

**UFRRJ**  
**INSTITUTO DE VETERINÁRIA**  
**CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS**  
**VETERINÁRIAS**

**TESE**

**Doença do Armazenamento Lisossomal Causada pela Ingestão  
Espontânea de *Sida carpinifolia* em Cervos Sambar (*Cervus  
unicolor*) Cativos no Rio de Janeiro**

**Bruno Leite dos Anjos**

**2010**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE VETERINÁRIA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**DOENÇA DO ARMAZENAMENTO LISOSSOMAL CAUSADA PELA  
INGESTÃO ESPONTÂNEA DE *Sida carpinifolia* EM CERVOS SAMBAR  
(*Cervus unicolor*) CATIVOS NO RIO DE JANEIRO**

**BRUNO LEITE DOS ANJOS**

*Sob a Orientação do Professor*  
**Paulo Vargas Peixoto**

*e Co-orientação da Professora*  
**Ticiano do Nascimento França**

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Área de Concentração Sanidade Animal

Seropédica, RJ  
Agosto de 2010

599.63

A599d

T

Anjos, Bruno Leite dos, 1983-

Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em Cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro/ Bruno Leite dos Anjos - 2010.

76 f. : il.

Orientador: Paulo Fernando de Vargas Peixoto.

Tese (doutorado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

Bibliografia: f. 62-69

1. Ruminante - Doenças - Teses. 2. Plantas venenosas - Teses. I. Peixoto, Paulo Fernando de Vargas, 1958-. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. III. Título.

**Bibliotecário:** \_\_\_\_\_

**Data:** \_\_/\_\_/\_\_\_\_

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE VETERINÁRIA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

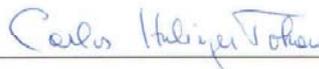
BRUNO LEITE DOS ANJOS

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de Concentração em Sanidade Animal.

TESE APROVADA EM 17/08/2010



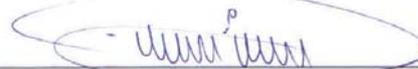
Paulo Fernando de Vargas Peixoto. MV, Dr. UFRRJ



Carlos Hubinger Tokarnia. MV, Dr. UFRRJ



Jürgen Döbereiner. MV, Dr. h.c. Embrapa



Eulógio Carlos Queiróz de Carvalho. MV, Dr. UENF



Mary Suzán Varaschin. MV, Dr. UFLA

A minha família, por todo amor,  
carinho e compreensão incondicionais  
durante todos esses anos de ausência.

## AGRADECIMENTOS

*A Deus por tudo.*

*À minha família por todo amor, dedicação e confiança incondicionais.*

*Agradeço infinitamente a todos aqueles com quem convivi e tive o prazer de trabalhar desde o início dos meus estudos em patologia na UFCG, meu mestrado na UFSM, até o meu doutoramento aqui na UFRRJ, por terem me acolhido e me ensinado tanto. Tenho por todos um enorme apreço!*

*Aos professores Paulo Peixoto e Carlos Tokarnia, por terem possibilitado meu ingresso nessa instituição e acreditado no meu trabalho e minha vontade de aprender. Muito obrigado!*

*Aos professores Jürgen, Marilene e Ticiania pelo constante apoio e ensinamentos a mim transmitidos.*

*Um especial agradecimento a todos os companheiros da iniciação científica, do mestrado e do doutorado, pelo apoio, amizade e presteza. Aos amigos, minha total gratidão.*

*Ao Flávio, Ana Paula e Saulo pelo apoio incontestável na elaboração desse trabalho.*

*A Chica (Aline), minha esposa, por toda paciência, dedicação, apoio e amor. Sem a sua ajuda eu não teria chegado até aqui.*

*Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de estudos.*

*A todos vocês, muito obrigado!*

## RESUMO

ANJOS, Bruno Leite dos. **Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro.** 2010. 93p. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias, Sanidade Animal). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2010.

Casos de doenças induzidas por plantas tóxicas em herbívoros domésticos são bastante relatados por todo o mundo e vêm sendo estudados também no Brasil. Pouco se sabe, contudo, sobre os aspectos epidemiológicos e patológicos dessas condições em animais selvagens de vida livre ou criados em cativeiro. Os riscos de desenvolvimento dessas toxicoses em cativeiros vêm aumentando, conforme os habitats naturais são destruídos pela ação humana, e mais centros de conservação de vida silvestre e zoológicos são criados. Nesse estudo são descritos os aspectos epidemiológicos, biológicos e clinicopatológicos, lectino-histoquímicos e ultraestruturais de um surto de doença do armazenamento lisossomal de oligossacarídeos induzido pela ingestão de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar jovens (*Cervus unicolor*) no zoológico da Fundação Rio-Zoo no Estado do Rio de Janeiro. Nove cervos apresentaram sinais clínicos neurológicos caracterizados por déficits proprioceptivo e motor. Os sinais neurológicos incluíram principalmente depressão, incoordenação, dismetria, ataxia, membros em base ampla, tremores musculares, perda do tônus lingual, quedas frequentes e morte. Macroscopicamente foram observados hematomas, secundários a traumas provocados por machos dominantes do rebanho, e estriações esbranquiçadas, principalmente no córtex renal. As lesões histológicas incluíam acentuada tumefação/vacuolização citoplasmática especialmente em neurônios, pâncreas exócrino, células foliculares da tireoide e do epitélio renal, necrose neuronal com evolução para lise e esferoides axonais. Pelo exame lectino-histoquímico os vacúolos eram formados por acúmulo de oligossacarídeos marcado especialmente pelas lectinas S-WGA, WGA e Con-A. Ultraestruturalmente, a tumefação/vacuolização citoplasmática correspondeu à intensa distensão de lisossomos, formação de corpos residuais densos ou granulares, fragmentos de membranas e corpos mielinoídes. O estudo demonstrou a suscetibilidade de *Cervus unicolor* à swainsonina contida na *S. carpinifolia*. Possivelmente, a intoxicação nos animais deste estudo ocorreu pela restrição alimentar sofrida pelos animais mais jovens, decorrente da hierarquia entre machos no grupo. Pôde-se determinar ainda a marcada similaridade do quadro clínico e patológico entre os cervos descritos nesse trabalho e outros herbívoros domésticos.

**Palavras-chave:** *Cervus unicolor*, doença do armazenamento lisossomal, glicoproteínas, neuropatologia, plantas tóxicas, *Sida carpinifolia*, swainsonina.

## ABSTRACT

ANJOS, Bruno Leite dos. **Lysosomal storage disease caused by spontaneous ingestion of *Sida carpinifolia* in captive-Sambar deer (*Cervus unicolor*) in Rio de Janeiro State, Brazil.** 2010. 93p. Thesis (Doctor Science in Veterinary Science, Animal Health) Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2010.

Cases of diseases induced by toxic plants in domestic herbivores are well reported throughout the world and have been studied also in Brazil. However, not much is known about the epidemiological and pathological aspects of these conditions in free-living wildlife or bred in captivity. The risk for developing the toxicoses in captivity has been increasing, since natural habitats are destroyed by human action, and more centers of wildlife conservation and zoological comes are created. This study describes the epidemiological, biological and clinicopathological, lectin-histochemical and ultrastructural aspects of an outbreak of lysosomal storage disease of oligosaccharides induced by ingestion of *Sida carpinifolia* in young Sambar deer (*Cervus unicolor*) in the Rio-Zoo Foundation in the State of Rio de Janeiro, Brazil. Nine deer showed neurological signs characterized by motor and proprioceptive deficits. Then neurological signs were mainly depression, incoordination, dysmetria, ataxia, broad-based members, muscle tremors, loss of tongue tone, frequent falls and death. Grossly hematomas were observed secondary to trauma caused by dominant males of the flock, and whitish striations, especially in the renal cortex. Histologic changes included marked swelling/cytoplasmic vacuolization especially in neurons, progressing to neuronal lysis and axonal spheroids, in exocrine pancreas, thyroid follicular cells and renal tubular epithelial cells. In the lectin-histochemical examination the vacuoles were formed by the accumulation of oligosaccharides specially marked by the lectins WGA, WGA and Con-A. Ultrastructurally, the swelling/vacuolation corresponded to intense cytoplasmic distention of lysosomes, formation of residual bodies or dense granular fragments of membranes and mielinoïdes bodies. The study has shown the susceptibility of *Cervus unicolor* to swainsonine by ingestion of *S. carpinifolia*. Possibly poisoning the animals in this study was conducted by food restriction by the hierarchy among males in the group. It might also determine the marked similarity between clinical and pathological aspects in Sambar deer with the one presented by other herbivores.

**Key words:** *Cervus unicolor*, lysosomal storage disease, glycoproteins, neuropathology, poisoning plants, *Sida carpinifolia*, swainsonine.

## ÍNDICE DE FIGURAS

	<b>Página</b>	
<b>Figura 1</b>	Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de <i>Sida carpinifolia</i> em cervos Sambar ( <i>Cervus unicolor</i> ) cativos no Rio de Janeiro. Distribuição geográfica mundial dos principais gêneros de plantas que causam $\alpha$ -manosidose em animais domésticos e selvagens.	10
<b>Figura 2</b>	Estrutura química do alcaloide indolizidínico swainsonina.	11
<b>Figura 3</b>	Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de <i>Sida carpinifolia</i> em cervos Sambar ( <i>Cervus unicolor</i> ) cativos no Rio de Janeiro. Recinto no qual era mantido o rebanho de cervos Sambar no zoológico Rio-Zoo. Note o cocho onde era fornecido o alimento.	29
<b>Figura 4</b>	Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de <i>Sida carpinifolia</i> em cervos Sambar ( <i>Cervus unicolor</i> ) cativos no Rio de Janeiro. Realização de exame clínico neurológico no Cervo 6 (“ <i>Head Raising test</i> ”).	30
<b>Figura 5</b>	Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de <i>Sida carpinifolia</i> em cervos Sambar ( <i>Cervus unicolor</i> ) cativos no Rio de Janeiro. Encéfalo de cervo com linhas transversais demonstrando a localização dos cortes para avaliação histológica. Córtex telencefálico frontal (1), núcleos da base e cápsula interna (2), córtex parietal (3), hipocampo (4), tálamo na região da abênula (5), mesencéfalo na região dos colículos rostrais (6), ponte (7), pedúnculos cerebelares (8), cerebelo (9), óbex (10) e medula cervical (11).	31
<b>Figura 6</b>	Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de <i>Sida carpinifolia</i> em cervos Sambar ( <i>Cervus unicolor</i> ) cativos no Rio de Janeiro. <i>Sida carpinifolia</i> com inflorescência (fotografia no local).	34
<b>Figura 7</b>	Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de <i>Sida carpinifolia</i> em cervos Sambar ( <i>Cervus unicolor</i> ) cativos no Rio de Janeiro. Recinto onde eram criados os cervos, invadido por <i>S. carpinifolia</i> intensamente pastejada.	34
<b>Figura 8</b>	Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de <i>Sida carpinifolia</i> em cervos Sambar ( <i>Cervus unicolor</i> ) cativos no Rio de Janeiro. Recinto onde eram criados os cervos, invadido por <i>S. carpinifolia</i> . Note as hastes sem folhas, por pastejo intenso.	35

- Figura 9** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Cervos Sambar machos jovens ingerindo naturalmente a *S. carpinifolia*. Note os galhos mais baixos da árvore sem folhas e sem casca comidos pelos cervos, dada a falta de volumoso verde. 35
- Figura 10** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Cervos Sambar adultos e jovens pastejando *S. carpinifolia*. 36
- Figura 11** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Cervo 8 com acentuada depressão e edema submandibular por hipoproteïnemia. 37
- Figura 12** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Cervo 9 com incoordenação, membros em base ampla e olhar atento. 37
- Figura 13** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. O Cervo 6 apresenta abdução dos membros torácicos, caracterizando posição de cavalete. 38
- Figura 14** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Cervo 5 em decúbito esternal após tremores de intenção. Note o mau posicionamento do membro torácico direito por déficit motor. 38
- Figura 15** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Cervo 6 com flexão involuntária da articulação metacarpofalangeana esquerda. 39
- Figura 16** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Cervo 6 com perda parcial do tônus da língua, a qual é facilmente tracionada. 39
- Figura 17** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Áreas multifocais de hemorragia no subcutâneo na região das últimas costelas direitas no Cervo 6. 42

- Figura 18** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Cervo 6. Fígado com múltiplas petéquias e equimoses na superfície capsular, causadas por agressões por outros machos do rebanho. No detalhe percebe-se o fígado moderadamente aumentado e com bordos arredondados. 42
- Figura 19** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Cervo 6. Fígado com múltiplas petéquias e equimoses na superfície capsular, secundária a agressões por outros machos do rebanho. No detalhe percebe-se o fígado aumentado e com bordos arredondados. 43
- Figura 20** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Cervo 6. Rins aumentados de volume e com estriações brancacentas distribuídas difusamente na superfície de corte. 43
- Figura 21** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Cervo 6. Imagem mais aproximada do rim aumentado de volume e com estriações brancacentas radiadas observadas difusamente pelo parênquima. 44
- Figura 22** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Cervo 6. Cerebelo. Tumefação/Vacuolização difusa acentuada do citoplasma das células de Purkinje. HE, Obj. 25x. 44
- Figura 23** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Cervo 6. Córtex Cerebelar. Acentuada tumefação/vacuolização fina do citoplasma de neurônios de Purkinje e da camada granular. HE, Obj. 40x. 45
- Figura 24** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Cervo 7. Encéfalo, córtex telencefálico frontal. Acentuada tumefação/vacuolização fina do citoplasma de neurônios das várias lâminas neuronais do córtex. HE, Obj. 10x. 45

- Figura 25** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Cervo 6. Tronco encefálico – Óbex. Vacuolização fina simétrica no citoplasma do pericário de neurônios. HE, Obj. 10x. 46
- Figura 26** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Cervo 6. Tronco encefálico – Óbex. Pericário de neurônios acentuadamente tumefeito e finamente vacuolizado. HE, Obj. 40x. 46
- Figura 27** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Cervo 7. Tronco encefálico - Óbex. Necrose neuronal (setas) e inúmeros esferoides axonais (cabeças de seta). HE, Obj. 25x. 47
- Figura 28** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Córtex cerebelar. Cervo 7. Neuronofagia de corpos de células de Purkinje necróticas (seta). HE Obj. 40x. 47
- Figura 29** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Cervo 8. Cerebelo. Acentuada atrofia focalmente extensiva da camada molecular do córtex cerebelar com perda total dos neurônios de Purkinje. HE, Obj. 10x. 48
- Figura 30** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Cerebelo. Cervo 8. Área de mineralização focalmente extensa na camada granular do cerebelo decorrente de necrose neuronal na forma crônica da doença e moderada gliose. HE, Obj. 10x. 48
- Figura 31** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Cervo 6. Tireoide. Tumefação/vacuolização difusa acentuada das células foliculares. Coloide com aspecto normal. HE. Obj. 25x. 49
- Figura 32** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Cervo 6. Rim. Tumefação de células de túbulos contorcidos proximais e distais e da cápsula de Bowman. HE. Barra = 100 µm. 49

- Figura 33** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Cervo 6. Rim. Tumefação fina de células epiteliais de túbulos renais e da cápsula de Bowman. HE, Barra = 90 µm. 50
- Figura 34** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Córtex cerebelar. Cervo 6. Marcação positiva na periferia do citoplasma das células de Purkinje e das membranas dos vacúolos no citoplasma do pericário das células granulares do cerebelo. *Concanavalina ensiformis* (ConA), complexo Avidina Biotina peroxidase. Obj 25x. 51
- Figura 35** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Medular do cerebelo. Cervo 7. Marcação fortemente positiva das membranas dos vacúolos no citoplasma do pericário de um neurônio da medular do cerebelo. *Succinil Triticum vulgaris* (sWGA), complexo Avidina Biotina peroxidase. Obj 40x. 51
- Figura 36** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Rim. Cervo 6. Marcação fortemente positiva de grânulos no citoplasma de células epiteliais de túbulos contorcidos. *Concanavalina ensiformis* (ConA), complexo Avidina Biotina. Obj 40x. 52
- Figura 37** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Rim. Cervo 6. Marcação fortemente positiva de grânulos no citoplasma de células epiteliais de túbulos contorcidos distais. *Concanavalina ensiformis* (ConA), complexo Avidina Biotina. Obj 10x. 52
- Figura 38** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Tronco encefálico. Núcleo da rafe. Vacúolos citoplasmáticos em neurônios. Corte semifino. Azul de metileno. Barra = 100µm. 53
- Figura 39** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Tronco encefálico. Neurônio de núcleos da rafe. Vacúolos associados à membrana no citoplasma (N = núcleo). Microscopia eletrônica de transmissão. Barra = 2µm. 54

- Figura 40** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Tronco encefálico. Cervo 6. Vacúolos associados à membrana no citoplasma de um astrócito. Microscopia eletrônica de transmissão. Barra = 500nm. 54
- Figura 41** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Tronco encefálico. Cervo 7. Vacúolos citoplasmáticos associados à membrana em células do pericito neuronal. Microscopia eletrônica de transmissão. Barra = 1µm. 55
- Figura 42** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Cervo 6. Corpos residuais densos mielinizados no citoplasma de um axônio. Microscopia eletrônica de transmissão. Barra = 500nm. 55

## ÍNDICE DE TABELAS

	<b>Página</b>
<b>Tabela 1</b> Plantas tóxicas de maior importância econômica que causam doença do armazenamento em animais domésticos e selvagens.	24
<b>Tabela 2</b> Aspectos gerais e evolução clínica dos cervos Sambar intoxicados espontaneamente por <i>Sida carpinifolia</i> .	33
<b>Tabela 3</b> Intensidade das lesões histopatológicas no SNC, fígado, rins, pâncreas e tireoides dos cervos Sambar intoxicados espontaneamente por <i>Sida carpinifolia</i> .	41
<b>Tabela 4</b> Intensidade e distribuição da vacuolização citoplasmática neuronal identificada através da microscopia ótica no sistema nervoso central de cervos Sambar ( <i>Cervus unicolor</i> ) intoxicados espontaneamente por <i>Sida carpinifolia</i> .	41
<b>Tabela 5</b> Intensidade de marcação do citoplasma de células do SNC de cervos Sambar ( <i>Cervus unicolor</i> ) intoxicados por <i>Sida carpinifolia</i> através da técnica de lectino-histoquímica.	50

## LISTA DE ABREVIACOES

<b>AI</b>	Alcaloide indolizidínico
<b>DAL</b>	Doença do armazenamento lisossomal
<b>DALH</b>	Doença do armazenamento lisossomal hereditária
<b>DALA</b>	Doença do armazenamento lisossomal adquirida
<b>HE</b>	Hematoxilina e eosina
<b>CL</b>	Ceroide-lipofuscinose
<b>MPS</b>	Mucopolissacaridoses
<b>PAS</b>	Ácido periódico de Schiff
<b>PBS</b>	Tampão fosfato
<b>SNC</b>	Sistema nervoso central
<b>SNP</b>	Sistema nervoso periférico
<b>SWGA</b>	<i>Succinil-Triticum vulgaris</i>
<b>WGA</b>	<i>Triticum vulgaris</i>
<b>UEA-I</b>	<i>Ulex europaeus-1</i>
<b>PNA</b>	<i>Arachis hypogaea</i>
<b>RCA-I</b>	<i>Ricinus communis-1</i>
<b>SBA</b>	<i>Glycine Max</i>
<b>DBA</b>	<i>Dolichos biflorus</i>
<b>CONA</b>	<i>Concanavalia ensiformis</i>
<b>GSL</b>	<i>Bandeirea simplicifolia</i>

## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>2 REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	3
<b>2.1 Doenças do Armazenamento Lisossomal (DAL)</b> .....	3
<b>2.2 Doenças do Armazenamento Lisossomal hereditárias (DALH)</b> .....	3
2.2.1 Esfingolipidoses.....	4
2.2.2 Glicoproteinoses.....	6
2.2.3 Mucopolissacaridoses.....	8
2.2.4 Outras DAL.....	8
<b>2.3 Doenças do Armazenamento Lisossomal Adquiridas (DALA) em animais domésticos e selvagens</b> .....	10
2.3.1 Lipofuscinosose causa pela ingestão de <i>Phalaris</i> spp.....	11
2.3.2 Neurolipidose causada pela ingestão de <i>Solanum</i> spp.....	12
2.3.3 Plantas que causam $\alpha$ -Manosidose.....	13
2.3.3.1 Plantas exóticas que causam $\alpha$ -Manosidose.....	13
2.3.3.2 Plantas brasileiras que causam $\alpha$ -Manosidose.....	16
<b>2.4 Aspectos gerais e biologia dos cervos Sambar (<i>Cervus unicolor</i>)</b> .....	27
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	29
3.1 Animais do estudo e dados epidemiológicos.....	29
3.2 Exame clínico.....	30
3.3 Exames macroscópico e histopatológico.....	30
3.4 Lectino-histoquímica.....	31
3.5 Microscopia eletrônica de transmissão.....	32
<b>4 RESULTADOS</b> .....	33
4.1 Animais do estudo e dados epidemiológicos.....	33
4.2 Sinais clínicos.....	36
4.3 Achados macroscópicos e histopatológicos.....	40
4.4 Achados lectino-histoquímicos.....	50
4.5 Microscopia eletrônica de transmissão.....	53
<b>5 DISCUSSÃO</b> .....	56
<b>6 CONCLUSÕES</b> .....	61
<b>7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	62
<b>8 ANEXOS</b> .....	70
Anexo A.....	70
Anexo B.....	72

## 1 INTRODUÇÃO

Doenças do Armazenamento, também conhecidas como Doenças do Acúmulo Lisossomal (DAL), representam um grupo de condições hereditárias ou adquiridas, resultantes de interferência ou bloqueio em certas rotas catabólicas que determinam depósito de compostos orgânicos no citoplasma de células. Esse acúmulo de substâncias endógenas termina por acarretar degeneração, lise, ou necrose de células com os consequentes distúrbios no funcionamento de órgãos e tecidos afetados, tanto no homem, quanto em diversas espécies animais (SUMMERS et al., 1994; MAXIE; YOUSSEF, 2007). As enfermidades desse grupo, em geral, afetam também o tecido nervoso e são classificadas, sobretudo, de acordo com o(s) composto(s) acumulado(s). Assim, são descritas neurolipidoses (doenças do armazenamento lisossomal), como *Esfingolipidoses* (Gangliosidose, Leucodistrofia Celular Globoide, Leucodistrofia Metacromática, Doença de Gaucher, Doença de Niemann-Pick); *Glicoproteinoses* (Fucosidose, Manosidose, Galactosialidose); *Mucopolissacaridoses*; *Miscelâneas* (Glicogenoses, Ceroide-lipofuscinose) (SUMMERS et al., 1994; MAXIE; YOUSSEF, 2007).

Em animais têm especial relevância as intoxicações por plantas, cujos princípios ativos são capazes de induzir esses desarranjos. São descritas em várias partes do mundo plantas dos gêneros *Swainsona* spp., *Astragalus* spp., *Oxytropis* spp., que possuem como princípio tóxico alcalóides indolizidínicos conhecidos como swainsoninas (GUPTA, 2007). No Brasil são conhecidos três gêneros de plantas que causam doença do armazenamento lisossomal em animais por possuírem esse mesmo alcaloide: *Ipomoea*, *Turbina* e *Sida* (TOKARNIA et al., 2000; RIET-CORREA et al., 2007). Essas plantas são invasoras de pastagens, e têm sido descritas como causa de intoxicação em bovinos, caprinos, ovinos, e mais raramente, equinos. Embora não sejam tão palatáveis, os animais que, em condições ideais, não as ingerem espontaneamente, podem desenvolver avidez pela planta e induzir outros animais do rebanho a comer a planta (facilitação social) quando há escassez de alimento, de fibra ou de volumoso verde (GUPTA, 2007; RIET-CORREA et al., 2007).

Embora a intoxicação por plantas que causam (DAL) seja bem conhecida em animais domésticos, a sua ocorrência em animais selvagens é pouco estudada, especialmente no Brasil. A intoxicação espontânea por *Sida carpinifolia* tem sido descrita no Rio de Janeiro, São Paulo, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, em caprinos (DRIEMEIER et al., 2000; COLODEL et al., 2002a), ovinos (SEITZ et al., 2005; Peixoto, 2010 – dados não-publicados) equinos (LORETTI et al., 2003) e bovinos (FURLAN et al., 2009). A doença é caracterizada especialmente por déficit motor e proprioceptivo. Não há alterações macroscópicas significativas e, histologicamente, há vacuolização em neurônios, bem como em células epiteliais glandulares (DRIEMEIER et al., 2000; LORETTI et al., 2003; SEITZ et al., 2005; FURLAN et al., 2009).

Com as crescentes mudanças de habitats e o aumento do número de núcleos de apoio e preservação de animais selvagens, o risco para que estas condições ocorram aumentou significativamente, em especial, na última década, o que aponta para novos desafios no que diz respeito às condições biológicas e sanitárias desses animais, que médicos veterinários, biólogos e técnicos devem estar cientes. *Sida carpinifolia* é planta invasora de pastagens, extremamente resistente, e pode ser encontrada com frequência em diversas regiões do país, invadindo pastagens e recintos destinados à manutenção de ruminantes selvagens (PORWAL et al., 1996; DUARTE, 2006, PEDROSO et al., 2009).

Dessa forma, o presente trabalho tem como objetivos descrever detalhadamente um surto inédito de intoxicação espontânea por *Sida carpinifolia* em cervos sambar criados em cativeiro no Estado do Rio de Janeiro, enfatizando seus aspectos epidemiológicos, clínicos,

fisiopatológicos, lectino-histoquímicos e ultraestruturais e, a partir do diagnóstico da condição, traçar medidas de controle e prevenção dessa condição no cativeiro.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Doenças do Armazenamento Lisossomal (DAL)

As doenças do armazenamento lisossomal são caracterizadas por acúmulo intracelular de produtos metabólicos não-digeridos ou indigeríveis. O material se acumula nas células devido à atividade deficiente de uma ou mais das diferentes enzimas catabólicas lisossomais. O período de vida dos neurônios é longo e eles são ricos em gangliosídeos e glicolipídeos, os quais são continuamente degradados e ressintetizados. Em animais normais, os produtos metabólicos são internalizados pelos lisossomos intracelulares e degradados em seus constituintes, aminoácidos, monossacarídeos ácidos graxos, alcoóis e lipídeos simples, por enzimas catabólicas ácidas. Os distúrbios do metabolismo de gangliosídeos, glicolipídeos e de outros componentes resultam no acúmulo dos subprodutos degradados em neurônios e em outras células. A sobrecarga dos lisossomos pelo material não-digerido produz disfunções neurológicas profundas (JOLLY; BLAKEMORE, 1973; HEALY et al., 1991; SUMMERS et al., 1994; MAXIE; YOUSSEF, 2007).

A descoberta dos lisossomos e o posterior desenvolvimento do conceito de doenças do armazenamento lisossômico hereditárias e adquiridas abriu uma área fértil de investigação, tanto em doenças que acometem humanos, como em doenças relatadas em animais domésticos e selvagens (JOLLY; WALKLEY, 1997). Alguns desses trabalhos envolvem casos isolados em animais de companhia, ou casos de grande impacto em rebanhos de animais de produção. De qualquer forma, são de grande valia como modelos para o estudo de doenças humanas análogas (JOLLY et al., 1989; AGMOULIS, 1995; JOLLY; WALKLEY, 1997).

As doenças do armazenamento podem ser classificadas como hereditárias ou adquiridas. As doenças do armazenamento hereditárias são nomeadas de acordo com o subproduto metabólico que se acumula nos lisossomos (JOLLY; BLAKEMORE, 1973; HEALY et al., 1991). Assim, são descritas como neurolipidoses hereditárias as *Esfingolipidoses* (Gangliosidose, Leucodistrofia Celular Globoide, Leucodistrofia Metacromática, Doença de Gaucher, Doença de Niemann-Pick); *Glicoproteinoses* (Fucosidose, Manosidose, Galactosialidose); *Mucopolissacaridoses*; e *outras* (Glicogenoses, Ceróide-lipofucinoses) (SUMMERS et al., 1994; JOLLY; WALKLEY, 1997; MAXIE; YOUSSEF, 2007). Em animais, as doenças do armazenamento de causas adquiridas ocorrem principalmente pela ingestão de plantas que contêm inibidores específicos de uma ou mais enzimas catabólicas lisossomais, bem como por agressões causadas por substâncias endógenas ou exógenas. O acúmulo de substâncias endógenas ou exógenas termina por acarretar degeneração e/ou necrose de células, com as consequentes perturbações no funcionamento de órgãos e tecidos afetados, tanto em seres humanos, quanto em diversas espécies de mamíferos domésticos, selvagens, e aves (MAXIE; YOUSSEF, 2007). As enfermidades desse grupo, em geral, afetam o tecido nervoso e são classificadas, sobretudo, de acordo com o(s) composto(s) acumulado(s).

### 2.2 Doenças do armazenamento lisossomal hereditárias (DALH)

#### Herança e influência da raça

A maioria das doenças de depósito lisossômico herdadas são autossômicas recessivas. Essas doenças, em animais, tendem a ocorrer em raças desenvolvidas em localidades específicas e a partir um pequeno número de progenitores, com acentuado grau de endogamia (NEUFELD, 1991). Assim, as raças tendem a ser geneticamente menos diversificadas do que as populações humanas. As práticas de reprodução, que se caracterizam pelo uso de poucos reprodutores, levam a criação de linhagens e modas, o que pode levar a uma prevalência alta

de determinada doença em grandes famílias (NEUFELD, 1991). Em humanos, a segregação de uma doença genética em uma localidade, ou grupo étnico, provavelmente refletem uma única mutação, semelhante ao que ocorre nos animais domésticos. No entanto, taxas de mutação e maior diversidade genética das populações conduzem a um número de alelos mutantes para muitas doenças, e casos esporádicos refletem, muitas vezes, indivíduos heterozigotos. Portanto, o mesmo espectro de doenças que ocorrem nos seres humanos pode ser esperado em animais (JOLLY; WALKLEY, 1997).

A idade em que ocorre o aparecimento dos sinais clínicos e o grau da doença são influenciadas pela gravidade da deficiência da enzima. Se um defeito do gene mutante faz com que a enzima não seja sintetizada, o início da doença será precoce e grave. No entanto, se a enzima é produzida, mas sua atividade é deficiente, a doença pode ser mais branda, pois ainda há certa atividade catabólica nos lisossomos. Em termos simplistas, se houver uma enzima totalmente deficiente, o substrato se acumula rapidamente. Quando há alguma atividade enzimática residual, a doença tem início tardio e mais branda, pois o catabolismo parcial permite um longo período até que a acumulação do substrato e/ou distúrbios metabólicos interfiram na função celular (JOLLY; WALKLEY, 1997).

### **2.2.1 Esfingolipidoses**

Os esfingolipídeos constituem um importante grupo de lipídios estruturais normais, nos quais o composto de unificação, ceramida (esfingosina mais ácidos graxos), é esterificado a sialoligossacarídeos para formar gangliosídeos e a outros sacarídeos para formar glicolipídios neutros, como globosídeo, ou fosfocolina para formar esfingomielina (JOLLY; WALKLEY, 1997). São tidas como esfingolipidoses a Glucocerebrosideose (Doença de Gaucher), a doença de Niemann-Pick, Gangliosidose, Leucodistrofia Celular Globoide (doença de Krabbe's), Leucodistrofia Metacromática (SUMMERS et al., 1994). Os defeitos na degradação dos esfingolipídeos nessas doenças representam uma das principais categorias de doenças lisossomais hereditárias que afetam seres humanos e animais. Estas doenças acometem particularmente o sistema nervoso, e incluem clássicos tipos de doença de armazenamento em neurônios (SUMMERS et al., 1994; MAXIE; YOUSSEF, 2007).

#### **Gangliosidose GM<sub>1</sub> e GM<sub>2</sub>**

A gangliosidose GM<sub>1</sub> se dá pelo acúmulo do gangliosídeos GM<sub>1</sub> que ocorre devido à deficiência de  $\beta$ -galactosidase (cliva o terminal galactose do GM). Gangliosidose GM<sub>1</sub> já foi descrita em gatos siameses. Em contraste, uma forma mais grave da gangliosidose GM<sub>1</sub>, foi observada em filhotes de gato de pelo curto, com hepatomegalia e deformidades do esqueleto facial, eventualmente, comparáveis com o que ocorre em humanos. Essa condição também é relatada em bovinos da raça holandês (DONNELLI et al., 1973), em cães Beagle (ALROY et al., 1985) e em ovinos Suffolk (AHERN-RINDELL et al., 1988), nos quais é caracterizada por déficit neurológico progressivo (SUMMERS et al., 1994; MAXIE; YOUSSEF, 2007; ZACHARY, 2007).

A deficiência de  $\beta$ -hexosaminidase resulta em acúmulo de GM<sub>2</sub> no cérebro. A herança é autossômica recessiva. A gangliosidose GM<sub>2</sub> é controlada por três genes HEX A, HEX B, e GM2A; este último gene codifica proteínas ativadoras que ajudam na exposição da GM<sub>2</sub> às enzimas. A gangliosidose GM<sub>2</sub> dos seres humanos (doença de Tay-Sachs) é causada por mutações genéticas, que resultam na deficiência da hexosaminidase A e no acúmulo de gangliosídeos GM<sub>2</sub>. Mutações da subunidade B causam deficiências em ambos os Hexosaminidases A e B (Doença de Sandhoff) (JOLLY; WALKLEY, 1997). Gangliosidose

GM<sub>2</sub> tem sido descrita em cães Pointer, gatos Korat, e suínos Yorkshire (SUMMERS et al., 1994; MAXIE; YOUSSEF, 2007; ZACHARY, 2007).

### **Leucodistrofia Celular Globóide**

Em animais, essa doença se assemelha com a doença de Krabbe dos humanos, e tem sido relatada em cães de diversas raças (JOLLY; WALKLEY, 1997; ZACHARY, 2007), bem como em ovinos Dorset (PRITCHARD et al., 1980), e felinos domésticos de pelo curto (JOHNSON, 1970). A doença ocorre por acúmulo de galactocerebrosídeo (galactosilceramida) e galactosilfingosina, por deficiência da enzima galactosilceramidase (ZACHARY, 2007).

Esses acúmulos são encontrados ao redor dos vasos sanguíneos no cérebro, ou dentro dos nervos periféricos. O resultado global é uma grave deficiência de mielina e atrofia cerebral acentuada (JOLLY; WALKLEY, 1997; MAXIE; YOUSSEF, 2007).

### **Leucodistrofia Metacromática**

É uma esfingolipidose descrita apenas em humanos, causada pela deficiência de arilsulfatase A, que causa paralisia progressiva e demência, resultando em morte. A deficiência causa o acúmulo de lipídios metacromáticos na substância branca do sistema nervoso central (SNC), e dos nervos periféricos, levando a desmielinização. Existem diversas mutações que podem desencadear essa condição, na qual a idade de início e a velocidade de progressão são variáveis (FROSCH et al., 2005).

### **Glucocerebrosidose (Doença de Gaucher)**

A glucocerebrosidose ou doença de Gaucher é uma esfingolipidose resultante da deficiência de glucocerebrosidase, o que leva a deposição de glucocerebrosídeo e compostos relacionados. É a esfingolipidose mais comum em humanos, e rara em cães (semelhante ao tipo II que acomete humanos) (HARTLEY; BLAKMORE, 1973; SUMMERS et al., 1994). Os sinais clínicos variam conforme o tipo, mas são mais comumente hepatoesplenomegalia e alterações no SNC. Glucocerebrosidase normalmente hidrolisa glicocerebrosídeos a glicose e ceramida. Defeitos genéticos dessa enzima causam acúmulo de glucocerebrosídeo em macrófagos teciduais através de fagocitose, formando células de Gaucher.

O acúmulo de células de Gaucher nos espaços perivasculares no cérebro causam gliose. Existem 3 tipos de acúmulo, que variam em epidemiologia, atividade enzimática e manifestações. O tipo I é caracterizado por uma condição não-neuropática; o tipo II corresponde a uma neuronioptia aguda com rigidez e convulsões, e o tipo III revela-se como uma condição subaguda, caracterizada por déficit neurológico progressivo com ataxia e distúrbios ósseos e viscerais (tipo I) (HARTLEY; BLAKMORE, 1973; SUMMERS et al., 1994).

### **Doença de Niemann-Pick**

A doença de Niemann-Pick ocorre pela atividade deficiente da esfingomielinase, resultando em acúmulo de esfingomielina (fosforilcolina ceramida) em células do sistema reticuloendotelial. Essa doença tem herança autossômica recessiva e acomete principalmente humanos, principalmente judeus Ashkenazi. Uma doença semelhante foi relatada em camundongos e felinos siameses, balineses e em cães Poodle e Boxer, caracterizada por vacuolização fina em células de diversos órgãos, principalmente do SNC e sistema nervoso periférico (SNP) (BUNDZA et al., 1979; SUMMERS et al., 1994; ZACHARY, 2007).

## Galactosialidose

Um único caso de galactosialidose foi descrito em um cão Schipperke com cinco anos de idade, que apresentou sinais clínicos neurológicos vestibulares e cerebelares progressivos. Esta doença foi comparável à doença de seres humanos, em que há deficiência combinada dos níveis de atividade das enzimas  $\beta$ -galactosidase e  $\alpha$ -neuraminidase, devido a uma mutação na proteína de proteção 32-kD (KNOWLES et al., 1993; JOLLY; WALKLEY, 1997). O armazenamento de material do cão afetado incluía glicolípídeos contendo  $\beta$ -galactose terminal e de resíduos de  $\alpha$ -sialil e oligossacarídeos N-ligados.

A doença foi caracterizada por atrofia cerebelar com perda extensiva de células de Purkinje e hidrocefalia. Neurônios tumefeitos e vacuolizados foram observados na medula espinhal e no cérebro, bem como em células do pâncreas exócrino e em ilhotas. Ultraestruturalmente, os lisossomos mostravam-se dilatados e preenchidos por estruturas membranosas lamelares e enquanto outros encontram-se vazios (KNOWLES et al., 1993). Um modelo experimental em camundongos para estudo da galactosialidose também foi desenvolvido (ZHOU et al., 1995).

### 2.2.2 Glicoproteínoses

Esse grupo de doenças inclui aquelas em que há degradação defeituosa de carboidratos de glicoproteínas (SUMMERS et al., 1994). As glicoproteínas são caracterizadas por várias ramificações de oligossacarídeos, contendo uma estrutura de núcleo comum de manose e duas moléculas de N-acetilglicosamina ligada à asparagina. O catabolismo dessas glicoproteínas se dá pela ação de enzimas como  $\alpha$ -manosidase e  $\beta$ -manosidase, entre outras. A carência de uma destas enzimas resulta na acumulação de produtos intermediários do catabolismo de glicoproteínas nos lisossomos (JOLLY; WALKLEY, 1997).

#### $\alpha$ -Manosidose

Embora rara em seres humanos, a  $\alpha$ -manosidose é provavelmente a doença do armazenamento lisossomal mais comum e economicamente mais importante em animais, especialmente em animais de produção (JOLLY; THOMPSON, 1978; SUMMERS et al., 1994). A forma hereditária dessa doença ocorre por defeito genético autossômico recessivo com comprometimento da enzima  $\alpha$ -manosidase, essa deficiência leva a não-clivagem entre a N-acetilglicosamina e a manose, acarretando o acúmulo de complexos de oligossacarídeos híbridos nos lisossomos de neurônios, macrófagos e células reticuloendoteliais (SUMMERS et al., 1994; JOLLY; WALKLEY, 1997). Essa enfermidade ocorre em bovinos das raças Angus, Murray Gray, Simental, Galloway e Holandês em países como Nova Zelândia, Escócia, Argentina, Austrália e América do Norte (MAXIE; YOUSSEF, 2007). São descritos também casos dessa condição em felinos domésticos de pelo curto (BLAKEMORE, 1986) e posteriormente em gatos Persa (VANDEVELDE et al., 1988).

Os sinais clínicos são observados pela primeira vez entre a primeira semana e 15 meses de vida. Os bezerros acometidos tendem a apresentar menor desenvolvimento e leve ataxia dos membros pélvicos, seguidos por tremores de cabeça, hipermetria, postura em base ampla, possível agressividade e morte em pouco tempo (HEALY et al., 1991).

O armazenamento neuronal de oligossacarídeos é difuso e em grande quantidade, pode ser observado tanto na microscopia óptica como através da microscopia eletrônica (ME), e a morte de neurônios tende a ocorrer no estágio final da doença. São observados esferóides axonais tanto na substância branca como na substância cinzenta, e a vacuolização ocorre especialmente em núcleos cerebelares, em núcleos proprioceptivos do tronco encefálico

caudal e no axônio proximal das células de Purkinje. Células epiteliais secretoras, pancreáticas, renais, endoteliais e macrófagos também podem apresentar vacuolização (MAXIE; YOUSSEF, 2007).

Devido à natureza hereditária da doença, a descendência dos animais acometidos deve ser acompanhada e os fenótipos bioquímicos dos animais devem ser testados. Os heterozigotos para essa condição são identificados mediante determinação de concentrações plasmáticas de  $\alpha$ -manosidase, abaixo de 30 a 40% dos valores dos controles (HEALY et al., 1990).

A  $\alpha$ -manosidose adquirida difere patogeneticamente da forma hereditária, pois, além de inibir a ação da  $\alpha$ -manosidase nos lisossomos, também inibe a ação catabólica da enzima  $\alpha$ -manosidase II do complexo de Golgi (JOLLY; WALKLEY, 1997) e, em animais criados em pastagens a doença está associada à ingestão de plantas cujo princípio ativo são alcalóides indolizídínicos conhecidos como swainsoninas (GUPTA, 2007). São descritas em várias partes do mundo plantas que causam doença do armazenamento lisossomal adquirida (DALA), pertencentes aos gêneros *Swainsona*, *Astragalus* e *Oxytropis*, principalmente na América do Norte (GUPTA, 2007). No Brasil, são conhecidos os gêneros *Ipomoea*, *Turbina* e *Sida* (TOKARNIA et al., 2000; RIET-CORREA et al., 2007). Mais detalhes serão abordados quando tratarmos da forma adquirida das DAL.

### **$\beta$ -Manosidose**

A doença pode se manifestar a partir de defeitos genéticos autossômicos recessivos, que induzem à deficiência de  $\beta$ -manosidase e ao acúmulo de oligossacarídeos associados à manose, de forma análoga ao que ocorre na  $\alpha$ -manosidose (JOLLY; WALKLEY, 1997). Essas condições são descritas em caprinos Anglo-nubianos e bezerros Salers, e em seres humanos (BRYAN et al., 1993). A doença é rapidamente fatal em bezerros recém-nascidos. Estima-se que a frequência em bezerros Salers puros seja de um em cada 2.000 nascidos (SUMMERS et al., 1994; MAXIE; YOUSSEF, 2007). Acredita-se que a manosidase nos caprinos se distribua mundialmente, com relatos de casos na Austrália, no Canadá e nos Estados Unidos (JOLLY; WALKLEY, 1997).

Os sinais clínicos neurológicos incluem tremores de cabeça, surdez, hiperextensão articular, nistagmo, estrabismo, depressão, perda do reflexo de sucção, atividade mastigatória espontânea e decúbito, além de uma série de defeitos ósseos (MAXIE; YOUSSEF, 2007). Diferente dos caprinos, os bovinos respondem melhor aos estímulos auditivos e visuais (BRYAN et al., 1993). Em seres humanos, a condição neurológica é mais suave e lentamente progressiva (JOLLY; WALKLEY, 1997). As concentrações plasmáticas de  $\beta$ -manosidase em heterozigotos variam entre 43-64 nmol/h/mL, mas deve-se ter cuidado com esses valores, pois são muito variáveis nas diferentes faixas etárias (CANAVAGH et al., 1992).

Histologicamente, a doença é caracterizada por vacuolização citoplasmática de células de vários tecidos do organismo, mas especialmente do SNC, onde ocorre ainda hipomielinização, e esferóides axonais (SUMMERS et al., 1994; MAXIE; YOUSSEF, 2007).

### **Fucosidose**

Fucosidose ocorre como resultado de uma alteração autossômica recessiva, que determina a atividade deficiente da enzima  $\alpha$ -fucosidase e conseqüente acúmulo lisossomal de fucose contendo esfingolípídios, glicoproteínas e mucopolissacarídeos (glicosaminoglicanos). Essa condição tem sido relatada em cães Springer Spaniel na Austrália e na Inglaterra (JOLLY; WALKLEY, 1997). Os sinais clínicos são caracterizados por perda da capacidade proprioceptiva e ataxia. Macroscopicamente, chama atenção a tumefação e o aumento do

diâmetro da porção cervical do nervo vago, nas raízes dorsais de gânglios cervicais (SUMMERS et al., 1994; MAXIE; YOUSSEF, 2007).

### **2.2.3 Mucopolissacaridoses**

Mucopolissacarídeos (glicosaminoglicanos) são os componentes polissacarídeos de proteoglicanos e são compostos por unidades repetitivas de dissacarídeo contendo um derivado de um amido, açúcar, glicosamina ou galactosamina. Pelo menos um dos açúcares em cada dissacarídeo deve ser carboxilado ou sulfatado. Os glicosaminoglicanos de maior importância são o dermatan sulfato, heparan sulfato, keratan sulfato e chondroitin sulfato (JOLLY; WALKLEY, 1997). Nas mucopolissacaridoses (MPS), o tipo de glicosaminoglicano acumulado no interior dos lisossomos depende do tipo da enzima que apresenta-se deficiência.

Uma variedade de defeitos de degradação de glicosaminoglicanos foi identificada em animais e inclui a MPS tipo I (doença de Hurler), em gatos e cães Plott Hounds com acúmulo de heparan e dermatan sulfato (deficiência da  $\alpha$ -iduronidase); MPS tipo III (Doença de Sanfillipo) com acúmulo de heparan sulfato em caprinos (deficiência de Heparan N-sulfatase,  $\alpha$ -N-acetilglicosaminidase, Acetil-CoA e M-acetilglucosamine 6-sulfatase); MPS tipo VI (Doença de Maroteux-Lamy) em gatos, em cães miniatura Pinscher e ratos, caracterizada por acúmulo de dermatan sulfato (deficiência de Arilsulfatase B); 9 e MPS VII (doença de Sly) em gatos, cães e camundongos por acúmulo de dermatan, heparan e condroitin sulfatos (deficiência de  $\beta$ -glucuronidase) (JOLLY; WALKLEY, 1997; HASKINS et al., 1992).

Os sinais clínicos variam desde distúrbios osteoarticulares até disfunções neurológicas caracterizadas por perda neuronal com déficit cerebelar, e outros sinais neurológicos semelhantes a outras DAL. Histologicamente há vacuolização do citoplasma de várias populações de células do SNC, pericito vascular, fibroblasto, hepatócitos, condrócitos, queratinócitos, e de células da medula óssea. Podem ser observados vacúolos neuronais contendo material granular amorfo e flocular disperso ou estruturas membranosas lamelares, como achados de avaliação ultraestrutural (SUMMERS et al., 1994; MAXIE; YOUSSEF, 2007).

### **2.2.4 Outras DAL**

#### **Glicogenose tipo II (Doença de Pompe)**

Doença do armazenamento de glicogênio tipo II é caracterizada por acúmulo de glicogênio nos lisossomos, como consequência da deficiência da  $\alpha$ -glicosidase lisossomal (maltase ácida) (JOLLY; WALKLEY, 1997), e é controlada por um alelo recessivo único. A doença tem sido bem descrita em cães Lapland (WALVOORT, 1982) e em bovinos Shorthorn e Brahman na Austrália (SUMMERS et al., 1994; JOLLY; WALKLEY, 1997). Outras formas de doenças de depósito de glicogênio são citosólicas e não envolvem somente lisossomos (JOLLY; WALKLEY, 1997). Em humanos essa enfermidade é conhecida por Doença de Pompe. A glicogenose tipo II também foi relatada em um gato, ovinos da raça Corriedale, e codornas japonesas, mas em nenhuma dessas espécies foi confirmado o defeito enzimático (SUMMERS et al., 1994; JOLLY; WALKLEY, 1997).

Os sinais clínicos incluem desenvolvimento abaixo do normal, fraqueza, hiperestesia, tremores musculares, ataxia, deficiências proprioceptivas conscientes e decúbito. As lesões no SNC são semelhantes com as observadas na  $\alpha$ -manosidose e incluem tumefação e vacuolização de várias classes celulares, especialmente em células de Purkinje do cerebelo e outros neurônios (SUMMERS et al., 1994; MAXIE; YOUSSEF, 2007).

## Lipofuscinose-ceroide

A condição é autossômica recessiva em cães das raças Setter Inglês, Terrier Tibetano, e Border Collie. Tem sido relatado como uma das doenças hereditárias neurodegenerativas mais comuns em crianças (Doença de Batten), e uma condição semelhante foi relatada também em cães, gatos, bovinos, ovelhas, cabras e camundongos (JOLLY; WALKLEY, 1997). Entre os cães, lipofuscinose-ceroide (LC) tem sido relatada em muitas raças, incluindo Setter, Terrier tibetano, American Bulldog, Dachshund, Sheepdog, Border Collie, Dálmatas, Schnauzer miniatura, Shepherd Australiano, Cattle Dog australiano, Golden Retrievers (MAXIE; YOUSSEF, 2007). O nome lipofuscinose-ceroide deriva da coloração e da semelhança do pigmento fluorescente acumulado nos lisossomos com os pigmentos lipofuscina e ceróide.

A doença caracteriza-se por armazenamento do lipopigmento fluorescente dentro de neurônios e em células de outros órgãos (JOLLY; WALKLEY, 1997; MAXIE; YOUSSEF, 2007). A doença dos humanos tem sido bastante estudada em modelos animais, tanto em cães Setter Inglês (KOPPANG, 1992), como em ovinos South Hampshire (JOLLY et al., 1989). Ensaios com catepsinas demonstraram que defeitos em proteases lisossomais não estão envolvidos na patogênese da lipofuscinose-ceroide neuronal. A própria especificidade do armazenamento da subunidade C e outras considerações teóricas implicam que o defeito bioquímico primário pode ser pré-lisossomal e que a subunidade C entra no sistema lisossomal já de forma complexa e de difícil catabolização enzimática (MAXIE; YOUSSEF, 2007; JOLLY; WALKLEY, 1997). Esse acúmulo pode ser devido à extrema hidrofobicidade da proteína e sua propensão a formar complexos com lipídios (JOLLY; WALKLEY, 1997).

O fenótipo e idade de início são variáveis, e os sinais clínicos tendem a evoluir lentamente. Caracteriza-se por visão reduzida, mudança de personalidade, ataxia e convulsões entre 12-24 meses de idade (JOLLY; WALKLEY, 1997). À necropsia, podem-se observar áreas atrofiadas e amarronzadas, especialmente no encéfalo. Microscopicamente, o dano celular pode afetar diferentes órgãos, o dano mais acentuado ocorre principalmente em neurônios do córtex cerebral, retina e células de Purkinje do cerebelo. Caracteriza-se pela presença de grânulos vermelho-amarronzados na coloração pela hematoxilina e eosina, e magenta na coloração por ácido periódico de Schiff (PAS). Ultraestruturalmente, as células acometidas apresentam depósitos membranáceos irregulares e com variadas formas, arranjados em corpos curvilíneos “*curvilinear bodies*” e corpos em impressão digital “*fingerprint bodies*”, assim como corpos zebreados e depósitos granulares (MAXIE; YOUSSEF, 2007).

Embora os sinais neurológicos estejam sempre presentes na lipofuscinose-ceroide de caninos, estes sinais variam consideravelmente entre as raças e pode coincidir com sinais presentes em outras desordens neurológicas. Até que o gene defeituoso responsável pela doença seja identificado em uma determinada raça, um diagnóstico definitivo só pode ser feito mediante exame microscópico dos tecidos nervosos coletados na necropsia (MAXIE; YOUSSEF, 2007; JOLLY; WALKLEY, 1997).

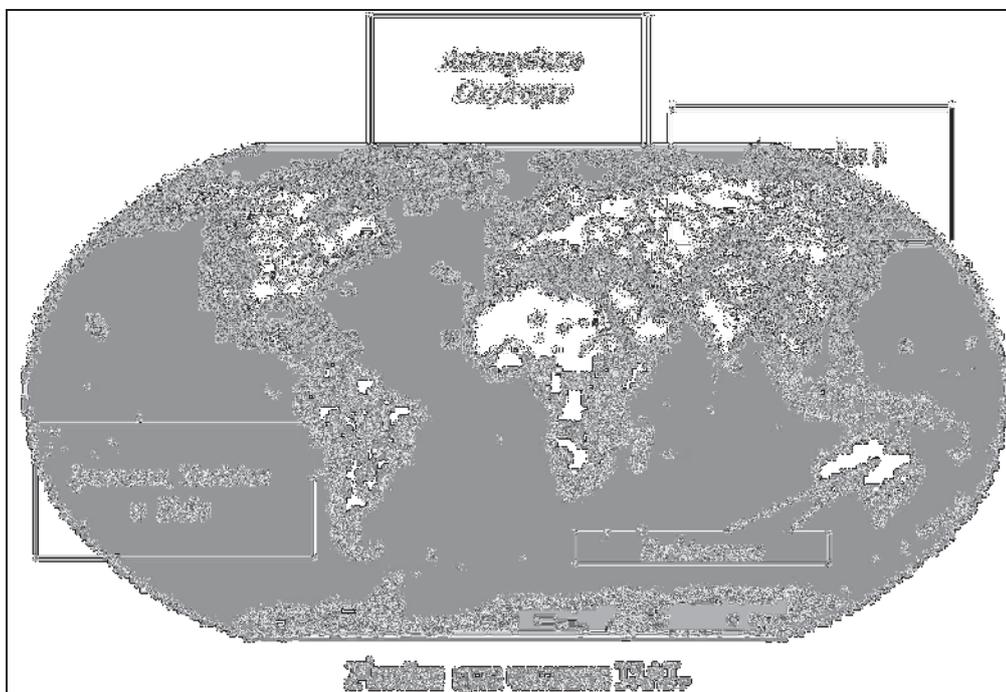
No sul do Brasil e no Uruguai, alguns estudos descrevem ovinos intoxicados por uma planta conhecida como *Halimium brasilienseis*. A condição é sazonal, de maio a novembro, durante o crescimento de *Halimium brasiliense*, e afeta principalmente ovinos acima de três anos de idade. Os sinais clínicos incluem convulsões, principalmente quando os animais são estimulados a se movimentarem ou manipulados. A maioria se recupera quando os ovinos são transferidos a outras áreas de pastagem. Vacuolização no encéfalo e medula espinhal, com raras formações de esferoides axonais é a principal lesão histológica. Um pigmento identificado como ceróide também estava presente em neurônios, astrócitos e macrófagos. Essas lesões sugerem manifestação morfológica de axonopatia tóxica (RIET-CORREA et al.,

2009). Os achados clínicos e patológicos se enquadram na condição lipofuscinoso-ceroide (PEIXOTO; TOKARNIA, 2010)

### 2.3 Doenças do armazenamento lisossomal adquiridas (DALA) em animais domésticos e selvagens

Doenças do armazenamento lisossomal adquiridas (DALA) caracterizam-se pelo acúmulo de substratos não-metabolizados nos lisossomos, resultante da atividade deficiente de hidrolases ácidas. Em animais, a forma adquirida está associada predominantemente à ingestão de plantas tóxicas (JOLLY; WALKLEY, 1997; SUMMERS et al., 1994). Em ruminantes domésticos e selvagens incluem-se as  $\alpha$ -manosidoses secundárias à ingestão de plantas do gênero *Swainsona* na Austrália e *Oxytropis* e *Astragalus* na América do Norte, América do Sul, China e África (VAN DER LUGT, 2002).

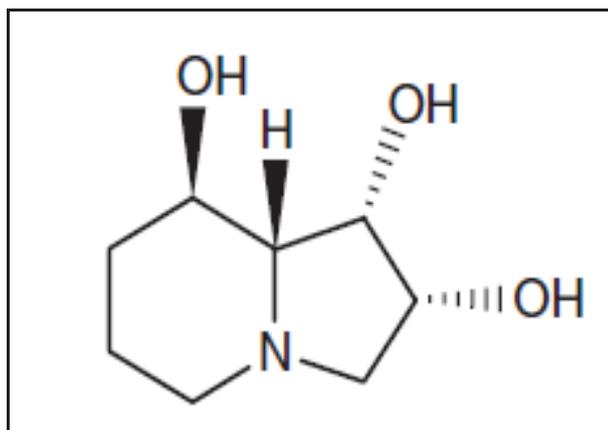
No Brasil, DALA em ruminantes e equinos induzidas pela ingestão de plantas incluem manosidoses causadas por *Ipomoea carnea* subsp. *fistulosa* (RIET-CORREA et al., 2003), *Sida carpinifolia* (DRIEMEIER et al., 2000; LORETTI et al., 2003; RIET-CORREA et al., 2007) e *Turbina cordata* (DANTAS et al., 2007), lipofuscinoso causada por *Phalaris angusta* (BARROS et al., 2006) e uma neurolipidose causada por *Solanum fastigiatum* (RIET-CORREA et al., 1983, BARROS et al., 1987, PAULOVICH et al., 2002). Essas condições se manifestam frequentemente por perturbações neurológicas leves a acentuadas, especialmente por tumefação e necrose de neurônios encefálicos e medulares e morte (TOKARNIA et al., 2000; MAXIE; YOUSSEF, 2007; RIET-CORREA et al., 2007). A distribuição geográfica dos principais gêneros de plantas que causam  $\alpha$ -manosidase está sintetizada na Figura 1.



**Figura 1.** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Distribuição geográfica mundial dos principais gêneros de plantas que causam  $\alpha$ -manosidose em animais domésticos e selvagens.

A  $\alpha$ -mannosidose é a mais importante DALA em animais de pastejo e é rara em animais selvagens. A doença é induzida pelo alcaloide indolizidínico 1,2,8-triol (AI) swainsonina contido em plantas dos gêneros *Swainsona*, *Astragalus*, *Oxytropis*, *Sida*, *Ipomoea* e *Turbina* (BALOGH et al., 1999; COLODEL et al., 2002; DANTAS et al., 2007).

A swainsonina é um potente inibidor da  $\alpha$ -manosidase lisossomal e da manosidase II do aparelho de Golgi (HARAGUCHI et al., 2003). A inibição dessa enzima lisossomal leva ao acúmulo intralissossomal de oligossacarídeos incompletamente processados (JAMES; PANTER, 1989).



**Figura 2.** Estrutura química do alcaloide indolizidínico swainsonina.

As perdas econômicas anuais por morte de bovinos nos Estados Unidos pela intoxicação desse princípio tóxico foram estimadas em mais de 100 milhões de dólares (IKEDA et al., 2003). No Brasil, as mortes de bovinos causadas por  $\alpha$ -mannosidose também são descritas como importantes causas de prejuízos em todas as regiões do país. Estudos experimentais vêm sendo realizados com intoxicação por essas plantas, principalmente com ruminantes, no intuito de compreender seus efeitos e minimizar os prejuízos econômicos causados por elas (TOKARNIA et al., 2000; STEGELMEIER et al., 2005; RIET-CORREA et al., 2007; ARMIÉN et al., 2010). Podem-se observar, na Tabela 1, os aspectos epidemiológicos e clinicopatológicos das principais plantas que causam doença do armazenamento em herbívoros domésticos e selvagens.

### 2.3.1 Lipofuscinose causada pela ingestão de *Phalaris* spp.

*Phalaris* spp. são plantas utilizadas em vários países na alimentação de bovinos, comumente consorciadas com leguminosas. Diversas espécies deste gênero são citadas como tóxicas para bovinos e ovinos, dentre elas, *Phalaris aquatica*, anteriormente denominada *P. tuberosa*, e *Phalaris angusta* (BOURKE, 1994; GAVA et al., 1999). Quando crescem em solos férteis e com umidade adequada, essas plantas parecem ser mais tóxicas, principalmente na fase inicial de crescimento, e quando à sombra e em temperaturas altas o potencial tóxico aumenta (GAVA et al., 1999; KELLERMAN et al., 2007). Esta gramínea é encontrada em restingas de soja, ou associada a pastagens de aveia, azevém e trigo. No estado de Santa Catarina, a doença foi observada em bovinos de propriedades onde havia grande quantidade da planta, popularmente conhecida por "aveia-louca" ou "aveia-de-sangue" (GAVA et al., 1999).

Embora a patogênese da intoxicação por *Phalaris* ainda não esteja bem estabelecida, alcalóides derivados de triptamina e  $\beta$ -carbolina são descritos como causa da forma nervosa da intoxicação (BOURKE, 1994). Tanto em bovinos como em ovinos são descritas três

formas clínicas da intoxicação: (1) doença superaguda com morte súbita, (2) doença aguda com sinais neurológicos transitórios e (3) manifestação neurológica crônica (BARROS et al., 2006; KELLERMAN et al., 2007). A ação semelhante à serotonina, com interferência em neurotransmissores, é também descrita. Porém, não há relação com o acúmulo do pigmento em lisossomos, e efeitos de derivados da tiramina podem estar envolvidos nos casos de morte súbita (KELLERMAN et al., 2007).

Os sinais clínicos citados na síndrome da morte súbita são de quedas repentinas, seguidas de fibrilação ventricular por alguns minutos, dificuldade respiratória e cianose das mucosas. Alguns ovinos morrem em seguida ou recuperam-se espontaneamente (BOURKE, 1994). As alterações clínicas descritas para a forma nervosa são variáveis e consistem de paresia dos membros torácicos e pélvicos, alterações do equilíbrio, hipermetria dos membros torácicos, andar rígido, tremores musculares de intensidade variável, contrações rápidas da musculatura da face, orelhas e cauda, e decúbito esternal ou lateral. Podem ser observados ainda opistótono, ptialismo, nistagmo, espasmos tetânicos, movimentos de pedalagem, distúrbios de consciência, convulsão e coma (BOURKE, 1994; GAVA et al., 1999).

Como lesão macroscópica é citada coloração cinza-esverdeada no sistema nervoso central, principalmente nos corpos geniculados e corpos mamilares do tálamo e na porção ventral da medula espinhal (BOURKE, 1994). Os rins também podem apresentar pigmentação semelhante à encontrada no sistema nervoso central, distribuída difusamente na região córtico-medular e medular (BOURKE, 1994).

Microscopicamente, a lesão típica encontrada no cérebro e na medula espinhal, corresponde à pigmentação neuronal intracitoplasmática, marrom-amarelada. Esses grânulos coram-se em vermelho pelo PAS e são negativos para hemossiderina. Alguns neurônios com o pigmento podem apresentar-se hiper cromáticos, contraídos e necróticos. No epitélio tubular renal é descrita a presença de pigmento intracitoplasmático semelhante ao encontrado no sistema nervoso central. Ultramicroscopicamente, o pigmento neuronal é observado em lisossomos e mitocôndrias tumefeitos, sob forma de corpos lamelares concêntricos, únicos ou múltiplos, envoltos por membrana dupla (GAVA et al., 1999; BARROS et al., 2006).

Na África do Sul, a ingestão da planta *Tachyandra divaricata* é descrita como causa de morte em bovinos, com acúmulo de pigmento intraneuronal semelhante (KELLERMAN et al., 2007). Em experimentos realizados com *Phalaris angusta*, dois bovinos comeram avidamente a planta e manifestaram sinais clínicos acentuados a partir do terceiro dia da ingestão. Um bovino, que ingeriu a planta lentamente, teve leves alterações clínicas a partir do sétimo dia da ingestão e quatro deles manifestaram alterações clínicas a partir do 10º e 15º dia, do início da ingestão, que se agravaram progressivamente (GAVA et al., 1999).

### **2.3.2 Neurolipidose causada pela ingestão de *Solanum* spp.**

*Solanum* spp. é uma solanácea conhecida popularmente como “jurubeba” ou “velame”. É um arbusto de até 1 m de altura, possui flores brancas ou azuis-claras e frutos globosos. Sua ocorrência abrange a África do Sul, Estados Unidos, Uruguai e é nativo da região sul do Brasil. As espécies incriminadas como causa de morte em bovinos são *S. kwebense*, *S. dimidiatum* e *S. fastigiatum* (ZAMBRANO et al., 1985; SUMMERS et al., 1994; KISSMANN; GROTH, 1997; KELLERMANN et al., 2007). No Brasil, é encontrado o *S. fastigiatum* var. *fastigiatum* que é tida como invasora de pastagens, de áreas sem cultura e de lavouras anuais (ZAMBRANO et al., 1985; KISSMANN; GROTH, 1997; TOKARNIA et al., 2000).

A intoxicação por essa planta é descrita apenas em bovinos com idade acima de 8 meses no Rio Grande do Sul. A morbidade varia de 1 a 20%, com baixa letalidade. A intoxicação não foi diagnosticada em ovinos, mas experimentalmente essa espécie é

susceptível (ZAMBRANO et al., 1985). Na Austrália, um quadro de mielopatia espinhal em ovinos é associado à ingestão de *Solanum esuriale* (SUMMERS et al., 1994).

O princípio tóxico contido nas espécies de *Solanum* spp. causadoras de intoxicação ainda é desconhecido, mas é provável que ele possa induzir a formação de depósitos lisossomais de lipídeos (BARROS et al., 1987; RIET-CORREA et al., 1983). O padrão de reação de lectina-hitoquímica indica armazenamento de material glicolípídico no cerebelo dos bovinos afetados (PAULOVICHE et al., 2002). Para que a doença ocorra é necessária a ingestão de grandes quantidades durante longos períodos (RIET-CORREA et al., 1983).

São descritos dezenove casos de intoxicação por *Solanum fastigiatum* em bovinos de três municípios do Rio Grande do Sul no período de 2003-2005 (RECH et al., 2006). Os coeficientes de morbidade e mortalidade foram respectivamente de 6,7% e 3,4%. Os bovinos afetados tinham idade média de cinco anos (2-8 anos) e a evolução clínica variou de 3-18 meses. Os sinais clínicos observados em todos os bovinos foram de disfunções cerebelares caracterizadas por hipermetria, incoordenação, quedas, tremores musculares, convulsões esporádicas e permanência em estação com os membros em base ampla (RIET-CORREA et al., 1983; BARROS et al., 1987; SUMMERS et al., 1994).

Em um bovino foi observada atrofia macroscópica do cerebelo. As lesões histológicas limitavam-se ao cerebelo e consistiam de vacuolização parcial ou total do pericário dos neurônios de Purkinje e esferóides axonais (BARROS et al., 2006; RECH et al., 2006). Nos casos avançados, havia acentuada perda dos neurônios de Purkinje e proliferação dos astrócitos de Bergmann. O estudo morfométrico do número de neurônios de Purkinje e da espessura da camada molecular revelou um decréscimo no número de células de Purkinje, que se correlacionou com conseqüente diminuição da espessura da camada molecular (RECH et al., 2006). Pela avaliação ultraestrutural, os neurônios de Purkinje apresentam corpos membranáceos e corpos lamelares intracitoplasmáticos (BARROS et al., 1987; SUMMERS et al., 1994).

Através dos estudos experimentais concluiu-se que as alterações microscópicas podem ser detectáveis através da microscopia óptica a partir de 15 a 24 dias de ingestão, com doses de *S. fastigiatum* entre 75 e 117 g/kg de peso corpóreo (ZAMBRANO et al., 1985).

### **2.3.3 Plantas que causam $\alpha$ -manosidose**

#### **2.3.3.1 Plantas exóticas que causam $\alpha$ -manosidose**

##### **Intoxicação por *Astragalus* spp., *Oxytropis* spp. e *Swainsona* spp. (“Locoweed”)**

O termo “Locoweed” é um nome comum na América do Norte para qualquer planta que produz swainsonina, uma fitotoxina que causa DALA de glicoproteínas em ruminantes e equinos. Mundialmente, a swainsonina é produzida por um pequeno número de espécies, a maioria em três gêneros da família Fabaceae: *Oxytropis* e *Astragalus* na América do Norte (RALPHS; JAMES, 1999) e *Swainsona* na Austrália (DORLING et al., 1980). Plantas desses gêneros são pouco palatáveis, mas alguns animais podem desenvolver o hábito de ingeri-la. Sua ingestão ocorre principalmente pela falta de alimento e uma vez iniciado o consumo, os animais parecem desenvolver gosto pela planta (GUPTA, 2007). A intoxicação pela ingestão crônica de grandes quantidades de swainsonina leva ao desenvolvimento de um distúrbio neurológico conhecido como “locoism”. Essa doença é relatada com maior frequência em bovinos, ovinos e equinos, mas também tem sido relatada em alces e cervos (ADCOCK; KEISS, 1969; WOLFE; LANCE, 1984; STEGELMEIER et al., 2005).

A maioria das 2.000 espécies de *Astragalus* identificadas, incluindo muitas que são comumente conhecidas como locoweed, não produzem swainsonina. Algumas espécies, incluindo algumas que produzem swainsonina, podem acumular selênio. Isto levou a uma confusão entre intoxicação pela swainsonina e envenenamento por selênio (GUPTA, 2007).

Diversas espécies de *Astragalus* e *Oxytropis* (e outras variedades dentro dessas espécies) causam distúrbios neurológicos em ruminantes e equinos nos Estados Unidos, especialmente nas Montanhas Rochosas do Texas até a Califórnia, onde são encontradas em maior quantidade e causam maior mortalidade, tanto de bovinos como de ovinos (SUMMERS et al., 1994; MAXIE; YOUSSEF, 2007). Mais de 500 espécies e variedades de *Astragalus* e *Oxytropis* já foram identificadas na América do Norte (WELSH et al., 2003). Cerca de 20 espécies tóxicas são conhecidas como locoweed. Muitas espécies dessas plantas são endêmicas e restritas a um nicho ou habitat. Há exemplos de uma série de *Astragalus* spp., tal como *A. arietinum*, que são bons volumosos e contém baixos níveis de toxinas (GUPTA, 2007).

Algumas espécies de *Oxytropis* obedecem a ciclos, ou seja, em tempos chuvosos a população se multiplica causando intoxicação em animais, porém, na seca desaparecem quase que completamente. Já outras espécies são relativamente estáveis e podem causar problemas de intoxicação durante todo o ano (GUPTA, 2007). O conhecimento da distribuição geográfica dessa plantas e as condições ambientais em que elas grassam são fundamentais para que se possa evitar a intoxicação dos animais. Muitas são as primeiras plantas a brotar na primavera e a morrer no outono (RALPHS; JAMES, 1999; GUPTA, 2007). Uma boa gestão de estratégias de intervalos de pastejo pode fornecer forragem adequada para os animais e impedir que eles apresentem a intoxicação (SUMMERS et al., 1994; GUPTA, 2007).

*Swainsona* é um grande gênero de plantas nativas da Austrália. Existem 85 espécies, todas são endêmicas na Austrália, com a exceção, *S. novae zelandiae*, que ocorre apenas na Nova Zelândia. Apenas algumas espécies são conhecidas por produzirem swainsonina e consequente intoxicação em animais. Na Austrália, os primeiros casos da intoxicação foram observados em ovinos do leste do país (LOCKE et al., 1980; MAXIE; YOUSSEF, 2007).

Há sete espécies de *Swainsona* que causam intoxicação esporádica em animais em todos os estados australianos. A planta, em geral tem cerca de 30 cm de altura com vários folhetos peludos, flores roxas e vagens de 10 cm. Tende a crescer a partir de agosto-outubro em áreas de areia, onde as inundações sazonais ocorrem, principalmente após as chuvas de inverno. Casos da doença ocorrem na região central da Austrália, causada por *Swainsona canescens*, também em bovinos e equinos (LOCKE et al., 1980).

O princípio tóxico das dessas plantas é a swainsonina, um potente inibidor da  $\alpha$ -manosidase lisossomal e da manosidase II do aparelho de Golgi (HARAGUCHI et al., 2003). A inibição dessa enzima lisossomal leva ao acúmulo intralisossomal de oligossacarídeos incompletamente processados (JAMES; PANTER, 1989).

Os sinais clínicos em bovinos, ovinos e equinos, quando esses pastejam durante várias semanas em campos com locoweed (14-60 dias), caracterizam-se por má condição corporal, indiferença ao meio, depressão, pressão da cabeça contra objetos, incoordenação, andar em círculo, cegueira, decúbito, movimento de pedalagem e morte. A doença pode se tornar evidente dentro de 2-6 semanas e progredir para uma doença crônica fatal após oito semanas. A doença é semelhante à  $\alpha$ -manosidose hereditária (SUMMERS et al., 1994; MAXIE; YOUSSEF, 2007). Geralmente, após cerca de quatro semanas de ingestão, os sinais clínicos da intoxicação ainda podem ser revertidos, se o acesso à planta for restringido. Infertilidade, abortos e nascimento de animais fracos já foram descritos (PANTER et al., 1987).

Macroscopicamente, não são observadas lesões específicas significativas da condição (JOLLY; WALKLEY, 1997). Histologicamente, as principais lesões são observadas no SNC. Os corpos neuronais estão tumefeitos, muitas vezes o núcleo está deslocado para a periferia.

Isso ocorre pela vacuolização fina no citoplasma dessas células, decorrente do acúmulo lisossomal de glicoproteínas no interior dos lisossomos. A vacuolização pode regredir tão logo a ingestão seja interrompida, mas se a vacuolização for grave a ponto de destruir as células, o dano cerebral será irreversível e permanente (JOLLY; WALKLEY, 1997; STEGELMEIER et al., 1999; MAXIE; YOUSSEF, 2007). Após algum tempo as lesões progridem para degeneração axonal distal e necrose neuronal com mineralização. O dano pode ocorrer também em astrócitos e macrófagos recrutados do sangue para fagocitar debrís e manose em áreas acometidas. A mesma vacuolização pode ocorrer em hepatócitos, células do pâncreas exócrino, epitélio tubular renal e em órgãos endócrinos como tireoides, paratireoides e adrenais. Leucócitos circulantes e órgãos linfoides podem apresentar vacuolização citoplasmática (SUMMERS et al., 1994; MAXIE; YOUSSEF, 2007; ZACHARY, 2007).

Em **casos experimentais**, ovinos, bovinos e equinos desenvolveram alterações semelhantes ao envenenamento locoweed. Embora pouco se saiba sobre a dose mínima que afeta equinos, com doses de swainsonina acima de 0,2 mg/kg/dia, ovinos e bovinos desenvolveram sinais clínicos após 10-12 dias (STEGELMEIER et al., 1999).

O diagnóstico geralmente é baseado no histórico de pastejo em campos que contêm locoweed, nos sinais clínicos e nas análises laboratoriais de amostras de sangue e tecidos. As amostras de tecido devem incluir rim, fígado, pâncreas, linfonodos e, o mais importante, SNC em formol e glutaraldeído. A aversão alimentar condicionada é uma forma eficaz para evitar que os animais comam essas plantas, e pode ser uma estratégia econômica, onde as perdas são grandes e persistentes.

Intoxicações espontâneas por plantas são raras em animais silvestres, os poucos surtos tem sido descritos em animais em cativeiro (ADCOCK; KEISS, 1969; WOLFE; LANCE, 1984; STEGELMEIER et al., 2005). Nos Estados Unidos foram descritos casos da doença do armazenamento lisossomal pela ingestão de plantas dos gêneros *Astralagus* spp. e *Oxytropis* spp. em cervos-vermelhos (*Cervus canadensis*) de vida livre (ADCOCK; KEISS, 1969; WOLFE; LANCE, 1984). Esses animais apresentaram alterações clinicopatológicas semelhantes às demais espécies domésticas, demonstrando variações consideráveis quanto à resistência ao princípio tóxico e com diferenças quanto à intensidade e localização das lesões (STEGELMEIER et al., 2005).

Cervos e roedores são relativamente resistentes ao desenvolvimento de sinais clínicos na intoxicação por locoweed. Altas doses de swainsonina (> 8 mg/kg/dia), por de cerca de 30 dias são necessárias para camundongos, ratos e hamsters desenvolverem tremores de intenção leves, e déficit proprioceptivo. Doses iguais ou superiores a 2mg/kg em ratos e hamsters causa ganho de peso menor que nos controles. Da mesma forma, cervos não desenvolvem muitos dos sinais neurológicos que são comuns em animais domésticos (STEGELMEIER et al., 1995, 1999).

Em **casos experimentais** da intoxicação crônica em cervos (*Odocoileus hemionus*) por ingestão de *Oxytropis sericea*, os animais foram alimentados com ração contendo 15% da planta (1,5 mg/kg/dia de swainsonina). Os sinais clínicos incluíram perda de peso, relutância em se movimentar e tremores de intenção sutis. As lesões vacuolares citoplasmáticas ocorreram em variados tecidos, os quais foram mais acentuados no pâncreas exócrino. O epitélio folicular da tireóide, o epitélio tubular renal, e os macrófagos em muitos tecidos eram pouco vacuolizados. No SNC a tumefação neuronal também foi leve, mas mais evidente nas células de Purkinje. A tumefação axonal foi grave no pedúnculo cerebelar e fascículo grácil e cuneiforme (STEGELMEIER et al., 2005).

Ultraestruturalmente são observados vacúolos intracitoplasmáticos associados a membranas, com corpos residuais densos, mielinizados, fragmentos de estruturas membranosas e granulares, assim como corpos residuais em axônios (JOLLY; WALKLEY, 1997; SUMMERS et al., 1994).

### 2.3.3.2 Plantas brasileiras que causam $\alpha$ -manosidose

#### Intoxicação por *Ipomoea* spp.

*Ipomoea* é o maior gênero botânico da família *Convolvulaceae* com mais de 500 espécies. As espécies de *Ipomoea* são pequenas árvores, lianas, plantas arbustivas ou herbáceas, anuais ou perenes, que ocorrem em regiões tropicais e sub-tropicais (LORENZI, 2000).

No Brasil, são descritas três espécies de *Ipomoea* spp. como causa de  $\alpha$ -manosidose em caprinos, ovinos e bovinos; são elas *I. carnea* subsp. *fistulosa*, *I. sericophylla* e *I. riedelii* (TOKARNIA et al., 1960; TOKARNIA et al., 2000; BARBOSA et al., 2006; RIET-CORREA et al., 2007; ARMIÉN et al., 2010). No pantanal, *I. carnea* é conhecida como “algodão-do-Pantanal”, “algodão-bravo” ou “algodoeiro” (FREY, 1995; ANTONIASSI et al., 2007). É denominada também “canudo” ou “capa-bode” na região Nordeste (TOKARNIA et al., 2000). Esta planta é resistente à seca e se propaga rapidamente nos campos inundáveis, competindo com as forrageiras nativas, usadas para alimentação dos rebanhos (HAASE, 1999). No Brasil, *I. carnea* ocorre em grandes quantidades nas regiões Nordeste, Central (Pantanal matogrossense), e Norte (Amazônia). Seu habitat são locais alagados, temporariamente inundados, nas margens de rios e lagoas, onde formam agrupamentos densos (TOKARNIA et al., 2000; ANTONIASSI et al., 2007).

*Ipomoea carnea* subsp. *fistulosa*, *Ipomoea sericophylla*, *Ipomoea riedelii* (BARBOSA et al. 2006), são plantas descritas no Brasil como causa de doenças de depósito lisossomal em ruminantes. Essas doenças são caracterizadas pelo depósito de substratos em lisossomos devido a alterações de atividade de hidrolases ácidas (JOLLY; WALKLEY, 1997), resultando no acúmulo de polissacarídeos não degradados intralisossomais (ARMIÉN et al., 2007, 2010). As substâncias tóxicas contidas nessas espécies, e envolvidas na patogênese, incluem swainsonina, 2-epi-lentiginosina, calisteginas e N-metil-trans-4-hidroxi-1-prolina. A quantidade de swainsonina nas sementes é aproximadamente 10 vezes maior que nas folhas (HARAGUCHI et al., 2003). As swainsoninas inibem as manosidases lisossomais e as calisteginas inibem as glicosidases, causando acúmulo de oligossacarídeos no citoplasma das células. A inibição da  $\alpha$ -manosidase II do complexo de Golgi pela swainsonina culmina com a síntese de oligossacarídeos híbridos (STEGELMEIER et al., 1999).

Recentemente, swainsonina e também os alcaloides nortropânicos, calisteginas B1, B2, B3, e C1 foram isolados de *I. carnea* (HARAGUCHI et al., 2003). In vitro, calistegina B1 e B2 têm potente atividade inibitória sobre  $\beta$ -glucosidase e  $\alpha$ -galactosidase lisossomal e  $\beta$ -galactosidase. A calistegina C1 apresenta potente atividade inibitória para  $\beta$ -glucosidase lisossomal, enquanto a calistegina B3 é um inibidor moderado de  $\alpha$ -manosidase e  $\beta$ -manosidase (HARAGUCHI et al., 2003).

Para que ocorra a intoxicação os animais precisam ingerir as partes aéreas da planta em grande quantidade e durante semanas (ARMIÉN, 2000). A intoxicação espontânea por *I. carnea* tem sido relatada em caprinos do Sudão, Índia e Moçambique (ARMIÉN et al., 2007, 2010). No Brasil, *I. carnea* possui maior importância como planta tóxica na região Nordeste, sobretudo no vale do Rio São Francisco e no sul do Piauí, onde a planta permanece verde durante todo o período de estiagem (TOKARNIA et al., 2000; RIET-CORREA et al., 2007). A intoxicação por *I. carnea* ocorre em condições de fome, quando os animais ingerem a planta em períodos de escassez de pastagem, alimentando-se quase que exclusivamente da planta durante semanas (TOKARNIA et al., 1960, 2000). No Pantanal Matogrossense, local em que a planta é abundante, foram documentados casos de intoxicação por *I. carnea* subsp. *fistulosa* (TOKARNIA et al., 1960, 2000; ANTONIASSI et al., 2007).

Os principais sinais clínicos são de origem neurológica, observando-se incoordenação com dismetria e instabilidade principalmente no trem posterior (TOKARNIA et al., 1960, 2000; DAMIR et al., 1987). Estes sinais são precipitados e evidenciados quando os animais estão sob condição de estresse. Também se pode observar emagrecimento progressivo, lassidão e pelos ásperos (TOKARNIA et al., 1960, 2000; ANTONIASSI et al., 2007; ARMIÉN et al., 2007).

Na necropsia não são observadas alterações significativas e histologicamente pode-se visualizar tumefação e fina vacuolização de neurônios em diversas áreas do sistema nervoso central, ocasionalmente de células da glia, e formações de esferóides axonais. Vacuolização citoplasmática também ocorre em hepatócitos, células acinares do pâncreas e macrófagos do baço e gânglios linfáticos (BALOGH et al. 1999; ANTONIASSI et al., 2007; ARMIÉN et al., 2010). Em bovinos intoxicados por *I. carnea* no Pantanal, observaram-se em diversas áreas, neurônios com citoplasma espumoso, principalmente em neurônios da medula oblonga, mesencéfalo e tálamo. Moderada e difusa vacuolização foi observada em neurônios do gânglio trigêmeo. Alterações menos evidentes foram observadas em neurônios de Purkinje, do córtex cerebral e da medula espinhal. Havia também variável vacuolização em hepatócitos, células acinares pancreáticas, células foliculares da tireóide e células tubulares renais (ANTONIASSI et al., 2007).

Em caprinos e ovinos intoxicados experimentalmente, a avaliação lectino-histoquímica demonstrou o citoplasma das células de Purkinje e de várias células do cerebelo marcadas fortemente por Con A, WGA, e sWGA. As lectinas permitem a demonstração do material armazenado em várias células que pareciam normais com a hematoxilina e eosina (BARBOSA et al., 2006; ARMIÉN et al., 2007, 2010).

Ultraestruturalmente, a vacuolização citoplasmática é evidente em neurônios, células gliais acinares pancreáticas, células endoteliais, fibroblastos e histiócitos. Os vacúolos eram revestidos por uma vasta gama de membranas de camada única, característica de uma membrana lisossômica. A maioria dos vacúolos era opticamente vazio. No entanto, em cada vacúolo havia fragmentos de membrana, vesículas, corpos densos, reticulares ou granulados, substâncias amorfas ou material opaco. Células pancreáticas endócrinas e exócrinas tinham um número reduzido de grânulos secretores maduros. No SNC havia vacuolização neuronal, substância de Nissl dispersa, degeneração axonal, vacuolização e edema de astrócitos, e vacuolização de oligodendrócitos, células endoteliais e células perivasculares. Esferóides axonais foram caracterizados por expansão segmentar (RIET-CORREA et al., 2007; ARMIÉN et al., 2007).

**Estudos experimentais** com *I. sericophylla* em caprinos, realizados na década de 70 demonstraram que a dose diária de aproximadamente 2,2kg, durante 8 dias foi suficiente para causar a morte dos animais (TOKARNIA et al., 1960). Em experimentos com *I. sericophylla* e *I. riedelii* em caprinos foram descritas que as doses mínimas totais de 97 e 109,2 g/kg dessas plantas, durante 36 e 39 dias de ingestão, respectivamente, são capazes de induzir quadro clinicopatológico semelhante da intoxicação natural (BARBOSA et al., 2006). Caprinos intoxicados experimentalmente por *I. carnea* desenvolveram quadro neurológico acentuado da intoxicação após a ingestão de doses diárias de 23,8 g/kg por dia, durante 64 dias. Os primeiros sinais foram observados a partir do 38º dia de ingestão (ARMIÉN et al., 2007). Em experimentos recentes em ovinos com *I. carnea*, a doença foi reproduzida com doses diárias que variaram entre 10,5 e 135,2 g/kg/dia durante 40 a 133 dias de ingestão (ARMIÉN et al., 2010).

## Intoxicação por *Turbina cordata*

O gênero *Turbina* pertence à família Convolvulaceae que é representada por 14 espécies, distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais por todo o mundo. *Turbina cordata*, planta que ocorre no semi-árido brasileiro, é conhecida popularmente como "capoteira", "Batata-de-peba" ou "Moita-de-calango" (KIILL; RANGA, 2004; DANTAS et al., 2007; RIET-CORREA et al., 2007). É uma planta trepadeira perene, com padrão de floração em cornucópia, que invade áreas de caatinga (vegetação típica do Nordeste semi-árido região). A planta começa a germinar no final da estação seca, entre setembro e outubro, a floração ocorre em março-abril, e a frutificação em maio-junho, no final da estação chuvosa (KIILL; RANGA, 2004).

Casos da intoxicação por *T. cordata* são relatados em caprinos e equinos em uma grande área dos municípios de Juazeiro, Casa Nova, Curaça e Petrolina nos estados da Bahia e Pernambuco, no nordeste brasileiro (DANTAS et al., 2007; PIMENTEL et al., 2009; ASSIS et al., 2010). O principal fator que induz os animais a comerem *T. cordata* é o fato de ser uma das poucas plantas que apresenta brotos verdes no final da estação seca. Em dezembro de 2006, no município de Juazeiro, Bahia, ocorreram dois surtos de intoxicação por *T. cordata* em caprinos (DANTAS et al., 2007) e um em equinos (PIMENTEL et al., 2009). A intoxicação em bovinos também é relatada na região, mas com menos frequência que nos caprinos, e ovinos não parecem ser afetados (DANTAS et al., 2007). A ocorrência da doença nos caprinos foi mais acentuada em uma área de aproximadamente 1.000 km<sup>2</sup> do município de Juazeiro, onde muitos agricultores abandonaram a criação de cabras devido às grandes perdas decorrentes da intoxicação (DANTAS et al., 2007). São acometidos principalmente caprinos jovens, entre setembro e abril e após o início da ingestão os caprinos podem apresentar gosto pela planta ("vício"). Seu princípio tóxico é o alcaloide indolizidínico swainsonina (DANTAS et al., 2007).

Os sinais clínicos nos caprinos incluem pelos arrepiados, depressão, perda de peso dificuldades na subida, ataxia, hipermetria, posição de cavalete, marcha lateral, tremores de intenção, paresia espástica ou fraqueza muscular (principalmente nos membros posteriores), postura anormal, nistagmo, inclinação da cabeça, tônus de lábios e língua deprimido e, ocasionalmente, outros sinais de comprometimento de nervos cranianos, relutância em caminhar, emagrecimento e morte. Os sinais neurológicos exacerbavam-se quando as cabras eram perturbadas (DANTAS et al., 2007). A intoxicação também é descrita em dois animais equinos que apresentaram sinais nervosos que incluíam tremores, ataxia severa, posição de cavalete, alteração de comportamento e emagrecimento há aproximadamente 32 meses. Quando puxado pelo cabresto apresentavam relutância em caminhar, com saltos e quedas (PIMENTEL et al., 2009).

Na necropsia não foram observadas lesões significativas. O exame histológico em ambas as espécies incluem vacuolização no pericário de neurônios de Purkinje, em neurônios do cerebelo e dos núcleos do tronco cerebral, bem como em células acinares pancreáticas, células epiteliais do rim e células epiteliais foliculares da glândula tireóide, além de poucos esferóides axonais. Ultraestruturalmente, as células de Purkinje apresentavam lisossomos dilatados, vazios ou com fragmentos de membrana, ou pequenas quantidades de grânulos, bem como corpos lamelares conspícuos no pericário e em dendritos de células de Purkinje (DANTAS et al., 2007; PIMENTEL et al., 2009; ASSIS et al., 2010).

**Experimentalmente**, o quadro clinicopatológico da intoxicação em caprinos foi reproduzido. Dois caprinos foram intoxicados pela administração de *T. cordata*. O primeiro desenvolveu os primeiros sinais clínicos após 28 dias do início do experimento, após ingerir 62 g/kg da planta seca. Os sinais clínicos se acentuaram e o animal foi eutanasiado no 38º dia do experimento, após ingerir, no total, 92 g/kg da planta. O segundo caprino apresentou as

primeiras alterações neurológicas no 54º dia do experimento (106 g/kg da planta), com agravamento dos sinais clínicos no dia 94 após ingestão total de 226 g/kg (316,4 mg/kg de swainsonina) (DANTAS et al., 2007).

## **Intoxicação por *Sida carpinifolia***

### **Características da planta**

O gênero *Sida* abrange mais de 170 espécies no mundo, ocorrendo ampla e intensamente em regiões subtropicais e temperadas das Américas, África, Ásia e Austrália. São plantas daninhas da família Malvaceae, comumente observada em locais úmidos e sombreados em todas as regiões do Brasil (KISSMANN; GROTH, 1997; DRIEMEIER et al., 2000; FURLAN et al., 2009). No Brasil, as diversas espécies de *Sida* são conhecidas pelo mesmo nome de “guanxuma” (KISSMANN; GROTH, 1997).

Possivelmente, *Sida carpinifolia* seja a espécie de *Sida* mais importantes no Brasil. Alguns autores a classificam como *Sida acuta* var. *carpinifolia* (KISSMANN; GROTH, 1997). Trataremos aqui, como *Sida carpinifolia*. Popularmente, a planta é conhecida no Brasil como guanxuma, vassourinha, tupitixá, vassoura-tupitixá ou tupixá, e relógio, sendo mais comuns os nomes guanxuma e vassourinha (KISSMANN; GROTH, 1997). A planta é ereta ou decumbente e sua altura depende das condições ambientais, é perene e se reproduz através de sementes. Pode ocorrer nem variados tipos de solo, mas seu crescimento é afetado pela fertilidade e aceita condições de iluminação difusa. As sementes têm condições de germinar logo após a maturação e podem passar incólume pelo trato digestivo dos animais. O florescimento se dá no verão e a frutificação até o outono (KISSMANN; GROTH, 1997).

O caule de *Sida carpinifolia* é ereto ou decumbente, muito fibroso, cilíndrico e sua altura depende das condições ambientais, mas em geral varia entre 30 e 120 cm. Além disso, é pouco angulado nas partes novas, ramificado desde a base com ramos alternado e num mesmo plano. (KISSMANN; GROTH, 1997). Apresenta folhas simples em forma de losango, ou oval-lanceoladas, com bordos serrilhados. Seus ramos vão lignificando com o tempo, motivo pelo qual também é considerada um subarbusto. As flores são amarelas, com cinco pétalas, com o centro avermelhado às vezes, isoladas ou em pequenos grupos curtamente penduladas nas axilas foliares (KISSMANN; GROTH, 1997; LORENZI, 2000). Algumas espécies são utilizadas na fitoterapia popular. É bastante popular e sua utilização para a confecção de vassouras artesanais é bastante difundida. A planta é muito rústica e se desenvolve sob sol pleno ou meia-sombra, adaptando-se a solos pobres ou férteis. É uma planta originária de trópicos e subtropicais e, portanto não é tolerante ao frio excessivo (KISSMANN; GROTH, 1997; LORENZI, 2000).

A planta é nativa no Brasil e ocorre em quase todo o território, com restrições às regiões norte e nordeste (KISSMANN; GROTH, 1997). A espécie *Sida carpinifolia* é tóxica quando ingerida, e responsável por intoxicações naturais em herbívoros, provocando alterações neurológicas (DRIEMEIER et al., 2000; RIET-CORREA et al., 2007).

### **Espécies animais sensíveis e dados epidemiológicos**

**Herbívoros domésticos.** A intoxicação espontânea por *S. carpinifolia* tem sido descrita nos Estados do Rio de Janeiro, São Paulo, Santa Catarina e Rio Grande do Sul em caprinos (DRIEMEIER et al., 2000; COLODEL et al., 2002a; GODOY et al., 2005), equinos (LORETTI et al., 2003), ovinos (SEITZ et al., 2005) e bovinos (FURLAN et al., 2008, 2009). As condições em que ocorre a intoxicação são semelhantes ao descrito na maioria das plantas tóxicas para animais de produção. A fome é a causa principal. Os animais a ingerem nas épocas de escassez de forragem. Outro fator que leva a ingestão da planta é a escassez de

volumoso verde e alimentação deficiente em fibra (TOKARNIA et al., 2000; RIET-CORREA et al., 2007). Semelhante ao que ocorre em outras plantas que causam armazenamento de oligossacarídeos, após iniciada a ingestão de *S. carpinifolia* os animais desenvolvem gosto (“vício”) em ingeri-la. Isso pode ocorrer mesmo quando há abundância de forragem (TOKARNIA et al., 2000; RIET-CORREA et al., 2007; ARMIÉN et al., 2010).

**Herbívoros selvagens.** A intoxicação pela swainsonina é relativamente comum em bovinos, cavalos, ovelhas e cabras, e as perdas econômicas anuais nessas espécies foram estimadas em mais de 20 milhões dólares nos Estados Unidos. Menos conhecido é o efeito de intoxicação por swainsonina em animais selvagens (STEGELMEIER et al., 2005). Com relação à intoxicação por *S. carpinifolia* em herbívoros selvagens, só há referência a um caso, descrito recentemente em um gamo criado em cativeiro (*Dama dama*) no sul do Brasil (PEDROSO et al., 2009). A intoxicação tem sido relatada em alce (*Cervus elaphus nelsoni*), com relatos da intoxicação também em antílope (*Antilocapra americana*) (ADCOCK; KEISS, 1969; WOLFE; LANCE, 1984). Estudos experimentais recentes realizados nos Estados Unidos demonstraram a sensibilidade de cervos-mula (*Odocoileus homionus*) à ingestão de *Oxytropis sericea* (STEGELMEIER et al., 2005). No entanto, são descritas pequenas diferenças na sensibilidade entre as espécies domésticas e selvagens à intoxicação por swainsonina (STEGELMEIER et al., 2005).

### **Etiopatogênese**

Seu princípio tóxico é o alcalóide indolizidínico swainsonina. Foi identificado como o componente tóxico de *Sida carpinifolia* no Brasil por avaliação de amostras de planta através da análise por espectrometria de massa e cromatografia gasosa, na base da matéria seca, resultando em uma concentração de swainsonina de 0,006% (COLODEL et al., 2002b). Essa substância, assim como plantas dos gêneros *Swainsona*, *Astragalus*, *Oxytropis*, *Ipomoea* e *Turbina*, é responsável pela inibição de enzimas  $\alpha$ -manosidase lisossomais e citosólica que levam a síntese de oligossacarídeos anormais e culmina na distensão do lisossomos, dando à célula um aspecto tumefeito vacuolizado que finaliza com degeneração e morte celular (STEGELMEIER et al., 1999; DRIEMEIER et al., 2000). Swainsonina é ainda um potente inibidor da manosidase II do complexo de Golgi, também descrita em outras plantas que causam manosidose (DRIEMEIER et al., 2000; ARMIÉN et al., 2007, 2010). A inibição *in vitro* e *in vivo* de mannosidase II do complexo de Golgi por swainsonina resulta na síntese de oligossacarídeos híbridos (DORLING et al., 1980; TULSIANI et al., 1982; COLODEL et al., 2002b). É possível que a inibição dessas enzimas ocorra pela semelhança estrutural ao estado de transição para a hidrólise das ligações de manose nos oligossacarídeos (GUPTA, 2007). Dados sugerem que a síntese de glicoproteína alterada pode ser associada com disfunção endócrina, lesões cardiovasculares, insuficiência digestiva e alterações imunológicas (STEGELMEIER et al., 1999; ARMIÉN et al., 2007, 2010).

Estudos realizados no final da década de 1980 sugerem que os fungos *Rhizoctonia leguminicola* e *Metarhizium anisopliae* sejam também capazes de produzir swainsonina (HARRIS et al., 1988). No Brasil, com exceção de *S. carpinifolia*, apenas as plantas *I. carnea* sub. *fistulosa*, *I. sericophila*, *I. riedelli* e *Turbina* apresentam o alcaloide indolizidínico swainsonina como princípio tóxico (TOKARNIA et al., 2000; RIET-CORREA, 2007).

Foi demonstrado que em ovinos, após a ingestão da swainsonina, ocorre rápida absorção do princípio tóxico pelo trato gastrointestinal devido sua alta hidrossolubilidade, e pode facilmente ser identificada na maioria dos órgãos, mas principalmente no fígado e nos rins, onde sua concentração é de duas a quatro vezes mais elevada que nos demais órgãos (STEGELMEIER et al., 1999, 2005).

## Sinais clínicos

Os sinais clínicos que caracterizam a intoxicação por *S. carpinifolia* são semelhantes aos observados tanto em  $\alpha$ -manosidoses hereditárias como em adquiridas, causadas por plantas tóxicas (JOLLY; WALKLEY, 1997; DRIEMEIER et al., 2000; MAXIE; YOUSSEF, 2007). A doença é caracterizada por déficit motor e proprioceptivo, e emagrecimento. Os sinais neurológicos incluem incoordenação, dismetria, ataxia, hipermetria, hiperestesia, tremores musculares, quedas, depressão (DRIEMEIER et al., 2000; LORETTI et al., 2003; SEITZ et al., 2005; FURLAN et al., 2009).

A doença pode apresentar uma forma aguda caracterizada por uma rápida evolução dos sinais clínicos e morte em poucos dias ou a forma crônica com um curso clínico mais lento, com episódios de piora dos sinais neurológicos, interrompidos por melhora parcial, caso os animais sejam afastados e parem de ingerir a planta (DRIEMEIER et al., 2000; STEGELMEIER et al., 2005; RIET-CORREA et al., 2007). Histologicamente, as formas clínicas da intoxicação podem ser diferenciadas pelo tipo de lesão encontrada no encéfalo. O emagrecimento ou até mesmo a morte dos animais intoxicados por swainsonina pode ocorrer por alterações na glicosilação de glicoproteína, enzimas e hormônios, o que acarreta na redução da eficiência metabólica (PAN et al., 1993).

Em pequenos e grandes ruminantes, a doença pode ter um curso mais longo, e geralmente os animais morrem por complicações secundárias a acidentes, diferentemente dos equinos que desenvolvem a forma aguda da intoxicação (DRIEMEIER et al., 2000; COLODEL et al., 2002). Caprinos intoxicados naturalmente e experimentalmente por *S. carpinifolia* podem apresentar abortos. Em casos espontâneos da intoxicação em caprinos pode ser observada morte de animais recém nascidos (DRIEMEIER et al., 2000). A forma crônica da doença, caracterizada por tremores de cabeça e pescoço, olhar atento, andar cambaleante e subdesenvolvimento, ocorre em bovinos no Alto Vale do Itajaí, Santa Catarina, e é atribuída ao consumo de *Sida carpinifolia* (FURLAN et al., 2009).

Ovinos intoxicados experimentalmente por *S. carpinifolia* apresentaram a forma neurológica da doença após ingerirem doses de 11-30g/kg de peso corporal da planta seca, diariamente, com início dos sinais clínicos entre 18 e 100 dias do início da administração da planta (SEITZ et al., 2005). Já em experimentos com caprinos, o quadro neurológico foi reproduzido a partir da administração de doses diárias de 10g/kg da planta verde (sinais clínicos após 60 dias de administração) e 420g/kg de planta seca *ad libitum* (primeiros sinais clínicos após 35 dias de administração) (COLODEL et al., 2002a).

Bovinos apresentaram sinais clínicos leves após a ingestão de quantidades superiores a 10 g/kg, por um período de 120 dias. Quando ingerida em doses de 30 e 40g/kg por um período de 150 dias aparecem sinais nervosos moderados a severos (FURLAN et al., 2008). Em pôneis, o quadro clínico inclui andar rígido, tremores musculares generalizados, chutes no flanco, rolamento, quedas e gemidos, seguidos de decúbito e morte, após evolução clínica geralmente mais rápida que ruminantes (LORETTI et al., 2003).

Em experimentos com a administração de *Oxitropis sericea* (15% do total da ração) em quatro cervos-mula (*Odocoileus hemionus*), o quadro clínico foi semelhante aos descritos em outras espécies intoxicadas por swainsonina (STEGELMEIER et al., 2005). Não havia relatos da intoxicação experimental por *S. carpinifolia* em cervos.

## Achados macroscópicos

Não há alterações macroscópicas relevantes nos animais intoxicados por *S. carpinifolia* (DRIEMEIER et al., 2000; COLODEL et al., 2002a; LORETTI et al., 2003; SEITZ et al., 2005; RIET-CORREA et al., 2007; FURLAN et al., 2009). Em caprinos

intoxicados naturalmente, foram observados apenas emaciação e úlceras de decúbito (DRIEMEIER et al., 2000) e em equinos foi observada moderada distensão do ceco e cólon maior (LORETTI et al., 2003).

Em cervos são descritos apenas emagrecimento, lesões traumáticas secundárias, ocasionadas pela condição de déficit neurológico apresentado pelos animais (STEGELMEIER et al., 2005; PEDROSO et al., 2009).

### **Achados microscópicos**

A avaliação histológica dos casos espontâneos e experimentais, descritos nas várias espécies de herbívoros, revela principalmente tumefação/vacuolização de neurônios, além de células acinares do pâncreas e células foliculares da tireóide, semelhante às alterações por outras plantas que causam  $\alpha$ -manosidose (MAXIE; YOUSSEF, 2007; RIET-CORREA et al., 2007). Na microscopia óptica, as células lesionadas apresentam citoplasma finamente vacuolizado, o que confere um aspecto espumoso. Além disso, pode-se observar moderada degeneração axonal com formação de esferoides axonais, principalmente no tronco encefálico, perda de neurônios de Purkinje, e leve infiltrado inflamatório linfoplasmocitário perivascular (DRIEMEIER et al., 2000; FURLAN et al., 2009).

No SNC são afetados neurônios do cerebelo, especialmente células de Purkinje, cérebro, tronco encefálico e medula espinhal (DRIEMEIER et al., 2000; COLODEL et al., 2002a; LORETTI et al., 2003b; FURLAN et al., 2009). Nos equinos pode ser observada lesão em neurônios dos ganglios trigêmios, gânglio celíaco, plexo submucoso e mioentérico dos intestinos (LORETTI et al., 2003b).

Em um gamo (*Dama dama*) intoxicado por *S. carpinifolia*, a tumefação celular também ocorreu em vários tecidos, mas especialmente nas células de Purkinje, rins e pâncreas. No entanto os esferóides axonais foram escassos na camada granular do cerebelo (PEDROSO et al., 2009). Stegelmeier et al. (2005) relatam que em cervos-mula (*Odocoileus hemionus*) intoxicados experimentalmente por *Oxytropis sericea* não haviam lesões tão acentuadas quanto as das demais espécies.

### **Avaliação Lectino-histoquímica**

Lectinas são proteínas e glicoproteínas de origem não-imunológica, que possuem a capacidade de se ligar a açúcares específicos e permitem a identificação de resíduos de carboidratos nas glicoproteínas ou oligossacarídeos nas seções histológicas (ALROY et al., 2000; GOLDSTEIN et al., 1980). A marcação acentuada para sWGA, WGA indica a expressão da BDN-acetil-glucosaminase e ácido acetilneuramínico, e Con-A, específica para  $\alpha$ -D-mannose e  $\alpha$ -D-glucose (GOLDSTEIN et al., 1980). A fraca reação parcial pode ser observada em células de Purkinje para UEA-I, PNA, RCA-I, SBA e DBA em animais controle, sendo inespecíficos para essa condição (GOLDSTEIN et al., 1980).

### **Microscopia eletrônica de transmissão**

Em casos de intoxicação tanto natural como experimental em herbívoros domésticos por *S. carpinifolia*, as alterações ultraestruturais no SNC podem ser caracterizadas por vacúolos ligados à membrana, especialmente em neurônios de Purkinje e pequenos neurônios do córtex cerebral. Além disso, está presente degeneração axonal (esferoides axonais), com preenchimento por corpos densos e corpos túbulo-vesiculares. Material granulado e figuras de mielina também podem ser observados em células acinares do pâncreas, células foliculares tireoideanas (DRIEMEIER et al., 2000; COLODEL et al., 2002a; LORETTI et al., 2003;

FURLAN et al., 2009). Não havia relato de avaliação ultraestrutural de intoxicação por *S. carpinifolia* em herbívoros selvagens.

### **Diagnóstico diferencial**

Os dados epidemiológicos clínicos e patológicos são fundamentais para o diagnóstico dessa enfermidade (TOKARNIA et al., 2000; RIET-CORREA et al., 2007). O diagnóstico pode ser realizado através de análises dos oligossacarídeos presentes na urina, pelo método de cromatografia de camada fina ou pela cromatografia líquida de alta eficiência (BEDIN et al., 2009).

Outras enfermidades, como intoxicações por *Aspergillus clavatus* (LORETTI et al., 2003b), *Ipomoea asarifolia* (TOKARNIA et al., 2000), *Phalaris angusta* (GAVA et al. 1999; SOUSA; IRIGOYEN, 1999), *Claviceps paspali* (RIET-CORREA et al., 2007, TOKARNIA et al., 2000; BARROS et al., 2006), *Hallimium brasiliensis* (RIET-CORREA et al., 2009), devem ser levadas em consideração no diagnóstico diferencial, assim como as demais plantas que causam doença do armazenamento lisossomal de oligossacarídeos (TOKARNIA et al., 2000; RIET-CORREA et al., 2007). Doenças do armazenamento lisossomal hereditárias e doenças infecciosas como raiva e scrapie devem ser diferenciadas (SUMMERS et al., 1994; MAXIE; YOUSSEF, 2007).

A intoxicação por *Solanum fastigiatum* var. *fastigiatum* é a principal doença a ser considerada para o diagnóstico diferencial da intoxicação por *S. carpinifolia* no sul do Brasil (RECH et al., 2006). Os sinais clínicos e a lesão histológica são muito semelhantes às causadas pela intoxicação por *S. carpinifolia*, porém, clinicamente as crises epiléptiformes são comuns na intoxicação por *S. fastigiatum* (BARROS et al., 2006).

### **Tratamento e profilaxia**

O rebanho deve ser retirado imediatamente das pastagens invadidas pela *Sida carpinifolia*. O fornecimento de volumoso em quantidade adequada e dieta balanceada, rica em fibras aos animais são indispensáveis para evitar que a planta seja ingerida. A redução da planta nas pastagens pode ser realizada mecanicamente ou com o uso de herbicidas apropriados (RIET-CORREA et al., 2007; LORENZI, 2000). Não são descritos tratamentos específicos para essa condição.

**Tabela 1.** Plantas tóxicas de maior importância econômica que causam doença do armazenamento em animais

Planta	Plantas que causam Lipofuscinoze				Ultraestrutura
	Princípio tóxico	Espécies susceptíveis	Sinais clínicos	Achados de necropsia histopatológicos	
<i>Phalaris angusta</i>	Alcaloides derivados da triptamina e $\beta$ -carbolina	Bovinos e ovinos	Morte súbita, doença com sinais neurológicos transitórios ou manifestação neurológica crônica.	Coloração cinza-esverdeada de áreas do SNC.	Pigmento neuronal em lisossomos e mitocôndrias tumefeitos sob forma de corpos lamelares concêntricos, únicos ou múltiplos.
<b>Plantas que causam Neurolipidose</b>					
<i>Solanum spp.</i>	Desconhecido	Bovinos e ovinos	Disfunção cerebelar caracterizada por hipermetria, incoordenação, quedas, tremores musculares, convulsões e membros em base ampla.	Atrofia do cerebelo.	Neurônios de Purkinje com corpos membráceos e corpos lamelares intracitoplasmáticos
<b>Plantas que causam <math>\alpha</math>-Manosidose</b>					
<i>Astragalus spp.</i>	Swainsonina	Bovinos, ovinos e equinos.	Emagrecimento, depressão, pressão da cabeça contra objetos, incoordenação, andar em círculo, cegueira, decúbito, movimentos de pedagem.	Negativos	Vacíolos intracitoplasmáticos associados a membranas, corpos densos, mielinizados, fragmentos membranosos e corpos granulares, corpos residuais em axônios.

Tabela 1. Continuação

Planta	Princípio tóxico	Espécies susceptíveis	Sinais clínicos	Achados de necropsia	Achados histopatológicos	Ultraestrutura
<i>Oxytropis</i> spp.	Swainsonina	Bovinos, ovinos, cavalos, caprinos, cervos e alces.	Emagrecimento, depressão, pressão da cabeça contra objetos, incoordenação, andar em círculo, cegueira, decúbito, movimentos de pedalgem	Negativos	Tumefação/Vacuolização neuronal e células glandulares; degeneração axonal, esferóides axonais e necrose neuronal com mineralização	Vacúolos intracitoplasmáticos associados a membranas, corpos densos, mielinizados, fragmentos membranosos e granulares, corpos residuais em axônios.
<i>Swainsona</i> spp.	Swainsonina	Bovinos, ovinos e cavalos	Emagrecimento, depressão, pressão da cabeça contra objetos, incoordenação, andar em círculo, cegueira, decúbito, movimentos de pedalgem.	Negativos	Tumefação/Vacuolização neuronal e células glandulares; degeneração axonal, esferóides axonais e necrose neuronal com mineralização	Vacúolos intracitoplasmáticos associados a membranas, corpos densos, mielinizados, fragmentos membranosos e granulares, corpos residuais em axônios.
<i>Ipomoea carnea</i> subs. <i>fistulosa</i>	Swainsonina e calisteginas	Bovinos, ovinos, caprinos	Relutância em mover-se, decúbito esternal, decúbito lateral, opistótono, movimentos de pedalgem, mugidos e morte.	Negativos	Tumefação/Vacuolização neuronal e células glandulares; degeneração axonal, esferóides axonais e necrose neuronal com mineralização	Vacuolização neuronal, degeneração axonal, vacuolização e edema de astrócitos, e vacuolização de oligodendrócitos, e esferóides axonais

Tabela 1. Continuação

Planta	Princípio tóxico	Espécies susceptíveis	Sinais clínicos	Achados de necropsia	Achados histopatológicos	Ultraestrutura
<i>Turbina cordata</i>	Swainsonina	Caprinos, equinos e bovinos	Depressão, perda de peso, ataxia, hipermetria, tremores de intenção, paresia espástica, fraqueza muscular, nistagmo, inclinação da cabeça.	Negativos	Tumefação/Vacuolização no pericário de neurônios de Purkinje, neurônios do cerebelo e dos núcleos do tronco cerebral e esferóides axonais.	Lisossomos dilatados, corpos lamelares conspicuos no pericário e em dendritos de células de Purkinje
<i>Sida carpinifolia</i>	Swainsonina	Caprinos, ovinos, bovinos, equinos e cervos.	Incoordenação, dismetria ataxia, hipermetria, hiperestesia, tremores musculares, quedas, depressão, emagrecimento.	Negativos	Tumefação/Vacuolização de neurônios, além de células acinares do pâncreas e células foliculares da tireóide; esferóides axonais.	Vacuólos em neurônios de Purkinje e pequenos neurônios do córtex cerebral, degeneração axonal.

## 2.4 Aspectos gerais e biologia dos cervos Sambar (*Cervus unicolor*)

*Cervus unicolor* é um mamífero quadrúpede, biungulado, pertencente à Família Cervidae, Ordem Artiodactyla. São nativos do continente asiático e existem em países como Índia, Paquistão, Ceilão, Burma, Sirilanka, Filipinas, China, Taiwan, Malásia, Bornéu, Sumatra e Java (MEDWAY, 1983). Nas últimas cinco décadas os cervos Sambar foram introduzidos com grande sucesso em diversos países de todos os continentes. No Brasil podem-se observar grandes grupos desses cervídeos em zoológicos.

Esses cervos habitam principalmente encostas de morros arborizadas, possivelmente como reflexo de processos adaptativos à intensa degradação dos ambientes que residem; preferencialmente perto de áreas cultivadas, como jardins e plantações, a fim de adquirir o alimento, mas também são encontrados em florestas densas (PAYNE et al., 1985). Alguns destes cervos podem mover-se entre as altitudes mais elevadas no verão, e em áreas mais protegidas durante os meses de inverno (NOWAK, 1999).

Morfologicamente, esses cervídeos apresentam pele espessa e pelos curtos, castanho-escuro, com áreas ventrais mais claras (TATE, 1947). Os machos são geralmente maiores que as fêmeas, possuem chifres com três ou quatro dentes, e estes chifres caem periodicamente e são substituídos.

A reprodução ocorre uma vez por ano, mais comumente entre setembro e janeiro e não há estação de monta específica. Os machos Sambar são solitários e bastante agressivos durante a época de reprodução, enquanto as fêmeas podem ser encontradas em grupos de até oito indivíduos (NOWAK, 1999). São polígamos e geralmente apenas um filhote nasce por gestação.

Em média esses cervídeos podem viver 26 anos em vida livre e superar essa expectativa quando criados em cativeiros (NOWAK, 1999). Sua atividade é principalmente noturna descansando durante o dia à sombra de árvores (MEDWAY, 1983). Geralmente se alimentam ao entardecer ou à noite, e rondam por clareiras e bordas de matas comendo folhas, frutos, ervas, cascas de árvores jovens, e flores (PAYNE et al., 1985). Possivelmente desenvolveram um padrão de atividade noturna em resposta à caça extensiva por seres humanos (PAYNE et al., 1985).

No Brasil, cervos Sambar são encontrados em núcleos de apóio a animais selvagens e principalmente zoológicos e áreas de preservação da vida selvagem.

Espécies de cervídeos brasileiros vêm sendo estudadas, mas ainda pouco se conhece sobre eles. Atualmente oito espécies são reconhecidas: *Blastocerus dichotomus*, *Odocoileus virginianus*, *Ozotocerus bezoarticus*, *Mazama americana*, *M. bororo*, *M. gouazoubira*, *M. nana* e *M. nemorivaga* (DUARTE, 2006). Nas últimas décadas, devido ao declínio populacional da maioria dessas espécies, sua manipulação em cativeiros tornou-se essencial, tanto pela manutenção dos espécimes, quanto pela possibilidade de preservação de alelos do estoque genético original das populações naturais. Isso alerta para novos desafios que deverão ser enfrentados, no que se refere ao manejo e à sanidade desses animais. Essas dificuldades abrangem espécies nativas do Brasil e exóticas, a exemplo dos cervos Sambar.

A ambientação e a alimentação em cativeiro são pontos cruciais para a criação dessas espécies. Tanto os cervos Sambar como as espécies brasileiras se alimentam de folhas, frutos, brotos, necessitando de alimentos de alta qualidade, sendo assim dificilmente se adaptam a gramíneas (DUARTE, 2006). O baixo nível de fibra na alimentação poderá levar os animais a consumirem cascas de árvores e/ou outras fontes desse componente, levando a distúrbios digestivos. O volumoso da dieta desses

herbívoros deve conter vegetais frescos, uma vez que feno e silagem requerem um longo período de adaptação. Os principais volumosos utilizados são alfafa, soja perene, amoreira, leucena, galactia, amendoim forrageiro e rami. São utilizadas, também, plantas invasoras como caruru (*Amarantus spp*), trapueraba (*Commelina benghalensis*) e picão (*Bidens pillosa*) (DUARTE, 2006).

As condições de sombreamento e umidade desses piquetes são ideais para o desenvolvimento de uma variedade de plantas daninhas, como por exemplo, *Sida carpinifolia*, dentre outras que podem levar a quadros de intoxicação. Mundialmente, são raras as descrições de quadros clinicopatológicos causados por ingestão de plantas tóxicas em animais selvagens causando neuroniopatia, as quais devem ser diferenciadas de outras doenças do sistema nervoso central de cervídeos, principalmente raiva (STEIN et al., 2010), febre catarral maligna (DRIEMEIER et al., 2002), encefalopatia espongiiforme por infecção priônica (KEANE et al., 2008) e encefalite por vírus equino do leste (SCHMITT et al., 2007).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Animais do estudo e dados epidemiológicos

Entre abril e agosto de 2009 nove cervos Sambar jovens, de um rebanho com 55 animais (*Cervus unicolor*), entre jovens e adultos (Figura 3), criados na Fundação Jardim Zoológico – (RIOZOO), Rio de Janeiro, Brasil, apresentaram emagrecimento acentuado, distúrbios neurológicos graves e morte.

Em função do alto grau de consanguinidade do rebanho e pelo fato de apenas animais jovens terem sido afetados, a suspeita clínica inicial foi de doença hereditária. Material botânico foi coletado e submetido à identificação pelo botânico Pedro Germano Filho do Departamento de Botânica, Instituto de Biologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. O piquete onde os cervos eram mantidos media aproximadamente 12.500 m<sup>2</sup>, o qual era compartilhado com um grupo de emas (*Rhea americana*), três antas (*Tapirus terrestris*) e um antílope Nyala (*Tragelaphus angasi*).



**Figura 3.** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Recinto no qual era mantido o rebanho de cervos Sambar no zoológico Rio-Zoo. Note o único e pequeno cocho onde era fornecido o alimento.

### 3.2 Exame clínico

Os cervos após apresentarem os primeiros sinais clínicos neurológicos da doença eram retirados do rebanho e isolados em baias para melhor avaliação clínica e melhores cuidados. A anamnese foi realizada junto aos tratadores, biólogos e médicos veterinários do zoológico. A avaliação clínica foi orientada por ficha clínica que compreendia os exames clínicos gerais e neurológicos específicos. Realizou-se também o “*Head Raising test*” (Figura 4) nos Cervos 6 e 8, que consiste em elevar a cabeça do animal dorso-caudalmente durante 60 segundos e soltar rapidamente para avaliar o comprometimento proprioceptivo.



**Figura 4.** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Realização de exame clínico neurológico no Cervo 6 (“*Head Raising test*”).

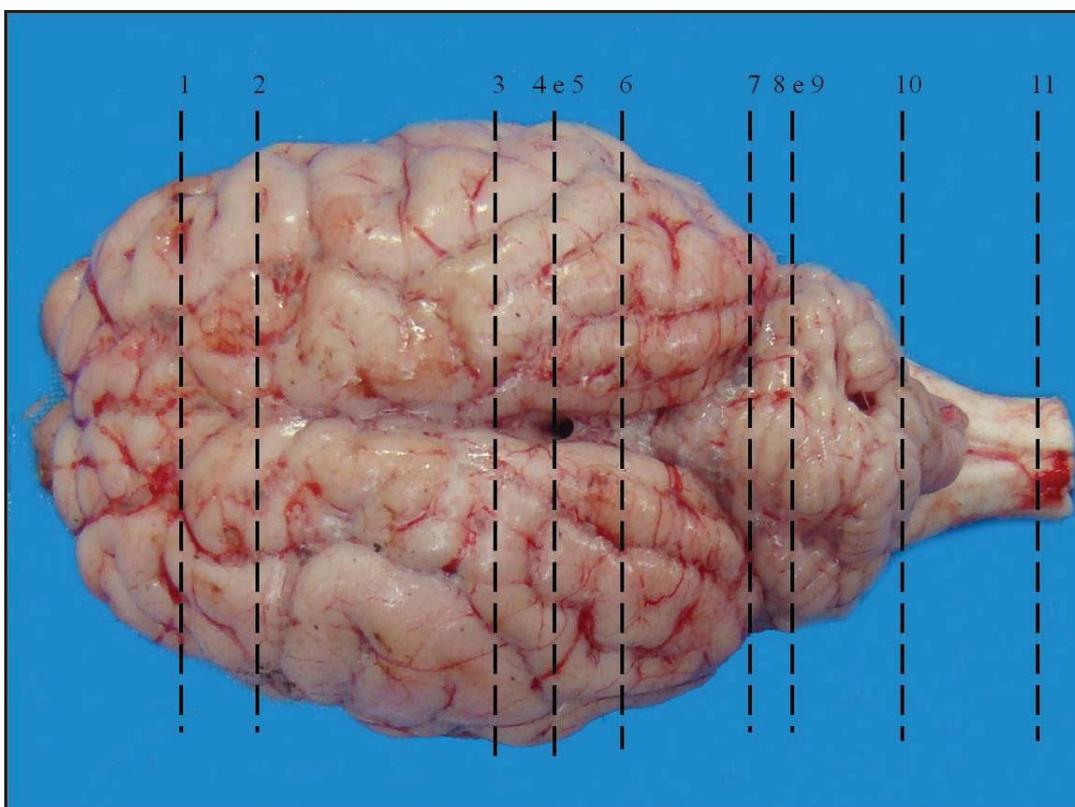
### 3.3 Exames macroscópico e histopatológico

Logo após a morte espontânea (Cervo 7) ou a eutanásia (Cervos 6 e 8) a necropsia foi realizada, e fragmentos de diversos órgãos foram coletados. A eutanásia foi realizada com administração de tiopental sódico por via intravenosa até a total depressão bulbar e morte.

Os fragmentos teciduais coletados foram pele, fígado, pâncreas, intestinos delgado e grosso, linfonodos mesentéricos, rumem, retículo, omaso, abomaso, pulmão, coração, tireoide, paratireoide, parótida, SNC, nervos periféricos (radial e ciático) e musculatura esquelética. Os tecidos foram fixados em formol a 10% por 48 horas, desidratados em álcool etílico absoluto, diafanizados em xilol e embebidos e incluídos em parafina e cortados em micrótomo à espessura de 5  $\mu\text{m}$ . Os cortes foram corados pela Hematoxilina & Eosina e as lâminas examinadas em microscópio óptico no Setor de Anatomia Patológica do Projeto Sanidade Animal, Embrapa-UFRRJ.

Para avaliação morfológica detalhada, mapeamento e quantificação das lesões no SNC, cortes padronizadas foram realizados no encéfalo, na região do córtex telencefálico frontal, núcleos da base e cápsula interna, córtex parietal, hipocampo,

tálamo na região da abênula, mesencéfalo na região dos colículos rostrais, ponte, pedúnculos cerebelares, óbex e cerebelo (Figura 5), e a medula espinhal nos segmentos cervical, torácico e lombossacral em cortes transversais e longitudinais.



**Figura 5.** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Encéfalo de cervo com linhas transversais demonstrando a localização dos cortes para avaliação histológica. Córtex telencefálico frontal (1), núcleos da base e cápsula interna (2), córtex parietal (3), hipocampo (4), tálamo na região da abênula (5), mesencéfalo na região dos colículos rostrais (6), ponte (7), pedúnculos cerebelares (8), cerebelo (9), óbex (10) e medula cervical (11).

### 3.4 Lectino-histoquímica

Para lectina-histoquímica, seções histológicas do SNC nas regiões do cerebelo e mesencéfalo, rim e tireoide foram desparafinadas, hidratadas, e incubadas por 30 minutos em peróxido de hidrogênio a 5% para bloqueio de peroxidases endógenas. Em seguida, as lâminas foram lavadas por dois minutos com tampão fosfato (PBS), e submetidas a tampão citrato para recuperação antigênica em microondas por 15 minutos e bloqueio de reações inespecíficas com leite desnatado a 5% (Molico® - Indústria Brasileira) e incubadas por 30 minutos com lectinas (Vector Laboratories, Burlingame, Califórnia, 94010, USA) na diluição de 10 µg/mL em água deionizada, com exceção da ConA (5µg/mL). Foram utilizadas as lectinas *Triticum vulgare* (WGA), *Succinil-triticum vulgare* (S-WGA), *Concanavalia ensiformis* (Con A), *Glycine max* (SBA), *Dolichus biflorus* (DBA), *Ulex europaeus-I* (UEA-I), *Arachis hypogaea* (PNA), *Ricinus communis-I* (RCA-I), *Bandeirea simplicifolia* (GSL-I/BS-I) e o complexo avidina-biotina peroxidase contracolorados pela hematoxilina de Harris.

### **3.5 Microscopia Eletrônica de Transmissão**

Fragmentos com cerca de 1mm<sup>3</sup> do córtex e medular do cerebelo e do tronco encefálico foram coletados e fixados em glutaraldeído a 2% em tampão cacodilato 0,166 M (pH 7,4) e encaminhados para avaliação ultraestrutural no Veterinary Diagnostic Laboratory, University of Minnesota. Após fixação no glutaraldeído os fragmentos foram submetidos a solução de tetróxido de ósmio a 1%, desidratados, embebidos em Epon®. Fragmentos de tecidos selecionados foram seccionados em 70 a 80 nm, coradas com acetato de uranila e citrato de chumbo. Os cortes foram examinados com microscópio de transmissão JEOL 1200EXII 20.

Cortes ultrafinos foram contrastados com citrato de chumbo e acetato de uranila e examinados em microscópio eletrônico de transmissão.

## 4 RESULTADOS

### 4.1 Animais do estudo e dados epidemiológicos

O rebanho era alimentado com volumoso à base de verduras, legumes (cenoura e batata), frutas (banana, maçã e mamão) e feno de capim tifton (*Cynodon dactylon*) e ração comercial para equinos, fornecidos uma vez por dia em um único cocho. O material botânico coletado da planta no recinto foi identificado como *Sida carpinifolia* (Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Departamento de Botânica - número 34610) (Figura 6). Em visita ao zoológico observou-se que em todo o recinto havia uma grande quantidade de uma vegetação homogênea formada exclusivamente por *S. carpinifolia* (Figura 7) e com sinais claros de pastejo intenso (Figura 8).

Devido à hierarquia dos animais no grupo, os machos dominantes isolavam os machos jovens, principalmente recém-desmamados com idades entre seis e oito meses e adultos jovens, que passavam a não ter acesso adequado ao alimento fornecido. Esses cervos jovens foram vistos pastejando *S. carpinifolia* (Figura 9). Tanto cervos doentes como saudáveis, jovens e alguns adultos foram observados comendo a planta (Figuras 10). Nove cervos apresentaram sinais neurológicos da intoxicação por *S. carpinifolia* (Tabela 2).

**Tabela 2.** Aspectos gerais e evolução clínica dos cervos Sambar intoxicados espontaneamente por *S. carpinifolia*.

Cervo (Nº de registro)	Sexo	Evolução clínica <sup>a</sup>	Desfecho	Necropsia e histopatológico	Forma da intoxicação
1	M <sup>b</sup>	3	Morte	N <sup>c</sup>	A <sup>d</sup>
2	M	3	Morte	N	A
3	F <sup>e</sup>	3	Morte	N	A
4	M	60	RR <sup>f</sup>	N	C <sup>g</sup>
5	M	60	RR	N	C
6 (31858)	M	20	E <sup>h</sup>	R <sup>i</sup>	A
7 (31859)	M	45	Morte	R	C
8 (31891)	M	60	E	R	C
9	M	70-80	Morte	N	C

<sup>a</sup> Número aproximado de dias após a observação dos primeiros sinais clínicos até a morte, <sup>b</sup> macho, <sup>c</sup> não-realizado, <sup>d</sup> aguda, <sup>e</sup> fêmea, <sup>f</sup> recuperação com recidivas, <sup>g</sup> crônica, <sup>h</sup> morte por eutanásia, <sup>i</sup> Realizada.



**Figura 6.** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. *Sida carpinifolia* com inflorescência (foto no local).



**Figura 7.** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Recinto onde eram criados os cervos, invadido por *S. carpinifolia* intensamente pastejada.



**Figura 8.** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Recinto onde eram criados os cervos, invadido por *S. carpinifolia*. Note as hastes sem folhas, por pastejo intenso.



**Figura 9.** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Cervos Sambar machos jovens ingerindo naturalmente *S. carpinifolia*. Note os galhos mais baixos da árvore sem folhas e sem casca comidos pelos cervos, possivelmente pela falta de volumoso verde e fibra.



**Figura 10.** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Cervos Sambar adultos e jovens pastejando a *S. carpinifolia*.

#### 4.2 Sinais clínicos

No mês de maio, dois machos jovens e uma fêmea com cerca de seis meses (Cervos 1, 2 e 3) apresentaram incoordenação, apatia grave e foram encontrados mortos com cerca de três dias após o início dos primeiros sinais neurológicos observados pelos tratadores. Os três animais foram negativos para o teste de imunofluorescência direta para o vírus rábico e não foram realizados exames histopatológicos.

Cerca de quatro semanas depois, mais seis cervos, recentemente desmamados (Cervos 4, 5, 6, 7, 8 e 9), todos machos, apresentaram acentuada letargia e incoordenação, de forma semelhante aos anteriores e foram isolados em baias individuais para acompanhamento clínico. Os seis cervos estavam magros e apresentaram anorexia, diminuição da ingestão de água e graus variados de distúrbios neurológicos que incluíam apatia acentuada (Figura 11), incoordenação e hiperexcitabilidade (Figura 12), membros em base ampla (membros torácicos em abdução) (Figura 13), tremores musculares, balançar de cabeça e ataxia, dismetria com hipermetria e hipometria, dificuldade em transpor obstáculos, quedas frequentes (Figura 14) e tremores de intenção. Submetido ao *Head Raising test*, o Cervo 6 apresentou piora dos sinais proprioceptivos com queda logo após a cabeça ser solta, porém sem perda da consciência. O Cervo 6 evidenciou ainda paralisia flácida dos membros torácicos (Figure 15) e acentuada perda do tônus lingual (Figura 16).

Cerca de 10 dias após o início dos sinais neurológicos, os Cervos 4, 5 e 9 apresentaram melhoras significativas e foram reintegrados ao rebanho, porém novamente apresentaram os sinais clínicos com cerca de três semanas depois, que não mais regrediram completamente. O Cervo 9 foi encontrado morto e em avançado grau de autólise, os Cervos 4 e 5 permaneceram em observação no rebanho, com melhora dos sinais clínicos neurológicos.



**Figura 11.** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Cervo 8 com acentuada depressão e edema submandibular por hipoproteïnemia.



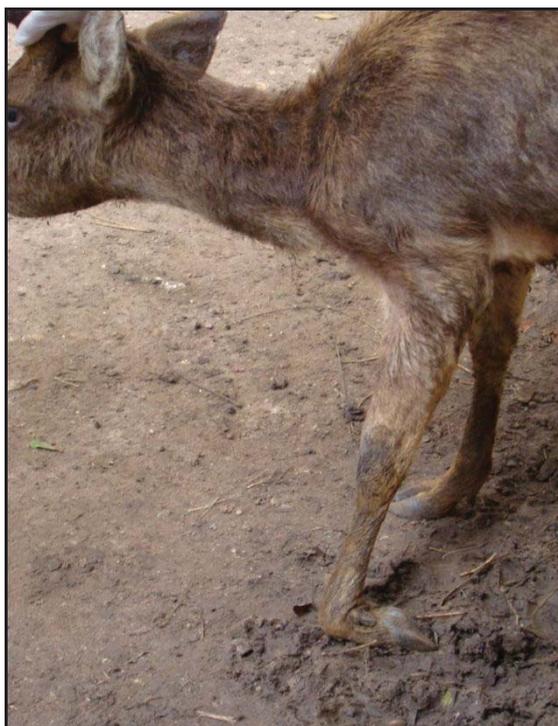
**Figura 12.** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Cervo 9 com incoordenação, membros em base ampla e olhar atento.



**Figura 13.** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. O Cervo 6 apresenta abdução dos membros torácicos, caracterizando posição de cavalete.



**Figura 14.** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Cervo 5 em decúbito esternal após tremores de intenção. Note o mau posicionamento do membro torácico direito por déficit motor.



**Figura 15.** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Cervo 6 com flexão involuntária da articulação metacarpofalangeana esquerda.



**Figura 16.** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Cervo 6 com perda parcial do tônus da língua, a qual é facilmente tracionada.

### 4.3 Achados macroscópicos e histopatológicos

Os Cervos 6 e 8 foram submetidos à eutanásia *in extremis* e à necropsia. O Cervo 7 morreu após evolução dos sinais neurológicos e também foi necropsiado. Macroscopicamente, o Cervo 6 apresentou leves hemorragias no subcutâneo da região das últimas costelas direitas (Figura 17), hematomas intramusculares e intermusculares no membro pélvico direito (Figura 18) e discretas áreas multifocais de hemorragia no parênquima hepático (Figura 19), possivelmente associadas a traumas, e leve perda do padrão afilado dos bordos. Os rins apresentavam superfície capsular com áreas pálidas puntiformes e, ao corte, o córtex estava pálido e com estriações brancacentas que se estendiam até a medula (Figuras 20 e 21). Os Cervos 7 e 8 não apresentaram alterações macroscópicas significativas.

Histologicamente, em seções coradas pela hematoxilina e eosina, os Cervos 6, 7 e 8 apresentaram tumefação/vacuolização difusa, leve a acentuada de neurônios em raros astrócitos em diversas regiões do encéfalo, da medula espinhal, com distribuição multifocal, e em células epiteliais de outros órgãos parenquimatosos (Tabela 3). A vacuolização neuronal foi mais pronunciada em células de Purkinje nos três cervos avaliados, principalmente no Cervo 6, que apresentou maior número dessas células ainda viáveis, já que desenvolveu uma evolução clínica mais rápida (Figuras 22 e 23), em neurônios medulares do cerebelo, em neurônios do córtex telencefálico (Figura 24), da região dos núcleos da base, hipocampo, tálamo, colículos rostrais, pedúnculos cerebelares, óbex (Figura 25 e 26) e na medula espinhal (Tabela 4). Os neurônios acometidos apresentavam citoplasma acentuadamente tumefeito, com aspecto espumoso em decorrência da grande quantidade de pequenos e médios vacúolos no seu interior. A tumefação de astrócitos foi observada especialmente em áreas do tronco encefálico em todos os animais avaliados.

A degeneração axonal caracterizada por esferóides axonais foi observada, predominantemente, em colículos rostrais e próximos a região do óbex (Figura 27), bem como no córtex telencefálico, hipocampo, cerebelo e nos funículos medulares dorsais (principalmente dos Cervos 6 e 7). O Cervo 6 apresentou ainda cromatólise em neurônios dos núcleos da rafe do tronco encefálico e leve a moderada gliose difusa na região do óbex. No córtex cerebelar dos três cervos observou-se proliferação multifocal moderada da glia de Bergmann e neuronofagia de células de Purkinje necróticas (Figura 28), esta última mais marcada nos Cervos 7 e 8, associada à acentuada perda de células de Purkinje do cerebelo, ainda no Cervo 8 observou-se diminuição na espessura da camada molecular do cerebelo pela acentuada perda neuronal (Figura 29). Os Cervos 7 e 8 apresentaram áreas multifocais de mineralização no córtex cerebelar decorrente da necrose acentuada de neurônios (Figura 30), características de lesões crônicas da intoxicação.

A tumefação/vacuolização também estava presente em células exócrinas do pâncreas, células foliculares das tireoides (Figura 31) e células epiteliais dos túbulos renais (Cervos 6 e 7) e da cápsula de Bowman (Cervo 6) (Figura 32 e 33). O Cervo 6 apresentou leve degeneração gordurosa de hepatócitos e intensa vacuolização citoplasmática e tumefação de células de Kupffer, vista de forma leve em alguns hepatócitos, bem como macrófagos com citoplasma espumoso nos pulmões e no baço. Não foram observadas alterações nos nervos.

**Tabela 3.** Intensidade das lesões histológicas no SNC, fígado, rins, pâncreas e tireoides dos cervos Sambar intoxicados espontaneamente por *Sida carpinifolia*.

Órgão	Tipo de alteração	Intensidade		
		Cervos		
		6	7	8
Encéfalo e medula espinhal	Vacuolização citoplasmática	+++ <sup>a</sup>	++ <sup>b</sup>	+ <sup>c</sup>
	Tumefação neuronal	+++	++	+
	Esferoide axonal	+++	++	+
	Gliose	++	+++	+++
	Cromatólise neuronal	++	+	+
	Necrose neuronal	+	++	+++
	Perda de células Purkinie	+	++	+++
	Proliferação da camada de Bergmann	++	++	+++
	Neuronofagia	- <sup>d</sup>	-	+
	Mineralização do córtex cerebelar	-	++	+++
Fígado	Vacuolização de hepatócitos	+	-	-
	Vacuolização de células de Kupfer	+++	-	-
Rins	Vacuolização de células tubulares	+++	+	+
Pâncreas	Vacuolização de células acinares	+++	++	+
Tireoides	Vacuolização de células foliculares	+++	++	-

<sup>a</sup> acentuada, <sup>b</sup> moderada, <sup>c</sup> leve e <sup>d</sup> ausente.

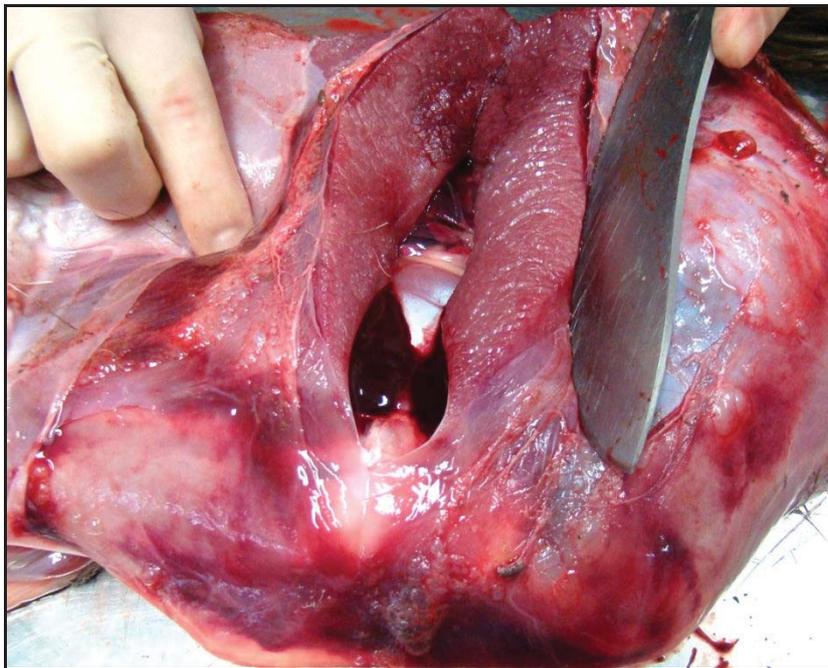
**Tabela 4.** Intensidade e distribuição da vacuolização citoplasmática neuronal identificada através da microscopia ótica no SNC de cervos Sambar (*Cervus unicolor*) intoxicados espontaneamente por *Sida carpinifolia*.

Regiões do SNC	Cervos		
	6	7 <sup>a</sup>	8 <sup>a</sup>
Córtex frontal	+++	++	-
Córtex parietal	+++	++	-
Núcleos da base	+++	++	-
Hipocampo	+++	++	-
Tálamo	+++	++	-
Colículos rostrais	+++	++	+
Pedúnculos cerebelares	+++	++	+
Cerebelo	+++	++	++
Óbex	+++	++	+
Medula cervical	+++	++	-
Medular torácica	+++	++	-
Medula lombossacral	+++	++	-

<sup>a</sup> Menor intensidade da vacuolização por apresentar perda neuronal mais acentuada que o Cervo 6, <sup>b</sup> acentuado, <sup>c</sup> moderado, <sup>d</sup> leve e <sup>e</sup> ausente.



**Figura 17.** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Áreas multifocais de hemorragia no subcutâneo na região das últimas costelas direitas no Cervo 6.



**Figura 18.** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Cervo 6. Grande coágulo sanguíneo nas fâscias entre a musculatura próxima ao gastrocnêmio e hemorragias no subcutâneo provocadas por agressões de machos dominantes.



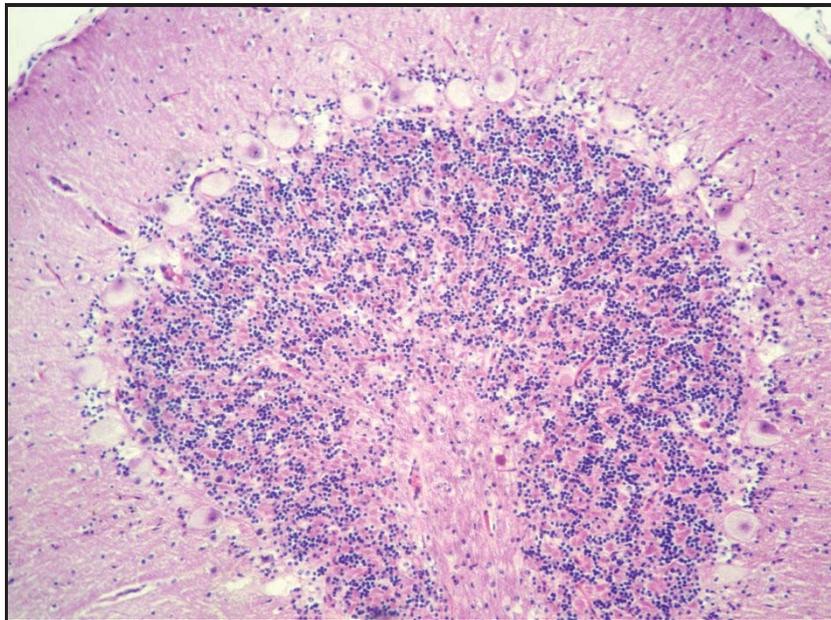
**Figura 19.** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Cervo 6. Fígado com múltiplas petéquias e equimoses na superfície capsular, causadas por agressões por outros machos do rebanho. No detalhe percebe-se o fígado moderadamente aumentado e com bordos arredondados.



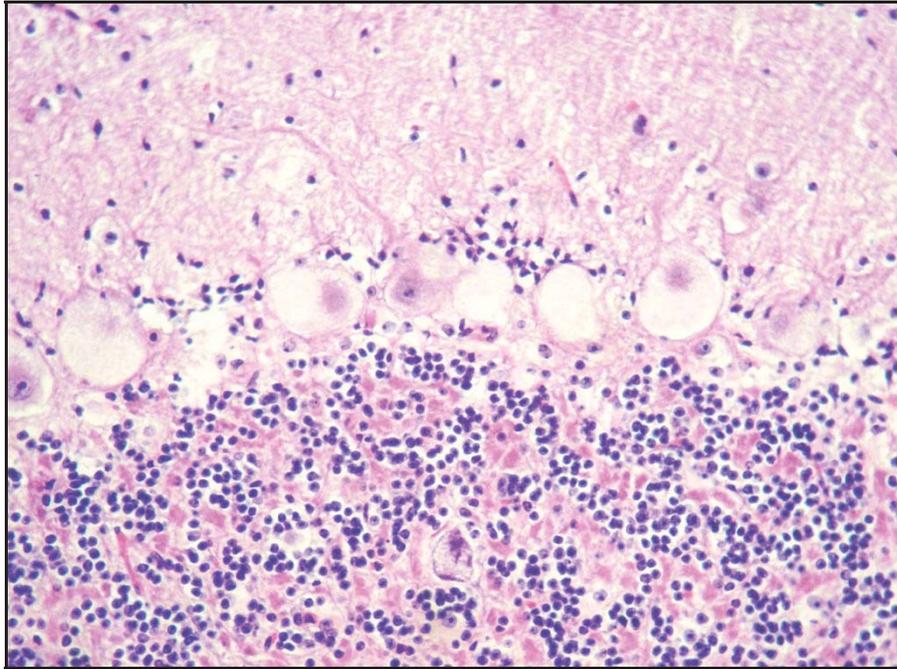
**Figura 20.** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Cervo 6. Rins aumentados de volume e com estriações brancacentas distribuídas difusamente na superfície de corte.



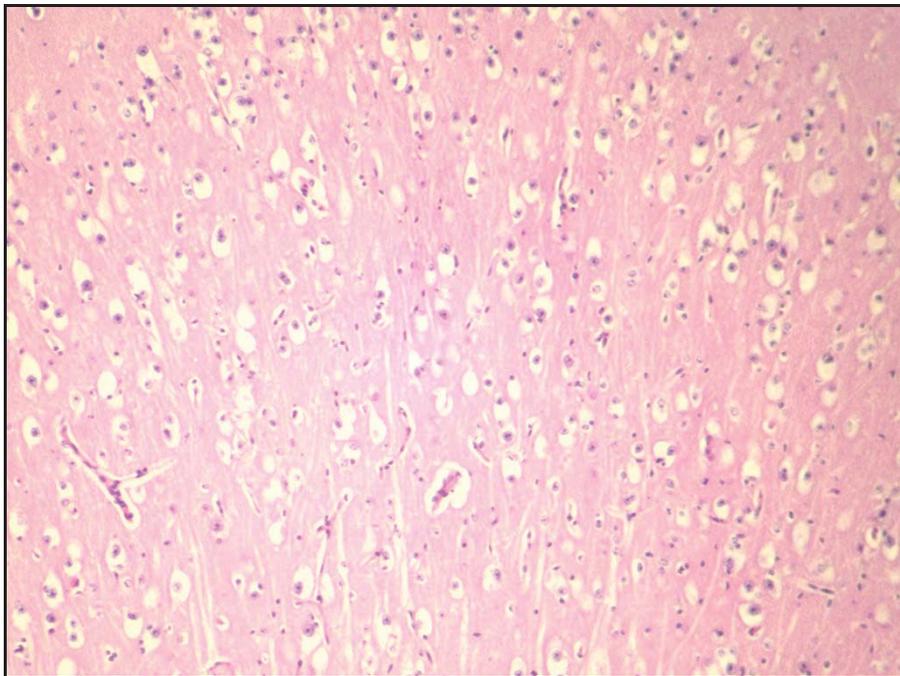
**Figura 21.** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Cervo 6. Imagem mais aproximada do rim aumentado de volume e com estriações brancacentas radiadas observadas difusamente pelo parênquima.



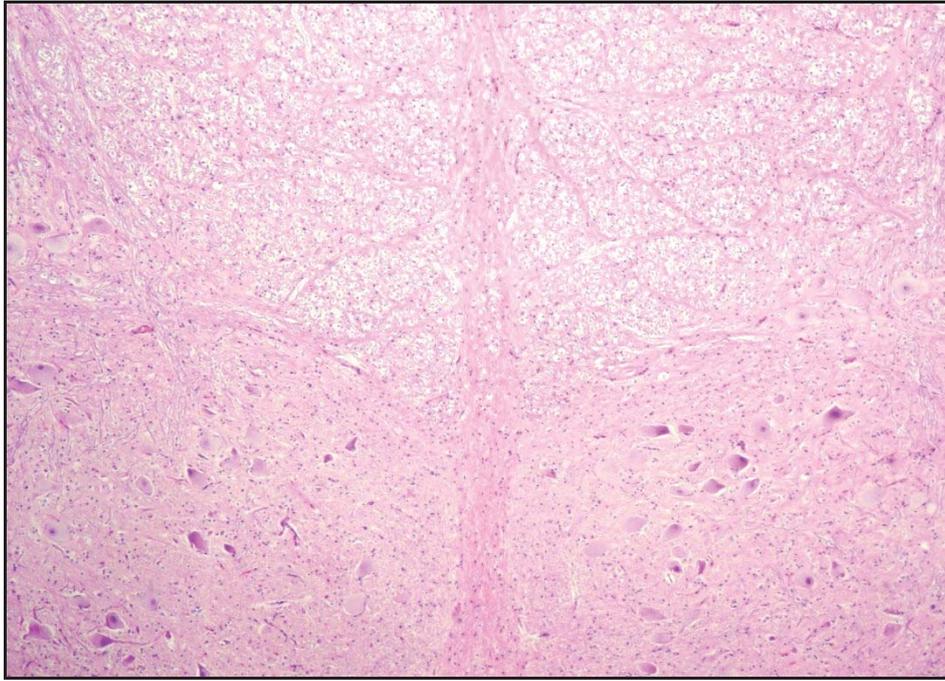
**Figura 22.** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Cervo 6. Cerebelo. Tumefação/Vacuolização difusa acentuada do citoplasma das células de Purkinje. HE, Obj. 25x.



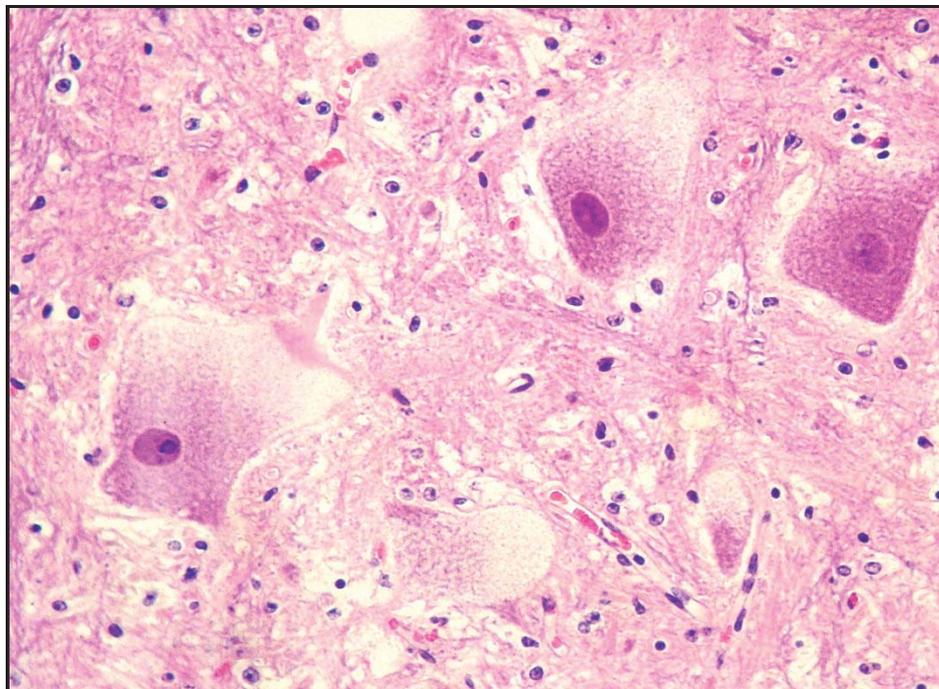
**Figura 23.** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Cervo 6. Córtex Cerebelar. Acentuada tumefação/vacuolização fina do citoplasma de neurônios de Purkinje e da camada granular. HE, Obj. 40x.



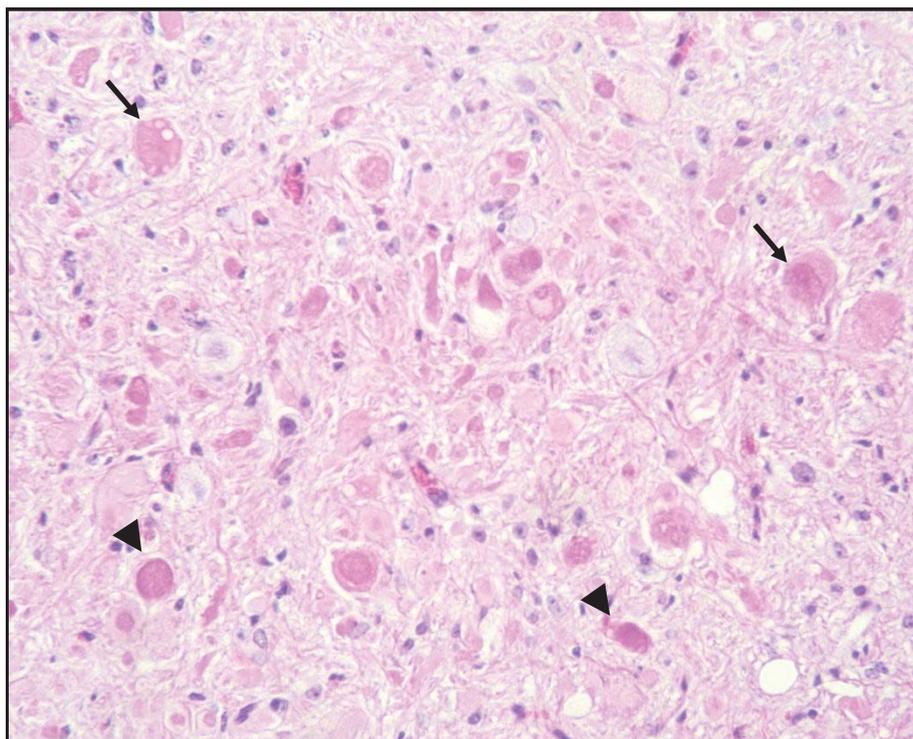
**Figura 24.** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Cervo 7. Encéfalo, córtex telencefálico frontal. Acentuada tumefação/vacuolização fina do citoplasma de neurônios das várias lâminas neuronais do córtex. HE, Obj. 10x.



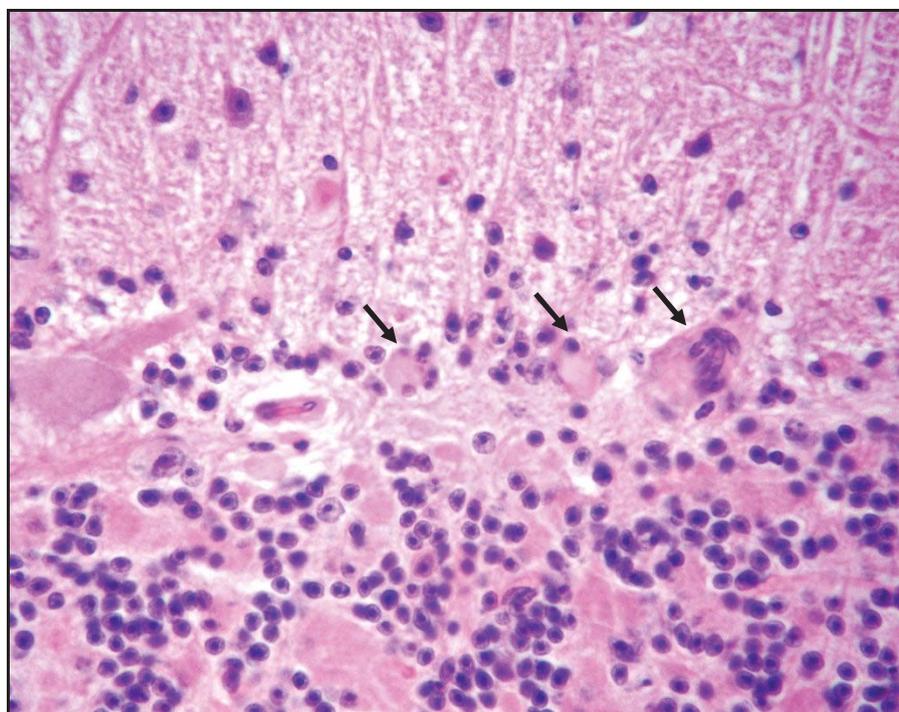
**Figura 25.** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Cervo 6. Tronco encefálico – Óbex. Vacuolização fina simétrica no citoplasma do pericário de neurônios. HE, Obj. 10x.



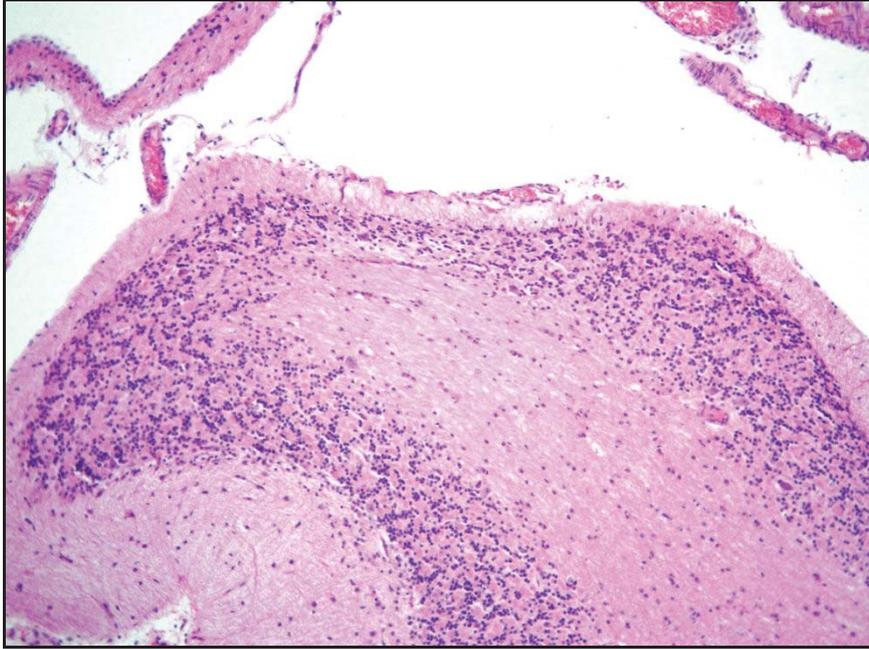
**Figura 26.** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Cervo 6. Tronco encefálico – Óbex. Pericário de neurônios acentuadamente tumefeito e finamente vacuolizado. HE, Obj. 40x.



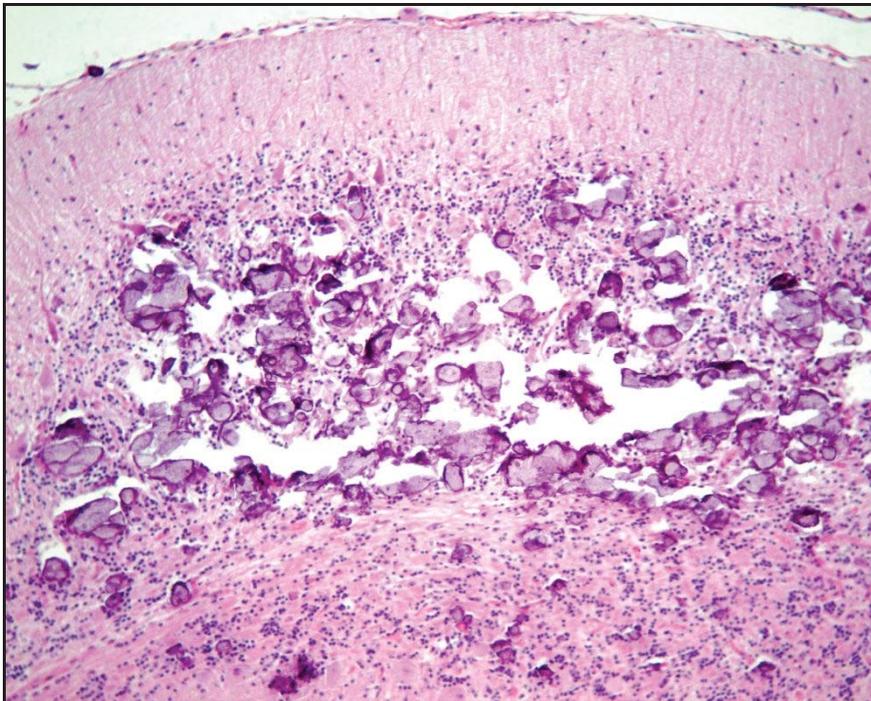
**Figura 27.** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Cervo 7. Tronco encefálico - Óbex. Necrose neuronal (setas) e inúmeros esferoides axonais (cabeças de seta). HE, Obj. 25x.



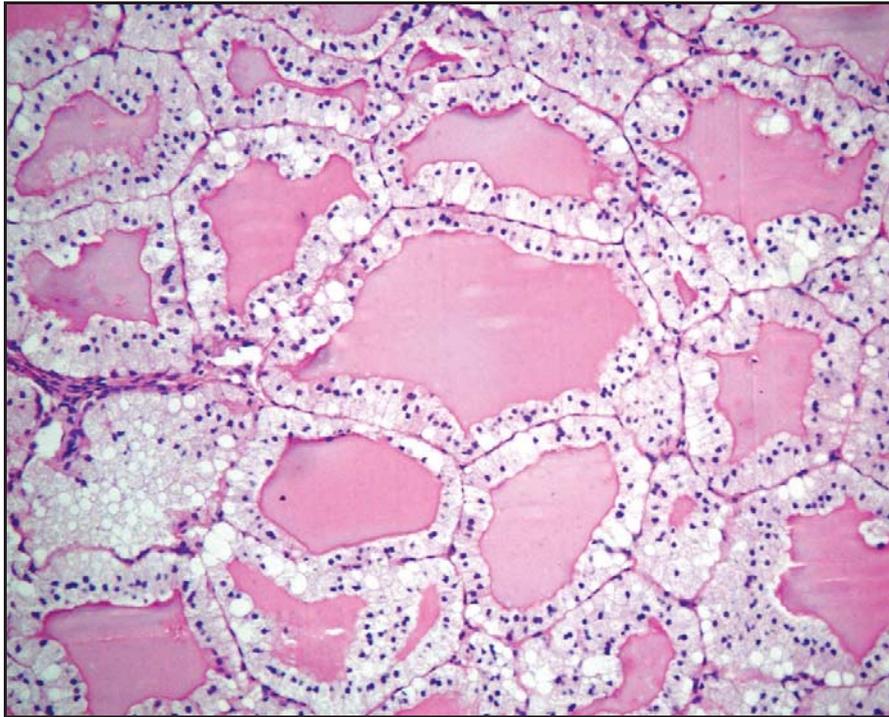
**Figura 28.** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Cervo 7. Córtex cerebelar. Neuronofagia de corpos de células de Purkinje necróticas (seta). HE, Obj. 40x.



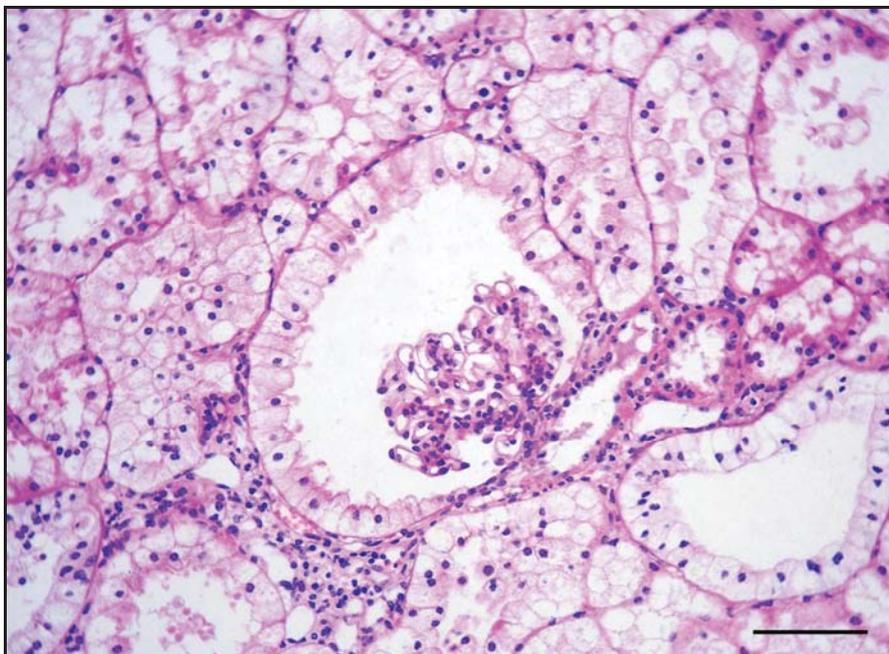
**Figura 29.** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Cervo 8. Cerebelo. Acentuada atrofia focalmente extensiva da camada molecular do córtex cerebelar com perda total dos neurônios de Purkinje. HE, Obj. 10x.



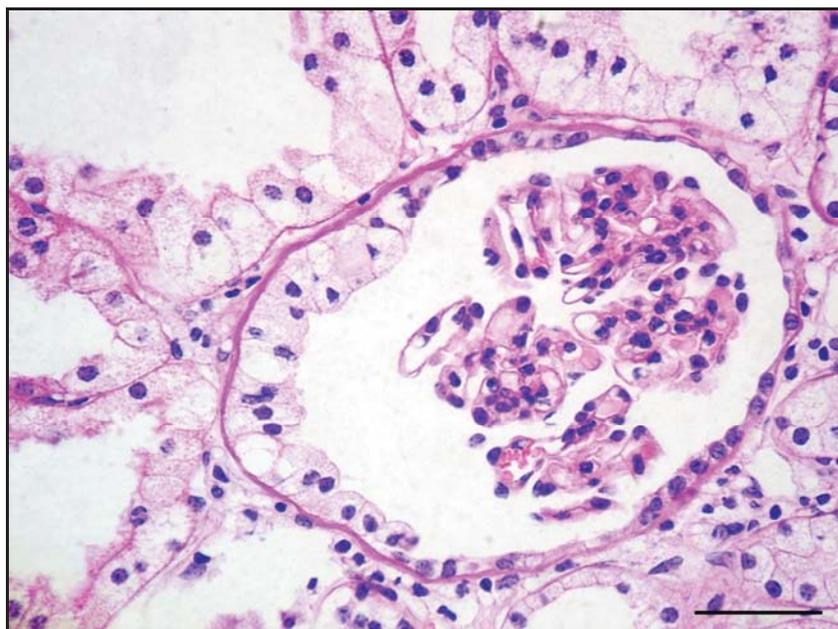
**Figura 30.** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Cerebelo. Cervo 8. Área de mineralização focalmente extensa na camada granular do cerebelo decorrente de necrose neuronal na forma crônica da doença e moderada gliose. HE, Obj. 10x.



**Figura 31.** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Cervo 6. Tireoide. Tumefação/vacuolização difusa acentuada das células foliculares. Coloide com aspecto normal. HE. Obj. 25x.



**Figura 32.** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Cervo 6. Rim. Tumefação de células de túbulos contorcidos proximais e distais e da cápsula de Bowman. HE. Barra = 100  $\mu$ m.



**Figura 33.** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Cervo 6. Rim. Tumefação fina de células epiteliais de túbulos renais e da cápsula de Bowman. HE, Barra = 90  $\mu$ m.

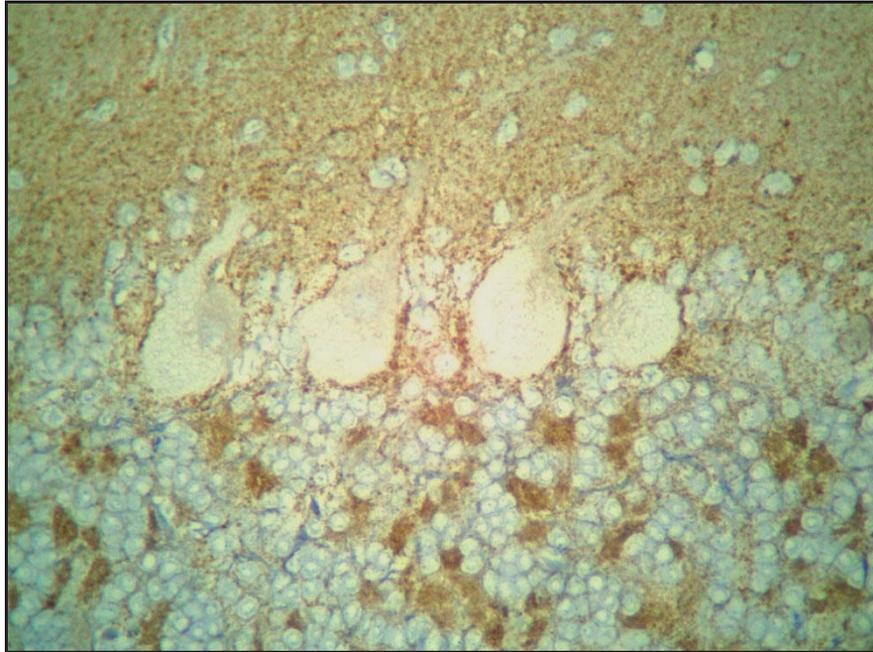
#### 4.4 Achados lectino-histoquímicos

Os resultados da lectino-histoquímica indicam que houve acúmulo de oligossacarídeos derivados da falha no catabolismo das  $\alpha$ -manosidase, identificados nas membranas lisossômicas de tecidos neuronais do rim e da tireoide. As membranas de vacúolos em neurônios, células de túbulos renais e células da tireoide foram fortemente positivas para as lectinas *Succinil-Triticum vulgaris*, *Triticum vulgaris*, e *Concanavalia ensiformis* (Tabela 5). O citoplasma de células da camada de Purkinje, células granulares do cerebelo (Figura 34), neurônios da medular do cerebelo (Figura 35) e de células tubulares proximais e distais dos rins (Figura 36 e 37) evidenciaram grânulos marrons difusamente no citoplasma. Essas células apresentaram ainda marcação finamente granular em variados graus para as demais lectinas testadas (*Glycine Max*, *Dolichos biflorus*, *Ulex europaeus-1*, *Arachis hypogaea*, *Ricinus communis-1*, *Bandeirea simplicifolia*). Fragmentos de encéfalo de caprinos normais também apresentaram marcações discretas para essas lectinas.

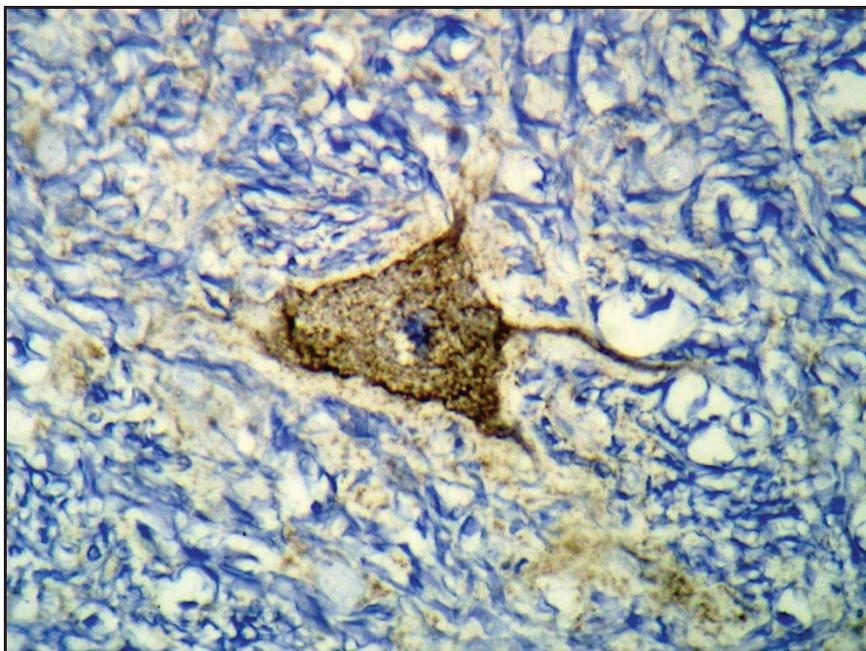
**Tabela 5.** Intensidade de marcação do citoplasma de células do cerebelo em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) intoxicados por *Sida carpinifolia* através da técnica de lectino-histoquímica.

Células	LECTINAS								
	s-WGA <sup>a</sup>	WGA <sup>b</sup>	UEA-I <sup>c</sup>	PNA <sup>d</sup>	RCA-I <sup>e</sup>	SBA <sup>f</sup>	DBA <sup>g</sup>	Con A <sup>h</sup>	GSL <sup>i</sup>
Células de Purkinje	+++ <sup>j</sup>	+++	++ <sup>k</sup>	++	+ <sup>l</sup>	+	+	++	+
Neurônios da camada granular	+++	+++	++	++	++	++	++	+++	++
Núcleos cerebelares	++	++	+	+++	++	+	+	++	+
Células da glia	+	+	+	+	- <sup>m</sup>	-	+	-	-

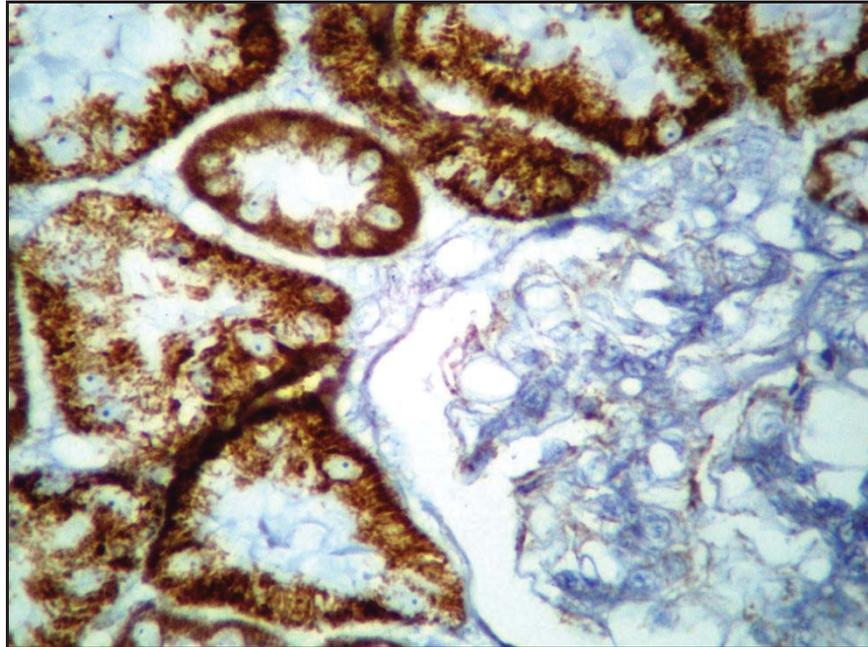
<sup>a</sup> *Succinil-Triticum vulgaris*, <sup>b</sup> *Triticum vulgaris*, <sup>c</sup> *Ulex europaeus-1*, <sup>d</sup> *Arachis hypogaea*, <sup>e</sup> *Ricinus communis-1*, <sup>f</sup> *Glycine Max*, <sup>g</sup> *Dolichos biflorus*, <sup>h</sup> *Concanavalia ensiformis*, <sup>i</sup> *Bandeirea simplicifolia*, <sup>j</sup> acentuado, <sup>k</sup> moderado, <sup>l</sup> leve, <sup>m</sup> ausente.



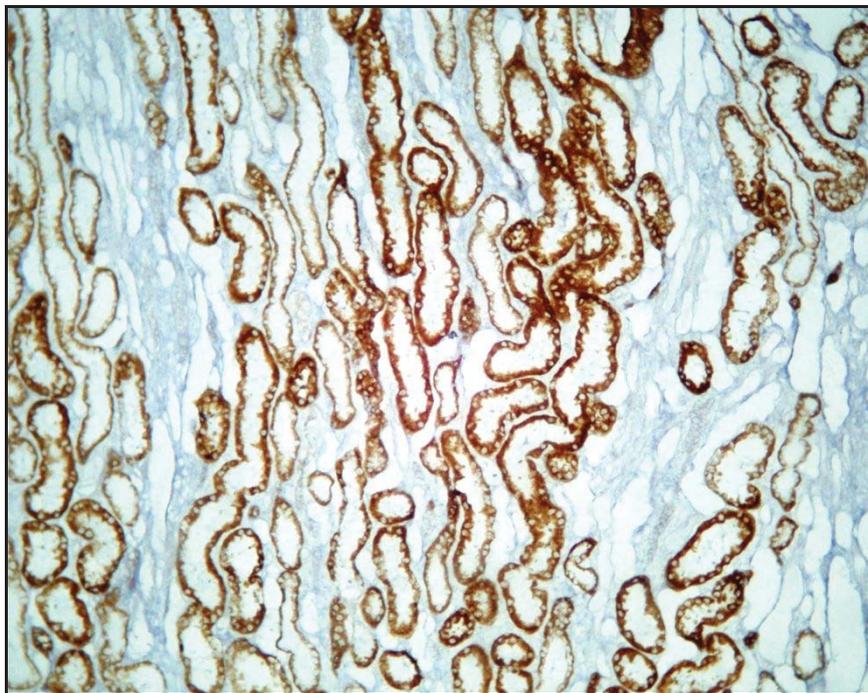
**Figura 34.** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Córtex cerebelar. Cervo 6. Marcação positiva na periferia do citoplasma das células de Purkinje e das membranas dos vacúolos no citoplasma do pericário das células granulares do cerebelo. *Concanavalina ensiformis* (ConA), complexo Avidina Biotina peroxidase. Obj 25x.



**Figura 35.** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Medular do cerebelo. Cervo 7. Marcação fortemente positiva das membranas dos vacúolos no citoplasma do pericário de um neurônio da medular do cerebelo. *Succinil Triticum vulgares* (sWGA), complexo Avidina Biotina peroxidase. Obj. 40x.



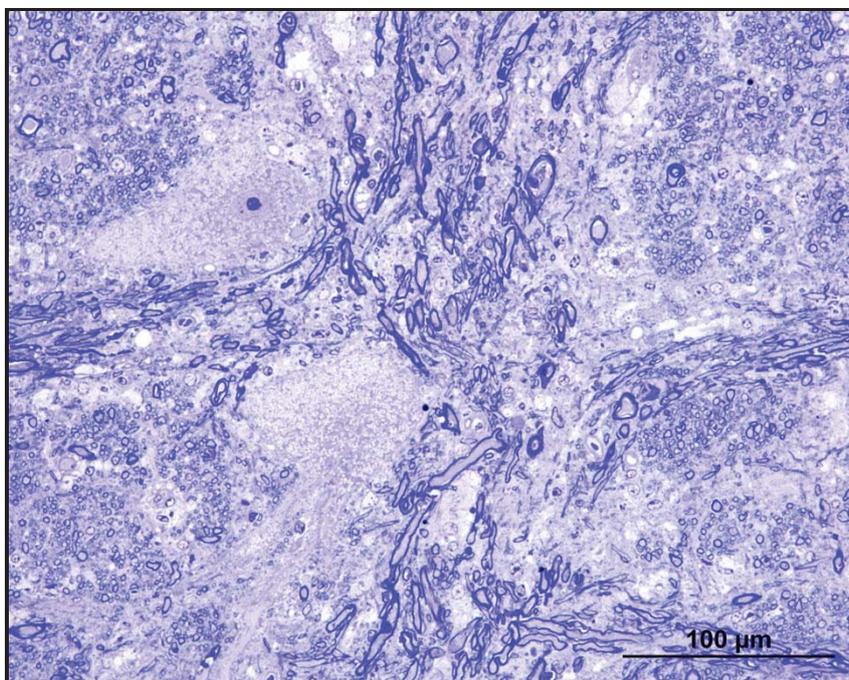
**Figura 36.** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Rim. Cerco 6. Marcação fortemente positiva de grânulos no citoplasma de células epiteliais de túbulos contorcidos. *Concanavalina ensiformis* (ConA), complexo Avidina Biotina. Obj. 40x.



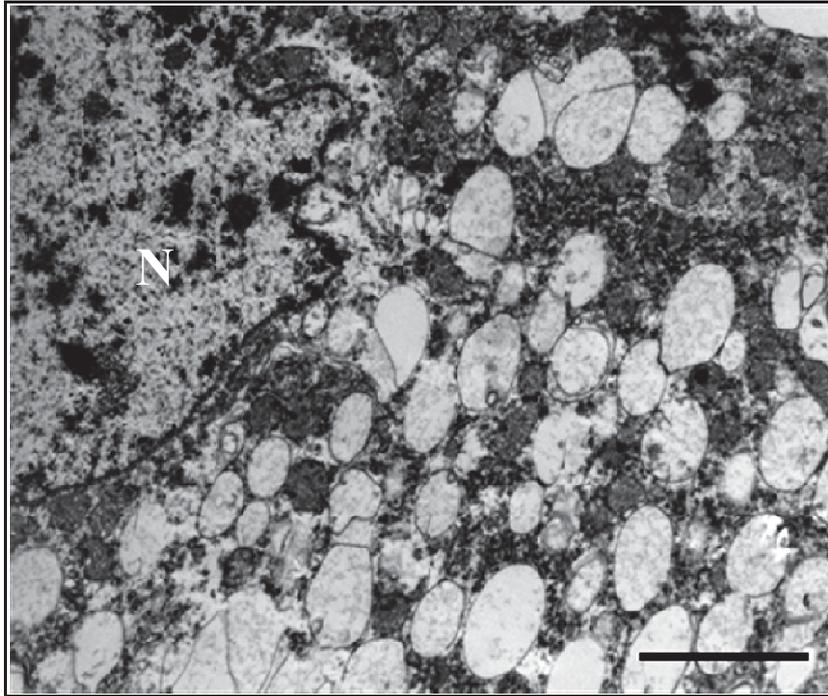
**Figura 37.** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Rim. Cerco 6. Marcação fortemente positiva de grânulos no citoplasma de células epiteliais de túbulos contorcidos distais. *Concanavalina ensiformis* (ConA), complexo Avidina Biotina. Obj. 10x.

#### 4.5 Microscopia Eletrônica de Transmissão

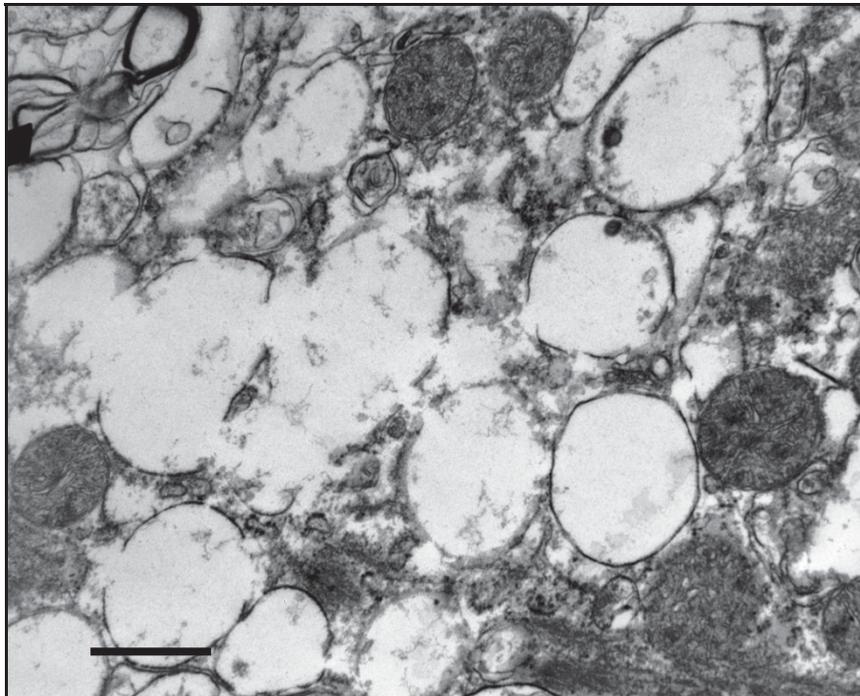
Ultraestruturalmente, a vacuolização citoplasmática foi evidente em neurônios, células gliais e pericitos. A maioria dos vacúolos estava vazia, especialmente em neurônios e pericitos. Em alguns vacúolos havia fragmentos de membrana, vesículas reticulares ou grânulos densos, substâncias amorfas e glóbulos opacos. As alterações ultraestruturais no SNC foram caracterizadas por vacuolização neuronal, já visível nos cortes semifinos, (Figuras 38 e 39), substância de Nissl dispersa, vacuolização e edema de astrócitos (Figura 40), vacuolização de oligodendrócitos, de células endoteliais e dos pericitos (Figura 41). Os vacúolos apresentaram até cerca de 3 $\mu$ m de diâmetro. Os esferóides axonais foram caracterizados por expansão do diâmetro dos axônios e acúmulo de corpos residuais densos mielinizados (Figura 42) e de filamentos intermediários.



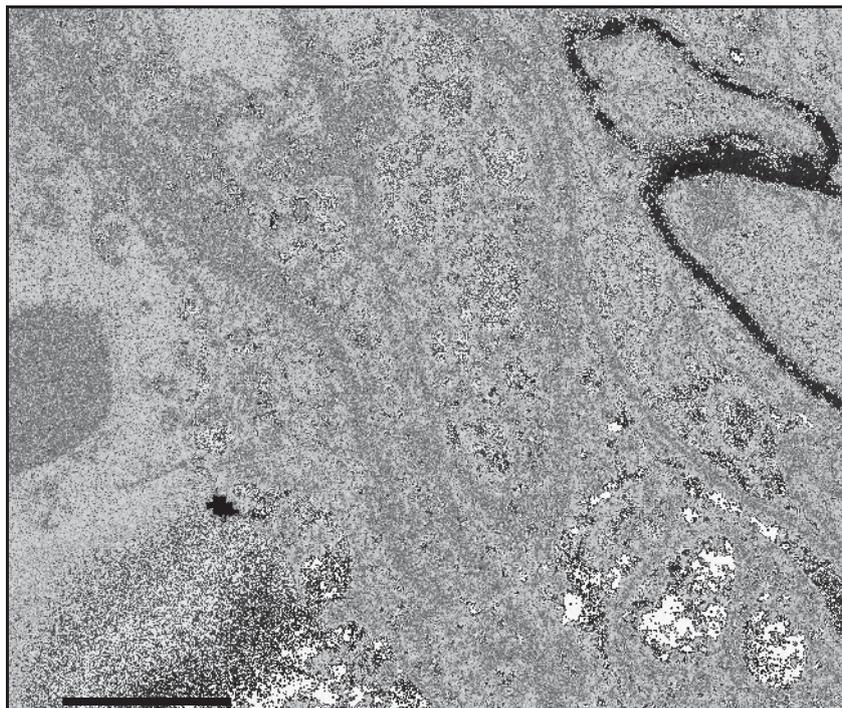
**Figura 38.** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Tronco encefálico. Núcleo da rafe. Microvacúolos citoplasmáticos em neurônios. Corte semifino. Azul de metileno. Barra = 100 $\mu$ m.



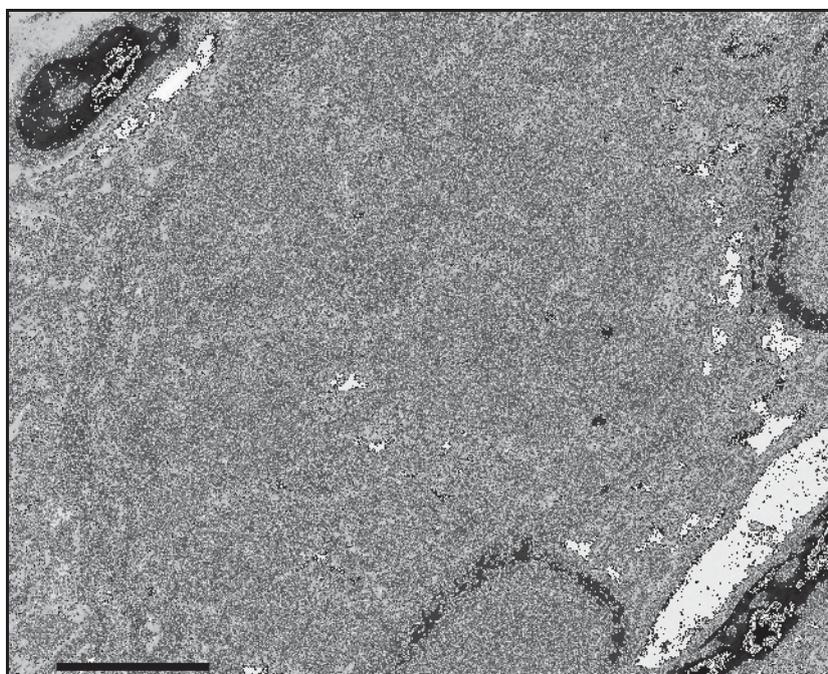
**Figura 39.** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Tronco encefálico. Neurônio de núcleos da rafe. Vacúolos associados à membrana no citoplasma de um neurônio (N = núcleo). Microscopia eletrônica de transmissão. Barra = 2 $\mu$ m.



**Figura 40.** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Tronco encefálico. Cervo 6. Vacúolos associados à membrana no citoplasma de um astrócito. Microscopia eletrônica de transmissão. Barra = 500nm.



**Figura 41.** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Tronco encefálico. Cervo 7. Vacúolos citoplasmáticos associados à membrana em células do pericito neuronal. Microscopia eletrônica de transmissão. Barra = 1 $\mu$ m.



**Figura 42.** Doença do armazenamento lisossomal causada pela ingestão espontânea de *Sida carpinifolia* em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) cativos no Rio de Janeiro. Cervo 6. Corpos residuais densos mielinizados no citoplasma de um axônio. Microscopia eletrônica de transmissão. Barra = 500nm.

## 5 DISCUSSÃO

O diagnóstico de doença do acúmulo lisossomal por ingestão *Sida carpinifolia*, planta que contém swainsonina, em cervos Sambar (*Cervus unicolor*) foi estabelecido através dos achados epidemiológicos, clínicos, patológicos, histoquímicos e ultraestruturais semelhantes aos descritos em cervos e em outros herbívoros intoxicados por plantas que contêm swainsonina (ADCOCK; KEISS, 1969; WOLFE; LANCE, 1984; STEGELMEIER et al., 2005; PEDROSO et al., 2009).

Na ocasião desse estudo, observou-se que a vegetação de cobertura do piquete onde os cervos eram mantidos era composta predominantemente por *Sida carpinifolia*, a qual havia sido intensamente pastejada. Essa condição é importante para o diagnóstico de intoxicações causadas por plantas que levam a doença do acúmulo lisossomal, descritas em herbívoros anteriormente, e apontam para um problema real em recintos onde são mantidos ruminantes selvagens (ADCOCK; KEISS, 1969; FOWLER et al., 1983; WOLFE; LANCE, 1984; STEGELMEIER et al., 2005; PEDROSO et al., 2009). No presente estudo, o desenvolvimento da intoxicação em cervos jovens após o desmame e, predominantemente mais os machos, ocorreu pela má distribuição do alimento, que era fornecido ao rebanho em apenas um cocho, de forma que os machos dominantes expulsavam os mais jovens, no momento da alimentação. Nenhum recém-nascido ou cervo muito jovem apresentou indícios da doença, o que, por si só, já descartava a suspeita inicial de doença hereditária.

Os sinais clínicos neurológicos observados nesse surto são semelhantes aos descritos em casos da intoxicação por plantas que contêm swainsonina em outras espécies de cervos nos Estados Unidos e no Brasil (ADCOCK; KEISS, 1969; WOLFE; LANCE, 1984; STEGELMEIER et al., 2005; PEDROSO et al., 2009), e em caprinos, ovinos e bovinos e equinos (DORLING et al., 1978; COLODEL et al., 2002a; LORETTI et al., 2003b; SEITZ et al., 2005; FURLAN et al., 2009; JAMES; PANTER, 1989; HARTLEY et al., 1989; BARBOSA et al., 2006; ARMIÉN et al., 2007; DANTAS et al., 2007).

A perda de peso apresentada por todos os cervos intoxicados foi atribuída à alimentação reduzida, bem como pelos distúrbios neurológicos que limitavam a locomoção e a ingestão do alimento. Essas alterações também são descritas na intoxicação por outras plantas que causam doença do armazenamento em geral (MAXIE; YOUSSEF, 2007; RIET-CORREA et al., 2007). Além disso, é descrito que a ação da swainsonina pode alterar a glicosilação de glicoproteínas, enzimas e hormônios, incluindo glicosidases intestinais, o que resulta na redução da eficiência metabólica (PAN et al., 1993). Isso sugere a possibilidade da perda de peso observada nos cervos intoxicados por *Sida carpinifolia* possa ocorrer também diretamente pela toxicose.

Embora a avaliação histopatológica não tenha sido realizada nos Cervos 1-3, os dados epidemiológicos e dos sinais clínicos apresentados por esses animais, semelhantes aos demais cervos desse estudo, também apontam para o diagnóstico de intoxicação por *S. carpinifolia*. Esses cervos destacaram-se por apresentar evolução clínica e morte em poucos dias, o que sugere a forma aguda ou subaguda da doença. É possível, contudo, que sinais clínicos pouco pronunciados tenham passado despercebidos aos técnicos responsáveis pelos animais e não tenham sido relatados. Nos demais houve um curso clínico mais prolongado, indicado por lesões microscópicas crônicas com maior perda neuronal. Uma vez cessada completamente a ingestão da planta, os ruminantes domésticos e selvagens ainda nas fases inicial e intermediária da doença tendem a apresentar melhora do quadro clínico. Isso ocorre desde que a perda neuronal ainda não seja significativa, do contrário, os animais tendem a apresentar

lesões residuais sem total regressão dos sinais clínicos (STEGELMEIRER et al., 2005; RIET-CORREA et al., 2007).

Em experimentos com a administração de *Oxytropis sericea* (15% do total da ração) em quatro cervos-mula (*Odocoileus hemionus*), o quadro clínico foi semelhante aos descritos em outras espécies intoxicadas por swainsonina, contudo houve diferenças quanto à distribuição e a intensidade das lesões (STEGELMEIER et al., 2005). Não há relatos da intoxicação experimental por *Sida carpinifolia* em cervos. Ovinos intoxicados experimentalmente por *S. carpinifolia* apresentaram a forma neurológica da doença após ingerirem doses de 11 a 30 g/kg de peso corporal da planta seca, diariamente, com início dos sinais clínicos entre 18 e 100 dias do início da administração da planta (SEITZ et al., 2005). Já em experimentos com caprinos, o quadro neurológico foi reproduzido a partir da administração de doses diárias de 10g/kg da planta verde (sinais clínicos após 60 dias de administração) e 420g/kg de planta seca *ad libitum* (primeiros sinais clínicos após 35 dias de administração) (COLODEL et al., 2002a).

Os cervos avaliados nesse estudo apresentaram, principalmente, tremores musculares, postura em base ampla, tremores de intenção, debilidade dos membros e quedas frequentes, semelhantes ao apresentado em cervo-mula (*Dama dama*) intoxicado por *Sida carpinifolia* no Brasil (PEDROSO et al., 2009), e por outras espécies de animais domésticos (COLODEL et al., 2002a; LORETTI et al., 2003; SEITZ et al., 2005; FURLAN et al., 2009; ARMIÉN et al., 2007, 2010, DANTAS et al., 2007). A paralisia flácida dos membros e a acentuada perda do tônus lingual observada no Cervo 7 são sinais neurológicos ainda não descritos em outras espécies de animais intoxicados por *Sida carpinifolia* e podem contribuir para o diagnóstico da doença. A paresia espástica descrita na glicoproteinose induzida por swainsonina em outras espécies não foi observada em nenhum dos cervos desse estudo, semelhante ao já descrito por Pedroso et al., (2009) que relatam fraqueza muscular com incapacidade de se manter em estação. Já Stegelmeier et al., (2005) descrevem que, após 120 dias da administração de *Oxytropis sericea*, os cervos apresentaram relutância em se movimentar e após 180 dias, observam-se tremores de intenção sutis, quando os animais se moviam, e todos estavam relutantes em se mover ou faziam isso lentamente e as vezes tropeçavam.

O quadro de paralisia flácida principalmente dos membros pélvicos desenvolvido pelos cervos desse estudo pode estar associado ao acentuado grau de degeneração e perda de neurônios do tronco encefálico e/ou neurônios motores inferiores da medula espinhal. Já a acentuada depressão do tônus lingual pode ser atribuída aos danos ocorridos pela intensa vacuolização em neurônios dos núcleos de nervos cranianos, como o hipoglosso, no tronco encefálico. Essa última alteração foi descrita em caprinos intoxicados por *Turbina cordata* (DANTAS et al., 2007), enquanto a dificuldade em mastigar e deglutir foi observada em ovinos intoxicados experimentalmente por *S. carpinifolia* (SUMMERS et al., 1995; SEITZ et al., 2005).

Embora os nove cervos tenham apresentado distúrbios neurológicos acentuados, em três deles (Cervos 4, 5 e 9) houve regressão parcial dos sinais neurológicos; quando esses foram reintroduzidos no rebanho houve morte de apenas um deles (Cervo 9), após serem observados novamente os sinais neurológicos acentuados da intoxicação. Frequentemente, animais intoxicados por plantas que contêm swainsonina e que têm melhora dos sinais clínicos tendem a desenvolver preferência em ingeri-las ao serem reintroduzidos nas pastagens invadidas e tornam a apresentar sinais da intoxicação (RIET-CORREA et al., 2007).

A evolução clínica da doença nos cervos foi semelhante ao que ocorre em cabras (DRIEMEIER et al., 2000), no entanto, difere um pouco dos achados clinicopatológicos observados nos equinos intoxicados por *Sida carpinifolia* (LORETTI et al., 2003). Em

pequenos e grandes ruminantes, a doença pode ter um curso mais longo, e geralmente os animais morrem por complicações secundárias a acidentes, diferentemente dos equinos que desenvolvem a forma aguda da intoxicação (DRIEMEIER et al., 2000; LORETTI et al., 2003). Embora a avaliação histológica não tenha sido realizada em todos os animais intoxicados, os Cervos 4 e 9 demonstraram um curso clínico crônico com episódios de melhora e recidivas e alguns deles com regressão parcial dos sinais clínicos (Cervos 4 e 5), como ocorre em outras espécies de ruminantes (DRIEMEIER et al., 2000; COLODEL et al., 2002a; SEITZ et al., 2005). Apenas o Cervo 6, que embora tenha tido uma evolução clínica mais longa, desenvolveu lesões agudas e morte rápida após um quadro de recidiva dos sinais clínicos.

Acredita-se que os sinais clínicos neurológicos apresentados por ovelhas intoxicadas por *Ipomoea carnea*, provavelmente induzidos por marcado dano seletivo em células nervosas, podem relacionar-se de forma diferenciada com os circuitos motor e sensorial e sistemas de consciência, o que poderia levar a morte dos animais mesmo depois de cessada a ingestão da planta (ARMIÉN et al., 2010). Essa hipótese não pode ser descartada como parte da patogênese da intoxicação por *Sida carpinifolia*, tanto em cervos, como em outros herbívoros.

Nos registros sobre a intoxicação natural e experimental por *Sida carpinifolia* e pelas demais plantas que causam doença do acúmulo lisossomal há referência a não-ocorrência de alterações macroscópicas significativas, causadas diretamente pela ação da planta, mesmo nos tecidos onde a vacuolização é acentuada (DRIEMEIER et al., 2000; COLODEL et al., 2002a; LORETTI et al., 2003; FURLAN et al., 2008, 2009; PEDROSO et al., 2009). Nesse estudo, o Cervo 6 apresentou coloração pálida e aumento do volume dos rins, caracterizado por leve protrusão do parênquima renal após o corte, lesões causadas pela tumefação/vacuolização de células dos túbulos renais induzida pela planta e deve ser considerada como alteração macroscópica em casos graves da intoxicação por *S. carpinifolia*. As hemorragias leves observadas no subcutâneo, na musculatura e no fígado do Cervo 6 foram atribuídas a traumas sofridos por agressão de machos adultos dominantes no momento em que era fornecida a alimentação.

A intensa vacuolização de neurônios do córtex telencefálico, do cerebelo e do tronco encefálico, neste último em núcleos da rafe, do hipoglossos, e em neurônios motores inferiores na medula espinhal do Cervo 6, justificam os distúrbios neurológicos observados nesse cervo. O fato do Cervo 6 ter apresentado melhoras e ter sido reconduzido ao recinto, proporcionou a reingestão de uma maior quantidade da planta e desenvolvimento de lesões agudas, semelhante ao que ocorre com caprinos (DRIEMEIER et al., 2000). O menor grau de vacuolização de neurônios dos Cervos 7 e 8 e a perda de grande parte das células de Purkinje sugerem uma ingestão prolongada da planta e reforçaram o diagnóstico de intoxicação crônica por *S. carpinifolia*. Os achados microscópicos no pâncreas, tireoides e rins foram semelhantes aos descritos em cervos (ADCOCK; KEISS, 1969; WOLFE; LANCE, 1984; STEGELMEIER et al., 2005; PEDROSO et al., 2009).

De forma similar ao que pode ocorrer nas variadas espécies animais em que a intoxicação já foi descrita (MAXIE; YOUSSEF, 2007; RIET-CORREA et al., 2007), a tumefação/vacuolização nas células de túbulos renais foi observada nos três cervos avaliados histologicamente. Além disso, o Cervo 6 chamou atenção também pela acentuada tumefação/vacuolização das células da cápsula de Bowman. Ovinos intoxicados experimentalmente com *Ipomoea carnea* sub *fistulosa* também desenvolveram acentuada vacuolização e distensão do citoplasma de células epiteliais de túbulos renais (ARMIÉN et al., 2010). Em experimentos realizados a partir da

administração de *Oxytropis sericea* a cervos, a distribuição e a gravidade das lesões são diferentes das da maioria das espécies domésticas e mais semelhantes ao que ocorre em roedores. Nessas espécies, a vacuolização nas células epiteliais do rim e da tireoide são mínimas (STEGELMEIER et al., 2005); nos cervos intoxicados naturalmente por *S. carpinifolia*, o grau de lesão variou entre leve a acentuado nesses órgãos, o que sugere um grau de suscetibilidade semelhante ao observado em caprinos e bovinos (DRIEMEIER et al., 2000, FURLAN et al., 2009).

A avaliação através da lectina-histoquímica demonstrou o acúmulo de material composto por oligossacarídeos. O padrão de marcação lectino-histoquímica observado em células de Purkinje foi semelhante aos resultados verificados na intoxicação por swainsonina e outras manosidoses em seres humanos, gatos e bovinos (DRIEMEIER et al., 2000; MAXIE; YOUSSEF, 2007). A reação positiva para sWGA e WGA nos cervos, indica a expressão de  $\beta$ -D-N-acetil-glucosaminase e ácido acetil-neuramínicos e positiva para Con-A, a expressão de  $\alpha$ -D-manose e  $\alpha$ -D-glucose (GOLDESTEIN et al., 1980), padrão semelhante ao descrito em um gamo intoxicado por *Sida carpinifolia* (PEDROSO et al., 2009). A reação leve a moderada nas células de Purkinje por UEA-I, PNA, RCA-I, SBA, DBA foi observada nos tecidos afetados e de forma leve e inespecífica nos controle negativos, o que demonstra sua baixa especificidade tanto para cervos como para outras espécies de herbívoros.

É possível que a coloração leve a moderada, obtida no presente estudo com UEA-I, PNA, RCA-I, SBA, DBA corresponda a um padrão normal para lectinas em cervos dessa espécie. A marcação no SNC foi aparentemente mais intensa aos padrões normais dessas lectinas para caprinos ((DRIEMEIER et al., 2000). No entanto, mais avaliações devem ser realizadas para se obter padrões mais específicos de marcação nessa espécie de cervídeos intoxicados por *Sida carpinifolia*. A acentuada tumefação e vacuolização dos neurônios de Purkinje, com marcada lise de lisossomos demonstrada na avaliação ultraestrutural no Cervo 6, pode ter promovido a marcação rarefeita no citoplasma, mais acentuada nas bordas citoplasmáticas.

Alterações ultraestruturais da intoxicação por *Sida carpinifolia* ainda não haviam sido descritas em herbívoros selvagens. Nos cervos em estudo, através da avaliação ultraestrutural constatou-se a dilatação de lisossomos. Esse achado é bastante semelhante aos observados em outros estudos da doença causada por *S. carpinifolia* e por outras plantas que causam  $\alpha$ -manosidose em herbívoros (DRIEMEIER et al., 2000; STEGELMEIER et al., 2005; ARMIÉN et al., 2007, 2010). Os vacúolos estavam ligados à membrana e alguns continham partículas reticuladas e corpos densos mielinizados em neurônios e axônios. A presença de esferoides preenchidos por corpos túbulo-vesiculares e densos pode decorrer da deficiência parcial de lisossomos sobrecarregados, ou seja, incapazes de degradar lipídeos, que acabam sendo conduzidos pelo fluxo axonal até uma posição mais distal (JOLLY; WALKLEY, 1997). Como na maioria das doenças lisossomais, os neurônios foram as células mais consistentemente afetadas (SUMMERS et al., 1994; MAXIE; YOUSSEF, 2007).

Após o diagnóstico definitivo da intoxicação por *S. carpinifolia* nos cervos, o procedimento inicial foi impedir o consumo da planta pelos animais já intoxicados, o que possibilitou a melhora de alguns deles. Isso permitiu que menos animais fossem eutanasiados ou morressem por acentuação dos sinais clínicos. Concomitantemente, novos cochos foram introduzidos no recinto para facilitar o fracionamento do alimento que era fornecido, de forma que cervos jovens e adultos tivessem melhor acesso o que resultou na menor procura pela planta. Num segundo momento, toda *S. carpinifolia* foi removida do recinto e substituída por capim Tifton (*Cynodon dactylon*). A partir desses procedimentos nenhum outro caso da doença foi registrado.

A análise e adequação do habitat de animais selvagens são consideradas as ferramentas mais importantes para a gestão e planejamento de parques nacionais. O habitat ideal para ruminantes selvagens depende de uma ampla variedade de fatores como solo, topografia, disponibilidade de água e vegetação. Cervos Sambar exigem uma cobertura vegetal e produtos alimentares a um nível crítico de 0-2 m de altura. Estudos revelaram que esses animais são indivíduos que selecionam forragem composta de folhas e ervas, vivem em pequenos grupos em densas florestas e raramente são vistos em campos abertos (PORWAL et al., 1996). Nos casos em estudo, o ambiente onde os animais eram mantidos oferece poucas árvores e arbustos e nenhuma alimentação à base de leguminosas. Além disso, o número de animais também era muito alto, correspondendo a mais um fator de desequilíbrio na estrutura grupal desses indivíduos, fator que contribuiu para o desenvolvimento da intoxicação.

No Brasil, alguns cativeiros têm utilizado plantas como alfafa (*Medicago sativa*), arachis (*Arachis pintoi*) e leucena (*Leucaena leucocephala*), dentre outras leguminosas como fonte de volumoso para na alimentação e ambientação, especialmente para cervídeos brasileiros (DUARTE, 2006). Dada a intensa redução das populações dos diversos tipos de cervídeos por todo o Brasil, especialmente decorrente da caça predatória, da redução e modificação dos habitats, há uma crescente necessidade da criação de cativeiros especializados para essas espécies. O intuito principal desses recintos é preservar o estoque genético original das populações naturais (DUARTE, 2006). Essa nova realidade, porém, traz desafios com relação à biologia e à sanidade desses rebanhos. Nesse cenário aumentam os riscos de intoxicações por plantas invasoras nesses ambientes, em decorrência da dificuldade de reproduzir ambientes adequados em cativeiros, principalmente com relação à vegetação utilizada como fonte de volumoso e as fontes de alimento.

## 6 CONCLUSÕES

- Demonstra-se a suscetibilidade de cervos Sambar (*Cervus unicolor*) ao princípio tóxico de *Sida carpinifolia*.
- A ocorrência do surto de doença do acúmulo lisossomal por ingestão de *S. carpinifolia* em cervos Sambar foi decorrente da restrição alimentar e da hierarquia no rebanho.
- Os aspectos clinicopatológicos, lectino-histoquímicos e ultraestruturais apresentados pelos cervos desse estudo são similares aos observados em herbívoros domésticos.
- Aumentar e distribuir o número de cochos pelo recinto e fornecer alimento em quantidades diárias adequadas foram medidas de controle eficazes nesse surto.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADCOCK, J.L.; KEISS, R. Locoism in elk. **Wildlife Disease Association**, v.5, p.121-124, 1969.
- AGMOULIS, D.P. The pathology of lysosomal storage diseases. **Pathology Annual**, v.30, p.247-285, 1995.
- AHERN-RINDELL, A.J.; PRIEUR, D.J.; MURNANE, R.D.; RAGHAVAN, S.S.; DANIEL, P.E.; MCCLEUR, R.H.; WALKLEY, S.U.; PARISH, S.M. Inherited lysosomal storage disease associated with deficiencies of  $\beta$ -galactosidase and  $\alpha$ -neuraminidase in sheep. **American Journal of Medical Genetics**, v.31, p.39-56, 1988.
- ALROY, J.; ORGAD, U.; UCCI, A.A.; GAVRIS, V.E. Swainsonine toxicosis mimics lectin histochemistry of mannosidosis. **Veterinary Pathology**, v.22, p.311-316, 1985.
- ANTONIASSI, N.A.B.; FERREIRA, E.V.; SANTOS, C.E.P.; CAMPOS, J.L.E.; NAKAZATO, L.; COLODEL, E.M. Intoxicação espontânea por *Ipomoea carnea* subsp. *fistulosa* (Convolvulaceae) em bovinos no Pantanal Matogrossense. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.27, n.10, p.415-418, 2007.
- ARMIÉN, A.G. **Vergleichende klinische und morphologische Untersuchungen zur spontanen und experimentellen Vergiftung durch *Ipomoea fistulosa* (Convolvulaceae) bei Ziegen**. Tese de doutorado, Justus-Liebig-Universität Giessen, Alemanha, 212p. 2000.
- 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, p.170-184, 2007.
- ARMIÉN, A.G.; TOKARNIA, C.H.; PEIXOTO, P.V.; BARBOSA, J.D.; FRESE, K. Clinical and morphological aspects in sheep and fetuses experimentally poisoned by swainsonine-containing and calystegine-containing plant *Ipomoea carnea* subsp. *fistulosa*. 2010. Para publicação.
- ASSIS, T.S.; MEDEIROS, R.M.T.; RIET-CORREA, F.; GALIZA, G.J.N.; DANTAS, A.F.M.; OLIVEIRA, M.D. Intoxicação por plantas diagnosticadas em ruminantes e equinos e estimativa das perdas econômicas na Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.30, n.1, p.13-20, 2010.
- BALOGH, K.K.I.M.; DIMANDE, A.P, LUGT, J.J.; MOLYNEUX, R.J.; NAUDÉ, T.W.; WELMAN, W.G. A lysosomal storage disease induced by *Ipomoea carnea* in goats in Mozambique. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.11, p.266-273, 1999.
- BARBOSA, R.C.; RIET-CORREA, F.; MEDEIROS, R.M., 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, p.371-379, 2006.

BARROS, S.S.; RIET-CORREIA, F.; ANDUJAR, M.B. BARROS, C.S.L.; MÉNDEZ, M.C.; SCHILD, A.L. *Solanum fastigiatum* var. *fastigiatum* and *Solanum* spp. poisoning in cattle: ultrastructural changes in the cerebellum. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.7, n.1, p.1-5, 1987.

BARROS, C.S.L.; DRIEMEIER, D.; DUTRA, I.S.; LEMOS, R.A.A. **Doenças do Sistema Nervoso de Bovinos no Brasil**. Montes Claros, MG: Vallée, 2006. 207p.

BEDIN, M.; COLODEL, E.M.; GIUGLIANI, R.; ZLOTWSKI, P.; CRUZ, C.E.F.; DRIEMEIER, D. Urinary oligosaccharides: a peripheral marker for *Sida carpinifolia* exposure or poisoning. **Toxicon**, v.53, p.591–594, 2009.

BLAKEMORE, W.F. A case of mannosidosis in the cat: clinical and histopathological findings. **Journal of Small Animals Practice**, v.27, p. 447-455, 1986.

BOURKE, C.A. The clinico-toxicological differentiation of *Phalaris* spp. Toxicity syndromes in ruminants, p.523-528. In: COLEGATE, S.M., DORLING, P.R. (Ed) **Plant-associated toxins. Agricultural, Phytochemical and Ecological Aspects**. Slough, UK: CAB International, Farnham Royal, 1994. 596p.

BRYAN, L.; SCHMUTZ, S.; HODGES, S.D.; SNIDER, F.F. Bovine B-mannosidosis: pathologic and genetic findings in Salers calves. **Veterinary Pathology**, v.30, p.130-139, 1993.

BUNDZA, A.; LOWDEN, J.A.; CHARLTON, K.M. Niemann-Pick disease in a poodle dog. **Veterinary Pathology**, v.16, p.530-538, 1979.

CANAVAGH, K.T.; JONES, M.Z.; ABBITT, B.; SKINNER, R. Bovine plasma B-mannosidase activity and its potential use for  $\beta$ -mannosidosis carrier detection. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.4, n.4, p.434-440, 1992.

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

COLODEL, E.M.; GARDNER, D.R.; ZLOTOWSKI, 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, 2002b.

DAMIR, H.A.; ADAM, S.E.; TARTOUR, G. The effects of *Ipomoea carnea* on goats and 20 sheep. **Veterinary and Human Toxicology**, v.29, p.316-319, 1987.

DANTAS, A.F.; RIET-CORREA, F.; GARDNER, D.R.; MEDEIROS, R.M.; 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, p.111–116, 2007.

DORLING, R.; HUXTABLE, C.R.; COLEGATE, S.M. Inhibition of lysosomal  $\alpha$ -mannosidase by swainsonine, an indolizidine alkaloid isolated from *Swainsona cadescens*. **Biochemical Journal**, v.191, p.649-651, 1980.

DRIEMEIER, D.; COLODEL, E. M.; GIMENO, E.J.; BARROS, S.S. Lysosomal storage disease caused by *Sida carpinifolia* in goats. **Veterinary Pathology**, v.37, p.53–159, 2000.

DUARTE, J.M.B. *Artiodactyla-Cervidae* (Veado-catingueiro, Veado-campeiro, Cervodo-pantanal). p.641-664. In: CUBAS, Z.S., SILVA, J.C.R., CATÃO-DIAS, J.L. **Tratado de Animais Selvagens**. São Paulo: Roca, 2006.

FOWLER, M.E. Plant poisoning in free-living wild animals: a review. **Journal of Wildlife Diseases**, v.19, n.1, p.34-43, 1983.

FREY, R. *Ipomoea carnea* ssp. *fistulosa* (Martius ex-Choisy) Austin: Taxonomy, biology and ecology reviewed and inquired. **Tropical Ecology**, v.36, p.21-48, 1995.

FROSCH, M.P.; ANTHONY, D.C.; DEGIROLAMI, U. O sistema nervoso central. p.1411-1486. In: CUMAR, V.; ABBAS, A.K.; FAUSTO, N.; ROBBINS & COTRAN (Ed) **Bases patológicas das doenças**. 7ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005. 1592p.

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, p.35–38, 2008.

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, p.343–347, 2009.

GAVA, A.; SOUSA, R.S.; DE DEUS, M.S.; PILATI, C.; CRISTANI, J.; MORI, A.; NEVES, D.S. *Phalaris angusta* (Gramineae) como causa de enfermidade neurológica em bovinos no estado de Santa Catarina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.19, p.35–38, 1999.

GODOY, G.S., CASTRO NETO, A.; MOMO, C.; DUNE, A.C.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.), p.25, 2005.

GOLDSTEIN, I.J.; HAYES, C.E. The lectins: carbohydratebinding proteins of plant and animals. **Advances in Carbohydrate Chemistry & Biochemistry**, v.35, p.127–340, 1978.

GOLDSTEIN, I.J.; HAYES, C.E.; MONSIGNY, M.; OSAWA, T.; SHARON, N. What should be called a lectin? **Nature**, v.285, p.66, 1980.

GUPTA, RC. (Ed.) **Veterinary toxicology-basic and clinical principles**. EUA: Elsevier, 2007. 1201p.

- HAASE, R. Seasonal growth of algodão-bravo (*Ipomoea carnea* spp. *fistulosa*). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.34, p.159-163, 1999.
- HARAGUCHI, M.; GORNIK, S.L.; IKEDA, K.; MINAMI, Y.; KATO, A. WATSON, A.A.; NASH, R.J.; MOLINEUX, R.J.; AZANO, N. Alkaloidal components in the poisonous plant, *Ipomoea carnea* (Convolvulaceae). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.51, p.4995-5000, 2003.
- HARTLEY, W.J.; BLAKEMORE, W.F. Neurovisceral glucocerebroside storage disease (Gaucher's disease) in a dog. **Veterinary Pathology**, v.10, p.191-201, 1973a.
- HARTLEY, W.J.; BLAKEMORE, W.F. Neurovisceral storage and dysmyelogenesis in neonatal goats. **Acta Neuropathologica (Berl)**, v.25, p.325-333, 1973b.
- HASKINS, M.E.; OTIS, E.J.; HAYDEN, J.E.; JEZYK, P.E.; STRAMM, L. Hepatic storage of glycosaminoglycans in feline and canine models of mucopolysaccharidosis II, VI and VII. **Veterinary Pathology**, v.29, p.112-119, 1992.
- HEALY, P.J.; HARPER, P.A.; DENNIS, J.A. Fenotypic variation in bovine  $\alpha$ -mannosidosis. **Research in Veterinary Science**, v.49, n.1, p.82-84, 1990.
- HEALY, P.J.; KIDD, G.N.; REUTER, R.E.; BUNCE, C.; HOSIE, I.; STAPLETON T.  $\beta$ -Mannosidosis in Salers calves in Australia. **Australian Veterinary Journal**, v.69, p.145, 1991.
- IKEDA, K.; KATO, A.; ADACHI, I.; HARAGUCHI, M.; ASANO, N. Alkaloids from the poisoning plant *Ipomoea carnea*: effects on intracellular lysosomal glycosidase activities in human lymphoblast culture. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.51, p.7642-7646, 2003.
- JAMES, L.F.; PANTER, K.E. Locoweed poisoning in livestock. p.23-38. In: JAMES, L.F.; ELBEIN, A.D.; MOLYNEUX, R.J.; WARREN, C.D. (Eds.), **Swainsonine and related glycosidase inhibitors**. Iowa State University Press, Ames, 1989.
- JOLLY, R.D.; BLAKEMORE, W.F. Inherited lysosomal storage disease: an essay in comparative medicine. **Veterinary Record**, v.92, p.391-400, 1973.
- JOLLY, R.D.; THOMPSON, K.G. The pathology of bovine mannosidosis. **Veterinary Pathology**, v.15, p.141-152, 1978.
- JOLLY, R.D.; SHIMADA, A.; DOPFMER, I.; SLACK, P.M.; BIRTLES, M.J.; PALMER, D.N. Ceroid-lipofuscinosis (Batten's disease): pathogenesis and sequential neuropathological changes in the ovine model. **Neuropathology and Applied Neurobiology**, v.15, p.371-383, 1989.
- JOLLY, R.D., WALKLEY, S.U. Lysosomal storage disease of animals: an essay in comparative pathology. **Veterinary Pathology**, v.34, p.527-548, 1997.

KEANE, D.P.; BARR, D.J.; BOCHSLER, P.N.; HALL, S.M.; GIDLEWSKI, T.; O'ROURKE, K.I.; SPRAKER, T.R.; SAMUEL, M.D. Chronic wasting disease in a Wisconsin white-tailed deer farm. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.20, p.698-703, 2008.

KELLERMAN, T.S.; COETZER, J.A.W.; NAUD, T.W.; BOTHA, C.J. **Plant poisonings and mycotoxicoses of livestock in South Africa**. 2ed. EUA: Oxford university press, 2007. 256p.

KIILL, L.H.P.; RANGA, N.T. Biologia da reprodução de *Turbina cordata* (Choisy) Austin & Staples (Convolvulaceae) no sertão Pernambucano, Brasil. **Sitientibus série Ciências Biológicas**, v.4, n.1/2, p.14–19, 2004.

KISSMANN, K. G; GROTH, D. **Plantas infestantes e nocivas**. 2.ed. São Paulo: BASF Brasileira, Tomo III, 1997. 683p.

KNOWLES, K.; ALROY, J.; CASTAGNARO, M.; RAGHAVAN, S.S.; JAKOWSKI, R.M.; FREDEN, G.O. Adult-onset lysosomal storage disease in a Schipperd dog: clinical, morphological and biochemical studies. **Acta Neuropathologica (Berl)**, v.86, p.306-312, 1993.

KOPPANG, N. English Setter model and juvenile ceroidlipofuscinosis. **American Journal of Medical Genetics**, v.42, p.599-604, 1992.

LOCKE, K.B.; MCEWAN, D.R.; HAMDORF, I.J. Experimental poisoning of horses and cattle with *Swainsona canascens* var *horniana*. **Australian Veterinary Journal**, v.56, p.379-383, 1980.

LORENZI, H. **Plantas Daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, parasitas, tóxicas e medicinais**. 5ed. Nova Odessa, SP: Plantarum, 2000. p.471-478.

LORETTI, A.P.; COLODEL, E.M.; DRIEMEIER, D.; CORREA, A.M.; BANGEL, J.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, p.123-132, 2003a.

LORETTI, A.P.; COLODEL, E.M.; GIMENO, E.J.; DRIEMEIER, D. Lysosomal storage disease in *Sida carpinifolia* toxicosis: an induced mannosidosis in horses. **Equine Veterinary Journal**, v.35, p.434-438, 2003b.

MAXIE M.G.; YOUSSEF, S. Nervous system. p.283-455. In: MAXIE, M.G. (Ed). **Jubb, Kennedy and Palmers – Pathology of domestic animals**. EUA :Saunders, 5ed vol1, 2007. 2340p.

MEDWAY, L. **The wild mammal of Malaya (Peninsula Malaysia and Singapore)**. 2ed, Kuala Lumpur: Oxford University press, 1983. 131p.

NEUFELD, E.F. Lysosomal storage diseases. **Annual Review of Biochemistry**, v.60, p.257-280, 1991.

NOWAK, R. **Walker's Mammals of the World**, 6th ed. Baltimore and London: The Johns Hopkins University Press. 1999.

PAN, Y.T; GHIDONI, J; ELBEIN, A.D. The effects of castanospermine and swainsonine on the activity and synthesis of intestinal sucrase. **Archives of Biochemistry Biophysics**, v.303, p.134–144, 1993.

PANTER, K.E; BUNCH, T.D; JAMES, L.F.; SISSON, D.V. Ultrasonographic imaging to monitor fetal and placental developments in ewes fed locoweed (*Astragalus lentiginosus*). **American Journal of Veterinary Research**, v.48, p.686-690, 1987.

PAULOVICH, F.B.; PORTIANSKY, E.L.; GIMENO, E.J.; SCHILD, A.L.; MÉNDEZ, M.D.; RIET-CORREA, F. Lectin histochemical study of lipopigments present in the cerebellum of *Solanum fastigiatum* var. *fastigiatum* intoxicated cattle. **Journal of Veterinary Medicine Series A - Physiology Pathology Clinical Medic**, v.49, p.473-477, 2002.

PAYNE, J.C.; FRANCIS, K.; PHILLIPPS. **A Field Guide to the Mammals of Borneo**. Malaysia: The Sabah Society with WWF Malaysia, 1985.

PEDROSO, P.M.O.C.; VON HOHENDORF, R.; OLIVEIRA, L.G.S.S.; SCHMITZ, M.; CRUZ, C.E.F.; DRIEMEIER, D. *Sida carpinifolia* (Malvaceae) poisoning in Fallow Deer (*Dama dama*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v.40, p.583-585, 2009.

PEIXOTO, P.V; TOKARNIA, C.H. Comunicação pessoal, 2010.

PIMENTEL, L.A.; OLIVEIRA, D.M.; GALIZA, G.J.N.; REGO, R.O.; DANTAS, A.F.M.; RIET-CORREA, F. Doenças do sistema nervoso central de equídeos no semi-árido. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.29, n.7, p.589-597, 2009.

PORWAL, M.C.; ROY, P.S.; CHELLAMUTHU, V. Wildlife habitat analysis for 'sambar' (*Cervus unicolor*) in Kanha National Park using remote sensing. **International Journal of Remote Sensing**, v.17, n.14, p.2683-2697, 1996.

PRITCHARD, 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.; JAMES, L.F. Locoweed grazing. **Journal of Natural Toxins**, v.8, p.47–51, 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: epidemiologia, sinais clínicos e morfometria das lesões cerebelares. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.26, p.183-189, 2006.

RIET-CORREA, F.; MÉNDEZ, M.D.; SCHILD, A.L.; SUMMERS, B.A.; OLIVEIRA, J.A. Intoxication by *Solanum fastigiatum* var. *fastigiatum* as a cause of cerebellar degeneration in cattle. **Cornell Veterinary**, v.73, p.240-256, 1983a.

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

RIET-CORREA, F.; TABOSA, I.M.; AZEVEDO, E.O.; MEDEIROS, R.M.T.; SIMÕES, S.V.D.; DANTAS, A.F.M.; ALVES, C.J.; NOBRE, V.M.T.; ATHAYDE, A.C.R.; GOMES, A.A.; LIMA E.F. **Semi-árido em Foco, Patos-UFCG**, v.1, n.1, p.56-57, 2003.

RIET-CORREA, F.; MÉNDEZ, M.C. Intoxicação espontânea por plantas e micotoxinas. In: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A.L.; LEMOS, R.A.A., BORGES, J.R.J. (Eds.), **Doenças de Ruminantes e Equídeos**, 3ed. vol 2. Santa Maria, Brazil: Pallotti, 2007. p. 99–221.

RIET-CORREA, F.; BARROS, S.S.; MÉNDEZ, M.C.; GEVEHR-FERNANDES, C.; NETO, O.A.P.; SOARES, M.P.; MCGAVIN, M.D. Axonal degeneration in sheep caused by the ingestion of *Halimium brasiliense*. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.21, p.478–486, 2009.

SCHMITT, S.M.; COOLEY, T.M.; FITZGERALD, S.D.; BOLIN, S.R.; LIM, A.; SCHAEFER, S.M.; KIUPEL, M.; MAES, R.K.; HOGLE, S.A.; O'BRIEN, D.J. An outbreak of eastern equine encephalitis virus in free-ranging white-tailed deer in Michigan. **Journal of Wildlife Diseases**, v.43, n.4, p.635–644, 2007.

SEITZ, A.L.; COLODEL, E.M.; SCHMITZ, M.; GIMENO, E.J.; DRIEMEIER, D. *Sida carpinifolia* (Malvaceae) poisoning in sheep. **The Veterinary Record**, v.156, p.386–388, 2005.

SOUSA, S.S.; IRIGOYEN, L.F. Intoxicação experimental por *Phalaris angusta* (Gramineae) em bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.19, n.3/4, p.116-122, 1999.

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, p.289-298, 1995.

STEGELMEIER, B.L.; JAMES, L.F.; PANTER, K.E.; RALPHS, M.H.; GARDNER, D.R.; MOLYNEUX, R.J.; PFISTER, J.A. The pathogenesis and toxicokinetics of locoweed (*Astragalus* and *Oxytropis* subsp.) poisoning in livestock. **Journal of Natural Toxins**, v.8, p.35–45, 1999.

STEGELMEIER, B.L.; JAMES, L.F.; PANTER, K.E.; LEE, S.T.; RALPHS, M.H.; PFISTER, J.A.; SPRAKER, T.R. Locoweed (*Oxytropis sericea*)-induced lesions in mule deer (*Odocoileus hemionus*). **Veterinary Pathology**, v.42, p.566–578, 2005.

STEIN, L.T.; RECH, R.R.; HARRISON, L.; BROWN, C.C. Immunohistochemical study of rabies virus within the central nervous system of domestic and wildlife species. **Veterinary Pathology**, v.47, n.4, p.630-633, 2010.

SUMMERS, B.A.; CUMMINGS, J.F.; LAHUNTA, A. Degenerative diseases of the central nervous system: metabolic and circulatory disorders, p.208-349. In: \_\_\_\_ (Ed.), **Veterinary Neuropathology**. St Louis, Missouri: Mosby, 1994. 527p.

TATE, G. **Mammals of Eastern Asia**. New York: The Macmillan Company, 1947.

TOKARNIA, C.H.; DÖBEREINER, J.; CANELLA, C.F.C. Estudos experimental sobre a toxidez do “canudo”( *Ipomoea fistulosa*) em ruminantes. **Arquivos do Instituto de Biologia Animal**, v.3, p.59-71, 1960.

TOKARNIA, C.H.; DÖBEREINER, J.; PEIXOTO, P.V. **Plantas Tóxicas do Brasil**. Rio de Janeiro: Helianthus, 2000. 310 p.

TULSIANI, D.R.P.; HARRIS, T.M.; TOUSTER, O. Swainsonine inhibits the biosynthesis of complex glycoproteins by inhibition of Golgi mannosidase II. **Biological Chemistry**, v.257, n.14, p.7936-7939, 1982.

VAN DER LUGT, J.J. 2002. Lysosomal storage diseases, p.15-16. In: VAN DER LUGT, J.J. (ed.) **The Clinicopathology and Pathology of Selective Toxicoses and Storage Diseases of the Nervous System of Ruminants in Southern Africa**. The Netherlands: University of Utrecht. 174p.

VANDEVELDE, M.; FRANKHAUSER, R.; BICHSEL, P.; WIESMANN, U.; HERSCHKOWITZ, N. Hereditary neurovisceral mannosidosis associated with  $\alpha$ -mannosidase deficiency in a family of Persian cats. **Acta Neuropathologica (Berl)**, v.58, p. 64-68, 1988.

WALVOORT, H.C. Canine glycogen storage disease type II. A biochemical study of an  $\alpha$ -glucosidase-deficient Lapland dog. **Biochem Biophys Acta**, v.715, p. 63-69, 1982.

WELSH, S.L, ATWOOD, N.D.; GOODRICH, S.; HIGGINS, L.C. eds. **A Utah Flora**. 3 ed. Brigham Young University Press, Provo, Utah, 2003.

WOLFE, G.J.; LANCE, W.R. Locoweed poisoning in a northern New Mexico elk herd. **Journal of Range Manage**, v.37, p.59-63, 1984.

ZACHARY, J.F. Nervous system. In: MCGAVIN, M.D.; ZACHARY, F. p.833-971. **Pathologic basis of veterinary disease**, 4ed. Philadelphia, Elsevier: 2007. 1476p.

ZAMBRANO, M.S.; RIET-CORREA, R.; SCHILD, A.L.; MÉNDEZ, M.C. Intoxicação por *Solanum fastigiatum* var. *fastigiatum*: evolução e reversibilidade das lesões em bovinos, e suscetibilidade de ovinos, coelhos, cobaias e ratos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.5, n.4, p.133-141, 1985.

ZHOU, X.Y.; MORREAU, H.; ROTTIER, R.; DAVIS, D.; BOUTEN, E.; GILLEMANS, N.; WENGER, D.; GROSVELT, F.G.; DOHERTY, P.; SUZUKI, K.; GROSVELT, G.C.; D’AZZO, A. Mouse model for the lysosomal disorder galactosialidosis and correction of the phenotype with over expressing erythroid precursors cells. **Genes & Development**, v.9, p. 2623-2634, 1995.

## 8 ANEXOS

### Anexo A. Ficha de avaliação clínica

<b>Protocolo de Exame Clínico</b>
-----------------------------------

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Hora: \_\_\_\_\_

Identificação do animal: \_\_\_\_\_

Tempo de evolução: \_\_\_\_\_

- Início / Curso: \_\_\_\_\_

/

Exame físico geral:

Score Corporal: 1    2    3    4    5

Atitude: Hiperativo    Ativo    Apático    Letárgico    Semicomatoso

Apetite: Aumentado    Normal    Diminuído    Ausente

Sede: Aumentada    Normal    Diminuída    Ausente

Outras alterações à

inspeção: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Temperatura: \_\_\_\_\_

**Hidratação:**

TPC: \_\_\_\_\_ segundos    Turgor cutâneo: \_\_\_\_\_ segundos

Enoftalmia:    sim    não

Exame dos Sistemas:

**Cardiocirculatório:**

FC/min: \_\_\_\_\_ Localização choque de ponta: \_\_\_\_\_ Esp. Intercostal

Ausculta: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Intensidade do Pulso: fraco    normal    aumentado

outros: \_\_\_\_\_

Edemas: onde? \_\_\_\_\_

**Respiratório:**

Secreção: serosa    mucosa    purulenta    hemorrágica    normal    narinas secas e  
descamadas

FR/min: \_\_\_\_\_

Tipo de Dispnéia: Inspiratória    Expiratória    Mista

Sons

anormais: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**Digestivo:**

Contorno

Abdominal: \_\_\_\_\_

Fossa para lombar esquerda: normal      distendida      profunda

Fossa para lombar direita: normal      distendida      profunda

Tensão abdominal: normal      aumentada      diminuída

Movimentos ruminais/ min: \_\_\_\_\_

peristaltismo/min: \_\_\_\_\_

Fezes: Normais      Escassas      Pastosas      diarréicas      com muco

digeridas      melena      hematoquezia

Percussão Lado esquerdo:

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Percussão Lado Direito:

---

**Tegumentar:**

Pele: Escoriações      Feridas      Contusões      Edema      Necrose

Local: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**Urinário:**

Horário das micções: \_\_\_\_\_ hs      \_\_\_\_\_ hs

\_\_\_\_\_ hs

Micção: Ausente      Oligúria      Disúria      Poliúria

Urina: Normal      Amarelada      Amarronzada      Vermelha

**Linfático:**

Linfonos :

Submandibulares: \_\_\_\_\_

Retrofaríngeos: \_\_\_\_\_

Supraescapulares: \_\_\_\_\_

Pré crurais: \_\_\_\_\_

Poplíteos: \_\_\_\_\_

Retromamários: \_\_\_\_\_

Escrotais: \_\_\_\_\_

Outros: \_\_\_\_\_

Locomotor:

## Anexo B. Ficha da avaliação neurológica

### Protocolo de Exame Clínico Neurológico

Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

RG: \_\_\_\_\_

Identificação do animal: \_\_\_\_\_

Tempo de evolução: \_\_\_\_\_  
/

- Início / Curso: \_\_\_\_\_

Exame físico: - Estado de nutrição: \_\_\_\_\_

- Atitude:

- Frequência respiratória: \_\_\_\_\_ mpm  
\_\_\_\_\_ %

- Grau de desidratação:

- Frequência cardíaca: \_\_\_\_\_ bpm  
mucosas: \_\_\_\_\_

-Coloração de

- Temperatura: \_\_\_\_\_ °C

-Linfonodos aparentes:

\_\_\_\_\_

### EXAME NEUROLÓGICO

#### 1. CABEÇA:

NÍVEL DE CONSCIÊNCIA: ( ) Atento/Alerta ( ) Delírios ( ) Apático/Deprimido

( ) Semicomatoso/Estupor

( ) Comatoso ( ) Hiperexcitabilidade

COMPORTAMENTO: ( ) Mugidos ( ) Bocejos ( ) Lamber ( ) Manias ( ) Convulsões

( ) Agressividade ( ) Pressionar a cabeça ( ) Curso errante ( ) Andar compulsivo ( )  
Balançar a cabeça

( ) Andar em círculo ( ) Pressão da cabeça contra objetos ( ) Agressividade

POSTURA: ( ) Desvio lateral da cabeça ( ) Giro ortotônico da cabeça e pescoço ( )

Tremores ( ) Balançar da cabeça ( ) Opistótono ( ) Pleurotótono

Outras observações:

---

---

---

---

---

---

---

---

## 2. Nervos cranianos:

N = Normal; A = Ausente; P = Presente; D = Diminuído; AA = Aumentado

Pares de Nervos		Direito	Esquerdo		
I – Olfatório					
II – Óptico (Visão)					
III – Oculomotor	Reflexo pupilar – direto (II, III)				
	Reflexo pupilar – consensual (II, III)				
	Reflexo pupilar – esquerdo (II, III)				
	Reflexo pupilar – consensual (II, III)				
	Estrabismo lateral				
IV – Troclear		Estrabismo dorso medial			
V - Trigêmio	Sens.	Reflexo palpebral			
		Sensibilidade da face			
	Mot.	Mastigação			
		Massa muscular			
VI - Abducente		Estrabismo medial			
VII – Facial (Motor)		Ptose auricular			
		Ptose palpebral			
		Ptose labial			
VIII – Vestibulococlear (Sistema Vestibular)		Audição			
		Desvio de cabeça			
		Estrabismo ventro-lateral			
		Nistagmo	Fisiológico		
			Horizontal		
			Vertical		
			Rotacional		
Posicional					
Fase rápida					
IX – Glossofaríngeo (Motor)		Deglutição			
X - Vago		Deglutição			
		“Slap Test”			
XI – Acessório		Atrofia esternocéfálico			
		trapézio			
		braquiocefálico			

	omotransverso		
XII - Hipoglosso	Protrusão / Desvio de língua		
	atrofia		
	Apreensão de alimento e água		

		<b>Direito</b>	<b>Esquerdo</b>
Síndrome de Horner (SNA – simpático)	Miose		
	Enoftalmia		
	Prolapso de 3º- pálpebra		
	Sudorese (face, pescoço)		

Exame de fundo de olho:

---



---



---



---

### 3. Andar:

<b>( A ) Ausente</b>	<b>( P ) Presente</b>
----------------------	-----------------------

- 0** = padrão normal de locomoção;  
**1** = déficits dificilmente observados durante a locomoção em linha reta, mas confirmados após a realização de manobras especiais;  
**2** = déficits facilmente observados durante a locomoção em linha reta e exarcebados durante a realização de manobras especiais  
**3** = o animal pode cair quando manobras especiais são realizadas e geralmente apresentam posturas anormais mesmo quando parado;  
**4** = quedas espontâneas durante a locomoção;  
**5** = decúbito permanente

	Esquerdo		Direito	
	Anterior	Posterior	Anterior	Posterior
Ataxia				
Grau				

	Esquerdo		Direito	
	Anterior	Posterior	Anterior	Posterior
Paresia				
Hipermetria				
Hipometria				
Espasticidade				
Flacidez				



Reflexo patelar		
Reflexo tibial cranial		
Reflexo gastrocnêmio		
Reflexo ciático		
Reflexo flexor		

### 5. Cauda e Ânus:

N = Normal; A = Ausente; P = Presente; D = Diminuído; AA = Aumentado

		Cauda	Ânus
Atrofia			
Tônus			
Reflexos			
Sensibilidade	superficial		
	profunda		

### 6. Palpação Retal:

---



---



---



---



---

➤ **Local da lesão neurológica:** \_\_\_\_\_

➤ **Residente responsável:**  
\_\_\_\_\_

➤ **Docente responsável:**  
\_\_\_\_\_

➤ **Data e assinatura:**  
\_\_\_\_\_