Patologia Veterinária*. 2.ed. Rio de Janeiro: Roca, pp.487-572.
- 11 **Fankhauser R. 1963.** Cerebrale Melanose bei der Ziege. *Wien Tierarztl Monatsschr*. 50: 373-384.
- 12 **Filgueira K.D., Reis P.F.C.C., Batista J.S. & Paula V.V. 2012.** Hemangiossarcoma cutâneo com metástase no sistema nervoso central de um canino. *Acta Scientiae Veterinariae*. 40(Supl 1): 1024. 7p.
- 13 **Frade M.T.S., Firmino M.O., Maia L.A., Silveira A.M., Nascimento M.J.R., Martins F.S.M., Souza A.P. & Dantas A.F.M. 2018.** Características epidemiológicas, clínico-patológicas e morfotintoriais de quatorze casos de nocardiose em cães. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 38(1): 99-106.
- 14 **Gava A., Sousa R.S., Deus M.S., Pilati C., Cristani J., Mori A. & Neves D.S. 1999.** *Phalaris angusta* (Gramineae) como causa de enfermidade neurológica em bovinos no Estado de Santa Catarina. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 19(1): 35-38.
- 15 **Guedes K.M.R. Colodel E.M., Castro M.B., Souza M.A., Arruda L.P., Dianezi D.M., Borges J.R.J. & Riet-Correa F. 2011.** Calcinose enzoótica em ruminantes no Brasil Central. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 31(8): 643-648.

- 16 Guedes R.M.C. Brown C.C., Sequeira J.L. & Reis Jr. J.L. 2016.** Sistema digestório. In: Santos R.L. & Alessi A.C. (Eds). *Patologia Veterinária*. 2.ed. Rio de Janeiro: Roca, pp.87-180.
- 17 Jones T. & Hunt R. 1983.** *Veterinary Pathology*. 5th edn. Philadelphia: Lea & Febiger, pp.79-82.
- 18 Joseph K.R., Difazio M.P., Hartman K.R. & Ney J.P. 2007.** Neurocutaneous melanosis associated with autoimmune diabetes mellitus. *Neurology*. 68(21): 1862-1863.
- 19 Kaliner G., Frese K., Fatzer R. & Fankhauser R. 1974.** Thalamic melanosis in goats. *Schweizer Archiv fur Tierheilkunde*. 116(9): 405-411.
- 20 Kasantikul V., Shuangshoti S., Pattanaruenglai A. & Kaoroptham S. 1989.** Intraspinal melanotic arachnoid cyst and lipoma in neurocutaneous melanosis. *Surgical Neurology*. 31(2): 138-141.
- 21 Prado R.G.S., Domiciano T.A.O., Paredes L.J.A., Bezerra Jr. P.S., Pereira W.L.A., Cerqueira V.D., Driemeier D. & Riet-Correa G. 2019.** Nervous form of listeriosis in buffaloes. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 39(5): 299-303.
- 22 Rech R.R. Giarretta P.R. Brown C. & Barros C.S.L. 2018.** Gross and histopathological pitfalls found in the examination of 3,338 cattle brains submitted to the BSE surveillance program in Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 38(11): 2099-2108.
- 23 Rolls G.O., Farmer N.J. & Hall J.B. 2008.** Fixation Artifacts. In: Rolls G.O., Farmer N.J. & Hall J.B. (Eds). *Artifacts in histological and cytological preparations*. Melbourne: Leica Microsystems, pp.21-27.
- 24 Sousa R. & Irigoyen L.F. 1999.** Intoxicação experimental por *Phalaris angusta* (Gramineae) em bovinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 19(3/4): 116-122.
- 25 Vila M. 2019.** Neuromelanin, aging, and neuronal vulnerability in Parkinson's disease. *Movement Disorders*. 34(10): 1440-1451.
- 26 Werner P.R. 2011.** Acúmulos ou Deposições de Substâncias. In: Werner P.R. (Ed). *Patologia Geral Veterinária*. São Paulo: Roca, pp.103-144.
- 27 Zachary J.F. 2013.** Sistema Nervoso. In: McGavin M.D. & Zachary J.F. (Eds). *Bases da Patologia em Veterinária*. 5.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, pp.774-873.