

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
CURSO DE ESPECIALIZAÇÃO
EM CLÍNICA MÉDICA DE FELINOS DOMÉSTICOS

TRABALHO DE CONCLUSÃO DO CURSO DE ESPECIALIZAÇÃO
EM CLÍNICA MÉDICA DE FELINOS DOMÉSTICOS

ANDRÉ FERNANDES DE AZEVEDO

PORTO ALEGRE

2021

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
CURSO DE ESPECIALIZAÇÃO
EM CLÍNICA MÉDICA DE FELINOS DOMÉSTICOS

DOENÇA DE ACÚMULO LISOSSOMAL EM UM GATO

Nome do autor: André F. de Azevedo

**Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado como requisito para
conclusão do Curso de Especialização
em Clínica Médica de Felinos
Domésticos.**

**Orientador: Prof. Dra. Fernanda Vieira
Amorim da Costa**

PORTO ALEGRE

2021

RESUMO

Um paciente felino sem raça definida, macho, de cinco meses de idade foi atendido apresentando sinais progressivos de ataxia cerebelar e tremor de intenção. O paciente havia sido adotado três meses antes e na ocasião já apresentava um leve tremor de cabeça. Não havia informações sobre os pais ou dos irmãos de ninhada. Realizou-se a investigação para doenças inflamatórias/infecciosas através de exames de sangue e análise do líquido cerebrospinal, porém nenhuma causa pôde ser identificada. Foram prescritas prednisolona e a associação sulfadiazina-trimetoprim. Após quase dois meses desde o atendimento inicial, a despeito do tratamento, o paciente continuava a apresentar sinais neurológicos progressivos, incluindo ataxia cerebelar e proprioceptiva, tremor de intenção, tendência a cair, resposta à ameaça ausente bilateralmente, reflexo oculocefálico ausente bilateralmente e déficits proprioceptivos nos quatro membros, sendo então eutanasiado. O exame *post mortem* foi realizado, revelando tumefação neuronal com intensa vacuolização citoplasmática e moderada formação de esferoides axonais, em regiões de tálamo, hipocampo, medula oblonga, mesencéfalo, corpo estriado, córtex telencefálico e cerebelo, além de redução dos neurônios de Purkinje. Também foi observada vacuolização citoplasmática em células dos túbulos contorcidos renais e nos hepatócitos. Tais achados justificam o quadro neurológico do paciente, sendo compatíveis com doenças de acúmulo lisossomal – um grupo de doenças degenerativas raras, de causa genética, caracterizadas por deficiências enzimáticas que geram acúmulo de substrato dentro dos lisossomos, e consequente disfunção e morte celular.

Palavras-chave: doença degenerativa; doença de armazenamento; neuropatologia; felino; encéfalo; lisossomo

ABSTRACT

A 5-month-old male mixed breed cat was seen with progressive signs of cerebellar ataxia and intention tremor. The animal had been adopted three months before and at that time already had a slight head tremor. There was no information about parents or littermates. Investigation for inflammatory/infectious diseases was carried out through blood tests and cerebrospinal fluid analysis, but no causative agent could be identified. The patient was prescribed prednisolone and the association of sulfadiazine-trimethoprim. Almost two months since the initial consultation, despite treatment, the cat still had progressive neurological signs, including cerebellar and proprioceptive ataxia, intention tremor, tendency to fall, bilateral absent menace response, bilateral absent oculocephalic reflex, and proprioceptive deficits in all four limbs, being then euthanized. Postmortem examination was performed, revealing neuronal swelling with intense cytoplasmic vacuolization and moderate formation of axonal spheroids, in regions of thalamus, hippocampus, medulla oblongata, midbrain, corpus striatum, telencephalic cortex and cerebellum, in addition to a reduction in Purkinje neurons numbers. Cytoplasmic vacuolization was also observed in convoluted renal tubule cells and in hepatocytes. Such findings justify the patient's neurological status, being compatible with lysosomal storage diseases – a group of rare degenerative diseases, of genetic origin, characterized by enzymatic deficiencies that lead to substrate accumulation within the lysosomes, and consequent cell dysfunction and death.

Keywords: degenerative disease; neuropathology; feline; brain; lysosome

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Esquema representando os principais tipos de enzimas envolvidas no funcionamento lisossomal.....09
- Figura 2 – Representação da cascata de catabolismo lisossomal. No primeiro cenário, o funcionamento normal da cascata metabólica, degradando o substrato L até produto O. No segundo, a redução da atividade catalítica da enzima que converte M em N resulta no bloqueio metabólico e acúmulo da molécula M no lisossomo.....10
- Figura 3 – Eletromicrografia de um leucócito polimorfonuclear de um gato com MPS VI, mostrando os lisossomos aumentados, contendo dermatan sulfato.....11
- Figura 4 – Eletromicrografia de uma célula da valva mitral de um gato com MPS I, mostrando o número extremo de vacúolos, perda de definição das organelas e perda da conformação celular.....11
- Figura 5 – Um gato siamês normal (lado esquerdo), ao lado do seu irmão de ninhada acometido por MPS VI (lado direito). Note a face achatada e a postura inapropriada, causada pela fusão de vértebras cervicais e lombares.....15
- Figura 6 – Paciente felino, com cinco meses de idade, durante o atendimento.....20

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DAL	doença de acúmulo lisossomal
IR	intervalo de referência
LCE	líquido cerebrospinal
MPS	mucopolissacaridose
PCD	pelo curto doméstico

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	08
2 REVISÃO DE LITERATURA	09
2.1 Biologia lisossomal e bloqueio catabólico	09
2.2 Patogênese	11
2.3 Classificação	12
2.4 Herdabilidade genética	14
2.5 Resenha	14
2.6 Sinais clínicos	14
2.7 Diagnóstico	15
2.8 Tratamento	17
2.9 Prognóstico	18
3 RELATO DE CASO	19
4 DISCUSSÃO	21
5 CONCLUSÃO	24
REFERÊNCIAS	25

1 INTRODUÇÃO

O termo “doença de acúmulo lisossomal” (DAL) descreve um grupo diverso de desordens que têm como principal característica o acúmulo anormal de substrato dentro dos lisossomos (SKELLY, FRANKLIN, 2002; PLATT *et al.*, 2018). Entre humanos, refere-se a doenças metabólicas raras individualmente (um caso a cada 50.000 a 250.000 nascimentos), mas que, quando contabilizadas como grupo, apresentam incidência relevante na medicina humana (aproximadamente um caso a cada 5.000 nascimentos) (MEIKLE *et al.*, 1999).

Até o momento não há estudos sobre a incidência de DALs na população geral de cães e gatos. Porém, alguns estudos, como o de Crawley *et al.* (2003), mostram que mutações genéticas relacionadas a DALs podem estar presentes em uma parcela significativa de certas populações. No estudo em questão foi verificado que 11.4% dos gatos siameses testados eram carreadores do gene D520N, responsável pelo aparecimento de uma das formas da mucopolissacaridose tipo VI (CRAWLEY *et al.*, 2003).

Apesar de ter um mecanismo genético relativamente simples, as doenças de acúmulo não são investigadas de forma completa na maioria dos casos, seja pela agressividade dos sinais (que levam os responsáveis a desistir da investigação), pela falta de centros especializados com recursos para esse tipo de diagnóstico, ou pela falta de opções de tratamento (SKELLY, FRANKLIN, 2002; DEWEY, 2016b).

O objetivo desse trabalho é realizar uma breve revisão bibliográfica sobre as DALs e relatar um caso de um paciente com alterações clínicas e histopatológicas típicas dessa classe de doenças, esperando assim ajudar a aumentar o entendimento sobre esse tipo de afecção.

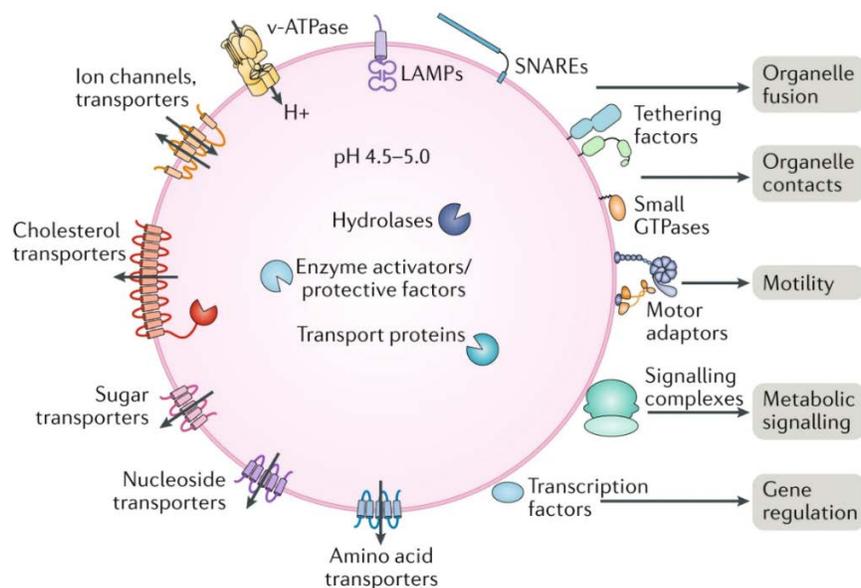
2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Biologia lisossomal e bloqueio catabólico

Os lisossomos são organelas citoplasmáticas dotadas de uma membrana lipoproteica simples, com conteúdo intraluminal ácido, particularmente importantes na degradação de macromoléculas intracelulares, permitindo o reaproveitamento dos subprodutos pela célula (DE DUVE *et al.*, 1955; NOVIKOFF; BEAUFAY; DE DUVE, 1956). Além dessa função de “digestão celular”, tem sido reconhecida recentemente a participação dos lisossomos em outros processos celulares, como sinalização metabólica, regulação gênica, imunidade, reparação da membrana plasmática e migração e adesão celular (BALLABIO; BONIFACINO, 2020).

Mais de 200 enzimas estão envolvidas no funcionamento lisossomal, sendo cerca de 60 delas essencialmente degradadoras de substratos, as hidrolases, localizadas no lúmen lisossomal (LÜBKE; LOBEL; SLEAT, 2009). Essas podem ser subdivididas em lipases, proteases, fosfatases, glucosidases, nucleases e sulfatases, de acordo com o substrato que atuam. Outras enzimas funcionam como transportadoras de membrana, ativadoras enzimáticas, fatores de proteção, fatores de transcrição, sinalizadores, ou participam da mobilidade e fusão de membrana (Figura 1) (BALLABIO; BONIFACINO, 2020; PARENTI; MEDINA; BALLABIO, 2021).

Figura 1 – Esquema representando os principais tipos de enzimas envolvidas no funcionamento lisossomal.

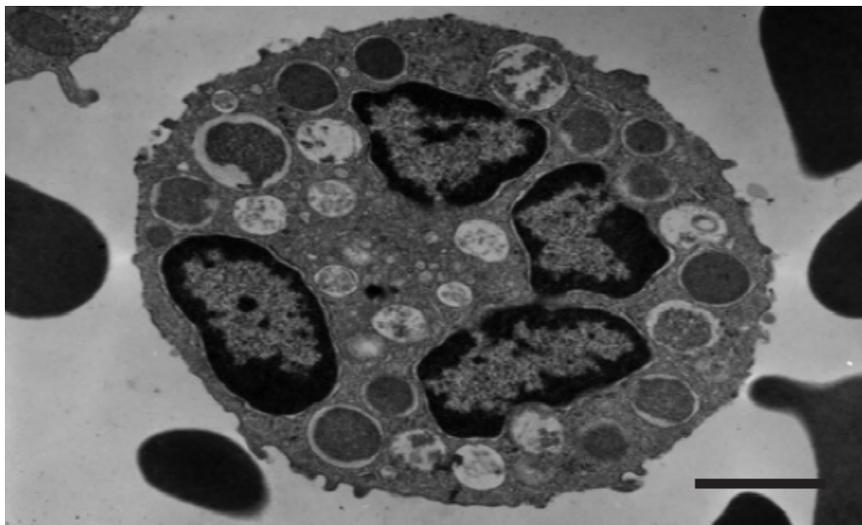


Fonte: (BALLABIO; BONIFACINO, 2020).

2.2 Patogênese

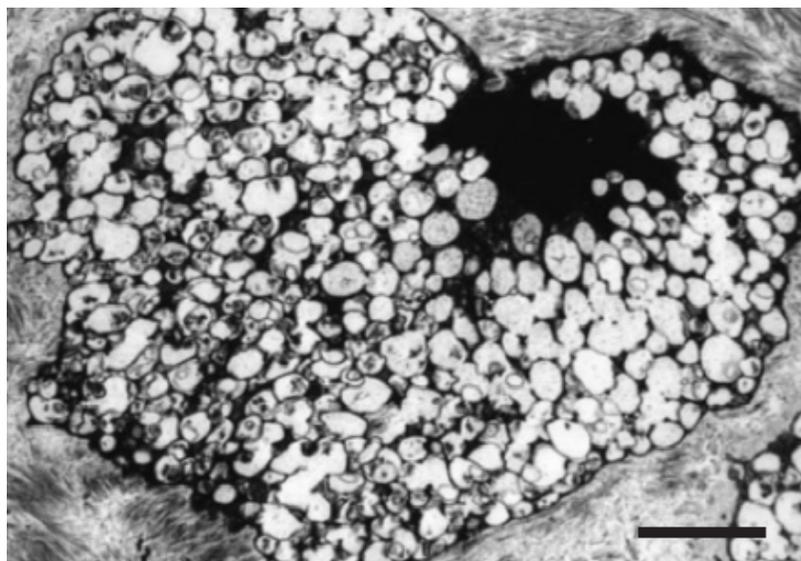
O acúmulo constante, sem a correspondente degradação, resulta no aumento dos lisossomos, que podem ser vistos como inclusões membranosas, cheias do substrato acumulado (Figura 3 e 4) (HASKINS; GIGER, 2008).

Figura 3 – Eletromicrografia de um leucócito polimorfonuclear de um gato com MPS VI, mostrando os lisossomos aumentados, contendo dermatan sulfato.



Fonte: HASKINS; GIGER, 2008

Figura 4 – Eletromicrografia de uma célula da valva mitral de um gato com MPS I, mostrando o número extremo de vacúolos, perda de definição das organelas e perda da conformação celular.



Fonte: HASKINS; GIGER, 2008

Esse aumento exagerado do número e tamanho de lisossomos começa a atrapalhar o metabolismo normal da célula. Conforme o processo evolui, a célula também aumenta de volume, provocando organomegalia (HASKINS; GIGER, 2008). Além da tumefação intensa, o efeito tóxico do acumulado, ou a combinação de ambos os mecanismos, acaba por levar à disfunção e morte celular (DEWEY, 2016b).

2.3 Classificação

De acordo com o tipo de material acumulado, as DALs podem ser classificadas em glicoproteínoses, esfingolipidoses, mucopolisacarídeos, mucopolissacarídeos, glicogenoses e proteínas (SKELLY; FRANKLIN, 2002; VANDEVELDE; HIGGINS; OEVERMANN, 2012). Mais de 50 DALs já foram descritas em animais, e muitas delas foram identificadas em cães e gatos (Quadro 1) (SKELLY; FRANKLIN, 2002; HASKINS; GIGER, 2008).

Quadro 1 – doenças de acúmulo lisossomal identificadas em cães e gatos.

TIPO	DOENÇA	DEFICIÊNCIA	ESPÉCIE/RAÇA
Glicoproteínoses	Fucosidose	α -L-fucosidase	Cão: english springer spaniel
	Manosidose	α -mannosidase	Gato: pelo curto doméstico (PCD), pelo longo doméstico, persa
	Galactosialidose	neuraminidase- β -galactosidase	Cão: schipperke
Esfingolipidoses	Gangliosidose GM1	β -galactosidase	Gato: siamês, PCD, korat Cão: english springer spaniel, beagle, cão d'água português, sem raça definida (SRD)
	Gangliosidose GM2	β -hexosaminidase	Gato: PCD, korat Cão: pointer, spaniel japonês
	Leucodistrofia de células globóides (doença de Krabbe)	β -galactocerebrosidase	Gato: PCD Cão: west highland white terrier, cairn terrier, beagle, poodle, blue tick hound, setter irlandês
	Doença de Gaucher	glucocerebrosidase	Cão: Sydney silky terrier
	Esfingomielinose A (Niemann-Pick A)	esfingomielinase ácida	Gato: siamês, balinês Cão: poodle
	Esfingomielinose C (Niemann-Pick C)	esterificação do colesterol	Gato: PCD Cão: boxer

(continua)

Quadro 1 – doenças de acúmulo lisossomal identificadas em cães e gatos (continuação).

TIPO	DOENÇA	DEFICIÊNCIA	ESPÉCIE/RAÇA
Mucopolipidoses	Mucopolipidose II (doença da célula I)	n-acetil-glucosamina 1-fosfotransferase	Gato: PCD
Mucopolissacaridoses (MPS)	MPS I (Hurler)	α -L-iduronidase	Gato: PCD Cão: plott hound, rotweiler
	MPS II (Hunter)	iduronato-2-sulfatase	Cão: labrador retriever
	MPS III A (San Filippo A)	heparan N-sulfatase	Cão: dachshund pelo de arame, cão de caça neozelandês
	MPS III B (San Filippo B)	α -N-acetil-glucosaminidase	Cão: schipperke
	MPS VI (maroteaux-Lamy)	arilsulfatase β	Gato: siamês, PCD Cão: pinscher miniatura, corgi, schnauzer miniatura, Chesapeake Bay retriever, dachshund
	MPS VII (Sly)	β -glucuronidase	Gato: PCD Cão: SRD, pastor alemão
Glicogenoses	tipo Ia (von Gierke)	glucose-6-fosfatase	Cão: raças toy
	tipo II (Pompe)	α -1,4-glucosidase	Gato: PCD Cão: cão da Lapônia
	tipo III (Cori)	amilo-1,6-glucosidase	Cão: pastor alemão, akita
	tipo IIIa	enzima derramificadora de glicogênio	Cão: curly coated retriever
	tipo IV (Anderson)	enzima ramificadora de glicogênio	Gato: norueguês da floresta
	tipo VII	fosfofrutoquinase	Cão: english springer spaniel, american cocker spaniel
Proteinoses	Lipofuscinoses ceroide	várias	Gato: PCD, siamês Cão: pit bull terrier, staffordshire terrier, bulldog americano, setter irlandês, setter inglês, terrier tibetano, dachshund miniatura, border collie, labrador retriever, schnauzer miniatura, dálmata, boiadeiro australiano

Fonte: adaptado de SKELLY; FRANKLIN, 2002; HASKINS; GIGER, 2008; VANDEVELDE; HIGGINS; OEVERMANN, 2012; DEWEY, 2016b.

2.4 Herdabilidade genética

As deficiências enzimáticas que originam as DALs têm caráter genético, e são herdadas, em sua maior parte, de forma autossômica recessiva (SKELLY, FRANKLIN, 2002; HASKINS; GIGER, 2008; BALLABIO; GIESELMANN, 2009). Na medicina veterinária, a única exceção reconhecida até o momento se trata da MPS II, que tem herança sexual ligada ao cromossomo X (WILKERSON *et al.*, 1998).

2.5 Resenha

Os animais acometidos em sua maioria são jovens, com machos e fêmeas em proporções semelhantes. Geralmente esses indivíduos desenvolvem sinais multifocais e progressivos nas primeiras semanas ou meses de vida. Contudo, para uma minoria das DALs, o início pode ser mais tardio (SKELLY, FRANKLIN, 2002; DEWEY, 2016b).

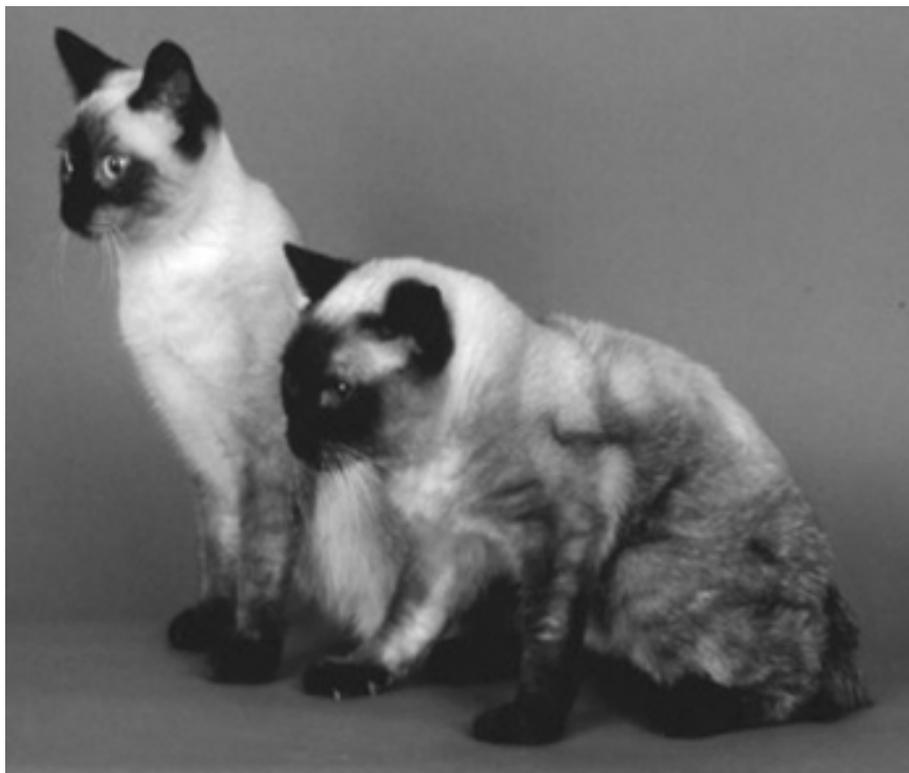
Animais de raça pura estão mais propensos a desenvolver doenças genéticas no geral, pela maior possibilidade de terem sido originados a partir de cruzamentos consanguíneos e serem homocigotos para os alelos recessivos deletérios (SKELLY, FRANKLIN, 2002).

2.6 Sinais clínicos

Em relação aos sinais clínicos, essas enfermidades poderiam também ser divididas entre as que causam alterações neurológicas e as que não causam esse tipo de anormalidade. Do ponto de vista neurológico, frequentemente são observados sinais como alterações de comportamento, tremores de cabeça e membros, ataxia, tetraparesia, déficits proprioceptivos e crises epiléticas (HASKINS; GIGER, 2008). Muitas das DALs exibem a disfunção cerebelar como um dos primeiros sinais visíveis (DEWEY, 2016b). Uma vez que os neurônios, células que não se regeneram, são acometidos, uma doença neurológica grave e progressiva se instala, evoluindo para o óbito em quase todos os casos (VANDEVELDE; HIGGINS; OEVERMANN, 2012).

O envolvimento de órgãos e tecidos fora do sistema nervoso leva ao aparecimento de outros sinais como retardo de crescimento, hernia umbilical, edema de córnea, hepatoesplenomegalia, sopros cardíacos, insuficiência renal e deformidades osteoarticulares (Figura 5) (HASKINS; GIGER, 2008).

Figura 5 – Um gato siamês normal (lado esquerdo), ao lado do seu irmão de ninhada acometido por MPS VI (lado direito). Note a face achatada e a postura inapropriada, causada pela fusão de vértebras cervicais e lombares.



Fonte: HASKINS; GIGER, 2008.

2.7 Diagnóstico

A suspeita de uma DAL se inicia na constatação de uma afecção crônica e progressiva, frequentemente com sinais neurológicos multifocais, em qualquer cão ou gato. A probabilidade aumenta se for jovem, ou de raças susceptíveis (SKELLY, FRANKLIN, 2002; DEWEY, 2016b).

Na maioria das vezes, nas DALs, os exames hematológicos e de bioquímica de rotina encontram-se dentro dos valores de referência, ou sem anormalidades consistentes (SKELLY, FRANKLIN, 2002). A análise do líquido cerebrospinal (LCE) também se apresenta normal com frequência. Porém, pode mostrar níveis de proteína elevados em alguns casos, além de servir para diferenciar as DALs de doenças inflamatórias e infecciosas (DEWEY, 2016b).

A análise da urina pode ser útil para buscar a excreção de metabólitos anormais. Ensaios específicos para a detecção de glicosaminoglicanos podem identificar mucopolissacaridoses e

gangliosidose (FISCHER *et al.*, 1998; HASKINS; GIGER, 2008). Já a presença de certos oligossacarídeos pode identificar a manosidose (MAENHOUT *et al.*, 1998).

Radiografias podem mostrar má-formações osteoarticulares, e devem ser realizadas nos animais que tenham aparência dismórfica, ou que tenham sinais de doença esquelética, como dor, anormalidades de marcha e postura ou histórico de fraturas (SKELLY, FRANKLIN, 2002). As alterações esqueléticas e no tecido conectivo podem ser notadas frequentemente na gangliosidose GM1 (ALROY *et al.*, 1985), na Manosidose (BLAKEMORE, 1986) e, particularmente, nas MPSs (HASKINS *et al.*, 1979; HASKINS *et al.*, 1981).

Exames de imagem avançada – tomografia computadorizada e ressonância magnética – podem ser utilizados para identificar alterações encefálicas como ventriculomegalia, atrofia cerebral ou cerebelar (DEWEY, 2016b). A ressonância magnética possui maior sensibilidade que a tomografia computadorizada, podendo identificar mudanças no padrão de sinal ligadas às DALs. Essas alterações são usualmente simétricas e bilaterais, em regiões específicas de substância branca ou cinzenta (HASEGAWA *et al.*, 2012; HASEGAWA *et al.*, 2013; WHITE *et al.*, 2018).

O exame histopatológico (*ante mortem* ou *post mortem*) pode identificar o acúmulo citoplasmático massivo de inclusões granulares ou vacuolares, com deslocamento das organelas e ingurgitação da célula. Dentre as lesões secundárias, no sistema nervoso central, podem ser notados os meganeuritos e os esferoides axonais. Diferentes DALs podem gerar lesões mais concentradas em certas áreas, assim como provocar o decréscimo de certas populações celulares específicas (VANDEVELDE; HIGGINS; OEVERMANN, 2012).

Amostras *ante mortem* podem ser obtidas a partir de leucócitos do sangue total, biópsias de fígado ou rim, ou por cultura de fibroblastos de animais afetados (SKELLY, FRANKLIN, 2002). Biópsias de áreas específicas podem ajudar no diagnóstico de certas DALs, como a biópsia de nervo periférico na leucodistrofia de células globoides (VICINI *et al.*, 1988) e a biópsia muscular nas glicogenoses (WALVOORT, 1985).

A presença das lesões compatíveis confirma que se trata de uma DAL. Contudo, o exame histopatológico isoladamente não será capaz de identificar qual a DAL o paciente apresenta. As lesões, apesar de serem características, são inespecíficas. Uma segunda etapa de processamento dessas amostras é necessária, para identificar exatamente qual é o substrato acumulado, chegando

assim no diagnóstico final. Para esse objetivo podem ser empregadas técnicas de coloração específicas e o uso de lectinas (CASTAGNARO, 1990; LAKE, 1991). Ensaios de imunohistoquímica também podem ser utilizados para registrar a ausência de enzimas específicas no tecido (TAKAICHI *et al.*, 2020).

Outra forma de chegar ao diagnóstico definitivo das DAL é através de ensaios específicos de atividade enzimática lisossomal. Nesse tipo de análise, realizada por laboratórios de referência, a atividade de diversas enzimas lisossomais será testada contra substratos artificiais, comprovando ou não a deficiência da enzima relacionada a DAL específica. Esse método permite a identificação tanto de indivíduos afetados (homozigotos recessivos – com atividade enzimática praticamente nula) quanto dos carreadores (heterozigotos – com 50% da atividade enzimática normal) (SKELLY, FRANKLIN, 2002). Como na histopatologia, tais testes podem ser realizados utilizando leucócitos do sangue total, biópsias de fígado ou rim, ou cultura de fibroblastos (VANIER *et al.*, 1991).

Para muitas das DAL em cães e gatos, o gene defeituoso responsável pela doença já foi identificado (WANG *et al.*, 2018; MANSOUR *et al.*, 2020; TAKAICHI *et al.*, 2020). Recentemente, testes genéticos têm sido cada vez mais empregados para detectar as mutações em raças específicas, e muitos já se encontram disponíveis comercialmente, identificando genes relacionados à fucosidose, glicogenoses, gangliosidose, Manosidose, mucopolidose e MPS de vários subtipos, dentre outras DAL (UNIVERSITY OF PENNSYLVANIA, 2021).

2.8 Tratamento

Algumas formas de tratamento têm sido empregadas, com maior ou menor sucesso, para o controle das DALs. O objetivo é impedir ou reduzir o acúmulo do substrato que desencadeia todo o processo patológico. Uma delas consiste na reposição da enzima deficiente, por via intravenosa (CRAWLEY *et al.*, 2011) ou por via intratecal – quando a doença tem o componente neurológico (AUCLAIR *et al.*, 2012). A desvantagem desse método é que exige reposição constante da enzima, necessitando a repetição das aplicações. Outra solução encontrada, mais definitiva, foi introduzir uma linhagem celular capaz de produzir a enzima deficiente, através do transplante de medula óssea (HASKINS, 1996). Os melhores resultados têm sido alcançados através da terapia gênica, com a implantação do gene funcional no DNA do paciente, utilizando um vetor viral

geneticamente modificado, aplicado diretamente no encéfalo, restaurando assim a função metabólica normal (BEATY *et al.*, 2002; MCCURDY *et al.*, 2014; BRADBURY *et al.*, 2015). Apesar de promissoras, essas terapias ainda são experimentais, implementadas apenas em centros de pesquisa, não estando amplamente disponíveis.

2.9 Prognóstico

O prognóstico para DALs é reservado a desfavorável. Na maioria dos casos a doença tende a progredir e levar ao óbito ou se tornar incapacitante ainda no primeiro ano de vida. Para formas com progressão mais lenta, essa progressão se dá em um a dois anos após o diagnóstico. A maioria dos pacientes é submetida à eutanásia por causa do grave estado neurológico sem perspectiva de reversão (DEWEY, 2016b).

3 RELATO DE CASO

Um paciente felino, filhote, macho sem raça definida, foi adotado com cerca de dois meses de idade. Desde os primeiros momentos o responsável notou um leve tremor de cabeça, apesar do desenvolvimento aparentemente normal em outros aspectos. Com o passar do tempo houve piora no quadro dos tremores, e o paciente começou a apresentar também perda de equilíbrio, além de dificuldade de apreender o alimento, por causa de um intenso tremor de intenção. Foi relatada também a diminuição de atividades como brincadeiras, e a ocorrência de um episódio onde caiu em decúbito lateral, se urinou, ficando com os membros rígidos, com o olhar fixo e irresponsivo.

No atendimento inicial, com cinco meses de idade (Figura 6), o paciente já apresentava três meses de progressão dos sinais. No exame clínico não apresentava nenhuma anormalidade. Ao exame neurológico apresentava ataxia cerebelar, demonstrada por hipermetria, base ampla, tremor de tronco e desequilíbrio; tremor de intenção de cabeça; resposta à ameaça ausente bilateralmente; reflexo oculocefálico ausente bilateralmente; déficits proprioceptivos nos quatro membros, demonstrado por retardo da resposta no posicionamento proprioceptivo da pata e no teste de saltitamento. O estado mental e o nível de consciência se apresentavam dentro da normalidade.

Figura 6 – Paciente felino, com cinco meses de idade, durante o atendimento.



Fonte: arquivo pessoal.

O resultado da avaliação para a presença de anticorpos para o vírus da imunodeficiência felina (FIV) e de antígenos para o vírus da leucemia felina (FeLV) foi não-reativo (teste imunocromatográfico Snap Combo® – Idexx). No hemograma apresentou hematócrito dentro da normalidade (hematócrito: 41%; intervalo de referência [IR]: 24 a 45%); leucocitose (leucometria global: 25.000/ μ L; IR: 5.000 a 19.500/ μ L), com neutrofilia sem desvio (segmentados: 14.000/ μ L; IR: 2.500 a 12.500/ μ L) e linfocitose (linfócitos: 9.000/ μ L; IR: 1500 a 7000/ μ L); e normoproteinemia (64 g/L; IR: 60 a 80g/L). Nos exames bioquímicos apresentou os seguintes resultados: fosfatase alcalina: 318,9 U/L (IR: < 93 U/L); alanina aminotransferase: 247 (IR: < 83 U/L); albumina: 34 g/dL (IR: 21 a 33 g/dL); creatinina: 0,72 mg/dL (IR: 0,8 a 1,6 mg/dL); magnésio: 2,5 mg/dL (IR: 1,7 a 2,6 mg/dL); cálcio total: 11,03 mg/dL (IR: 9 a 11,3 mg/dL).

Continuando a investigação para doenças inflamatórias e/ou infecciosas, foi realizada a coleta do LCE, por punção da cisterna magna. O resultado da análise não demonstrou nenhuma anormalidade. Um teste terapêutico com prednisolona (2mg/kg a cada 24h) e com a associação sulfadiazina-trimetoprim (15mg/kg a cada 12h) foi iniciado. O paciente não apresentou nenhuma resposta clínica, demonstrando agravamento do quadro neurológico em nova avaliação 30 dias após, com pronunciada ataxia cerebelar e proprioceptiva, quedas constantes, tremor de intenção intenso e ausência de resposta proprioceptiva nos quatro membros.

O paciente foi então eutanasiado, sendo realizado o exame histopatológico *post mortem*. Ao exame macroscópico, a única alteração relatada foi discreta hepatomegalia, com presença de bordos arredondados, coloração difusamente pálida e acentuação do padrão lobular hepático. O tecido do sistema nervoso central tinha aparência macroscópica normal. Na microscopia, mudanças significativas foram encontradas em todo o encéfalo. Em regiões de tálamo, hipocampo, medula oblonga, mesencéfalo, corpo estriado, córtex telencefálico e cerebelo foram observadas tumefação difusa de grandes neurônios, caracterizada por intensa vacuolação citoplasmática que, por vezes, deslocavam o núcleo para a periferia. Havia ainda moderada formação de esferoides axonais em substância branca e acentuada redução da população de células de Purkinje no cerebelo. Além das alterações presentes no sistema nervoso, foi possível notar também a presença vacuolização citoplasmática de maneira moderada nas células dos túbulos contorcidos renais e de maneira acentuada nos hepatócitos, predominantemente na região periportal.

4 DISCUSSÃO

Apesar do exame clínico sem alterações, o exame neurológico do animal apresentava diversas anormalidades. Usualmente, o exame neurológico busca elucidar as seguintes questões: se os sinais observados são devidos a uma lesão no sistema nervoso; qual a localização da lesão; quais os principais tipos de processos patológicos podem justificar a progressão dos sinais clínicos; qual é a gravidade da doença (GAROSI; LOWRIE, 2012).

Na ocasião, podiam ser notadas ataxia cerebelar, tremor de intenção, resposta à ameaça ausente, reflexo oculocefálico ausente e déficits proprioceptivos nos quatro membros. A ataxia cerebelar se caracteriza pela incapacidade de regular a taxa e amplitude do movimento, normalmente com hipermetria, e intenso desequilíbrio (DEWEY; DA COSTA; THOMAS, 2016). Lesões cerebelares tipicamente causam esse tipo de marcha, além de serem capazes de promover o tremor de intenção e déficits na resposta à ameaça (DE LAHUNTA; GLASS; KENT, 2015).

A ausência do reflexo oculocefálico normalmente está associada a distúrbios vestibulares, causados por problemas bem localizados no aparato vestibular da orelha interna, ou nos núcleos vestibulares do tronco encefálico (SANDERS, 2016). Por outro lado, as respostas proprioceptivas envolvem vias complexas no sistema nervoso, desde o receptor proprioceptivo no membro, passando pelo nervo, tratos aferentes da medula espinhal, tronco encefálico, e diencefalo, até chegar ao córtex cerebral contralateral. Déficits proprioceptivos são importantes para identificar disfunções neurológicas, porém não trazem informações específicas em relação à localização da lesão em si, devendo ser interpretados juntamente com os outros achados do exame (GAROSI; LOWRIE, 2012). No caso em questão, os déficits proprioceptivos estavam associados com alterações vestibulares, o que seria indicativo de uma possível lesão em tronco encefálico (DEWEY, 2016a).

Além dessas alterações, também foi descrito na anamnese um episódio de queda em decúbito lateral, rigidez muscular, olhar fixo, irresponsividade e micção sem controle. Tal evento paroxístico, com atividade motora, perda de consciência e sinais autonômicos, seria compatível com a descrição de uma crise epilética (BERENDT *et al.*, 2015), indicando assim também uma desordem tálamo-cortical (DEWEY, 2016a; GAROSI; LOWRIE, 2012). Baseando-se nesses achados, a conclusão acerca da localização da lesão neurológica é que o paciente apresentava sinais de uma doença multifocal, com envolvimento de cerebelo, tronco encefálico e telencéfalo.

A partir do conjunto de informações obtidas com a resenha, histórico e anamnese, exame clínico e exame neurológico do paciente, desenha-se uma doença neurológica multifocal, crônica e progressiva, em um gato jovem. Uma vez excluídas pelo histórico as intoxicações crônicas e deficiências nutricionais (deficiência de tiamina, por exemplo), e tendo em vista que neoplasias são incomuns em animais tão jovens, os diagnósticos diferenciais mais prováveis seriam as frequentes meningoencefalites (de origem infecciosa ou de origem desconhecida) ou as raras doenças degenerativas. O fato da doença ter uma progressão lenta, e alterações bilaterais e simétricas no exame, fazem o quadro de doença degenerativa ser mais provável que a de uma meningoencefalite.

Nos gatos, os vírus são os agentes etiológicos mais comumente implicados em meningoencefalites, com destaque para o vírus da peritonite infecciosa felina (PIF), representando cerca da metade de todos os casos (BRADSHAW; PEARSON; GRUFFYDD-JONES, 2004; CHAVES et al, 2018). Outras fontes frequentes são o vírus da leucemia felina (FeLV), o vírus da imunodeficiência felina (FIV), o herpesvirus felino (FHV-1), o parvovirus felino (FPV) e o lyssavirus . Além das viroses, outros microrganismos também podem ser implicados nas doenças inflamatórias do sistema nervoso dos felinos, como bactérias, protozoários (*Toxoplasma gondii* e *Sarcocystis* sp.) e fungos (*Cryptococcus* spp., *Blastomyces* spp., *Histoplasma* spp. e *Aspergillus* spp.) (GUNN-MOORE; REED, 2011). Quando nenhuma causa infecciosa pode ser identificada, a inflamação é denominada “de origem desconhecida”, podendo representar até 40% das meningoencefalites em felinos domésticos (BRADSHAW; PEARSON; GRUFFYDD-JONES, 2004; NAKAMOTO et al, 2019; RAND et al, 1994). Dentre as doenças degenerativas que causariam alterações multifocais no sistema nervoso de gatos jovens, podemos destacar as DALs, as leucodistrofias e as acidúrias orgânicas (DEWEY, 2016b; WEST; MATIASEK; RUSBRIDGE, 2021).

A investigação para doenças inflamatórias e/ou infecciosas foi realizada por via da análise do LCE que não mostrou alterações, o que tornava a suspeita de meningoencefalite uma hipótese ainda menos provável. Ainda assim, levando em conta que uma parcela desses casos pode ter o exame de LCE sem alterações (DEWEY, 2016b), um teste terapêutico a base de corticosteroides e antimicrobianos foi tentado, porém não gerou resposta clínica.

O exame histopatológico *post mortem* eliminou as possibilidades de meningoencefalite, leucodistrofia ou acidúria orgânica, mostrando claramente as lesões típicas das DALs. Sobre essa avaliação, vale ressaltar um aspecto importante: a distribuição das lesões histopatológicas (tálamo, tronco encefálico e cerebelo) podem ser associadas com a localização das lesões previstas pelo exame neurológico, demonstrando grande precisão na avaliação. Outro detalhe a ser salientado, é a redução da população das células de Purkinje do cerebelo, que pode justificar os sinais cerebelares aparecendo precocemente, de maneira exuberante, e evoluindo de forma agressiva (DE LAHUNTA; GLASS; KENT, 2015).

A investigação poderia ter prosseguido, com a caracterização de qual DAL específica acometia o paciente. Uma vez que ele não apresentava alterações esqueléticas ou de tecido conectivo visíveis, a possibilidade de uma mucopolissacaridose era menor, não sendo indicada a pesquisa de glicosaminoglicanos na urina (SKELLY, FRANKLIN, 2002). Talvez, nesse caso, técnicas especiais de coloração histopatológica pudessem ser realizadas para identificar o tipo de substrato armazenado nos vacúolos citoplasmáticos (glicoproteínas, esfingolipídios, mucolipídios, glicogênio ou proteínas), afunilando as doenças possíveis, e depois testes imuno-histoquímicos poderiam demonstrar a ausência da enzima específica, ou testes genéticos poderiam detectar a mutação responsável. Outra possibilidade seria enviar amostras de biópsia para centros de pesquisa especializados na realização de ensaios enzimáticos, testando a atividade de várias enzimas lisossomais até encontrar a que se encontra em deficiência. Infelizmente, no Brasil, esses testes não se encontram disponíveis nos laboratórios veterinários de rotina. As amostras teriam que ser enviadas para o exterior, trazendo problemas de logística e de custo, que muitas vezes inviabilizam a investigação. Alguns médicos veterinários, no entanto, diante da suspeita dessas doenças, enviam amostras para centros de referência de medicina humana, como o Laboratório de Erros Inatos do Metabolismo, do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (GUGLIELMI, 2021)¹.

¹ GUGLIELMI, R. Comunicação pessoal, 19 de outubro, 2021.

5 CONCLUSÃO

Este foi o relato de um caso de DAL acometendo um jovem paciente felino, que aos dois meses de idade já apresentava os primeiros sinais cerebelares, evoluindo para doença neurológica multifocal. O paciente foi eutanasiado devido à progressão do quadro neurológico. O exame histopatológico revelou tumefação neuronal com intensa vacuolização citoplasmática e moderada formação de esferoides axonais por todo o encéfalo, além de redução dos neurônios de Purkinje, alterações compatíveis com DALs. Um diagnóstico específico de qual doença de acúmulo poderia ter sido tentado, mas dependia de testes muito específicos e pouco acessíveis e, em última análise, pouco mudaria o prognóstico do paciente dentro do panorama atual, em vista que são doenças de prognóstico desfavorável, fatais ou altamente debilitantes, e a maioria dos tratamentos ainda está em fase experimental.

Contudo, dada a gravidade dessa classe de doenças, e a raridade de sua ocorrência, é sempre importante a investigação mais completa possível e registro científico desses casos, visando aumentar a exposição e compreensão das DALs pela comunidade científica. Há poucos relatos de doenças de acúmulo em gatos na literatura científica mundial, e na literatura científica brasileira esse tema é virtualmente inexistente. Além disso, outro motivo para a pesquisa sobre as DALs em animais de companhia, é que esses indivíduos podem servir como modelos experimentais para as doenças análogas que acometem os seres humanos, permitindo ensaios clínicos e o desenvolvimento de novas terapias, com potencial para beneficiar tanto a medicina humana, quanto nossos pacientes veterinários.

REFERÊNCIAS

- ALROY J. *et al.* Neurovisceral and skeletal GM1 gangliosidosis in dogs with beta-galactosidase deficiency. **Science**, v. 229, n. 4712, p. 470–472, 1985.
- AUCLAIR, D. *et al.* Intrathecal recombinant human 4-sulfatase reduces accumulation of glycosaminoglycans in dura of mucopolysaccharidosis VI cats. **Pediatric research**, v. 71, n. 1, p. 39-45, 2012.
- BALLABIO, A; BONIFACINO, J. S. Lysosomes as dynamic regulators of cell and organismal homeostasis. **Nature reviews Molecular cell biology**, v. 21, n. 2, p. 101–118, 2020.
- BALLABIO, A; GIESELMANN, V. Lysosomal disorders: from storage to cellular damage. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research**, v. 1793, n. 4, p. 684-696, 2009.
- BEATY, R. M. *et al.* Delivery of glucose-6-phosphatase in a canine model for glycogen storage disease, type Ia, with adeno-associated virus (AAV) vectors. **Gene Therapy**, v. 9, n. 15, p. 1015-1022, 2002.
- BERENDT, M. *et al.* International veterinary epilepsy task force consensus report on epilepsy definition, classification and terminology in companion animals. **BMC Veterinary Research**, v. 11, n. 1, p. 182, 2015.
- BLAKEMORE, W. F. A case of mannosidosis in the cat: Clinical and histopathological findings. **Journal of Small Animal Practice**, v. 27, n. 7, p. 447–455, 1986.
- BRADBURY, A. M. *et al.* A review of gene therapy in canine and feline models of lysosomal storage disorders. **Human Gene Therapy Clinical Development**, v. 26, n. 1, p. 27-37, 2015.
- BRADSHAW, J. M.; PEARSON, G. R.; GRUFFYDD-JONES, T. J. A Retrospective Study of 286 Cases of Neurological Disorders of the Cat. **Journal of Comparative Pathology**, v. 131, n. 2–3, p. 112–120, 2004.
- CASTAGNARO, M. Lectin histochemistry of the central nervous system in a case of feline α -mannosidosis. **Research in veterinary science**, v. 49, n. 3, p. 375-377, 1990.
- CHAVES, R. O. *et al.* Doenças neurológicas em gatos: 155 casos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 38, n. 1, p. 107–112, 2018.
- CRAWLEY, A. C. *et al.* Enzyme replacement reduces neuropathology in MPS IIIA dogs. **Neurobiology of disease**, v. 43, n. .2, p. 422-434, 2011.
- DE DUVE, C. *et al.* Tissue fractionation studies. Intracellular distribution patterns of enzymes in rat-liver tissue. **Biochemical Journal**, v. 60, n. 4, p. 604–617, 1955.
- DE LAHUNTA, A.; GLASS, E.; KENT, M. Cerebellum. In: _____. **Veterinary Neuroanatomy and Clinical Neurology**, 4th ed. St Louis: Elsevier Saunders, 2015, cap. 13, p. 368-408;
- DEWEY, C. W. Lesion Localization: Functional and Dysfunctional Neuroanatomy. In: DEWEY, C. W.; DA COSTA, R. C. **Practical Guide to Canine and Feline Neurology**, 3rd ed. Ames: Wiley Blackwell, 2016a, cap. 3, p. 29-52.
- DEWEY, C. W. Encephalopathies: disorders of the brain. In: DEWEY, C. W.; DA COSTA, R. C. **Practical Guide to Canine and Feline Neurology**, 3rd ed. Ames: Wiley Blackwell, 2016b, cap. 7, p. 141-236.

DEWEY, C. W.; DA COSTA, R. C.; THOMAS, W. B. Performing the Neurologic Examination. In: DEWEY, C. W.; DA COSTA, R. C. **Practical Guide to Canine and Feline Neurology**, 3rd ed. Ames: Wiley Blackwell, 2016, cap. 2, p. 9-28.

FISCHER, A. *et al.* Sulfamidase deficiency in a family of Dachshunds: a canine model of mucopolysaccharidosis IIIA (Sanfilippo A). **Pediatric research**, v. 44, n. 1, p. 74-82, 1998.

GAROSI, L.; LOWRIE, M. The neurological examination. In: PLATT, S. R.; OLBY, N. J. **BSAVA Manual of Canine and Feline Neurology**. 4th ed. Gloucester: BSAVA Library, 2012. p. 1-24.

GUNN-MOORE, D. A.; REED, N. CNS Disease in the Cat: Current Knowledge of Infectious Causes. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 13, n. 11, p. 824-836, 2011.

HASEGAWA, D. *et al.* Serial MRI features of canine GM1 gangliosidosis: a possible imaging biomarker for diagnosis and progression of the disease. **The Scientific World Journal**, v. 2012, p. ID250197, 2012.

HASEGAWA, D. *et al.* Magnetic resonance findings of the corpus callosum in canine and feline lysosomal storage diseases. **PLoS One**, v. 8, n. 12, p. e83455, 2013.

HASKINS, M. E., *et al.* Alpha-L-iduronidase deficiency in a cat: a model of mucopolysaccharidosis I. **Pediatric research**, v. 13, n. 11, p. 1294-1297, 1979.

HASKINS, M. E., *et al.* Animal model of human disease: Mucopolysaccharidosis VI Maroteaux-Lamy syndrome, Arylsulfatase B-deficient mucopolysaccharidosis in the Siamese cat. **The American journal of pathology**, v. 105, n. 2, p. 191, 1981.

HASKINS, M. E. Bone marrow transplantation therapy for metabolic disease: animal models as predictors of success and in utero approaches. **Bone marrow transplantation**, v. 18, p. S25-27, 1996.

HASKINS, M. E.; GIGER, U. Lysosomal storage diseases. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**, 6th ed. Burlington: Academic Press, 2008, cap. 24, p. 731-750.

LAKE, B. D. The role of histochemical investigations in metabolic disorders affecting the liver. **Journal of inherited metabolic disease**, p. 538-545, 1991.

LIEBERMAN, A.P. *et al.* Autophagy in lysosomal storage disorders. **Autophagy**, v. 8, n. 5, p. 719-730, 2012.

LÜBKE, T.; LOBEL, P.; SLEAT, D. E. Proteomics of the lysosome. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research**, v. 1793, n. 4, p. 625-635, 2009.

MAENHOUT, T. *et al.* Mannosidosis in a litter of Persian cats. **The Veterinary Record**, v. 122, n. 15, p. 351-354, 1998.

MANSOUR, T. A. *et al.* Whole Genome Sequencing for Mutation Discovery in a Single Case of Lysosomal Storage Disease (MPS Type 1) in the Dog. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 6558, 2020.

MCCURDY, V. J. *et al.* Sustained normalization of neurological disease after intracranial gene therapy in a feline model. **Science translational medicine**, v. 6, n. 231, p. 231ra48-231ra48, 2014.

MEIKLE, P. J. *et al.* Prevalence of lysosomal storage disorders. **JAMA**, v. 281, n. 3, p. 249-254, 1999.

NAKAMOTO, Y. *et al.* Feline neurological diseases in a veterinary neurology referral hospital population in Japan. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 81, n. 6, p. 879-885, 2019.

- NOVIKOFF, A. B.; BEAUFAY, H.; DE DUVE, C. Electron microscopy of lysosome rich fractions from rat liver. **The Journal of Cell Biology**, v. 2, n. 4, p. 179–184, 1956.
- PARENTI, G.; MEDINA, D. L.; BALLABIO, A. The rapidly evolving view of lysosomal storage diseases. **EMBO molecular medicine**, v. 13, n. 2, p. e12836, 2021.
- PLATT, F. M. *et al.* Lysosomal storage diseases. **Nature reviews Disease primers**, v. 4, n. 1, p. 1-25, 2018.
- RAND, J. S. *et al.* Clinical, cerebrospinal fluid, and histological data from twenty-seven cats with primary inflammatory disease of the central nervous system. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 35, n. 2, p. 103, 1994.
- SANDERS, S. G. Disorders of Hearing and Balance: The Vestibulocochlear Nerve (CN VIII) and Associated Structures. In: DEWEY, C. W.; DA COSTA, R. C. **Practical Guide to Canine and Feline Neurology**, 3rd ed. Ames: Wiley Blackwell, 2016, cap. 11, p. 277-298.
- SKELLY, B. J.; FRANKLIN, R. J. M. Recognition and Diagnosis of Lysosomal Storage Diseases in the Cat and Dog. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 16, n. 2, p. 133–141, 2002.
- TAKAICHI, Y. *et al.* Feline Niemann-Pick Disease With a Novel Mutation of SMPD1 Gene. **Veterinary Pathology**, v. 57, n. 4, p. 559–564, 2020.
- UNIVERSITY OF PENNSYLVANIA. **PennGen**, 2021. DNA Tests. Disponível em: <<https://www.vet.upenn.edu/research/academic-departments/clinical-sciences-advanced-medicine/research-labs-centers/penngen/penngen-tests/genetic-tests/dna/>>. Acesso em: 15 de nov. de 2021.
- VANDEVELDE, M.; HIGGINS, R.; OEVERMANN, A. Degenerative diseases. In: _____. **Veterinary neuropathology: essentials of theory and practice**, 1st ed. West Sussex: John Wiley & Sons, 2012, cap 8, p. 157-192.
- VANIER, M. T. *et al.* Type C Niemann-Pick disease: spectrum of phenotypic variation in disruption of intracellular LDL-derived cholesterol processing. **Biochimica Et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease**, v. 1096, n. 4, p. 328-337, 1991.
- VICINI, D. S. *et al.* Peripheral nerve biopsy for diagnosis of globoid cell leukodystrophy in a dog. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 192, n. 8, p. 1087-1090, 1988.
- WALVOORT, H. C. Glycogen storage disease type II in the Lapland dog. **Veterinary Quarterly**, v. 7, n. 3, p. 187-190, 1985.
- WANG, P. *et al.* A GNPTAB Nonsense Variant Is Associated with Feline Mucopolipidosis II (I-Cell Disease). **BMC Veterinary Research**, v. 14, n. 1, p. 416, 2018.
- WEST, N.; MATIASEK, K.; RUSBRIDGE, C. Olivopontocerebellar degeneration associated with 3-hydroxy-3-methylglutaric aciduria in a domestic shorthair cat. **Journal of Feline Medicine and Surgery Open Reports**, v. 7, n. 2, p. 1-10, 2021.
- WHITE, C. *et al.* MRI findings of neuronal ceroid lipofuscinosis in a cat. **Journal of Feline Medicine and Surgery Open Reports**, v. 4, n. 1, 2018.
- WILKERSON, M. J. *et al.* Clinical and morphologic features of mucopolysaccharide type II in a dog: Naturally occurring model of Hunter syndrome. **Veterinary Pathology**, v. 35, n. 3, p. 230–233, 1998.