

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

TESE

DOENÇA DO ARMAZENAMENTO LISOSSOMAL
INDUZIDA POR *Sida planicaulis* Cav. (Malvaceae) EM
OVINOS NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO

André Marandola dos Santos

2018



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

DOENÇA DO ARMAZENAMENTO LISOSSOMAL INDUZIDA
POR *Sida planicaulis* Cav. (Malvaceae) EM OVINOS NO ESTADO
DO RIO DE JANEIRO

André Marandola dos Santos

Sob a orientação da professora
Ticiano do Nascimento França

e co-orientação dos professores
Paulo Vargas Peixoto e
Aníbal Guillermo Armién

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Medicina Veterinária no Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Área de concentração em Patologia Animal.

Seropédica, RJ
Junho 2018

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

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

S237d

Santos, Andre Marandola, 1989-
Doença do armazenamento lisossomal induzida por
Sida planicaulis Cav. (Malvaceae) em ovinos no Estado
do Rio de Janeiro / Andre Marandola Santos. - 2018.
87 f.: il.
Orientadora: Ticiano do Nascimento França.
Coorientador: Paulo Vargas Peixoto.
Tese(Doutorado). -- Universidade Federal Rural do
Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em Medicina
Veterinária, 2018.
1. Patologia Animal. 2. Ovinos. 3. Neurotoxicose.
4. Plantas tóxicas. 5. Lectino-histoquímica. I. França,
Ticiano do Nascimento, 1974-, orient. II. Peixoto,
Paulo Vargas, 1958-, coorient. III Universidade
Federal Rural do Rio de Janeiro. Programa de Pós
Graduação em Medicina Veterinária. IV. Título.

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

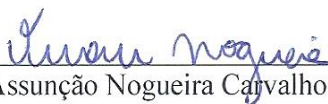
ANDRÉ MARANDOLA DOS SANTOS

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Medicina Veterinária, no Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, área de Concentração em Patologia Animal.

TESE APROVADA EM 04/05/2018



Ticiania do Nascimento França (Ph. D) UFRRJ
(orientador)



Vivian de Assunção Nogueira Carvalho (Ph. D) UFRRJ



Aparecida Alves do Nascimento (Ph. D) UFRRJ



Michel José Sales Abdalla Helayel (Ph. D) UFF



Luis Armando Calvão Brust (Ph. D) CESVA

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais e irmão, pelo apoio e incentivo a sempre procurar crescimento através dos estudos e por me permitirem trilhar esse caminho amparado pelo amor recebido.

À Ana Carolina, minha companheira, amiga e namorada que foi alento nos momentos difíceis em que tudo parecia dar errado e motivo de muitas alegrias.

Aos grandes amigos que fiz durante minha jornada na pós-graduação, Mariana d'Avila, Samay Zillmann, Ana Paula Pires, Mariana Correia, Gabriela Cid, Ileana Miranda, Juliana Rocha, Taïna Gonçalves, Bartolomeu Neves, Vivian Nogueira e Thiago Costa. A vida seria insuportável sem vocês.

Aos amigos André Vinicius, André Batisti, Guilherme Arnoldi e Odon Silvares, que compreenderam a frequente ausência nos momentos em que tive que cumprir com minhas obrigações acadêmicas e sempre apoiaram minhas decisões em todos esses muitos anos de convivência.

À minha orientadora, Ticiano do Nascimento França, que me aceitou, dividiu sua pesquisa comigo e permitiu meu crescimento profissional e intelectual dentro da Patologia em todas as fases da minha formação acadêmica.

Às professoras Vivian Nogueira e Marilene Brito que me orientaram em outras ocasiões e possibilitaram meus acertos, corrigiram meus erros e me deram ferramentas para que estes não mais ocorressem.

Ao ilustre professor Carlos Tokarnia (*in memoriam*) que, mesmo após sua partida, ainda nos ensina todos os dias com sua vida de pesquisa e dedicação à Patologia Veterinária.

Ao Professor Paulo Vargas Peixoto, em quem encontrei uma inspiração infindável. Um exemplo de pesquisador, professor e patologista. Jamais conseguirei ser grato o suficiente por todas as ideias, trabalhos, orientações, aulas, amizade e churrascos.

A todos aqueles que passaram por minha jornada: colegas de turma, de trabalho, de pesquisa ou em momentos de descontração. Fiz questão de absorver tudo que podia de cada um para a construção de quem sou.

RESUMO

SANTOS, André Marandola. **Doença do armazenamento lisossomal induzida por *Sida planicaulis* Cav. (Malvaceae) em ovinos no Estado do Rio de Janeiro.** 2018. 73p. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2018.

Descreve-se um surto de doença do armazenamento lisossomal em ovinos induzida pelo consumo de *Sida planicaulis* no Estado do Rio de Janeiro. A ingestão de *S. planicaulis* Cav. (*S. carpinifolia*) é responsável pelo aparecimento desta enfermidade em bovinos, equinos, caprinos, ovinos e cervídeos cativos que ocorre, de forma natural, quando a planta predomina na pastagem e há baixa oferta de outras forragens. O principal composto tóxico desta planta, a swainsonina, inibe atividade enzimática de α -manosidase I e II que redundam no armazenamento de glicoproteínas no interior de lisossomos. Este acúmulo de substâncias promove compressão, deficiência no transporte intracitoplasmático e finalmente degeneração em diversos tecidos, dentre os quais o mais afetado é o nervoso. O exame físico dos animais afetados revelou déficit proprioceptivo, incoordenação motora, cambaleio à movimentação e tremores de intenção e na cabeça. Houve aumento acentuado dos tremores em cabeça e membros, com posterior dificuldade de se manter em estação e queda ao solo após a realização do “Head-Raising Test”. A histopatologia evidenciou severa distensão de neurônios de Purkinje, com aspecto espumoso e eventual cariólise ou cariopicnose e intensa vacuolização de células acinares do pâncreas e foliculares da tireoide. Adicionalmente, foram observadas vacuolizações em grandes corpos de neurônios com dissolução do citoplasma associada à marcada proliferação de astrócitos morfológicamente atípicos. Notou-se também múltiplos esferoides axonais de variados tamanhos. O exame lectino-histoquímico positivo para as lectinas Con A, WGA e sWGA foi capaz de caracterizar a enfermidade como uma glicoproteínose. A avaliação ultraestrutural evidenciou numerosos vacúolos de até 2,5 μ m de diâmetro, delimitados por membranas de até 20nm de espessura em células acinares do pâncreas. O diagnóstico da intoxicação por *S. planicaulis* foi estabelecido através dos dados epidemiológicos, achados clínico-patológicos e confirmados pelas avaliações lectino-histoquímica e ultraestrutural. A intoxicação natural por *S. planicaulis* em ovinos ainda não havia sido descrita no estado do Rio de Janeiro.

Palavras-chave: Armazenamento, swainsonina, lectinas, ovinos

ABSTRACT

SANTOS, André Marandola. **Lysosomal storage disease induced by *Sida planicaulis* Cav. (Malvaceae) in sheep in the state of Rio de Janeiro.** 2018. 73p. Thesis (Doctorate in Veterinary Medicine, Animal Pathology). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2018.

This paper describes an outbreak of lysosomal storage disease in sheep induced by *Sida planicaulis* in the state of Rio de Janeiro. The consumption of *S. planicaulis* is responsible for this disease in cattle, horses, goat, sheep and captive deer, which occurs naturally, when the plant is abundant and there is shortage of other forage. The main toxic compound in this plant, Swainsonine, inhibits α -mannosidase I e II enzymatic activity and causes glycoprotein storage in lysosomes. The storage provokes compression, deficiency in intracytoplasmic transport, and finally, degenerative changes in various tissues, in which, nervous system is the most affected. Physical examination of the affected animals revealed proprioceptive deficit, motor incoordination, staggers and, neck and head intention tremors. 'Head-Raising Test' showed marked increase of head and limb tremors, with sequential difficulty in balance and tumble. Histopathology revealed severe distension of Purkinje cells, with foamy appearance, which eventually progressed to karyolysis and pyknosis, and intense vacuolization of pancreatic acinar and thyroid follicular cells. Additionally, there was vacuolization in neuronal bodies with dissolution of cytoplasm associated with marked proliferation of morphologically atypical astrocytes. Multiple axonal spheroids of variable sizes were noted. Positive reaction in lectin-histochemistry for lectins Con A, WGA, and sWGA was able to characterize the disease as a glycoproteinosis. Ultrastructural evaluation of pancreas sections evidenced numerous vacuoles up to 2,5 μ m in diameter, circled by 20nm wide membranes in acinar cells. In the present report, diagnosis of *S. planicaulis* toxicosis was established by epidemiological data, clinical and pathological findings, and confirmed by lectin-histochemistry and ultrastructural evaluation. Natural toxicosis in sheep by *Sida planicaulis* has not yet been described in the state of Rio de Janeiro.

Key words: Storage, swainsonin, lectins, sheep.

LISTA DE FIGURAS

	PÁGINA
Figura 1	Doença do armazenamento lisossomal induzida por <i>Sida planicaulis</i> Cav. (<i>S. carpinifolia</i>) (Malvaceae) em ovinos no estado do Rio de Janeiro. Localização da propriedade por imagem de satélite (Google Maps). 32
Figura 2	Doença do armazenamento lisossomal induzida por <i>Sida planicaulis</i> Cav. (<i>S. carpinifolia</i>) (Malvaceae) em ovinos no estado do Rio de Janeiro. Parte dos ovinos de diferentes idades alocados no mesmo lote. 32
Figura 3	Doença do armazenamento lisossomal induzida por <i>Sida planicaulis</i> Cav. (<i>S. carpinifolia</i>) (Malvaceae) em ovinos no estado do Rio de Janeiro. <i>S. planicaulis</i> na propriedade onde ocorreu o surto. Nova Iguaçu, RJ. 33
Figura 4	Doença do armazenamento lisossomal induzida por <i>Sida planicaulis</i> Cav. (<i>S. carpinifolia</i>) (Malvaceae) em ovinos no estado do Rio de Janeiro. Pasto destinado à forragicultura desprovido de forragem para alimentação do rebanho. Nova Iguaçu, RJ. 34
Figura 5	Doença do armazenamento lisossomal induzida por <i>Sida planicaulis</i> Cav. (<i>S. carpinifolia</i>) (Malvaceae) em ovinos no estado do Rio de Janeiro. Capineira de capim-elefante em terreno anexo à propriedade. Nova Iguaçu, RJ. 35
Figura 6	Doença do armazenamento lisossomal induzida por <i>Sida planicaulis</i> Cav. (<i>S. carpinifolia</i>) (Malvaceae) em ovinos no estado do Rio de Janeiro. Pasto severamente invadido por <i>Sida planicaulis</i> Cav. (<i>carpinifolia</i>). Nova Iguaçu, RJ. 36
Figura 7	Doença do armazenamento lisossomal induzida por <i>Sida planicaulis</i> Cav. (<i>S. carpinifolia</i>) (Malvaceae) em ovinos no estado do Rio de Janeiro. Detalhe da figura anterior. 37
Figura 8	Doença do armazenamento lisossomal induzida por <i>Sida planicaulis</i> Cav. (<i>S. carpinifolia</i>) (Malvaceae) em ovinos no estado do Rio de Janeiro. Ficha de catálogo do Herbário da UFRRJ. 38
Figura 9	Doença do armazenamento lisossomal induzida por <i>Sida planicaulis</i> Cav. (<i>S. carpinifolia</i>) (Malvaceae) em ovinos no estado do Rio de Janeiro. Ovino 2. Animal com dificuldade de se levantar após decúbito. 39

Figura 10	Doença do armazenamento lisossomal induzida por <i>Sida planicaulis</i> Cav. (<i>S. carpinifolia</i>) (Malvaceae) em ovinos no estado do Rio de Janeiro. Realização do HRT no ovino 4.	40
Figura 11	Doença do armazenamento lisossomal induzida por <i>Sida planicaulis</i> Cav. (<i>S. carpinifolia</i>) (Malvaceae) em ovinos no estado do Rio de Janeiro. Ovino 4. Animal com membros abduzidos.	42
Figura 12	Doença do armazenamento lisossomal induzida por <i>Sida planicaulis</i> Cav. (<i>S. carpinifolia</i>) (Malvaceae) em ovinos no estado do Rio de Janeiro. Ovino 4. Sequencia de sinais após HRT (andar cambaleante, com membros pélvicos em posição atípica).	42
Figura 13	Doença do armazenamento lisossomal induzida por <i>Sida planicaulis</i> Cav. (<i>S. carpinifolia</i>) (Malvaceae) em ovinos no estado do Rio de Janeiro. Ovino 4. Cerebelo. Tumefação e microvacuolização de neurônios da camada de Purkinje. HE, obj. 63x.	43
Figura 14	Doença do armazenamento lisossomal induzida por <i>Sida planicaulis</i> Cav. (<i>S. carpinifolia</i>) (Malvaceae) em ovinos no estado do Rio de Janeiro. Ovino 1. Tálamo. Astrócitos atípicos com núcleos indentados (setas) e esferoides axonais (cabeças de seta). HE, Obj. 63x (aproximação).	44
Figura 15	Doença do armazenamento lisossomal induzida por <i>Sida planicaulis</i> Cav. (<i>S. carpinifolia</i>) (Malvaceae) em ovinos no estado do Rio de Janeiro. Ovino 1. Bulbo. Astrócitos com múltiplos núcleos em processo de amitose (seta). HE, obj. 63x.	45
Figura 16	Doença do armazenamento lisossomal induzida por <i>Sida planicaulis</i> Cav. (<i>S. carpinifolia</i>) (Malvaceae) em ovinos no estado do Rio de Janeiro. Ovino 4. Medula espinhal. Neurônios do corno ventral da medula com tumefação e microvacuolização intracitoplasmática. HE, obj. 20x.	45
Figura 17	Doença do armazenamento lisossomal induzida por <i>Sida planicaulis</i> Cav. (<i>S. carpinifolia</i>) (Malvaceae) em ovinos no estado do Rio de Janeiro. Ovino 1. Bulbo. Necrose neuronal (setas), alterações astrocíticas e esferoides axonais (cabeças de seta). HE, obj. 20x.	46

Figura 18	Doença do armazenamento lisossomal induzida por <i>Sida planicaulis</i> Cav. (<i>S. carpinifolia</i>) (Malvaceae) em ovinos no estado do Rio de Janeiro. Ovino 4. Cerebelo. Integridade das bainhas de mielina evidenciadas em azul. LFB e CV, obj. 10x.	47
Figura 19	Doença do armazenamento lisossomal induzida por <i>Sida planicaulis</i> Cav. (<i>S. carpinifolia</i>) (Malvaceae) em ovinos no estado do Rio de Janeiro. Ovino 4. Cerebelo. Perda de elementos celulares em neurônios de Purkinje. LFB e CV, obj. 40x.	47
Figura 20	Doença do armazenamento lisossomal induzida por <i>Sida planicaulis</i> Cav. (<i>S. carpinifolia</i>) (Malvaceae) em ovinos no estado do Rio de Janeiro. Ovino 4. Pâncreas. Vacuolização intracitoplasmática de células acinares. HE, obj. 63x.	48
Figura 21	Doença do armazenamento lisossomal induzida por <i>Sida planicaulis</i> Cav. (<i>S. carpinifolia</i>) (Malvaceae) em ovinos no estado do Rio de Janeiro. Ovino 4. Tireoide. Vacuolização de células foliculares. HE, obj. 63x.	48
Figura 22	Doença do armazenamento lisossomal induzida por <i>Sida planicaulis</i> Cav. (<i>S. carpinifolia</i>) (Malvaceae) em ovinos no estado do Rio de Janeiro. Ovino 4. Cerebelo. Forte reatividade para Con A em neurônios de Purkinje. Lectino-histoquímica. Obj. 63x.	50
Figura 23	Doença do armazenamento lisossomal induzida por <i>Sida planicaulis</i> Cav. (<i>S. carpinifolia</i>) (Malvaceae) em ovinos no estado do Rio de Janeiro. Ovino 4. Forte reatividade para Con A em neurônios de Purkinje (setas) e em neurônios de Golgi (cabeças de seta). Lectino-histoquímica. Obj. 40x.	50
Figura 24	Doença do armazenamento lisossomal induzida por <i>Sida planicaulis</i> Cav. (<i>S. carpinifolia</i>) (Malvaceae) em ovinos no estado do Rio de Janeiro. Ovino 2. Cerebelo. Forte reatividade para WGA em neurônios de Purkinje. Lectino-histoquímica. Obj. 40x	51
Figura 25	Doença do armazenamento lisossomal induzida por <i>Sida planicaulis</i> Cav. (<i>S. carpinifolia</i>) (Malvaceae) em ovinos no estado do Rio de Janeiro. Ovino 3. Pâncreas. Moderada reatividade para WGA em células acinares. Lectino-histoquímica. Obj. 40x.	51

- Figura 26** Doença do armazenamento lisossomal induzida por *Sida planicaulis* Cav. (*S. carpinifolia*) (Malvaceae) em ovinos no estado do Rio de Janeiro. Pâncreas. Severa vacuolização intracitoplasmática. Corte semi-fino, Azul de metileno (Barra = 100µm). 52
- Figura 27** Doença do armazenamento lisossomal induzida por *Sida planicaulis* Cav. (*S. carpinifolia*) (Malvaceae) em ovinos no estado do Rio de Janeiro. Pâncreas. Microvacuolização em células acinares, contendo material osmiofílico granular. MET, 7500x (Barra = 2µm). 53
- Figura 28** Doença do armazenamento lisossomal induzida por *Sida planicaulis* Cav. (*S. carpinifolia*) (Malvaceae) em ovinos no estado do Rio de Janeiro. Pâncreas. Vacúolo lisossomal com membrana em camada única de até 20nm. MET, 15000x (Barra = 200nm). 53

LISTA DE ABREVIACOES

DAL	Doença do Armazenamento Lisossomal
HE	Hematoxilina e Eosina
HRT	Head-Raising Test
LFB	Luxol Fast Blue
CV	Cresil-Violeta
DAB	Diaminobenzidina
Con A	<i>Concanavalia ensiformis</i> agglutinin
DBA	<i>Dolichos biflorus</i> agglutinin
SBA	<i>Glycine max</i> (Soybean) agglutinin
PNA	<i>Arachis hypogaea</i> (peanut) agglutinin
RCA-I	<i>Ricinus communis</i> agglutinin-I
UEA-I	<i>Ulex europaeus</i> agglutinin-I
WGA	<i>Triticum vulgare</i> (Wheat germ) agglutinin
sWGA	Succinylated- <i>Triticum vulgare</i> (Wheat germ) agglutinin
GSL	<i>Griffonia (Bandeiraea) simplicifolia</i> agglutinin
SJA	<i>Sophora japonica</i> agglutinin
PSA	<i>Pisum sativum</i> agglutinin
PHA-E	<i>Phaseolus vulgaris</i> Erythroagglutinin
PHA-L	<i>Phaseolus vulgaris</i> Leucoagglutinin
LCA	<i>Lens culinaris</i> agglutinin
MET	Microscopia eletrnica de transmissão
PBS	Tampo fosfato
SAP	Setor de Anatomia Patológica
SNC	Sistema nervoso central
UFRRJ	Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. Doenças do armazenamento lisossomal	3
2.2. Ocorrência	4
2.3. Patogênese	4
2.4. Hereditárias	5
2.4.1. Gangliosidoses	5
2.4.2. Glicosidoses	9
2.4.3. Mucopolissacaridoses	11
2.5. Glicoproteinoses causadas por plantas no Brasil	14
2.5.1. Sinais clínicos	15
2.5.2. Diagnóstico	15
2.5.3. Alterações macroscópicas	15
2.5.4. Histopatologia	16
2.5.5. Lectino-histoquímica	17
2.5.6. Ultraestrutura	18
2.6. Agentes que causam quadros semelhantes em animais de produção	19
2.6.1. Outras formas de doença de armazenamento	19
2.6.2. Síndromes tremorgênicas	21
2.6.3. Outras neurotoxicoses	22
2.7. Tratamento e profilaxia	24
2.7.1. Aversão condicionada	24
3 MATERIAL E MÉTODOS	26
3.1. Local de ocorrência do surto	26
3.2. Identificação botânica	26
3.3. Visitas à propriedade	26
3.4. Exames físicos	27
3.5. Necropsia e histopatologia	27
3.6. Histoquímica	28
3.7. Lectino-histoquímica	28
3.8. Imuno-histoquímica	29
3.9. Microscopia eletrônica de transmissão	30
4 RESULTADOS	31
4.1. Dados epidemiológicos	31
4.2. Identificação botânica	37
4.3. Dados clínicos	38
4.4. Necropsia	43
4.5. Histopatologia e histoquímica	43
4.6. Lectino-histoquímica	49
4.7. Imuno-histoquímica	52
4.8. Microscopia eletrônica de transmissão	52
5 DISCUSSÃO	54

6 CONCLUSÕES

59

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

60

1. INTRODUÇÃO

As doenças do armazenamento lisossomal adquiridas, em medicina veterinária, tem significativa importância para animais de produção. No Brasil, há um grupo de plantas responsáveis por provocar a doença, sobretudo em ruminantes, que acarreta prejuízos econômicos por diminuição da produção, baixo ganho de peso e morte dos animais. Em todas as regiões do país já foram diagnosticadas intoxicações por plantas deste grupo. Na Região Sul, a principal planta causadora de doença do armazenamento lisossomal é *Sida planicaulis* Cav. (*S. carpinifolia*)¹.

Sida planicaulis é uma planta arbustiva, invasora de pastagem, amplamente distribuída pelo Brasil e identificada como causadora de glicoproteinose em animais de produção. A intoxicação natural por *S. planicaulis* já foi descrita na Região Sul em caprinos, ovinos, bovinos, cervídeos e equinos. Na Região Sudeste há menção à ocorrência da intoxicação por esta planta em caprinos (GODOY et al., 2005) e em ovinos (PAGANINI FILHO et al., 2008). Adicionalmente, em um zoológico no Estado do Rio de Janeiro foi descrita a intoxicação em veados Sambar cativos (ANJOS et al., 2016).

Os sinais clínicos observados na intoxicação por *S. planicaulis* consistem, principalmente, em tremores de intenção, ataxia, andar cambaleante, letargia, déficit proprioceptivo, decúbito e morte. À aplicação do “Head-Raising Test” (HRT), os sinais se exacerbam e, por vezes, os animais caem ao solo. Os achados de necropsia são inconclusivos, mas a histopatologia revela tumefação e vacuolização características em neurônios de Purkinje, células acinares do pâncreas e foliculares da tireoide, ratificadas pelo exame de microscopia eletrônica que revela distensão dos lisossomos nestas células (DRIEMEIER et al., 2000)

Em uma propriedade dedicada à criação de ovinos de corte em regime extensivo no município de Nova Iguaçu verificou-se um surto de doença neurológica. Na propriedade, havia manejo inadequado das pastagens, com consequente diminuição da quantidade de forragem oferecida e grande quantidade de *S. planicaulis* nos pastos, muitas vezes com sinais de ingestão pelos animais. Até o momento só havia uma nota

¹ *Sida carpinifolia* é sinônimo heterotípico de *Sida planicaulis* Cav., atualmente considerado o nome correto para a referida espécie (BOVINI, 2015)

em congresso sobre a intoxicação espontânea por *S. planicaulis* em ovinos na Região Sudeste (São Paulo) (PAGANINI FILHO et al., 2008).

O presente trabalho descreve um surto de intoxicação por *S. planicaulis* em ovinos no estado do Rio de Janeiro com o objetivo de caracterizar os principais dados epidemiológicos e clínico-patológicos da intoxicação espontânea, como forma de contribuir para o estabelecimento do diagnóstico e diagnóstico diferencial, fisiopatogenia, controle e profilaxia desta neurotoxicose.

2. REVISÃO DE LITERATURA

No Brasil existem numerosas plantas capazes de induzir quadro clínico-patológico predominantemente associado a distúrbios neurológicos. Algumas dessas plantas contêm toxinas que provocam alterações na neurotransmissão sem, contudo, induzirem a modificações morfológicas. Outras produzem lesões localizadas no sistema nervoso central ou periférico e podem cursar com necrose ou degeneração do tecido nervoso. Dentre as plantas causadoras de desordens neurológicas, as plantas causadoras de armazenamento lisossomal constituem um importante grupo, com ampla distribuição pelo país e podem afetar bovinos (FURLAN et al., 2008, 2009), ovinos (SEITZ et al., 2005; ARMIEN et al., 2011), caprinos (DRIEMEIER et al., 2000; COLODEL et al., 2002; BARBOSA et al., 2006; DANTAS et al., 2007; ARMIEN et al., 2007), equídeos (LORETTI et al., 2003; BASSUINO et al., 2017) e cervídeos (ANJOS et al., 2016).

2.1. Doenças do armazenamento lisossomal

Doenças do armazenamento lisossomal (DAL) compreendem um grande grupo de enfermidades provocadas pela deficiência de proteínas importantes em vias catabólicas com acúmulo substancial de compostos em lisossomos (GIESELMAN, 1995). Um defeito genético ou adquirido em uma enzima lisossomal, seus co-fatores, em proteínas de membrana lisossomal ou envolvidas no transporte e modificação dos seus conteúdos acarretará em problemas na função dos lisossomos. Desta forma, moléculas parcialmente quebradas irão se acumular no interior, provocando as DAL. A hipertrofia progressiva dos sistemas lisossomais pode levar a diversos sintomas, dependendo do tipo de proteína defeituosa, natureza do material acumulado e células em que isso ocorre (WINCHESTER et al., 2000). Estas podem ser classificadas de acordo com a etiologia e com o tipo de via afetada ou substrato acumulado (GIESELMAN, 1995). Em algumas DAL, a deficiência enzimática pode determinar o acúmulo de mais de um substrato e inativar mais de uma via metabólica em virtude de algumas destas enzimas agirem em certos radicais comuns a diferentes substâncias (GIESELMAN, 1995).

2.2. Ocorrência

As DAL já foram descritas em humanos e animais. Acredita-se que dentre todas as DAL que ocorrem em humanos, ocorra um caso a cada 7000~8000 nascimentos, principalmente em decorrência de desordens genéticas (WINCHESTER et al., 2000). Em animais domésticos, as DAL têm maior importância no seu caráter adquirido, acometem animais de todas as faixas de idade e diversas espécies de plantas tóxicas são responsáveis por estes quadros clínicos. As intoxicações foram comprovadamente atribuídas à ingestão de plantas dos gêneros *Astragalus* e *Oxytropis*, que determinavam um quadro de “locoísmo” nos Estados Unidos, entretanto, relatos que associavam a intoxicação em regiões em que a planta crescia abundantemente datam do século XIX (MARSH, 1909). Posteriormente, plantas de outros gêneros foram identificadas como causadoras de síndromes similares ao locoísmo, como as do gênero *Swainsona* (DORLING; HUXTABLE; VOGEL, 1978), *Trachyandra* (HUXTABLE et al., 1987), *Solanum* (RECH et al., 2006; REGO et al., 2012), *Ipomoea* (ARMIÉN et al., 2007) e *Sida* (DRIEMEIER et al., 2000; COLODEL et al., 2002a; SEITZ et al., 2005a, 2005b; FURLAN et al., 2008).

2.3. Patogênese

O sistema lisossomal é o principal mecanismo intracelular de catabolismo de macromoléculas em células eucarióticas e participa ativamente no processamento de diversos metabólitos (WINCHESTER et al., 2000). O catabolismo ocorre por fusão de vacúolos digestivos com os lisossomos ou por englobamento direto, todos em meio ácido mantido por uma bomba de próton na membrana lisossomal. No interior, enzimas hidrolíticas vão promover a quebra de diversas macromoléculas a seus componentes monoméricos capazes de atravessar as membranas lisossomais para o citoplasma. A inatividade de alguma dessas hidrolases em células que carregam defeitos genéticos na própria enzima, seus co-fatores ou proteínas da membrana lisossomal e, até mesmo por substâncias inibidoras de suas atividades, acarretará em acúmulos das macromoléculas e subsequente hiperplasia do sistema lisossomal intracelular (WINCHESTER et al., 2000). O acúmulo da macromolécula gera um transporte intracelular ineficiente e o tipo de substância acumulada determina a categoria de DAL, que pode ser uma lipidose, glicoproteinose ou mucopolissacaridose

(GIESELMANN, 1995). Um defeito genético que modifique estruturalmente regiões similares a várias enzimas ou que afete enzimas com macromoléculas-alvo diferentes pode determinar o acúmulo de mais de uma substância no interior dos vacúolos lisossomais (WINCHESTER et al., 2000).

De acordo com o tipo celular mais afetado, há diferentes formas de apresentação clínica da doença (WINCHESTER et al., 2000). Em humanos, já foram descritos mais de 40 tipos de DAL, predominantemente correlacionadas a mutações genéticas, diversamente das doenças em animais domésticos que, embora sejam descritos casos de DAL hereditárias (DONNELLY et al., 1973), são na grande maioria adquiridas (DORLING; HUXTABLE; VOGEL, 1978; DRIEMEIER et al., 2000; ARMIÉN et al., 2007).

2.4. Hereditárias

As DAL hereditárias, mais comuns em humanos podem ocorrer em qualquer fase da vida e há relação inversa entre severidade dos sinais e idade de aparecimento da doença clínica, nas quais as doenças infantis são mais graves, juvenis são de severidade intermediária e as que ocorrem na fase adulta tendem a ser mais brandas (GIESELMANN, 1995).

2.4.1. Gangliosidoses

As gangliosidoses são doenças do armazenamento decorrentes do acúmulo de gangliosídeos, uma classe de glicoesfingolipídeos de membrana responsáveis por sinalizações transmembrana e regulação de proteínas de membrana, que se expressam em maior quantidade nos neurônios (PALMANO et al., 2015; LAWSON; MARTIN, 2016). Em humanos e animais ocorre uma condição rara, na qual a deficiência de β -N-acetilhexosaminidases condiciona um acúmulo lisossomal de gangliosídeos GM₂. Este complexo enzimático é composto por 3 isoenzimas, cada uma composta por duas subunidades (α e β): HexA($\alpha\beta$), HexB($\beta\beta$) e HexS($\alpha\alpha$). Humanos com doença de Tay-Sachs apresentam deficiência da subunidade α e com doença de Sandhoff apresentam deficiência da subunidade β (LAWSON; MARTIN, 2016). Independente da variante, as doenças podem se manifestar em diferentes fases da vida, com acometimento mais comum em fase infantil (até 1 ano de idade). Crianças nascem normais e apresentam os

primeiros sintomas aos 3 a 5 meses de idade, com reflexos de susto aumentados, déficits motores, fraqueza progressiva e hipotonia, deterioração da visão, responsividade e desenvolvimento diminuídos progredindo para convulsões e levando a morte em 3 a 5 anos (BLEY et al., 2011). As alterações macroscópicas no cérebro destes pacientes podem variar de leve a marcada atrofia nos hemisférios telencefálicos, alargamento de giros e espessamento de meninges. A microscopia revela distensão neuronal, desmielinização, dendritos atróficos, infiltração por macrófagos preenchidos por material armazenado (LAWSON; MARTIN, 2016). A ultraestrutura destes neurônios revela diversos corpúsculos membranosos citoplasmáticos que aparecem como estruturas anelares concêntricas eletrodensas no interior dos lisossomos. Fora do SNC, hepatomegalia, anormalidades oculares e modificações estruturais de válvulas cardíacas e musculatura esquelética foram descritas, assim como a presença de macrófagos espumosos na medula óssea.

A gangliosidose GM₂ já foi descrita em camundongos, gatos, cães e ovelhas que servem como modelos experimentais para a doença em humanos. Camundongos apresentam tanto a variante de Tay-Sachs, como de Sandhoff, e diferente do que ocorre em humanos, há grande variação entre as apresentações clínicas, com poucas alterações clínicas na primeira doença e severa sintomatologia neurológica na segunda, com diminuição da expectativa de vida média para apenas 4 meses. Esta diferença se dá pela capacidade dos camundongos em converter os glicosídeos armazenados da via da hexosaminidase A para a via da hexosaminidase B na doença de Tay-Sachs (YUZIUK et al., 1998). Em felinos, apenas a variante de Sandhoff foi observada, com aparecimento dos sinais clínicos entre a 4^a e 7^a semana de vida, com hipermetria, tremores de cabeça, ataxia e paresia que progredem para convulsões e morte, em média, aos 6 meses de vida (CORK; MUNNELL; LORENZ, 1978). Ovelhas da raça Jacob são utilizadas como modelo experimental para observação da variante Tay-Sachs da gangliosidose GM₂, por serem a única espécie em que os sinais clínicos se assemelham aos ocorridos em humanos e pelo volume cerebral maior, similar ao de humanos (LAWSON; MARTIN, 2016).

Em cães, acúmulos intracitoplasmáticos de gangliosídeos GM₁ foram identificados como causadores de DAL decorrentes da deficiência da enzima β -galactosidase. Os principais sinais clínicos observados em cães são ataxia progressiva, paraparesia, regurgitação e tremores de intenção (WHITFIELD et al., 2000). Bovinos

apresentam quadro semelhante, caracterizado por apatia, lentidão, relutância ao movimento e ataxia (DONNELLY; SHEAHAN; ROGERS, 1973). A doença é herdada por genes autossômicos recessivos e o diagnóstico é usualmente feito por uma associação dos sinais clínicos, análise da progênie e detecção de níveis diminuídos de β -galactosidase em leucócitos e nos tecidos. O diagnóstico confirmatório das gangliosidoses é obtido através da visualização de neurônios finamente vacuolizados e espumosos em amostras histopatológicas, e de vesículas contendo material granular amorfo no interior de estruturas lamelares concêntricas pela ultraestrutura do sistema nervoso central. Para determinar o tipo de gangliosídeo acumulado utilizou-se a espectrometria de massa tandem com ionização por eletrospray (WHITFIELD et al., 2000). Em humanos, a gangliosidose GM₁ pode se apresentar em 3 tipos, epidemiologicamente e clinicamente distintos. O tipo 1 é observado em crianças que podem sobreviver até 3 anos de idade e apresentam características faciais grosseiras, hepatoesplenomegalia e morfologia esquelética displásica. O tipo 2 caracteriza-se pelo acometimento no fim da infância e início da juventude com depósito neuronal dos gangliosídeos e de ceróide-lipofuscina, enquanto o tipo 3 é observado em adultos com disartria, distúrbios de marcha, distonia e baixa acuidade visual (CALLAHAN, 1999).

A doença de Morquio, assim como a gangliosidose GM₁ é decorrente da deficiência da β -galactosidase provocada por um gene autossômico recessivo, entretanto o resultado desta deficiência é uma mucopolissacaridose. Os pacientes apresentam acúmulo lisossomal de keratosulfato, um glicosaminoglicano importante na formação da cartilagem e ossos (FUNDERBURGH, 2000). Com a indisponibilidade desta molécula, os sinais clínicos dessa deficiência são associados à displasia epifisial, com baixa estatura, pronunciamento esternal e hipoplasia do processo odontoide (CALLAHAN, 1999). As primeiras descrições da doença não relatavam diminuição de inteligência entre os afetados e acreditou-se que não havia qualquer sinal neurológico associado, porém em novas descrições da doença observou-se retardo mental como característica familiar associada à doença (GIUGLIANI et al., 1987).

A galactosialidose é resultado de uma deficiência em duas enzimas lisossomais, a β -galactosidase e a Neuraminidase 1. Isto ocorre de forma secundária a defeitos na proteína protetora-catepsina A (PPCA), responsável por impedir a degradação lisossomal de Neuraminidase 1 e β -galactosidase (ANNUNZIATA; DAZZO, 2016). Pacientes humanos com galactosialidose podem apresentar fenotipicamente 3 quadros

clínico-patológicos distintos que podem ocorrer nas fases: infantil (até 3 meses de idade), com aumento do tamanho das vísceras, displasia esquelética, anormalidades oculares, envolvimento neurológico e falha renal e cardíaca, com evolução de até 1 ano de idade; infantil tardia, na qual os sinais aparecem nos primeiros 2 anos de vida e podem progredir lentamente até a vida adulta, com anormalidades faciais, oculares, ósseas, cardíacas, hepatoesplenomegalia, atrofia muscular e diminuição de acuidade auditiva. Problemas respiratórios e renais podem ocorrer com a progressão da doença; e a forma juvenil a adulta, mais comum, sobretudo em japoneses que além dos sinais da forma juvenil, também apresentam manifestações neurológicas (convulsões, dificuldade cognitiva e retardo mental) (ANNUNZIATA; DAZZO, 2016). A galactosialidose em animais foi descrita em uma cadela de 5 anos da raça Shipercke com sinais progressivos de nistagmo, hipermetria e reflexos exagerados. A análise do pedigree mostrou co-sanguinidade. Severa vacuolização e perda neuronal foi observada no cerebelo, hipocampo, cérebro e medula espinhal que, ao exame lectino-histoquímico revelaram intensa reatividade para RCA, WGA e ConA, indicando resíduos de β -galactosil e α -sialil (KNOWLES et al., 1993).

A deficiência de β -galactosidase, além de determinar as DAL supracitadas, é responsável pelo aparecimento de esfingolipidoses, decorrentes da não degradação de galactocerebrosídeos, um componente importante na formação da mielina (PRITCHARD; NAPHTHINE; SINCLAIR, 1980), conhecida como leucodistrofia de células globoides ou doença de Krabbe. Há duas hipóteses para a desmielinização observada na doença, na qual uma correlaciona a desmielinização com o alto teor de esfingolípídios que causam a morte de oligodendrócitos no SNC e a outra sugere que a presença de esfingolípídios é responsável pela ativação da micróglia e formação das células globoides responsáveis pela destruição da bainha ainda em formação (NICAISE; BONGARZONE; CROCKER, 2016). Em humanos, irritabilidade, rigidez de membros, convulsões e severo retardo mental e motor estão entre os sinais mais observados, sobretudo na forma infantil (NICAISE; BONGARZONE; CROCKER, 2016). A doença foi também descrita em ovelhas (PRITCHARD; NAPHTHINE; SINCLAIR, 1980), cães (CAPUCCHIO et al., 2008; FLETCHER et al., 2010), gatos (SIGURDSON et al., 2002) e camundongos. Os sinais clínicos observados em ovinos e cães são condizentes com quadros desmielinizantes e os animais apresentam tremores, ataxia, hipermetria, quedas, reflexos exagerados e convulsões (PRITCHARD;

NAPHTHINE; SINCLAIR, 1980; CAPUCCHIO et al., 2008; FLETCHER et al., 2010). Em felinos com leucodistofia de células globoides, relata-se tetrapares e insuficiência respiratória como sinais observados ao fim do curso clínico da doença (SIGURDSON et al., 2002; OGAWA et al., 2013). Os achados se restringem à histopatologia, que revela severa destruição da mielina, astrocitose e redução de oligodendrócitos na substância branca do encéfalo e medula espinhal (PRITCHARD; NAPHTHINE; SINCLAIR, 1980). É descrito como característica comum a todas as espécies, o aparecimento de células globoides (fagócitos responsáveis por degradar os galactocerebrosídeos), sobretudo ao redor de vasos da substância branca do SNC, de citoplasma abundante, eosinofílico pálido, finamente granular PAS positivo (PRITCHARD; NAPHTHINE; SINCLAIR, 1980). A avaliação lectino-histoquímica em cães foi capaz de identificar resíduos de açúcares positivos para RCA (FLETCHER et al., 2010).

2.4.2. Glicosídeos

A deficiência de α -manosidase é relatada na medicina veterinária como uma importante doença genética autossômica recessiva observada em bovinos da raça Angus e suas derivações (HEALY et al., 1983). Os primeiros relatos da condição foram observados na Austrália como uma doença neurológica letal para bovinos, na qual os animais de 4 a 15 meses desenvolviam ataxia e, posteriormente, paresia (WHITTEM; WALKER, 1957; BARLOW et al., 1981). A histopatologia observada em grandes neurônios de todo o SNC e em gânglios periféricos (vacuolizações claras intracitoplasmáticas) indicou uma possível lipídose, que posteriormente foi identificada como uma oligossacaridose (JOLLY, 1974). A ultraestrutura do sistema nervoso central foi capaz de identificar os vacúolos observados por microscopia ótica, bem como degenerações axonais na substância branca e cinzenta (JOLLY; THOMPSON, 1978). A doença tem sido combatida de forma eficaz por programas de controle que visam eliminar os animais que apresentem o gene responsável em rebanhos previamente conhecidos por albergar a doença (HEALY; MALMO, 1998). Em 1985, a doença foi novamente descrita em bovinos da raça Galloway, e os autores observaram diferenças no curso clínico da enfermidade, bem como na severidade das alterações morfológicas encontradas à necropsia. Nesta variação fenotípica, os animais morrem

no período neonatal ou são natimortos. Hidrocefalia, hepatomegalia e esplenomegalia são características importantes à necropsia (EMBURRY; JERRET, 1985). A patogênese da α -manosidase em felinos guarda semelhança à ocorrida em bovinos, contudo, adicionalmente, os animais apresentam deformidades esqueléticas e retardo de crescimento (BURDITT et al., 1980; WALKLEY; BLAKEMORE; PURPURA, 1981).

Em 1981, Jones e Dawson descreveram um surto de uma doença desmielinizante em caprinos neonatos da raça Anglo-Nubiana. Os quatro animais afetados foram obtidos de cruzamentos endogâmicos em diferentes gestações e apresentavam déficits neurológicos profundos. Clinicamente, os animais tinham incapacidade de levantar-se, severos tremores de intenção e dificuldade respiratória. Adicionalmente, deformidades faciais e craniais, como diminuição das fissuras palpebrais, cabeça arredondada e focinhos estreitos e deformações de membros, como flexura carpal, hiper mobilidade articular e hiperextensão dos membros posteriores foram observadas. As alterações macroscópicas foram mais marcadas no SNC, com dilatação ventricular. Alguns animais apresentaram espessamento de ossos do ouvido interno (JONES et al., 1983). A microscopia revelou severa desmielinização, vacuolização citoplasmática em neurônios e alterações axonais (JONES; DAWSON, 1981). O diagnóstico de β -manosidose foi confirmado pela análise dos resíduos de açúcares acumulados em tecidos e eliminados pela urina e pela atividade de β -manosidase nos tecidos. Estudos posteriores caracterizaram a β -manosidose como uma doença hereditária, carregada por um alelo autossômico recessivo através de observação do nascimento de animais afetados na mesma população (FISHER et al., 1986).

As fucosidoses em animais domésticos foram apenas descritas em cães da raça Springer Spaniel. Na primeira descrição da doença, um macho e uma fêmea da mesma ninhada apresentaram, aos 22 e 20 meses de idade, respectivamente, sinais clínicos de incoordenação da marcha, diminuição de reflexos e tônus lingual, disfagia e emagrecimento progressivo (KELLY et al., 1983). As principais observações necroscópicas nestes animais se restringiam aos nervos vago, glossofaríngeo e espinhais que eram espessados, acinzentados e gelatinosos à superfície de corte. Histologicamente, desmielinização e vacuolizações neuronais e na neuropila eram evidentes em todos os níveis do encéfalo e medula espinhal associados à proliferação

microglial nos espaços peri-vasculares do SNC e ao redor de nervos periféricos. Adicionalmente, vacuolização em macrófagos e células epiteliais foi observada nos pulmões, fígado, túbulo renal, medula óssea, linfonodo e baço (KELLY et al., 1983; KELLER; LAMARRE, 1992). A cultura de fibroblastos e leucócitos periféricos com marcada diminuição da atividade de α -L-fucosidase foi confirmatória para o diagnóstico (KELLY et al., 1983). Estudos lectino-histoquímicos foram conduzidos em humanos e cães para avaliar a similaridade entre as fucosidoses e foi demonstrado que as seções histológicas parafinizadas de humanos marcam positivamente para as lectinas UEA-I, ConA, RCA e WGA, enquanto as seções caninas foram positivas para BS-I, WGA, ConA e RCA, o que pode ser atribuído a diferenças entre os sítios ligadores de enzimas que degradam glicoconjugados de humanos e cães (ALROY; UCCI; WAREEN, 1985). Os cães ainda são considerados o único modelo animal para o estudo das fucosidoses em humanos (FLETCHER; TAYLOR, 2016). Em cães, o transplante de medula óssea após irradiação total mostrou-se eficaz para elevar os níveis de α -L-fucosidase circulantes e garantiu sobrevida de 10 meses em um cão afetado (TAYLOR et al., 1986). A administração da enzima purificada por infusão na cisterna magna foi capaz de aumentar a atividade enzimática e diminuir a quantidade de oligossacarídeos acumulados, sobretudo nas regiões próximas à aplicação – cerebelo, tronco encefálico, medula espinhal e meninges (KONDAGARI et al., 2011).

2.4.3. Mucopolissacaridoses

As DAL determinadas pelo acúmulo de glicosaminoglicanos sulfatados são caracterizadas como mucopolissacaridoses e divididas em grupos, de acordo com o tipo de enzima deficiente. As doenças são determinadas por alelos autossômicos recessivos ou ligados ao cromossomo X (MPS II), têm grande importância em humanos e apresentam, como características comuns hepatoesplenomegalia, opacidade de córnea e anormalidades esqueléticas e faciais como sinais clínicos mais frequentes comuns a todos os tipos (THOMPSON et al., 1992).

As mucopolissacaridoses já descritas em animais são listadas no quadro 1, bem como o defeito enzimático associado, sinais clínicos e alterações patológicas para cada tipo encontrado.

Quadro 1. Tipos de mucopolissacaridoses em animais

MPS	Defeito enzimático encontrado	Animais afetados	Sinais clínicos	Macroscopia	Microscopia	Referência
I (síndrome de Hurler)	α -L-iduronidase	Gatos Cães	Diminuição do crescimento, perda de peso, inapetência e ruídos (sopros) cardíacos, lentidão e diminuição da acuidade visual. Hiperextensão carpal e tarsal. Dor à movimentação da cabeça e pescoço	Dismorfia facial, com opacidade de córnea. Defeitos esqueléticos com lesões em vértebras e ossos longos com remodelamento anormal	Vacuolização em neurônios, hepatócitos, condrócitos, músculo liso, leucócitos, fibroblastos do endocárdio valvular, da pele e do olho e túbulos renais e macrófagos intersticiais	HASKINS et al., 1983; CIANCIOLO et al., 2011; SHULL et al., 1982
II (síndrome de Hunter)	Iduronato-sulfatase	Cães	Incoordenação, hiperextensão carpal, macrodactilia, opacidade de córnea, nistagmo, ataxia e paresia de membros que leva a ataxia	Hepatomegalia. Deformidades faciais e macroglossia	Vacuolizações em neurônios de cornos ventrais e dorsais da medula espinhal, núcleos pontinos e talâmicos, e células de Purkinje. Esferoides axonais no tronco encefálico. Adicionalmente havia vacuolização no epitélio tubular renal, hepatócitos e ductos biliares, epitélio transicional da bexiga, células foliculares da tireoide, endotélio esplênico e hepático, macrófagos do fígado, baço e linfonodos	WILKERSON et al., 1998
III (Sanfillippo) A	Heparan N-sulfatase	Camundongos Cães	Ataxia progressiva, andar em círculos, pelos arrepiados, postura encurvada	Hepatomegalia, esplenomegalia, bexiga distendida, com frequente hidronefrose. Deformação vertebral severa e espessamento do crânio	Vacuolização (armazenamento) em células de Kupffer, túbulos renais, musculatura cardíaca, fibroblastos, condrócitos, perióstio, neurônios do córtex cerebral e cerebelar, e núcleos cerebelares, frequentemente PAS-positivos e Azul de toluidina-positivos	BHAUMIK et al., 1999; YOGALINGAM et al., 2002; BEARD et al., 2017
III (Sanfillippo) B	α -N-acetilglicosaminidase	Camundongos Cães	Tremores, dismetria, ataxia, base ampla, estupor, opistótono e quedas. Distrofia corneana, degeneração retiniana, diminuição do reflexo de ameaça e nistagmo	Hepatomegalia. Dilatação dos ventrículos cerebrais, atrofia do cerebelo	Perda de neurônios de Purkinje e vacuolização dos neurônios remanescentes e do córtex e núcleos cerebrais, micróglia, epitélio tubular renal e células de Kupffer	ELLINWOOD et al., 2003; WILLING et al., 2014

Quadro 1 (Continuação). Tipos de mucopolissacaridoses em animais

MPS	Defeito enzimático encontrado	Animais afetados	Sinais clínicos	Macroscopia	Microscopia	Referência
III (Sanfillippo) D	α -N-acetilglicosamin a 6-sulfatase	Caprinos	---	---	Vacuolização lisossomal, astrogliose, microgliose peri-vascular e severa degeneração axonal identificáveis desde a fase fetal	THOMPSON et al., 1992; JONES et al., 2004
VI (Síndrome de Maroteaux-Lamy)	α -N-acetilglicosamin a 6-sulfatase	Gatos	Fraqueza marcada em membros posteriores, dificuldade motora progressiva	Baixa estatura e ganho de peso, crânio curto e largo, orelhas pequenas, edema palpebral e opacidade de córnea. Fusões vertebrais, exostoses, displasia de ossos longos e subluxação coxofemoral	Vacuolizações intracitoplasmáticas em fibroblastos da córnea, esclera, conjuntiva e íris, meninge e plexo coroide. Degeneração axonal, astrocitose, e mielofagia	JEZYK et al., 1977; HASKIN et al., 1980 ABREU et al., 1995
VII (síndrome de Sly)	β -Glicuronidase	Camundongos Cães Gatos	Baixo ganho de peso, anormalidade de marcha e dificuldade de se manter em estação por fraqueza dos membros, disfunção articular e letargia. Hiperestesia em região lombar e sacral. Morte súbita	Cabeça desproporcional ao corpo, focinho curto e largo, prognatia, membros encurvados e encurtados com musculatura levemente atrofiada e anquilose de tarso e carpo. Encurtamento de vértebras com epífises irregulares e anquilose. Hepato e esplenomegalia, opacidade de córnea, hipoplasia de traqueia, pectus excavatum. Ascite e hidrotórax	Graus variáveis de vacuolização intracitoplasmática em neurônios e células da glia do cerebelo, hipocampo e córtex cerebral, células de Schwann, retina, estroma corneal, fibroblastos da pele, hepatócitos, células de kupffer, macrófagos do intestino, células mieloides precursoras, endotélios esplênicos, hepático, endocárdio da aorta, pulmonar, condrócitos e membrana sinovial, túbulos e glomérulo renal. Articulações com proliferação sinovial e hiper celular, com vacuolização de condrócitos, placas de crescimento largas e hiper celulares. Adicionalmente, degeneração walleriana na medula com infiltração histiocítica nas raízes dorsais e ventrais	BIRKENMEIER et al., 1989; HASKINS et al., 1984; VOGLER et al., 1990; GITZELMANN et al., 1994; SCHULTHEISS et al., 2000; DOMBROWSKY et al., 2004.

2.5. Glicoproteínoses causadas por plantas no Brasil

No Brasil, diversas plantas podem levar à glicoproteínose e estas constituem um grupo muito importante dentro das plantas que causam desordens neurológicas. *Sida planicaulis* Cav., previamente classificada como *Sida carpinifolia* (BOVINI, 2015), é uma planta nativa do Brasil, da família Malvaceae, de crescimento arbustivo, com cerca de 40 a 70 cm de altura (LORENZI et al., 2000). As principais condições de intoxicação estão associadas à insuficiente oferta de forragem e quando *S. carpinifolia* predomina na pastagem (DRIEMEIER et al., 2000). No Brasil já foram descritas intoxicações naturais por *S. carpinifolia* em caprinos (DRIEMEIER et al., 2000), pôneis (LORETTI et al., 2003a), bovinos (FURLAN et al., 2008, 2009; PEDROSO et al., 2010), ovinos (SEITZ et al., 2005a) e cervídeos (PEDROSO et al., 2009; ANJOS et al., 2016). De forma experimental, a planta se mostrou capaz de intoxicar caprinos (COLODEL et al., 2002), ovinos (SEITZ et al., 2005a) e bovinos (FURLAN et al., 2008; PEDROSO et al., 2010).

Algumas plantas da família Convolvulaceae já foram identificadas como espécies causadoras de DAL. São arbustos, de crescimento ereto, decumbente ou em vinhas que podem atingir até 5m de comprimento. Dentre estas, *Ipomoea carnea* subsp. *fistulosa*, popularmente conhecida como canudo, é de grande relevância em algumas regiões do Brasil intoxicando ovinos, caprinos e bovinos, sobretudo no vale do rio São Francisco e sul do Piauí, onde se mantém verde mesmo nas épocas de seca (TOKARNIA et al., 2012). A planta é abundante também na Amazônia e Centro-Oeste, onde já foram relatados casos de intoxicação natural em bovinos (ANTONIASSI et al., 2007) e caprinos (OLIVEIRA et al., 2009). *Ipomoea sericophylla*, *Ipomoea riedelii*, *Ipomoea verbascoidea* e *Turbina cordata* (“capoteira”, “moita-de-calango” ou “batata-de-peba”) são plantas encontradas no semiárido nordestino e até o presente momento só se mostraram naturalmente tóxicas para caprinos, única espécie na qual a doença foi reproduzida experimentalmente (BARBOSA et al., 2006; DANTAS et al., 2007; MENDONÇA et al., 2012; TOKARNIA et al., 2012).

2.5.1. Sinais clínicos

A sintomatologia observada em casos de intoxicação por *S. carpinifolia* em ovinos consiste em fezes pastosas, apatia, inapetência, tremores de cabeça e pescoço, dificuldade de apreender alimentos e de manter-se em estação, posição de cavalete, ataxia, dismetria, quedas constantes, letargia, resposta acentuada ao HRT, perda progressiva de peso, decúbito e pedalagem (SEITZ et al., 2005a). Alterações similares foram encontradas em ovinos intoxicados por *Ipomoea carnea* subsp. *fistulosa* (com adição dos sinais de irritabilidade, comportamento agressivo, andar compulsivo, polifagia, apetite depravado e abortos) (ARMIÉN et al., 2011) e por plantas do gênero *Oxytropis* e *Astragalus* (HARRIS et al., 1988; STEGELMEIER et al., 1999). Caprinos naturalmente e experimentalmente intoxicados por *S. carpinifolia* apresentam emagrecimento, nistagmo, hipermetria, hiperestesia, tremores de cabeça e pescoço, quedas súbitas, ataques epileptiformes quando aplicado o HRT, opistótono, tetania e episódios de aborto (DRIEMEIER et al., 2000; COLODEL et al., 2002). Em bovinos, as alterações clínicas observadas foram marcha curta e lenta, andar cambaleante, tropeços, estação com base ampla, quedas frequentes e quando movimentados apresentam tremores de cabeça. Adicionalmente, a presença de fezes pastosas foi relatada (FURLAN et al., 2008, 2009).

2.5.2. Diagnóstico

Os dados clínicos e epidemiológicos devem ser associados às lesões histopatológicas para que o diagnóstico de DAL seja concluído. A avaliação ultraestrutural é de grande valia para a determinação dos locais de vacuolização. A lectino-histoquímica faz-se necessária para determinação do conteúdo armazenado nos lisossomos, diferenciando lipidoses, glicoproteinoses e lipofucinoses.

2.5.3. Alterações macroscópicas

Derrames serosos distribuídos pelas cavidades, linfadenomegalia e ulcerações pelo estômago foram descritos nos primeiros relatos das intoxicações por *Astragalus* spp. em bovinos e equinos (MARSH, 1909). Com relação às alterações no sistema nervoso, os autores relatam coágulos nos ventrículos cerebrais, mas sugerem que estes podem ser provocados pelos constantes traumas durante a apresentação dos sinais

clínicos. Em úteros de vacas prenhes, Mathews (1932) observou diminuição dos cotilédones, leve edema nas paredes uterinas e membranas fetais. Fetos de ovelhas intoxicadas por *Astragalus lentiginosus* podem apresentar edema, hemorragia, ascite, deformações ósseas e aumentos de volume em tireoide, fígado e adrenal (JAMES, 1976). A intoxicação por *Ipomoea carnea* subsp. *fistulosa* foi capaz de provocar emaciação e palidez de membranas mucosas em caprinos (ARMIÉN et al., 2007) e evidenciação da lobulação hepática e atrofia muscular generalizada em ovelhas (ARMIÉN et al., 2011). Oliveira Jr et al. (2011) observaram leve atrofia cerebelar em caprinos que ingeriram a planta de forma crônica.

Nas intoxicações por *S. carpinifolia*, os achados macroscópicos encontrados são escassos, com poucos relatos de linfadenomegalia, sobretudo nos mesentéricos (COLODEL et al., 2002; SEITZ et al., 2005a) e edema nos linfonodos (PEDROSO et al., 2012).

2.5.4. Histopatologia

O exame histopatológico, em ovinos intoxicados naturalmente e experimentalmente por *S. carpinifolia*, revela distensão e vacuolização citoplasmática múltipla e acentuada em neurônios de Purkinje do cerebelo, córtex cerebral, tálamo, mesencéfalo e corno ventral da medula espinhal; esferoides axonais na camada granulosa do cerebelo e outras regiões do encéfalo e medula; vacuolização citoplasmática de ácinos pancreáticos, epitélio tubular renal, células foliculares da tireoide, hepatócitos e macrófagos em órgãos linfoides (SEITZ et al., 2005a, 2005b).

A intoxicação por *S. carpinifolia* gerou alterações histológicas similares em caprinos intoxicados de forma natural (DRIEMEIER et al., 2000) e experimental, com alguns animais apresentando também vacuolização de células da glia, principalmente oligodendrócitos e desaparecimento de neurônios de Purkinje e rarefação na camada granulosa do cerebelo (COLODEL et al., 2002). Bovinos apresentam, adicionalmente, proliferação da glia de Bergmann e vacuolização em neurônios do gânglio trigeminal (FURLAN et al., 2008; 2009).

Outras glicoproteínoses apresentam o mesmo padrão de lesão histológica, como as provocadas pelas intoxicações por *Ipomoea carnea* subsp *fistulosa* em caprinos (ARMIÉN et al., 2007) e ovinos (ARMIÉN et al., 2011), *Turbina cordata* em caprinos

(DANTAS et al., 2007), *I. riedelli* e *I. sericophylla* em caprinos (BARBOSA et al., 2006), *Astragalus* sp. em ratos (STEGELMEIER et al., 1995)

2.5.5. Lectino-histoquímica

Lectinas são proteínas ou glicoproteínas de origem não-imune, predominantemente oriundas de fontes vegetais, capazes de se ligar a resíduos de açúcares encontrados em tecidos animais e vegetais. Lectinas tem ao menos dois sítios de ligação a açúcares e podem formar glicoconjugados por aglutinação ou precipitar certos oligossacarídeos de acordo com sua especificidade (GOLDSTEIN et al., 1980). Esta capacidade permitiu o uso das lectinas ligadas a corantes reveladores em tecidos animais para a detecção de resíduos de açúcares nas doenças de armazenamento lisossomal. A técnica se mostrava uma alternativa viável aos caros métodos de cultura de célula, ensaio direto em tecido para determinação da atividade enzimática que se suspeitava deficiente ou da determinação da quantidade de oligossacarídeos na urina dos animais afetados (ALROY et al., 1984).

A histopatologia e a ultraestrutura são suficientes para determinar a presença de armazenamento lisossomal, entretanto, não é possível caracterizar o produto de armazenamento. Outras histoquímicas (PAS ou Sudan) podem diferenciar as glicoproteínoses de glicolipidoses e lipidoses, mas apenas a técnica de lectino-histoquímica permite caracterizar, com base na especificidade na ligação com os açúcares, o tipo de sacarídeo depositado e o defeito enzimático que o gerou (ALROY et al., 1984; SEITZ et al., 2005b).

Alroy et al. (1984) padronizaram o método diagnóstico de uso das lectinas para identificação dos açúcares em glicoproteínoses e observaram que os tecidos obtidos de humanos e bovinos com α -manosidoses coram-se fortemente para Con A, WGA e sWGA. Em estudos posteriores, o método foi testado em tecidos de animais intoxicados por plantas que contêm swainsonina, que apresentaram o mesmo padrão de marcação já observado (ALROY; UCCI; WARREN, 1985; DRIEMEIER et al., 2000; COLODEL et al., 2002; SEITZ et al., 2005b; ARMIÉN et al. 2007, 2011; PEDROSO et al., 2010, 2012). Em ovinos intoxicados por *S. carpinifolia*, observou-se marcação positiva para as lectinas Con A, WGA e sWGA nas camadas de Purkinje, núcleos cerebelares, células da glia e células da camada granulosa do cerebelo, e para as

lectinas Con A, WGA, sWGA, DBA, SBA, UEA-1, PNA e RCA-1 nas células acinares do pâncreas (SEITZ et al., 2005b).

O tipo de processamento que os tecidos sofrem até o uso das lectinas pode modificar a expressão em virtude das substâncias utilizadas no processo. Seções histológicas obtidas de camundongos com gangliosidose GM1, ao serem processadas pela técnica rotineira de processamento histológico, com diafanizador (xilol) e parafina, foram positivos para Con A, WGA, sWGA, PNA, RCA-I e BS-I, entretanto, quando processadas por técnica de congelamento coraram-se apenas por RCA-I, o que indica que algumas substâncias podem “lavar” alguns açúcares, bem como expor os sítios de ligação para as lectinas (ALROY et al., 1986).

2.5.6. Ultraestrutura

Os achados ultraestruturais observados nas intoxicações por plantas causadoras de glicoproteinoses estão intimamente ligados à vacuolização intracitoplasmática observada pela microscopia ótica nas diversas células afetadas. Observa-se nos casos de intoxicação por *Sida carpinifolia*, a presença de inúmeros vacúolos delimitados por membranas de camada única, por vezes, preenchidos com material finamente granular no citoplasma de hepatócitos, células de Kupffer, células pancreáticas acinares, células foliculares da tireoide, neurônios de Purkinje e da camada granulosa do cerebelo (DRIEMEIER et al., 2000; SEITZ et al., 2005a, 2005b; FURLAN et al., 2008, 2009; PEDROSO et al., 2010; ANJOS et al., 2016). Adicionalmente, esferoides axonais preenchidos com corpos eletrodensos residuais ligados a membranas são também observados (DRIEMEIER et al., 2000). Alterações similares foram observadas na intoxicação por *Ipomoea sericophylla*, *Ipomoea riedelli* (BARBOSA et al., 2006), *Turbina cordata* (DANTAS et al., 2007).

Na intoxicação por *Ipomoea carnea* subsp *fistulosa*, Armién et al. observaram, em caprinos (2007) e ovinos (2011) em estudos mais detalhados, alterações similares às observadas em *S. carpinifolia*, com vacuolizações em células acinares pancreáticas que mediam de 0,3 a 3,3 µm de diâmetro, contidas por membranas de camada única que mediam até 20 nm de espessura, características de membranas lisossomais, usualmente vazias, mas por vezes preenchidas por glóbulos de substâncias opacas ou osmiofílicas. Tais vacuolizações foram também observadas em neurônios, astrócitos,

células endoteliais e perivasculares com diâmetros variáveis entre 0,12 e 3,37 µm (ARMIÉN et al., 2007, 2011).

2.6. Agentes que causam quadros semelhantes em animais de produção

Para o diagnóstico diferencial das glicoproteínoses, devem ser consideradas outras síndromes que afetam o sistema nervoso central, como outras doenças do armazenamento lisossomal (adquiridas ou hereditárias), síndromes tremorgênicas e micotoxícoses.

2.6.1. Outras formas de doença de armazenamento

Além do armazenamento provocado por plantas que contém swainsonina, outras plantas podem levar a enfermidades com sintomatologia, macroscopia e microscopia similares. O gênero *Solanum* contém diversas espécies que são capazes de provocar síndrome neurológica com afecção cerebelar. *Solanum fastigiatum* é uma planta encontrada no sul do Brasil e Uruguai causadora de síndrome neurológica decorrente de acúmulo lisossomal em neurônios de Purkinje e atrofia da camada molecular do cerebelo (RECH et al., 2006). Surtos de doença neurológica na região do agreste brasileiro foram observados em bovinos que ingeriram *Solanum paniculatum* (planta invasora de pastagens comum no Norte e Nordeste do Brasil).

Desordens neurológicas foram observadas, experimentalmente, a partir do 90º dia de ingestão de 5g/kg da planta dessecada (REGO et al., 2012). Clinicamente, as intoxicações por estas plantas caracterizam-se por crises epileptiformes periódicas associados a exercício ou susto, na qual os animais apresentam durante as crises nistagmo, opistótono, tremores e extensão de membros. O HRT usualmente precipita a sintomatologia. Tremores de intenção, ataxia, hipermetria, hiperestesia, posição em base ampla também foram relatados (RECH et al., 2006; GUARANÁ et al., 2011; REGO et al., 2012). Ao exame necroscópico, os animais afetados podem apresentar leve a moderada diminuição do volume cerebelar por atrofia (RECH et al., 2006; GUARANÁ et al., 2012; LIMA; RIET-CORREA; MEDEIROS, 2014). A microscopia cursa com alterações características de DAL, com tumefação de células de Purkinje, dissolução de substância de Nissl, necrose neuronal com proliferação da glia de Bergmann no cerebelo, óbex, pedúnculos cerebelares, colículos rostral e caudal,

medula oblonga, cervical e torácica. Esferoides axonais e manguitos perivasculares são encontrados em diversas áreas do SNC, associados a degeneração Walleriana e microcavitações das substâncias branca e cinzenta do cerebelo e colículo rostral (REGO et al., 2012). Observa-se, também, diminuição da espessura da camada molecular do cerebelo (RECH et al., 2006). Na intoxicação por *S. fastigiatum*, a natureza do material encontrado no interior dos lisossomos foi discutida por Paulovich et al. (2002) que identificaram através de estudos ultraestruturais inclusões lipídicas no interior de lisossomos e através de lectino-histoquímica resíduos de açúcares que reagiram positivamente com Con A, sWGA, WGA e RCA-I, indicando que há também alguma deficiência enzimática para degradação de açúcares que se mantém ligados aos lipídeos.

Halimium brasiliense é uma planta perene de crescimento arbustivo que provoca desordens neurológicas em ovinos no sul do Rio Grande do Sul e Uruguai, sobretudo em épocas de seca, quando há escassez de outras forragens. Os animais que ingerem essa planta apresentam convulsões que duram de poucos segundos a 1 minuto, tremores musculares, opistótono, ventroflexão de pescoço, tetania, movimentos de pedalagem e incoordenação após os ataques epileptiformes (RIET-CORREA et al., 2009). Os achados microscópicos consistem em vacúolos na substância branca e ao longo de nervos do corpo caloso, trato óptico e outros tratos da medula espinhal.

Phalaris angusta é uma gramínea nativa da América do Sul capaz de provocar desordens neurológicas e de morte súbita em ovinos e bovinos quando consumida em grandes quantidades, sobretudo quando não há oferta de outras forragens em épocas de seca. Os animais começam a apresentar sinais clínicos cerca de 3 semanas após ingestão da planta (ODRIOZOLA et al., 1991) ou a partir do segundo dia de ingestão (SOUSA; IRIGOYEN, 1999). Os surtos de intoxicação neurológica aguda por *P. angusta* observados na Argentina e sul do Brasil caracterizaram-se, em ovinos, por tremores musculares, balançar de cabeça, incoordenação, decúbito lateral (ODRIOZOLA et al., 1991) e em bovinos por hiperexcitabilidade, incoordenação, andar rígido, incapacidade de se manter em estação, respiração rápida, nistagmo e convulsões (ODRIOZOLA et al., 1991; GAVA et al., 1999; SOUSA; IRIGOYEN, 1999). A evolução clínica varia de 3 dias a 2 semanas em ovinos e de 3 a 7 dias em bovinos (ODRIOZOLA et al., 1991; GAVA et al., 1999; CANTON et al., 2010). Canton et al. (2010) acreditam que alguns destes casos previamente reportados se

tratam de uma forma de intoxicação crônica por *P. angusta*, com sinais clínicos de dispneia, torpor e perda progressiva de peso e, quando forçados a se movimentar, apresentaram incoordenação, perda de equilíbrio e incapacidade de se manter em estação. Macroscopicamente foi relatada a deposição de pigmento esverdeado no rim e bilateral no tálamo, bulbo e tronco encefálico. A avaliação histológica mostrou que estas áreas do sistema nervoso apresentavam pigmento amarelo-amarronzado no interior de neurônios nos núcleos do diencéfalo e tronco encefálico. (ODRIOZOLA et al., 1991; GAVA et al., 1999; SOUSA; IRIGOYEN, 1999; CANTON et al., 2010).

Trachyandra divaricata é uma planta originária da África do Sul que leva a uma síndrome parética em equinos e ovinos. Quando tocados, os animais afetados se distanciavam do restante do rebanho e, se agitados, cambaleavam e caíam em decúbito, com alguns progredindo para morte. O exame neurológico revelou déficit proprioceptivo e reflexos de retirada diminuídos. Dentre os que se recuperavam das quedas, alguns deixaram de exibir os sinais e outros apresentavam alterações na marcha por contração do tendão extensor dos membros (HUXTABLE et al., 1987). A histopatologia era caracterizada por deposição de lipofucsina em neurônios do cérebro, medula espinhal e gânglios periféricos, células de Kupffer, túbulos renais e macrófagos pulmonares, esplênicos e da mucosa intestinal (HUXTABLE et al., 1987).

2.6.2. Síndromes tremorgênicas

Ipomoea asarifolia, conhecida como “salsa” ou “batatarana”, é responsável por provocar tremores, incoordenação e quedas em bovinos, bubalinos, ovinos e caprinos, sobretudo no semiárido brasileiro (MEDEIROS et al., 2003). Os sinais clínicos apresentados por estes animais consistem em tremores generalizados, hipermetria, base ampla, ataxia, andar trôpego, quedas ao solo, principalmente quando agitados, decúbito, opistótono, nistagmo e convulsões clônicas (MEDEIROS et al., 2003; BARBOSA et al., 2005; ARAUJO et al., 2008). A recuperação dos animais intoxicados, caso retirados das regiões invadidas pela planta foi observada em bovinos, ovinos (DOBEREINER et al., 1960) e caprinos (MEDEIROS et al., 2003).

Estudos conduzidos por Medeiros et al. (2000) indicaram que, pela similaridade dos sinais clínicos e pela presença de calisteginas, *I. asarifolia* era uma planta causadora de DAL com glicoproteinose, tal qual *Ipomoea carnea* subsp. *fistulosa*, que ocorria na mesma região. Contudo, a ausência de alterações histopatológicas e

ultraestruturais não são conclusivos de DAL. Estudos posteriores mostraram que as quantidades ínfimas de swainsonina e ausência de calisteginas em novas amostras de *I. asarifolia* não justificam a hipótese de DAL (MEDEIROS et al., 2003).

Claviceps paspali é um fungo endofítico que cresce nas sementes de espécies de *Paspalum*. Durante o inverno, o fungo se mantém em latência e libera seus esporos na época de inflorescência das gramíneas, infestando o ovário da planta e forma uma estrutura escurecida no local das sementes conhecida por escleródio (PLUMLEE; GAYLE, 1994). Nesta fase, o fungo contém alcaloides responsáveis pela doença. A intoxicação já foi relatada em diversos países, dentre estes o Brasil (RIET-CORREA et al., 1983) e tem como principais sinais clínicos ataxia e tremores musculares, acometendo bovinos (RIET-CORREA et al., 1983), ovinos e equinos (CAWDELL-SMITH; SCRIVENER; BRYDEN, 2010). Condição similar ocorre em pastagens de *Lolium perene* infectados por fungos endofíticos, como do gênero *Acremonium*. As intoxicações usualmente ocorrem em situações de grande oferta de *L. perene* e pouca oferta de outras pastagens, forçando os animais a pastejarem partes mais baixas da planta, onde se encontram as sementes infectadas pelo escleródio do fungo (PRESTIDGE, 1993). Nestes casos, diversas micotoxinas podem estar envolvidas na gênese dos tremores, como lolitremas A e B, paspalinas, penitrenes. Os sinais clínicos da intoxicação aparecem entre o sétimo e décimo quarto dia, como tremores de cabeça, musculares e incoordenação.

A diplodiose ocorre em bovinos e ovinos e está associada a ingestão de milho contaminado por *Stenocarpella maydis* (*Diplodia maydis*). É outra enfermidade que deve ser considerada como diagnóstico diferencial das DAL, visto que a sintomatologia observada frequentemente é marcada por tremores musculares, ataxia, dismetria com flexão exagerada dos membros durante a marcha, decúbito e opistótono (ODRIOZOLA et al., 2005; RIET-CORREA et al., 2013). Natimortos ou alta taxa de mortalidade após o nascimento podem ocorrer em lotes de fêmeas que ingeriram milho contaminado por *S. maydis*, mesmo que não apresentem sinais de ingestão (RIET-CORREA et al., 2013).

2.6.3. Outras neurotoxicoses

Cordeiros e cabritos nascidos de fêmeas severamente acometidas pela deficiência de cobre podem apresentar uma condição conhecida por “ataxia enzoótica”.

A doença acomete animais de até quatro meses de idade e caracteriza-se por perda progressiva de controle sobre os posteriores (TOKARNIA et al., 2012). A maioria dos animais acometidos morrem e os que, eventualmente, sobrevivem são afetados permanentemente, mesmo que com sinais leves. O diagnóstico definitivo é feito através da observação de severa desmielinização na substância branca do encéfalo e medula espinhal dos animais afetados, sobretudo quando as seções são submetidas à coloração de Luxol Fast Blue (SANTOS et al., 2006)

Na Austrália e País de Gales, já foram descritas intoxicações em pequenos ruminantes que ingeriram plantas do gênero *Stypandra*. Um surto ocorrido pela ingestão de *S. glauca* por caprinos da raça Angorá revelou que estes animais diversas vezes se chocavam contra obstáculos e apresentavam depressão, com comprometimento visual (MAIN et al., 1988). Ovinos e caprinos intoxicados por *S. imbricata* apresentaram cegueira associada a lesões hiperpigmentadas, observadas ao exame de fundo de olho, marcha com passos altos, postura de cabeça baixa e depressão (WHITTINGTON et al., 1981). As lesões relatadas no exame microscópico consistem em edema da substância branca do cérebro, corpo caloso, cápsula interna e tronco encefálico, degeneração e edema no nervo ótico e seus tratos com variado grau de degeneração Walleriana, astrocitose e presença de macrófagos vacuolizados, bem como alterações degenerativas na retina acompanhadas de hiperpigmentação por hiperplasia do epitélio pigmentado e diminuição das camadas de fotorreceptores e nuclear externa (WHITTINGTON et al., 1981; MAIN et al., 1988).

A micotoxicose por *Aspergillus clavatus* ocorre em ruminantes alimentados com cereais contaminados com o fungo, sobretudo com resíduos úmidos de cervejaria (cevada). Muitas toxinas podem estar envolvidas na patogênese da intoxicação e, possivelmente, há ação integrada destas para provocar as lesões (OLIVEIRA, 2016). A sintomatologia cursa com tremores, andar rígido, com apoio sobre o boleto flexionado e incoordenado, hipermetria, hiperestesia, prosseguindo para fraqueza, dificuldade de erguer a região pélvica e decúbito esternal (OLIVEIRA, 2016). As alterações macroscópicas mais observadas consistem em áreas esbranquiçadas em grandes grupos musculares dos membros pélvicos e torácicos (BEZERRA JÚNIOR, 2009). Adicionalmente, alguns animais podem apresentar congestão das meninges (KELLERMAN et al., 2005). Microscopicamente, núcleos de neurônios da base do

cérebro, córtex, tálamo, medula oblonga e medula espinhal apresentam alterações degenerativo-necróticas expressas por cromatólise neuronal (OLIVEIRA, 2016).

2.7. Tratamento e profilaxia

Na medicina veterinária, não se conhece tratamento específico para as DAL que ocorrem em animais de produção e a profilaxia consiste em retirar os animais das áreas invadidas. O retorno à atividade enzimática normal foi observado após uma semana da interrupção da ingestão de plantas que contêm swainsonina, através de dosagem da alfa-manosidase sérica e dosagem de oligossacarídeos excretados na urina (STEGELMEIER et al., 1995). Parte dos animais se recupera a partir da interrupção do consumo, contudo, os animais que ingerem a planta por mais tempo são incapazes de reverter o quadro clínico que progride até a morte do animal (SEITZ et al., 2005a)

O tratamento das DAL em humanos pode ter como alvo a dispersão ou restrição do material acumulado no interior dos lisossomos ou reposição das proteínas defeituosas. A reposição pode ser feita por administração direta da proteína purificada, terapia gênica de transferência do gene que codifica a proteína ou transplante de células responsáveis por sua produção (WINCHESTER et al., 2000). A terapia de reposição enzimática já foi estabelecida como uma forma efetiva de tratamento para a doença de Gaucher em sua forma não neuroniofática, que é resultado do acúmulo de glicocerebrosídeos por deficiência de beta-glicocerebrosidase. A administração da enzima purificada reduziu drasticamente os sinais clínicos da doença em todos os pacientes testados (BARTON et al., 1991). O uso de depletors de cistina foi demonstrado em pacientes com cistinose, nos quais o uso da cisteamina reduziu todos os casos de insuficiência renal, quando utilizados adequadamente na fase infantil (MARKELLO; BERNARDINI; GAHL, 1993).

2.7.1. Aversão condicionada

O uso de substâncias cáusticas ou eméticas logo após a ingestão de plantas, tem se mostrado capaz de induzir aversão condicionada em animais de produção com a intenção de modificar a dieta e impedir o consumo espontâneo de plantas tóxicas. Para obter essa aversão, qualquer agente químico que afete a fisiologia do trato gastrointestinal superior ou do centro emético no sistema nervoso central pode ser

utilizado (RALPHS; PROVENZA, 1999). O agente mais utilizado nos protocolos de aversão condicionada é o cloreto de lítio (LiCl), que provoca náuseas sem efeitos colaterais adversos, entretanto, por seu efeito cáustico, deve ser administrado por sonda dentro do rúmen em altas diluições (175-200mg/ml).

Alguns fatores podem influenciar o sucesso dos protocolos de aversão, dentre eles: a) contato prévio com a planta: animais que já ingeriram a planta antes dos protocolos “relutam” a cessar o consumo; b) fome: quanto maior for o período de jejum antes do protocolo, mais os animais comem durante o processo e mais associam o sabor ao efeito desconfortável do agente aversivo, entretanto alguns animais tendem a comer a planta mesmo se ela possuir um sabor ruim ou estiver associada ao efeito desconfortável se a fome for excessiva; c) idade: animais mais jovens tendem a perder o efeito aversivo mais rápido que animais mais velhos; d) facilitação social: quando animais avertidos são colocados no mesmo pasto de animais não avertidos, o fato de vários animais ingerirem a planta estimula o consumo e diminui o tempo de aversão; e) paladar: plantas com alta palatabilidade e com sabor mais característico tornam a associação com o efeito de desconforto mais eficaz, aumentando assim o tempo de aversão (RALPHS; PROVENZA, 1999).

A eficácia da aversão alimentar foi obtida em caprinos que ingeriram *Turbina cordata* através da administração de LiCl na dose de 175mg/kg, que foi capaz de reduzir todos os casos de intoxicação nos animais tratados desde o início, com diminuição da ingestão da planta durante todo ano (PIMENTEL et al., 2012). Foi observado que para *Ipomoea carnea* subsp. *fistulosa*, a ingestão diminuiu significativamente no período das chuvas, mas quando havia escassez de pastagens no período de secas, os animais voltavam a ingerir a planta apesar de continuados os protocolos de aversão (PIMENTEL et al., 2012).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Local de ocorrência do surto

A intoxicação natural por *Sida planicaulis* Cav. (*S. carpinifolia*) ocorreu em uma pequena propriedade criadora de ovinos para corte no bairro Prados Verdes do município de Nova Iguaçu, Rio de Janeiro (22°50'41" S, 43°38'39" W) (Figura 1). O proprietário participava de um projeto de extensão da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) que prestava assistência a pequenos produtores rurais dos arredores da instituição e foi solicitado o suporte da equipe do Setor de Anatomia Patológica (SAP) para identificar na propriedade os problemas decorrentes da ingestão de uma planta, até então, denominada “vassoura”.

3.2. Identificação botânica

Amostras de plantas colhidas na propriedade durante a quarta visita foram posicionadas entre folhas de papel, de forma que pudessem ser analisadas todas as partes da planta e prensadas por 24h, com subsequente troca dos papéis e repetição do processo por 14 dias. As exsiccatas obtidas foram enviadas ao Departamento de Botânica do Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde da UFRRJ para identificação taxonômica.

3.3. Visitas à propriedade

Quatro visitas foram feitas à propriedade entre outubro de 2014 e dezembro de 2017, nas quais foram identificados animais com sinais clínicos compatíveis com desordens do sistema nervoso. Os dados epidemiológicos e clínico-patológicos foram colhidos durante estas visitas, além de avaliação das condições de criação, e do tipo e disponibilidade de pastagem às quais os animais tinham acesso.

Durante a primeira visita, **um animal** severamente doente foi necropsiado na propriedade por solicitação do proprietário.

Na segunda visita foram identificados outros **quatro animais** doentes (três fêmeas adultas e um macho jovem) e realizados exames físicos específicos para as desordens neurológicas observadas (DELAHUNTA; GLASS, 2009). Por solicitação do

proprietário, os quatro animais foram eutanasiados e enviados ao SAP para necropsia. A eutanásia foi realizada de acordo com a legislação vigente.

As duas últimas visitas (abril de 2016 e dezembro de 2017) tiveram como objetivo acompanhar novos casos da doença e condição clínica do rebanho, bem como coletar amostras para identificação botânica da espécie acusada como causadora das intoxicações.

3.4. Exames físicos

O rebanho de ovinos foi avaliado na propriedade como um todo e os quatro animais que apresentaram sintomatologia nervosa marcada foram avaliados detalhadamente (FEITOSA et al., 2000).

O exame do sistema nervoso foi dividido em 5 passos: (a) avaliação sensorial e resposta ao ambiente; (b) postura e locomoção; (c) reação postural; (d) tônus muscular e reflexos espinhais; (e) avaliação de nervos cranianos como descritos por De Lahunta e Glass (2009).

3.5. Necropsia e histopatologia

Os animais (**uma fêmea** em outubro de 2014, **três fêmeas adultas, um macho jovem e um feto** em dezembro de 2014) foram necropsiados logo após eutanásia. Fragmentos de diversos órgãos foram fixados em formalina tamponada a 10% por 48h e remetidos ao Setor de Anatomia Patológica da UFRRJ, onde foram clivados para processamento histológico, desidratados em álcool, diafanizados em xilol, embebidos em parafina histológica e incluídos em moldes de parafina para corte em micrótomo. Seções de 3 a 5 µm de espessura de todos os fragmentos coletados foram obtidas em lâminas comuns para coloração de HE, seções histológicas de cerebelo para coloração de Luxol Fast Blue (LFB) e Cresil Violeta (CV), e fragmentos de sistema nervoso, pâncreas, fígado e tireoide em lâminas silanizadas para serem submetidas a avaliação lectino-histoquímica. As seções foram avaliadas em microscópio Zeiss Axio Scope A1 e as fotomicrografias foram capturadas com câmera Zeiss Axiocam IC5 de 5 megapixels, através do software Zen Blue Lite.

3.6. Histoquímica

No laboratório de histopatologia do SAP-UFRRJ, foi realizada a coloração de Luxol Fast Blue (LFB) e Cresil Violeta (CV), na qual as seções foram desparafinadas e hidratadas em xilol e álcool, respectivamente, e posteriormente mantidas em solução alcoólica de LFB a 0,1% por 1 hora em estufa a 60° C e lavadas em água destilada. A diferenciação foi feita com 3 a 5 imersões rápidas em solução aquosa de carbonato de lítio a 0,01%, seguidas de rápidas imersões em álcool 70% e logo após lavadas em água destilada. As lâminas foram então mergulhadas em Solução de CV a 1% filtrada e aquecida a 60° C por 10 minutos, e desidratadas em álcool 95%, xilol e montadas para observação em microscópio ótico. As seções foram avaliadas em microscópio Zeiss Axio Scope A1 e as fotomicrografias foram capturadas com câmera Zeiss AxioCam IC5 de 5 megapixels, através do software Zen Blue Lite.

3.7. Lectino-histoquímica

No laboratório de imuno-histoquímica do SAP-UFRRJ, as seções histológicas de sistema nervoso central, pâncreas, tireoide e placenta dos ovinos foram desparafinadas em xilol, hidratadas em álcool e incubadas em duas soluções de peróxido de hidrogênio a 3% por 15 minutos cada para bloqueio de peroxidases endógenas. Após a lavagem das lâminas por dois minutos com tampão fosfato (PBS), estas ficaram submersas em tampão citrato (pH 6,0) para recuperação antigênica, por 15 minutos a 98° C em banho-maria com posterior resfriamento em temperatura ambiente por 15 minutos. Para bloqueio de reações inespecíficas foi utilizado leite desnatado a 5% (Molico® - Indústria Brasileira). Os cortes foram incubados por 12 a 14h “overnight” com lectinas (Lectin Kit Biotinylated BK 1000 e 2000 - Vector Laboratories, Burlingame, Califórnia, 94010, USA) na diluição de 5µg/mL em PBS, com excessão das lectinas Con A que foi diluída na proporção de 0,5µg/ml e da lectina RCA que foi diluída na proporção de 1µg/ml (as lectinas utilizadas estão descritas no quadro 2). Posteriormente incubamos com o kit Vectastain Elite ABC (Vector Laboratories Inc.) por 30 minutos e revelamos com Diaminobenzidina (DAB). Todas as seções foram contra-coradas com hematoxilina de Harris e avaliadas em microscópio óptico através de análise semi-quantitativa com graduações de acordo

com a intensidade de marcação encontrada, sendo: (-) marcação ausente, (+) discreta, (++) moderada e (+++) intensa. As seções foram avaliadas em microscópio Zeiss Axio Scope A1 e as fotomicrografias foram capturadas com câmera Zeiss AxioCam IC5 de 5 megapixels, através do software Zen Blue Lite.

Quadro 2: Lectinas utilizadas e especificidade por açúcar. (VECTOR LABORATORIES INC, 2017.)

Lectina	Sigla	Especificidade de resíduo primária
<i>Concanavalia ensiformis</i> agglutinin	Con A	α -D-Man; α -D-Glc
<i>Dolichos biflorus</i> agglutinin	DBA	α -D-GalNAc
<i>Glycine max</i> (Soybean) agglutinin	SBA	α > β -GalNAc
<i>Arachis hypogaea</i> (peanut) agglutinin	PNA	Gal β -3GalNAc
<i>Ricinus communis</i> agglutinin-I	RCA-I	β -D-Gal
<i>Ulex europaeus</i> agglutinin-I	UEA-I	α -L-Fuc
<i>Triticum vulgare</i> (Wheat germ) agglutinin	WGA	β -D-GlcNAc
Succinylated- <i>Triticum vulgare</i> (Wheat germ) agglutinin	sWGA	β -(1-4)-D-GlcNAc
<i>Griffonia (Bandeiraea) simplicifolia</i>	GSL	α -Gal, α -GalNAc
<i>Sophora japonica</i>	SJA	β -GalNAc
<i>Pisum sativum</i>	PSA	α -Man, α -Glc
<i>Phaseolus vulgaris</i> Erythroagglutinin	PHA-E	Gal β -4GlcNAc β -2Man α 6 (GlcNAc β 4) (GlcNAc β 4Man α 3) Man β 4
<i>Phaseolus vulgaris</i> Leucoagglutinin	PHA-L	Gal β 4GlcNAc β 6 (GlcNAc β 2Man α 3) Man α 3
<i>Lens culinaris</i>	LCA	α -Man, α -Glc
Legenda: Fuc = Fucose; Gal = Galactose; GalNAc = N-Acetilgalactosamina; Glc = Glicose; GlcNAc N-Acetilglicosamina; Man = Manose;		

3.8. Imuno-histoquímica

Fragmentos de sistema nervoso central, incluídos em parafina, foram enviados ao Setor de Patologia Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) para exame imuno-histoquímico de Encefalopatia Espongiforme Ovina (Scrapie). As seções histológicas foram mantidas a 60°C por 12h para secagem, desparafinadas e tratadas com peróxido de hidrogênio a 10% em metanol por 20 minutos. Posteriormente foram incubadas com ácido fórmico por 5 minutos, lavadas com TBS e tratadas com proteinase K por 40 segundos. A imuno-histoquímica foi realizada com anticorpo primário anti-PrP monoclonal mAb F99/97.6.1 e anti-PrP monoclonal mAb P4. Os anticorpos foram diluídos na proporção de 1:500 em PBS antes do uso e incubadas por 18h a 4°C, seguidas por anticorpo secundário biotinalado por 20 minutos e conjugado streptavidina-proxidase por 20 minutos. Os tecidos foram expostos ao cromógeno Diaminobenzidina por 1 minuto e contracorados com hematoxilina de Harris. Para controle foram utilizados fragmentos de óbex de animais afetados e livres de Scrapie.

3.9. Microscopia eletrônica de transmissão

Fragmentos de 1-2 mm³ de pâncreas foram fixados em glutaraldeído tamponado a 3%, em solução de cacodilato de sódio a 0.166 M (Electron Microscopy Sciences, Hatfield, Pennsylvania), seguido de uma segunda refixação em tetróxido de ósmio a 1%. Os tecidos foram desidratados em uma bateria de álcool e incluídos em resina (Electron Microscopy Sciences). As amostras foram emblocadas e cortadas em um ultramicrótomo Leica UC6 (Leica Microsystems). Os cortes (60-90 nm) foram coletados em grades de cobre de 100-mesh (Electron Microscopy Sciences), contrastados com acetato de uranila a 5% por 20 minutos e lavados por solução de citrato de Sato's por 6 minutos. As seções foram examinadas em um microscópio eletrônico de transmissão (JEOL Ltd., Tokyo, Japan). As dimensões das estruturas celulares foram analisadas através do software iTEM (Olympus SIS, Munster, Germany), no Laboratório de Diagnóstico da Universidade de Medicina Veterinária de Minnesota, USA.

4. RESULTADOS

4.1. Dados epidemiológicos

Primeira visita (10/10/2014).

A propriedade havia sido recém-adquirida pelo produtor que iniciou a ovinocultura de corte como atividade principal da fazenda, com a maioria dos animais da raça Santa Inês e poucos mestiços. Segundo o proprietário, a atividade começou com 6 animais e através de compras de animais e novos nascimentos, que não foram devidamente catalogados, o rebanho atingiu um número próximo a 50 animais à época da primeira visita (dados relatados pelo produtor), mantidos em um mesmo lote (Figura 2). De acordo com o histórico colhido com o produtor e com o profissional que o assistia, alguns animais apresentavam emagrecimento progressivo, fraqueza, crescimento retardado e “tremedeira” (produtor não soube quantificar o número de animais afetados à época). A principal queixa foi exemplificada por um animal com acentuada caquexia, incapacidade de se levantar e grande aumento de volume nas articulações do carpo, que o produtor alegou ter evoluído para essa situação após tremores, dificuldade de locomoção e quedas. Uma breve inspeção dos pastos permitiu observação de diversos exemplares, posteriormente identificados como *Sida planicaulis* Cav. (*S. carpinifolia*) com sinais de ingestão (Figura 3).



Figura 1. Doença do armazenamento lisossomal induzida por *Sida planicaulis* Cav. (*S. carpinifolia*) (Malvaceae) em ovinos no estado do Rio de Janeiro. Localização da propriedade por imagem de satélite (Google Maps).



Figura 2. Doença do armazenamento lisossomal induzida por *Sida planicaulis* Cav. (*S. carpinifolia*) (Malvaceae) em ovinos no estado do Rio de Janeiro. Parte dos ovinos de diferentes idades alocados no mesmo lote.



Figura 3. Doença do armazenamento lisossomal induzida por *Sida planicaulis* Cav. (*S. carpinifolia*) (Malvaceae) em ovinos no estado do Rio de Janeiro. *S. planicaulis* na propriedade onde ocorreu o surto. Nova Iguaçu, RJ.

Segunda visita (04/12/2014)

À segunda visita foi possível identificar no rebanho dez animais com sinais neurológicos; quatro destes tinham sintomas mais acentuados. Adicionalmente havia pequena quantidade de fezes pastosas pelo aprisco e pela pastagem. À inspeção da pastagem observaram-se sobretudo *S. planicaulis*, frequentemente com sinais de ingestão e capim “rabo-de-burro” (*Andropogon bicornis*), além de alguns exemplares de *Cestrum laevigatum* (“coerana”), *Asclepias curassavica* (“oficial-de-sala”), *Amaranthus spinosus* (“caruru”) e *Solanum aculeatissimum* (“joá”, “arrebenta-cavalo”). O período de estiagem combinado com dificuldades em estabelecer boa irrigação das pastagens e da capineira gerou baixa oferta de forragem disponível e, por um longo período, os animais tiveram *S. planicaulis* como fonte principal de alimento, sobretudo para os animais mais jovens que disputam a forragem com os adultos. Segundo o proprietário, os problemas no sistema de irrigação impediam o estabelecimento da forragicultura adequada (Figura 4).



Figura 4. Doença do armazenamento lisossomal induzida por *Sida planicaulis* Cav. (*S. carpinifolia*) (Malvaceae) em ovinos no estado do Rio de Janeiro. Pasto destinado à forragicultura desprovido de forragem para alimentação do rebanho. Nova Iguaçu, RJ.

Terceira visita (13/04/2016)

Mais de um ano após o diagnóstico definitivo de intoxicação por *S. planicaulis* a equipe voltou à propriedade e a pastagem ainda apresentava problemas de irrigação e o produtor mantinha a alimentação dos animais com capim elefante proveniente de uma capineira estabelecida (Figura 5) em outro lote próximo à propriedade. Ainda foram observados animais com dificuldades de se locomover, tremores, cambaleio e quedas, entretanto o proprietário preferiu iniciar tratamento de suporte para uma possível melhora clínica do animal mais afetado e não solicitou a necropsia. Este animal veio a óbito dois dias após à visita. Foi relatada diminuição dos sinais clínicos dos outros animais com sintomas mais leves após fornecimento de forragem alternativa.



Figura 5. Doença do armazenamento lisossomal induzida por *Sida planicaulis* Cav. (*S. carpinifolia*) (Malvaceae) em ovinos no estado do Rio de Janeiro. Capineira de capim-elefante em terreno anexo à propriedade. Nova Iguaçu, RJ.

Quarta visita (01/12/2017)

Na última visita à propriedade, o produtor relatou o descontentamento com a ovinocultura e relatou tentativas de outras culturas para diminuir os prejuízos econômicos obtidos com ovinos. Na ocasião, contamos 33 animais, entre jovens e adultos, alimentados com capim elefante (*Pennisetum purpureum* cv. *cameron*) e concentrado a base de milho, e não foi possível perceber qualquer sinal da intoxicação por *S. planicaulis*. Uma análise cuidadosa da pastagem à procura de plantas tóxicas permitiu observação de inúmeros exemplares de *S. planicaulis* difusamente distribuídos por todo o pasto com sinais de ingestão (pequenos galhos, sem floração e/ou brotação) (Figuras 6 e 7).

O ineficiente controle do rebanho tornou difícil o estabelecimento de taxas de morbidade, mortalidade e letalidade da doença em todas as visitas, uma vez que o produtor relatava um número diferente de animais cada vez que era questionado e,

frequentemente os animais observados em uma visita eram vendidos ou morriam, o que inviabilizava acompanhamento clínico a longo prazo.



Figura 6. Doença do armazenamento lisossomal induzida por *Sida planicaulis* Cav. (*S. carpinifolia*) (Malvaceae) em ovinos no estado do Rio de Janeiro. Pasto severamente invadido por *Sida planicaulis* Cav. (*carpinifolia*). Nova Iguaçu, RJ.



Figura 7. Doença do armazenamento lisossomal induzida por *Sida planicaulis* Cav. (*S. carpinifolia*) (Malvaceae) em ovinos no estado do Rio de Janeiro. Detalhe da figura anterior.

4.2. Identificação botânica

A partir das exsicatas, identificou-se o espécime suspeito de provocar a doença como *Sida planicaulis* Cav., que por sua vez foi depositado no Herbário da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro sob o número de tombamento RBR42728 (Figura 8).



Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

RBR 42728

MALVACEAE

Sida planicaulis Cav.

Det.: Souza, M.C. (em 13-III-2018)

Brasil, Rio de Janeiro, Nova Iguaçu. Prados Verde. Propriedade Rural situada na Rua Santo [REDACTED]

Hábito/Forma de vida: Arbusto.

Santos, A.M., s.n.

04-XII-2017

Proj.: Projeto de doutorado PPGMV/UFRRJ: Doença do armazenamento lisossomal induzida por *Sida carpinifolia* (Malvaceae) em ovinos no estado do Rio de Janeiro.



RBR00042728

Figura 8. Doença do armazenamento lisossomal induzida por *Sida planicaulis* Cav. (*S. carpinifolia*) (Malvaceae) em ovinos no estado do Rio de Janeiro. Ficha de catálogo do Herbário da UFRRJ.

4.3. Dados clínicos

O primeiro animal foi encontrado com severa letargia, caquético, em decúbito e pouco responsivo aos estímulos externos. Havia ainda grande aumento das articulações do carpo.

Durante a segunda visita, à inspeção do rebanho a pasto, cerca de 10 animais apresentavam baixo escore corporal e alguns sinais de andar cambaleante e ataxia. Quando movimentados mais vigorosamente, os animais mais afetados apresentavam distúrbios de marcha que variavam desde leve a grave hipermetria e quedas (Figura 9). Observou-se, com os animais dentro do aprisco, que alguns apresentavam leves tremores de cabeça que eram regulares em repouso, e se intensificavam durante

alimentação e manejo. Em outros animais, os tremores eram mais pronunciados, sobretudo nos que haviam apresentado distúrbios de marcha. Aparentemente, qualquer situação que estressasse os animais era capaz de iniciar (nos animais aparentemente hígidos) ou exacerbar os tremores de intenção, como movimentá-los forçadamente, puxá-los com a corda, ocluir sua visão e levantar a cabeça. Com a aplicação do HRT (teste que consiste em estender caudo-dorsalmente a cabeça do animal em estação durante 60 segundos e, em seguida, soltá-la subitamente) (Figura 10), evidenciaram-se os tremores de intenção e ao fim do procedimento, alguns dos animais ficavam tontos, caíam ao solo e apresentavam dificuldades para levantar por alguns segundos.



Figura 9. Doença do armazenamento lisossomal induzida por *Sida planicaulis* Cav. (*S. carpinifolia*) (Malvaceae) em ovinos no estado do Rio de Janeiro. Ovino 2. Animal com dificuldade de se levantar após decúbito.



Figura 10. Doença do armazenamento lisossomal induzida por *Sida planicaulis* Cav. (*S. carpinifolia*) (Malvaceae) em ovinos no estado do Rio de Janeiro. Realização do HRT no ovino 4.

O exame clínico neurológico detalhado dos quatro animais (três fêmeas e um macho) com sintomas mais marcados revelou déficit proprioceptivo, em que os animais abduziam os membros torácicos e pélvicos (Figura 11) ou trocavam as posições das patas (Figura 12), incoordenação motora, tremores de intenção. Os detalhes pormenorizados da avaliação clínica estão dispostos no quadro 3. Devido aos sinais severos de incoordenação motora, tremores de intenção, sobretudo após o HRT, os animais foram eutanasiados a pedido do produtor.

Quadro 3. Exame clínico dos animais intoxicados por *Sida planicaulis* Cav. (*S. carpinifolia*)

	Ov1, F, PL	Ov2, F, PB	Ov3, F, P	Ov4, M, macho jovem
Peso	42 Kg	47 Kg	54 Kg	15 kg
FC	88	84	96	100
FR	68	44	52	20
MR/5min	12	7	10	5
Mucosas	Normocoradas	Normocoradas	Normocoradas	Hipocoradas ++
T	38,9°C	38,7°C	39,2°C	38,9°C
Reflexo patelar	Sem alterações	Sem alterações	Sem alterações	Sem alterações
Reflexo flexor	Sem alterações	Sem alterações	Sem alterações	Sem alterações
Reflexo pupilar	Sem alterações	Sem alterações	Sem alterações	Sem alterações
Reflexo da cauda	Sem alterações	Sem alterações	Sem alterações	Ausente
Reflexo anal	Sem alterações	Sem alterações	Sem alterações	Ausente
Sensibilidade (dor)	Sem alterações	Sem alterações	Sem alterações	Sem alterações
Nervos cranianos	Sem alterações	Sem alterações	Sem alterações	Sem alterações
Comportamento, reações posturais e marcha	Tremores na cabeça ++(+) (exacerbados após o HRT com posterior desequilíbrio e queda ou durante a marcha de olhos vendados) Incoordenação e debilidade motora + (batida em obstáculos e desequilíbrio à suspensão de um membro ou após decúbito lateral)	Apatia Tremores na cabeça +++ (muito exacerbados após o HRT com posterior desequilíbrio e queda ou durante a marcha de olhos vendados) Incoordenação e debilidade motora + (batida em obstáculos)	Tremores na cabeça +(+) (exacerbados após o HRT e durante a marcha de olhos vendados) Incoordenação e debilidade motora + (batida em obstáculos e desequilíbrio após decúbito lateral com permanência de apoio nos cotovelos)	Incoordenação e debilidade motora ++(+) (cambaleio, abdução exagerada de membros, batida em obstáculos, instabilidade de membros [principalmente posteriores], desequilíbrio e queda à suspensão de um membro ou leve empurrão, exacerbados durante a marcha de olhos vendados)
Legenda: + Discreto, ++ Leve, +++ Moderado, +++(+) Acentuado, +++ Severo, FC: Frequência cardíaca, FR: Frequência respiratória, MR: Movimentos ruminais, T: Temperatura, F: Fêmea, M: Macho, PL: Preto lanado, PB: Preta e branca, P: Preta.				

Até um ano após a identificação do surto, novas visitas à propriedade mostraram que os problemas relacionados ao manejo ainda eram frequentes (pastos invadidos por *S. planicaulis* e escassez de forragem) e os animais apresentavam sinais clínicos compatíveis com o quadro de intoxicação por *S. planicaulis*.



Figura 11. Doença do armazenamento lisossomal induzida por *Sida planicaulis* Cav. (*S. carpinifolia*) (Malvaceae) em ovinos no estado do Rio de Janeiro. Ovino 4. Animal com membros abduzidos.



Figura 12. Doença do armazenamento lisossomal induzida por *Sida planicaulis* Cav. (*S. carpinifolia*) (Malvaceae) em ovinos no estado do Rio de Janeiro. Ovino 4. Sequencia de sinais após HRT (andar cambaleante, com membros pélvicos em posição atípica).

4.4. Necropsia

Observou-se, à necropsia do primeiro animal, aumento de volume nas articulações rádio-cárpicas, com espessamento de tecido periarticular, linfadenomegalia (mesentéricos e pré-escapular) e leve parasitose por *Haemonchus contortus*. Não foram observadas alterações dignas de nota em nenhum dos outros ovinos necropsiados.

4.5. Histopatologia e histoquímica

A avaliação histopatológica das seções de tireoide e cerebelo do primeiro animal necropsiado revelou discreta vacuolização de células foliculares da tireoide e em neurônios da camada de Purkinje. Adicionalmente observaram-se esferoides axonais e vacuolização de alguns neurônios de núcleos da base.

Nos quatro ovinos que foram submetidos à avaliação neurológica mais detalhada, os achados histopatológicos mais significativos foram observados no sistema nervoso. Os ovinos apresentaram vacuolização/tumefação de neurônios da camada de Purkinje do cerebelo (4/4) (Figura 13), na camada piramidal do córtex (1/4) e na cápsula interna (1/4).

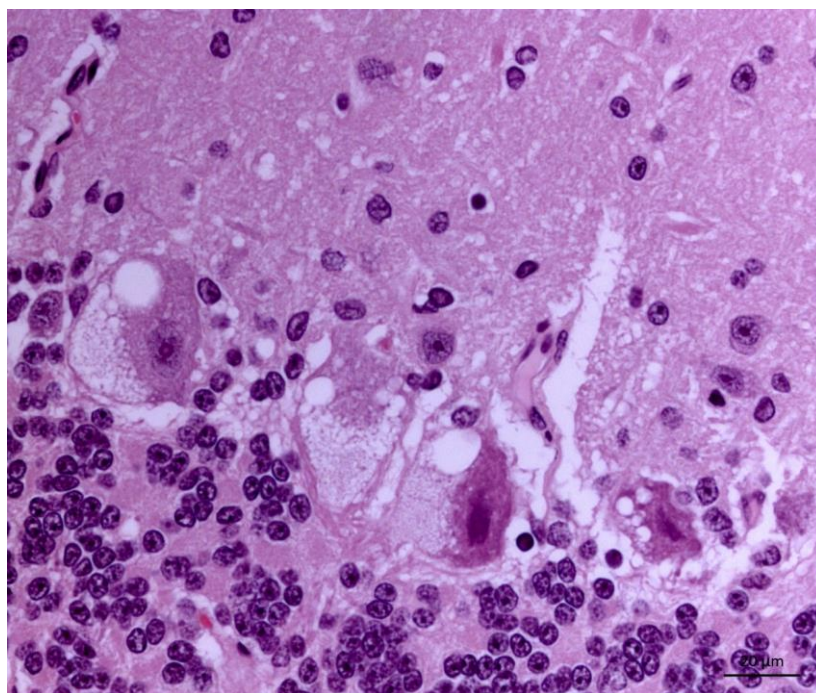


Figura 13. Doença do armazenamento lisossomal induzida por *Sida planicaulis* Cav. (*S. carpinifolia*) (Malvaceae) em ovinos no estado do Rio de Janeiro. Ovino 4. Cerebelo. Tumefação e microvacuolização de neurônios da camada de Purkinje. HE, obj. 63x.

Proliferação astrocitária distribuída pela neuropila com astrócitos bi ou trinucleados, em processo de amitose, acompanhada de alterações morfológicas, como núcleos indentados e de cromatina marginada foi observada no córtex telencefálico (3/4), cápsula interna (2/4), tálamo (Figura 14) (2/4), mesencéfalo (4/4), bulbo (Figura 15) e ponte (2/4), cerebelo (2/4) e cornos ventrais da medula espinhal (3/4) (Figura 16). Usualmente esta proliferação tornava-se mais intensa quando concentrada ao redor de núcleos de neurônios (satelitose) necróticos ou em processo degenerativo avançado (Figura 17) que apresentavam citoplasma fortemente eosinofílico, por vezes, tumefeito e núcleos picnóticos ou que sofreram cromatólise. Havia ainda, junto ao processo, degeneração axonal que foi observada no tálamo (1/4), mesencéfalo (1/4), tronco encefálico (1/4) e córtex telencefálico (1/4).

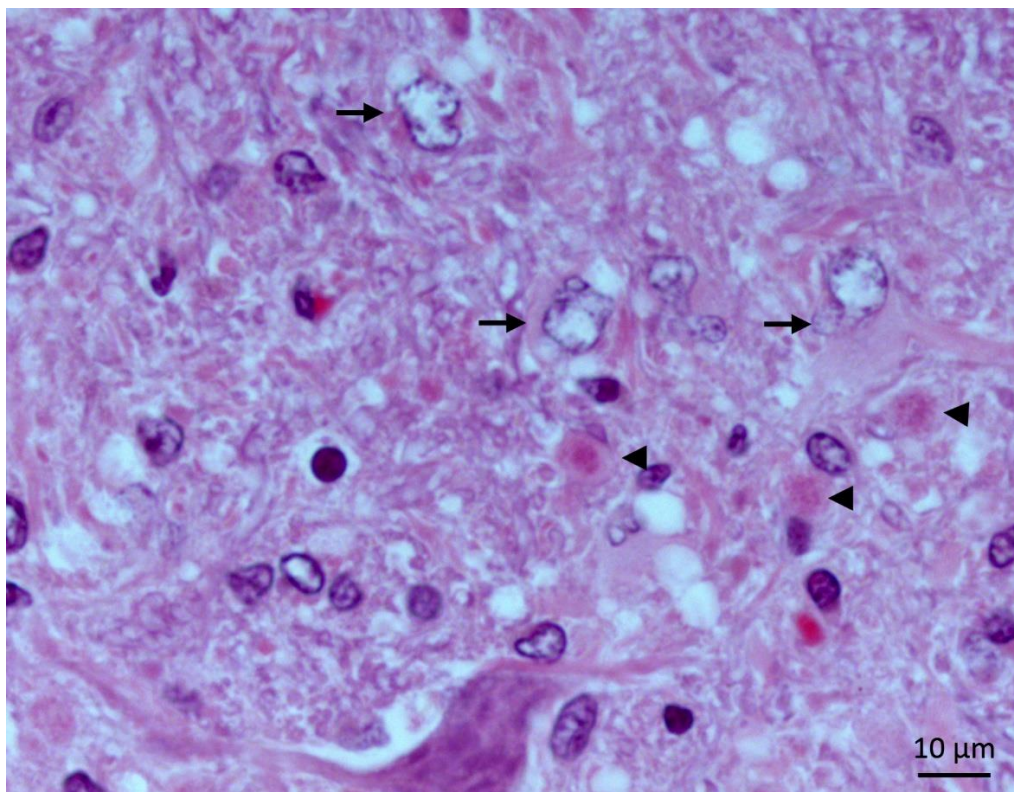


Figura 14. Doença do armazenamento lisossomal induzida por *Sida planicaulis* Cav. (*S. carpinifolia*) (Malvaceae) em ovinos no estado do Rio de Janeiro. Ovino 1. Tálamo. Astrócitos atípicos com núcleos indentados (setas) e esferoides axonais (cabeças de seta). HE, Obj. 63x (aproximação).

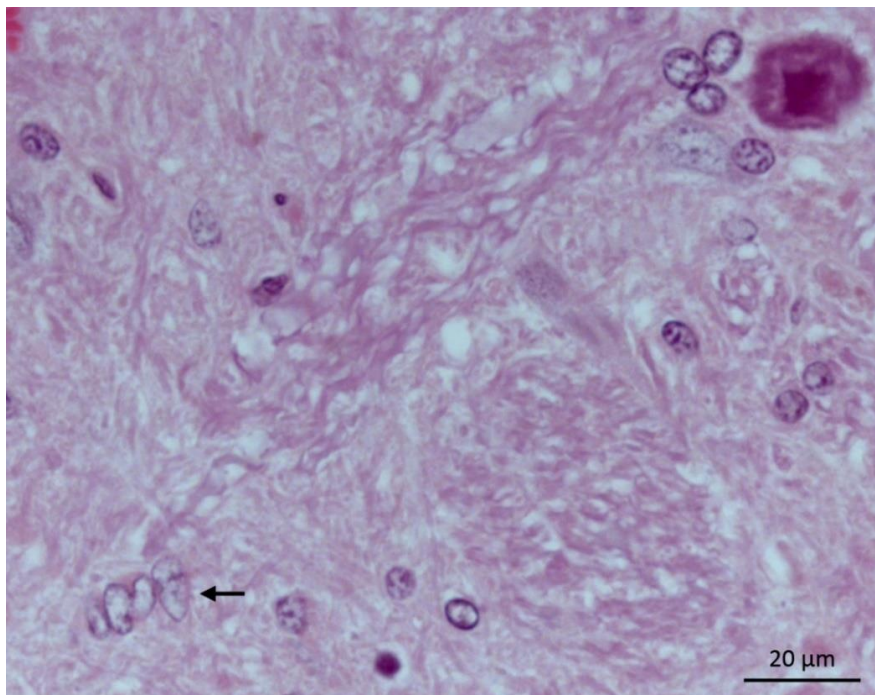


Figura 15. Doença do armazenamento lisossomal induzida por *Sida planicaulis* Cav. (*S. carpinifolia*) (Malvaceae) em ovinos no estado do Rio de Janeiro. Ovino 1. Bulbo. Astrócitos com múltiplos núcleos em processo de amitose (seta). HE, obj. 63x.

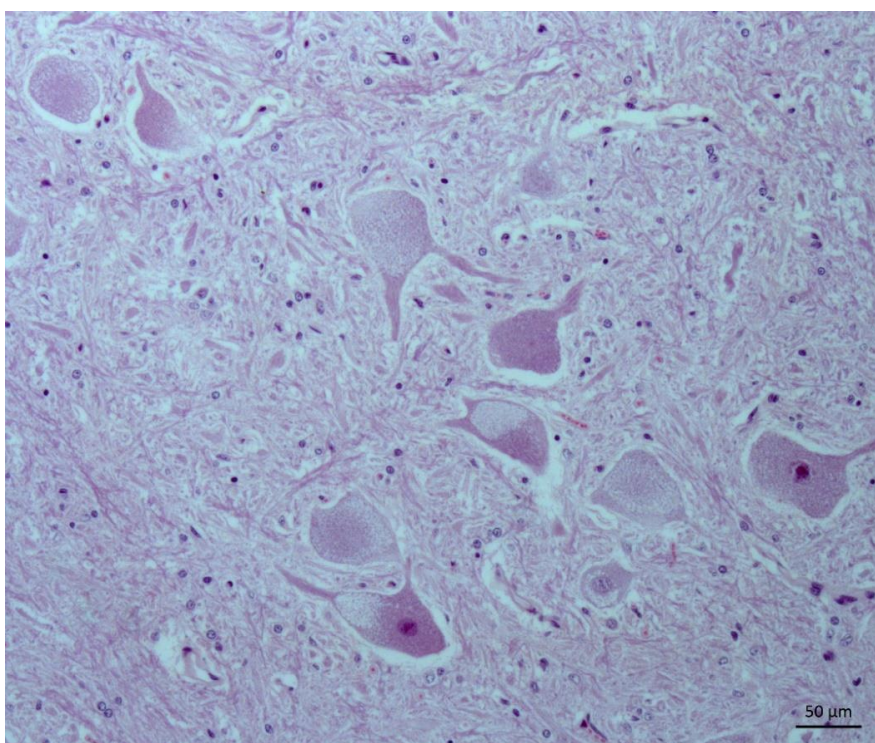


Figura 16. Doença do armazenamento lisossomal induzida por *Sida planicaulis* Cav. (*S. carpinifolia*) (Malvaceae) em ovinos no estado do Rio de Janeiro. Ovino 4. Medula espinhal. Neurônios do corno ventral da medula com tumefação e microvacuolização intracitoplasmática. HE, obj. 20x.

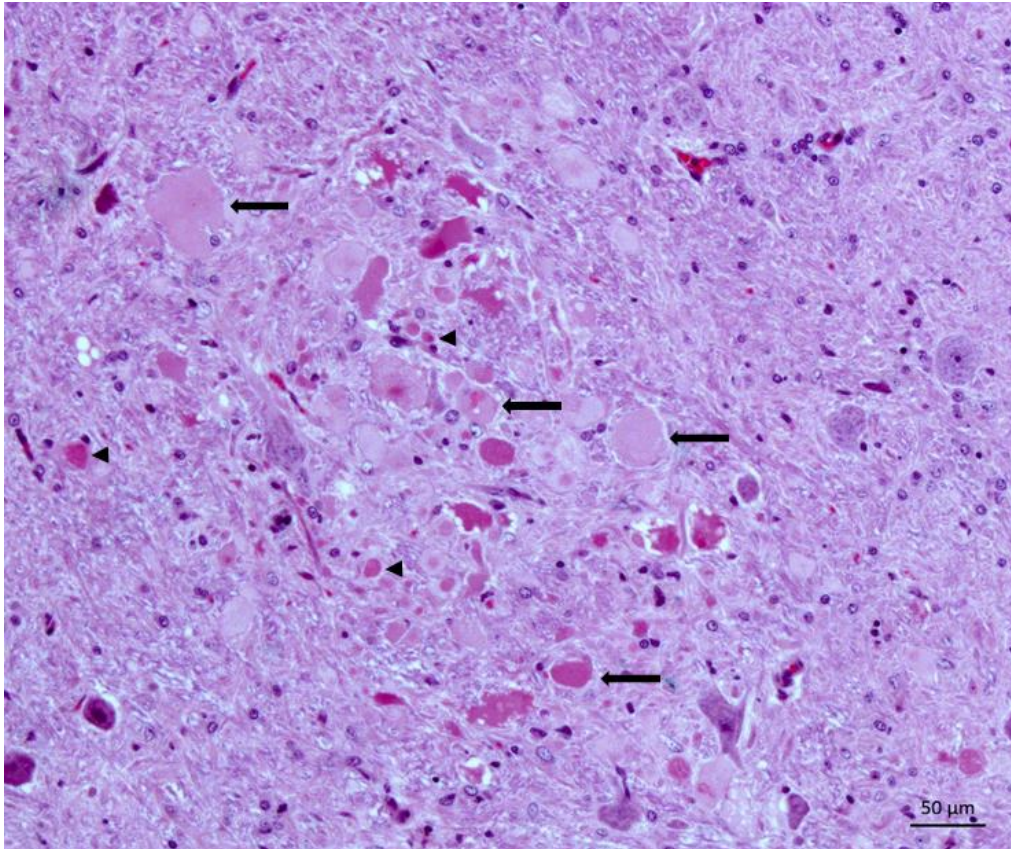


Figura 17. Doença do armazenamento lisossomal induzida por *Sida planicaulis* Cav. (*S. carpinifolia*) (Malvaceae) em ovinos no estado do Rio de Janeiro. Ovino 1. Bulbo. Necrose neuronal (setas), alterações astrocitárias e esferoides axonais (cabeças de seta). HE, obj. 20x.

A coloração de LFB não foi capaz de detectar focos de desmielinização nas seções histológicas de cerebelo testadas. Os neurônios cerebelares, sobretudo de Purkinje apresentaram severa perda de elementos celulares, como a substância de Nissl quando observados na coloração de Cresil Violeta, o que indica graus variáveis de degeneração a necrose neuronal (Figuras 18 e 19).

Todos os animais apresentaram vacuolização multifocal de células acinares do pâncreas (4/4) (Figura 20) e nos ovinos 1, 2 e 4 (3/4) essa vacuolização foi também observada nas células foliculares da tireoide (Figura 21). Os ovinos 1 e 4 apresentaram leve e moderada tumefação/microvacuolização do epitélio tubular renal, respectivamente.

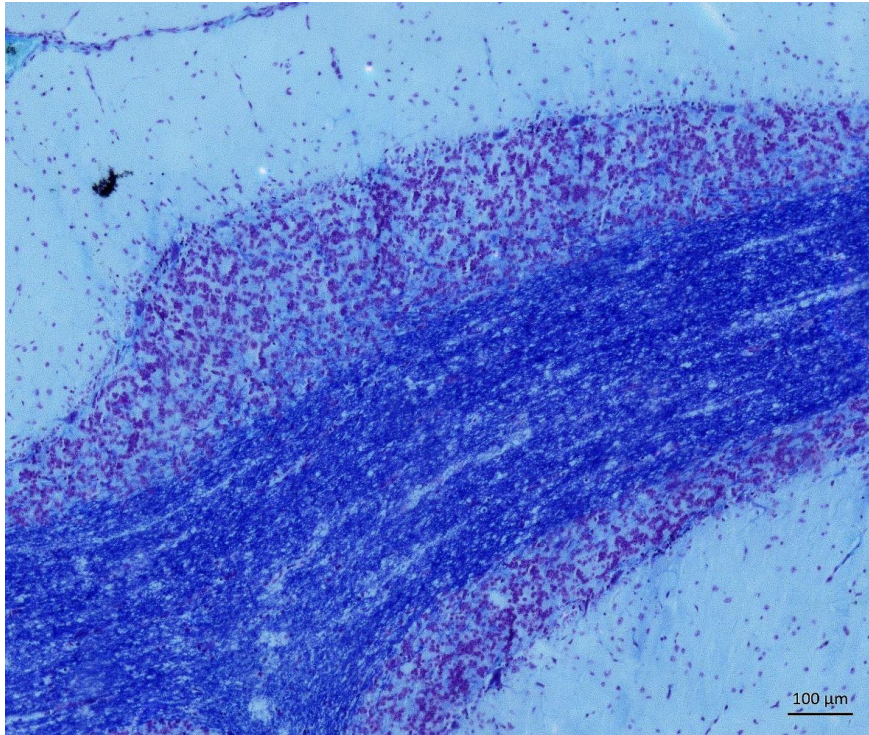


Figura 18. Doença do armazenamento lisossomal induzida por *Sida planicaulis* Cav. (*S. carpinifolia*) (Malvaceae) em ovinos no estado do Rio de Janeiro. Ovino 4. Cerebelo. Integridade das bainhas de mielina evidenciadas em azul. LFB e CV, obj. 10x.

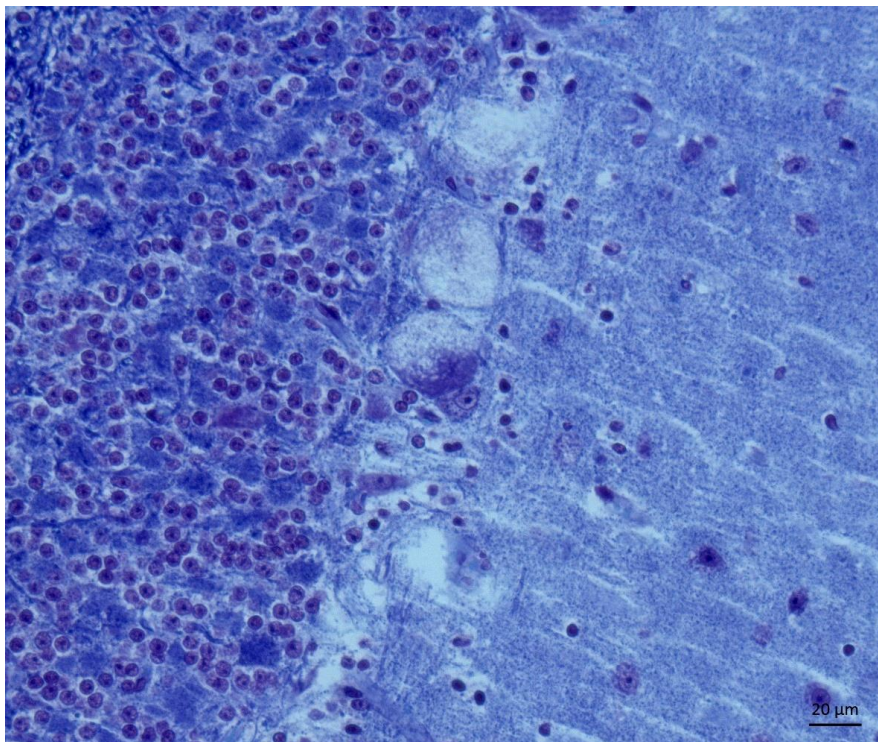


Figura 19. Doença do armazenamento lisossomal induzida por *Sida planicaulis* Cav. (*S. carpinifolia*) (Malvaceae) em ovinos no estado do Rio de Janeiro. Ovino 4. Cerebelo. Perda de elementos celulares em neurônios de Purkinje. LFB e CV, obj. 40x.

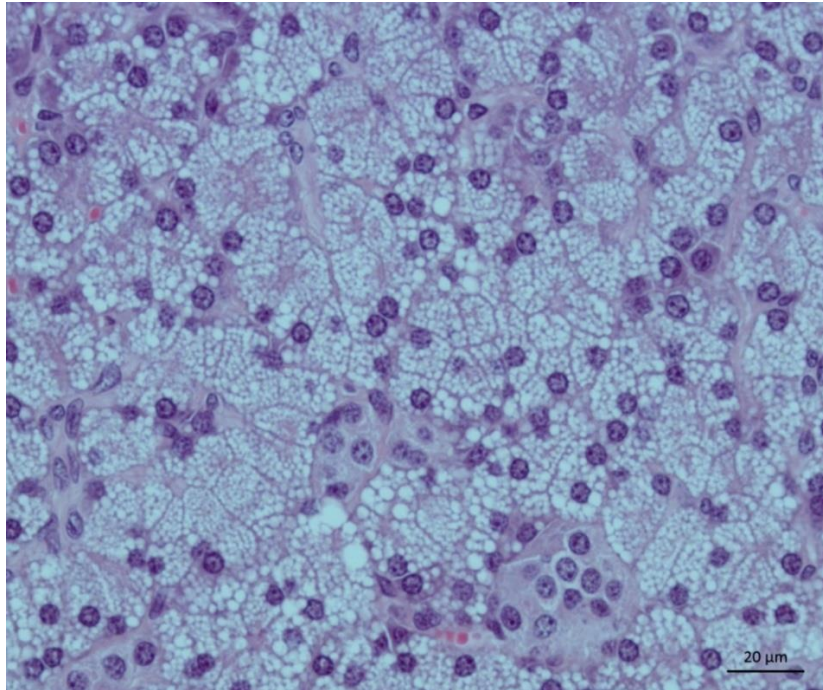


Figura 20. Doença do armazenamento lisossomal induzida por *Sida planicaulis* Cav. (*S. carpinifolia*) (Malvaceae) em ovinos no estado do Rio de Janeiro. Ovino 4. Pâncreas. Vacuolização intracitoplasmática de células acinares. HE, obj. 63x.

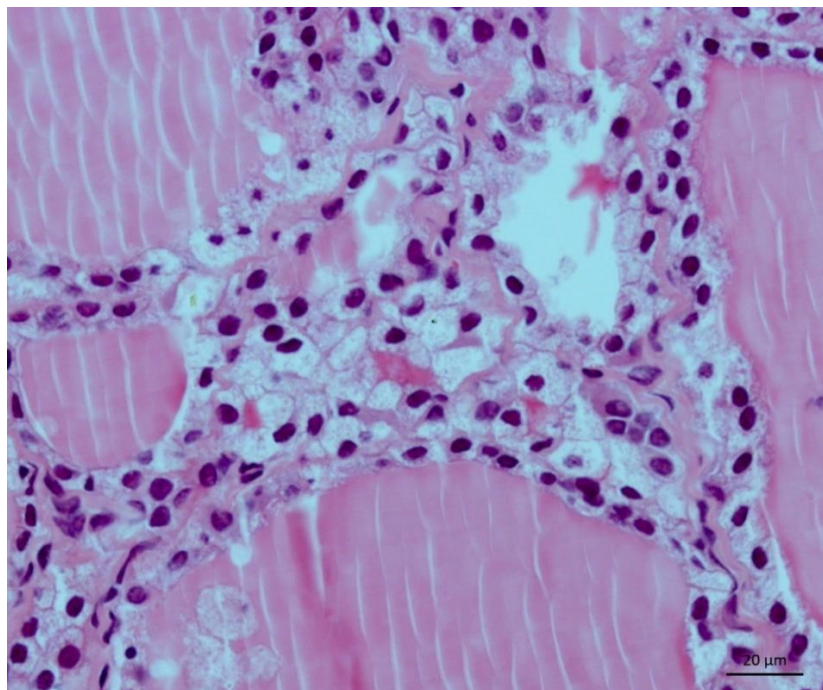


Figura 21. Doença do armazenamento lisossomal induzida por *Sida planicaulis* Cav. (*S. carpinifolia*) (Malvaceae) em ovinos no estado do Rio de Janeiro. Ovino 4. Tireoide. Vacuolização de células foliculares. HE, obj. 63x.

Os achados histopatológicos observados no feto (produto do ovino 3) restringiam-se à moderada vacuolização das células epiteliais dos túbulos renais. Adicionalmente, edema e vacuolização citoplasmática das células do epitélio coriônico da placenta foram observados, com aparente degeneração nos placentomas.

Na musculatura esquelética de todos os animais observaram-se cistos de *Sarcocystis* sp. sem alterações inflamatórias associadas à presença dos microrganismos. Não foram observadas alterações nos demais órgãos.

4.6. Lectino-histoquímica

As seções histológicas de cerebelo submetidas à lectino-histoquímica revelaram para a lectina **Con A** reatividade variável entre discreta a forte em vacúolos citoplasmáticos de neurônios de Purkinje (Figura 22) e moderada no citoplasma de neurônios de Golgi (Figura 23).

Com relação a lectina **WGA** houve forte reatividade em vacúolos citoplasmáticos de neurônios de Purkinje (Figura 24) e leve a moderada em neurônios de Golgi.

Houve forte reatividade à lectina **sWGA** no citoplasma de neurônios dos núcleos da base do cerebelo (bulbo e ponte) e fraca imuno-marcação no citoplasma de neurônios de Purkinje.

A lectina **PSA** apresentou reatividade moderada no citoplasma de neurônios de Purkinje. Outras lectinas não apresentaram marcações específicas em vacúolos contidos nas células afetadas pelo armazenamento e por isso foram consideradas negativas.

As células acinares pancreáticas apresentaram forte reatividade para os vacúolos intracitoplasmáticos na avaliação lectino-histoquímica para PHA-L, PHA-E e SBA, moderada reatividade para Con A, WGA (Figura 25), DBA e LCA, e fraca para sWGA.

As células foliculares da tireoide não apresentaram reatividade para as lectinas testadas.

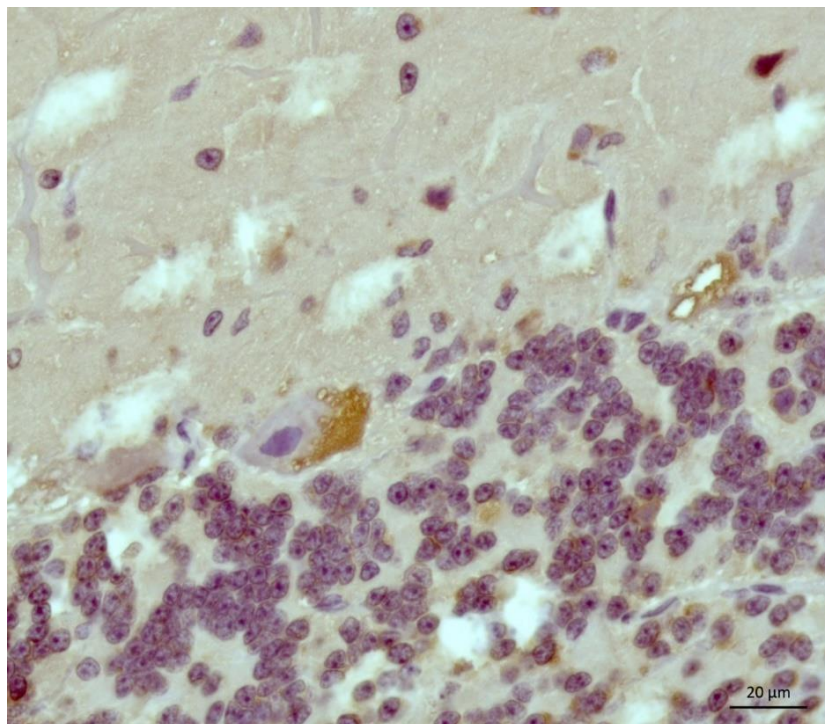


Figura 22. Doença do armazenamento lisossomal induzida por *Sida planicaulis* Cav. (*S. carpinifolia*) (Malvaceae) em ovinos no estado do Rio de Janeiro. Ovino 4. Cerebelo. Forte reatividade para Con A em neurônios de Purkinje. Lectino-histoquímica. Obj. 63x.

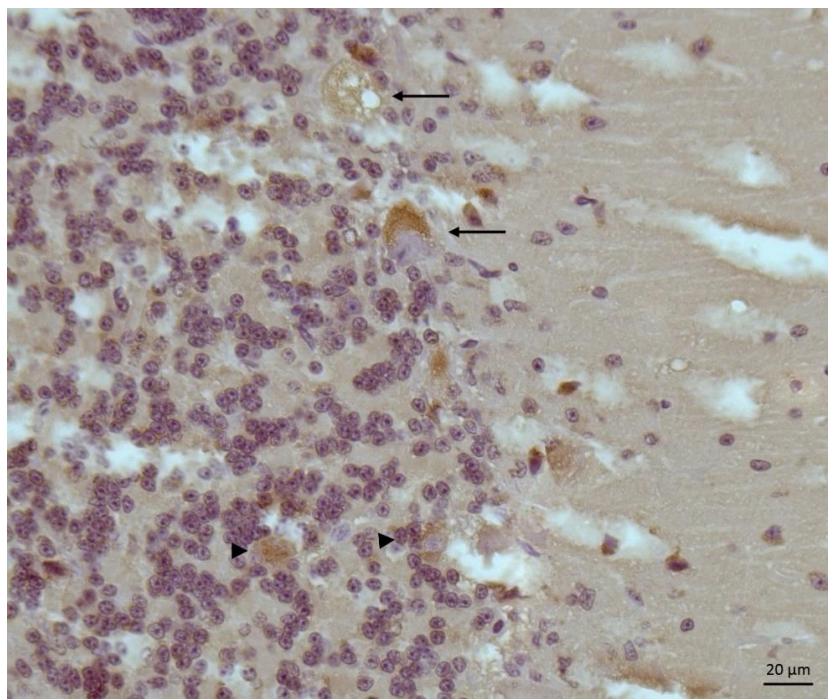


Figura 23. Doença do armazenamento lisossomal induzida por *Sida planicaulis* Cav. (*S. carpinifolia*) (Malvaceae) em ovinos no estado do Rio de Janeiro. Ovino 4. Forte reatividade para Con A em neurônios de Purkinje (setas) e em neurônios de Golgi (cabeças de seta). Lectino-histoquímica. Obj. 40x.

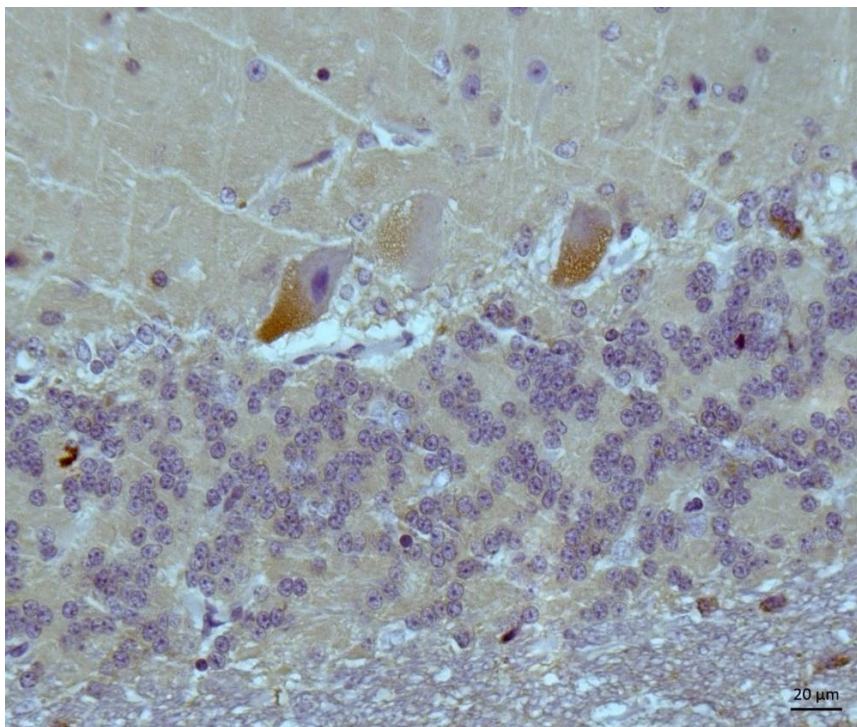


Figura 24. Doença do armazenamento lisossomal induzida por *Sida planicaulis* Cav. (*S. carpinifolia*) (Malvaceae) em ovinos no estado do Rio de Janeiro. Ovino 2. Cerebelo. Forte reatividade para WGA em neurônios de Purkinje. Lectino-histoquímica. Obj. 40x.

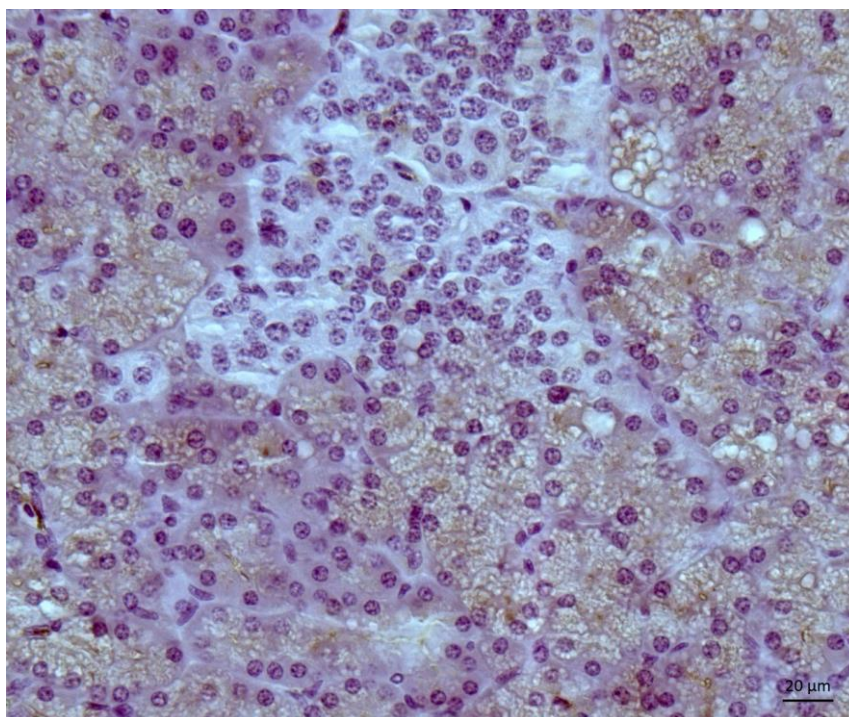


Figura 25. Doença do armazenamento lisossomal induzida por *Sida planicaulis* Cav. (*S. carpinifolia*) (Malvaceae) em ovinos no estado do Rio de Janeiro. Ovino 3. Pâncreas. Moderada reatividade para WGA em células acinares. Lectino-histoquímica. Obj. 40x.

4.7. Imuno-histoquímica

No exame imuno-histoquímico não houve reatividade ao anticorpo anti-prion da Encefalopatia Espongiforme Ovina (Scrapie) nas seções de cerebelo avaliadas.

4.8. Análise ultraestrutural

Os cortes semi-finos de pâncreas revelaram severa vacuolização intracitoplasmática em células acinares (Figura 26), que à microscopia eletrônica de transmissão foram caracterizados como vacúolos de até 2,5 μ m de diâmetro, em sua maioria vazios, porém alguns apresentavam substância amorfa, reticular e com grânulos osmiofílicos (Figura 27). Esses vacúolos são delineados por uma fina membrana de camada única que media até 20nm de espessura, característica de lisossomos (Figura 28).

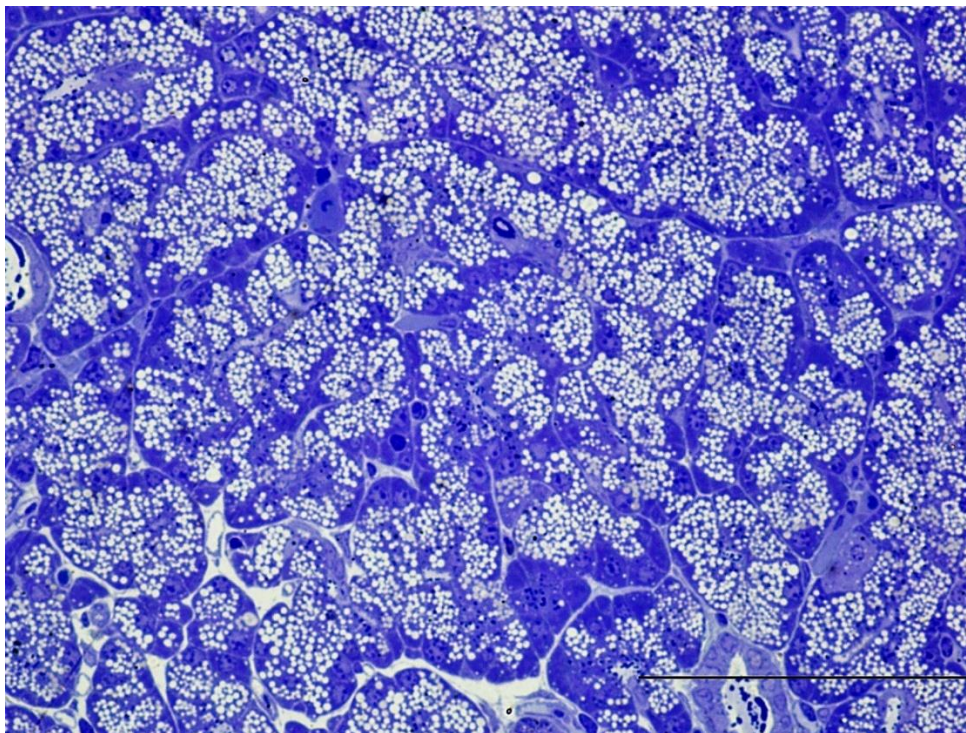


Figura 26. Doença do armazenamento lisossomal induzida por *Sida planicaulis* Cav. (*S. carpinifolia*) (Malvaceae) em ovinos no estado do Rio de Janeiro. Pâncreas. Severa vacuolização intracitoplasmática. Corte semi-fino, Azul de metileno (Barra = 100 μ m).

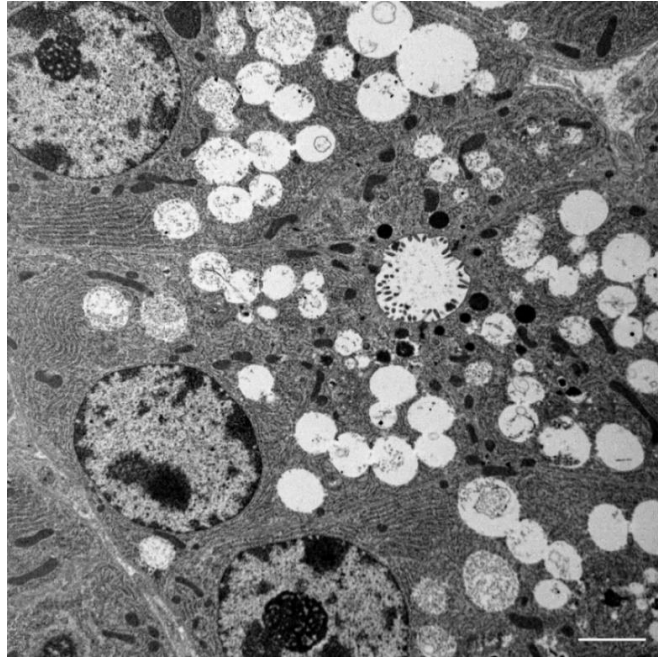


Figura 27. Doença do armazenamento lisossomal induzida por *Sida planicaulis* Cav. (*S. carpinifolia*) (Malvaceae) em ovinos no estado do Rio de Janeiro. Pâncreas. Microvacuolização em células acinares, contendo material osmiofílico granular. MET, 7500x (Barra = 2 μ m).

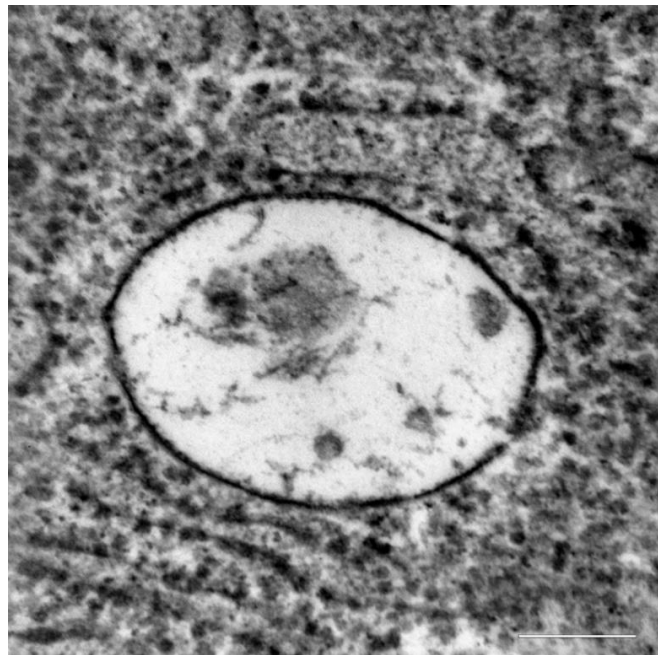


Figura 28. Doença do armazenamento lisossomal induzida por *Sida planicaulis* Cav. (*S. carpinifolia*) (Malvaceae) em ovinos no estado do Rio de Janeiro. Pâncreas. Vacúolo lisossomal com membrana em camada única de até 20nm. MET, 15000x (Barra = 200nm).

5. DISCUSSÃO

O diagnóstico da intoxicação por *Sida planicaulis* Cav. (*S. carpinifolia*) foi estabelecido através dos dados epidemiológicos obtidos na propriedade, associados aos achados histopatológicos e confirmados pelas avaliações lectino-histoquímica e ultraestruturais.

No surto observado, a diminuição da oferta de forragem, aliada à severa invasão de *S. planicaulis* nos pastos induziu o consumo da planta em grande quantidade e, conseqüentemente, a doença, sobretudo em animais mais fracos na hierarquia do rebanho, como observado em cervídeos cativos (ANJOS et al., 2016). Os erros no manejo das pastagens e a superlotação são relatados como fatores importantes para o acontecimento dos surtos envolvendo *S. planicaulis*. (COLODEL et al., 2002; FURLAN et al., 2009; PEDROSO et al., 2010; ANJOS et al., 2016)

Quando forçados a ingerir a *S. planicaulis*, alguns animais desenvolvem paladar pela planta e, posteriormente, a ingerem mesmo com disponibilidade de outra forragem (FURLÁN et al., 2009; TOKARNIA et al., 2012). O aparente vício é também observado na intoxicação por outras plantas que contêm swainsonina (BARBOSA et al., 2006; ARMIÉN et al., 2007; DANTAS et al., 2007). É possível que os animais mais jovens afetados tenham começado a ingerir a planta depois de observarem os animais adultos a consumirem, fenômeno conhecido por facilitação social.

Assim como observado nas intoxicações por *S. planicaulis* em bovinos (FURLAN et al., 2009), o fato da produção animal não ser a principal fonte de renda do produtor contribuiu para a ocorrência do surto, uma vez que alguns fatores do manejo foram negligenciados, o que levou a casos recorrentes após um ano do diagnóstico definitivo.

Os sinais clínicos de tremores, posição de cavalete, marcha cambaleante, quedas e instabilidade ao HRT observados nos ovinos deste estudo foram similares aos já encontrados em ovinos intoxicados experimentalmente por *S. planicaulis* (SEITZ et al., 2005a).

Diferentemente dos estudos já realizados, os animais deste surto não perderam capacidade de apreender o alimento, entraram em estado letárgico ou apresentaram emaciação. É provável que isto ocorra devido ao tempo reduzido de ingestão da planta, uma vez que se comparados aos animais experimentalmente intoxicados, os quadros

clínicos são similares aos que ingeriram a planta por tempo médio de 53 a 75 dias. Animais que ingeriram a planta por período mais longo, apresentaram sinais clínicos mais severos que os observados neste estudo (SEITZ et al., 2005a).

O quadro clínico observado foi semelhante ao encontrado nas intoxicações por *S. planicaulis* em bovinos (FURLAN et al., 2008, 2009; PEDROSO et al., 2012), caprinos (DRIEMEIER et al., 2000; COLODEL et al., 2002), equídeos (LORETTI et al., 2003; BASSUINO et al., 2017) e cervídeos (ANJOS et al., 2016), nas demais intoxicações por plantas que causadoras de glicoproteinose no Brasil, como *Ipomoea carnea* ssp. *fistulosa* (ARMIÉN et al., 2007, 2011), *Turbina cordata* (DANTAS et al., 2007), *Ipomoea riedelli* e *I. sericophylla* (BARBOSA et a., 2006), e no mundo, como *Swaïsona* spp. (DORLING et al., 1980) e *Astragalus* spp. (MARSH, 1909; MATHEWS, 1932; JAMES, 1976).

À necropsia do primeiro animal, as alterações observadas em linfonodos mesentéricos são similares às encontradas em caprinos intoxicados por *S. planicaulis* (COLODEL et al., 2002), contudo, outras condições poderiam ser a causa desta alteração. Nos outros animais, assim como nas outras intoxicações por *S. planicaulis*, não foram encontradas lesões macroscópicas específicas (DRIEMEIER et al., 2000; COLODEL et al., 2002; SEITZ et al., 2005a; FURLÁN et al., 2008, 2009; PEDROSO et al., 2012; BASSUINO et al., 2017). A microscopia ótica do sistema nervoso revelou severa vacuolização e tumefação intracitoplasmática em neurônios de diversos pontos do sistema nervoso central, sobretudo na camada de Purkinje do cerebelo. O mau funcionamento destas células, ocasionado pelo acúmulo de material glicoproteico no interior dos lisossomos é responsável pela síndrome cerebelar, com incoordenação motora e perda de equilíbrio nos animais intoxicados (OLIVEIRA JR et al., 2013). Há ainda alterações degenerativo-necróticas em núcleos cerebelares, bulbares e pontinos que participam da patogênese dos sinais observados. É possível que as alterações histológicas observadas nos animais deste estudo estivessem presentes em outros animais do rebanho, uma vez que alterações compatíveis com o armazenamento lisossomal foram descritas em animais intoxicados experimentalmente por *S. planicaulis* sem sinais clínicos observáveis (SEITZ et al., 2005a).

Apesar da severa vacuolização encontrada nas células acinares do pâncreas e foliculares da tireoide, não foram observadas alterações clínicas associadas à disfunção desses órgãos neste estudo e em estudos prévios.

A análise histopatológica do feto revelou vacuolizações nas células epiteliais dos túbulos renais e nos placentomas, assim como observado em fetos ovinos intoxicados por *Ipomoea carnea* subsp. *fistulosa* (ARMIÉN et al., 2011), entretanto a técnica de lectino-histoquímica não foi capaz de identificar oligossacarídeos como os que ocorrem na doença do armazenamento lisossomal provocada pela swainsonina, o que indica que fenômenos degenerativos (vacuolização e tumefação celular) podem ocorrer independentemente do armazenamento.

A técnica de lectino-histoquímica foi capaz de identificar reatividade para Con A, WGA e sWGA nos neurônios afetados e células acinares pancreáticas, o que indica a presença de resíduos de α -glicose, α -manose e β -n-acetilglicosamina. A ação da swainsonina nos tecidos animais provoca diminuição da atividade de α -manosidase do complexo de Golgi e gera dificuldades no catabolismo de todos os açúcares com resíduos α -manosil. Além disso, a síntese de oligossacarídeos complexos em sua estrutura normal é prejudicada pela inibição da manosidase tipo II do complexo de Golgi, o que também leva ao acúmulo de glicoproteínas (ALROY et al., 1985). O padrão de marcação foi similar ao observado em manosidoses congênitas, intoxicações por plantas do gênero *Astragalus* e *Swainsona* (ALROY et al., 1985), *Ipomoea carnea* ssp. *fistulosa* (ARMIÉN et al., 2007) e *S. planicaulis* (DRIEMEIER et al., 2000; PEDROSO et al., 2012; BASSUINO et al., 2017).

A marcação adicional das células acinares do pâncreas observada para as lectinas PSA, PHA-E, PHA-L, DBA, LCA e SBA, indica armazenamento de α -glicose, α -manose, α -N-acetilgalactosamina e açúcares complexos. Seitz et al. (2005b) observaram marcação das células acinares pancreáticas em ovinos para ConA, sWGA, WGA, UEA-1, PNA, RCA-1, SBA e DBA, contudo as seis últimas não foram consideradas diferentes dos controles e as lectinas LCA, PSA, PHA-L e PHA-E - que marcaram positivamente neste estudo - não foram testadas. Esses dados foram também observados, parcialmente, na intoxicação por *Ipomoea verbascoideae* em cabras (MENDONÇA et al., 2012).

A microscopia eletrônica revelou diversas vacuolizações no interior de células acinares pancreáticas, revestidas por membranas de camadas simples de até 20nm de largura, que são características de lisossomos, confirmando a natureza dos vacúolos observados por microscopia ótica. Os resultados obtidos estão de acordo com a intoxicação por swainsonina em caprinos, ovinos e bovinos intoxicados por *S.*

planicaulis (DRIEMEIER et al., 2000; SEITZ et al., 2005a; FURLÁN et al., 2008, 2009) e em caprinos intoxicados por *Ipomoea carnea* ssp. *fistulosa* (ARMIÉN et al., 2007).

Os principais diagnósticos diferenciais a serem considerados foram feitos com doenças que possam cursar com tremores e/ou ataxia. Para tal, os dados epidemiológicos, exame clínico dos animais, microscopia ótica e eletrônica, histoquímica e lectino-histoquímica foram capazes de diferenciar as possíveis afecções.

A ataxia enzoótica provocada pela deficiência severa de cobre é uma doença que acomete cordeiros, bezerras e cabritos desde seu nascimento até aproximadamente quatro meses de idade. Clinicamente é possível observar perda de controle sobre os membros posteriores que progride de problemas na marcha até total incapacidade de se locomover (TOKARNIA et al., 2010). Alguns animais desenvolvem porencefalia decorrente de grave degeneração da mielina. As principais alterações histológicas desta enfermidade são a hemossiderose no baço, linfonodos fígado e rim, e quando há ataxia enzoótica, severa desmielinização no sistema nervoso central. No presente relato, o acometimento de animais adultos, ausência de alterações macroscópicas e coloração de Luxol Fast Blue evidenciando integridade da mielina excluem a possibilidade diagnóstica de ataxia enzoótica.

O quadro clínico-patológico das intoxicações por outras plantas causadoras de glicoproteinoses são idênticos aos observados neste surto. Contudo, a presença de numerosos exemplares de *S. planicaulis* com sinais de arrancamento das brotações, aliada a ausência de *Ipomoea carnea* ssp. *fistulosa* na referida propriedade, permitem o diagnóstico preciso da intoxicação. As demais plantas deste grupo (*Turbina cordata*, *I. sericophylla*, *I. riedelli*, *I. verbascoideae*), não foram observadas na pastagem e só são encontradas na região nordeste e, por este motivo, não foram consideradas como possíveis causadoras da enfermidade (OLIVEIRA JR et al., 2013).

A intoxicação por *Ipomoea asarifolia* causa em ovinos sintomatologia neurológica em parte similar, com tremores, hipermetria, ataxia, andar cambaleante e quedas (ARAUJO et al., 2008). Todavia, o quadro clínico-patológico foi diferente do observado neste surto (na intoxicação por *Ipomoea asarifolia* não há armazenamento de oligossacarídeos) e *I. asarifolia* não foi encontrada na pastagem.

O diagnóstico diferencial com a micotoxicose por *Claviceps paspali* foi obtido através dos dados epidemiológicos, uma vez que esta enfermidade é responsável pelo aparecimento de doença tremorgênica apenas em pastos de *Paspalum* spp. Os achados histopatológicos desta micotoxicose, geralmente ausentes, podem cursar com degeneração e perda de neurônios da camada de Purkinje, mas não apresentam vacuolizações características de armazenamento no cerebelo, pâncreas e tireoide (RIET-CORREA et al., 2013). As possibilidades diagnósticas das micotoxicoses por *Steocarpella maydis* e *Aspergillus clavatus* foram afastadas, uma vez que não havia histórico de administração de milho ou cevada para os ovinos em questão e, a histopatologia não evidenciou desmielinização e espongiose, comuns na diplodiose, e também não foram observados neurônios cromatolíticos típicos da toxicose por *Aspergillus clavatus* (RIET-CORREA et al., 2013; RIBEIRO, 2016).

A encefalopatia espongiiforme ovina é uma enfermidade causadora de vacuolizações e microvacuolizações no sistema nervoso, contudo, estas alterações se dão tanto nos neurônios quanto na neurópila (ZACHARY, 2016), o que não verificado no presente caso. De qualquer forma, não houve reatividade para o anticorpo anti-príon no exame imuno-histoquímico e esta enfermidade foi descartada.

6. CONCLUSÕES

- Os dados epidemiológicos e clínico-patológicos associados aos resultados dos exames lectino-histoquímicos e ultramicroscópicos confirmam *Sida planicaulis* Cav. (*S. carpinifolia*) como causa do surto de intoxicação em ovinos observado no estado do Rio de Janeiro.
- *Sida planicaulis* Cav. (*S. carpinifolia*) deve ser considerada no diagnóstico diferencial de doenças do sistema nervoso central em ovinos também na Região Sudeste.
- Em condições de acentuada carência de forragem, a intoxicação por *Sida planicaulis* Cav. (*S. carpinifolia*) em ovinos pode ocorrer mesmo fora da época de seca quando a planta predomina na pastagem.
- O armazenamento de açúcares, sobretudo com resíduos de α -glicose, α -manose e β -n-acetilglicosamina no sistema nervoso central com reatividade positiva para ConA, WGA e sWGA são característicos das glicoproteínoses, contudo outros resíduos de açúcares podem apresentar reatividade positiva.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, S.; HAYDEN, J.; BERTHOLD, P.; SHAPIRO, I. M.; DECKER, S.; PATTERSON, D.; HASKINS, M.; Growth plate pathology in feline mucopolysaccharidosis VI. *Calcified Tissue International*, v. 57, n. 3, p. 185-190, 1995.

ALROY, J. ORGAD, U.; UCCI, A. A.; PEREIRA, M. E. Identification of glycoprotein storage diseases by lectins: a new diagnostic method. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, v. 32, n. 12, p. 1280-1284, 1984.

ALROY, J.; ORGAD, U.; UCCI, A. A.; GAVRIS, V. E. Swainsonine toxicosis mimics lectin histochemistry of mannosidosis. *Veterinary Pathology*, v. 22, n. 4, p. 311-316, 1985.

ALROY, J.; UCCI, A. A.; WARREN, C. D. Human and canine fucosidosis: a comparative lectin histochemistry study. *Acta Neuropathologica*, v. 67, n. 3, p. 265-271, 1985.

ALROY, J.; UCCI, A. A.; GOYAL, V.; WOODS, W. Lectin histochemistry of glycolipid storage diseases on frozen and paraffin-embedded tissue sections. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, v. 34, n. 4, p. 501-505, 1986.

ALROY, J.; GOYAL, V.; SKUTELSKY, E. Lectin histochemistry of mammalian endothelium. *Histochemistry and Cell Biology*, v. 86, n. 6, p. 603-607, 1987.

ANJOS, B. L.; PEIXOTO, P. V.; CALDAS, S. A.; BALTHAZAR, D.; FRANÇA, T. N.; ARMIÉN, A. G. et al. Poisoning by the swainsonine-containing plant *Sida carpinifolia* in captive sambar deer (*Cervus unicolor*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, v. 47, n. 3, p. 862-867, 2016.

ANNUNZIATA, I.; D'AZZO, A. Galactosialidosis: historic aspects and overview of investigated and emerging treatment options. *Expert Opinion on Orphan Drugs*, v. 5, n. 2, p. 131-141, 2017.

ARMIÉN, A. G.; TOKARNIA, C. H.; PEIXOTO, P. V.; FRESE K. Spontaneous and experimental glycoprotein storage disease of goats induced by *Ipomoea carnea* subsp. *fistulosa* (Convolvulaceae). *Veterinary Pathology*, v. 44, n. 2, p. 170-184, 2007.

ARMIÉN, A. G.; TOKARNIA, C. H.; PEIXOTO, P. V.; BARBOSA, J. D.; FRESE K. Clinical and morphologic changes in ewes and fetuses poisoned by *Ipomoea carnea* subspecies *fistulosa*. *Journal of veterinary diagnostic investigation*, v. 23, n. 2, p. 221-232, 2011.

ARAÚJO, J. A. S.; RIET-CORREA, F.; MEDEIROS, R. M. T.; SOARES, M. P.; OLIVEIRA, D. M.; CARVALHO, F. K. L. Intoxicação experimental por *Ipomoea asarifolia* (Convolvulaceae) em caprinos e ovinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 28, n. 10, p. 488-494, 2008.

- BARBOSA, J. D.; OLIVEIRA, C. M. C.; DUARTE, M. D.; PEIXOTO, P. V.; TOKARNIA, C. H. Intoxicações experimental e natural por *Ipomoea asarifolia* (Convolvulaceae) em búfalos e outros ruminantes. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 25, n. 4, p. 231-234, 2005.
- BARBOSA, R. C. RIET-CORREA, F.; MEDEIROS, R. M. T.; LIMA, E. F.; BARROS, S. S.; GIMENO, E. J.; MOLYNEUX, R. J.; GARDNER, D. R. Intoxication by *Ipomoea sericophylla* and *Ipomoea riedelii* in goats in the state of Paraíba, Northeastern Brazil. *Toxicon*, v. 47, n. 4, p. 371-379, 2006.
- BARTON, N. W.; BRADY, R. O.; DAMBROSIA, J. M.; BISCEGLIE, A. M.; DOPPELT, S. H.; FILL, S. C.; MANKIN, H. J.; MURRAY, G. J.; PARKER, R. I.; ARGOFF, C. E.; GREWALL, R. P.; YU, K. Replacement therapy for inherited enzyme deficiency—macrophage-targeted glucocerebrosidase for Gaucher's disease. *New England Journal of Medicine*, v. 324, n. 21, p. 1464-1470, 1991.
- BASSUINO, D. M.; KONRADT, G.; BIANCHI, M. V.; REIS, M. O.; PAVARINI, S.; DRIEMEIER, D. Spontaneous poisoning by *Sida carpinifolia* (Malvaceae) in horses. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 37, n. 9, p. 926-930, 2017
- BEARD, H.; HASSIOTIS, S.; GAI, W. P.; PARKINSON-LAWRENCE, E.; HOPWOOD, J. J.; HEMSLEY, K. M. Axonal dystrophy in the brain of mice with Sanfilippo syndrome. *Experimental Neurology*, 2017.
- BEDIN, M.; COLODEL, E. M.; GIUGLIANI, R.; ZLOTOWSKY, P.; CRUZ, C. E. F.; DRIEMEIER, D. Urinary oligosaccharides: A peripheral marker for *Sida carpinifolia* exposure or poisoning. *Toxicon*, v. 53, n. 5, p. 591-594, 2009.
- BEDIN, M.; COLODEL, E. M.; VIAPIANA, M.; MATTE, U.; DRIEMEIER, D.; GIUGLIANI, R. Alpha-mannosidase activity in goats fed with *Sida carpinifolia*. *Experimental and Toxicologic Pathology*, v. 62, n. 2, p. 191-195, 2010.
- BEZERRA JÚNIOR, P.S.; RAYMUNDO, D.L.; SPANANBERG, A.; CORRÊA, A.M.R.; BANGEL JÚNIOR, J.J.; FERREIRO, L.; DRIEMEIER, D. Neurotoxicose em bovinos associada ao consumo de bagaço de malte contaminado por *Aspergillus clavatus*. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 29, n. 3, p. 220-228, 2009.
- BHAUMIK, M.; MULLER, V. J.; ROZAKLIS, T.; LINDA, J.; DOBRENIS, K.; BHATTACHARYYA, R.; STANLEY, P. A mouse model for mucopolysaccharidosis type III A (Sanfilippo syndrome). *Glycobiology*, v. 9, n. 12, p. 1389-1396, 1999.
- BIRKENMEIER, E. H.; DAVISSON, M. T.; BEAMER, W. G.; GANSCHOW, R. E.; VOGLER, C. A.; GWYNN, B.; WAWRZYNIAK, C. J. Murine mucopolysaccharidosis type VII. Characterization of a mouse with beta-glucuronidase deficiency. *Journal of Clinical Investigation*, v. 83, n. 4, p. 1258, 1989.
- BLEY, A. E.; GIANNIKOPOULOS, O. A.; HAYDEN, D.; KUBILLUS, K.; TIFFT, C. J.; EICHLER, F. S. Natural history of infantile GM2 gangliosidosis. *Pediatrics*, v. 128, n. 5, p. e1233-e1241, 2011.

BORGES, A. S.; OLIVEIRA-FILHO, J. P.; SIMON, J. J.; PALUMBO, M. I. P.; IMERMAN, P. M. Slaframine toxicosis in Brazilian horses causing excessive salivation. *Equine Veterinary Education*, v. 24, n. 6, p. 279-283, 2012.

BOURKE, C. A. The clinical differentiation of nervous and muscular locomotor disorders of sheep in Australia. *Australian Veterinary Journal*, v. 72, n. 6, p. 228-234, 1995.

BOVINI, M. G. *Sida* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2015. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB9227>>. Acesso em 02 de Abril de 2018.

BURDITT, L. J.; CHOTAI, K.; HIRANI, S.; NUGENT, P. G.; WINCHESTER, P. G.; BLAKEMORE, W. F. Biochemical studies on a case of feline mannosidosis. *Biochemical Journal*, v. 189, n. 3, p. 467-473, 1980.

CALLAHAN, J. W. Molecular basis of GM1 gangliosidosis and Morquio disease, type B. Structure–function studies of lysosomal β -galactosidase and the non-lysosomal β -galactosidase-like protein. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, v. 1455, n. 2, p. 85-103, 1999.

CANTÓN, G.; CAMPERO, C.; VILLA, M.; ODRIOZOLA, E. Acute and chronic nervous signs in cattle associated with *Phalaris angusta* poisoning in Argentina. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 30, n. 1, p. 63-66, 2010.

CAWDELL-SMITH, A. J.; SCRIVENER, C. J.; BRYDEN, W. L. Staggers in horses grazing paspalum infected with *Claviceps paspali*. *Australian Veterinary Journal*, v. 88, n. 10, p. 393-395, 2010.

CHOLICH, L. A.; MÁRQUEZ, M.; BATLLE, M. P.; GIMENO, E. J.; TEIBLER, G. P.; RIOS, E. E.; ACOSTA, A. C. Experimental intoxication of guinea pigs with *Ipomoea carnea*: Behavioural and neuropathological alterations. *Toxicon*, v. 76, p. 28-36, 2013.

CIANCIOLO, R. E.; RHODES, J. L.; HASKINS, M. E.; CLUBB, F. J.; LEES, G. E. Renal failure associated with mucopolysaccharidosis type I in a cat from a MPS I research colony. *Comparative Medicine*, v. 61, n. 5, p. 441-444, 2011.

COLODEL, E. M.; GARDNER, D. R.; ZLOTOWSKY, P.; DRIEMEIER, D. Identification of swainsonine as a glycoside inhibitor responsible for *Sida carpinifolia* poisoning. *Veterinary and Human Toxicology*, v. 44, n. 3, p. 177-178, 2002a.

COLODEL, E. M.; DRIEMEIER, D.; LORETTI, A. P.; GIMENO, E. J.; TRAVERSO, S. D.; SEITZ, A. L.; ZLOTOWSKY, P. Aspectos clínicos e patológicos da intoxicação por *Sida carpinifolia* (Malvaceae) em caprinos no Rio Grande do Sul. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 22, n. 2, p. 51-57, 2002b.

COOK, D.; GARDNER, D. R.; PFISTER, J. A. Swainsonine-containing plants and their relationship to endophytic fungi. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 62, n. 30, p. 7326-7334, 2014.

COOK, D.; OLIVEIRA, C. A.; GARDNER, D. R.; PFISTER, J. A.; RIET-CORREA, G.; RIET-CORREA, F. Changes in swainsonine, calystegine, and nitrogen concentrations on an annual basis in *Ipomoea carnea*. *Toxicon*, v. 95, p. 62-66, 2015.

CORK, L. C.; MUNNELL, J. F.; LORENZ, M. D. The pathology of feline GM2 gangliosidosis. *The American Journal of Pathology*, v. 90, n. 3, p. 723, 1978.

DANTAS, A. F. M.; RIET-CORREA, F.; GARDNER, D. R.; MEDEIROS, R. M. T.; BARROS, S. S.; ANJOS, B. L.; LUCENA, R. B. Swainsonine-induced lysosomal storage disease in goats caused by the ingestion of *Turbina cordata* in Northeastern Brazil. *Toxicon*, v. 49, n. 1, p. 111-116, 2007.

DE LAHUNTA, A.; GLASS, E. N. *Veterinary Neuroanatomy and Clinical Neurology*. 3^a ed. Elsevier Health Sciences, 540p, 2009.

DESNICK, R. J.; BRADY, R.; BARRANGER, J.; COLLINS, A. J.; GERMAIN, D. P.; GOLDMAN, M.; GRABOWSKY, G.; PACKMAN, S.; WILLCOX, W. R. Fabry disease, an under-recognized multisystemic disorder: expert recommendations for diagnosis, management, and enzyme replacement therapy. *Annals of Internal Medicine*, v. 138, n. 4, p. 338-346, 2003.

DOMBROWSKI, D. C. S.; CARMICHAEL, K. P.; WANG, P.; O'MALLEY, T. M.; HASKINS, M. E.; GIGER, U. Mucopolysaccharidosis type VII in a German shepherd dog. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 224, n. 4, p. 553-557, 2004.

DONNELLY, W. J. C.; SHEAHAN, B. J.; ROGERS, T. A. GM1 gangliosidosis in Friesian calves. *The Journal of Pathology*, v. 111, n. 3, p. 173-179, 1973.

DORLING, P. R.; HUXTABLE, C. R.; VOGEL, P. Lysosomal storage in *Swainsona* spp. toxicosis: an induced mannosidosis. *Neuropathology and Applied Neurobiology*, v. 4, n. 4, p. 285-295, 1978.

DORLING, P. R.; HUXTABLE, C. R.; COLEGATE, S. M. Inhibition of lysosomal α -mannosidase by swainsonine, an indolizidine alkaloid isolated from *Swainsona canescens*. *Biochemical Journal*, v. 191, n. 2, p. 649-651, 1980.

DRIEMEIER, D.; COLODEL, E. M.; GIMENO, E. J.; BARROS, S. S. Lysosomal storage disease caused by *Sida carpinifolia* poisoning in goats. *Veterinary Pathology*, v. 37, n. 2, p. 153-159, 2000.

ELLINWOOD, N. M.; WANG, P.; SKEEN, T.; SHARP, N. J. H.; CESTA, M.; DECKER, S.; HARDAM, E. A model of mucopolysaccharidosis IIIB (Sanfilippo syndrome type IIIB): N-acetyl- α -D-glucosaminidase deficiency in Schipperke dogs. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, v. 26, n. 5, p. 489-504, 2003.

EMBURY, D. H.; JERRETT, I. V. Mannosidosis in Galloway calves. *Veterinary Pathology*, v. 22, n. 6, p. 548-551, 1985.

EZAKI, J.; WOLFE, L. S.; KOMINAMI, E. Molecular basis of lysosomal accumulation of subunit c of mitochondrial ATP synthase in neuronal ceroid-lipofuscinosis. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, v. 16, n. 2, p. 296-298, 1993.

FEITOSA, F. L. F. *Semiologia Veterinária: A Arte Do Diagnóstico*. Grupo Gen-Editora Roca Ltda., 2000.

FISHER, R. A.; RATHKE, J. S.; KELLEY, J. A.; DUNSTAN, R. W.; CAVANAGH, K.; JONES, M. Z. Inheritance of β -mannosidosis in goats. *Animal Genetics*, v. 17, n. 4, p. 183-190, 1986.

FLETCHER, J. L.; WILLIAMSON, P.; HORAN, D.; TAYLOR, R. M. Clinical signs and neuropathologic abnormalities in working Australian Kelpies with globoid cell leukodystrophy (Krabbe disease). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 237, n. 6, p. 682-688, 2010.

FLETCHER, J. L.; TAYLOR, R. M. Associations between neurologic dysfunction and lesions in canine fucosidosis. *Genes, Brain and Behavior*, v. 15, n. 4, p. 420-428, 2016.

FONTEQUE, J. H.; SOUZA, A. F.; SCHADE, J.; MULLER T. R.; WEINERT, N. C. Slaframine intoxication in horse in Santa Catarina state. *Veterinaria e Zootecnia*, v. 22, n. 3, p. 375-379, 2015.

FURLAN, F. H.; LUCIOLI, J.; VERONEZI, L. O.; TRAVERSO, S. D.; GAVA, A.. Intoxicação experimental por *Sida carpinifolia* (Malvaceae) em bovinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 28, n. 1, p. 57-62, 2008.

FRAMPTON, J. E. Sebelipase Alfa: A Review in Lysosomal Acid Lipase Deficiency. *American Journal of Cardiovascular Drugs*, v. 16, n. 6, p. 461-468, 2016.

FURLAN, F. H.; LUCIOLI, J.; VERONEZI, L. O.; MEDEIROS, A. L.; BARROS, S. S., TRAVERSO, S. D.; GAVA, A. Spontaneous lysosomal storage disease caused by *Sida carpinifolia* (Malvaceae) poisoning in cattle. *Veterinary Pathology*, v. 46, n. 2, p. 343-347, 2009.

GAVA, A. SOUSA, R. S; DEUS, M. S. D.; PILATI, C.; CRISTANI, J.; MORI, A.; NEVES, D. S. *Phalaris angusta* (Gramineae) causing neurological disease in cattle in the State of Santa Catarina, Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 19, n. 1, p. 35-38, 1999.

GIESELMANN, V. Lysosomal storage diseases. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, v. 1270, n. 2-3, p. 103-136, 1995.

GITZELMANN, R.; BOSSHARD, N. U.; SUPERTI-FURGA, A.; SPYCHER, M. A.; BRINER, J.; WIESMANN, U.; LITSCHI, B.. Feline mucopolysaccharidosis VII due to β -glucuronidase deficiency. *Veterinary Pathology*, v. 31, n. 4, p. 435-443, 1994.

GODOY, G. S.; CASTRO NETTO, A.; MOMO, C.; DUNE, A. C.; ÁVILA, L. G.; ALESSI, A. C.; MARQUES, L. C.; CASTRO, M. B. Intoxicação natural por *Sida carpinifolia* (Malvaceae) em caprinos no estado de São Paulo. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 57, supl.1, n.25. 2005

GOLDMANN, A.; MESSAGE, B.; TEPFER, D.; MOLYNEUX, R. J.; DUCLOS O.; BOYER F. D.; PAN Y. T.; ELBEIN, A. D. Biological Activities of the Nortropane Alkaloid, Calystegine B2, and Analogs: Structure-Function Relationships. *Journal of natural products*, v. 59, n. 12, p. 1137-1142, 1996.

GOLDSTEIN, I. J.; HUGHES, R. C.; MONSIGNY, M.; OSAWA, T.; SHARON, N. What should be called a lectin? *Nature*, v. 285, n. 5760, p. 66-66, 1980.

GUARANÁ, E. L. S.; RIET-CORREA, F.; MENDONÇA, C. L.; MEDEIROS, R. M. T.; COSTA, N. A.; AFONSO, J. A. B. Poisoning by *Solanum paniculatum* (Solanaceae) in cattle. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 31, n. 1, p. 59-64, 2011.

HARAGUCHI, M.; GORNIK, S. L.; IKEDA, K.; MINAMI, Y.; KATO, A.; WATSON, A. A.; NASH, R. J.; MUYNEUX, R. J.; ASANO, N. Alkaloidal components in the poisonous plant, *Ipomoea carnea* (Convolvulaceae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 51, n. 17, p. 4995-5000, 2003.

HARRIS, C. M.; CAMPBELL, B. C.; MOLLYNEUX, R. J.; HARRIS, T. M. Biosynthesis of swainsonine in the diablo locoweed (*Astragalus oxyphyrus*). *Tetrahedron Letters*, v. 29, n. 38, p. 4815-4818, 1988.

HASKINS, M. E.; AGUIRRE, G. D.; JEZYK, P. F.; PATTERSON, D. F. The pathology of the feline model of mucopolysaccharidosis VI. *The American Journal of Pathology*, v. 101, n. 3, p. 657, 1980.

HASKINS, M. E.; AGUIRRE, G. D.; JESYK, P. F.; DESNICK, R. J.; PATTERSON, D. F. The pathology of the feline model of mucopolysaccharidosis I. *The American Journal of Pathology*, v. 112, n. 1, p. 27, 1983.

HASKINS, M. E.; DESNICK, R. J.; DIFERRANTE, N.; JEZYK, P. F.; PATTERSON, D. F. β -glucuronidase deficiency in a dog: a model of human mucopolysaccharidosis VII. *Pediatric Research*, v. 18, n. 10, p. 980-984, 1984.

HASKINS, M.; CASAL, M.; ELINWOOD, N. M.; MELNICZEK, J.; MAZRIER, H.; GIGER, U. Animal models for mucopolysaccharidoses and their clinical relevance. *Acta Paediatrica*, v. 91, n. s439, p. 88-97, 2002.

HEALY, P. J.; BABIDGE, P. J.; EMBURY, D. H.; HARRISON, M. A.; JUDSON, G. J.; MASON, R. W.; PETERSON, D. S.; SINCLAIR, A. J. Control of α -mannosidosis in Angus cattle. *Australian Veterinary Journal*, v. 60, n. 5, p. 135-137, 1983.

HEALY, P. J.; MALMO, J. Roles for biochemical and polymerase chain reaction technologies in diagnosis and control of bovine α -mannosidosis. *Australian Veterinary Journal*, v. 76, n. 10, p. 699-700, 1998.

HERS, H. G. α -Glucosidase deficiency in generalized glycogen-storage disease (Pompe's disease). *Biochemical Journal*, v. 86, n. 1, p. 11, 1963.

HUANG, Y.; LI, W.; ZHAO, X.; DING, L.; YU, G.; DONG, F.; DU, Q.; XU, X.; TONG, D. Swainsonine differentially affects steroidogenesis and viability in caprine luteal cells in vitro. *Theriogenology*, v. 80, n. 1, p. 41-49, 2013.

HUXTABLE, C. R.; CHAPMAN, H. M.; MAIN, D. C.; VASS, D.; PEARSE, B. H. G.; HILBERT, B. J. Neurological disease and lipofuscinosis in horses and sheep grazing *Trachyandra divaricata* (branched onion weed) in south Western Australia. Australian Veterinary Journal, v. 64, n. 4, p. 105-108, 1987.

JAMES, L. F. Effect of locoweed (*Astragalus lentiginosus*) feeding of fetal lamb development. Canadian Journal of Comparative Medicine, v. 40, n. 4, p. 380, 1976.

JEZYK, P. F.; HASKINS, M. E.; PATTERSON, D. F.; MELLMAN, W. J.; GREENSTEIN, M. Mucopolysaccharidosis in a cat with arylsulfatase B deficiency: a model of Maroteaux-Lamy syndrome. Science, v. 198, n. 4319, p. 834-836, 1977.

JOLLY, R. D.; THOMPSON, K. G. The pathology of bovine mannosidosis. Veterinary Pathology, v. 15, n. 2, p. 141-152, 1978.

JOLLY, R. D.; WALKLEY, S. U. Lysosomal storage diseases of animals: an essay in comparative pathology. Veterinary Pathology, v. 34, n. 6, p. 527-548, 1997.

JONES, M. Z.; DAWSON, G. Caprine beta-mannosidosis. Inherited deficiency of beta-D-mannosidase. Journal of Biological Chemistry, v. 256, n. 10, p. 5185-5188, 1981.

JONES, M. Z.; CUNNINGHAM, J. G.; DADE, A. W.; ALESSI, D. M.; MOSTOSKY, U. V.; VORRO, J. R.; BENITEZ, J. T.; LOVELL, K. L. Caprine β -mannosidosis: clinical and pathological features. Journal of Neuropathology & Experimental Neurology, v. 42, n. 3, p. 268-285, 1983.

JONES, M. Z.; ALROY, J.; DOWNS-KELLY, E.; LUCAS, R. E.; KRAEMER, S. A.; CAVANAGH, K. T.; KING, B. HOPWOOD, J. J. Caprine mucopolysaccharidosis IIID. Journal of Molecular Neuroscience, v. 24, n. 2, p. 277-291, 2004.

KAGAN, I. A. Blackpatch of Clover, Cause of Slobbers Syndrome: A Review of the Disease and the Pathogen, *Rhizoctonia leguminicola*. Frontiers in Veterinary Science, v. 3, 2016.

KELLERMAN, T. S. COETZER, J. A. W.; NAUDÉ, T. W.; BOTHA, C. J. Plant poisonings and mycotoxicoses of livestock in Southern Africa. Oxford University Press Southern Africa, 2005.

KELLY, W. R.; CLAGUE, A. E.; BARNS, R. J.; BATE, M. J.; MACKAY, B. M. Canine α -L-fucosidosis: a storage disease of Springer Spaniels. Acta Neuropathologica, v. 60, n. 1, p. 9-13, 1983.

KNOWLES, K. ALROY, J.; CASTAGNARO, M.; RAGHAVAN, S. S.; JAKOWSKY, R. M.; FREDEN, G. O. Adult-onset lysosomal storage disease in a Schipperke dog: clinical, morphological and biochemical studies. Acta Neuropathologica, v. 86, n. 3, p. 306-312, 1993.

KOHYAMA, M.; YABUKI, A.; OCHIAI, K.; NAKAMOTO, Y.; UCHIDA, K.; HASEGAWA, D.; TAKAHASHI, K.; KAWAGUCHI, H.; TSUBOI, M.; YAMATO, O. In situ detection of GM1 and GM2 gangliosides using immunohistochemical and

immunofluorescent techniques for auxiliary diagnosis of canine and feline gangliosidoses. BMC Veterinary Research, v. 12, n. 1, p. 67, 2016.

KONDAGARI, G. S.; KING, B. M.; THOMSON, P. C.; WILLIAMSON, P.; CLEMENTS, P. R.; FULLER, M.; HEMSLEY, K. M.; HOPWOOD, J. J.; TAYLOR, R. M. Treatment of canine fucosidosis by intracisternal enzyme infusion. Experimental Neurology, v. 230, n. 2, p. 218-226, 2011.

LAWSON, C. A.; MARTIN, D. R. Animal models of GM2 gangliosidosis: utility and limitations. The Application of Clinical Genetics, v. 9, p. 111, 2016.

LI, Q.; WANG, Y.; MOLDZIO, R.; LIN, W.; RAUSCH, W. Swainsonine as a lysosomal toxin affects dopaminergic neurons. Journal of Neural Transmission, v. 119, n. 12, p. 1483-1490, 2012.

LIMA, E. F.; RIET-CORREA, F.; MEDEIROS, R. M. T. Spontaneous poisoning by *Solanum subinerme* Jack as a cause of cerebellar cortical degeneration in cattle. Toxicon, v. 82, p. 93-96, 2014.

LORETTI, A. P.; COLODEL, E. M.; DRIEMEIER, D.; CORRÊA, A. M.; BANGEL Jr, J. J.; FERREIRO, L. Neurological disorder in dairy cattle associated with consumption of beer residues contaminated with *Aspergillus clavatus*. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, v. 15, n. 2, p. 123-132, 2003.

LOVELL, K. L.; JONES, M. Z. Axonal and myelin lesions in β -mannosidosis: Ultrastructural characteristics. Acta Neuropathologica, v. 65, n. 3, p. 293-299, 1985.

MACKENZIE, C. D.; JOHNSON, R. P. Lafora's disease in a dog. Australian Veterinary Journal, v. 52, n. 3, p. 144, 1976.

MAIN, D. C.; SLATTER, D. H.; HUXTABLE, C. R.; CONSTABLE, I. C.; DORLING, P. R. *Stypandra imbricata* ("blindgrass") toxicosis in goats and sheep—clinical and pathologic findings in 4 field cases. Australian Veterinary Journal, v. 57, n. 3, p. 132-135, 1981.

MARKELLO, T. C.; BERNARDINI, I. M.; GAHL, W. A. Improved renal function in children with cystinosis treated with cysteamine. New England Journal of Medicine, v. 328, n. 16, p. 1157-1162, 1993.

MARSH, C. D. The loco-weed disease of the plains. US Department of Agriculture, Bureau of Animal Industry, 1909.

MATHEWS, F. P. Locoism in domestic animals. Texas FARMER Collection, 1932.

MEDEIROS, R. M. T.; BARBOSA, R. C.; RIET-CORREA, F.; LIMA, E. F.; TABOSA, I. M.; BARROS, S. S.; GARDNER, D. R.; MOLYNEUX, R. J. Tremorgenic syndrome in goats caused by *Ipomoea asarifolia* in Northeastern Brazil. Toxicon, v. 41, n. 7, p. 933-935, 2003.

MENDONÇA, F. S.; ALBUQUERQUE, R. F.; EVÊNCIO-NETO, J.; FREITAS, S. H.; DÓRIA, R. G. S.; BOABAID, F. M.; DRIEMEIER, D.; GARDNER, D. R.; RIET-

CORREA, F.; COLODEL, E. M. Alpha-mannosidosis in goats caused by the swainsonine-containing plant *Ipomoea verbascoidea*. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, v. 24, n. 1, p. 90-95, 2012.

MURNANE, R. D.; HARTLEY, W. J.; PRIEUR, D. J. Similarity of lectin histochemistry of a lysosomal storage disease in a New Zealand lamb to that of ovine GM1 gangliosidosis. *Veterinary Pathology*, v. 28, n. 4, p. 332-335, 1991.

NICAISE, A. M.; BONGARZONE, E. R.; CROCKER, S. J. A microglial hypothesis of globoid cell leukodystrophy pathology. *Journal of Neuroscience Research*, v. 94, n. 11, p. 1049-1061, 2016.

ODRIOZOLA, E.; CAMPERO, C., LOPEZ, T.; MARIN, R.; CASARO, G.; ANDRADA, M. Neuropathological effects and deaths of cattle and sheep in Argentina from *Phalaris angusta*. *Veterinary and Human Toxicology*, v. 33, n. 5, p. 465-467, 1991.

ODRIOZOLA, E.; ODEON, A.; CANTON, G.; CLEMENTE, G.; ESCANDE, A. *Diplodia maydis*: a cause of death of cattle in Argentina. *New Zealand Veterinary Journal*, v. 53, n. 2, p. 160-161, 2005.

OGAWA, M.; UCHIDA, K.; ISOBE, K.; SAITO, M.; HARADA, T.; CHAMBERS, J. K.; NAKAYAMA, H. Globoid cell leukodystrophy (Krabbe's disease) in a Japanese domestic cat. *Neuropathology*, v. 34, n. 2, p. 190-196, 2014.

OLIVEIRA JÚNIOR, C. A.; RIET-CORREA, F.; DUARTE, M. D.; CERQUEIRA, V. D.; ARAÚJO, C. V.; RIET-CORREA, G. Sinais clínicos, lesões e alterações produtivas e reprodutivas em caprinos intoxicados por *Ipomoea carnea* subsp. *fistulosa* (Convolvulaceae) que deixaram de ingerir a planta. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 31, n. 11, p. 953-960, 2011.

OLIVEIRA JÚNIOR, C. A.; RIET-CORREA, G.; RIET-CORREA, F. Intoxicação por plantas que contêm swainsonina no Brasil. *Ciência Rural*, v. 43, n. 4, 2013.

PAGANINI FILHO, W. S.; TIRAPELLI, A. C. N.; PEREIRA, T. G.; WOUTERS A. T. B.; WOUTERS, F. Intoxicação por *Sida carpinifolia* em ovinos. Encontro Nacional de Diagnóstico Veterinário, 28 jun.-3 jul., Campo Grande, MS. (Resumo). 2008.

PALMANO, K.; ROWAN, A; GUILLERMO, R.; GUAN, J.; McJARROW, P. The role of gangliosides in neurodevelopment. *Nutrients*, v. 7, n. 5, p. 3891-3913, 2015.

PAULOVICH, F. B.; PORTIANSKY, E. L.; GIMENO, E. J.; SCHILD, A. L.; MÉNDEZ, M. C.; RIET-CORREA, F. Lectin histochemical study of lipopigments present in the cerebellum of *Solanum fastigiatum* var. *fastigiatum* intoxicated cattle. *Transboundary and Emerging Diseases*, v. 49, n. 9, p. 473-477, 2002.

PEDROSO, P. M. O.; PESCADOR, C. A.; OLIVEIRA, E. C.; SONNE, L.; BANDARRA, P. M.; RAYMUNDO, D. L.; DRIEMEIER, D. Intoxicações naturais por plantas em ruminantes diagnosticadas no Setor de Patologia Veterinária da UFRGS no período de 1996-2005. *Acta Scientiae Veterinariae*, v. 35, n. 2, p. 213-218, 2007.

PEDROSO, P. M. O.; OLIVEIRA, L. G. S.; CRUZ, C. E. F.; SOARES, M. P.; BARRETO, L. R. B.; DRIEMEIER, D. Doença do armazenamento lisossomal induzida pelo consumo de *Sida carpinifolia* em bovinos do Rio Grande do Sul. Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 30, n. 10, p. 833-838, 2010.

PEDROSO, P. M. O.; COLODEL, E. M.; SEITZ, A. L.; CORREA, G. L. F.; SOARES, M. P.; DRIEMEIER, D. Pathological findings in fetuses of goats and cattle poisoned by *Sida carpinifolia* (Malvaceae). Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 32, n. 3, p. 227-230, 2012.

PIMENTEL, L. A.; MAIA, L. A.; CAMPOS, E. M.; DANTAS, A. F. M.; MEDEIROS, R. M. T.; PFISTER, J. A.; COOK, D.; RIET-CORREA, F. Aversão alimentar condicionada no controle de surtos de intoxicações por *Ipomoea carnea* subsp. *fistulosa* e *Turbina cordata* em caprinos. Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 32, n. 8, p. 707-714, 2012.

PHILLIPS, N. C.; ROBINSON, D.; WINCHESTER, B. G.; JOLLY, R. D. Mannosidosis in Angus cattle. The enzymic defect. Biochemical Journal, v. 137, n. 2, p. 363-371, 1974.

PIMENTEL, L. A.; MAIA, L. A.; CARVALHO, F. K. L.; CAMPOS, E. M.; PFISTER, J. A.; COOK, D.; MEDEIROS, R. M. T.; RIET-CORREA, F. Aversão alimentar. Aversão alimentar condicionada para o controle da intoxicação por *Ipomoea carnea* subsp. *fistulosa* em caprinos. Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 33, n. 6, p. 719-723, 2013.

PLATT, F. M.; NEISES, G. R.; REINKENSMEYER, G.; TOWNSEND, M. J.; PERRY, V. H.; PROIA, R. L.; WINCHESTER, B.; DWEK, R. A.; BUTTERS, T. D. Prevention of lysosomal storage in Tay-Sachs mice treated with N-butyldeoxynojirimycin. Science, v. 276, n. 5311, p. 428-431, 1997.

PLUMLEE, K. H.; GALEY, F. D. Neurotoxic mycotoxins: A review of fungal toxins that cause neurological disease in large animals. Journal of Veterinary Internal Medicine, v. 8, n. 1, p. 49-54, 1994.

PRESTIDGE, R. A. Causes and control of perennial ryegrass staggers in New Zealand. Agriculture, Ecosystems & Environment, v. 44, n. 1-4, p. 283-300, 1993.

PRITCHARD, D. H.; NAPHTHINE, D. V.; SINCLAIR, A. J. Globoid cell leucodystrophy in polled Dorset sheep. Veterinary Pathology, v. 17, n. 4, p. 399-405, 1980.

RALPHS, M. H.; PROVENZA, F. D. Conditioned food aversions: principles and practices, with special reference to social facilitation. Proceedings of the Nutrition Society, v. 58, n. 4, p. 813-820, 1999.

RECH, R. R.; RISSI, D. R.; RODRIGUES, A.; PIEREZAN, F.; PIAZER, J. V. M.; KOMMERS, G. D.; BARROS, C. S. L. Intoxicação por *Solanum fastigiatum* (Solanaceae) em bovinos: históricos, sinais clínicos e morfometria das lesões cerebelares. Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 26, p. 123-132, 2006.

REGO, R. O.; AFONSO, J. A. B.; MENDONÇA, C. L.; SOARES, G. S. L.; TORRES, M. B. A. M. Alterações no SNC e morfometria cerebelar de bovinos intoxicados experimentalmente por *Solanum paniculatum*. Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 32, n. 11, p. 1107-1115, 2012.

REINER, Ž.; GUARDAMAGNA, O.; NAIR, D.; SORAN, H.; HOVINGH, K.; BERTOLINI, S.; JONES, S.; CORIC, M.; CALANDRA S., HAMILTON, J.; EAGLETON, T.; EMILIO, R. Lysosomal acid lipase deficiency—an under-recognized cause of dyslipidaemia and liver dysfunction. Atherosclerosis, v. 235, n. 1, p. 21-30, 2014.

RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L.; MÉNDEZ, M. C.; TAVARES, A. S.; RODRIGUES, J. Intoxicação por *Claviceps paspali* em bovinos no Rio Grande do Sul. Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 3, n. 2, p. 59-65, 1983.

RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L.; FERNANDES, C. G. Enfermidades do sistema nervoso dos ruminantes no sul do Rio Grande do Sul. Ciência Rural, v. 28, n. 2, p. 341-348, 1998.

RIET-CORREA, F.; BARROS, S. S.; MÉNDEZ, M. C.; GEVEHR-FERNANDES, C.; PEREIRA NETO, O. A.; SOARES, M. P. McGAVIN, M. D. Axonal degeneration in sheep caused by the ingestion of *Halimium brasiliense*. Journal of veterinary diagnostic investigation, v. 21, n. 4, p. 478-486, 2009.

RIET-CORREA, F. RIVERO, R.; ODRIOZOLA, E.; ADRIEN, M. L.; MEDEIROS, R. M. T.; SCHILD, A. L. Mycotoxicoses of ruminants and horses. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, v. 25, n. 6, p. 692-708, 2013.

SANTOS, N. V. M.; SARKIS, J. E. S.; GUERRA, J. L.; MAIORKA, P. C.; HORTELANI, M. A.; SILVA, F. F.; ORTOLANI, E. L. Avaliação epidemiológica, clínica, anatomopatológica e etiológica de surtos de ataxia em cabritos e cordeiros. Ciência Rural, v. 36, n. 4, p. 1207-1213, 2006.

SEITZ, A. L.; COLODEL, E. M.; BARROS, S. S.; DRIEMEIER, D. Experimental poisoning by *Sida carpinifolia* (Malvaceae) in sheep. Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 25, n. 1, p. 15-20, 2005a.

SEITZ, A. L.; COLODEL, E. M.; SCHMITZ, M.; GIMENO, E. J.; DRIEMEIER, D. Use of lectin histochemistry to diagnose *Sida carpinifolia* (Malvaceae) poisoning in sheep. Veterinary Record-English Edition, v. 156, n. 12, p. 386-388, 2005b.

SCHULTHEISS, P. C.; GARDNER, S. A.; OWENS, J. M.; WENGER, D. A.; THRALL, M. A. Mucopolysaccharidosis VII in a cat. Veterinary Pathology, v. 37, n. 5, p. 502-505, 2000.

SHULL, R. M.; MUNGER, R. J.; SPELLACY, E.; HALL, C. W.; CONSTANTOPOULOS, G.; NEUFELD, E. F. Canine alpha-L-iduronidase deficiency. A model of mucopolysaccharidosis I. The American Journal of Pathology, v. 109, n. 2, p. 244, 1982.

SIGURDSON, C. J.; BASARABA, R. J.; MAZZAFERRO, M.; GOULD, D. H. Globoid cell-like leukodystrophy in a domestic longhaired cat. *Veterinary Pathology*, v. 39, n. 4, p. 494-496, 2002.

SIMÃO-BIANCHINI, R.; FERREIRA, P.P.A. *Ipomoea* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB7028>>. Acesso em: 01 Ago. 2016.

SOUSA, R. S.; IRIGOYEN, L. F. Intoxicação experimental por *Phalaris angusta* (Gramineae) em bovinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 19, n. 3/4, p. 116-122, 2014.

STEGELMEIER, B. L.; MOLYNEUX, R. J.; ELBEIN, A. D.; JAMES, L. F. The lesions of locoweed (*Astragalus mollissimus*), swainsonine, and castanospermine in rats. *Veterinary Pathology*, v. 32, n. 3, p. 289-298, 1995.

STEGELMEIER, B. L.; JAMES, L. F.; PANTER, K. E. GARDNER, D. L.; PFISTER, J. A.; RALPHS, M. H.; MOLYNEUX, R. J. Dose response of sheep poisoned with locoweed (*Oxytropis sericea*). *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, v. 11, n. 5, p. 448-456, 1999.

STEGELMEIER, B. L.; MOLYNEUX, R. J.; ASANO, N.; WATSON, A. A.; NASH, R. J. The comparative pathology of the glycosidase inhibitors swainsonine, castanospermine, and calystegines A3, B2, and C1 in mice. *Toxicologic Pathology*, v. 36, n. 5, p. 651-659, 2008.

TAYLOR, R. M.; FARROW, B. R. H.; STEWART, G. J.; HEALY, P. J. Enzyme replacement in nervous tissue after allogeneic bone-marrow transplantation for fucosidosis in dogs. *The Lancet*, v. 328, n. 8510, p. 772-774, 1986.

THOMPSON, J. N.; JONES, M. Z.; DAWSON, G.; HUFFMAN, P. S. N-acetylglucosamine 6-sulphatase deficiency in a Nubian goat: a model of Sanfilippo syndrome type D (mucopolysaccharidosis IIID). *Journal of Inherited Metabolic Disease*, v. 15, n. 5, p. 760-768, 1992.

TOKARNIA, C. H.; BRITO, M. F.; BARBOSA, J. D.; PEIXOTO, P. V.; DOBEREINER, J. Deficiências minerais em animais de produção. Editora Helianthus, Rio de Janeiro, 2010.

TOKARNIA, C. H.; BRITO, M. F.; BARBOSA, J. D.; PEIXOTO, P. V.; DOBEREINER, J. Plantas tóxicas do Brasil para animais de produção. Editora Helianthus, Rio de Janeiro, 2012.

VALAYANNOPOULOS, V.; MENGEL, E.; BRASSIER, A.; GRABOWSKY, G. Lysosomal acid lipase deficiency: Expanding differential diagnosis. *Molecular Genetics and Metabolism*, v. 120, n. 1, p. 62-66, 2017.

VOGLER, C.; BIRKENMEIER, E. H.; SLY, W. S.; LEVY, B.; PEGORS, C.; KYLE, J. W.; BEAMER, W. G. A murine model of mucopolysaccharidosis VII. *Gross and*

microscopic findings in beta-glucuronidase-deficient mice. *The American Journal of Pathology*, v. 136, n. 1, p. 207, 1990.

WALKLEY, S. U.; BLAKEMORE, W. F.; PURPURA, D. P. Alterations in neuron morphology in feline mannosidosis. *Acta Neuropathologica*, v. 53, n. 1, p. 75-79, 1981.

WAKAKURI, H.; NAKAMURA, S.; UTSUMI, K.; SHIMIZU, W.; YASUTAKE, M. Novel α -Galactosidase A Mutation (K391E) in a Young Woman With Severe Cardiac and Renal Manifestations of Fabry Disease. *International Heart Journal*, v. 57, n. 5, p. 637-639, 2016.

WHITFIELD, P.; JOHNSON, A. W.; DUNN, K. A.; DELAUCHE, A. J. N.; WINCHESTER, B. G.; FRANKLIN, R. J. M. GM1-gangliosidosis in a cross-bred dog confirmed by detection of GM1-ganglioside using electrospray ionisation-tandem mass spectrometry. *Acta Neuropathologica*, v. 100, n. 4, p. 409-414, 2000.

WHITTEM, J. H.; WALKER, D. "Neuronopathy" and "pseudolipidosis" in Aberdeen-Angus calves. *The Journal of Pathology*, v. 74, n. 2, p. 281-288, 1957.

WHITTINGTON, R. J. SEARSON, J. E.; WHITTAKER, S. J.; GLASTONBURY, J. R. W. Blindness in goats following ingestion of *Stypandra glauca*. *Australian Veterinary journal*, v. 65, n. 6, p. 176-181, 1988.

WILKERSON, M. J.; LEWIS, D. C.; MARKS, S. L.; PRIEUR, D. J. Clinical and morphologic features of mucopolysaccharidosis type II in a dog: naturally occurring model of Hunter syndrome. *Veterinary Pathology*, v. 35, n. 3, p. 230-233, 1998.

WILLING, A. E.; GARBUZOVA-DAVIS, S. N.; ZAYKO, O.; DERASARI, H. M.; RAWLS, A. E.; JAMES, C. R.; SANBERG, P. R. Repeated administrations of human umbilical cord blood cells improve disease outcomes in a mouse model of Sanfilippo syndrome type III B. *Cell Transplantation*, v. 23, n. 12, p. 1613-1630, 2014.

WINCHESTER, B.; VELLODI, A.; YOUNG, E. The molecular basis of lysosomal storage diseases and their treatment. *Biochemical Society Transactions*, v. 28, parte 2, p. 150-154, 2000.

XU, M.; MOTABAR, O.; FERRER, M.; MARUGAN, J. J.; ZHENG, W.; OTTINGER, E. A. Disease models for the development of therapies for lysosomal storage diseases. *Annals of the New York Academy of Sciences*, v. 1371, n. 1, p. 15-29, 2016.

YOGALINGAM, G.; POLLARD, T.; GLIDDON, B.; JOLLY, R. D.; HOPWOOD, J. J. Identification of a mutation causing mucopolysaccharidosis type IIIA in New Zealand Huntaway dogs. *Genomics*, v. 79, n. 2, p. 150-153, 2002.

YUZIUK, J. A.; BERTONI, C.; BECCARI, T.; ORLACCHIO, A.; WU, Y.; LI, S.; LI, Y. Specificity of Mouse GM2 Activator Protein and β -N-Acetylhexosaminidases A and B - Similarities and differences with their human counterparts in the catabolism of GM2. *Journal of Biological Chemistry*, v. 273, n. 1, p. 66-72, 1998.

ZACHARY, J. F. Pathologic Basis of Veterinary Disease-E-Book. Elsevier Health Sciences, 6a ed. 1318p. 2016.