OMAR ANTONIO GONZALES VIERA

**Patologia comparada das hepatopatias e nefropatias
em cetáceos do Brasil**

SÃO PAULO

2012

OMAR ANTONIO GONZALES VIERA

Patologia comparada das hepatopatias e nefropatias em cetáceos do Brasil

SÃO PAULO

2012

OMAR ANTONIO GONZALES VIERA

Patologia comparada das hepatopatias e nefropatias em cetáceos do Brasil

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia Experimental e Comparada da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Departamento:

Patologia

Área de Concentração:

Patologia Experimental e Comparada

Orientador:

Prof. Dr. José Luiz Catão-Dias

São Paulo

2012

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

BIBLIOTECA VIRGINIE BUFF D'ÁPICE
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
E ZOOTECNIA DA USP

10/4/12

Conferido Somente Ficha
Catalográfica

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da
Universidade de São Paulo)

T.2562
FMVZ

Gonzales Viera, Omar Antonio
Patologia comparada das hepatopatias e nefropatias em cetáceos do Brasil / Omar
Antonio Gonzales Viera. -- 2012.
136 f.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina
Veterinária e Zootecnia. Departamento de Patologia, São Paulo, 2012.

Programa de Pós-Graduação: Patologia Experimental e Comparada.
Área de concentração: Patologia Experimental e Comparada.

Orientador: Prof. Dr. José Luiz Catão-Dias.

1. Lesão. 2. Fígado. 3. Rim. 4. Toxoplasmose. 5. Cetáceos. I. Título.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

Comissão de Ética no uso de animais

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Patologia Comparada das hepatopatias e nefropatias em cetáceos do Brasil", protocolado sob o nº 2483/2011, utilizando 275 (duzentos e setenta e cinco) amostras de tecidos de cetáceos, sob a responsabilidade do(a) Prof. Dr. José Luiz Catão Dias, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da "Comissão de Ética no uso de animais" da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião de 15/2/2012.

We certify that the Research "Comparative Pathology of hepatopatias and nefropatias in cetaceans from Brazil", protocol number 2483/2011, utilizing 275 (two hundred seventy-five) tissue samples of cetaceans, under the responsibility Prof. Dr. José Luiz Catão Dias, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by "Ethic Committee in the use of animals" of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of University of São Paulo and was approved in the meeting of day 2/15/2012.

São Paulo, 16 de fevereiro de 2012.

Denise Tabacchi Fantoni
Presidente

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: GONZALES VIERA, Omar Antonio

Título: Patologia comparada das hepatopatias e nefropatias em cetáceos do Brasil

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Patologia Experimental e Comparada da Faculdade
de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de
São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

DEDICATÓRIAS

Á DEUS por ser o artífice de todos meus destinos

Ao meu pai LEONIDES GONZALES GONZALES e minha mãe IRMA VIERA PERALES por serem o melhor exemplo de compreensão, apoio, trabalho e amor. Espero algum dia ser como vocês.

Aos meus irmãos LUIS, quem me ajudou quando mais precisava de compreensão e por ser uma das pessoas que acreditou em mim e me ajudou a vir pro Brasil. A CARMEN, por sua ajuda na comunicação pelo Skype e por ser tão compreensiva, por dar-me os parabéns sempre no Natal e Anos Novos... muitas vezes sozinho. A PATRICIA, por sua ajuda e sua forma tão engraçada de ser que sempre me roubou um sorriso. A LAURITO, avôs ANASTACIÓÑ e GIL, vovó CARMEN e tio TOMÁS, por que do céu estão nos protegendo.

Aos meus sobrinhos LUIS LAURO, MATEO e ANDRE por preencher com novas risadas e “bagunça” o vazio que os filhos deixam quando crescem e saem da casa dos pais.

A CHARLENE, hoje, amanhã e sempre.

A meu país “PERÚ” por que cada vez que volto fico cheio de orgulho de ter nascido em tão maravilhosa terra.

AGRADECIMENTOS

Mais uma vez, aos meus pais (Leonides e Irma), por todo o amor, por me ensinar que trabalhando forte se podem conseguir excelentes resultados, por nunca falar “não”, mesmo com múltiplas limitações econômicas, quando eu ou meus irmãos queríamos ter mais estudos, por ensinar a mim e meus irmãos o que significa “família”.

Aos meus irmãos Luis, Carmen e Patricia, por me cuidar desde criança, pois sou o mais casula de todos, por me ajudar em todo sentido para culminar meus estudos no estrangeiro, por me acompanhar e preocupar quando estive enfermo fora da nossa terra e por serem os melhores irmãos do mundo.

Aos meus sobrinhos Luis Lauro, Mateo e o mais novo Andrés, por que me fazem sentir que a esperança do mundo está nos olhos das crianças.

A Charlene, minha Penélope, esperando sempre nos diferentes aeroportos nosso encontro, sempre vendo na tela das chegadas o famoso “*estimated time of arrival*”. Por todo seu amor, carinho, paciência, ajuda e compreensão. Sobre tudo por me ensinar o significado da palavra “amor”.

Ao meu orientador, amigo e conselheiro José Luiz Catão-Dias, por me aceitar como estagiário desde o 2008 e me permitir abrir caminho na fabulosa área da patologia em animais selvagens, por todos os ensinamentos de patologia, por me ajudar nas coisas que sofre um estudante estrangeiro, pela eterna paciência e por ser o melhor exemplo de ser humano que eu já vi... eu voltarei Catão com certeza!.

Ao Alex Genoy, Angélica Sanchez e Violetica, por me ajudar nos momentos mais difíceis que passei no Brasil, é nesses momentos que se pode perceber aos verdadeiros amigos. Eu espero a vocês no PERÚ!

Á minha amiga Kátia Groch pela ajuda com a dissertação, pelas eternas conversas sobre mamíferos marinhos e suas patologias, e sobre tudo pela grande amizade que vai durar por muito tempo.

Á minha amiga Juliana Marigo pela amizade, ajuda e confiança em todo sentido, realmente foi um prazer ter conhecido a você.

A Valeria Ruoppolo pela amizade e confiança em deixar-me trabalhar com o BTMM e em outras pesquisas que temos juntos!.

Ao Ralph Vanstreels, pela amizade e ajuda com a estatística ... tenho certeza que onde seja que esteja sempre estarei te perguntando sobre o *odds ratio* rrsrrs.

Ás minhas amigas Marina Galvão Bueno e Claudia Niemeyer pela ajuda, cervejinhas, e os papos muito engraçados sobre nossas vidas rrsrrs.

Ao técnico de nosso laboratório o Jorge ... pelos excelentes papos da vida e pela disponibilidade em ajudar-me durante os infortúnios de um estrangeiro.

A Catia Dejuste pela amizade e disponibilidade em ajudar-me quando precisava.

Á Prof. Dra Eliana Matushima pela ajuda em São Paulo e a carta de recomendação para minha bolsa.

Aos meus grandes companheiros e amigos do LAPCOM, Pedro Viadanna, Marina Cesar, Gustavo Bauer, Silmara Rossi, Stefanie Santos, Fabíola Prioste, Renata Santos, Flavia Miranda, Rosely Gioia e Sávio Sant'Anna; pelas conversas e disponibilidade em ajudar-me sempre.

Aos meus amigos da Patologia: Paulo Maiorka, Adriana Siqueira, Luciana Torres, Vivian Ferreira, Juliana Guerra, Ramón Mesquita, Adriana Margarido, Luis Nuñez e Silvana Santander pela aprendizagem e o bom ambiente que maneamos em todo este tempo.

Ao Luis Llanco “Lucho” pela ajuda e amizade desde a primeira vez que vim pra São Paulo.

A Monica Romero “Monchi” pela amizade cultivada durante o tempo no Brasil e que continuará pela vida, mesmo que estejamos longe.

Ao Luis Luna “Luchin” pela amizade que ganhamos durante os diferentes tempos em São Paulo e Lima.

A meus professores de patologia da UNMSM, em especial ao Prof. Alfonso Chavera e Profa. Rosa Perales, pela amizade e ensinamentos não só de patologia, senão da vida.

A todas as instituições que colocaram gentilmente em nossas mãos as amostras de tecidos de mamíferos marinhos: GEMARS, Museu Oceanográfico-FURG, IPeC, CEEMAM, FUNDAMAR, Projeto ATLANTIS, Aquario de Santos, Projeto Golfinho Rotador, SOS Mamíferos Marinhos, R3, Projeto Baleia Franca, MAQUA, em especial ao Projeto Biopesca com a Carolina Bertozzi, CRAM com a Andreia e o Neneco e AQUASIS com o Vitor Luz.

Aos pesquisadores do Laboratório de Imuno-histoquímica, Instituto Adolfo Lutz, pela confiança e bom humor, assim como por me permitir um excelente estágio junto a eles e por me deixar incluir as minhas amostras na rotina.

A Cleusa Takakura e Prof. Dra. Irma Duarte Seixas pela ajuda no processamento de microscopia eletrônica.

Ao Programa PEC-PG do CNPq por me outorgar a bolsa de estudos para estrangeiros.

EPÍGRAFE: FRASES QUE MARCARAM MINHA VIDA

Filhos, na casa não pode faltar comida, estudo e amor.

(Leonides Gonzales Gonzales e Irma Viera Perales)

Todo este sacrifício é por um futuro melhor.

(Irma Viera Perales)

Omar, sempre se deve lembrar que todo na vida dá voltas.

(Luis Gonzales Viera)

Não tenho todas as respostas, para falar verdade na minha vida tenho perdido tantas vezes quanto ganhei, mas amo a minha esposa, amo meus filhos e ofereço minha classe de triunfo.

(Dicky Fox)

-A ver ese brindis, inconquistable - dijo Josefino.

-Por Bonifacia - dijo Lituma. Y alzó la copa, despacio.

(La Casa Verde – Mario Vargas Llosa)

Eu seria capaz de deixar tudo pela felicidade da minha família.

(José L. Catão Dias)

Isso faz parte de você não tente tirá-lo, por que talvez vá perder mais do que ganhar.

(Katie Bortezze)

Prometo que esta será a ultima vez que passamos tanto tempo longe.

(Omar Gonzales Viera)

RESUMO

GONZALES VIERA, O. A. **Patologia Comparada das Hepatopatias e Nefropatias em Cetáceos do Brasil**. [Comparative Pathology of Hepatopatias and Nefropatias in Cetaceans from Brazil]. 2012. 136 f. Dissertação (Mestrado em Ciências). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

Nos mamíferos, o fígado e o rim são órgãos fundamentais para uma adequada homeostase. Nos cetáceos, são de especial importância frente aos desafios da vida no ambiente marinho. O presente estudo teve como objetivo investigar as principais lesões hepáticas e renais de cetáceos do Brasil, utilizando-se amostras mantidas junto ao Banco de Tecidos de Mamíferos Marinhos (BTMM), Laboratório de Patologia Comparada de Animais Selvagens. Para a caracterização das lesões foram utilizadas técnicas anatomopatológicas, imuno-histoquímicas e ultraestrutural. Foram estudados 197 cetáceos de 18 espécies, encontrados mortos em decorrência de captura incidental em apetrecho de pesca, encalhe ou após tentativas de reabilitação. A principal espécie amostrada foi toninha (*Pontoporia blainvillei*) com 65,9% (130/197) dos casos. Quanto à distribuição geográfica as amostras provieram principalmente do estado de São Paulo (41,6%, 82/197), seguido do Rio Grande do Sul (36,5%, 72/192) e Ceará (11,7%, 23/197). Entre as principais lesões hepáticas diagnosticadas, as inclusões hialinas citoplasmáticas (IHC) apresentaram maior frequência (46,3%, 88/190), seguidas pelas hepatites portais linfoplasmocíticas crônicas observadas em 36,5% (69/190), esteatose, em 14,2% (27/190), hepatite necrótica, em 4,7% (9/190), e colangiohepatite parasitária, em 2,6% (5/190) dos casos. A ocorrência de IHC foi mais frequente em animais capturados do que encalhados. Entre as principais lesões renais diagnosticadas, a glomerulonefrite membranosa apresentou maior frequência (14,5%, 28/192). Foram observadas também glomerulonefrite membranoproliferativa, em 10,4% (20/192), nefrite intersticial, em 10,9% (21/192), cistos simples, em 4,16% (8/192), doença glomerulocística primária, em 4,6% (9/192), doença glomerulocística secundária (DGCS), em 8,3% (16/192), e doença renal policística e adenoma tubular, com 0,5% (1/192) de ocorrência cada. A incidência de DGCS apresentou diferença entre as espécies, sendo menos frequente em toninhas do que nos demais cetáceos. Um boto-cinza (*Sotalia guianensis*) morto em decorrência de captura incidental na baía de Paranaguá, Paraná, foi diagnosticado com toxoplasmose e devido à sua importância, fragmentos de todos seus órgãos, disponíveis no BTMM, foram avaliados. O presente estudo reflete a relevância em manter o BTMM, o qual consiste em uma fonte de informação ímpar, que possibilita a realização de estudos retroativos em tecidos de cetáceos e outras espécies de mamíferos aquáticos. O presente trabalho traz contribuições sobre as enfermidades em

cetáceos, e aborda de maneira sistemática as lesões hepáticas e renais nestas espécies. Futuros estudos são necessários para elucidar aspectos sobre o impacto das lesões renais e hepáticas e sua relação com as condições mórbidas dos cetáceos, bem como para avaliar o impacto da toxoplasmose, nos cetáceos e outros mamíferos marinhos brasileiros.

Palavras-chave: Lesão. Fígado. Rim. Toxoplasmose. Cetáceos

ABSTRACT

GONZALES VIERA, O. A. **Comparative Pathology of Hepatopathies and Nefropathies in Cetaceans from Brazil**. [Patologia Comparada das hepatopatias e nefropatias em Cetáceos do Brasil]. 2012. 136 f. Dissertação (Mestrado em Ciências). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

In mammals, the main organs for an adequate homeostase are the liver and the kidney. These organs in Cetaceans have especial importance because of the challenges of life in a marine environment. This study had as main objective find the principal hepatic and renal lesions in Cetaceans from Brazil. Samples from the Marine Mammal Tissue Bank (BTMM) of the Laboratory of Comparative Pathology of Wild Animals were used. Anatomopathological, immunohistochemical and ultrastructural studies were performed. A total of 197 cetaceans belonging to 18 species were studied. They were found dead because of incidental capture or after attempts of rehabilitation for the stranded ones. Franciscana (*Pontoporia blainvillei*) was the principal specie sampled with a 65,9% (130/197) of the cases. Related to geographic distribution, samples were more frequent in São Paulo state (41,6%, 82/197), then Rio Grande do Sul (36,5%, 72/192) and Ceará (11,7%, 23/197). The hepatic lesions found include: hyaline cytoplasmatic inclusions (IHC) (46,3%, 88/190), lymphoplasmacytic chronic portal hepatitis (36,5%, 69/190), steatosis (14,2%, 27/190), necrotic hepatitis (4,7%, 9/190) and parasitic colangiohepatitis (2,6% , 5/190). The occurrences of IHC were more frequent in captured animals than stranded. The main kidney lesion found was the membranous glomerulonephritis (14,5%, 28/192). Additionally, there were observed membranoproliferative glomerulonephritis (10,4%, 20/192), interstitial nephritis (10,9%, 21/192), simple cysts 4,16% (8/192), glomerulocystic primary disease (4,6%, 9/192), glomerulocystic secondary disease (DGCS) (8,3% ,16/192) and polycystic kidney disease and tubular adenome (0,5%, 1/192). The incidence of DGCS differ among species, in Fransiscanas it was less frequent than in other cetaceans. A Guiana Dolphin (*Sotalia guianensis*) dead by incidental capture in the bay of Paranaguá, Paraná, was diagnosed with toxoplasmosis and because of its importance, fragments of all its organs available on BTMM, were evaluated. This study reflects the relevance to maintain the BTMM as an important primary source of information, enabling the realization of future reprospective studies in tissues of whales and other species of aquatic mammals. Furthermore, this study presents contributions on cetacean diseases and addresses in a systematic way lesions in the liver and kidney in these species. Future studies are necessary to elucidate aspects of the

impact of renal and hepatic lesions and their relation to the morbid conditions of cetaceans, as well as to evaluate the impact of toxoplasmosis in cetaceans and other marine mammals in Brazil.

Key words: Lesion. Liver. Kidney. Toxoplasmosis. Cetaceans

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Fígado e diafragma (asterisco), <i>Pontoporia blainvillei</i> . Observar o órgão amarronado e aparentemente bi lobado (setas). Caso: MM349.....	35
Figura 2 -	A) Rins e glândulas adrenais (setas), <i>Pontoporia blainvillei</i> . Observar os <i>renicule</i> unidos por uma cápsula discretamente translúcida. Caso: MM333, B) Superfície de corte dos <i>renicule</i> com ductos coletores. Caso: MM405.....	37
Figura 3 -	Fotografia da carcaça de <i>Pontoporia blainvillei</i> , macho, juvenil. O animal veio a óbito por captura incidental em rede de pesca. Sala de Necropsia, Departamento de Patologia, FMVZ, USP, 2011. Caso: MM349.....	72
Figura 4 -	Fotografia da superfície de rim, <i>Pontoporia blainvillei</i> com cistos simples. Presença de duas estruturas císticas de aproximadamente 0,2 e 0,7 cm de diâmetro (setas) acometendo um <i>reniculus</i> . Sala de Necropsia, Departamento de Patologia, FMVZ, USP, 2011. Caso: MM333.....	72
Figura 5 -	Fotografia da superfície de corte de três <i>renicule</i> fixados em formol, <i>Pontoporia blainvillei</i> com cistos simples. Observar cistos de aproximadamente 0,5 cm de diâmetro, contendo substância de coloração marrom claro (setas). Estas estruturas estavam sempre restritas no córtex. Laboratório de Patologia Comparada de Animais Selvagens, Departamento de Patologia, FMVZ, USP, 2011. Caso: MM174.....	72
Figura 6 -	Fotografia de rim <i>in situ</i> , <i>Steno bredanensis</i> com doença renal policística. Observar nefromegalia marcada, órgão de aproximadamente 30 x 15 cm de comprimento e largura respectivamente, de aparência cística, e rodeada por uma cápsula espessa e esbranquiçada. Foto: Valeria Ruoppolo, Praia Grande, São Paulo, 2001. Caso: MM358.....	72
Figura 7 -	Fotografia da superfície de corte de fígado, <i>Sotalia guianensis</i> com esteatose. Observar a marcada palidez do órgão. Foto: Aquasis, Cear 2011. Caso: MM329.....	72
Figura 8 -	Fotografia do fígado, <i>Pontoporia blainvillei</i> com peri-hepatite piogranulomatosa. Observar estrutura esbranquiçada aderida á capsula do fígado (seta). Caso: MM405.....	72
Figura 9 -	Fotomicrografia de fígado, <i>Stenella longirrostris</i> com inclusões hialinas citoplasmáticas. Observar multiplas inclusões hialinas citoplasmáticas nos hepatócitos (setas). HE. Bar=30 µm. Caso: MM328.....	74

- Figura 10 - Fotomicrografia de fígado, *Sotalia guianensis* com inclusões hialinas citoplasmáticas. Dois hepatócitos com inclusões hialinas citoplasmáticas (setas). PAS. Bar=20 µm. Caso: MM207..... 74
- Figura 11- Fotomicrografia de fígado, *Delphinus capensis* com hepatite portal linfoplasmocítica crônica. Observar o espaço porta com infiltrado inflamatório constituído por células mononucleares, congestão moderada e fibrose discreta a moderada (asterisco). HE. Bar=100 µm. Caso: MM348..... 74
- Figura 12 - Fotomicrografia de fígado, *Sotalia guianensis* com hepatite portal linfoplasmocítica crônica. Fibrose e hiperplasia de ductos biliares portais (setas). Observar também esteatose zonal (zona II) (asterisco). HE. Bar=70 µm. Caso: MM329..... 74
- Figura 13 - Fotomicrografia de fígado, *Sotalia guianensis* com hepatite portal linfoplasmocítica crônica. Fibrose (azul) e hiperplasia de ductos biliares portais (setas). Tricromico de Masson. Bar=70 µm. Caso: MM329..... 74
- Figura 14 - Fotomicrografia de fígado, *Kogia sima* com esteatose. Observar macrogotículas de gordura difusas, de imagem negativa e bordas definidas as quais deslocam o núcleo para a periferia. HE. Bar=100 µm. Caso: M379..... 74
- Figura 15 - Fotomicrografia de fígado, *Pontoporia blainvillei* com hepatite necrótica. Área focal de necrose com infiltrado inflamatório. HE. Bar=100 µm. Caso: MM261..... 76
- Figura 16 - Fotomicrografia de fígado, *Pontoporia blainvillei* com perihepatite piogranulomatosa. Observar infiltrado inflamatório constituído por granulócitos em processo de necrose (asteriscos) e rodeados por tecido fibroso e algumas células gigantes multinucleadas (setas). HE. Bar=120 µm. Caso: MM341..... 76
- Figura 17 - Fotomicrografia de fígado, *Pontoporia blainvillei* com peri-hep piogranulomatosa. Observar duas células gigantes multinucleadas (setas). HE. 40X. Caso: MM174..... 76
- Figura 18 - Fotomicrografia de fígado, *Tursiops truncatus* com perihepatite fibrinogranulomatosa. Observar a marcada presença de fibrina acima da capsula de Glisson (asterisco) e células gigantes multinucleadas mais profundamente (setas). HE. 4X. Caso: MM218..... 76
- Figura 19 - Fotomicrografia de fígado, *Tursiops truncatus* com perihepatite fibrinogranulomatosa. Detalhe em maior aumento da figura 18, com uma célula gigante multinucleada associada aos remanescentes da

	capsula de Glisson. HE. Bar=70 µm. Caso: 218.....	76
Figura 20 -	Fotomicrografia de fígado, <i>Stenella clymene</i> com colangio-hepa parasitaria. Presença de parasita metazoário, com ventosas (seta) compatível com cestóide, dentro de ducto biliar. HE. Bar=120 µm. Ca MM035.....	76
Figura 21 -	Fotomicrografia de cestóide, em <i>Stenella frontalis</i> com colangio-hepatite parasitaria. Parênquima parasitário com presença de corpúsculos calcários (setas) e áreas livres onde antes estavam os corpúsculos (cabeça de seta). HE. Bar=70 µm. Caso: MM374.....	78
Figura 22 -	Fotomicrografia de fígado, <i>Stenella frontalis</i> com colangio-hepatite parasitaria. Observar porção anterior (escólex) do cestóide no ducto biliar com esfoliação de seu epitélio de revestimento. Na região portal pode-se observar um marcado infiltrado inflamatório (asterisco), fibrose e hiperplasia de ductos biliares (setas). HE. Bar=200 µm. Caso: MM374.....	79
Figura 23 -	Fotomicrografia de rim, <i>Stenella coeruleoalba</i> com glomerulonefrite membranosa. Observar o maior espessamento da membrana basal do capilar glomerular (setas) e da capsula de Bowman (cabeça de setas), assim com normocelularidade dentro do tufo. HE. Bar=30 µm. Caso: MM323.....	79
Figura 24 -	Fotomicrografia de rim, <i>Sotalia guianensis</i> com glomerulonefrite membranoproliferativa. Observar espessamento da membrana basal do capilar glomerular e a capsula de Bowman, assim como a hiper celularidade do tufo. Adicionalmente as células estão sofrendo de hipertrofia (setas). HE. Bar=20 µm. Caso: MM207.....	79
Figura 25 -	Fotomicrografia de rim, <i>Sotalia guianensis</i> com glomerulonefrite membranoproliferativa. Notar hialinização segmentar discreta na base do tufo glomerular (seta). HE. 20X. Caso: MM063.....	79
Figura 26 -	Fotomicrografia de rim, <i>Pontoporia blainvillei</i> com nefrite intersticial. Observar o infiltrado de linfócitos e plasmócitos intersticial. HE. Bar=50 µm. Caso: MM312.....	79
Figura 27 -	Fotomicrografia de rim, <i>Stenella coeruleoalba</i> com nefrite intersticial. Fibrose intersticial com discreto infiltrado inflamatório (asterisco). Tricrômico de Masson. Bar=70 µm. Caso: MM323.....	80
Figura 28 -	Fotomicrografia de rim, <i>Sotalia guianensis</i> com nefrite piogranulomatosa parasitaria. Notar infiltrado de polimorfonucleares em processo de necrose (asterisco), com células epitelioides adjacentes e fibrose com células mononucleares rodeando um glomérulo, o qual apresenta uma capsula de Bowman em estado de degeneração (setas). HE. Bar=70 µm. Caso: MM095.....	80

- Figura 29 - Fotomicrografia de rim, *Sotalia guianensis* com nefrite piogranulomatosa parasitaria. Área adjacente a aquela da figura 28. Observar dois parasitas metazoários compatíveis com nematoides (setas) dentro de um vaso sanguíneo com marcado processo inflamatório ao redor. HE. Bar=30 µm. Caso: MM095..... 80
- Figura 30 - Fotomicrografia de rim, *Stenella coeruleoalba* com glomeruloesclerose. Notar atrofia, retração e hipocelularidade do tufo glomerular, com exuberante espessamento e fibrose da capsula de Bowman (seta). Também notar fibrose e infiltrado mononuclear intersticial. HE. Bar=70 µm. Caso: MM323..... 80
- Figura 31 - Fotomicrografia de rim, *Stenella coeruleoalba* com glomeruloesclerose. Observar completa obstrução do glomérulo (seta). Tricromico de Masson. Bar=30 µm. 40X. Caso: MM323..... 80
- Figura 32 - Fotomicrografia de rim, *Stenella longirrostris* com esteatose. Observar marcada presença de macrogotículas de gordura no citoplasma das células epiteliais dos túbulos contorcidos. HE. Bar=70 µm. Caso: MM208..... 80
- Figura 33 - Fotomicrografia de rim, *Pontoporia blainvillei* com cistos simples. Cisto simples contendo substância acidófila e amorfa com células epiteliais descamadas no seu interior (seta). Identificar a pressão contra o parênquima renal. HE. Bar=400 µm. Caso: MM333..... 82
- Figura 34 - Fotomicrografia de rim, *Pontoporia blainvillei* com cistos simples. Detalhe em maior aumento do epitélio de revestimento dos cistos simples com aplanamento do epitélio (seta) e compressão de glomérulo adjacente. HE. Bar=50 µm. Caso: MM174..... 82
- Figura 35 - Fotomicrografia de rim, *Steno bredanensis* com doença renal policística. Observar perda parcial da arquitetura microscópica renal com múltiplos cistos de diversos tamanhos, contendo material acidófilo e amorfo (asterisco). HE. Bar=200 µm 4X. Caso: MM358..... 82
- Figura 36 - Fotomicrografia de rim, *Steno bredanensis* com doença renal policística. Notar metaplasia escamosa no epitélio de revestimento de cisto e descamação das mesmas (setas). HE. Bar=150 µm. Caso: MM358..... 82
- Figura 37 - Fotomicrografia de rim, *Pontoporia blainvillei* com doença glomerulocística secundária. Observar marcada dilatação e espessamento da capsula de Bowman contendo substância acidófila e amorfa no seu interior. Notar discreta diminuição de tamanho do tufo (seta). HE. Bar=70 µm 20X. Caso: MM164..... 82

- Figura 38 - Fotomicrografia de rim, *Sotalia guianensis* com doença glomerulocística secundária. Glomérulo com capsula de Bowman marcadamente espessada (seta) e hipertrofia das células de revestimento contendo uma substância acidófila e amorfa no seu interior. Notar a ausência total do tufo glomerular. HE. Bar=50 µm. Caso: MM063..... 82
- Figura 39 - Fotomicrografia de rim, *Pontoporia blainvillei* doença glomerulocística primária. Observar glomérulo com capsula de Bowman dilatada, com substância acidófila tênue e amorfa no seu interior e ausência de tufo, porém sem nenhuma evidência de lesão associada. Notar dois glomérulos normais embaixo do cisto glomerular primário (setas). HE. Bar=100 µm. Caso: MM083..... 84
- Figura 40 - Fotomicrografia de rim, *Pontoporia blainvillei* com adenoma tubular. Observar a proliferação de túbulos (setas) de aparência nodular no córtex do *reniculus*, o qual está sobressaindo para a superfície. HE. 4X. Caso: MM140..... 84
- Figura 41 - Fotomicrografia de rim, *Pontoporia blainvillei* com adenoma tubular. Detalhe em maior aumento da figura 41, apresentando túbulos desorganizados, com discreta proliferação epitelial e poucas células com núcleo hipercromático. HE. Bar=70 µm. Caso: MM140..... 84
- Figura 42 - Fotomicrografia de fígado, *Sotalia guianensis* com toxoplasmose. Observar dois focos de necrose com infiltrado inflamatório (asterisco) e fibrose do espaço portal (seta). Notar moderada congestão dos sinusoides. HE. Bar=150 µm. Caso: MM075..... 84
- Figura 43 - Fotomicrografia de fígado, *Sotalia guianensis* com toxoplasmose. Cisto tissular (seta) de *T. gondii* positivo para PAS. Bar=150 µm. Caso: MM075..... 84
- Figura 44 - Fotomicrografia de pulmão, *Sotalia guianensis* com toxoplasmose. Espessamento do septo interalveolar com aumento de tecido conjuntivo e infiltrado mononuclear (asterisco). Notar descamação do epitélio de revestimento bronquiolar e presença de pseudocistos de protozoários na luz (seta). HE. Bar=70 µm. Caso: MM075..... 84
- Figura 45 - Fotomicrografia de glândula adrenal, *Sotalia guianensis* com toxoplasmose. Notar pseudocisto de protozoário com vacúolo parasitóforo (seta). Observar o infiltrado inflamatório e necrose focalmente extensiva ao redor do protozoário. HE. Bar=70 µm. Caso: MM075..... 86
- Figura 46 - Fotomicrografia de rim, *Sotalia guianensis* com toxoplasmose. Camada muscular de vaso sanguíneo corticomedular com necrose, extravasamento de hemácias e presença de pseudocistos de protozoário com vacúolo parasitóforo (setas). HE. Bar=150 µm. Caso:

MM075.....	86
Figura 47 - Fotomicrografia de rim, <i>Sotalia guianensis</i> com toxoplasmose. Glomeruloesclerose, notar a obstrução total glomérulo “obsoleto” e espessamento exuberante com tortuosidade da capsula de Bowman. HE. Bar=100 µm. Caso: MM075.....	86
Figura 48 - Fotomicrografia de rim, <i>Sotalia guianensis</i> com cistos simples. Observar citoplasma do epitélio de revestimento de um cisto simples. Tanto as células cúbicas (seta) como aplanadas (cabeça de seta) são fortemente positivas para anti-pancitoqueratina AE1/AE3. Reação de imuno-histoquímica. Contra coloração com Hematoxilina de Harris. Bar=40X. Caso: MM406.....	86
Figura 49 - Fotomicrografia de rim, <i>Steno bredanensis</i> com doença renal policística. Notar o citoplasma do epitélio cúbico dos cistos positivos para anti-pancitoqueratina AE1/AE3 (setas). Reação de imuno-histoquímica. Contra coloração com Hematoxilina de Harris. Bar=40X. Caso: MM358.....	86
Figura 50 - Fotomicrografia de rim, <i>Steno bredanensis</i> com doença renal policística. Notar as células da metaplasia escamosa positivas para anti-pancitoqueratina AE1/AE3. Reação de imuno-histoquímica. Contra coloração com Hematoxilina de Harris. Bar=40X. Caso: MM358.....	86
Figura 51 - Fotomicrografia de rim, <i>Pontoporia blainvillei</i> com adenoma tubular. Observar a proliferação de túbulos apresentados na figura 41 positivos para anti-pancitoqueratina AE1/AE3 (setas). Reação de imuno-histoquímica. Contra coloração com Hematoxilina de Harris. Bar=4X. Caso: MM140.....	88
Figura 52 - Fotomicrografia de rim, <i>Pontoporia blainvillei</i> com adenoma tubular. Detalhe em maior aumento da figura 52, citoplasma do epitélio tubular fortemente positivo para anti-pancitoqueratina AE1/AE3. Reação de imuno-histoquímica. Contra coloração com Hematoxilina de Harris. Bar=40X. Caso: MM140.....	88
Figura 53- Fotomicrografia de pulmão, <i>Sotalia guianensis</i> com toxoplasmose. Observar pseudocistos (setas) e taquizoitos (cabeça de seta) fortemente positivos para anti- <i>Toxoplasma gondii</i> . Reação de imuno-histoquímica. Contra coloração com Hematoxilina de Harris. Bar=40X. Caso: MM075.....	88
Figura 54 - Fotomicrografia de glândula adrenal, <i>Sotalia guianensis</i> com toxoplasmose. Notar taquizoitos (setas) e cisto com bradizoitos (cabeça de seta) fortemente positivos para anti- <i>Toxoplasma gondii</i> . Reação de imuno-histoquímica. Contra coloração com Hematoxilina de Harris. Bar=40X. Caso: MM075.....	88

- Figura 55 - Fotomicrografia de músculo esquelético (acima) e nervo ótico (embaixo), *Sotalia guianensis* com toxoplasmose. Presença de pseudocistos fortemente positivos para anti-*Toxoplasma gondii*. Notar a ausência de necrose ou resposta inflamatória ao redor. Reação de imuno-histoquímica. Contra coloração com Hematoxilina de Harris. Bar=40X. Caso: MM075..... 88
- Figura 56 - Electromicrografia de fígado, *Pontoporia blainvillei* com inclusões hialinas citoplasmáticas. Inclusões hialinas citoplasmáticas dentro de hepatócitos. Notar o deslocamento dos núcleos para a periferia. Contrastação com acetato de uranilo e citrato de chumbo. Bar=5µm. Caso: MM136..... 90
- Figura 57 - Electromicrografia de fígado, *Pontoporia blainvillei* com inclusões hialinas citoplasmáticas. Detalhe em maior aumento de uma inclusão hialina citoplasmática com material eletrondenso com uma maior concentração no extremo superior (seta). Contrastação com acetato de uranilo e citrato de chumbo. Bar=2 µm. Caso: MM136..... 90
- Figura 58 - Electromicrografia de fígado, *Pontoporia blainvillei* com inclusões hialinas citoplasmáticas. Observar inclusão hialina citoplasmática com membrana limitante (setas). Contrastação com acetato de uranilo e citrato de chumbo. Bar=1µm. Caso: MM136..... 90
- Figura 59 - Electromicrografia de rim, *Sotalia guianensis* com glomerulonefrite membranoproliferativa. Notar depósito eletrondenso intramembranoso na membrana basal do capilar glomerular (asterisco) e a maior celularidade. Contrastação com acetato de uranilo e citrato de chumbo. Bar=2µm. Caso: MM063..... 90
- Figura 60 - Electromicrografia de rim, *Sotalia guianensis* com glomerulonefrite membranoproliferativa. Observar a proliferação de células epiteliais com discretos depósitos eletrodensos (asteriscos). Contrastação com acetato de uranilo e citrato de chumbo. Bar=5µm. Caso: MM207..... 92
- Figura 61 - Electromicrografia de rim, *Stenella coeruleoalba* com nefrite intersticial. Notar proliferação de fibras colágenas (asterisco branco) adjacentes às capsula de Bowman, a qual apresenta depósitos eletrodensos na membrana basal (seta). Observar o detalhe do espaço de Bowman (asterisco negro). Contrastação com acetato de uranilo e citrato de chumbo. Bar=5µm. Caso: MM323..... 92
- Figura 62 - Eletromicrografia de rim, *Stenella coeruleoalba* com nefrite intersticial. Plasmocito, observar a maior presença de retículo endoplasmico rugoso no citoplasma e núcleo oval e excêntrico. Adjacente, cortes transversais de fibras colágenas (asteriscos). Contrastação com acetato de uranilo e citrato de chumbo. Bar=1µm. Caso:

MM323.....	92
Figura 63 - Electromicrografia de rim, <i>Stenella coeruleoalba</i> com nefrite intersticial. Fibras colágenas, observar extriações transversais em cada uma delas. Contrastação com acetato de uranilo e citrato de chumbo. Bar=200nm. Caso: MM323.....	92
Figura 64 - Electromicrografia de rim, <i>Stenella coeruleoalba</i> com glomeruloesclerose. Observar uma moderada expansão do mesangio (asterisco) com maior tortuosidade e estenose da luz do capilar glomerular. Notar depósitos eletrodensos na membrana basal do capilar e na capsula de Bowman (seta). Contrastação com acetato de uranilo e citrato de chumbo. Bar=2µm. Caso: MM323.....	94
Figura 65 - Electromicrografia de rim, <i>Stenella coeruleoalba</i> com glomeruloesclerose. Notar moderada expansão do mesangio (asterisco negro) e maior estreitamento da luz capilar, o qual apresentava depósitos eletrondensos na membrana basal (asterisco branco). Contrastação com acetato de uranilo e citrato de chumbo. Bar=2 µm. Caso: MM323.....	94
Figura 66 - Electromicrografia de fígado, <i>Sotalia guianensis</i> com toxoplasmose. Célula de Kupffer fagocitando um taquizoito de <i>Toxoplasma gondii</i> . Contrastação com acetato de uranilo e citrato de chumbo. Bar=1µm. Caso: MM075.....	94
Figura 67 - Eletromicrografia de rim, <i>Sotalia guianensis</i> com toxoplasmose. Observar moderada expansão do mesangio (asterisco negra) com marcados depósitos eletrondensos na matriz mesangial e focalmente agrupado (asterisco branco). Contrastação com acetato de uranilo e citrato de chumbo. Bar=2µm. Caso: MM075.....	94

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características do painel de anticorpos utilizados, sistema de detecção, título e casos avaliados para imuno-histoquímica - São Paulo - 2010-2012.....	50
Tabela 2 - Casos e os respectivos tecidos avaliados para análise ultraestrutural - São Paulo - 2010-2012.....	50
Tabela 3 - Distribuição sexual e etária dos cetáceos estudados. Legenda: M = Macho, F = Fêmea, I = Indeterminado, Fi = Filhote, Jv = Juvenil, Ad = Adulto, C = Captura, E = Encalhe, R = Reabilitação - São Paulo - 2010-2012.....	52
Tabela 4 - Distribuição das lesões histopatológicas hepáticas diagnosticadas em função das espécies de cetáceos estudados - São Paulo - 2010-2012.....	61
Tabela 5 - Distribuição das lesões histopatológicas renais diagnosticadas em função das espécies de cetáceos estudados - São Paulo - 2010-2012.....	65

LISTA DE QUADROS

Quadro 1- Distribuição dos principais achados macroscópicos relatados no fígado e rim dos cetáceos estudados, em função do caso - São Paulo - 2010-2012	55-57
---	-------

LISTA DE GRAFICOS

Grafico 1- Distribuição geográfica (A) e anual (B) das amostras de cetáceos estudados - São Paulo - 2010-2012.....	53
--	----

NOMES POPULARES E LISTA DE ESPECIES

Mysticeti

<i>Balaenoptera acutorostrata</i>	Baleia-minke-anã
<i>Megaptera novaeangliae</i>	Baleia-jubarte
<i>Eubalaena australis</i>	Baleia-franca-austral
<i>Balaenoptera borealis</i>	Baleia-sei
<i>Balaenoptera physalus</i>	Baleia-fin
<i>Balaenoptera musculus</i>	Baleia-azul
<i>Balaena mysticetus</i>	Baleia-da-Groenlândia

Odontoceti

<i>Delphinus capensis</i>	Golfinho-comum-de-bico-longo
<i>Globicephala macrorhynchus</i>	Baleia-piloto-de-peitorais-curtas
<i>Kogia breviceps</i>	Cachalote-pigmeu
<i>Kogia sima</i>	Cacholote-anão
<i>Lagenodelphis hosei</i>	Golfinho de fraser
<i>Mesoplodon europaeus</i>	Baleia-bicuda-de-gervais
<i>Peponocephala electra</i>	Golfinho-cabeça-de-melão
<i>Physeter macrocephalus</i>	Cachalote
<i>Pontoporia blainvillei</i>	Toninha
<i>Sotalia guianensis</i>	Boto-cinza
<i>Stenella clymene</i>	Golfinho-de-clymene
<i>Stenella coeruleoalba</i>	Golfinho-listrado
<i>Stenella frontalis</i>	Golfinho-pintado-do-atlantico
<i>Stenella longirostris</i>	Golfinho-rotador
<i>Steno bredanensis</i>	Golfinho-de-dentes-rugosos
<i>Tursiops truncatus</i>	Golfinho-nariz-de-garrafa
<i>Delphinapterus leucas</i>	Baleia-beluga
<i>Phocoena phocoena</i>	Boto-comum
<i>Sotalia fluviatilis</i>	Tucuxi
<i>Orcinus orca</i>	Orca
<i>Inia geoffrensis</i>	Boto-cor-de-rosa
<i>Lagenorhynchus obliquidens</i>	Golfinho-de-laterais-brancas-do-Pacífico
<i>Grampus griséus</i>	Golfinho-de-Risso
<i>Delphinus delphis</i>	Golfinho-comum

LISTA DE ABREVIATURAS

AT	Adenoma tubular
AUT	Autólise
BSA	Soro-albumina-bovina
BTMM	Banco de Tecidos de Mamíferos Marinhos
CHP	Colangio-hepatite parasitária
CIS	Cisto simples
DAB	Diaminobenzidina
DDT	Dicloro difenil tricloroetano
DGCP	Doença glomerulocística primária
DGCS	Doença glomerulocística secundária
DRP	Doença renal policística
EST	Esteatose
GE	Glomeruloesclerose
GM	Glomerulonefrite membranosa
GMP	Glomerulonefrite membranoproliferativa
HN	Hepatite necrótica
HPLC	Hepatite portal linfoplasmocítica crônica
IC	Intervalo de Confiança
IHC	Inclusões hialinas citoplasmáticas
Ig	Imunoglobulina
MM	Mamífero Marinho
NDN	Nada digno de nota
NI	Nefrite intersticial
NPG	Nefrite piogranulomatosa
NPGP	Nefrite piogranulomatosa parasitária
PAS	Acido Periodico de Shiff
PBS	Solução <i>phosphate buffer saline</i>
PCB	Bifenil policlorados
PHPG	Peri-hepatite piogranulomatosa
PHFG	Peri-hepatite fibrinogranulomatosa
RC	Razão de Chance
χ^2	Qui-quadrado

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	28
2	OBJETIVOS	30
2.1	Objetivo Geral	30
2.2	Objetivos Específicos.....	30
3	REVISÃO DE LITERATURA	31
3.1	Aspectos da Historia Natural e Biologia dos Cetáceos.....	31
3.2	Situação dos Cetáceos no Brasil	32
3.3	Aspectos Macroscópicos e Microscópicos Hepáticos e Renais de Cetáceos	34
3.3.1	Fígado	34
3.3.2	Rim	35
3.4	Enfermidades Hepáticas e Renais em Cetáceos.....	37
3.4.1	Enfermidades Bacterianas, Micóticas, Virais e Parasitárias.....	38
3.4.2	Enfermidades Não Infecciosas	40
4	MATERIAL E MÉTODOS	44
4.1	Animais Estudados	44
4.2	Avaliação Macroscópica	44
4.3	Processamento Histopatológico	45
4.4	Processamento Imuno-histoquímico	45
4.5	Processamento Ultraestrutural a partir de material embocado em parafina	48
4.6	Análise Estatística.....	49
5	RESULTADOS	51
5.1	Animais Estudados	51
5.2	Avaliação Macroscópica	54
5.3	Avaliação Histopatológica	58
5.3.1	Descrição e diagnósticos hepáticos	58

5.3.2	Descrição e diagnósticos renais	62
5.3.3	Descrição e diagnósticos do boto-cinza (<i>Sotalia guianensis</i>) (MM075).....	66
5.4	Avaliação Imuno-histoquímica	68
5.5	Avaliação Ultraestrutural.....	69
5.6	Análise Estatística.....	95
5.6.1	Composição amostral.....	95
5.6.2	Histopatologia.....	95
6	DISCUSSÃO	96
6.1	Análise da Amostragem	96
6.2	Análise das Lesões Hepáticas	97
6.3	Análise das Lesões Renais.....	102
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	110
	REFERÊNCIAS	111

1 INTRODUÇÃO

O interesse pelos mamíferos marinhos tem aumentando significativamente nos últimos anos, tanto ao público em geral quanto à comunidade científica. Atualmente, muitas pessoas realizam avistamentos de cetáceos como parte de suas atividades ecoturísticas, sendo uma importante ferramenta de educação sobre a importância destas espécies na saúde dos ecossistemas aquáticos (JEFFERSON; LEATHERWOOD; WEBBER, 1993). Esse interesse pelos mamíferos marinhos e cetáceos em especial tem estimulado um aumento nos estudos sobre sua sistemática e distribuição (RICE, 1998). Segundo Gulland e Hall (2007), as publicações sobre mortalidade por vírus, bactérias, fungos, parasitas, biotoxinas, vazamentos de óleo e mudanças nas condições oceanográficas têm aumentado gradualmente nos últimos 40 anos, mostrando um maior interesse científico pela saúde destas espécies.

Ainda que exista escassa informação sobre o completo papel ecológico dos mamíferos marinhos nos ecossistemas aquáticos, sabe-se de sua importância como os maiores predadores pelágicos, localizando-se no topo da cadeia trófica marinha (BOWEN, 1997). Os cetáceos, especialmente o golfinho-nariz-de-garrafa (*Tursiops truncatus*), são considerados como sentinelas da saúde dos ecossistemas marinhos, devido à sua longa vida, por habitarem as regiões costeiras e por serem os maiores predadores marinhos de peixes e lulas, concentrando altos níveis de contaminantes de origem antropogênicos pelo fenômeno de bioacumulação (WELLS et al., 2004). Bossart (2006, 2011), coloca os cetáceos e mamíferos marinhos em geral, não só como sentinelas da saúde dos oceanos, como também da saúde humana, devido ao fato de compartilharem o ambiente costeiro e consumirem o mesmo alimento que os humanos, revelando-se importantes indicadores sanitários para a saúde pública.

No Brasil, a literatura e pesquisas sobre as afecções que acometem os cetáceos e mamíferos marinhos são raras (RUOPPOLO, 2003), devido em parte, aos poucos profissionais capacitados para avaliar e diagnosticar a causa de morte ou lesões presentes em tecidos de cetáceos. Neste sentido, o estudo anatomopatológico (macroscópico e histopatológico) das carcaças destes animais é uma ferramenta importante para conhecer a morfofisiologia natural, bem como as alterações morfológicas associadas com alguma doença e, desta forma, evidenciar os possíveis impactos antropogênicos (ROWLES; VAN DOLAH; HOHN, 2001). No Brasil, poucos estudos sobre causas de morte e patologia comparada de cetáceos e pinípedes foram realizados (MARIGO, 2003; RUOPPOLO, 2003; MOTTA, 2006). Recentemente, foram conduzidos estudos sobre os aspectos imunopatológicos da resposta

inflamatória em pulmão e baço de toninhas (*Pontoporia blainvillei*) salientando a importância em realizar estudos mais aprofundados acerca das afecções e mecanismos de defesa dos órgãos e tecidos de cetáceos (SOUZA, 2010).

O presente trabalho teve como intuito aprofundar os estudos relativos à patologia hepática e renal de cetáceos brasileiros. Para tanto, foram utilizadas amostras pertencentes ao Banco de Tecidos de Mamíferos Marinhos (BTMM) do Laboratório de Patologia Comparada de Animais Selvagens (LAPCOM), do Departamento de Patologia (VPT) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Universidade de São Paulo (FMVZ-USP).

Desta forma, pretende-se aumentar o conhecimento, de uma forma sistemática, sobre as hepatopatias e nefropatias que acometem os cetáceos que habitam o litoral do Brasil.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Investigar as principais lesões hepáticas e renais existentes em amostras de tecidos de cetáceos do Brasil mantidos junto ao BTMM-LAPCOM.

2.2 Objetivos Específicos

- Descrever e diagnosticar as lesões histopatológicas hepáticas e renais existentes nas amostras investigadas e, caso haver registros, apresentar as lesões macroscópicas correspondentes observadas durante a necropsia;
- Investigar, através de ensaios imunohistoquímicos, a ocorrência de agentes infecciosos e/ou não infecciosos específicos no material analisado;
- Investigar, através de procedimentos ultraestruturais, agentes infecciosos e/ou não infecciosos diagnosticados mediante a histopatologia e/ou imuno-histoquímica.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Aspectos da Historia Natural e Biologia dos Cetáceos

Em 1778, Linnaeus descreveu os mamíferos como uma classe dentro do Filo Vertebrata. Estes têm sangue quente, são placentados (exceto pelos equídnas e ornitorrincos), apresentam glândulas mamárias produtoras de leite e pelos como anexos cutâneos (DIERAUF, 1990).

Nos primórdios da evolução dos mamíferos, uma variedade deles começou a explorar o ambiente marinho. Muitas dessas tentativas não foram bem sucedidas, entretanto, algumas variedades entravam e saíam da água cada vez com mais frequência e com mais duração (GERACI; LOUNSBURY, 2005). Deste modo, aparecem os cetáceos (baleias e golfinhos) e sirênios (peixes-boi), os quais também são denominados de mamíferos marinhos verdadeiros, já que passam toda sua vida no ambiente marinho. Por outro lado, apesar de os pinípedes (leões-marinhos, focas, morsas e elefantes marinhos), lontras e ursos polares ainda preservarem vínculos vitais com o ambiente terrestre, também são considerados mamíferos marinhos, pois se adaptaram de forma alimentícia, anatômica e fisiológica ao ambiente aquático (DIERAUF, 1990). Sendo assim, embora haja diferenças, os cetáceos e os outros mamíferos marinhos têm uma característica em comum, que é a dependência das águas marinhas e algumas vezes continentais para sua alimentação (JEFFERSON; LEATHERWOOD; WEBBER, 1993).

Considerando os aspectos evolutivos, os cetáceos estão estreitamente relacionados ao grupo dos artiodátilos, como as vacas e suínos (JEFFERSON; LEATHERWOOD; WEBBER, 1993; FORDYCE; BARNES, 1994). Dentro deles, as baleias estão mais relacionadas à família Hipopotamidae (GINGERICH et al., 2001).

A termorregulação e hidrodinâmica que os cetáceos e os outros mamíferos marinhos devem apresentar para viver no ambiente marinho têm causado mudanças na aparência destes animais. Desta forma, houve adaptações que levaram à modificação dos membros e outras extremidades para habilitá-los a nadar e exibir locomoção axial; aumento da gordura para o isolamento térmico; e adaptação testicular (ROMMEL; LOWENSTINE, 2001). Outras adaptações anatômicas e fisiológicas são a consistência e elasticidade dos pulmões devido aos pequenos anéis cartilagosos que circundam totalmente as vias aéreas,

permitindo aos animais evitar o colapso das vias respiratórias ao submergirem na água. Além disso, os cetáceos apresentam uma rede de vasos sanguíneos torácicos que forma parte do sistema circulatório. Nesta linha, o sangue e músculos destes animais são mais escuros comparativamente aos mamíferos terrestres, devido à maior concentração de hemoglobina e de mioglobina, respectivamente, sendo que estas características permitem aos cetáceos armazenar grande quantidade de sangue oxigenado durante o mergulho (VIGNA; GURD; CURD, 1974; GERACI; LOUNSBURY, 2005).

Os cetáceos utilizam a ecolocalização, isto é, a emissão de som de alta frequência direcionado por um tecido gorduroso especializado localizado na área frontal do crânio chamado “melão”, que é refletido no objetivo/obstáculo, captado por receptores que se localizam na mandíbula e então transmitido até o ouvido médio e, finalmente, ao córtex cerebral (BARNETT; ROBINSON, 2003). Esta forma de ecolocalização é utilizada pelos cetáceos para a alimentação, navegação e evasão de predadores (JEFFERSON; LEATHERWOOD; WEBBER, 1993).

Segundo Jefferson, Leatherwood e Webber (1993) e Rice (1998) a ordem Cetácea, cujo nome provém da combinação das palavras latinas (*cetos* = grande criatura marinha e *acea* = semelhante), apresenta duas subordens viventes: Mysticetos, ou cetáceos com barbatanas, os quais atingem grande tamanho, apresentam dois orifícios respiratórios e estão formadas por quatro famílias e 14 espécies; Odontocetos ou cetáceos com dentes, a maioria deles de menor tamanho, apresentando um único orifício respiratório, e distribuído em 10 famílias e 71 espécies. Uma terceira subordem (Archaeoceti) foi extinta e se sabe que apresentavam características intermediárias entre mysticetos e odontocetos (FORDYCE; BARNES, 1994; MACHADO; DRUMMOND; PAGLIA, 2008).

3.2 Situação dos Cetáceos no Brasil

Durante as décadas de 70 e 80, as informações sobre cetáceos no Brasil eram escassas, e vale lembrar que ainda nos anos 70 as baleias-francas-do-sul (*Eubalaena australis*) eram sacrificadas em Santa Catarina para fins comerciais (HETZEL; LODI, 1993). A proteção dos cetáceos e demais mamíferos marinhos em águas jurisdicionais brasileiras foi implantada ao longo dos anos 80 (HETZEL; LODI, 1993).

O Brasil possui aproximadamente 8000 km de litoral e um vasto complexo fluvial na região norte (PINTO DE LIMA; BICUDO CESAR, 2005), por esta razão é lógico pensar em uma rica fauna de cetáceos. Neste sentido, das 84 espécies de cetáceos do mundo (14 mysticetos e 70 odontocetos), oito espécies de mysticetos e 44 de odontocetos ocorrem em águas brasileiras (MACHADO; DRUMMOND; PAGLIA, 2008).

Recentemente foi publicado o Livro Vermelho de Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção (MACHADO; DRUMMOND; PAGLIA, 2008), no qual são apresentadas sete espécies de cetáceos. Dentre os mysticetos, são listadas cinco espécies: Baleia-sei (*Balaenoptera borealis*) e baleia-jubarte (*Megaptera novaeangliae*) como vulneráveis, baleia-franca-do-sul (*Eubalaena australis*) e baleia-fin (*Balaenoptera physalus*) como em perigo, e a baleia-azul (*Balaenoptera musculus*) na categoria criticamente em perigo. Dentre os odontocetos são mencionados duas espécies, o cachalote (*Physeter macrocephalus*) e a toninha (*Pontoporia blainvillei*), nas categorias de vulnerável e em perigo, respectivamente. Dos cetáceos presentes na costa brasileira, a toninha é o único pequeno cetáceo que se encontra em perigo, e acredita-se que isto se deva às capturas acidentais que ocorrem há várias décadas ao longo de sua área de distribuição, e não por conta de caça comercial como é o caso de outros grandes cetáceos em diversas regiões do mundo (MACHADO; DRUMMOND; PAGLIA, 2008; BARRETO *et al.*, 2011)

Com o objetivo de contribuir para a compreensão da situação dos pequenos cetáceos do Brasil foi lançado o “Plano de Ação Nacional para a Conservação dos Mamíferos Aquáticos - Pequenos Cetáceos” (BARRETO *et al.*, 2011). Neste plano, as espécies boto-cor-de-rosa (*Inia geoffrensis*) e tucuxi (*Sotalia fluviatilis*) foram descritas como quase ameaçadas; e as espécies boto-cinza (*Sotalia guianensis*), golfinho-nariz-de-garrafa (*Tursiops truncatus*), golfinho-rotador (*Stenella longirostris*), golfinho-de-dentes-rugosos (*Steno bredanensis*) e orca (*Orcinus orca*), como espécies com dados insuficientes no Brasil. Devido ao risco em que se encontra a toninha, principalmente pela captura incidental, um plano de ação nacional foi elaborado exclusivamente para a espécie, no qual foram colocadas as metas que deveriam ser alcançadas nos próximos cinco anos para evitar o declínio populacional da única espécie viva da família Pontoporidae (DI BENEDITTO *et al.*, 2010).

3.3 Aspectos Macroscópicos e Microscópicos Hepáticos e Renais de Cetáceos

3.3.1 Fígado

Em geral o fígado dos cetáceos é similar ao de outros mamíferos (LOWENSTINE; OSBORN, 1990; ROMMEL; LOWENSTINE, 2001). Este órgão é o maior da cavidade corpórea, de coloração amarronzada, multilobado e possuindo a maior parte de seu volume posicionado na porção esquerda da linha média do corpo e imediatamente caudal ao diafragma (JEFFERSON; MYRICK; CHIVERS, 1994; ROMMEL; LOWENTINE, 2001). De forma geral, o fígado apresenta poucos lobos (JEFFERSON; MYRICK; CHIVERS, 1994), os quais são alongados para melhor adaptarem-se ao aspecto fusiforme do corpo (BRITT; HOWARD, 1983). Em baleias, o fígado é usualmente bilobado (Figura 1), mas em algumas ocasiões, um terceiro lobo é observado (BERTA; SUMICH, 1999) e seu tamanho, em relação ao volume corporal, é relativamente maior que nos mamíferos terrestres (MC ALPINE, 1985). Esta característica poderia estar associada com a alta dependência aos lipídeos como fonte de energia, particularmente aqueles acumulados no tecido subcutâneo, para ajudar nos processos metabólicos (BRODIE, 1975; MC ALPINE, 1985). A vesícula biliar está ausente nos cetáceos (BRITT; HOWARD, 1983; LOWENSTINE; OSBORN, 1990; BERTA; SUMICH, 1999; ROMMEL; LOWENSTINE, 2001). Microscopicamente, como acontece em mamíferos terrestres, o espaço porta contém as ramificações da veia porta, artéria hepática, vasos linfáticos e ducto biliar (formado por um epitélio colunar), os quais estão embebidos em um tecido conjuntivo (CAVE; AUMONIER, 1961). Os vasos sanguíneos da tríade portal apresentam uma espessa parede de revestimento e, em algumas ocasiões, as veias centro-lobulares podem apresentar um esfíncter de músculo liso (LOWENSTINE; OSBORN, 1990; ROMMEL; LOWENSTINE, 2001). Maiores detalhes sobre a histologia hepática de cetáceos não são tão bem descritas e a informação em geral, é mais voltada, nas principais diferenças entre as espécies.

Figura 1 - Fígado e diafragma (asterisco), *Pontoporia blannvillei*. Observar o órgão amarronzado e aparentemente bilobado (setas). Caso: MM349

3.3.2 Rim

Os rins estão localizados junto à musculatura lombar, na linha media dorsal e junto ao diafragma (ROMMEL; LOWENSTINE, 2001). Em vez de apresentar aspecto riniforme, os rins de cetáceos e outros mamíferos marinhos são alongados e ovais (BRITT; HOWARD, 1983). Os cetáceos, como a maioria dos mamíferos marinhos, apresentam rins multilobulados, os quais consistem em várias unidades individuais chamadas *reniculus* ou *reniculis* (no plural, *renicule*) (BRITT; HOWARD, 1983; LOWENSTINE; OSBORN, 1990; BERTA; SUMICH, 1999; ROMMEL; LOWENSTINE, 2001). Cada unidade apresenta todos os componentes de um rim metanéfrico (ROMMEL; LOWENSTINE, 2001), ou seja, possui forma circular a poligonal e contém córtex, medula, papila e cálice (BRITT; HOWARD, 1983; TETTAMANTI et al., 2004). O número de *renicule* em cetáceos pode variar desde centenas até milhares em cada rim (BERTA; SUMICH, 1999). Por exemplo, já foram observados 1740 *renicule* em orcas (*Orcinus orca*) (MALUFF; GASSMAN, 1998). O diâmetro de cada *reniculus* pode variar, e em algumas ocasiões podem ser observados *renicule* fusionados (CAVE; AUMONIER, 1961)

A razão desta característica ainda não é completamente conhecida, porém o fato de alguns dos grandes mamíferos terrestres (bovídeos, girafídeos, etc) possuírem rins multilobulados apóia a teoria de ser uma adaptação associada com o tamanho corporal, e não

com algum fator ligado ao ambiente marinho (VARDY; BRYDEN, 1981). Neste sentido, a aparente vantagem de um rim multilobulado é que, ao ser dividido em vários lóbulos independentes, os túbulos contorcidos proximais e distais se tornariam mais curtos e, deste modo, poderiam conduzir a urina com menor resistência e em menos tempo, enquanto que nos animais com mais de 100 Kg de massa corpórea e com um número reduzido de lóbulos, os túbulos teriam que ser muito longos o que acarretaria uma maior resistência intraluminal para conduzir a urina e levaria mais tempo (MALUF; GASSMAN, 1998). Além disso, sendo multilobulado, há um aumento da área cortical, e consequentemente, maior taxa de filtração realizada pelos glomérulos (TETTAMANTI et al., 2004).

Macroscopicamente, os rins dos cetáceos apresentam pouca coesão entre seus *renicule*, devido à pobre conexão estrutural entre eles quando a cápsula é aberta (BRITT; HOWARD, 1983). Microscopicamente, tanto em cetáceos como pinípedes, é possível encontrar a *porta perimedullaris musculosa*, uma extensão de tecido fibromuscular que se origina no cálice, penetra os *renicule* e envolve a pirâmide medular (LOWENTINE; OSBORN, 1990; BERTA; SUMICH, 1999). Além disso, a proporção de tecidos fibroso e muscular pode variar entre cetáceos, desde numerosas fibras musculares em pequenos odontocetos, até praticamente ausentes em mysticetos. Acredita-se que isto estaria relacionado à frequência de imersões, em variável profundidade, que são realizadas pelos odontocetos, já que estas fibras ajudariam a suportar o contínuo estresse imposto ao rim durante o mergulho. Nos mysticetos, este estresse não estaria presente da mesma forma, haja visto que estes animais realizam prolongadas imersões, porém com menor frequência (TETTAMANTI et al., 2004).

Outras características dos *renicule* incluem serem grandes reservatórios de glicogênio e terem vários vasos sanguíneos medulares, que são considerados adaptações especiais do rim para o mergulho (PFEIFFER, 1997; BERTA; SUMICH, 1999).

O “reflexo de mergulho”, ou “reação de alarme”, tem sido descrito em várias espécies e implica uma redução do ritmo cardíaco e uma redistribuição do fluxo sanguíneo a diferentes tecidos durante a imersão. Neste sentido, o ingresso de sangue nos rins é diminuído, existindo uma redistribuição intrarenal do fluxo sanguíneo, permitindo a conservação de oxigênio ao redor de áreas altamente metabólicas como o córtex renal (STONE et al., 1973). Os cetáceos e outros mamíferos marinhos excretam uma urina mais concentrada do que a água do mar (BERTA; SUMICH, 1999; ORTIZ, 2001). Beber água não é um comportamento comum em cetáceos, desta forma o balanço hídrico é mantido pela via metabólica e através da dieta, enquanto a ingestão incidental de água e sais pode ajudar

na manutenção da homeostase eletrolítica (ORTIZ, 2001). Ainda, os cetáceos apresentam um sistema renina-angiotensina similar aos dos mamíferos terrestres (MASINI et al., 1994). Desta forma, as células do aparelho juxtaglomerular, liberam renina, que converte a angiotensina I, produzida no pulmão, à angiotensina II, que é um potente vasoconstritor (AUBIN, 2001).

Devido que cada *reniculus* atuar como um pequeno rim, os processos inflamatórios afetam os rins de forma diferenciada ao que é visto nos mamíferos terrestres. A inflamação de um *reniculus* pode ou não se estender para o adjacente; por esta razão, é possível uma unidade apresentar lesões severas, enquanto que outras podem não exibir alterações ou ter lesões mínimas (BRITT; HOWARD, 1983; LOWENSTINE; OSBORN, 1990; ROMMEL; LOWENSTINE, 2001). Os *renicule* compartilham um ducto urinário comum, o qual conduz a urina para os ureteres e finalmente para a bexiga (BRITT; HOWARD, 1983).

Figura 2 – A) Rins e glândulas adrenais (setas), *Pontoporia blannvillei*. Observar os *renicule* unidos por uma cápsula discretamente translúcida. Caso: MM333, B) Superfície de corte dos *renicule* com ductos coletores. Caso: MM405

3.4 Enfermidades Hepáticas e Renais em Cetáceos

Talvez, o estudo mais abrangente sobre hepatopatias em cetáceos foi aquele publicado por Jaber et al. (2004), onde relatam-se hepatite reativa crônica inespecífica, colangite

parasitária, inclusões hialinas citoplasmáticas e esteatose hepática em animais encalhados no litoral das Ilhas Canárias, Espanha. Com relação às nefropatias não existem trabalhos sistemáticos, específicos e com grande número de amostras que abrangem a patologia renal em cetáceos.

Desta forma, visando fornecer um panorama geral sobre os processos mórbidos envolvendo fígado e rim de cetáceos, serão apresentadas a seguir as principais doenças já publicadas que acometem estes órgãos em mysticetos e odontocetos.

3.4.1 Enfermidades Bacterianas, Micóticas, Virais e Parasitárias

Entre os principais agentes infecciosos que cometem o fígado e rim estão as bactérias, fungos, vírus e parasitas, alguns deles podendo afetar não só cetáceos, mas também o homem e outras espécies animais.

Entre os agentes bacterianos que podem atingir o fígado e rim dos cetáceos estão os pertencentes ao gênero *Pasteurella*, os quais têm originado hepatite e nefrite após processos de septicemia aguda ou hiperaguda (DUNN; BUCK; ROBECK, 2001). Segundo Sweeney e Ridgway (1975), as infecções renais são muito raras em cetáceos e quando acontecem estão mais relacionadas a um processo sistêmico. Segundo estes autores, a diurese pós-alimentação de cetáceos pode ajudar a inibir as infecções ascendentes. Foram relatados abscessos renais também em golfinhos-nariz-de-garrafa (BROWN et al., 1960)

Desafortunadamente pouco é conhecido sobre as infecções micóticas em cetáceos e outros mamíferos marinhos. Os fungos patogênicos estão incluídos no táxon artificial *Fungi Imperfecti* (fungos assexuados), entre os quais encontramos *Aspergillus fumigatus*, *Blastomyces dermatitidis*, *Candida* spp., *Cryptococcus neoformans*, *Coccidioides immitis* e *Histoplasma capsulatus*, e na classe Zygomycetus, incluindo *Apophysomyces elegans*, *Rhizomucor pusillus*, *Saksenaea vasiformis*, entre outros. Sabe-se que um fungo com classificação pendente, denominado *Lacazia loboi* (formalmente *Loboa loboi*), é responsável por induzir dermatite granulomatosas em golfinhos (REIDARSON et al., 2001). Em relação às micoses renais em cetáceos, há relatos de isolamentos de *Candida albicans* associada a processos disseminados em um golfinho-nariz-de-garrafa e em uma orca (REIDARSON et al., 2001). Também foi diagnosticada micose renal devido a uma

infecção sistêmica por *Rhizomucor* sp em um boto-comum (*Phocoena phocoena*) (WÜNSCHMAN; SIEBERT; WEISS, 1999)

Dentre os processos de etiologia viral, já foi relatada uma infecção pelo vírus da hepatite B (hepadnavirus) em um golfinho-de-laterais-brancas-do-Pacífico (*Lagenorhynchus obliquidens*), com o desenvolvimento de hepatite crônica persistente. Vale resaltar que cinco anos antes do evento supracitado, um golfinho da mesma espécie e da mesma piscina morreu por uma hepatite ativa crônica de etiologia desconhecida. Além disso, uma orca que compartilhava a mesma piscina com esses animais apresentou anticorpos anti-hepatite, indicando que houve resposta imune neste animal (BOSSART et al., 1990). Ainda que exista reatividade cruzada entre hepadnavirus de mamíferos, estes são hospedeiros específicos, sugerindo que os hepadnavirus de cetáceos não apresentam risco para a saúde pública (KENNEDY-STOSKOPF, 2001).

Uma nova cepa de coronavírus (SW1) foi identificada mediante técnicas de micro-arranjo no fígado de uma baleia-beluga em cativeiro, associada a uma necrose hepática aguda severa (MIHINDUKULASURIYA et al., 2008). Os autores alertam sobre a importância de vigilância em aquários, já que os coronavírus são potencialmente zoonóticos.

Em 1977 um adenovírus foi isolado em uma baleia-sei (*Balaenoptera borealis*) a partir de tecidos e swab rectal. Presume-se que sua significância patogênica seja semelhante à dos adenovírus de outros mamíferos e cause tanto hepatite como infecções respiratórias, conjuntivite e tumores (SMITH; SKILLING, 1979).

Com relação aos parasitas, já foram registrados três gêneros de trematóides em odontocetos, *Campula*, *Oschmarinella* e *Zalophotrema*, os quais ocupam os ductos hepáticos e pancreáticos destes animais, enquanto que trematóides do gênero *Lecithodesmus* estão presentes em mysticetos, podendo causar insuficiência hepática e infecção bacteriana secundária em casos crônicos (DAILEY, 2001). *Campula* spp. e seus ovos pode atingir o fígado de cetáceos causando processos inflamatórios granulomatosos severos (JABER et al., 2004). Membros da família Crassicaudidae (*Crassicauda* sp.) são comumente observados nos rins, tecido mamário e ao redor da genitália de cetáceos. As caudas destes nematóides adultos podem ir até os cálices renais e seus ovos são eliminados pela urina (DAILEY, 2001). Além disso, uma sarcocistiose hepática fatal causada por *Sarcocystis canis* foi observada em um golfinho-listrado (*Stenella coeruleoalba*).

A toxoplasmose é uma doença causada pelo protozoário *Toxoplasma gondii*, a qual comumente afeta uma ampla gama de aves e mamíferos, incluindo humanos (DUBEY; BEATTIE, 1983). Esta doença tem sido amplamente identificada em mamíferos marinhos de vida livre e cativeiro, tais como leões marinhos, focas e peixes-boi (DUBEY et al., 2003), lontras marinhas da Califórnia (*Enhydra lutris nereis*) (CONRAD et al., 2005), baleias-beluga (*Delphinapterus leucas*) (MIKAELIAN et al., 2000) e várias espécies de golfinhos como golfinhos-nariz-de-garrafa (*Tursiops truncatus*) (ISKEEP et al., 1990), um golfinho-rotador (*Stenella longirostris*) (MIGAKI; SAWA; DUBEY, 1990) e um golfinho-de-Risso (*Grampus griseus*) (RESENDES et al., 2002). Relatos de infecção por *T. gondii* em mamíferos aquáticos do Brasil são restritos a dois estudos; um boto-cinza (*Sotalia guianensis*) encalhado na Baía de Guanabara, Rio de Janeiro (BANDOLI; OLIVEIRA, 1977) e em botos-rosa (*Inia geoffrensis*), os quais apresentaram sorologia positiva para este protozoário (SANTOS et al., 2011).

Os estudos sobre toxoplasmose em cetáceos apresentam entre as principais lesões observadas extensas áreas de necrose hepática associadas a infiltrado mononuclear e cistos de bradizoitos e taquizoitos livres, pneumonia intersticial, adrenalite necrótica, encefalite não supurativa e depleção linfóide (ISKEEP et al., 1990; MIGAKI; SAWA; DUBEY, 1990; RESENDES et al., 2002).

Os mecanismos de transmissão em cetáceos ainda não estão totalmente elucidados, porém já se sabe que efluentes que provêm das áreas urbanas poderiam ser fonte de oocistos de gatos domésticos ou selvagens e, desta forma, levar para o mar oocistos de *T. gondii* (MILLER et al., 2002). Além disso, em golfinhos já foi proposta a possibilidade de ocorrer infecção transplacentária (JARDINE; DUBEY, 2002; RESENDES et al., 2002).

3.4.2 Doenças Não Infecciosas

Entre as principais doenças não infecciosas que acometem o sistema hepático e renal estão as toxicológicas, neoplásicas e degenerativas (MAXIE; NEWMAN, 2007; STALKER; HAYES, 2007).

Os cetáceos e mamíferos marinhos em geral, por estarem no topo da cadeia trófica marinha, podem estar expostos a uma ampla gama e concentração de substâncias potencialmente tóxicas (O'HARA; O'SHEA, 2001), as quais podem ser concentradas nos

animais mediante os fenômenos de bioacumulação e biomagnificação (WELLS et al., 2004; SICILIANO; ALVES; HACON, 2005)

Vários trabalhos têm sido realizados acerca dos altos níveis de metais pesados no fígado e rim de cetáceos e outros mamíferos aquáticos. Ninomiya, Koyzumi e Murata (2004) relataram maiores níveis de cádmio em mamíferos aquáticos que habitam ambientes marinhos do que aqueles de água doce. Além disso, foram observados altos níveis de mercúrio em diversos tecidos de golfinhos-listrados (*Stenella coeruleoalba*), sendo que as maiores concentrações foram encontradas no fígado, seguido do pulmão, rim, músculo e cérebro (CARDELLICCHIO et al., 2002). Um estudo toxicológico em golfinhos-nariz-de-garrafa (*Tursiops truncatus*) e nas baleias-piloto-de-aleta-curta (*Globicephala macrorhynchus*) mostrou altos níveis de mercúrio em fígado, sugerindo que isto se deva à capacidade do órgão como metabolizador deste elemento (RAWSON et al., 1995).

Os PCBs (bifenila policloradas) e DDTs (dicloro-difenil-tricloroetanos) são compostos não polares, altamente lipofílicos e persistentes contaminantes organoclorados, os quais podem causar falhas reprodutivas e endócrinas, bem como imunossupressão (TROISI et al., 2001). Jepson et al., (2005) demonstraram uma relação imunotoxicológica dos PCBs com a morte por agentes infecciosos na boto-comum (*Phocoena phocoena*) encalhadas no Reino Unido. Em pinípedes, já foram observados efeito significativos entre os níveis de PCBs e a probabilidade de morte por carcinomas nos leões-marinhos-da-Califórnia (*Zalophus californianus*) (YLITALO et al., 2005). A maioria de pesquisas sobre de organoclorados em mamíferos marinhos tem sido realizada no oeste europeu, América do Norte e algumas áreas da Ásia, enquanto que tais estudos são extremamente escassos na África e na maioria dos países do hemisfério sul (AGUILAR; BORELLA; REIJNDEERSB, 2002).

Gulland, Lowenstine e Spraker (2001), afirmam que nos últimos 20 anos o número de relatos de neoplasias tem aumentado consideravelmente, tal vez não pelo aumento na incidência, senão pelo incremento no número de animais examinados por patologistas.

A classificação etiológica das neoplasias em mamíferos marinhos tem sido dividida em três grandes categorias: genética – por supressão do sistema imune devido a fatores genéticos exacerbados pela endogamia; infecciosa – induzida por agentes virais como Papilomavirus e Herpesvirus; química, como na carcinogênese induzida por substâncias exógenas, tais como os PCBs e DDTs (NEWMAN; SMITH, 2006).

Entre os casos relacionados a neoplasias mais lembrados em cetáceos estão aqueles envolvendo as baleias-beluga (*Delphinapterus leucas*) habitantes do estuário de St. Lawrence, Quebec, Canadá. Nestes animais foram diagnosticadas alta frequência de neoplasias, tanto malignas como benignas. Os estudos realizados sugeriram que estes processos estavam associados à exposição por mais de 50 anos a uma complexa mistura de poluentes, como compostos organoclorados, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAHs) e metais pesados. Além disso, os contaminantes observados em maiores níveis nos animais acometidos por neoplasias foram os benzo- α -pirenos, os quais são potentes agentes carcinogênicos em humanos, do que se concluiu que estas substâncias constituíam eram estas substâncias o principal grupo responsável pelos tumores (MARTINEAU et al., 1988; 1994). Adicionalmente, foram estudadas as causas de mortalidade de aproximadamente 129 baleias-beluga (1983-1999), que habitavam um segmento restrito do estuário de St. Lawrence e que sofreram exposição crônica a PAHs concluindo-se que os processos neoplásicos foram a segunda maior causa de morte, depois das infecções parasitárias pulmonares e gastrointestinais (MARTINEAU et al., 2002).

Entre as neoplasias hepáticas, Stolk (1952), descreveu um adenoma hepático em um golfinho-nariz-de-garrafa (*Tursiops truncatus*). Na mesma espécie foi descrito um linfoma imunoblástico de células grandes de origem hepato-esplênica, sendo que neste caso foram observados altos níveis de congêneres de PCBs (JABER et al., 2005) e também um adenoma hepático em um macho na mesma espécie (MAWDESLEY-THOMAS, 1974). Em baleias, já foram descritos um hemangioma hepático em um cachalote (*Physeter macrocephalus*) (STOLK, 1953) e um lipoma hepático em uma baleia-da-Groenlândia (*Balaena mysticetus*), na qual se observaram adipócitos maduros formando massas entre os sinusóides e a cápsula (MIGAKI; ALBERT, 1982). Na população de baleias-belugas foi relatado um carcinoma hepatocelular com invasão de vasos linfáticos, sendo que este mesmo animal também apresentou carcinoma mamário e um condroma pulmonar (DE GUISE; LAGACÉ; BÉLAND, 1994). Adenocarcinoma metastáticos de útero e estômago já foram encontrados no fígado de um golfinho-nariz-de-garrafa (SÁNCHEZ et al., 2002) e de boto-comum (BREUER; KREBS; HOFMEISTER, 1989), respectivamente.

Com relação a neoplasias renais, as informações existentes são escassas, sendo que em uma recente revisão sobre processos neoplásicos em mamíferos marinhos descreveu apenas a existência de um adenoma em um golfinho-nariz-de-garrafa e um teratoma em

um golfinho-de-laterais-brancas-do-pacífico (*Lagenorhynchus obliquidens*) (NEWMAN; SMITH, 2006).

Finalmente, com relação aos processos degenerativos, já foram descritas esteatose e necroses severas provocando coma hepático e morte em um golfinho-nariz-de-garrafa (GOMERCIC et al., 2000). Neste sentido, Ruoppolo (2003), em um estudo sobre causas de mortalidade em cetáceos do Brasil, observou que três cetáceos (toninha, cachalote-pigmeu e golfinho-rotador) morreram por causas metabólicas relacionadas com uma esteatose hepato-renal severa. Em outro tipo de mamífero marinho como as lontras marinhas, a esteatose pode ocorrer como consequência de intoxicação por petróleo (LIPSCOMB et al., 1994). No rim, nefrose tubular tem sido observada em cetáceos encalhados associada à mioglobinúria por miopatia (COWAN; WALKER; BROWNELL, 1986). Entre outros processos envolvendo tecido renal, vale mencionar a identificação de tecido renal ectópico em pulmão de um golfinho-comum (*Delphinus delphis*) (DI GUARDO et al., 2005).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Animais Estudados

As amostras utilizadas no presente estudo formam parte do Banco de Tecidos de Mamíferos Marinhos (BTMM) do Laboratório de Patologia Comparada de Animais Selvagens (LAPCOM), Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo (VPT-FMVZ-USP). O BTMM apresenta diversos tipos de amostras fixadas em formol 10%, assim como tecidos, soros e outros tipos de fluidos congelados (-80°C) de cetáceos e outros mamíferos aquáticos. As amostras foram fornecidas por diferentes instituições que trabalham com encalhes, captura incidental, resgate e/ou reabilitação de cetáceos ao longo do litoral brasileiro (os dados brutos por animal estão no Apêndice 1). As necropsias foram realizadas entre os anos 1996 a 2012 pelas instituições de pesquisa e essencialmente por duas pesquisadoras que iniciaram a colheita de amostras para o BTMM (MARIGO, 2003; RUOPPOLO, 2003). Para este estudo foram utilizadas as amostras de fígado e rim de cetáceos fixadas em formol 10% e que apresentavam informações básicas para o estudo.

4.2 Avaliação Macroscópica

As necropsias foram realizadas segundo os protocolos preconizados por cada instituição. Porém, devido à escassa informação sobre achados macroscópicos hepáticos e renais, só serão apresentados e descritos aqueles casos onde junto com as amostras também foi encaminhado um laudo de necropsia detalhado com um registro fotográfico adequado. Além disso, as lesões macroscópicas identificáveis a partir do tecido fixado em formol, assim como nos casos em que a necropsia foi realizada durante a execução deste trabalho também foram registradas.

4.3 Processamento Histopatológico

As amostras fixadas presentes no BTMM foram avaliadas e dois fragmentos representativos de fígado e três *renicule* por cada animal foram adequadamente identificados, e enviados para os Laboratórios de Histologia do VPT/FMVZ e da Faculdade de Medicina, ambos da USP, e processados segundo a técnica rotineira de inclusão em parafina e obtenção de cortes de 3 a 4 μm de espessura mediante micrótomo de rotação. Os cortes foram corados com hematoxilina e eosina para depois serem montados com uma resina sintética diluída em tolueno (PermoutTM).

Técnicas histoquímicas especiais, foram realizadas quando julgado necessário, incluindo o Ácido Periodico de Shiff (PAS), essencialmente para observar hialinização e espessamento da membrana basal do tufo glomerular; Tricrômico de Masson, para identificação de fibrose; Vermelho Congo, para amilóide; Giemsa, para detectar protozoários; Gram modificado por Brown e Brenn, para observar bactérias em geral; e Ziehl Nilssen para identificar bacilos álcool - ácido resistente (LUNA, 1992).

Os diagnósticos foram realizados tomando em consideração o decrito por Stalker e Hayes (2007) para patologia hepática e Maxie e Newman (2007) para patologia renal.

4.4 Processamento Imuno-histoquímico

As reações de imuno-histoquímica foram realizadas junto ao Laboratório de Imuno-histoquímica do Instituto Adolfo Lutz, sob a supervisão da Dra Cristina Kanamura e a Dra Gislene Namiyama, e mediante a técnica de anticorpo primário e polímero conjugado. Os anticorpos utilizados foram para *Toxoplasma gondii* e pancitoqueratina (AE1/AE3), citoqueratina 7 e vimentina. Os animais, painel de anticorpos empregados e seus títulos estão apresentados na tabela 1. Brevemente, o protocolo para a reação de imuno-histoquímica foi o seguinte:

Preparação das amostras, desparafinização e hidratação:

- 1 Os blocos de tecidos embebidos em parafina foram cortados a 3 μ m de espessura mediante micrótomo de rotação e colocados em lâminas silanizadas (STAR FROST, Waldemar knittel).
- 2 Depois os cortes foram desparafinados em estufa (56°C) por 40 minutos e colocados em uma cuba com xilol quente dentro da mesma estufa por 10 minutos. As lâminas foram retiradas da estufa e colocadas em xilol frio por 10 minutos. Posteriormente os cortes foram hidratados em sequência decrescente de alcoóis (95%, 85% e 50%) e lavados em água corrente por 5 minutos.

Recuperação antigênica:

- 3 Antes da recuperação antigênica, as lâminas foram lavadas em água destilada por alguns instantes e levados na panela de pressão com solução tampão de ácido cítrico 10 mM (pH=6.0) fervendo (~100 °C) por 5 minutos.
- 4 Após esse tempo, a panela era retirada e colocada em água corrente fria para parar o processo de recuperação. Em seguida, a tampa da panela foi retirada e as lâminas foram lavadas com água corrente e depois com água destilada por 5 minutos.

Bloqueio da peroxidase endógena:

- 5 As lâminas foram colocadas em uma cuba com água oxigenada (H₂O₂ 6%) previamente aquecida em forno micro-ondas por 30 segundos e levados à estufa (37°C) por 30 minutos.
- 6 Depois foi retirada a cuba da estufa e foi realizada a lavagem das lâminas com água corrente e com água destilada por 5 minutos cada.
- 7 Lavou-se com solução salina tamponada com fosfato (PBS) 10 mM (pH=7.4) por aproximadamente 3 minutos.

Incubação com anticorpo primário:

- 8 Após a determinação do painel de antígenos a serem pesquisados com seus respectivos títulos de anticorpos (Tabela 1), estes foram diluídos em solução BSA (tampão PBS contendo BSA 1% e ácida sódica NaN₃ 0.1%). Retirou-se o excesso de umidade das lâminas com papel filtro e foi colocado 100 μ l do anticorpo diluído por lâmina. Depois as lâminas foram armazenadas em uma câmara úmida.

- 9 Transferiu-se a câmara úmida para a estufa (37°C) por 30 minutos e depois foi feita a incubação *overnight* em geladeira (5°C), por aproximadamente 16 a 18 horas.

Sistema de detecção e revelação:

- 10 No dia seguinte câmara úmida foi retirada da geladeira, colocou-se na estufa (37°C) por 30 minutos. Após isso, as lâminas foram lavadas com PBS, mantendo-se a cuba com a solução PBS por 10 minutos.
- 11 Foi retirado o excesso de umidade de cada lâmina com papel filtro e se colocou o polímero conjugado com anticorpo secundário 500 µl (HRP Polymer, Thermo Fisher Scientific) e se ordenou cada lamina no camara úmido e depois foi para estufa (37°C) por 30 minutos.
- 12 Após esse tempo, cada lâmina foi lavada com PBS, posteriormente imergido em uma nova solução de PBS por 10 minutos.

Revelação com cromógeno:

- 13 As lâminas foram incubadas em solução do substrato cromógeno (3,3'Diaminobenzidine tetrahydrochloride - DAB) em estufa (37°C) por 3 minutos, ao abrigo da luz.
- 14 As lâminas foram Lavadas com água corrente e posteriormente água destilada por 5 minutos.

Contra coloração, desidratação e montagem das lâminas:

- 15 As lâminas foram imergidas em Hematoxilina de Harris por 1 minuto, depois foram lavadas com água corrente e destilada.
- 16 Imergiu-se duas vezes (instantes) em água amoniacal (hidróxido de amônio 0.5%) e lavaram-se com água corrente e destilada.
- 17 As lâminas foram desidratas em sequência crescente de álcoois (50%, 85%, 95% e absoluto).
- 18 As lâminas foram imersas em xilol e montados com lamínulas e Entellan (Merck, 1.7961), com posteior verificação em microscópio de luz.

4.5 Processamento Ultraestrutural a partir de material embocado em parafina

Amostras hepáticas e renais de cetáceos selecionados foram reprocessadas para pesquisa ultraestrutural mediante utilização de microscopia eletrônica de transmissão segundo protocolo desenvolvido por Duarte et al. (1992). O processamento foi feito no Laboratório da Disciplina de Patologia das Moléstias Transmissíveis da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, sob a supervisão da Profa. Dra. Irma Duarte Seixas e da técnica Cleusa Takakura. Os animais e o tipo de tecidos utilizados para este estudo estão descritos na tabela 2. Brevemente, a técnica adotada consistiu em:

- 1 Fragmentos selecionados de fígado e rim foram extraídos do material embocado em parafina e submetidos a banho de xilol por 24 horas. Após essa etapa foram colocados em álcool absoluto por 15 minutos. Em seguida foi realizada a lavagem em tampão cocodilato 0,1 M (pH=7,4) com sucrose 2% por 3 vezes e fixados em glutaraldeído 3% em tampão cocodilato por 30 minutos.
- 2 O material foi lavado em tampão cocodilato e em seguida foi feita a pós-fixação em tetróxido de ósmio 2% em tampão S-codilina 0,1 M (pH=7,4).
- 3 Foi realizada a lavagem em tampão cocodilato 0,1 M com sucrose 2% e contraste em acetato de uranilo 5% em etanol 50%. Depois foi feita a lavagem em etanol 70%. O material foi desidratado em 2,2-dimetoxipropano acidificado com ácido clorídrico 1N e com acetona absoluta.
- 4 Após esta fase, o material foi incluído em Epon Polybed 812 e Araldite 502 e polimerizado em estufa (100°C).
- 5 Depois da inclusão foram realizados cortes ultrafinos de 70 nm de espessura com navalha de diamante seguido de contrastação em acetato de uranilo saturada e citrato de chumbo.
- 6 Os cortes foram levados para visualização no microscópio eletrônico JEOL, JEM - 1011, onde foram feitas as avaliações e documentação fotográfica.

4.6 Análise Estatística

A análise estatística foi realizada junto ao Doutorando Ralph Vanstreels do LAPCOM, Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo. O teste binomial de uma proporção foi utilizado para determinar se a razão sexual diferiu de 50% nos grupos estudados. O teste Qui-Quadrado (χ^2) foi utilizado para determinar se a proporção de grupos etários foi dissimilar entre grupos. O nível de significância (α) foi 0.05 para todos os testes.

As razões de chance (RC) e seus intervalos de 95% confiança (IC95%) foram calculados para determinar se os achados histopatológicos tiveram distribuição heterogênea em função das seguintes características do histórico individual: Espécie (todas as espécies de cetáceos estudadas), Sexo (Macho, Fêmea), Grupo etário (Filhote, Juvenil, Adulto), Contexto (Captura, Encalhe, Reabilitação) e Localidade (RS, SC, PR, SP, RJ, PB, CE). Para o cálculo destas razões de chance, utilizou-se como padrão de comparação o perfil mais frequente dentre os animais amostrados (espécie = *P. blainvillei*; sexo = macho; grupo etário = juvenil; contexto = encalhe; localidade = SP). As razões de chance cujo intervalo de 95% confiança excluía 1.0 foram consideradas significativas.

Tabela 1 - Características do painel de anticorpos utilizados, sistema de detecção, títulos e casos avaliados para imuno-histoquímica - São Paulo - 2010-2012

Especificidade	Fabricante	Código	Clone	Isotipo	Espécie de origem	Espécie alvo	Recuperação antigênica	Sistema de detecção	Título	Caso (MM)
Pancitoqueratina AE1/AE3	DAKO Cytomation	M3515	AE1/AE3	IgG1 Kappa	Camundongo	Humano	Panela de pressão	Polímero conjugado com anticorpo secundário	2000	140, 162, 174, 333, 338, 358, 369, 406
Citoqueratina 7	DAKO A/S	M7018	OV-TL12/30	"	"	"	"	"	6000	"
Vimentina	DAKO Cytomation	M7020	Vim 3B4	IgG2 alfa	"	"	"	"	3000	"
<i>Toxoplasma gondii</i>	Dr. José R. Minor	UFU*	-	-	Coelho	"	"	"	"	75

*Universidade Federal de Uberlândia

Tabela 2 – Identificação dos casos e os respectivos tecidos avaliados para análise ultraestrutural - São Paulo - 2010-2012

Caso (MM)	Caso (FM*)	Tecido em parafina
63	R1318	Rim
65	R1322	Fígado
75	R1317A e B	Fígado e Rim
136	R1324A	Fígado
164	R1323	Rim
207	R1319	"
323	R1320	"
328	R1321	Fígado

*Faculdade de Medicina

5 RESULTADOS

5.1 Animais Estudados

Até o momento da execução deste trabalho, BTMM mantinha amostras de aproximadamente 450 mamíferos aquáticos, entre cetáceos, pinípedes, mustelídeos e sirênios. Com relação aos cetáceos foram identificadas amostras de 332 indivíduos, dos quais 198 apresentaram fígado e/ou rim adequados para avaliação microscópica e informação básica para o presente estudo. Deste numero um boto-cinza (*Sotalia guianensis*) (MM075) foi estudado separadamente, com todos seus tecidos, devido a sua importância por ter sido acometido por uma doença infecciosa de interesse. Desta forma, serão apresentadas as percentagens e estatísticas das lesões hepáticas e renais em relação a 197 indivíduos e segundo o numero total de fígados e rins disponíveis.

O gráfico 1 apresenta a distribuição geográfica e anual da amostragem dos cetáceos estudados. A maior parte das amostras era procedente de animais dos estados de São Paulo 41,6% (82/197) e Rio Grande do Sul 36,5% (72/197). Houve uma concentração de esforço amostral nos anos de 1998 a 2000, sendo que 50% das amostras estudadas eram procedentes de animais coletados nestes três anos.

Os dados completos sobre numero de animais por espécie, idade e faixa etária estão apresentados na tabela 3. Dos cetáceos amostrados, as maiores frequências foram de toninhas (*Pontoporia blainvillei*) 65,98% (130/197) (Figura 3) e seguido de longe por botos-cinza (*Sotalia guianensis*) 11,16% (22/197). Com relação à distribuição sexual, dos 197 cetáceos analisados, 57,36% (113/197) eram machos, 40,60% (80/197) eram fêmeas e 2,03% (4/197) não tiveram registrados. Com relação á faixa etária, 10,65% (21/197) eram filhotes, 48,22% (95/197) eram juvenis, 34,51% (68/197) eram adultos e 6,59% (13/197) não tiveram registrados. A idade dos animais foi baseada nos dados fornecidos pelas instituições de pesquisas que encaminhavam o material para o BTMM e, no caso das toninhas de Paraná e São Paulo foi estimado segundo o comprimento total (macho: adulto ≥ 112 cm, juvenil < 112 cm; fêmea: adulta ≥ 122 cm, juvenil ≤ 114 cm; filhote ≤ 71 cm para ambos sexos) (ROSAS; MONTEIRO-FILHO, 2001).

As amostras de fígado e rim utilizadas foram 190 e 192, respectivamente. Durante o tempo de realização do atual trabalho, (2010-2012) foram recebidos para necropsia sete golfinhos, dos quais seis foram *Pontoporia blainvillei* (MM332, 333, 349, 405, 406, 407) e um *Delphinus capensis* (MM348), que vieram a óbito por captura incidental em Praia Grande, São Paulo.

O caso MM075 foi um boto-cinza (*Sotalia guianensis*), fêmea, adulta, com exatamente 15 anos de idade, estimada pela contagem do grupo de camadas de crescimento dentarias (ROSAS *et al.*, 2003). Para este animal, os tecidos analisados foram de fígado, rim, glândula adrenal, intestino delgado, baço, pulmão e olho.

Tabela 3 - Distribuição sexual e etária dos cetáceos estudados. Legenda: M = Macho, F = Fêmea, I = Indeterminado, Fi = Filhote, Jv = Juvenil, Ad = Adulto, C = Captura, E = Encalhe, R = Reabilitação - São Paulo - 2010-2012

	Sexo (M : F : I)	Grupo etário (Fi : Jv : Ad : I)	Contexto (C : E : R : I)	Total
Mysticeti				
<i>Balaenoptera acutorostrata</i>	1 : 1 : 0	0 : 1 : 0 : 1	0 : 1 : 0 : 1	2
<i>Megaptera novaeangliae</i>	2 : 0 : 0	1 : 0 : 1 : 0	0 : 2 : 0 : 0	2
Odontoceti				
<i>Delphinus capensis</i>	2 : 0 : 0	0 : 0 : 2 : 0	0 : 1 : 1 : 0	2
<i>Globicephala macrorhynchus</i>	3 : 0 : 0	1 : 2 : 0 : 0	0 : 3 : 0 : 0	3
<i>Kogia breviceps</i>	1 : 1 : 0	0 : 0 : 2 : 0	0 : 2 : 0 : 0	2
<i>Kogia sima</i>	2 : 0 : 0	1 : 0 : 1 : 0	0 : 2 : 0 : 0	2
<i>Lagenodelphis hosei</i>	0 : 2 : 0	0 : 1 : 1 : 0	0 : 2 : 0 : 0	2
<i>Mesoplodon europaeus</i>	0 : 1 : 0	0 : 0 : 1 : 0	0 : 0 : 1 : 0	1
<i>Peponocephala electra</i>	0 : 2 : 0	0 : 2 : 0 : 0	0 : 2 : 0 : 0	2
<i>Physeter macrocephalus</i>	0 : 2 : 0	2 : 0 : 0 : 0	0 : 2 : 0 : 0	2
<i>Pontoporia blainvillei</i>	74 : 53 : 3	8 : 77 : 37 : 8	93 : 11 : 22 : 4	130
<i>Sotalia guianensis</i>	14 : 8 : 0	6 : 5 : 8 : 3	6 : 7 : 9 : 0	22
<i>Stenella clymene</i>	1 : 2 : 0	0 : 0 : 3 : 0	0 : 3 : 0 : 0	3
<i>Stenella coeruleoalba</i>	0 : 2 : 0	0 : 0 : 2 : 0	0 : 2 : 0 : 0	2
<i>Stenella frontalis</i>	4 : 2 : 0	0 : 2 : 4 : 0	2 : 4 : 0 : 0	6
<i>Stenella longirostris</i>	3 : 1 : 0	1 : 2 : 1 : 0	0 : 4 : 0 : 0	4
<i>Steno bredanensis</i>	3 : 1 : 0	1 : 2 : 1 : 0	1 : 1 : 1 : 1	4
<i>Tursiops truncatus</i>	3 : 2 : 1	0 : 1 : 4 : 1	1 : 4 : 1 : 0	6
Total	113 : 80 : 4	21 : 95 : 68 : 13	104 : 54 : 34 : 5	197

Grafico 1 Distribuição geográfica (A) e anual (B) das amostras de cetáceos estudados - São Paulo - 2010-2012

5.2 Avaliação Macroscópica

A revisão e análise dos relatórios necroscópicos só foram possíveis em 34 animais (Tabela 4). Os achados mais relevantes foram congestão hepática e renal em 67,64% (23/34) e 47,05% (16/34) casos respectivamente. No caso do fígado, esta lesão estava acompanhada por um aumento de tamanho do órgão (hepatomegalia), lobos com bordas arredondas e ao corte drenagem de moderada quantidade de sangue. A característica de congestão dos rins foi observada principalmente na porção corticomedular dos *renicule*, onde se observou maior ingurgitação dos vasos sanguíneos e discreta fluidez de sangue.

Em 17,64 (6/34) seis casos foram observados cistos múltiplos que variaram de 0,2 a 0,7 cm de diâmetro, distribuídos aleatoriamente na superfície de alguns *renicule* (Figura 4) e ao corte os cistos invadiam o córtex e estavam cheios de um material marrom claro de consistência macia (Figura 5).

Em 2,94% (1/34) golfinho-de-dentes-rugosos (*Steno bredanensis*) (MM358) foi observada uma nefromegalia bilateral com aproximadamente 30 cm de comprimento e 15 cm de largura em cada rim, com evidente aparência cística observada tanto externamente como ao corte. Os cistos ocupavam quase a totalidade dos rins e variaram desde 2 a 8 cm de diâmetro, porém foi possível observar poucos *renicule* aleatoriamente distribuídos que ainda apresentava sua conformação normal. Todas estas estruturas renais estavam envolvidas por uma capsula espessada (Figura 6).

Esteatose foi observada tanto em fígado quanto rins em 20,58% (7/34) e 11,76% (4/34) casos respectivamente. Esta lesão foi caracterizada no fígado por uma notória palidez, superfície congesta multifocal, consistência friável, lobos com bordas arredondadas e ao corte gotículas de gordura eram impregnadas na face (Figura 7). No caso dos rins foram observadas as mesmas características, porém a congestão estava praticamente ausente e a palidez era mais centrada no córtex.

Exudação fibrinosa capsular hepática focal ou multifocal foi observada em 8,82% (3/34) animais, nos quais a lesão se caracterizava por presença de estruturas esbranquiçadas, de aparência fibrilar, friáveis ao tacto, de difícil desprendimento e distribuídas focal ou multifocal na superfície do órgão (Figura 8). Em todos os casos a lesão estava acompanhada de congestão hepática.

Não foi possível recuperar as informações necroscópicas relativas ao caso (MM075).

Quadro 1 - Distribuição dos principais achados macroscópicos relatados no fígado e rim dos cetáceos estudados, em função do caso - São Paulo - 2010-2012

(Continua)

CASO (MM)	Fígado	Rim	Observações necroscópicas adicionais
169	Congestão, hepatomegalia e fibrose	-	-
170	Congestão, hepatomegalia e fibrose	-	-
174	-	Cistos de aproximadamente 0,5cm de diâmetro	-
208	Congestão e esteatose severa	-	-
323	Congestão, hepatomegalia e esteatose discreta	Congestão corticomedular e cistos de aproximadamente 0,5cm de diâmetro	-
324	Congestão	NDN	Cestoides na camada de gordura (<i>Phyllobothrium</i> sp.) (10) e na cavidade abdominal (<i>Monorygma</i> sp.) (2)
325	Congestão, hepatomegalia e esteatose moderada	-	-
326	NDN	Congestão corticomedular	-
327	NDN	NDN	Cestoides da família Tetrabothridae no intestino delgado e <i>Monorygma grimaldii</i> na cavidade abdominal
328	Congestão, hepatomegalia e fibrose	NDN	Cestoides da família Tetrabothridae no intestino delgado, <i>Monorygma grimaldii</i> na cavidade abdominal(5) e <i>Strobilocephalus triangularis</i> no reto
329	Congestão, hepatomegalia e esteatose severa	Esteatose dos reniculus	-
332	Congestão e hepatomegalia	Congestão	-

Quadro 1 - Distribuição dos principais achados macroscópicos relatados no fígado e rim dos cetáceos estudados, em função do caso - São Paulo - 2010-2012

(Continuação)

333	NDN	Congestão corticomedular e cistos de aproximadamente 0,2-0,5cm de diâmetro	Cestoide na camada de gordura (<i>Phyllobothrium</i> sp.)
348	Congestão, hepatomegalia e fibrose	Congestão corticomedular	-
349	Congestão, hepatomegalia e fibrina capsular focal	Congestão corticomedular	-
358	Congestão e hepatomegalia	Nefromegalia bilateral de aspecto nodular cístico difuso	-
369	-	Cistos de aproximadamente 0,7cm de diâmetro	-
374	-	-	Cestoides na camada de gordura (<i>Phyllobothrium delphini</i>) e cavidade abdominal (<i>Monorygma grimaldii</i>)
375	Congestão e hepatomegalia	Congestão corticomedular e cistos de aproximadamente 0,5cm de diâmetro	-
377	Congestão e <i>Scolex pleuronectis</i> no fígado	Congestão	<i>Campula</i> spp. e <i>Scolex pleuronectis</i> no ducto hepatopancreático e <i>Monorygma grimaldii</i> na cavidade abdominal
378	Congestão	Congestão	Cestoide na camada de gordura (<i>Phyllobothrium</i> sp.) e na cavidade abdominal (<i>Monorygma</i> sp.)
379	-	Congestão	Cestoide na camada de gordura (<i>Phyllobothrium</i> sp.)
380	Congestão e hepatomegalia	Congestão	-
381	Congestão e hepatomegalia	NDN	Cestoides da família Tetrabothridae no intestino delgado, na camada de gordura (<i>Phyllobothrium delphini</i>) (~80) e cavidade abdominal (<i>Monorygma grimaldii</i>) (30)
382	Congestão	NDN	Cestoides na cavidade abdominal (<i>Monorygma grimaldii</i>)

Quadro 1 - Distribuição dos principais achados macroscópicos relatados no fígado e rim dos cetáceos estudados, em função do caso - São Paulo - 2010-2012

(Continuação)

383	-	NDN	Cestoides na cavidade abdominal (<i>Monorygma grimaldii</i>)
388	-	NDN	Cestoide na camada de gordura (<i>Phyllobothrium</i> sp.)
405	Congestão e fibrina capsular multifocal	Congestão corticomedular	-
406	Congestão, hepatomegalia e fibrina capsular focal	Cisto de aproximadamente 0,5cm de diâmetro	-
407	Congestão e hepatomegalia	Congestão corticomedular	-
AQ496	Hepatomegalia e esteatose acentuada	Congestão corticomedular e esteatose dos <i>reniculus</i>	-
AQ499	Congestão, hepatomegalia e esteatose discreta	Congestão corticomedular e esteatose dos <i>reniculus</i>	Cestoides na cavidade abdominal (<i>Monorygma grimaldii</i>)
AQ522	Congestão e hepatomegalia	NDN	Cestoides na cavidade abdominal (<i>Monorygma grimaldii</i>)
AQ527	Congestão e esteatose moderada	Congestão corticomedular e esteatose dos <i>reniculus</i>	Cestoide na camada de gordura (<i>Phyllobothrium delphini</i>) e cavidade abdominal (<i>Monorygma grimaldii</i>)
NDN = Nada Digno de Nota, - = Nao Registrado			

5.3 Avaliação Histopatológica

5.3.1 Descrição e diagnósticos hepáticos

Das 190 amostras processadas para avaliação microscópica hepática, 22,1% (42/190) tiveram autólise e 8,42% (16/190) não tiveram lesão digna de nota (NDN). Neste sentido foram amostras 69,47% (132/190) dos indivíduos apresentaram alguma lesão no estudo microscópico (Tabela 5). A seguir, serão apresentados os diversos diagnósticos histopatológicos e respectivas frequências observadas no presente estudo.

Inclusões hialinas citoplasmáticas 46,3% (88/190)

Estas eram estruturas arredondadas de diversos tamanhos observadas no citoplasma dos hepatócitos, de coloração acidófila tênue, que continham um material condensado acidófilo à maneira de ponto excêntrico (Figura 9). Em várias circunstâncias, estas estruturas deslocavam o núcleo para a periferia e eram positivos para a coloração especial de PAS (Figura 10).

Hepatite portal linfoplasmocítica crônica 36,31% (69/190)

Esta lesão foi caracterizada principalmente por um infiltrado de células mononucleares (linfócitos e plasmócitos) e poucos polimorfonucleares restritos e sem ultrapassar a membrana limitante do espaço porta (Figura 11). Na maioria dos casos, fibrose e hiperplasia de ductos biliares foram observadas em intensidade variável (Figura 12) e eram mais bem identificadas com a coloração especial tricrômico de Masson (Figura 13). Outros achados que acompanharam esta lesão foram necrose hepatocelular discreta e leucocitose sinusoidal multifocal.

Esteatose 11,05% (27/190)

Nesta lesão foi observada uma perda da arquitetura trabecular hepática com hepatócitos inchados que apresentaram micro e macro gotículas citoplasmáticas de imagem negativa e bordas definidas, as quais deslocavam o núcleo para a periferia (Figura 14). A distribuição

acinar variou de panacinar a zonal em diferentes casos. A lesão esteve acompanhada de uma necrose hepatocelular discreta.

Hepatite necrótica 4,73% (9/190)<

Esta lesão teve como principal componente a necrose hepatocelular focal ou multifocal com presença de um infiltrado composto principalmente de neutrófilos e poucos linfócitos (Figura 15), assim como áreas de congestão sinusoidal e hemosiderose discreta.

Peri-hepatite piogranulomatosa 3,15% (6/190)

Nestes casos observou-se um marcado espessamento nodular na capsula de Glisson devido a um infiltrado inflamatório de neutrófilos e alguns eosinófilos em processo de degeneração e necroses (Figura 16). Estas estruturas estavam rodeadas por um tecido fibroso que continha células mononucleares e algumas células gigantes multinucleadas periféricas (Figura 17). Em um caso foi observada no centro da lesão um material basófilo, amorfo, de bordas irregulares e de aparência pétrea sugestivo de calcificação.

Peri-hepatite fibrinogranulomatosa 2,63% (5/190)

Este processo foi caracterizado por marcado espessamento da capsula de Glisson e pela exuberante presença de um material acidófilo, acelular, de aparência amorfa sugestivo de fibrina, no qual estavam embebidas algumas células mononucleares (linfócitos e plasmócitos) (Figura 18). Mais no interior da capsula, havia um aumento de tecido fibroso vascularizado no qual estavam presentes numerosas células gigantes multinucleadas digerindo remanescentes da capsula de Glisson (Figura 19).

Colangio-hepatite parasitaria 2,1% (4/190)

Em vários ductos biliares foram observadas estruturas parasitarias metazoárias, as quais apresentavam ventosas estreitamente relacionadas ao epitélio do ducto biliar. As estruturas tinham um corpo dobrado dentro dos ductos ocasionando uma dilatação e aplanamento do epitélio colunar dos canalículos biliares (Figura 20). Os parasitas apresentavam uma cutícula delgada e um tecido muscular fino separando suas regiões cortical e medular. No parênquima parasitário foi possível identificar alguns poucos corpúsculos calcários, porém, majoritariamente foi observada só a silhueta dos mesmos (Figura 21). O parasita foi acompanhado por um infiltrado linfoplasmocitário, que variou de discreto a severa em

cada caso, o qual esteve ao redor dos ductos biliares acompanhado de fibrose, hiperplasia ductal e discretas áreas de necrose (Figura 22). Adicionalmente foi observado infiltrado linfoplasmocitario aleatoriamente distribuídos no parênquima, assim como hemosiderose nas células de Kupffer.

Tabela 4 - Distribuição das lesões histopatológicas hepáticas diagnosticadas em função das espécies de cetáceos estudados - São Paulo - 2010-2012

	HPLC	PHPG	PHFG	HN	CHP	IHC	EST	AUT	NDN	Total
Mysticeti										
<i>B. acutorostrata</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	2	2
<i>M. novaeangliae</i>	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1
Odontoceti										
<i>D. capensis</i>	1	-	-	-	-	1	-	-	1	2
<i>G. macrorhynchus</i>	1	-	-	-	-	2	2	-	-	3
<i>K. breviceps</i>	-	-	-	-	-	1	-	-	1	2
<i>K. sima</i>	-	-	-	-	-	-	1	-	1	2
<i>L. hosei</i>	1	-	-	-	-	-	-	-	1	2
<i>M. europaeus</i>	1	-	-	-	-	-	1	-	-	1
<i>P. electra</i>	1	-	-	-	-	-	2	-	-	2
<i>P. macrocephalus</i>	1	-	-	-	-	-	2	-	-	2
<i>P. blainvillei</i>	34	6	2	5	-	62	13	15	24	126
<i>S. guianensis</i>	15	-	2	3	-	10	2	-	7	22
<i>S. clymene</i>	2	-	-	-	1	2	-	-	-	3
<i>S. coeruleoalba</i>	2	-	-	-	-	1	1	-	-	2
<i>S. frontalis</i>	2	-	-	-	1	2	-	-	1	4
<i>S. longirostris</i>	2	-	-	-	2	2	2	-	1	4
<i>S. bredanensis</i>	3	-	-	-	-	1	1	-	1	4
<i>T. truncatus</i>	3	-	1	1	-	4	-	-	2	6
Total	69	6	5	9	4	88	27	16	42	190

HPLC = Hepatite portal linfoplasmocítica crônica; PHPG = Peri-hepatite piogranulomatosa; PHFG = Peri-hepatite fibrinogranulomatosa; HN = Hepatite necrótica; CHP = Colangio-hepatite parasitária com fibrose e hiperplasia de ductos biliares; IHC = Inclusões hialinas citoplasmáticas; EST = Esteatose; AUT = Autólise; NDN = Nada digno de nota.

5.3.2 Descrição e diagnósticos renais

Das 192 amostras processadas para avaliação microscópica renal, 21,87% (42/192) estavam autolisadas e 33,33% (64/192) não apresentaram lesão digna de nota. Neste sentido amostras de 42,7% (82/192) dos indivíduos apresentaram alguma lesão no estudo microscópico (Tabela 6). A seguir será apresentado cada diagnóstico histopatológico.

Glomerulonefrite membranosa 14,58% (28/192)

Foram observados glomérulos voluminosos, tufos de aparência lobular, com maior espessamento da membrana basal do capilar glomerular e da capsula de Bowman, porém houve normocelularidade no tufo (Figura 23). Também foi observado um espessamento da membrana basal dos túbulos contorcidos. O espessamento da membrana basal dos tufos e dos túbulos foi generalizada e positiva com a coloração especial PAS.

Glomerulonefrite membranoproliferativa 10,41% (20/192)

Nestes casos as lesões eram semelhantes às da glomerulonefrite membranosa, porém era observada uma maior hipercelularidade nos tufos de forma generalizada (Figura 24) e nos casos mais severos houve hialinização segmental discreta no tufo glomerular (Figura 25), a qual foi mais bem observada com a coloração especial PAS.

Nefrite intersticial 10,93% (21/192)

Foi caracterizada pela presença de um infiltrado linfoplasmocitário a nível intersticial e adjacente aos glomérulos e túbulos (Figura 26). Em alguns casos havia evidente fibrose intersticial acompanhando o infiltrado inflamatório mononuclear (Figura 27). Adicionalmente foi observada congestão dos vasos sanguíneos e discreta necrose circundante.

Nefrite piogranulomatosa parasitaria 1,04% (2/192)

Este processo foi caracterizado pela presença de um infiltrado inflamatório neutrofílico, assim como algumas células gigantes multinucleadas, monócitos e eosinófilos em processo de degeneração e necrose irrompendo os túbulos e circundando os glomérulos (Figura 28). Esta lesão foi associada a pequenas estruturas parasitárias metazoárias, cilíndricas, com cutícula lisa e pseudoceloma albergando estruturas

tubulares compatíveis com órgãos digestivos, compatíveis com nematoides, os quais estavam dentro de vasos sanguíneos (Figura 29).

Glomeruloesclerose 4,16% (8/192)

Este processo foi caracterizado por atrofia, retração e hipocelularidade do tufo glomerular, assim como pela presença de marcado espessamento da capsula de Bowman e por uma proliferação de tecido fibroso denso. Sempre foi observada a presença de células mononucleares e fibrose intersticial acentuada circundando os glomérulos (Figura 30). Com a coloração especial de tricrômico de Masson foi identificada em varias áreas uma obstrução completa dos glomérulos (Figura 31).

Esteatose 9,89% (19/192)

Foram observados micro e macro gotículas de bordas definidos e imagem negativa no citoplasma do epitélio tubular cortical. Em algumas áreas as macrogotículas deslocavam o núcleo para a periferia (Figura 32).

Cistos simples 4,16 (8/192)

Esta lesão foi essencialmente caracterizada pela presença de cistos corticais de variáveis tamanhos, os quais apresentavam um epitélio simples de cúbico a aplanado que descansava sobre um fino tecido conjuntivo. Estas estruturas continham um material acidófilo, amorfo e em algumas ocasiões com células epiteliais descamadas no seu interior (Figura 33). Os cistos causavam compressão do parênquima renal circundante (Figura 34).

Doença renal policística 0,52% (1/192)

Esta lesão teve como componentes a perda parcial da arquitetura renal com estruturas glomerulares ausentes e múltiplos cistos marcadamente dilatados e em ocasiões fusionados entre eles, com um epitélio de revestimento simples de cúbico a aplanado, contendo material acidófilo, amorfo, com células epiteliais e macrófagos no seu interior (Figura 35). Adicionalmente foram observadas áreas de congestão acentuada e de metaplasia escamosa (Figura 36).

Doença glomerulocística secundária 8,33% (16/192)

Este processo foi marcado principalmente pela presença de múltiplos cistos de origem glomerular multifocal. Estes cistos foram caracterizados por dilatação acentuada da capsula de Bowman e acúmulo de material acidófilo e tênue nos espaços de Bowman (Figura 37) e, em ocasiões, ausência parcial ou total do tufo glomerular (Figura 38). Esta lesão foi classificada como secundária pela relação inferida com as alterações tanto intra como extra-glomerular, tais como glomerulonefrite membranosa ou membranoproliferativa e a nefrite intersticial, respectivamente.

Doença glomerulocística primária 4,68% (9/192)

Esta lesão teve essencialmente as mesmas características císticas que a doença glomerulocística secundária, porém esta não foi relacionada com quaisquer alterações intra ou extra-glomerular evidentes (Figura 39).

Adenoma tubular 0,52% (1/192)

Esta lesão só foi observada microscopicamente em um *reniculus* e sem registros macroscópicos. A mesma foi caracterizada como uma proliferação focal e nodular de túbulos contorcidos (Figura 40), os quais estavam arranjados desordenadamente e eram compostos por células de cúbicas a cilíndricas bem diferenciadas (Figura 41). Estas estruturas descansavam sob um fino estroma de tecido conjuntivo.

Tabela 5 - Distribuição das lesões histopatológicas renais diagnosticadas em função das espécies de cetáceos estudados - São Paulo - 2010-2012

	GM	GMP	NI	NPG	NPGP	GE	EST	CIS	DRP	DGCP	DGCS	AT	AUT	NDN	Total
Mysticeti															
<i>B. acutorostrata</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	2
<i>M. novaeangliae</i>	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	2
Odontoceti															
<i>D. capensis</i>	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	2
<i>G. macrorhynchus</i>	-	-	-	-	-	-	3	-	-	2	-	-	-	-	3
<i>K. breviceps</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	2
<i>K. sima</i>	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1	2
<i>L. hosei</i>	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	2
<i>M. europaeus</i>	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1
<i>P. electra</i>	1	1	-	-	-	-	1	-	-	1	-	-	-	-	2
<i>P. macrocephalus</i>	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1	-	2
<i>P. blainvillei</i>	17	7	5	2	1	3	10	7	-	4	1	1	58	24	125
<i>S. guianensis</i>	2	8	7	1	1	1	-	-	-	2	11	-	1	8	22
<i>S. clymene</i>	3	-	2	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	3
<i>S. coeruleoalba</i>	1	-	1	-	-	1	1	1	-	-	1	-	-	1	2
<i>S. frontalis</i>	2	-	2	-	-	2	-	-	-	-	2	-	1	3	6
<i>S. longirostris</i>	-	1	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1	4
<i>S. bredanensis</i>	-	-	1	-	-	-	1	-	1	-	-	-	-	1	4
<i>T. truncatus</i>	1	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	2	6
Total	28	20	21	3	2	8	19	8	1	9	16	1	64	46	192

GM = Glomerulonefrite membranosa; GMP = Glomerulonefrite membranoproliferativa; NI = Nefrite intersticial; NPG = Nefrite piogranulomatosa; NPGP = Nefrite piogranulomatosa parasitária; DRP = Doença renal policística; GE = Glomeruloesclerose; EST = Esteatose; CIS = Cisto simples; DGCP = Doença glomerulocística primária; DGCS = Doença glomerulocística secundária; AT = Adenoma tubular; AUT = Autólise; NDN = Nada digno de nota.

5.3.3 Descrição e diagnósticos do boto-cinza (*Sotalia guianensis*) (MM075)

Fígado

A lesão hepática foi caracterizada pela presença de focos múltiplos de necrose com infiltrado inflamatório mononuclear parenquimatoso e no espaço porta, onde foi observada uma fibrose moderada (Figura 42). Na musculatura lisa das artérias portais e ao redor das áreas de necrose parenquimatosa foram observados cistos de protozoários, os quais foram positivos com a coloração especial de PAS (Figura 43).

Diagnostico: Hepatite necrótica multifocal moderada a severa crônica, associada a cistos teciduais de protozoários PAS positivos.

Pulmão

Foi observado um infiltrado inflamatório mononuclear, necrose e aumento de tecido conjuntivo. Os epitélios alveolar e bronquiolar estavam descamando e necrosando. No interior da luz alveolar e entre a musculatura lisa foram observadas pequenas estruturas protozoárias ovais e livres, basófilas e agrupadas formando pseudocistos, acompanhadas de monócitos e células descamadas (Figura 44).

Diagnostico: Pneumonia intersticial necrótica multifocal subaguda severa, associada a grupos de estruturas compatíveis com taquizoitos.

Adrenal

Observaram-se áreas necróticas multifocais com infiltrado inflamatório mononuclear cortical. A necrose estava relacionada com a presença de pequenas estruturas protozoárias ovais, livres, basófilas e agrupadas formando pseudocistos, deixando um espaço entre eles e o tecido glandular circundante (Figura 45).

Diagnostico: Adrenalite necrótica multifocal aguda moderada, associada a grupos de estruturas compatíveis com taquizoitos.

Rim

A lesão foi principalmente verificada nas artérias de mediano calibre da junção corticomedular. Nestas foi observada uma degeneração e necrose da musculatura lisa e

adventícia com presença de células mononucleares e extravasamento de hemácias. Na musculatura lisa foram observadas pequenas estruturas protozoárias ovais, basófilas, livres e agrupadas, deixando um espaço entre eles e o tecido muscular circundante (Figura 46). Adicionalmente foram observadas glomerulonefrite membranoproliferativa com hialinização segmentaria e glomeruloesclerose (Figura 47) assim como glomerulocistos secundários multifocais.

Diagnostico: Vasculite necrótica multifocal aguda moderada a severa, associada a grupos de estruturas compatíveis com taquizoitos.

Baço

Foi observada uma moderada diminuição da população celular da polpa branca assim como um discreto infiltrado multifocal de monócitos e escassas áreas de necrose circundante. Não foram observadas estruturas compatíveis com protozoárias.

Diagnósticos: Depleção linfóide moderada e esplenite necrótica multifocal aguda discreta.

Intestino delgado

Apesar da discreta autólise, foram observadas necrose focalmente extensiva com infiltrado mononuclear e alguns neutrófilos na submucosa, sendo que muitas destas células e o tecido circundante estavam em processo de degeneração e necrose. No infiltrado inflamatório havia pequenas estruturas compatíveis com protozoários ovais e basófilos, os quais apresentavam-se degenerados.

Diagnostico: Enterite necrótica focalmente extensiva aguda moderada a severa, associada a estruturas compatíveis com taquizoitos.

Olho

Foi observado um discreto infiltrado inflamatório mononuclear na retina e coróides, acompanhado de discretas áreas de necrose e extravasamento de hemácias. Não foram observadas estruturas compatíveis com protozoários.

Diagnostico: Retinocoroidite necrótica focal aguda discreta.

5.4 Avaliação Imuno-histoquímica

Os procedimentos imuno-histoquímicos com anticorpos para pancitoqueratina AE1/AE3, citoqueratina 7 e vimentina foram feitos para investigar a origem do epitélio constituinte dos cistos simples, doença renal policística e do adenoma tubular renal. Por outro lado, o boto-cinza (MM075) foi processado para pesquisa de *Toxoplasma gondii*.

Cistos simples

O citoplasma do epitélio de revestimento dos cistos foi positivo para pancitoqueratina AE1/AE3 e negativo para citoqueratina 7, assim como vimentina. Isto aconteceu inclusive nas áreas onde o epitélio de revestimento dos cistos apresentava-se marcadamente dilatados e o epitélio estava completamente plano (Figura 48).

Doença renal policística

O citoplasma do epitélio cúbico de revestimento dos cistos marcou positivamente com pancitoqueratina AE1/AE3 e negativo para citoqueratina 7 e vimentina (Figura 49). Os mesmos resultados foram observados nas áreas de metaplasia escamosa (Figura 50).

Adenoma tubular

O citoplasma das células constituintes dos túbulos do adenoma foram fortemente positivos para pancitoqueratina AE1/AE3 e negativos para citoqueratina 7 e vimentina. (Figuras 51 e 52).

Boto-cinza (MM075)

A marcação com o anticorpo anti-*Toxoplasma gondii* foi positivo em todos os órgãos avaliados (fígado, rim, pulmão, baço, glândula adrenal, intestino e olho). Foram marcados tanto os cistos teciduais como os taquizoitos livres ou agrupados (Figuras 53 e 54). Cabe mencionar que cistos teciduais e grupos de taquizoitos foram marcados positivamente em áreas onde não foram identificados na histopatologia como no baço, coroides, musculatura esquelética periocular e no nervo ótico (Figura 55). Na imuno-histoquímica dos dois últimos tecidos não foi observado nenhum tipo de lesão associada ao *T. gondii*.

5.5 Avaliação Ultraestrutural

O análise ultraestrutural por meio da microscopia eletrônica de transmissão foi realizado em amostras selecionadas, conforme apresentado na tabela 3, com vistas a esclarecer aspectos e características finas de processos específicos. Neste sentido, a análise do fígado visou investigar as inclusões hialinas citoplasmáticas, e no rim a glomerulonefrite membranoproliferativa, nefrite intersticial e glomeruloesclerose. Adicionalmente, o caso MM075, com diagnóstico imuno-histoquímico para toxoplasmose, também foi avaliado para reconhecer as principais características do agente e alguns aspectos das lesões associadas.

Inclusões hialinas citoplasmáticas (MM065, MM136 e MM328)

Foram observadas múltiplas inclusões constituídas por um material eletrondenso que variou em intensidade e em muitas ocasiões eram observadas dentro deles uma maior concentração de material altamente eletrondenso que dava a aparência de “núcleo”. Em varias ocasiões as inclusões deslocavam o núcleo para a periferia (Figura 56). Este material foi compatível ultraestruturalmente com glicoproteínas (Figura 57). Em certas ocasiões as inclusões apresentavam uma membrana limitante que foi dificilmente observada devido ao processamento a partir de bloco parafinado (Figura 58).

Glomerulonefrite membranoproliferativa (MM063, MM164, MM207)

Foi caracterizada por um espessamento da membrana basal do capilar glomerular, túbulos e capsula de Bowman, espessamento causado por moderados depósitos eletrondensos intramembranosos (Figura 59). Também foi observada uma hiper celularidade do tufo com hipertrofia das células endoteliais e células mesangiais (Figura 60).

Nefrite intersticial (MM323)

Foi observada a presença de feixes de estruturas fibrilares eletrondensas e desordenadamente arranjadas ao redor dos túbulos e capsula de Bowman (Figura 61); estas estruturas estavam acompanhadas por um infiltrado de linfócitos e plasmócitos (Figura 62). Estas estruturas fibrilares apresentavam estriações transversais discretas,

observadas com dificuldade devido ao fato do material ter sido obtido a partir de blocos de parafina (Figura 63).

Glomeruloesclerose (MM323)

Foi observado um incremento da matriz mesangial e uma moderada presença de depósitos de material eletrondenso na membrana basal do capilar glomerular e na capsula de Bowman, assim como uma aparente fusão dos processos em pé da membrana basal do capilar (Figura 64). Estas estruturas provocavam uma maior tortuosidade e estreitamento da luz do capilar glomerular (Figura 65).

Boto-cinza (MM075)

Neste caso o fígado e rim foram processados e avaliados para pesquisa de *T. gondii*. Este agente foi observado formando cistos teciduais contendo em seu interior aparentes bradizoítos, os quais foram observados entre os hepatócitos. Além disso, foram vistos taquizoítos sendo fagocitados por células de Kupffer (Figura 66), neste caso a dupla membrana de revestimento foi identificada nos taquizoítos. Adicionalmente, taquizoítos livres foram observados dentro do tufo e os glomérulos apresentavam as mesmas características da glomeruloesclerose, porém o depósito de material eletrodense foi muito mais acentuado (Figura 67).

Figura 3 – Fotografia da carcaça de *Pontoporia blainvillei*, macho, juvenil. O animal veio a óbito por captura incidental em rede de pesca. Sala de Necropsia, Departamento de Patologia, FMVZ, USP, 2011. Caso: MM349

Figura 4 – Fotografia da superfície de rim, *Pontoporia blainvillei* com cistos simples. Presença de duas estruturas císticas de aproximadamente 0,2 e 0,7 cm de diâmetro (setas) acometendo um *reniculus*. Sala de Necropsia, Departamento de Patologia, FMVZ, USP, 2011. Caso: MM333

Figura 5 – Fotografia da superfície de corte de três *renicule* fixados em formol, *Pontoporia blainvillei* com cistos simples. Observar cistos de aproximadamente 0,5 cm de diâmetro, contendo substância de coloração marrom claro (setas). Estas estruturas estavam sempre restritas no córtex. Laboratório de Patologia Comparada de Animais Selvagens, Departamento de Patologia, FMVZ, USP, 2011. Caso: MM174

Figura 6 – Fotografia de rim *in situ*, *Steno bredanensis* com doença renal policística. Observar nefromegalia marcada, órgão de aproximadamente 30 x 15 cm de comprimento e largura respectivamente, de aparência cística, e rodeada por uma cápsula espessa e esbranquiçada. Foto: Valeria Ruoppolo, Praia Grande, São Paulo, 2001. Caso: MM358

Figura 7 – Fotografia da superfície de corte de fígado, *Sotalia guianensis* com esteatose. Observar a marcada palidez do órgão. Foto: Aquasis, Ceará, 2011. Caso: MM329

Figura 8 – Fotografia do fígado, *Pontoporia blainvillei* com peri-hepatite piogranulomatosa. Observar estrutura esbranquiçada aderida á capsula do fígado (seta). Caso: MM405

Figura 3

Figura 4

Figura 5

Figura 6

Foto: Valeria Ruoppolo, Praia Grande, São Paulo
Figura 8

Figura 7

Foto: Aquasis, Ceará

Figura 9 – Fotomicrografia de fígado, *Stenella longirrostris* com inclusões hialinas citoplasmáticas. Observar múltiplas inclusões hialinas citoplasmáticas nos hepatócitos (setas). HE. Bar=30 µm. Caso: MM328

Figura 10 - Fotomicrografia de fígado, *Sotalia guianensis* com inclusões hialinas citoplasmáticas. Dois hepatócitos com inclusões hialinas citoplasmáticas (setas). PAS. Bar=20 µm. Caso: MM207

Figura 11 – Fotomicrografia de fígado, *Delphinus capensis* com hepatite portal linfoplasmocítica crônica. Observar o espaço porta com infiltrado inflamatório constituído por células mononucleares, congestão moderada e fibrose discreta a moderada (asterisco). HE. Bar=100 µm. Caso: MM348

Figura 12 – Fotomicrografia de fígado, *Sotalia guianensis* com hepatite portal linfoplasmocítica crônica. Fibrose e hiperplasia de ductos biliares portais (setas). Observar também esteatose zonal (zona II) (asterisco). HE. Bar=70 µm. Caso: MM329

Figura 13 – Fotomicrografia de fígado, *Sotalia guianensis* com hepatite portal linfoplasmocítica crônica. Fibrose (azul) e hiperplasia de ductos biliares portais (setas). Tricromico de Masson. Bar=70 µm. Caso: MM329

Figura 14 – Fotomicrografia de fígado, *Kogia sima* com esteatose. Observar macrogotículas de gordura difusas, de imagem negativa e bordas definidas, os quais deslocam o núcleo para a periferia. HE. Bar=100 µm. Caso: MM379

Figura 9

Figura 10

Figura 11

Figura 12

Figura 13

Figura 14

Figura 15 – Fotomicrografia de fígado, *Pontoporia blainvillei* com hepatite necrótica. Área focal de necrose com infiltrado inflamatório. HE. Bar=100 µm. Caso: MM261

Figura 16 – Fotomicrografia de fígado, *Pontoporia blainvillei* com perihepatite piogranulomatosa. Observar infiltrado inflamatório constituído por granulócitos em processo de necrose (asteriscos) e rodeados por tecido fibroso e algumas células gigantes multinucleadas (setas). HE. Bar=120 µm. Caso: MM341

Figura 17 – Fotomicrografia de fígado, *Pontoporia blainvillei* com peri-hepatite piogranulomatosa. Observar duas células gigantes multinucleadas (setas). HE. 40X. Caso: MM174

Figura 18 – Fotomicrografia de fígado, *Tursiops truncatus* com perihepatite fibrinogranulomatosa. Observar a marcada presença de fibrina acima da capsula de Glisson (asterisco) e células gigantes multinucleadas mais profundamente (setas). HE. 4X. Caso: MM218

Figura 19 – Fotomicrografia de fígado, *Tursiops truncatus* com perihepatite fibrinogranulomatosa. Detalhe em maior aumento da figura 18, com uma célula gigante multinucleada associada aos remanescentes da capsula de Glisson. HE. Bar=70 µm. Caso: 218

Figura 20 – Fotomicrografia de fígado, *Stenella clymene* com colangio-hepatite parasitaria. Presença de parasita metazoário, com ventosas (setas), compatível com cestóide, dentro de ducto biliar. HE. Bar=120 µm. Caso: MM035

Figura 15

Figura 16

Figura 17

Figura 18

Figura 19

Figura 20

Figura 21 – Fotomicrografia de cestóide, em *Stenella frontalis* com colangio-hepatite parasitária. Parênquima parasitário com presença de corpúsculos calcários (setas) e áreas livres onde antes estavam os corpúsculos (cabeça de seta). HE. Bar=70 µm. Caso: MM374

Figura 22 – Fotomicrografia de fígado, *Stenella frontalis* com colangio-hepatite parasitária. Observar porção anterior (escólex) do cestóide no ducto biliar com esfoliação de seu epitélio de revestimento. Na região portal pode-se observar um marcado infiltrado inflamatório (asterisco), fibrose e hiperplasia de ductos biliares (setas). HE. Bar=200 µm. Caso: MM374

Figura 23 – Fotomicrografia de rim, *Stenella coeruleoalba* com glomerulonefrite membranosa. Observar o maior espessamento da membrana basal do capilar glomerular (setas) e da capsula de Bowman (cabeça de setas), assim como a normocelularidade dentro do tufo. HE. Bar=30 µm. Caso: MM323

Figura 24 – Fotomicrografia de rim, *Sotalia guianensis* com glomerulonefrite membranoproliferativa. Observar espessamento da membrana basal do capilar glomerular e a capsula de Bowman, assim como a hiper celularidade do tufo. Adicionalmente as células estão sofrendo de hipertrofia (setas). HE. Bar=20 µm. Caso: MM207

Figura 25 - Fotomicrografia de rim, *Sotalia guianensis* com glomerulonefrite membranoproliferativa. Notar hialinização segmentar discreta na base do tufo glomerular (seta). HE. 20X. Caso: MM063

Figura 26 – Fotomicrografia de rim, *Pontoporia blainvillei* com nefrite intersticial. Observar o infiltrado de linfócitos e plasmócitos intersticial. HE. Bar=50 µm. Caso: MM312

Figura 21

Figura 22

Figura 23

Figura 24

Figura 25

Figura 26

Figura 27 – Fotomicrografia de rim, *Stenella coeruleoalba* com nefrite intersticial. Fibrose intersticial com discreto infiltrado inflamatório (asterisco). Tricrômico de Masson. Bar=70 µm. Caso: MM323

Figura 28 – Fotomicrografia de rim, *Sotalia guianensis* com nefrite piogranulomatosa parasitaria. Notar infiltrado de polimorfonucleares em processo de necrose (asterisco), com células epitelioides adjacentes e fibrose com células mononucleares rodeando um glomérulo, o qual apresenta uma capsula de Bowman em estado de degeneração (setas). HE. Bar=70 µm . Caso: MM095

Figura 29 – Fotomicrografia de rim, *Sotalia guianensis* com nefrite piogranulomatosa parasitaria. Área adjacente a aquela da figura 28. Observar dois parasitas metazoários compatíveis com nematoides (setas) dentro de um vaso sanguíneo com marcado processo inflamatório ao redor. HE. Bar=30 µm. Caso: MM095

Figura 30 – Fotomicrografia de rim, *Stenella coeruleoalba* com glomeruloesclerose. Notar atrofia, retração e hipocelularidade do tufo glomerular, com exuberante espessamento e fibrose da capsula de Bowman (seta). Também notar fibrose e infiltrado mononuclear intersticial. HE. Bar=70 µm. Caso: MM323

Figura 31 – Fotomicrografia de rim, *Stenella coeruleoalba* com glomeruloesclerose. Observar completa obstrução do glomérulo (seta). Tricromico de Masson. Bar=30 µm. 40X. Caso: MM323

Figura 32 – Fotomicrografia de rim, *Stenella longirrostris* com esteatose. Observar marcada presença de macrogotículas de gordura no citoplasma das células epiteliais dos túbulos contorcidos. HE. Bar=70 µm. Caso: MM208

Figura 27

Figura 28

Figura 29

Figura 30

Figura 31

Figura 32

Figura 33 – Fotomicrografia de rim, *Pontoporia blainvillei* com cistos simples. Cisto simples contendo substância acidófila e amorfa com células epiteliais descamadas no seu interior (seta). Identificar a pressão contra o parênquima renal. HE. Bar=400 µm. Caso: MM333

Figura 34 – Fotomicrografia de rim, *Pontoporia blainvillei* com cistos simples. Detalhe em maior aumento do epitélio de revestimento dos cistos simples com aplanamento do epitélio (seta) e compressão de glomérulo adjacente. HE. Bar=50 µm. Caso: MM174

Figura 35 - Fotomicrografia de rim, *Steno bredanensis* com doença renal policística. Observar perda parcial da arquitetura microscópica renal com múltiplos cistos de diversos tamanhos, contendo material acidófilo e amorfo (asterisco). HE. Bar=200 µm 4X. Caso: MM358

Figura 36 – Fotomicrografia de rim, *Steno bredanensis* com doença renal policística. Notar metaplasia escamosa no epitélio de revestimento de cisto e descamação das mesmas (setas). HE. Bar=150 µm. Caso: MM358

Figura 37 – Fotomicrografia de rim, *Pontoporia blainvillei* com doença glomerulocística secundária. Observar marcada dilatação e espessamento da capsula de Bowman contendo substância acidófila e amorfa no seu interior. Notar discreta diminuição de tamanho do tufo (seta). HE. Bar=70 µm 20X. Caso: MM164

Figura 38 - Fotomicrografia de rim, *Sotalia guianensis* com doença glomerulocística secundária. Glomérulo com capsula de Bowman marcadamente espessada (seta) e hipertrofia das células de revestimento contendo uma substância acidófila e amorfa no seu interior. Notar a ausência total do tufo glomerular. HE. Bar=50 µm. Caso: MM063

Figura 33

Figura 34

Figura 35

Figura 36

Figura 37

Figura 38

Figura 39 - Fotomicrografia de rim, *Pontoporia blainvillei* doença glomerulocística primaria. Observar glomérulo com capsula de Bowman dilatada, com substância acidófila tênue e amorfa no seu interior e ausência de tufo, porém sem nenhuma evidencia de lesão associada. Notar dois glomérulos normais embaixo do cisto glomerular primário (setas). HE. Bar=100 µm. Caso: MM083

Figura 40 – Fotomicrografia de rim, *Pontoporia blainvillei* com adenoma tubular. Observar a proliferação de túbulos (setas) de aparência nodular no córtex do *reniculus*, o qual esta sobressaindo para a superfície. HE. 4X. Caso: MM140

Figura 41 – Fotomicrografia de rim, *Pontoporia blainvillei* com adenoma tubular. Detalhe em maior aumento da figura 41, apresentando túbulos desarranjados, com discreta proliferação epitelial e poucas células com núcleo hipercromático. HE. Bar=70 µm. Caso: MM140

Figura 42 – Fotomicrografia de fígado, *Sotalia guianensis* com toxoplasmose. Observar dois focos de necrose com infiltrado inflamatório (asterisco) e fibrose do espaço portal (seta). Notar moderada congestão dos sinusoides. HE. Bar=150 µm. Caso: MM075

Figura 43 – Fotomicrografia de fígado, *Sotalia guianensis* com toxoplasmose. Cisto tissular (seta) de *T. gondii* positivo para PAS. Bar=150 µm. Caso: MM075

Figura 44 – Fotomicrografia de pulmão, *Sotalia guianensis* com toxoplasmose. Espessamento do septo interalveolar com aumento de tecido conjuntivo e infiltrado mononuclear (asterisco). Notar descamação do epitélio de revestimento bronquiolar e presença de pseudocistos de protozoários na luz (seta). HE. Bar=70 µm. Caso: MM075

Figura 39

Figura 40

Figura 41

Figura 42

Figura 43

Figura 44

Figura 45 – Fotomicrografia de glândula adrenal, *Sotalia guianensis* com toxoplasmose. Notar pseudocisto de protozoário com vacúolo parasitóforo (seta). Observar o infiltrado inflamatorio e necrose focalmente extensiva ao redor do protozoário. HE. Bar=70 µm. Caso: MM075

Figura 46 – Fotomicrografia de rim, *Sotalia guianensis* com toxoplasmose. Camada muscular de vaso sanguíneo corticomedular com necrose, extravasamento de hemácias e presença de pseudocistos de protozoário com vacúolo parasitófora (setas). HE. Bar=150 µm. Caso: MM075

Figura 47 – Fotomicrografia de rim, *Sotalia guianensis* com toxoplasmose. Glomeruloesclerose, notar a obstrução total glomérulo “obsoleto” e espessamento exuberante com tortuosidade da capsula de Bowman. HE. Bar=100 µm. Caso: MM075

Figura 48 – Fotomicrografia de rim, *Sotalia guianensis* com cistos simples. Observar citoplasma do epitélio de revestimento de um cisto simples. Tanto as células cúbicas (seta) como aplanadas (cabeça de seta) são fortemente positivas para anti-pancitoqueratina AE1/AE3. Reação de imuno-histoquímica. Contra coloração com Hematoxilina de Harris. Bar=40X. Caso: MM406

Figura 49 – Fotomicrografia de rim, *Steno bredanensis* com doença renal policística. Notar o citoplasma do epitélio cúbico dos cistos positivos para anti-pancitoqueratina AE1/AE3 (setas). Reação de imuno-histoquímica. Contra coloração com Hematoxilina de Harris. Bar=40X. Caso: MM358

Figura 50 – Fotomicrografia de rim, *Steno bredanensis* com doença renal policística. Notar as células da metaplasia escamosa positivas para anti-pancitoqueratina AE1/AE3. Reação de imuno-histoquímica. Contra coloração com Hematoxilina de Harris. Bar=40X. Caso: MM358

Figura 45

Figura 46

Figura 47

Figura 48

Figura 49

Figura 50

Figura 51 – Fotomicrografia de rim, *Pontoporia blainvillei* com adenoma tubular. Observar a proliferação de túbulos apresentados na figura 41 positivos para anti-pancitoqueratina AE1/AE3 (setas). Reação de imuno-histoquímica. Contra coloração com Hematoxilina de Harris. Bar=4X. Caso: MM140

Figura 52 – Fotomicrografia de rim, *Pontoporia blainvillei* com adenoma tubular. Detalhe em maior aumento da figura 52, citoplasma do epitélio tubular fortemente positivo para anti-pancitoqueratina AE1/AE3. Reação de imuno-histoquímica. Contra coloração com Hematoxilina de Harris. Bar=40X. Caso: MM140

Figura 53 – Fotomicrografia de pulmão, *Sotalia guianensis* com toxoplasmose. Observar pseudocistos (setas) e taquizoitos (cabeça de seta) fortemente positivos para anti-*Toxoplasma gondii*. Reação de imuno-histoquímica. Contra coloração com Hematoxilina de Harris. Bar=40X. Caso: MM075

Figura 54 – Fotomicrografia de glândula adrenal, *Sotalia guianensis* com toxoplasmose. Notar taquizoitos (setas) e cisto com bradizoitos (cabeça de seta) fortemente positivos para anti-*Toxoplasma gondii*. Reação de imuno-histoquímica. Contra coloração com Hematoxilina de Harris. Bar=40X. Caso: MM075

Figura 55 – Fotomicrografia de músculo esquelético (acima) e nervo ótico (embaixo), *Sotalia guianensis* com toxoplasmose. Presença de pseudocistos fortemente positivos para anti-*Toxoplasma gondii*. Notar a ausência de necrose ou resposta inflamatória ao redor. Reação de imuno-histoquímica. Contra coloração com Hematoxilina de Harris. Bar=40X. Caso: MM075

Figura 51

Figura 52

Figura 53

Figura 54

Figura 55

Figura 56 – Electromicrografia de fígado, *Pontoporia blainvillei* com inclusões hialinas citoplasmáticas. Inclusões hialinas citoplasmáticas dentro de hepatócitos. Notar o deslocamento dos núcleos para a periferia. Contrastação com acetato de uranilo e citrato de chumbo. Bar=5µm. Caso: MM136

Figura 57 – Electromicrografia de fígado, *Pontoporia blainvillei* com inclusões hialinas citoplasmáticas. Detalhe em maior aumento de uma inclusão hialina citoplasmática com material eletrondenso com uma maior concentração no extremo superior (seta). Contrastação com acetato de uranilo e citrato de chumbo. Bar=2 µm. Caso: MM136

Figura 58 – Electromicrografia de fígado, *Pontoporia blainvillei* com inclusões hialinas citoplasmáticas. Observar inclusão hialina citoplasmática com membrana limitante (setas). Contrastação com acetato de uranilo e citrato de chumbo. Bar=1µm. Caso: MM136

Figura 59 – Electromicrografia de rim, *Sotalia guianensis* com glomerulonefrite membranoproliferativa. Notar depósito eletrondenso intramembranoso na membrana basal do capilar glomerular (asterisco) e a maior celularidade. Contrastação com acetato de uranilo e citrato de chumbo. Bar=2µm. Caso: MM063

Figura 56

Figura 57

Figura 58

Figura 59

Figura 60 – Electromicrografia de rim, *Sotalia guinensis* com glomerulonefrite membranoproliferativa. Observar a proliferação de células epiteliais com discretos depósitos eletrodensos (asteriscos). Contrastação com acetato de uranilo e citrato de chumbo. Bar=5µm. Caso: MM207

Figura 61 – Electromicrografia de rim, *Stenella coeruleoalba* com nefrite intersticial. Notar proliferação de fibras colágenas (asterisco branco) adjacentes às capsula de Bowman, a qual apresenta depósitos eletrodensos na membrana basal (seta). Observar o detalhe do espaço de Bowman (asterisco negro). Contrastação com acetato de uranilo e citrato de chumbo. Bar=5µm. Caso: MM323

Figura 62 – Eletromicrografia de rim, *Stenella coeruleoalba* com nefrite intersticial. Plasmocito, observar a maior presença de retículo endoplasmico rugoso no citoplasma e núcleo oval e excêntrico. Adjacente, cortes transversais de fibras colágenas (asteriscos). Contrastação com acetato de uranilo e citrato de chumbo. Bar=1µm. Caso: MM323

Figura 63 – Electromicrografia de rim, *Stenella coeruleoalba* com nefrite intersticial. Fibras colágenas, observar extriações transversais em cada uma delas. Contrastação com acetato de uranilo e citrato de chumbo. Bar=200nm. Caso: MM323

Figura 60

Figura 61

Figura 62

Figura 63

Figura 64 - Electromicrografia de rim, *Stenella coeruleoalba* com glomeruloesclerose. Observar uma moderada expansão do mesangio (asterisco) com maior tortuosidade e estenose da luz do capilar glomerular. Notar depósitos eletrodensos na membrana basal do capilar e na capsula de Bowman (seta). Contrastação com acetato de uranilo e citrato de chumbo. Bar=2µm. Caso: MM323

Figura 65 – Electromicrografia de rim, *Stenella coeruleoalba* com glomeruloesclerose. Notar moderada expansão do mesangio (asterisco negro) e maior estreitamento da luz capilar, o qual apresentava depósitos eletrondensos na membrana basal (asterisco branco). Contrastação com acetato de uranilo e citrato de chumbo. Bar=2 µm. Caso: MM323

Figura 66 – Electromicrografia de fígado, *Sotalia guianensis* com toxoplasmose. Célula de Kupffer fagocitando um taquizoito de *Toxoplasma gondii*. Contrastação com acetato de uranilo e citrato de chumbo. Bar=1µm. Caso: MM075

Figura 67 – Eletromicrografia de rim, *Sotalia guianensis* com toxoplasmose. Observar moderada expansão do mesangio (asterisco negra) com marcados depósitos eletrondensos na matriz mesangial e focalmente agrupado (asterisco branco). Contrastação com acetato de uranilo e citrato de chumbo. Bar=2µm. Caso: MM075

Figura 64

Figura 65

Figura 66

Figura 67

5.6 Análise Estatística

5.6.1 Composição amostral

A tabela 3 resume a distribuição sexual e etária dos animais estudados. A razão sexual dos cetáceos estudados foi desequilibrada, com um excesso de machos (57.4% machos; $P = 0.046$). A distribuição de grupo etário foi desigual entre *P. blainvillei* (6.6% filhotes, 63.1% juvenis, 30.3% adultos) e os demais odontocetos (20.3% filhotes, 28.8% juvenis, 50.8% adultos) ($\chi^2 = 20.369$, $gl = 2$, $P < 0.001$).

5.6.2 Histopatologia

Poucos parâmetros do histórico individual apresentaram influência significativa na ocorrência de achados histopatológicos. A ocorrência de inclusões hialinas citoplasmáticas foi mais frequente em animais capturados (64%; 64/100) do que em animais encalhados (31%; 16/51) (RC = 3.89; IC_{95%} = 1.89 – 7.97). A espécie influenciou a frequência de doença glomerulocística secundária, sendo menos frequente em *P. blainvillei* (0.8%; 1/124) do que nos demais cetáceos (22.4%; 15/67) (RC = 0.0357; IC_{95%} = 0.0046 – 0.2762). A autólise foi mais frequente no fígado em animais encalhados (29.4%; 15/51) do que em capturados (15%; 15/100) (RC = 2.36; IC_{95%} = 1.05 – 5.33); o mesmo padrão foi observado nos rins dos animais encalhados (34.6%; 18/52) e capturados (14.7%; 15/102) (RC = 3.07; IC_{95%} = 1.39 – 6.78).

O Anexo 2 resume a frequência de cada achado histopatológico na espécie mais amostrada, a toninha (*Pontoporia blainvillei*), comparando grupos etários, sexos, contextos e localidades de colheita de amostras.

6 DISCUSSÃO

Na discussão dos resultados serão abordadas separadamente as análises da amostragem, os diagnósticos hepáticos e renais, e o caso de toxoplasmose em um boto-cinza (MM075).

6.1 Análise da Amostragem

No presente estudo foram avaliadas amostras hepáticas e renais de 197 cetáceos necropsiados ao longo do litoral brasileiro, em um período de 15 anos (1996-2011). Este número representa um expressivo esforço amostral, considerando-se que os cetáceos são animais particularmente difíceis de estudar devido a seus hábitos aquáticos, seu grande tamanho corporal e *status* de conservação (GULLAND; HALL, 2007). Por isso, o BTMM representa uma fonte importante de informação sobre as enfermidades que acometem os cetáceos e mamíferos aquáticos em geral no Brasil.

Porém, a distribuição da amostragem foi desequilibrada. Em relação ao sexo, houve mais machos do que fêmeas. Quanto aos grupos etários, a distribuição foi desigual entre toninhas (*Pontoporia blainvillei*), com mais juvenis, e nos demais odontocetos, nos quais houve mais adultos. Esta desigualdade pode ser explicada devido a obtenção das amostras não ter sido aleatória, mas direcionadas por circunstâncias que podem ter interferido com o esforço amostral. Outros estudos têm sido desenvolvidos baseados na tendência de encalhes que apresenta cada espécie de cetáceo ou mamífero marinho, muitas vezes relacionado com sua abundância, distribuição e hábitos de vida da espécie (HOWARD, 1983a). Neste sentido, é bastante difícil ter um equilíbrio amostral, pelo fato dos animais poderem encalhar ou ser capturados com redes de pesca em lugares de difícil acesso.

Quanto à distribuição geográfica dos cetáceos estudados, a maior parte dos animais era proveniente dos estados de São Paulo - 41,6% (82/197) e Rio Grande do Sul - 36,5% (72/192). Estes dois estados tiveram maior representação devido à parcerias existentes com instituições que trabalham com cetáceos provenientes de encalhes, reabilitação ou captura incidental. Além disso, duas pesquisas relevantes foram realizadas, anos atrás, com maior ênfase nesses dois estados do sudeste e sul do Brasil (MARIGO, 2003; RUOPPOLO, 2003). Em ambos os estados, a espécie mais amostrada foi a toninha, sendo que a maior

parte delas morreu por captura acidental em rede de pesca, que é justamente a maior ameaça à conservação da espécie ao longo de sua distribuição (DI BENEDITTO et al., 2010). Além destas duas regiões, em terceiro lugar está o estado de Ceará, representando 11,7% (23/197) do total de animais amostrados. Esta amostragem se deve à colaboração recentemente estabelecida com a instituição AQUASIS para realização desta dissertação de mestrado (2010-2012). Notar na figura 3 que a maior diversidade de espécies provém do Ceará, o que possivelmente reflete a diversidade de espécies que ocorre na região (ALVES-JUNIOR et al., 1996; MEIRELLES et al., 2009). A parceria com tais instituições foi primordial para o presente trabalho, o que evidencia sua importância, sendo desejável sua continuidade. Neste sentido, seria interessante estabelecer parcerias com instituições que trabalham nos estados pouco ou não representados, para assim ter uma amostragem mais representativa dos cetáceos da costa brasileira.

Em relação à distribuição anual dos cetáceos estudados, houve uma maior ocorrência entre os anos de 1998 a 2000, de forma semelhante à distribuição por estados. Tal fato é explicado pelo desenvolvimento das duas pesquisas anteriormente citada e que deram início ao BTMM (MARIGO, 2003; RUOPPOLO, 2003). Finalmente é importante ratificar que os trabalhos acima listados foram centrados na pesquisa com toninhas, por isso o maior número de indivíduos desta espécie nesses anos.

6.2 Análise das Lesões Hepáticas

No presente estudo a maior frequência de lesões hepáticas foi de inclusões hialinas citoplasmáticas - 46,31% (88/190), as quais foram positivas à coloração especial de PAS. Inclusões hialinas globulares no citoplasma dos hepatócitos já foram relatadas em tecido hepático normal e anormal de humanos (POPPER, PARONETTO, BARKA, 1960), assim como em fígados de pacientes humanos que sofreram congestão passiva devido a insuficiência cardíaca direita (KLATT et al., 1988). Inclusões hialinas citoplasmáticas foram observadas em animais de experimentação, como cães e ratos, após a administração de uma dose letal de endotoxina de *Escherichia coli* (HOLMES; SMITH, 1969); em comundongos, depois de uma congestão induzida experimentalmente pela constrição da veia cava inferior (SHIBAYA; YAHARA; NAKATA, 1990); espontaneamente em coelhos com áreas de necrose (KOLLER, 1973); e em um papagaio-eclectus (*Eclectus roratus*),

eutanaziado depois de uma prolongada insuficiência hepática (BOYD; LATIMER 2001). Por outro lado, esta lesão foi observada em diversas espécies de cetáceos, nas quais se descartou uma possível origem viral ou toxicológica (KENNEDY et al., 1993; JABER et al., 2004). No presente estudo não foi observado nenhum tipo de partícula viral durante a análise ultraestrutural em três animais.

Jaber et al. (2004) acreditam que esta é uma lesão reversível e pode decorrer do encalhe ativo dos cetáceos. Segundo estes autores, durante o encalhe ocorre a compressão das vasculaturas abdominal e torácica, comprometendo o fluxo sanguíneo, o que pode levar à congestão hepática aguda ou subaguda, subsequente hipóxia hepatocelular, e finalmente a formação de inclusões hialinas. Porém, este processo fisiopatológico não seria exclusivo de animais encalhados. Cowan e Curry (2008) esclarecem que os cetáceos podem ativar certas adaptações fisiológicas conhecidas como “reflexo de mergulho” ou, nesse caso, de forma acentuada, “reação de alarme” frente a um perigo ou “estresse”, podendo também ser ativadas em momentos agônicos antes da morte. A fisiologia de mergulho em cetáceos e outros animais marinhos diferem dos animais terrestres, ocorrendo apneia, bradicardia, redução do gasto cardíaco e vasoconstricção, com marcada diminuição do fluxo sanguíneo a diferentes tecidos como intestino, fígado, rins e músculo esquelético, porém sem diminuição do fluxo para órgãos vitais como o cérebro e o coração (BUTLER, 1982; BUTTLER; JONES 1997). Tendo isto em consideração, é possível concluir que a “reação de alarme” decorre de um aumento exacerbado da liberação de catecolaminas por estresse, o qual pode chegar a níveis patológicos induzindo processos isquêmicos em diversos tecidos (COWAN; CURRY, 2008). No presente estudo, foram encontradas inclusões tanto em animais provenientes de encalhe como de captura incidental, porém houve uma maior frequência nos animais capturados, com uma razão de chance de 3,9; isto significa que os animais mortos por captura acidental têm 3,9 vezes mais chances de exibir inclusões do que os animais encalhados. Isto poderia ser explicado pelo fato dos animais encalhados terem vindo à óbito por diversas causas, muitas delas desconhecidas, onde o processo de estresse e liberação de catecolaminas poderia ter variado, gerando uma diferença em comparação com os animais que morreram enredados. Nestes, há maior certeza quanto ao fato de terem passado por um processo agônico e prolongado antes da morte, gerando maior estresse, maior liberação de catecolaminas, e por sua vez, maior vasoconstricção e isquemia nos diferentes órgãos, incluindo o fígado, gerando inclusões hialinas citoplasmáticas. Desta forma poderíamos sugerir uma explicação para a maior frequência destas inclusões em animais enredados do que encalhados.

O segundo diagnóstico mais frequente foi hepatite portal linfoplasmocítica crônica com 36,31% (69/190) de ocorrência. Em humanos estas lesões estão mais relacionadas a enfermidades virais, como o vírus da hepatite C (CRAWFORD, 1999). Em caninos este tipo de hepatite não é bem entendida, porém acredita-se que poderia estar relacionada à infecção por Adenovirus canino I, leptospirose, processo imunomediado, ou toxicose por cobre em algumas raças (CULLEN, 2007; STALKER; HAYES, 2007). Lesões com características similares já foram observadas em cetáceos encalhados nas Ilhas Canárias, Espanha (JABER et al., 2004). Em cetáceos, as hepatites não são completamente entendidas, porém suspeita-se de uma possível origem nutricional ou tóxica (SWEENEY; RIDWAY 1975). Em outros mamíferos marinhos, como os ursos polares (*Ursus maritimus*), as hepatites têm sido associadas à altas concentrações de contaminantes como o mercúrio (Hg) e compostos organohalogenados (OHC), que atuariam como possíveis cofatores desta e de outras hepatopatias, além de também poder resultar da ação de micro-organismos (SONNE et al., 2005, 2007). No nosso estudo não foi possível atribuir uma causa específica à hepatite portal linfoplasmocítica crônica, porém, o fato de estar localizada principalmente no espaço portal alimenta a suspeita de uma possível origem infecciosa ou tóxica recorrente, tendo como via de acesso a veia porta e o sistema de ductos biliares.

Esteatose foi observada em 14,2% (27/190) dos animais. Esta lesão é frequentemente observada em cetáceos e outros mamíferos marinhos (SWEENEY; RIDWAYS, 1975; HOWARD, 1983b; JABER et al., 2004) e sua ocorrência é geralmente resultado da inanição associada a uma doença intercorrente ou inapetência, ou ainda decorrente de alguma desordem metabólica primária (HOWARD, 1983b). Existe um relato de esteatose hepática fatal em uma fêmea adulta de golfinho-nariz-de-garrafa (*Tursiops truncatus*), a qual sofreu rápida perda da função renal (GOMERIC et al., 2000). No presente estudo, o padrão de distribuição acinar ou lobular hepático variou na maioria dos casos, sendo zonal em vários animais e panlobular (difuso) em poucos indivíduos. Em animais domésticos, estes achados poderiam ocorrer por diferentes causas como injúrias tóxicas, deficiências nutricionais, *diabetes mellitus* ou hipóxia (STALKER; HAYES, 2007).

Em cetáceos, Jaber et al. (2004) encontraram esteatose em animais muito jovens, e sugeriram discutindo que poderia se tratar de um processo fisiológico. No presente estudo, 11 animais com esteatose eram filhotes, sete eram juvenis, três eram adultos e em seis casos a idade não foi registrada. Apesar de uma aparente tendência pelos animais jovens, não é possível relacionar esta condição diretamente a um fator fisiológico, pois a esteatose

variou tanto no padrão acinar como lobular. Neste sentido Jaber et al. (2004), também encontraram variações no padrão de esteatose, concluindo que é difícil estabelecer uma causa comum.

Hepatites necróticas foram observadas em 4,7% (9/190) dos animais estudados e todas foram inespecíficas. Esta lesão já foi descrita em golfinhos, subsequente a um processo septicêmico (HOWARD et al., 1983). Em animais domésticos, este tipo de hepatite poderia refletir áreas focais ou multifocais de infecções virais ou bacterianas, e seria considerado achado incidental de resposta contra um vírus ou bactéria que chegasse, via sistema porta, ao parênquima hepático (STALKER; HAYES, 2007). No presente estudo, as hepatites foram discretas e possivelmente relacionadas a um processo sistêmico.

Peri-hepatites piogranulomatosas e fibrinogranulomatosas foram observadas em 3,1% (6/190) e 2,6% (5/190) dos animais, respectivamente. Pelo fato destas lesões envolverem tanto a cápsula de Glisson, como o peritônio visceral, foram consideradas como causas prováveis das peri-hepatites as lesões que envolveram também o peritônio. Neste sentido, entre as causas de peritonite incluem-se às de origem bacteriana, traumáticas e parasitárias, como, por exemplo, migrações esperadas e/ou aberrantes de larvas parasitárias (BROWN; BAKER; BARKER, 2007). No presente estudo, ambas as lesões foram negativas para as colorações especiais de Ziehl Neelsen e Gram, sendo descartado algum agente bacteriano acido-álcool resistente ou outra bactéria. Em animais domésticos é possível achar peri-hepatites com exsudato fibrinoso ou piogranulomatoso, principalmente decorrente da migração de alguns nematóides, como *Dictophyma renale* em canídeos, ou *Stephanurus dentatus* em suínos, sendo que nestes casos os parasitas nem sempre são observados histologicamente (BROWN; BAKER; BARKER, 2007).

Colangio-hepatite parasitária foi diagnosticada em 2,1% (4/190) dos golfinhos estudados (MM035, MM328, MM374 e MM377). Os parasitas encontrados nestes animais eram compatíveis com cestóides, sendo estes diagnosticados através de técnicas histológica e parasitológica, considerando que esta última foi realizada pelo pesquisador (Vitor Luz) da instituição parceira AQUASIS. No caso MM377 foi identificado o cestóide *Monorygma grimaldii* na cavidade abdominal, e o cestóide *Scolex pleuronectis* no parênquima hepático e ducto hepatopancreático, sendo que neste também foi encontrada a presença de trematóide do gênero *Campula* spp. No caso MM 374 foram identificados cestóides na camada de gordura (*Phyllobothrium delphini*) e na cavidade abdominal (*Monorygma grimaldii*). No caso MM328 foram encontrados cestóides da família Tetrabothridae no intestino delgado, e *Monorygma grimaldii* na cavidade abdominal. Já o caso MM035 não

teve registros parasitológicos. A presença destas duas formas larvárias de cestódeos (merocercóides) (*Phyllobothrium delphini* e *Manorygma grimaldii*) é comumente relatada em cetáceos (NORMAN, 1997; AGUSTÍ; AZNAR; RAGA, 2005) e tem como hospedeiro definitivo aos tubarões (GIBSON et al., 1998; AZNAR et al., 2007). Além disso, pesquisadores acreditam que as “pequenas” e “grandes” larvas plerocercóides do metacestoda Tetraphyllideo *Scolex pleuronectis*, são na verdade estágios menos desenvolvidos de *Phyllobothrium* e *Monorygma* (AGUSTÍ; AZNAR; RAGA, 2000; 2005; FERNÁNDEZ et al., 2003). No presente estudo foi identificado *Scolex pleuronectis* no parênquima hepático do caso (MM377), porém nos demais casos (MM035, MM328 e MM374) não foram identificados, pela macroscopia, nenhum cestóide acometendo o fígado. Entretanto, mediante a análise microscópica foi possível observar cestóides no parênquima hepático destes animais. Além disso, também foram observadas formas císticas compatíveis com *Phyllobothrium* e *Monorygma* na cavidade abdominal e na camada de gordura, respectivamente. Sendo assim, podemos supor que os cestóides encontrados através da microscopia do tecido hepática poderiam consistir em larvas plerocercóides de *Scolex pleuronectis*, que não foram notadas no estudo macroscópico do fígado. No presente estudo, a colangio-hepatite observada foi muito parecida com a colangio-hepatite causada por *Fasciola hepatica* em ruminantes domésticos (STALKER; HAYES, 2007) e com a colangite crônica causada pelo trematóide *Campula* spp. no fígado de cetáceos (MIGAKI et al., 1979; JABER et al., 2004).

A autólise foi observada com maior frequência no fígado de animais encalhados do que de animais capturados, com uma razão de chance de 2,4. Isto significa que os animais encontrados encalhados têm 2,4 vezes mais chance de apresentar autólise hepática do que animais mortos em decorrência da captura accidental. Isto é facilmente compreensível, já que o tempo entre o encalhe e a necropsia do animal é geralmente prolongado, incrementando a possibilidade de autólise. Por outro lado, nos animais mortos por enredamento o tempo entre a morte e a necropsia é possivelmente menor, já que é realizado um acompanhamento das atividades dos pescadores, os quais notificam a ocorrência da captura no momento em que recolhem a rede e disponibilizam a carcaça do animal pouco tempo após sua morte.

6.3 Análise das Lesões Renais

A lesão mais frequentemente observada nos rins avaliados foi a glomerulonefrite membranosa, que ocorreu em 14,6% (28/192) dos casos. Esta lesão, juntamente com as glomerulonefrites membranoproliferativas, são consideradas como lesões glomerulares primárias, que podem resultar da deposição de imunocomplexos circulantes na membrana basal do tufo glomerular (MAXIE; NEWMAN, 2007). Neste sentido, a patogênese mais comumente identificada em animais domésticos e humanos é a deposição de imunocomplexos devido a uma contínua antigenemia por infecções microbianas e parasitárias (COTRAN; KUMAR; COLLINS, 1999b; MAXIE; NEWMAN, 2007; NEWMAN; CONFER; PANCIERA, 2007). Porém, em algumas ocasiões as glomerulonefrites são de causas desconhecidas (MAXIE; NEWMAN, 2007). Nos estudos de alterações patológicas em cetáceos, estes tipos de lesões são pouco comuns (HOWARD, 1983c; GULLAND; LOWENSTINE; SPRAKER, 2001), mas já foram diagnosticadas em outros mamíferos marinhos, como focas-cinza (*Halichoerus grypus*) e focas-aniladas (*Phoca hispida botnica*) do mar Báltico e golfo de Botnia (BERGMAN; BERGSTRAND; BIGNERT, 2001), assim como em ursos polares (*Ursus maritimus*) do leste da Groenlândia, relacionados significativamente com compostos organo-halogenados (OHC's) (SONNE et al., 2006) e altos níveis de mercúrio (SONNE et al., 2007a). Nestes dois últimos estudos os autores afirmam que as lesões poderiam estar relacionadas com a idade e infecções recorrentes, enquanto que os contaminantes podem atuar como um fator imunossupressivo, facilitando seu desenvolvimento (SONNE et al., 2006, 2007). No presente estudo não foi possível identificar uma causa específica para esta lesão, porém é possível que esteja relacionada aos depósitos de imunocomplexos por antigenemia devido a infecções prolongadas. Estudos futuros são necessários para esclarecer esta possibilidade.

A outra lesão glomerular primária foi a glomerulonefrite membranoproliferativa, observada em 10,4% (20/192) dos casos. A principal diferença desta lesão em relação à glomerulonefrite membranosa foi a maior hipercelularidade na primeira. Em humanos e animais domésticos, esta lesão ocorre em decorrência do depósito de imunocomplexos e ativação do sistema de complemento, levando a um espessamento da membrana basal do tufo e à proliferação de células glomerulares e infiltração de leucócitos (COTRAN; KUMAR; COLLINS, 1999b; NEWMAN; CONFER; PANCIERA, 2007). Em cetáceos, a glomerulonefrite membranoproliferativa foi diagnosticada em uma baleia-bicuda

(HOWARD, 1983c). Este autor comenta que as causas desta lesão são desconhecidas, porém que poderia ter a mesma origem que nos animais terrestres, ou seja, ser originada por depósitos de imunocomplexos.

A nefrite intersticial foi diagnosticada em 10,9% (21/192) dos cetáceos estudados. Em cetáceos, as infecções urinárias são pouco comuns, mas quando ocorrem, estão mais relacionadas às infecções em outros sistemas (SWEENEY; RIDWAY, 1975). Em humanos e animais domésticos, esta lesão pode ter origem tanto infecciosa como não infecciosa, e seu curso pode variar em agudo, subagudo ou crônico (COTRAN; KUMAR; COLLINS, 1999b, MAXIE; NEWMAN, 2007, NEWMAN; CONFER; PANCIERA, 2007). Em animais domésticos a nefrite intersticial pode ser de origem hematógena, decorrente de um processo sistêmico; assim como secundária a um processo glomerular (MAXIE; NEWMAN, 2007). No presente estudo, as nefrites intersticiais foram, praticamente em sua totalidade, associadas às glomerulonefrites membranosa ou membranoproliferativa. Tendo isto em consideração, podemos inferir que, assim como nos animais domésticos, nos cetáceos esta lesão pode ocorrer secundariamente a um processo glomerular primário ou em decorrência de uma infecção sistêmica.

A esteatose renal foi observada em 9,9% (19/192) dos cetáceos estudados. Em humanos, esta lesão é comumente encontrada no fígado, podendo também ser observada no rim, músculo esquelético e coração (COTRAN; KUMAR; COLLINS, 1999a). No presente estudo, foi observado que dos 19 animais com esteatose renal 17 apresentavam esteatose hepática. A esteatose hepato-renal tem sido descrita como parte de uma síndrome que acomete animais domésticos e primatas não humanos (STALKER; HAYES, 2007; LABEN-LAIRD; JOKINEN; LEHNER, 1987), sendo que o processo pode ser fatal em casos severos (LABEN-LAIRD; JOKINEN; LEHNER, 1987). A patogênese desta síndrome ainda não é totalmente compreendida, porém nos casos de esteatose hepática e renal severas, pode-se observar perda de peso, depleção esplênica linfóide moderada e anorexia. Ainda para este processo, em animais domésticos e primatas não humanos, são considerados fatores de risco a obesidade e concomitância de alteração pancreática (LABEN-LAIRD; JOKINEN; LEHNER, 1987; GLIATTO; BRONSON, 1993; SÁ, 1999). O fato de que quase a totalidade dos casos de esteatose renal tiveram também esteatose hepática, leva a pensar em uma causa comum em ambos os órgãos, porém as causas seriam mais bem entendidas com um completo estudo da história clínica, macroscopia e avaliação dos outros tecidos colhidos dos animais.

Outro processo inflamatório observado foi nefrite piogranulomatosa, em 2,6% (5/192) dos casos. Destes 1,6% (3/192) dos casos não apresentou uma causa evidente à microscopia, porém nos dois casos restantes, a lesão foi associada a pequenos parasitas metazoários compatíveis com nematóides. Em animais domésticos as nefrites piogranulomatosas estão associadas a uma variedade de agentes infecciosos, incluindo vírus, bactérias, fungos e parasitas (NEWMAN; CONFER; PANCIERA, 2007). Nematódeos da família Crassicaudidae, constituída por dois gêneros de parasitas, *Crassicauda* e *Placentoma*, têm sido diagnosticados no parênquima renal de cetáceos (DAILEY, 2001). Os parasitas que foram observados na avaliação microscópica eram pequenos nematódeos, diferentes dos parasitas da família Crassicaudidae, que comumente são largos e compridos (HOWARD; BRITT; MATSUMOTO, 1983; DAILEY, 2001). Além disso, os parasitas foram observados dentro de vasos sanguíneos, o que levanta a possibilidade de se tratar de uma larva em migração, como acontece em outros animais terrestres, como cães e bovinos infectados por *Toxocara canis* (MAXIE; NEWMAN, 2007; NEWMAN; CONFER; PANCIERA, 2007), nos quais são identificadas lesões granulomatosas similares às observadas no presente estudo.

Glomeruloesclerose foi diagnosticada em 4,2% (8/192) dos cetáceos. Esta lesão geralmente é observada no estágio terminal da glomerulonefrite, podendo também se desenvolver em qualquer doença crônica na qual ocorre grave lesão dos nefrôn ou a perda da função do nefrôn (NEWMAN; CONFER; PANCIERA, 2007). Em cetáceos, a glomeruloesclerose foi observada em uma baleia-piloto (*Globicephala melas*), associada a oclusão recanalizada das pequenas artérias corticais (COWAN, 1966), assim como em outras espécies de mamíferos marinhos, como em um leão-marinho-da-Califórnia (*Zalophus californianus*) (HOWARD, 1983c). A etiologia e patogênese deste processo em mamíferos marinhos são desconhecidas, porém é possível que tenha as mesmas causas que em mamíferos terrestres, tais como a evolução da glomerulonefrite decorrente de depósitos imunocomplexos (HOWARD, 1983c). No presente estudo, a glomeruloesclerose foi observada sempre acompanhada por glomerulonefrite membranosa e/ou membranoproliferativa, assim como por nefrite intersticial. Dessa forma, pode-se suspeitar que a glomeruloesclerose seja um estágio terminal das glomerulonefrites, possivelmente originadas por depósitos de imunocomplexos.

As doenças renais císticas foram diagnosticadas em 17,7% (34/192) dos cetáceos estudados. Estes cistos foram divididos em quatro categorias, segundo suas características macro e microscópicas: cisto simples - 4,2% (8/192), doença renal policística - 0,5%

(1/192), doença glomerulocística primária - 4,7% (9/192) e doença glomerulocística secundária - 8,3% (16/192). Em humanos e animais domésticos, o cisto simples consiste em um achado incidental muito comum, e geralmente não apresenta significado clínico, porém, em situações raras, pode haver complicações como hemorragias, infecções, ruptura ou carcinomas, os quais crescem a partir da parede do cisto (HARTMAN, 1989; COTRAN; KUMAR; COLLINS, 1999b; MAXIE; NEWMAN, 2007; NEWMAN; CONFER; PANCIERA, 2007). Em ferrets (*Mustela putorius furo*) estes cistos têm origem tubular e encontram-se rodeados por tecido renal normal (JACKSON et al., 2008). As mesmas características foram observadas nos cistos simples dos animais estudados, por isso considera-se a possibilidade de que também tenham origem tubular. Cistos simples já foram relatados em golfinhos, sem evidência de lesão obstrutiva, sendo consideradas anomalias de desenvolvimento (HOWARD, 1983c).

No presente estudo, a doença renal policística (DRP) foi diagnosticada em um golfinho-de-dentes-rugosos (*Steno bredanensis*) macho, adulto, encalhado em Praia Grande, São Paulo. Tanto em humanos, como animais domésticos, as doenças renais policísticas são geralmente herdadas, e podem ser classificadas em duas formas. A primeira, denominada doença renal policística autossômica dominante (DRPAD), ocorre em animais adultos e é semelhante à forma humana relacionada a defeitos nos genes *PKD1* e *PKD2*. A segunda, denominada doença renal policística autossômica recessiva (DRPAR), ocorre em filhotes, e é semelhante à doença renal policística em humanos (HARTMAN, 1989; COTRAN; KUMAR; COLLINS, 1999b; MAXIE; NEWMAN, 2007; NEWMAN; CONFER; PANCIERA, 2007). O fato do golfinho-de-dentes-rugosos estudado não ter apresentado nenhum tipo de obstrução no sistema urinário, e por se tratar de um indivíduo adulto, levantamos a possibilidade de que a doença estaria mais relacionada à DRPAD. Outro ponto a ser considerado é que este animal apresentou altos níveis de contaminantes PCBs ($\Sigma 26,7$) e DDTs ($\Sigma 118,4$). Estes valores com aqueles encontrados em cetáceos oriundos de países desenvolvidos e industrializados (YOGUI et al., 2010). Em animais de experimentação, vários tipos de substâncias químicas têm sido associados à presença de cistos renais, entre eles os PCBs (MAXIE; NEWMAN, 2007). A metaplasia escamosa, presente neste caso, também foi observada em um ferret com doença renal cística (JACKSON et al., 2008). No presente caso não foi possível confirmar as causas exatas da doença renal policística. Neste sentido, mais pesquisas são necessárias para esclarecer a sua ocorrência.

As doenças glomerulocísticas foram classificadas como primárias (DGCP) ou secundárias (DGCS) e foram observadas em 4,7% (9/192) e 8,3% (16/192) dos casos estudados, respectivamente. A diferença entre ambas deve-se à presença dos componentes que predispõem aos glomerulocistos secundários, tais como nefrite com fibrose intersticial, e glomerulonefrite membranosa ou membranoproliferativa, enquanto que os glomerulocistos primários não tiveram lesões associadas. Este tipo de classificação tem sido relatado em animais domésticos (MAXIE; NEWMAN, 2007; NEWMAN; CONFER; PANCIERA, 2007; JACKSON et al., 2008), porém não foi encontrado nenhum registro em cetáceos ou outro mamífero marinho. A ocorrência da DGCS aparentemente esteve influenciada pela espécie, sendo menos frequente em toninhas (*Pontoporia blainvillei*) (0,8%; 1/124) do que nos demais cetáceos (22,4%; 15/67), com uma razão de chance de 0,03. Este resultado poderia ser explicado pela maior incidência de lesões que predispõem à DGCS (listadas anteriormente) nos demais cetáceos, principalmente botos-cinza, quando comparados às toninhas. Outro dado a considerar é que uma maior porcentagem de toninhas foi proveniente de captura acidental, tendo menos possibilidade de estes animais estarem sendo acometidos por alguma doença, em comparação com os animais encalhados, já que estes geralmente encalham por problemas de saúde (GERACI; LOUSBURY, 2005). Levantamento anatomo-patológico e monitoramento continuado de animais encalhados e enredados poderão esclarecer este ponto.

Processos neoplásicos foram observados em 0,5% (1/192) dos cetáceos avaliados. Neste caso, a neoplasia era compatível com adenoma tubular e foi diagnosticada em uma toninha (*Pontoporia blainvillei*) macho, juvenil (CT=118cm), morto por captura acidental no Rio Grande do Sul. Em cetáceos, esta neoplasia foi diagnosticada em um golfinho-nariz-degarrafa (*Tursiops truncatus*) capturada no Golfo de México (MIGAKI; WOODARD; GOLDSTON, 1978). Igualmente ao caso do golfinho-nariz-de-garrafa, o adenoma tubular diagnosticado na toninha consistiu em um achado incidental importante por se tratar do primeiro caso de neoplasia diagnosticado nesta espécie ameaçada no Brasil. Informações como esta contribuem com conhecimento sobre o estado de saúde destes animais, que corresponde a uma das metas do plano de ação para a conservação da toninha (DI BENEDITTO et al., 2010).

A autólise foi mais frequente em animais encalhados (34,6%; 18/152) do que capturados (14,7%; 15/102), com uma razão de chance de 3,1. Cremos que as razões desta diferença seriam as mesmas que aquelas apresentadas no caso da autólise no fígado.

6.4 Toxoplasmose no boto-cinza (*Sotalia guianensis*) (MM075)

Baseados nos resultados das análises histopatológicas, histoquímicas (PAS), imuno-histoquímico e ultraestrutural, toxoplasmose foi diagnosticado no caso MM075. Bandoli e Oliveira (1977) relataram a ocorrência desta doença em um exemplar da mesma espécie encontrado encalhado na Baía de Guanabara, Rio de Janeiro. Apesar de este caso ser considerado o primeiro relato mundial da doença em cetáceos, o diagnóstico foi baseado em achados histológicos e histoquímicos (PAS). No presente estudo, foram empregadas técnicas de imuno-histoquímicas e ultraestrutura para certificar de que se trata de *Toxoplasma gondii*.

Os achados histopatológicos foram compostos principalmente por necrose multifocal, acompanhada por infiltrado de células mononucleares, com taquizoítos e pseudocistos. Estes achados são compatíveis com aqueles descritos em outros golfinhos (INSKEEP et al., 1990; MIGAKI, SAWA, DUBEY, 1990; RESENDES et al., 2002). Outro achado histopatológico importante foi a depleção linfóide moderada, muito similar à descrita em golfinhos-nariz-de-garrafa (INSKEEP et al., 1990) e compatível com imunossupressão, a qual poderia ser causada por múltiplos fatores, como, por exemplo, poluição e infecções virais.

Neste sentido, no caso do boto-cinza encalhado na Baía de Guanabara com toxoplasmose, os autores discutem que a acentuada poluição desta região poderia ter influenciado a ocorrência da doença (BANDOLI; OLIVEIRA, 1977). No presente caso, o animal é proveniente de uma área aparentemente menos poluída (Baía de Paranaguá, Paraná) (LAILSON et al., 2010). De fato, apesar do caso MM075 apresentar níveis detectáveis de contaminantes organoclorados persistentes, estes estiveram dentro da média em relação a outros resultados listados na literatura internacional, e comparativamente foram muito mais baixos que os encontrados em cetáceos provenientes de áreas industrializadas (KAJIWARA et al., 2004). Por esta razão, a contribuição destes contaminantes como imunossupressor para a ocorrência de toxoplasmose no presente poderia ser parcialmente descartada.

Recentemente, Van Bressem et al. (2009) argumentaram que as condições ambientais na Baía de Paranaguá poderiam estar mudando rapidamente, pois foram observadas altas porcentagens de lesões na pele de golfinhos, as quais são comumente observadas com maior incidência em animais que habitam áreas poluídas. Levando isto em consideração,

sabe-se que a Baía de Paranaguá sofre impacto por diversos fatores, tais como a chegada efluente líquida desde áreas urbanas, a qual poderia ser uma importante fonte de contaminação (MARONE et al., 2005). Em lontras marinhas da Califórnia (*Enhydra lutris nereis*), um dos fatores de risco associados à ocorrência de toxoplasmose é o efluente líquido que provém do ambiente terrestre (MILLER et al., 2002). Esta situação, juntamente com a aproximação de gatos domésticos em unidades de conservação (PEREIRA, 2009), e felinos selvagens ao redor da Baía de Paranaguá (LEITE; GALVÃO, 2002), incrementam as fontes de oocistos de *T. gondii* na região. Sabe-se que os oocistos são muito resistentes no ambiente e podem ser facilmente carregado da superfície terrestre para o ambiente marinho (MILLER et al., 2002; CONRAD et al., 2005). Recentemente foi demonstrado, sob condições experimentais, que peixes filtradores poderiam reter oocistos de *T. gondii* (MASSIE et al., 2010). Adicionalmente, ostras (*Crassostrea rhizophorae*), um bivalvo comum do litoral sul do Brasil, podem filtrar e reter oocistos de *T. gondii* no ambiente marinho (ESMERINI et al., 2010). Nenhuma das espécies de peixes e bivalvos acima citados é consumida por botos-cinza (ROSAS et al., 2010), porém esta pode ser uma via de infecção que deveria ser avaliada no futuro.

Entre os agentes virais imunossupressores, Morbillivirus é particularmente importante em diferentes grupos de vertebrados e sua infecção concomitantemente com *T. gondii* já foi diagnosticada em golfinhos (SOTO et al., 2011). No caso MM075, os blocos de tecidos parafinados foram enviados ao Prof. Dr. Antonio Fernandez do Instituto de Sanidad Animal e Seguridad Alimentaria da Facultad de Veterinaria, Universidad de las Palmas de Gran Canarias, para análise de Morbillivirus mediante análise imuno-histoquímica. Os resultados foram negativos em todos os tecidos e, por isso, a possibilidade de infecção deste agente também poderia ser descartada como fator imunossupressor.

Apesar do *T. gondii* ser considerado como um patógeno oportunista em mamíferos aquáticos (MIGAKI, SAWA, DUBEY, 1990; DOMINGO et al., 1992), existem estudos que sugerem que este protozoário poderia se comportar como um agente primário em golfinhos-listrados (*Stenella coeruleoalba*) (DI GUARDO et al., 2010). Levando isto em consideração, e somado que os dois principais imunossupressores em cetáceos (organoclorados persistentes e Morbillivirus) foram descartados, acreditamos que *T. gondii* foi o agente primário de morbidade no caso MM075 e possivelmente contribuiu para a ocorrência da captura incidental por se tratar de um animal enfermo. Futuras

pesquisas são necessárias para conhecer o impacto real de *T. gondii* nas populações de botos-cinza e outros mamíferos marinhos do litoral brasileiro. Finalmente, por seu habitat, acreditamos que esta espécie poderia servir como sentinela da saúde de baías e estuários.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

- O banco de tecidos de mamíferos marinhos é uma fonte de informação valiosa sobre patologia comparada de cetáceos, demonstrada neste estudo pela alta frequência de lesões tanto hepáticas como renais. Neste sentido, a criação e manutenção de estruturas semelhantes deveriam ser estimuladas para permitir trabalhos colaborativos no futuro.
- As lesões hepáticas mais frequentes foram as inclusões hialinas citoplasmáticas e a hepatite portal linfoplasmocítica crônica. A primeira foi mais frequente em animais capturados do que encalhados, e foi identificada mediante técnicas microscópicas, histoquímicas e ultraestruturais. A segunda pode decorrer de várias causas e foi identificada mediante técnicas microscópicas e histoquímicas. Trabalhos complementares são necessários para a adequada compreensão do significado das inclusões hialinas citoplasmáticas nos golfinhos da costa brasileira.
- As lesões renais mais frequentes foram as glomerulonefrites membranosas, membrano- proliferativas e nefrites intersticiais, identificadas mediante técnicas microscópicas, histoquímicas e ultraestruturais.
- Relata-se pela primeira vez uma neoplasia em uma toninha (*Pontoporia blainvillei*), diagnosticada mediante técnicas, microscópicas e imuno-histoquímicas.
- Foi identificado *Toxoplasma gondii* em um boto-cinza (*Sotalia guianensis*) do Paraná, mediante técnicas microscópicas, histoquímicas, imuno-histoquímicas e ultraestruturais. A importância da ocorrência desta protozoonose em um mamífero marinho brasileiro precisa ser adequadamente avaliada, em especial considerando os problemas relacionados com a poluição das águas costeiras.

REFERÊNCIAS

- AGUILAR, A.; BORRELLA, A.; REIJNDEERSB, P. J. H. Geographical and temporal variation in levels of organochlorine contaminants in marine mammals. **Marine Environmental Research**, v. 53, p. 425-452, 2002.
- AGUSTÍ, C.; AZNAR F.J.; RAGA, J.A. New data about Tetracystidae larvae (Cestoda) in Mediterranean dolphins. **Acta Parasitologica**, v. 45, p. 168, 2000.
- AGUSTÍ, C.; AZNAR, F.J.; RAGA, J.A. Tetracystidae plerocercoids from Western Mediterranean cetaceans and other marine mammals around the world: A comprehensive morphological analysis. **Journal of Parasitology**, v. 91, n. 1, p. 83–92, 2005.
- ALVES-JUNIOR, T. T.; ÁVILA, F. J. C.; DE OLIVEIRA, J. A.; FURTADO-NETO, M. A. A.; MONTEIRO-NETO, C. Registros de cetáceos para o estado do Ceará, Brasil. **Arquivo Ciências do Mar**, v. 30, n. 1-2, p. 79-92, 1996.
- AUBIN, D. J. Endocrinology. In: DIERAUF, L. A.; GULLAND, F. M. D. **CRC Handbook of marine mammal medicine**. Boca Ratón, Florida: CRC Press, 2001. p. 165-192.
- AZNAR, F.J.; AGUSTÍ, C.; LITTLEWOOD, D.T.J.; RAGA, J.A.; OLSON, P.D. Insight into the role of cetaceans in the life cycle of the tetracystidae (Platyhelminthes: Cestoda). **International Journal for Parasitology**, v. 37, p. 243–255, 2007.
- BANDOLI, J. G.; OLIVEIRA, C. A. B. Toxoplasmoses em *Sotalia guianensis* (Van Beneden, 1863), Cetacea-Delphinidae. **Folha Médica**, v. 75, p. 459-468, 1977.
- BARNETT, J.; ROBINSON, I. Marine mammals. In: MALLINEAUX, E.; BEST, R.; COOPER, J. E. **Manual of wildlife casualties**. England: British Small Animal Veterinary Association, 2003. p. 182-201.
- BARRETO, A. S.; ROCHA CAMPOS, C. C.; ROSAS, F. W.; DA SILVA, J. M.; ROSA, L. D.; DE CARVALHO FLORES, P. A.; DA SILVA, V. M. F. **Plano de ação nacional**

para a conservação dos mamíferos aquáticos: Pequenos cetáceos. Brasília: Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, ICMBio, 2010. p. 132.

BERGMAN, A.; BERGSTRAND, A.; BIGNERT, A. Renal Lesions in Baltic Grey Seals (*Halichoerus grypus*) and Ringed Seals (*Phoca hispida botnica*). **Ambio**, v. 30, n. 7, p. 397-409, 2001.

BERTA, A.; SUMICH, J. L. **Marine mammals: Evolutionary biology.** Orlando, Florida: Academic Press, 1998. p. 494.

BOSSART, G. Marine mammals as sentinel species for oceans and human health. **Oceanography**, v. 19, n. 2, p. 134-137, 2006.

BOSSART, G. Marine mammals as sentinel species for oceans and human health. **Veterinary Pathology**, v. 48, n. 3, p. 676-690, 2011.

BOSSART, G. D.; BRAWNER, T. A.; CABAL, C.; KUHNS, M.; EIMSTAD, E. A.; CARON, J.; TRIMM, M.; BRADLEY, P. Hepatitis B-like infection in a Pacific white-sided dolphin (*Lagenorhynchus obliquegens*). **Journal of the American Medical Association**, v. 196, p. 127-130, 1990.

BOWEN, W. D. Role of marine mammals in aquatic ecosystems. **Marine Ecology Progress Series**, v. 158, p. 267-274, 1997.

BOYD, K. L.; LATIMER, K. S. Hepatic hyaline globules in an Eclectus parrot (*Eclectus roratus*). **Journal of Veterinary Diagnostic and Investigation**, v. 13, p. 270-272, 2001.

BREUER, E. M.; KREBS, B. H.; HOFMEISTER, R. J. Metastasizing adenocarcinoma of the stomach in a harbor porpoise, *Phocoena phocoena*. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 7, p. 159-153, 1989.

BRITT, J. O.; HOWARD, E. B. Anatomic variants of marine mammals. In: HOWARD, E. B. **CRC Pathobiology of marine mammal diseases.** Boca Ratón, Florida: CRC Press, 1983. p. 7-46.

BRODIE, P. F. Cetaceans energetic, an overview of intraspecific size variation. **Ecology**, v. 56, p. 152-161, 1975.

BROWN, C. C.; BAKER, D. C.; BARKER, I. K. Alimentary system. In: JUBB, K. V. F.; KENNEDY, P. C.; PALMER, N. C. **Pathology of domestic animals**. Philadelphia: ELSEVIER, 2007. p. 1-296.

BROWN, D. H.; MC INTYRE, R. W.; DELLI QUADRI, C. A.; SCHROEDER, R. J. Health problems of captive dolphins and seals. **Journal of the American Medical Association**, v. 137, p. 534-538, 1960.

BUTLER, P. J. Respiratory and cardiovascular control during diving in birds and mammals. **Journal of Experimental Biology**, v. 100, p. 195-221, 1982.

BUTTLER, P. J.; JONES, D. R. Physiology of diving birds and mammals. **Physiological Reviews**, v. 77, p. 837-899, 1997.

CARDELLICHIO, N.; DECATALDO, A.; DI LEO, A.; MISINO, A. Accumulation and tissue distribution of mercury and selenium in striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) from the Mediterranean sea (Southern Italy). **Environmental Pollution**, v. 116, p. 265-271, 2002.

CAVE, A. J. E.; AUMONIER, F. J. The visceral histology of the primitive cetacean *Caperea* (*Neobalaena*). **Journal of the Royal Microscopical Society**, v. 80, p. 25-33, 1961.

CONRAD, P. A.; MILLER, M. A.; KREUDER, C.; JAMES, E. R.; MAZET, J.; DABRITZ, H.; JESSUP, D. A.; GULLAND, F.; GRIGG, M. E. Transmission of *Toxoplasma*: Clues from the study of sea otters as sentinels of *Toxoplasma gondii* flow into the marine environment. **International Journal of Parasitology**, v. 35, p. 1155-1168, 2005.

COTRAN, R. S.; KUMAR, V.; COLLINS, T. Cellular pathology II: Adaptations, intracellular accumulations, and cell aging. In: COTRAN, R. S.; KUMAR, V.;

COLLINS, T. **Pathologic basis of disease**. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1999a. p. 31-49.

COTRAN, R. S.; KUMAR, V.; COLLINS, T. The kidney. In: COTRAN, R. S.; KUMAR, V.; COLLINS, T. **Pathologic basis of disease**. Philadelphia: W. B. Saunders company, 1999b. p. 930-996.

COWAN, D. F. Pathology of Pilot whale (*Globicephala melaena*), a comparative study. **Archives of Pathology**, v. 82, p.178-189, 1966.

COWAN D. F.; CURRY, B. E. Histopathology of the alarm reaction in small odontocetes. **Journal of Comparative Pathology**, v. 139, p. 24-33, 2008.

COWAN, D. F.; WALKER, W. A.; BROWNELL, R. L. Pathology of small cetaceans stranded along the southern California beaches. In: BRYDEN, M. M.; HARRISON, R. **Research on Dolphins**. Oxford, U. K: Oxford University Press, 1986. p. 323-367.

CRAWFORD, J. M. The liver and the biliary tract. In: COTRAN, R. S.; KUMAR, V.; COLLINS, T. **Pathologic basis of disease**. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1999b. p. 845-901.

CULLEN, J. M. Liver, biliary system and exocrine pancreas. In: MC GAVIN, M. D.; ZACHARY, J. F. **Pathologic basis of veterinary diseases**. St. Louis, Missouri: Mosby Elsevier, 2007. p. 393-461.

DAILEY, M. D. Parasitic diseases. In: DIERAUF, L. A.; GULLAND, F. M. D. **CRC Handbook of marine mammal medicine**. Boca Ratón, Florida: CRC Press, 2001. p.357-379.

DE GUISE, S.; LAGACÉ, A.; BÉLAND, P. Tumors in St. Lawrence beluga whales (*Delphinapterus leucas*). **Veterinary Pathology**, v. 31, p. 444-449, 1994.

DI BENEDITTO, A. P. M.; CAMPOS, R. C. C.; DANILEWICZ, D. S.; SECCHI, E.; MORENO, I. G.; HASSEL, L. B.; TAVARES, M.; OTT, P. H.; SICILIANO, S.; PACHECO DE SOUZA, S.; ALVES, C. V. Plano de ação nacional para conservação do

pequeno cetáceos Toninha: *Pontoporia blannvillei*. Brasília: Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, ICMBio, 2010. p. 76.

DIERAUF, L. A. From fish to flipper: The evolution of marine mammals. In: DIERAUF, L. A. **CRC Handbook of marine mammal medicine: Health, disease, and rehabilitation**. Boca Ratón, Florida: CRC Press, 1990. p. 381-397.

DI GUARDO, G.; MARRUCHELLA, G.; AFFRONTI, M.; ZAPULLI, V.; BENAZZI, C. Heterotopic kidney tissue in the lung of a free-living common dolphin (*Delphinus delphis*). **Veterinary Pathology**, v. 42, p. 213-214, 2005.

DI GUARDO, G.; PROIETTO, U.; DI FRANCESCO, C. E.; MARSILIO, F.; ZACCARONI, A.; SCARAVELLI, D.; MIGNONE W.; GARIBALDI, F.; KENNEDY, S.; FORSTER, F.; LULINI, B.; BOZZETTA, E.; CASALONE, C. Cerebral toxoplasmosis in Striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) stranded along the Ligurian sea coast of Italy. **Veterinary Pathology**, v. 47, n. 2, p. 245-253, 2010.

DOMINGO, M.; VISA, J.; PUMAROLA, M.; MARCO, A. J.; FERRER, L.; RABANAL, R.; KENNEDY, S. Pathologic and immunocytochemical studies of morbillivirus infection in Striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*). **Veterinary Pathology**, v. 29, p. 1-10, 1992.

DUARTE, M. I. S.; MARIANO, O. N.; TAKAKURA, C. F. H.; EVERSON, D. A.; CORBETT C.E. A fast method for processing biologic material for electron microscopic diagnosis in infectious disease. **Ultrastructural Pathology**, v. 16, n. 4, p. 475-482, 1992.

DUBEY, J. P.; BEATTIE, C. P. **Toxoplasmosis of animals and man**. Boca Raton, Florida: CRC Press Inc, 1988. p. 220.

DUBEY, J. P.; ZARNKE, R.; THOMAS, N. J.; WONG, S. K.; VAN BONN, W.; BRIGGS, M.; DAVIS, J. W.; EWING, R.; MENSE, M.; KWOK, O. C. H.; ROMAND, S.; THULLIEZ, P. *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, *Sarcocystis neurona*, and *Sarcocystis canis*-like infections in marine mammals. **Veterinary Parasitology**, v. 116, p. 275-296, 2003.

DUNN, L. J.; BUCK, J. D.; ROBECK, T. R. Bacterial diseases of cetaceans and pinnipeds. In: DIERAUF, L. A.; GULLAND, F. M. D. **CRC Handbook of marine mammal medicine**. Boca Ratón, Florida: CRC Press, 2001. p. 309-335.

ESMERINI, P. O.; GENNARI, S. M.; PENA, H. F. J. Analysis of marine bivalve shellfish from the fish market in Santos city, São Paulo state, Brazil, for *Toxoplasma gondii*. **Veterinary Parasitology**, v. 170, p. 8-13, 2010.

FERNÁNDEZ, M.; AGUSTÍ, C.; AZNAR, F.J.; RAGA, J.A. Gastrointestinal helminths of Risso's dolphin (*Grampus griseus*) from the Western Mediterranean. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 55, p. 73–76. 2003.

FORDYCE, R. E.; BARNES, L. G. The evolutionary history of whales and dolphins. **Annual Review of Earth and Planetary Science**, v. 22, p. 419-455, 1994.

GERACI, J. R.; LOUNSBURY, V. J. Perspectives in strandings and response programs. In: GERACI, J. R.; LOUNSBURY, V. J. **Marine mammals ashore: A field guide for strandings**. Baltimore: Texas A&M Sea Grant Publication, 2005. p. 1-309.

GIBSON, D.I.; HARRIS, E.A.; BRAY, R.A.; JEPSON, P.D.; KUIKEN, T.; BAKER, J.R.; SIMPSON, V.R. A survey of the helminth parasites of cetaceans stranded on the coast of England and Wales during the period 1990-1994. **Journal of Zoology**, v. 244, p. 563-574, 1998.

GINGERICH, P. D.; HAQ, M.; ZALMOUT, I. S.; KHAN, I. H.; MALKANI, M. S. Origin of whales from early artiodactyls: Hands and feet of Eocene Protocetidae from Pakistan. **Science**, v. 293, p. 2239-2242, 2001.

GLIATTO, J. M.; BRONSON, R. T. Fatal fasting syndrome of obese macaques. In: JONES, T. C.; MOHR, U.; HUNT, R. D. *Nonhuman primates I*. Berlin: Springer-Verlang, 1993. p. 198-202.

GOMERCIC, H.; HUBER, D.; GOMERCIC, V.; VUKOVIC, S.; SKRTIC, D.; GOMERCIC, T.; DOBRANIC, V.; LUCIC, H.; DURAS, M.; CURKOVIC, S.; GOMERCIC, A.; KARDOS, L. Fatty liver and subcutaneous edema in a free-living

bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*, Montagu 1821) from the Adriatic sea; light and electron microscopical study. **VETERINARSKI ARHIV**, v. 70, n. 5, p. 259-277, 2000.

GULLAND, F. M. D.; HALL, A. J. Is marine mammal health deteriorating?: Trends in the global reporting of marine mammal disease. **EcoHealth**, v. 4, p. 135-150, 2007.

GULLAND, F. M. D.; LOWENSTINE, L. J.; SPRAKER, T. R. Noninfectious diseases. In: DIERAUF, L. A.; GULLAND, F. M. D. **CRC Handbook of marine mammal medicine**. Boca Ratón, Florida: CRC Press, 2001. p. 521-547.

HARTMAN, D. S. An overview of renal cystic disease. In: HARTMAN, D. S. **Renal cystic disease**. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1989. p. 1-5.

HETZEL, B; LODI, L. Baleias, botos e golfinhos. **Guia de identificação para o Brasil**. Rio de Janeiro: Editora Nova Fronteira S. A., 1993. p. 279.

HOLMES, D. D.; SMITH, P. D. Inclusion bodies in hepatic cytoplasm of dogs and rats after administering endotoxin. **American Journal of Veterinary Research**, v. 30, n. 5, p. 811-815, 1969.

HOWARD, E. B. Introduction. In: HOWARD, E. B. **CRC Pathobiology of marine mammal diseases**. Boca Ratón, Florida: CRC Press, 1983a. p. 1-6.

HOWARD, E. B. Miscellaneous diseases. In: HOWARD, E. B. **CRC Pathobiology of marine mammal diseases**. Boca Ratón, Florida: CRC Press, 1983b. p. 163-233.

HOWARD, E. B. Miscellaneous diseases. In: HOWARD, E. B. **CRC Pathobiology of marine mammal diseases**. Boca Ratón, Florida: CRC Press, 1983c. p. 164-225.

HOWARD, E. B.; BRITT, J. O.; MATSUMOTO, G. Parasitic diseases. In: HOWARD, E. B. **CRC Pathobiology of marine mammal diseases**. Boca Ratón, Florida: CRC Press, 1983. p. 120-231.

HOWARD, E. B.; BRITT, J. O.; MATSUMOTO, G. K.; ITAHARA, R.; NAGANO, C. N. Bacterial diseases. In: HOWARD, E. B. **CRC Pathobiology of marine mammal diseases**. Boca Ratón, Florida: CRC Press, 1983. p. 69-118.

ISKEEP II, W.; GARDINER, C. H.; HARRIS, R. K.; DUBEY, J. P.; GODSTON, R. T. Toxoplasmosis in Atlantic bottle-nosed dolphins (*Tursiops truncatus*). **Journal of Wildlife Diseases**, v. 26, p. 377-382, 1990.

JABER, J. R.; PÉREZ, J.; ARBELO, M.; ANDRADA, M.; HIDALGO, M.; GÓMEZ-VILLAMANDOS, J. C.; VAN DEN INGH, T.; FÉRNANDEZ, A. Hepatic lesions in cetaceans stranded in the Canaria Islands. **Veterinary Pathology**, v. 41, p. 147-153, 2004.

JABER, J. R.; PÉREZ, J.; CARBALLO, M.; ARBELO, M.; ESPINOSA DE LOS MONTEROS, A.; HERRÁEZ, P.; MUÑOZ, J.; ANDRADA, M.; RODRÍGUEZ, F.; FERNÁNDEZ, A. Hepatosplenic large cell immunoblastic lymphoma in a bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) with high levels of polychlorinated biphenyl congeners. **Journal of Comparative Pathology**, v. 132, p. 242-247, 2005.

JACKSON, C. N.; ROGERS, A. B.; MAURER, K. J.; LOFGREN, J. L. S.; FOX, J. G.; MARINI, R. P. Cystic renal disease in the domestic ferret. **Comparative Medicine**, v. 58, n. 2, p. 161-167, 2008.

JARDINE, J. E.; DUBEY, J. P. Congenital toxoplasmosis in a Indo-Pacific bottlenose dolphin (*Tursiops aduncus*). **Journal of Parasitology**, v. 88, n. 1, 197-199, 2002.

JEFFERSON, T. A.; LEATHERWOOD, S.; WEBBER, M. A. (Ed.). **FAO species guide. Marine mammals of the world**. Roma: FAO, 1993. 303p.

JEFFERSON, T. A.; MYRICK, A.C; CHIVERS, S. J. **Small cetaceans dissection and sampling: A field guide**. Washington: National Oceanic and Atmospheric Administration, National Marine Fisheries Service, 1994. 54p.

JEPSON, P. D.; BENNETT, P. M.; DEAVILLE, R.; ALLCHIN, C. R.; BAKER, J. R.; LAW, R. J. Relationships between polychlorinated biphenyls and health status in Harbor porpoises (*Phocoena phocoena*) stranded in the United Kingdom. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 24, n. 1, p. 238-248, 2005.

KAJIWARA, N.; MATSUOKA, S.; IWATA, H.; TANABE, S.; ROSAS, F. C. W.; FILLMAN, G.; READMAN, J. W. Contamination by persistent organochlorines in cetaceans incidentally caught along Brazilian coastal waters. **Archives of Environmental Contaminants and Toxicology**, v. 46, p. 124-134, 2004.

KENEDDY, S.; DI GUARDO, G.; MCCONNELL, S.; MOFFETT, D.; AGRIMI, U. Histological, histochemical and ultrastructural features of hyaline inclusions in hepatocytes of striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*). **Journal of Comparative Pathology**, v. 109, p. 179-185.

KENNEDY-SOSKOPF, S. Viral diseases. In: DIERAUF, L. A.; GULLAND, F. M. D. **CRC Handbook of marine mammal medicine**. Boca Ratón, Florida: CRC Press, 2001. p. 285-307.

KLATT, E. C.; KOSS, M. N.; YOUNG, T. S.; MACAULEY, L.; MARTIN, S. E. Hepatic hyaline globules associated with passive congestion. **Archives of Pathological Laboratory Medicine**, v. 112, p. 510-513, 1988.

KOLLER, L. D. A note on eosinophilic cytoplasmic bodies in the liver of a rabbit. **Veterinary Pathology**, v. 10, p. 295-298, 1973.

LABER-LAIRD, K. E.; JOKINEN, M. P.; LEHNER, N. D. Fatal fatty liver-kidney syndrome in obese monkeys. **Laboratory Animal Science**, v. 37, n. 2, p. 205-209, 1987.

LAILSON-BRITO, J.; DORNELES, P. R.; AZEVEDO-SILVA, C. E.; AZEVEDO, A. F.; VIDAL, L. G.; ZANELATTO, R. C.; LOZINSKI, C. P. C.; AZEREDO, A.; FRAGOSO, A. B. L.; CUNHA, H. A.; TORRES, J. P. M.; MALM, O. High organochlorine accumulation in blubber of Guiana dolphin, *Sotalia guianensis*, from Brazilian coast and its use to establish geographical differences among populations. **Environmental Pollution**, v. 158, p. 1800-1808, 2010.

LEITE, M. R. P., GALVÃO, F. El jaguar, el puma y el hombre en tres áreas protegidas del bosque Atlántico costero de Paraná, Brasil. In: MEDELLÍN, R. A.; EQUIHUA, C.; CHETKIEWICZ, C. L. B.; CRAWSHAW JR, P. G.; RABINOWITZ, A.; REDFORD, K. H.; ROBINSON, J. G.; SANDERSON, E.; TABER, A. **El jaguar en el nuevo milenio:**

Una evaluación de su condición actual, historia natural y prioridades para su conservación. Mexico D.F.: Prensa de la Universidad Nacional Autónoma de México / Wildlife Conservation, 2002. p. 237-250.

LIPSCOMB, T. H.; HARRIS, R. K.; REBAR, A. H.; BALLACHEY, B. E.; HAEBLER, R. Pathology of sea otters. In: LOUGHLIN, T. R. **Marine mammals and the Exxon Valdez.** San Diego: Academic Press, 1994. p. 265-281.

LOWENSTINE, L. J.; OSBORN, K. G. Practical marine mammal microanatomy for pathologists. In: DIERAUF, L. A. **CRC Handbook of marine mammal medicine: Health, disease, and rehabilitation.** Boca Ratón, Florida: CRC Press, 1990. p. 287-290.

LUNA, L. G. **Histopathologic methods and color atlas of special stains and tissue artifacts.** Downers Grove: America Histolabs, 1992.

MACHADO, A. B. M.; DRUMMOND, G. M.; PAGLIA, A. P. **Livro vermelho da fauna brasileira ameaçada de extinção.** Belo Horizonte, Minas Gerais: Fundação Biodiversitas, 2008. p. 906.

MALUFF, N. S. R.; GASSMAN, J. J. Kidneys of the killer whale and significance of reniculus. **Anatomical Record**, v. 250, p. 34-44, 1998.

MARIGO, J. **Patologia comparada das principais enfermidades parasitárias de mamíferos marinhos encontrados na costa sudeste e sul do Brasil.** 2003. 131 f. Dissertação (Mestrado em Patologia Experimental e Comparada) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

MARONE, E.; MACHADO, E. C.; LOPES, R. M.; DA SILVA, E. T. Land-ocean fluxes in the Paranaguá bay estuarine system, Southern Brazil. **Brazilian Journal of Oceanography**, v. 53, p. 169-181, 2005.

MARTINEAU, D.; DE GUISE, S.; FOURNIER, M.; SHUGART, L.; GIRARD, C.; LAGACE, A.; BELAND, P. Pathology and toxicology of Beluga whales from the St. Lawrence Estuary, Quebec, Canada: Past, present and future. **Science of the Total Environment**, v. 154, n. 2-3, p. 201-215, 1994.

MARTINEAU, D.; LAGACÉ, A.; BÉLAND, P.; HIGGINS, R.; ARMSTRONG, D.; SHUGART, L. R. Pathology of stranded Beluga whales (*Delphinapterus leucas*) from St. Lawrence Estuary, Québec, Canada. **Journal of Comparative Pathology**, v. 98, n. 3, 287-311, 1988.

MARTINEAU, D.; LEMBERGER, K.; DALLAIRE, A.; LABELLE, P.; LIPSCOMB, T. P.; MICHEL, P.; MIKAELIAN, I. Cancer in wildlife a case study: Beluga from the St. Lawrence estuary, Quebec, Canada. **Environmental Health Perspective**, v. 110, n. 3, p. 285-292, 2002.

MASINI, M. A.; VEIRANA, N.; WURTS, M.; UVA, B. The renin-angiotensin system in a striped dolphin *Stenella coeruleoalba* kidney. **European Research on Cetaceans**, v. 8, p. 269-271, 1994.

MASSIE, G. N.; WARE, M. W.; VILLEGAS, E. N.; BLACK, M. W. Uptake and transmission of *Toxoplasma gondii* oocysts by migratory, filter-feeding fish. **Veterinary Parasitology**, v. 169, p. 296-303, 2010.

MAWDESLEY-THOMAS, L. E. Some aspects of neoplasia in marine mammals. In: RUSELL; YONGE. **Advances in marine biology**. New York: Academic Press, 1974. p. 151-231.

MAXIE, M. G.; NEWMAN, S. J. Urinary system. In: JUBB, K. V. F; KENNEDY, P. C.; PALMER, N. C. **Pathology of domestic animals**. Philadelphia: ELSEVIER, 2007. p. 425-522.

MC ALPINE, D. F. Size and growth of heart, liver, and kidneys in North Atlantic fin (*Balaenoptera physalus*), sei (*B. borealis*), and sperm (*Physeter macrocephalus*) whales. **Canadian Journal of Zoology**, v. 63, p. 1402-1409, 1985.

MEIRELLES, A. C. O.; MONTEIRO-NETO, C.; MARTINS, A. M. A.; COSTA, A. F.; BARROS, H. M. D. R.; ALVES, M. D. O. Cetacean strandings on the coast of Ceará, north-eastern Brazil (1992-2005). **Journal of Marine Biological Association of the United Kingdom**, p. 1-8, 2009.

MIGAKI, G.; ALBERT, T. F. Lipoma of the liver in a bowhead whale (*Balaena mysticetus*). **Veterinary Pathology**, v. 19, p. 329-331, 1982.

MIGAKI, G.; LAGIOS, M. D.; HERALD, E. S.; DEMPSTER, P. Hepatic trematodiasis in a Ganges river dolphin. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 175, n. 9, p. 926-928.

MIGAKI, G.; SAWA, T. R.; DUBEY, J. P. Fatal disseminated toxoplasmosis in a Spinner dolphin (*Stenella longirostris*). **Veterinary Pathology**, v. 27, p. 463-464, 1990.

MIGAKI, G.; WOODARD, J. C.; GOLDSTON, R. T. Renal adenoma in a Atlantic bottle-nosed dolphin (*Tursiops truncatus*). **American Journal of Veterinary Research**, v. 39, n. 12, p. 1920-1921. 1978.

MIHINDUKULASURIYA, K. A.; WU, G.; ST. LEGER, J.; NORDHAUSEN R. W.; WANG, D. Identification of a novel coronavirus from a Beluga whale by using a panviral microarray. **Journal of Virology**, v. 82, n. 10, p. 5084-5088, 2008.

MIKAELIAN, I.; BOISCLAIR, J.; DUBEY, J. P.; KENNEDY, S.; MARTINEAU, D. Toxoplasmosis in Beluga whales (*Delphinapterus leucas*) from the St Lawrence Estuary: Two case reports and a serological survey. **Journal of Comparative Pathology**, v. 122, p. 73-76, 2000.

MILLER, M. A.; GARDNER, I. A.; KREUDER, C.; PARADIES, D.M.; WORCESTER, K. R.; JESSUP, D. A.; DODD, E.; HARRIS, M. D.; AMES, J. A.; PACKHAM, A. E.; CONRAD, P. A. Coastal freshwater runoff is a risk factor for *Toxoplasma gondii* infection of southern sea otters (*Enhydra lutris nereis*). **International Journal of Parasitology**, v. 32, p. 997-1006, 2002.

MOTTA, A. R. **Avaliação macroscópica e histopatológica de cetáceos encalhados no litoral do Ceará**. 2006. 131 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Veterinária, Universidade Estadual do Ceará, Ceará, 2006.

NEWMAN, S. J.; CONFER, A. W.; PANCIERA, R. J. Urinary system. In: MC GAVIN, M. D.; ZACHARY, J. F. **Pathologic basis of veterinary diseases**. St. Louis, Missouri: Mosby Elsevier, 2007. p. 613-691.

NEWMAN, S. J.; SMITH, S. A. Marine mammal neoplasia: A review. **Veterinary Pathology**, v. 43, p. 865-880, 2006.

NINOMIYA, R.; KOIZUMI, N.; MURATA, K. Metal concentrations in the liver and kidney of aquatic mammals and penguins. **Biological Trace Element Research**, v. 97, p. 135-147. 2004.

NORMAN, R.J. Tetraphyllidean cysticerci in the peritoneal cavity of the Common Dolphin. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 33, n. 4, p. 891-895, 1997.

O'HARA, T. M.; O'SHEA, T. Toxicology. In: DIERAUF, L. A.; GULLAND, F. M. D. **CRC Handbook of marine mammal medicine**. Boca Ratón, Florida: CRC Press, 2001. p. 471-520.

ORTIZ, R. M. Osmoregulation in marine mammals. **Journal of Experimental Biology**, v. 204, p. 1831-1844, 2001.

PEREIRA, D. L. P. **Avaliação da presença de gatos (*Felis catus* L.) em áreas de entorno de unidade de conservação, na Ilha do Mel, Paranaguá, litoral do estado do Paraná**. 2009. 52 f. Trabalho de conclusão (Especialista em Manejo de Recursos Naturais) - Gestão de Recursos Naturais, Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Paraná, 2009.

PFEIFFER, C. A. Renal cellular and tissue specializations in the bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) and Beluga whale (*Delphinapterus leucas*). **Aquatic Mammals**, v. 23, n. 2, 75-84, 1997.

PINTO DE LIMA, R.; BICUDO CÉSAR, F. A importância da Criação das Redes de Encalhes de Mamíferos Aquáticos no Brasil. In: REMANE. **Rede de Encalhe de Mamíferos Marinhos do Nordeste**. Recife: IBAMA, 2005. p. 11-16.

- POPPER, H.; PARONETTO, F.; BARKA, T. PAS-positive structures of nonglycogenic character in normal and abnormal liver. **Archives of Pathology**, v. 70, p. 300-313, 1960.
- RAWSON, A. J.; PATTON, G. W.; HOFMANN, S.; PIETRA, G. C.; JOHNS, L. Liver abnormalities associated with chronic mercury accumulation in stranded Atlantic bottlenose dolphins. **Ecotoxicology Environmental Safety**, v. 25, p. 41-47, 1993.
- REIDARSON, T. H.; MC BAIN, J. F.; DALTON, L. M.; RINALDI, M. G. Mycotic diseases. In: DIERAUF, L. A.; GULLAND, F. M. D. **CRC Handbook of marine mammal medicine**. Boca Ratón, Florida: CRC Press, 2001. p. 337-355.
- RESENDES, A. R.; ALMERÍA, S.; DUBEY, J. P.; OBÓN, E.; JUAN-SALLÉS, C.; DEGOLLADA, E.; ALEGRE, F.; CABEZÓN, O.; PONT, S.; DOMINGO, M. Disseminated Toxoplasmosis in a Mediterranean pregnant Risso's dolphin (*Grampus griseus*) with transplacental fetal infection. **Journal of Parasitology**, v. 88, p. 1029-1032, 2002.
- RICE, D. W. **Marine mammals of the world: Systematic and distribution**. USA: Special publication number 4 The Society for Marine Mammalogy, 1998. 231p.
- ROMMEL, S. A.; LOWENSTINE, L. J. Gross and microscopic anatomy. In: DIERAUF, L. A.; GULLAND, F. M. D. **CRC Handbook of marine mammal medicine**. Boca Ratón, Florida: CRC Press, 2001. p. 129-164.
- ROSAS, F. C. W.; BARRETO, A. S.; MONTEIRO-FILHO, E. L. A. Age and growth of the Estuarine dolphin (*Sotalia guinensis*) (Cetacea, Delphinidae) on the Paraná coast, southern Brazil. **Fishery Bulletin**, v. 101, p. 377-383, 2003.
- ROSAS, F. W. C.; MARIGO, J.; LAETA, M.; ROSSI-SANTOS, M. R. Natural history of dolphins of the genus *Sotalia*. **Latin American Journal of Aquatic Mammals**, v. 8, n. 1-2, 57-68, 2010.
- ROSAS, F. C. W.; MONTEIRO-FILHO, E. L. A. Reproductive parameters of *Pontoporia blainvillei* (Cetacea, Pontoporiidae), on the coast of São Paulo and Paraná states, Brazil. **Mammalia**, v. 66, n. 2, p. 231-245, 2001.

ROWLES, T. K.; VAN DOLAH, F. M.; HOHN, A. A. Gross necropsy and specimen collection protocols. In: DIERAUF, L. A.; GULLAND, F. M. D. **CRC Handbook of marine mammal medicine**. Boca Ratón, Florida: CRC Press, 2001. p. 449-469.

RUOPPOLO, V. **Patologia Comparada de cetáceos e pinípedes**. 2003. 131 f. Dissertação (Mestrado em Patologia Experimental e Comparada) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

SÁ, L. R. M. **Determinação e caracterização de enfermidades que acometem calitriquídeos e cebídeos (Estudo multidisciplinar)**. 1999. 174f. Dissertação (Mestrado em Patologia Experimental e Comparada) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1999.

SÁNCHEZ, J.; KUBA, L.; BERÓN-VERA, B.; DANS, S. L.; CRESPO, E. A.; VAN BRESSEM, M. F.; COSCARELLA, M. A.; GARCÍA, N. A.; ALONSO, M. K.; PEDRAZA, S. N.; MARIOTTI, P. A. Uterine adenocarcinoma with generalized metastasis in a Bottlenose dolphin *Tursiops truncatus* from northern Patagonia, Argentina. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 48, p. 155-159, 2002.

SANTOS, P. S.; ALBUQUERQUE, G. R.; DA SILVA, V. M. F.; MARTIN, A. R.; MARVULO, M. F. V.; SOUZA, S. L. P.; RAGOZO, A. M. A.; NASCIMENTO, C. C.; GENNARI S. M.; DUBEY, J. P.; SILVA, J. C. R. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in free-living Amazon River dolphins (*Inia geoffrensis*) from central Amazon, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 183, p. 171-173, 2011.

SHIBAYA, Y.; YAHARA, M.; NAKATA, K. The fate of vacuolation in liver cells with special reference to hyaline globules. **Journal of Pathology**, v. 162, p. 335-340, 1990.

SICILIANO, S.; ALVES, V. C.; HACON, S. Aves e mamíferos marinhos como sentinelas ecológicas da saúde ambiental: Uma revisão do conhecimento brasileiro. **Cadernos de Saúde Coletiva**, v. 13, n. 4, p. 927-946, 2005.

SMITH, A. W.; SKILLING, D. E. Viruses and virus diseases of marine mammals. **Journal of the American Medical Association**, v. 175, n. 9, p. 918-920, 1979.

SONNE, C.; DIETZ, R.; LEIFSSON, P.S.; ASMUND, G.; BORN, E.W.;
KIRKEGAARD, M. Are liver and renal lesions in East Greenland polar bears (*Ursus maritimus*) associated with high mercury levels?. **Environmental Health**, v. 6, n. 11, p. 1-9, 2007.

SONNE, C.; DIETZ, R.; LEIFSSON, P.S.; BORN, E.W.; LETCHER, R.J.;
KIRKEGAARD, M.; MUIR, D.C.G.; RIGET, F.F.; HYLDSTRUP, L. Do organohalogen contaminants contribute to histopathology in liver from east Greenland polar bears (*Ursus maritimus*)?. **Environmental Health Perspectives**, v. 113, n. 11, p. 1569-1574, 2005.

SONNE, C.; DIETZ, R.; LEIFSSON, P.S.; BORN, E.W.; KIRKEGAARD, M.;
LETCHER, R.J.; MUIR, D.C.G.; RIGET, F.F.; HYLDSTRUP, L. Are organohalogen contaminants a cofactor in the development of renal lesions in east Greenland polar bears (*Ursus maritimus*)?. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 25, n. 6, p. 1551–1557, 2006.

SOTO, S.; GONZÁLEZ, R.; ALEGRE, F.; GONZÁLEZ, B.; MEDINA, P.; RAGA, J. A.; MARCO, A.; DOMINGO, M. Epizootic of dolphin morbillivirus on the Catalanian Mediterranean coast in 2007. **Veterinary Record**, 169, 102, 2011.

SOUZA, P. C. **Imunoexpressões pulmonar e esplênica das citocinas IL-12, TGF- β e TFN- α e das proteínas lisozima e S-100 em *Pontoporia blainvillei* (Gervais e d'Orbigny, 1844) (Mammalia, Cetacea)**. 2010. 109 f. Dissertação (Mestrado em Patologia Experimental e Comparada) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

STALKER, M. J.; HAYER, M. A. Liver and biliary system. In: JUBB, K. V. F.; KENNEDY, P. C.; PALMER, N. C. **Pathology of domestic animals**. Philadelphia: ELSEVIER, 2007. p. 297-388.

STOLK, A. Some tumours in whales. **Proceedings, Kinnikl Nederlandse Akadame van Wetenschappen, section C**, v. 55, p. 215, 1952.

STOLK, A. Some tumors in whales. **Proceedings, Kinnikl Nederlandse Akadame van Wetenschappen, section C**, v. 56, p. 369, 1953.

STONE, H.L.; GRAY, K.; STABE, R.; CHANDLER, J. M. Renal blood flow in a diving trained sea lion. **Nature**, v. 242, p. 530-531, 1973.

SWEENEY, J. C.; RIDGWAY, S. H. Common diseases of small cetaceans. **Journal of the American Medical Association**, v. 167, p. 533-540, 1975.

TETTAMANTI, G.; GRIMALDI, A.; FERRARESE, R.; RINALDI, L.; BORTOLOTTI, A.; DI GUARDO, G.; DE EGUILEOR, M. A comparative study of *sporta medullaris musculosa* in the reniculus of six species of cetaceans. **Italian Journal of Zoology**, v. 71, p. 115-121, 2004.

TROISI, G. M.; HARAGUCHI, K.; KAYBOO, D. S.; NYMAN, M.; AGUILAR, A.; BORRELL, A.; SIEBERT, U.; MASON, C. F. Bioaccumulation of polychlorinated biphenyls (PCBs) and dichlorodiphenylethane (DDE) methyl sulfones in tissues of seal and dolphin morbillivirus epizootic victims. **Journal of Toxicology and Environmental Health A**, v. 62, p. 1-8, 2001.

VAN BRESSEM, M. F.; SANTOS, M. C. DE O.; OSHIMA, J. E. DE F. Skin diseases in Guiana dolphins (*Sotalia guianensis*) from the Paranaguá estuary, Brazil: A possible indicator of a compromised marine environment. **Marine Environmental Research**, v. 67, p. 63-68, 2009.

VARDY, P. H.; BRYDEN, M. M. The kidney of *Leptonychotes weddelli* (Pinnipedia: Phocidae) with some observations on the kidney of two other southern phocid seals. **Journal of Morphology**, v. 167, p. 13-34, 1981.

VIGNA, R. A.; GURD, L. J.; CURD, F. R. N. California sea lion myoglobin: Complete covalent structure of the polypeptide chain. **Journal of Biological Chemistry**, v. 249, n. 13, p. 4144-4148, 1974.

WELLS, R. S.; RHINEHART, H. L.; HANSEN, L. J.; SWEENEY, J. C.; TOWNSEND, F. I.; STONE, R.; CASPER, D. R.; SCOTT, M. D.; HOHN, A. A.; ROWLES, T. K. Bottlenose dolphins as marine ecosystem sentinels: Developing a health monitoring system. **EcoHealth**, v. 1, p. 246-254, 2004.

WÜNSCHMANN, A.; SIEBERT, U.; WEISS, R. Rhizopusmycosis in a harbor porpoise from Baltic Sea. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 35, n. 3, 569-573, 1999.

YLITALO, G. M.; STEIN, J. E.; HOM, T.; JOHNSON, L. L.; TILBURY, K. L.; HALL, A. J.; ROWLES, T.; GREIG, D.; LOWENSTINE, L. J.; GULLAND, F. M. D. 2005. The role of organochlorines in cancer-associated mortality in California sea lions (*Zalophus californianus*). **Marine Pollution Bulletin**, v. 50, p. 30-39, 2005.

YOGUI, G. T.; SANTOS, M. C. O.; BERTOZZI, C. P.; MONTONE, R. C. Levels of persistent organic pollutants and residual pattern of DDTs in small cetaceans from the coast of São Paulo, Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v. 60, p. 1862-1867, 2010.

APÊNDICE A Dados completos dos cetáceos estudados

BTMM	Nº ORIGEM	INSTITUICAO	ESPECIE	SEXO	IDADE	COMPRIMENTO (cm)	PESO (Kg)	ORIGEM	UF	DATA
MM002	GEM 0524	GEMARS	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Juvenil	111	17,4	Captura	RS	09/07/1998
MM004	GEM 0528	GEMARS	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Fêmea	Juvenil	114	19,4	Captura	RS	11/07/1998
MM005	GEM 0529	GEMARS	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Fêmea	Juvenil	103	14,4	Captura	RS	11/07/1998
MM006	GEM 0531	GEMARS	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Fêmea	Adulto	124	25,5	Captura	RS	11/07/1998
MM007	GEM 0532	GEMARS	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Juvenil	121	18,5	Captura	RS	11/07/1998
MM008	GEM 0533	GEMARS	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Juvenil	102,5	14,7	Captura	RS	31/08/1998
MM010	GEM 0548	GEMARS	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Fêmea	Adulto	155,5	40	Captura	RS	14/08/1999
MM011	GEM 0596	GEMARS	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Fêmea	Juvenil	113,5	16,9	Captura	RS	27/01/2000
MM013	GEM 0599	GEMARS	<i>Stenella frontalis</i>	Fêmea	Adulto	188	88	Encalhe	RS	08/02/2000
MM014	GEM 0634	GEMARS	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Filhote	67,5	4	Captura	RS	27/02/2000
MM015	GEM 0635	GEMARS	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Fêmea	N.R.	N.R.	N.R.	Encalhe	RS	10/06/2000
MM025	GEM 0745	GEMARS	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Fêmea	Adulto	121	23,1	Captura	RS	01/11/2000
MM027	GEM 0748	GEMARS	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Fêmea	Adulto	141	33,3	Captura	RS	17/11/2000
MM028	GEM 0749	GEMARS	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Adulto	117	29	Captura	RS	17/11/2000
MM029	GEM 0750	GEMARS	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Adulto	123,3	25	Captura	RS	23/11/2000
MM030	GEM 0751	GEMARS	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Fêmea	Juvenil	123,8	22,5	Captura	RS	N.R.
MM031	GEM 0752	GEMARS	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Fêmea	Adulto	125,5	24	Captura	RS	23/11/2000
MM032	GEM 0753	GEMARS	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Fêmea	Adulto	135,5	29	Captura	RS	23/11/2000
MM034	GEM 0774	GEMARS	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Juvenil	89,5	10,9	Reabilitação	RS	N.R.
MM035	GEM 0795	GEMARS	<i>Stenella clymene</i>	Fêmea	Adulto	189,2	71,3	Encalhe	RS	09/04/2001
MM036	GEM 0797	GEMARS	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Filhote	75	4,5	Reabilitação	RS	N.R.
MM039	GEM 0808	GEMARS	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Fêmea	Juvenil	128,5	21,6	Captura	RS	N.R.
MM043	GEM 0814	GEMARS	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Fêmea	Juvenil	103	N.R.	Encalhe	RS	N.R.
MM063	IPeC 054	IPEC	<i>Sotalia guianensis</i>	Macho	Adulto	180,5	78,5	Captura	PR	26/01/1998
MM064	IPeC 055	IPEC	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Juvenil	102,8	11,7	Captura	SP	31/01/1998
MM065	IPeC 056	IPEC	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Juvenil	107,5	12,5	Captura	SP	31/01/1998
MM069	IPeC 065	IPEC	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Juvenil	97,2	11,5	Captura	PR	03/06/1998

MM070	IPeC 067	IPEC	<i>Sotalia guianensis</i>	Fêmea	Adulto	183	N.R.	N.R.	PR	08/06/1998
MM077	IPeC 085	IPEC	<i>Sotalia guianensis</i>	Macho	Filhote	120++	N.R.	Captura	PR	20/08/1998
MM079	IPeC 089	IPEC	<i>Delphinus capensis</i>	Macho	Adulto	221,5	N.R.	Encalhe	PR	31/08/1998
MM080	IPeC 091	IPEC	<i>Sotalia guianensis</i>	Macho	Juvenil	160	N.R.	N.R.	PR	03/09/1998
MM081	IPeC 093	IPEC	<i>Sotalia guianensis</i>	Macho	Filhote	143,5	43	Encalhe	PR	08/09/1998
MM082	IPeC 095	IPEC	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Juvenil	113,7	16	Captura	SP	12/09/1998
MM083	IPeC 096	IPEC	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Juvenil	94,5	10,2	Captura	SP	12/09/1998
MM084	IPeC 097	IPEC	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Fêmea	Juvenil	95	10,7	Captura	SP	12/09/1998
MM085	IPeC 103	IPEC	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Fêmea	Juvenil	97,2	11	Captura	PR	30/09/1998
MM086	IPeC 106	IPEC	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Fêmea	Adulto	124,7	17,5	Captura	SP	07/10/1998
MM087	IPeC 107	IPEC	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Juvenil	112,3	14	Captura	SP	07/10/1998
MM088	IPeC 108	IPEC	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Fêmea	Juvenil	104,5	12,5	Captura	SP	07/10/1998
MM090	IPeC 110	IPEC	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Filhote	65,6	3,5	Encalhe	PR	31/10/1998
MM091	IPeC 111	IPEC	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Juvenil	106,5	12,7	Captura	SP	28/10/1998
MM092	IPeC 112	IPEC	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Juvenil	95	11	Captura	SP	28/10/1998
MM093	IPeC 113	IPEC	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Juvenil	109,5	12,7	Captura	SP	28/10/1998
MM094	IPeC 114	IPEC	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Fêmea	Juvenil	111,5	15	Encalhe	PR	17/11/1998
MM095	IPeC 116	IPEC	<i>Sotalia guianensis</i>	Fêmea	Filhote	148	42	Captura	PR	29/11/1998
MM096	IPeC 118	IPEC	<i>Pontoporia blainvillei</i>	N.R.	Juvenil	98	9	Encalhe	PR	01/12/1998
MM097	IPeC 119	IPEC	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Juvenil	113,5	15,5	Captura	PR	15/12/1998
MM101	CRAM 003	CRAM-FURG	<i>Balaenoptera acutorostrata</i>	Fêmea	Juvenil	N.R.	N.R.	Encalhe	RS	15/07/1999
MM109	CRAM 381	CRAM-FURG	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Filhote	63	3,3	Reabilitação	RS	25/11/1999
MM116	CRAM 642	CRAM-FURG	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Fêmea	Filhote	76	5,2	Reabilitação	RS	05/11/2001
MM120	CEEMAM 010	CEEMAM	<i>Tursiops truncatus</i>	Macho	Juvenil	163	N.R.	Encalhe	SP	25/07/1997
MM121	CEEMAM 021	CEEMAM	<i>Stenella frontalis</i>	Macho	Juvenil	155	N.R.	Encalhe	SP	20/05/1998
MM122	CEEMAM 064	CEEMAM	<i>Sotalia guianensis</i>	Macho	Filhote	131,5	31,4	Encalhe	SP	18/07/1999
MM123	CEEMAM 083	CEEMAM	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Fêmea	Adulto	128	N.R.	Encalhe	SP	26/01/2000
MM124	CEEMAM 090	CEEMAM	<i>Kogia breviceps</i>	Fêmea	Adulto	288	N.R.	Encalhe	SP	11/07/2000
MM125	CEEMAM 111	CEEMAM	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Juvenil	98	12	Captura	SP	30/08/2000
MM126	MO-Tursiops Jan-02	MO-FURG	<i>Tursiops truncatus</i>	Macho	Adulto	300	N.R.	Encalhe	RS	02/01/2002

MM127	CA 153	MO-FURG	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Fêmea	Adulto	N.R.	26	Captura	RS	21/05/1998
MM128	CA 154	MO-FURG	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Adulto	136,5	28,6	Captura	RS	23/05/1998
MM129	CA 155	MO-FURG	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Adulto	137,5	29,6	Captura	RS	23/05/1998
MM130	CA 177	MO-FURG	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Adulto	120	26	Captura	RS	25/06/1998
MM131	CA 179	MO-FURG	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Juvenil	109,5	17,5	Captura	RS	25/06/1998
MM132	CA 195	MO-FURG	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Adulto	143,2	31,5	Captura	RS	18/08/1998
MM133	CA 196	MO-FURG	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Fêmea	Juvenil	122,5	22,8	Captura	RS	13/10/1999
MM134	CA 199	MO-FURG	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Juvenil	115,5	19,1	Captura	RS	20/10/1999
MM135	CA 200	MO-FURG	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Juvenil	124,5	24,2	Captura	RS	20/10/1999
MM136	CA 201	MO-FURG	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Fêmea	Juvenil	121,5	21,4	Captura	RS	22/10/1999
MM137	CA 203	MO-FURG	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Juvenil	99,3	14,4	Captura	RS	30/10/1999
MM138	CA 204	MO-FURG	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Juvenil	113,5	17	Captura	RS	30/10/1999
MM139	CA 205	MO-FURG	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Juvenil	114	21,4	Captura	RS	06/11/1999
MM140	CA 207	MO-FURG	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Juvenil	118	18	Captura	RS	29/11/1999
MM141	CA 208	MO-FURG	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Adulto	132,5	27,8	Captura	RS	29/11/1999
MM142	CA 209	MO-FURG	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Fêmea	Juvenil	120	20	Captura	RS	29/11/1999
MM143	CA 210	MO-FURG	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Juvenil	125	21,8	Captura	RS	01/12/1999
MM144	CA 211	MO-FURG	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Juvenil	121	19	Captura	RS	01/12/1999
MM145	CA 212	MO-FURG	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Fêmea	Juvenil	111,1	16,6	Captura	RS	01/12/1999
MM146	CA 213	MO-FURG	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Fêmea	Juvenil	94	11,6	Captura	RS	01/12/1999
MM147	CA 214	MO-FURG	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Juvenil	120,2	23	Captura	RS	01/12/1999
MM148	CA 215	MO-FURG	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Juvenil	125	26	Captura	RS	09/12/1999
MM149	CA 216	MO-FURG	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Juvenil	115	19,8	Captura	RS	18/12/1999
MM150	CA 217	MO-FURG	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Fêmea	Adulto	143,3	29	Captura	RS	21/12/1999
MM151	CA 218	MO-FURG	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Fêmea	Juvenil	118,7	17,1	Captura	RS	06/01/2000
MM152	CA 222	MO-FURG	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Fêmea	Juvenil	113	21,8	Captura	RS	N.R.
MM153	CA 223	MO-FURG	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Adulto	126,5	22,9	Captura	RS	N.R.
MM154	CA 224	MO-FURG	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Fêmea	Juvenil	122	22	Captura	RS	08/08/2000
MM155	CA 226	MO-FURG	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Juvenil	109,4	16,6	Captura	RS	19/08/2000
MM156	CA 229	MO-FURG	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Adulto	123,5	24,5	Captura	RS	01/09/2000

MM157	CA 232	MO-FURG	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Fêmea	Juvenil	120,5	20	Captura	RS	10/10/2000
MM158	CA 233	MO-FURG	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Adulto	132,5	27	Captura	RS	10/10/2000
MM159	CA 239	MO-FURG	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Fêmea	N.R.	N.R.	N.R.	Captura	RS	N.R.
MM160	CA 240	MO-FURG	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Fêmea	N.R.	N.R.	N.R.	Captura	RS	N.R.
MM161	CA 248	MO-FURG	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Adulto	N.R.	24,6	Captura	RS	22/05/2001
MM162	CB-04	BIOPESCA	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Juvenil	111	N.R.	Captura	SP	02/07/1999
MM164	CB-14	BIOPESCA	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Adulto	124	20,9	Captura	SP	09/11/2001
MM165	CB-15	BIOPESCA	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Filhote	69	2,8	Captura	SP	23/11/2001
MM166	CB-16	BIOPESCA	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Fêmea	Adulto	130	22	Captura	SP	05/12/2001
MM168	CB-28	BIOPESCA	<i>Tursiops truncatus</i>	Fêmea	Adulto	202	N.R.	Captura	SP	23/01/2001
MM169	CB-29	BIOPESCA	<i>Stenella frontalis</i>	Macho	Adulto	187	84	Captura	SP	12/02/2001
MM170	CB-30	BIOPESCA	<i>Stenella frontalis</i>	Macho	Adulto	208	110	Captura	SP	12/02/2001
MM171	CB-33	BIOPESCA	<i>Sotalia guianensis</i>	Macho	Adulto	196	N.R.	Encalhe	SP	20/10/2000
MM173	CB-42	BIOPESCA	<i>Steno bredanensis</i>	Fêmea	Juvenil	166	N.R.	Captura	SP	28/06/2003
MM174	CB-63	BIOPESCA	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Adulto	107	N.R.	Captura	SP	19/06/2004
MM178	MQ-156	MAQUA	<i>Tursiops truncatus</i>	Macho	Adulto	243,5	N.R.	Encalhe	RJ	29/10/2001
MM179	MQ-158	MAQUA	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Juvenil	87	N.R.	Encalhe	RJ	21/01/2002
MM182	FUNDAMAR 094	FUNDAMAR	<i>Sotalia guianensis</i>	Macho	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	12/03/2002
MM183	FUNDAMAR 097	FUNDAMAR	<i>Kogia sima</i>	Macho	Adulto	230	N.R.	Encalhe	SP	25/06/2002
MM184	FUNDAMAR 101	FUNDAMAR	<i>Sotalia guianensis</i>	Macho	N.R.	N.R.	N.R.	Captura	SP	20/05/2005
MM188	PA-074	ATLANTIS	<i>Tursiops truncatus</i>	Fêmea	Adulto	300	N.R.	Encalhe	SP	25/03/1997
MM189	PA-131	ATLANTIS	<i>Sotalia guianensis</i>	Macho	Adulto	196	92	Encalhe	SP	31/12/1998
MM205	AQ SANTOS Pb-22-10-96	AQ SANTOS	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	N.R.	N.R.	N.R.	Captura	SP	22/10/1996
MM206	AQ SANTOS Steno	AQ SANTOS	<i>Steno bredanensis</i>	Macho	Filhote	N.R.	N.R.	Reabilitação	SP	13/01/1997
MM207	BP76	Biopesca	<i>Sotalia guianensis</i>	Macho	Juvenil	147	N.R.	Captura	SP	10/08/2004
MM208	CGR S.longirostris	CGR	<i>Stenella longirostris</i>	Macho	Filhote	89	N.R.	Encalhe	PE	20/04/2000
MM218	Nariz de garrafa	N.R.	<i>Tursiops truncatus</i>	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.
MM219	BP58	BIOPESCA	<i>Steno bredanensis</i>	Macho	Juvenil	178	N.R.	N.R.	SP	21/04/2004
MM220	Pb Sub.-ad	N.R.	<i>Pontoporia blainvillei</i>	N.R.	Juvenil	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.

MM225	#104 Minke anã	FUNDAMAR	<i>Balaenoptera acutorostrata</i>	Macho	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	14/09/2002
MM226	DELPH-01	DELPHINUS	<i>Sotalia guianensis</i>	Macho	Adulto	N.R.	90	Encalhe	SP	07/04/2000
MM227	CA 176	MO-FURG	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Adulto	132,1	26,7	Captura	RS	25/06/1998
MM229	PA-132	ATLANTIS	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Fêmea	Adulto	130	19,2	Encalhe	SP	16/06/1999
MM230	CA 178	MO-FURG	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Juvenil	123,4	23,3	Captura	RS	25/06/1998
MM231	CA 194	MO-FURG	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Fêmea	Juvenil	123,3	29,5	Captura	RS	18/08/1998
MM232	BP73	BIOPESCA	<i>Sotalia guianensis</i>	Fêmea	Adulto	168	N.R.	N.R.	SP	06/07/2004
MM250	BP114	BIOPESCA	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Fêmea	Filhote	61	2,5	N.R.	RJ	22/10/2005
MM251	FUNDAMAR	FUNDAMAR	<i>Stenella frontalis</i>	Fêmea	Adulto	184	90	Encalhe	SP	12/03/1999
MM252	#110	SOS Mam. Marinhos	<i>Sotalia guianensis</i>	Macho	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	SP-S	29/10/2002
MM253	#115	SOS Mam. Marinhos	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	SP-S	09/06/2003
MM259	CB 87	BIOPESCA	<i>Sotalia guianensis</i>	Fêmea	Juvenil	129	N.R.	N.R.	SP	08/01/2005
MM261	CB 132	BIOPESCA	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Fêmea	Adulto	141	25	N.R.	SP	16/02/2006
MM262	BP 135	BIOPESCA	<i>Sotalia guianensis</i>	Fêmea	Juvenil	134	N.R.	N.R.	SP	28/05/2006
MM281	1416	CRAM	<i>Pontoporia blainvillei</i>	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	30/01/2007
MM284	2146	CRAM	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	10/12/2009
MM285	2157	CRAM	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Fêmea	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	07/01/2010
MM310	CA 180	MO-FURG	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Juvenil	113,5	19,6	Captura	RS	25/06/1998
MM311	CA 193	MO-FURG	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Fêmea	Juvenil	116	20,6	Captura	RS	18/08/1998
MM312	CA 206	MO-FURG	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Fêmea	Adulto	158	40,6	Captura	RS	08/11/1999
MM313	CA 202	MO-FURG	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Juvenil	120,5	24,6	Captura	RS	25/10/1999
MM323	02C1142/295	Aquasis	<i>Stenella coeruleoalba</i>	Fêmea	Adulta	N.R.	88,9	Encalhe	CE	12/02/2007
MM324	02C2512/342	Aquasis	<i>Lagenodelphis hosei</i>	Fêmea	Adulta	217	N.R.	Encalhe	CE	19/05/2009
MM325	02C1921/343	Aquasis	<i>Globicephala macrorhynchus</i>	Macho	Filhote	155	40,6	Encalhe	CE	16/06/2009
MM326	02C0212/349	Aquasis	<i>Megaptera novaeangliae</i>	Macho	Adulto	1000	~20 toneladas	Encalhe	CE	21/08/2009
MM327	02C1512/392	Aquasis	<i>Peponocephala electra</i>	Fêmea	Juvenil	218	~80	Encalhe	CE	28/05/2010
MM328	02C1132/403	Aquasis	<i>Stenella longirostris</i>	Fêmea	Adulto	172	47	Encalhe	CE	05/08/2010
MM329	02C1412/406	Aquasis	<i>Sotalia guianensis</i>	Fêmea	Filhote	122	15,2	Encalhe	CE	18/08/2010

MM330	02C0211/418	Aquasis	<i>Megaptera novaeangliae</i>	Macho	Filhote	394	~800	Encalhe	CE	04/09/2010
MM345	CB 99	BIOPESCA	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Juvenil	91	8,9	N.R.	SP	16/02/2005
MM331	Cachalote	R3/PBF	<i>Physeter macrocephalus</i>	Fêmea	Filhote	407	N.R.	Encalhe	SC	21/02/2011
MM358	CB-25	BIOPESCA	<i>Steno bredanensis</i>	Macho	Adulto	263	N.R.	Encalhe	SP	23/08/2000
MM167	CB-17	BIOPESCA	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Adulto	117	16	Captura	SP	25/04/2002
MM263	CB-80	BIOPESCA	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Juvenil	95	7,5	Captura	SP	05/08/2004
MM332	BP 182	BIOPESCA	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Juvenil	91	9,8	Captura	SP	23/06/2011
MM333	BP 183	BIOPESCA	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Fêmea	Adulto	141	25,1	Captura	SP	23/06/2011
MM335	CB 82	BIOPESCA	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Juvenil	104	N.R.	N.R.	SP	15/10/2004
MM337	CB 90	BIOPESCA	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Fêmea	Adulto	120	N.R.	N.R.	SP	27/12/2004
MM338	CB 91	BIOPESCA	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Adulto	118	N.R.	N.R.	SP	17/01/2005
MM339	CB 96	BIOPESCA	<i>Sotalia guianensis</i>	Macho	Adulto	186	N.R.	N.R.	SP	15/02/2005
MM340	CB 97	BIOPESCA	<i>Sotalia guianensis</i>	Macho	Adulto	172	N.R.	N.R.	SP	15/02/2005
MM341	CB 84	BIOPESCA	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Juvenil	108	N.R.	N.R.	SP	24/11/2004
MM342	CB 85	BIOPESCA	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Juvenil	111	N.R.	N.R.	SP	01/12/2004
MM344	CB 88	BIOPESCA	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Juvenil	83	6,77	N.R.	SP	08/01/2005
MM345	CB 99	BIOPESCA	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Juvenil	91	8,9	N.R.	SP	16/02/2005
MM346	CB 101	BIOPESCA	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Fêmea	Juvenil	102	N.R.	N.R.	SP	25/02/2005
MM348	BP 185	BIOPESCA	<i>Delphinus capensis</i>	Macho	Adulto	208	79	Captura	SP	12/07/2011
MM349	BP 186	BIOPESCA	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Juvenil	82	8,4	Captura	SP	25/07/2011
MM352	CB 89	BIOPESCA	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Fêmea	Juvenil	82	6,515	N.R.	SP	08/01/2005
MM353	CB 93	BIOPESCA	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Fêmea	Adulto	137	~30	N.R.	SP	31/01/2005
MM356	CB 51	BIOPESCA	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Fêmea	Adulto	116	N.R.	Encalhe	SP	23/01/2004
MM357	CB 46	BIOPESCA	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Filhote	69	N.R.	Encalhe	SP	22/11/2003
MM361	CB 39	BIOPESCA	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Fêmea	Juvenil	109	N.R.	N.R.	N.R.	07/02/2003
MM363	CB 55	BIOPESCA	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Juvenil	77	N.R.	N.R.	N.R.	14/02/2004
MM364	CB 66	BIOPESCA	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Juvenil	99	N.R.	N.R.	N.R.	25/06/2004
MM367	BP170	BIOPESCA	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Fêmea	Adulto	141	N.R.	N.R.	N.R.	19/06/2008
MM369	BP169	BIOPESCA	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Juvenil	93	N.R.	Captura	SP	19/06/2008
MM371	BP69	BIOPESCA	<i>Sotalia guianensis</i>	Fêmea	Juvenil	122	N.R.	Captura	SP	28/06/2004

MM374	02C1121/286	Aquasis	<i>Stenella frontalis</i>	Macho	Juvenil	176	66	Encalhe	CE	02/09/2006
MM375	02C1142/295	Aquasis	<i>Stenella coeruleoalba</i>	Fêmea	Adulto	217	88,9	Encalhe	CE	12/02/2006
MM376	02C0521/297	Aquasis	<i>Kogia breviceps</i>	Macho	Adulto	271	200	Encalhe	CE	25/09/2007
MM377	02C1131/324	Aquasis	<i>Stenella longirostris</i>	Macho	Juvenil	168	42,6	Encalhe	CE	30/12/2008
MM378	02C1152/333	Aquasis	<i>Stenella clymene</i>	Fêmea	Adulto	184	N.R.	Encalhe	CE	19/02/2009
MM379	02C0511/334	Aquasis	<i>Kogia sima</i>	Macho	Filhote	155	40	Encalhe	CE	20/02/2009
MM380	02C0412/348	Aquasis	<i>Physeter macrocephalus</i>	Fêmea	Filhote	360	~1000	Encalhe	CE	18/08/2009
MM381	02C2512/389	Aquasis	<i>Lagenodelphis hosei</i>	Fêmea	Juvenil	234	105,8	Encalhe	CE	21/05/2010
MM382	02C0742/461	Aquasis	<i>Mesoplodon europaeus</i>	Fêmea	Adulto	422	600	Encalhe	CE	27/01/2011
MM383	02C1151/476	Aquasis	<i>Stenella clymene</i>	Macho	Adulto	199	68,5	Encalhe	CE	12/03/2011
MM388	02C1131/226	Aquasis	<i>Stenella longirostris</i>	Macho	Juvenil	179	52,5	Encalhe	CE	12/04/2003
MM391	BP35	BIOPESCA	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Juvenil	80	N.R.	Captura	SP	20/01/2003
MM392	BP44	BIOPESCA	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Fêmea	Juvenil	95	N.R.	Captura	SP	28/07/2003
MM394	BP34	BIOPESCA	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Juvenil	109	N.R.	Captura	SP	26/11/2002
MM396	BP62	BIOPESCA	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Fêmea	Adulto	143	N.R.	Encalhe	SP	17/06/2004
MM403	BP113	BIOPESCA	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Fêmea	Juvenil	110	N.R.	Captura	SP	15/10/2005
MM405	BP187	BIOPESCA	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Fêmea	Juvenil	97	N.R.	Captura	SP	08/10/2011
MM406	BP188	BIOPESCA	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Adulto	114	16,8	Captura	SP	18/10/2011
MM407	BP189	BIOPESCA	<i>Pontoporia blainvillei</i>	Macho	Juvenil	85	5,9	Captura	SP	18/10/2011
AQ496	02C1412/496	Aquasis	<i>Sotalia guianensis</i>	Fêmea	Filhote	102	11,4	Encalhe	CE	20/06/2011
AQ499	02C1512/499	Aquasis	<i>Peponocephala electra</i>	Fêmea	Juvenil	228	100	Encalhe	CE	08/07/2011
AQ522	02C1921/522	Aquasis	<i>Globicephala macrorhynchus</i>	Macho	Juvenil	410	~800	Encalhe	CE	14/11/2011
AQ527	02C1921/527	Aquasis	<i>Globicephala macrorhynchus</i>	Macho	Juvenil	290	~300	Encalhe	CE	10/01/2011

APÊNDICE B Diagnósticos histopatológicos no fígado e rins de toninhas (*Pontoporia blainvillei*) na costa brasileira.

	Grupo etário			Sexo		Contexto				Localidade			
	Filhote	Juvenil	Adulto	Macho	Fêmea	Captura	Encalhe	Reabil.	Indet.	RS	PR	SP	RJ
Fígado													
HPLC	25%	24%	34%	23%	35%	29%	36%	25%	14%	30%	17%	24%	50%
PHPG	-	4%	9%	6%	4%	3%	-	-	14%	-	-	12%	-
PHFG	-	1%	3%	-	2%	1%	-	-	5%	-	-	2%	-
HN	-	1%	11%	3%	6%	4%	-	-	5%	3%	-	6%	-
CHP	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IHC	25%	52%	51%	49%	52%	63%	27%	-	14%	59%	50%	37%	50%
EST	50%	5%	-	11%	8%	3%	27%	50%	23%	12%	-	8%	50%
AUT	25%	20%	17%	18%	21%	15%	27%	50%	27%	17%	17%	24%	-
NDN	13%	13%	11%	11%	12%	12%	18%	-	9%	9%	33%	14%	-
<i>n</i>	8	75	35	71	52	89	11	4	22	66	6	51	2
Rim													
GM	-	11%	28%	17%	11%	18%	11%	-	5%	13%	33%	15%	-
GMP	-	3%	11%	3%	8%	5%	11%	-	-	1%	-	9%	-
NI	-	4%	6%	3%	6%	5%	-	-	-	4%	-	4%	-
NPG	-	-	6%	-	4%	2%	-	-	-	1%	-	2%	-
NPGP	-	1%	-	-	2%	-	11%	-	-	-	33%	-	-
GE	-	1%	3%	1%	2%	2%	-	-	-	1%	-	2%	-
EST	71%	3%	-	10%	4%	1%	11%	75%	24%	10%	-	6%	-
CIS	-	3%	14%	8%	2%	7%	-	-	5%	-	-	13%	-
DRP	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DGCP	-	4%	3%	6%	-	4%	-	-	-	1%	-	6%	-
DGCS	-	-	3%	1%	-	1%	-	-	-	-	-	2%	-
AT	-	1%	-	1%	-	1%	-	-	-	1%	-	-	-
AUT	14%	22%	17%	18%	21%	14%	22%	25%	38%	16%	-	25%	-
NDN	14%	57%	31%	46%	47%	54%	33%	-	29%	52%	33%	38%	100%
<i>n</i>	7	74	36	71	53	91	9	4	21	67	3	53	2

HPLC = Hepatite portal linfoplasmocítica crônica; PHPG = Peri-hepatite piogranulomatosa; PHFG = Peri-hepatite fibrinogranulomatosa; HN = Hepatite necrótica; CHP = Colangiohepatite parasitária com fibrose e hiperplasia de ductos biliares; IHC = Inclusões hialinas citoplasmáticas; GM = Glomerulonefrite membranosa; GMP = Glomerulonefrite membranoproliferativa; NI = Nefrite intersticial; NPG = Nefrite piogranulomatosa; PGP = Nefrite piogranulomatosa parasitária; DRP = Doença renal policística; GE = Glomeruloesclerose; EST = Esteatose; CIS = Cisto simples; DGCP = Doença glomerulocística primária; DGCS = Doença glomerulocística secundária; AT = Adenoma tubular; AUT = Autólise; NDN = Nada digno de nota.